



基因工程抗体

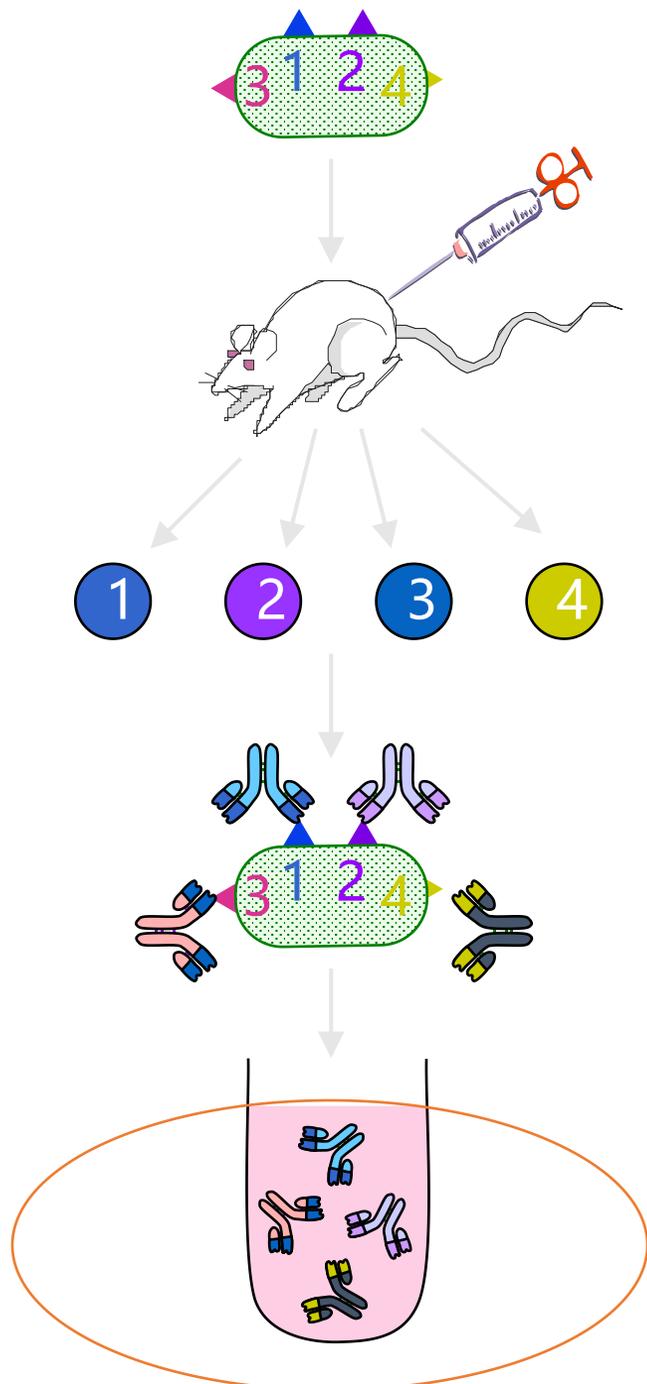
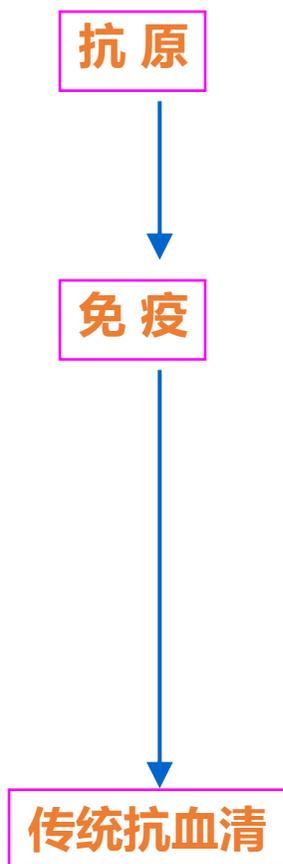
Engineering antibody

检验与生物技术学院 陈瑶

授课内容

- 一. 基因工程抗体的概述
- 二. 抗体基因的钓取和人源化改造
- 三. 抗体库技术
- 四. 小分子抗体及基因工程抗体的应用及总结

多克隆抗体



脾脏
淋巴結
B 細胞

免疫诊断
快速应急被动免疫

所有抗体的混合物

多克隆抗体的特点

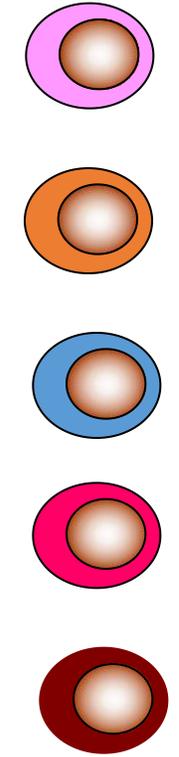
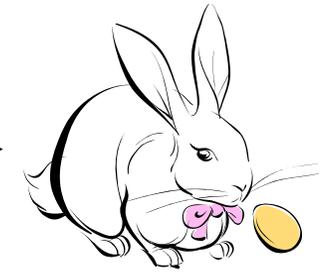
- 一. 滴度低;
- 二. 可以识别同一抗原的多个表位, 灵敏性高;
- 三. 能产生交叉反应, 特异性差;
- 四. 制备简单, 批次稳定性差;
- 五. 价格低廉;

抗原：表位：抗体

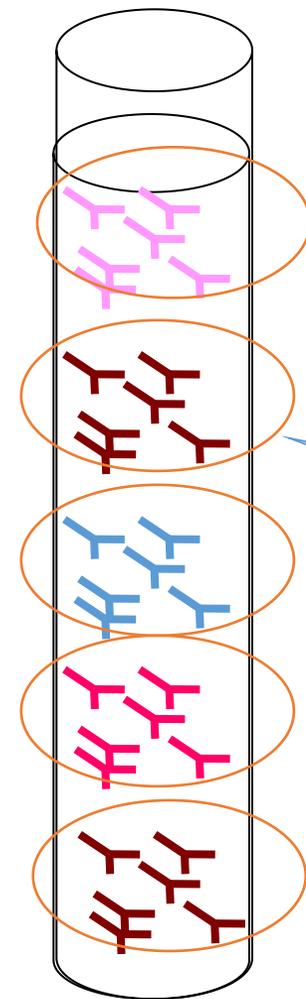
1：N：1

单克隆抗体

多价抗原



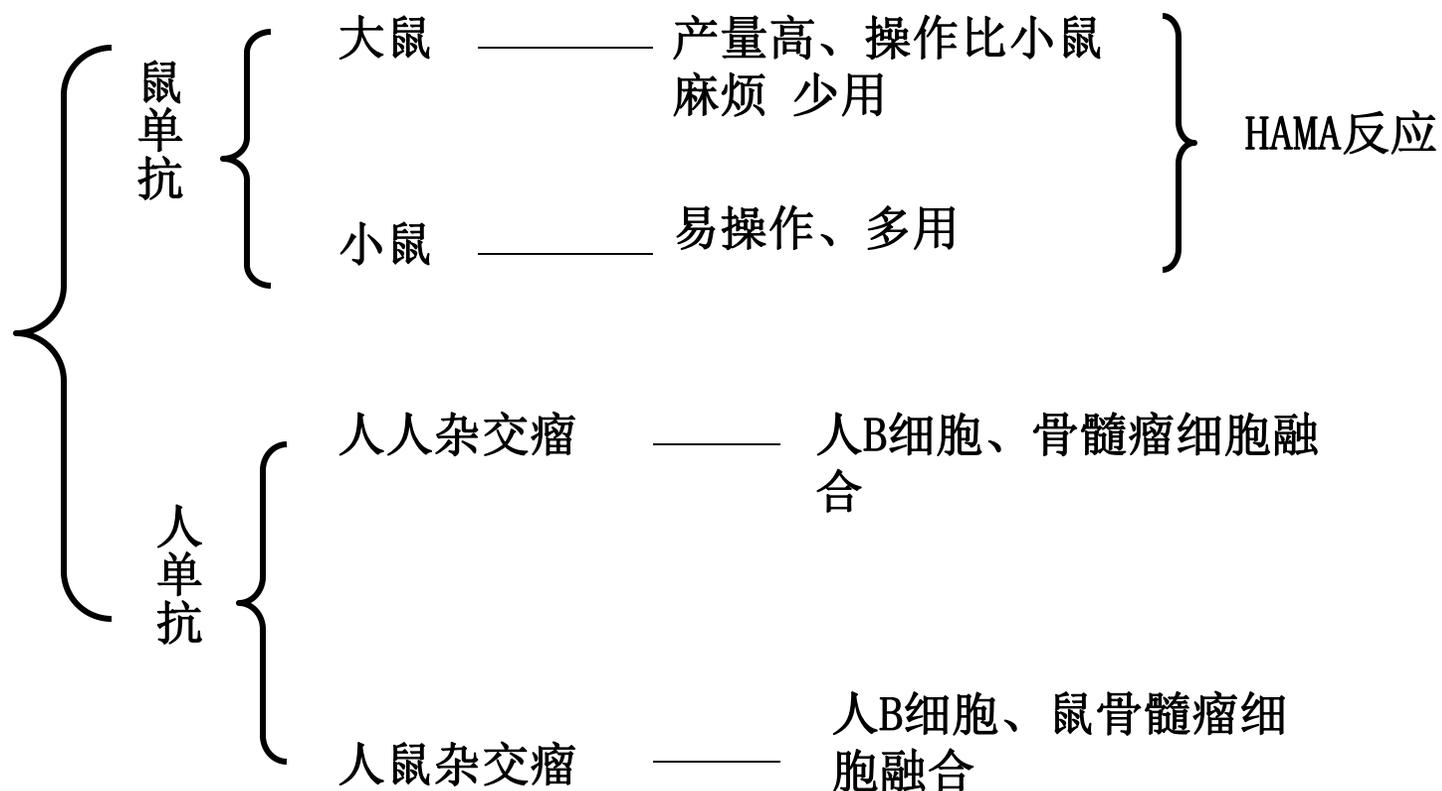
单克隆
(致敏的B细胞)



每个细胞克隆
产生一种单克
隆抗体

单克隆抗体

细胞工程杂交瘤技术



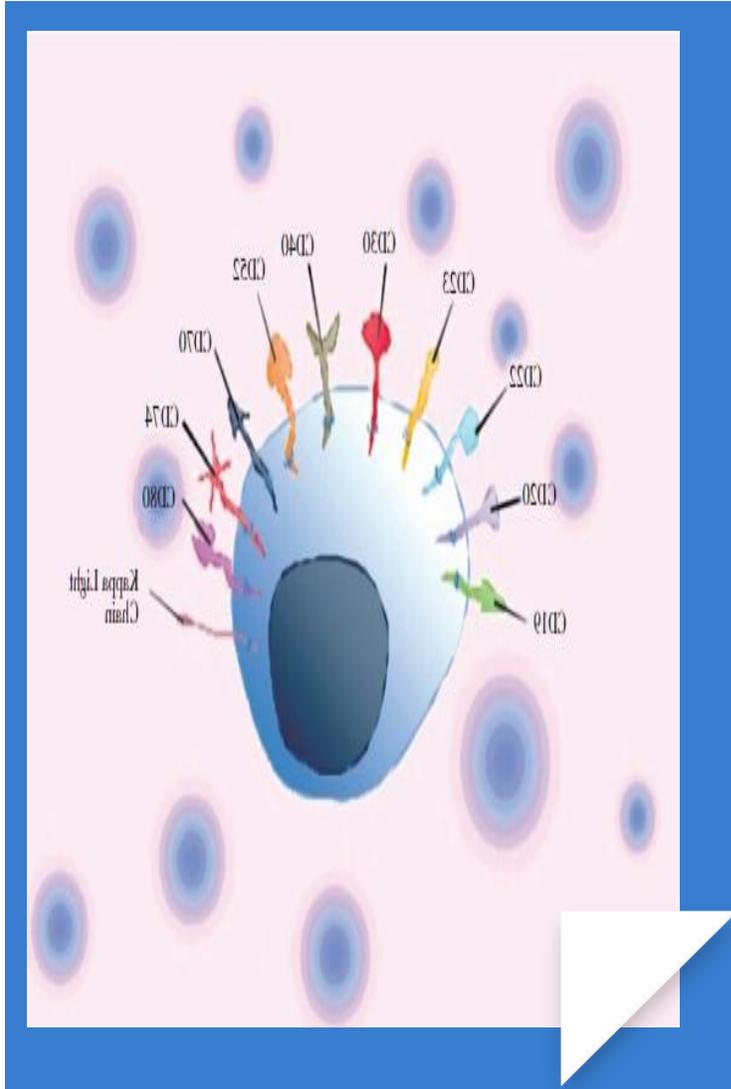
杂交瘤制备人单抗的问题：染色体易丢失、抗体分泌不稳定

单克隆抗体的优缺点

精准免疫治疗的希望

定量免疫诊断

- 一. 滴度高;
- 二. 可作为永生细胞在体外无限传代;
- 三. 生产批次稳定。
- 四. 特异性高, 可用于靶向治疗和诊断。
- 五. 操作复杂, 制备价格昂贵。



单克隆抗体与多克隆抗体的比较

性状	单克隆抗体	多克隆抗体
产生细胞	单株杂交瘤细胞	多株 B 细胞
抗体含量	0.5 ~ 5.0 mg/mL	0.1 ~ 1.0 mg/mL
Ig 类, 亚类	一种	多种
诊断和治疗方面，多抗和单抗都各有特点，各有擅长！		
重复性	好	不好
保存稳定性	略差	良好
主要用途	微量检测, 导向治疗	常规检测, 紧急预防

bbio.com

抗体技术的发展经历了三个阶段

抗体工程的三个方向：

第一代：多克隆抗体

第二代：细胞工程抗体

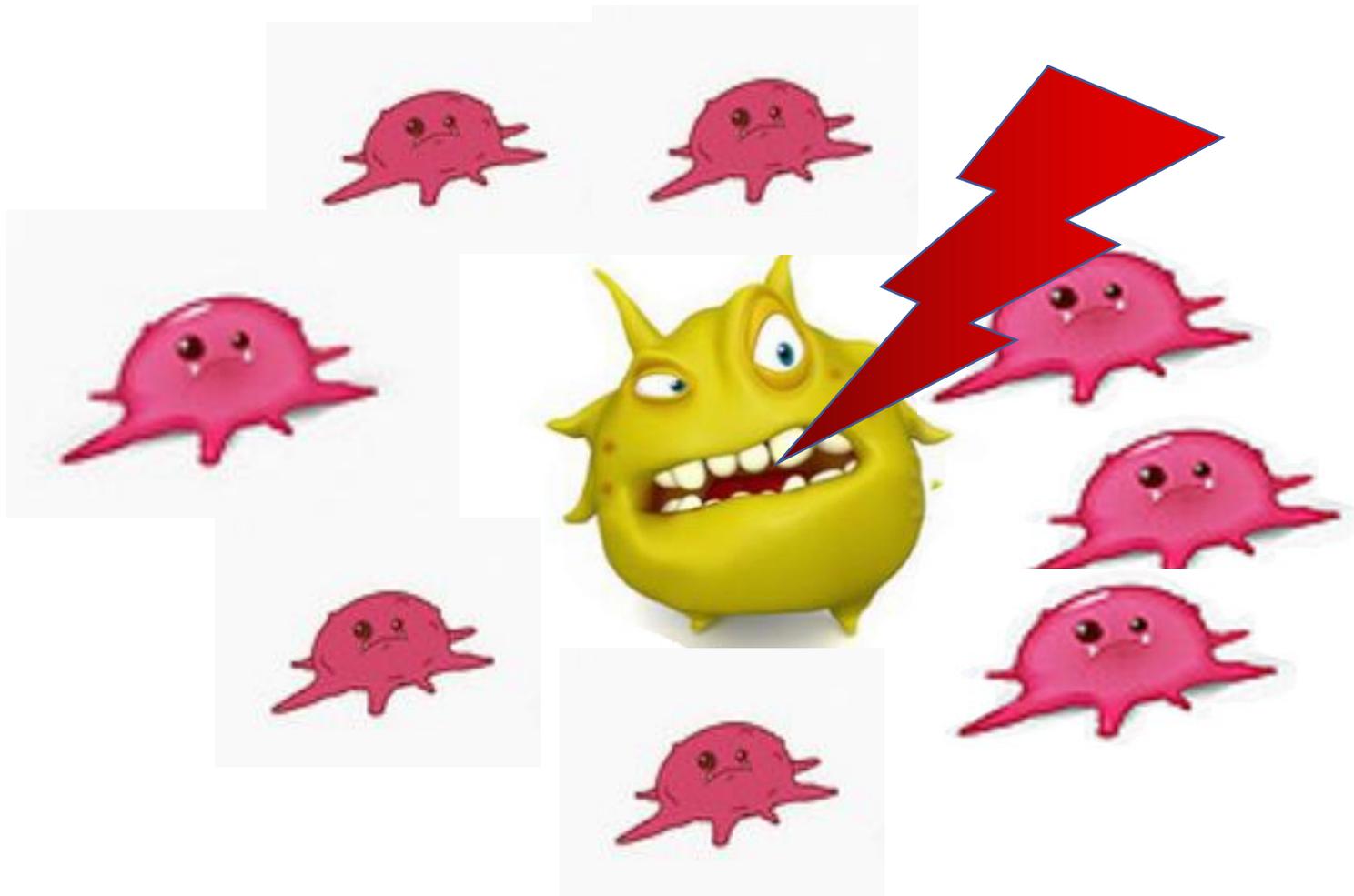
第三代：基因工程抗体

第 壹 节

为什么要制备基因工程抗体？

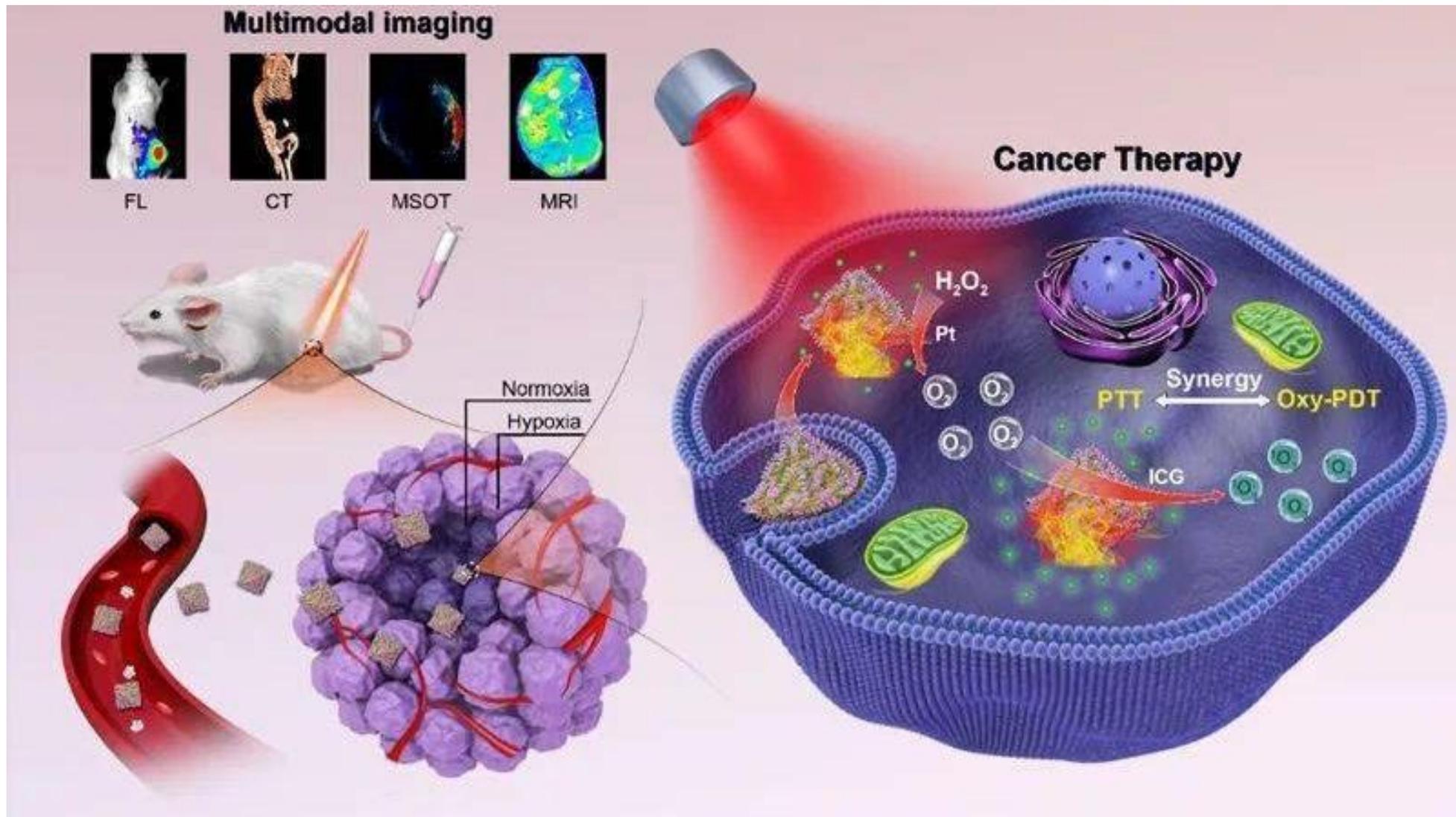
问题1：

精准治疗的行业 and 市场需求



靶向治疗
精准治疗
有效治疗

诊疗一体化的强烈需求

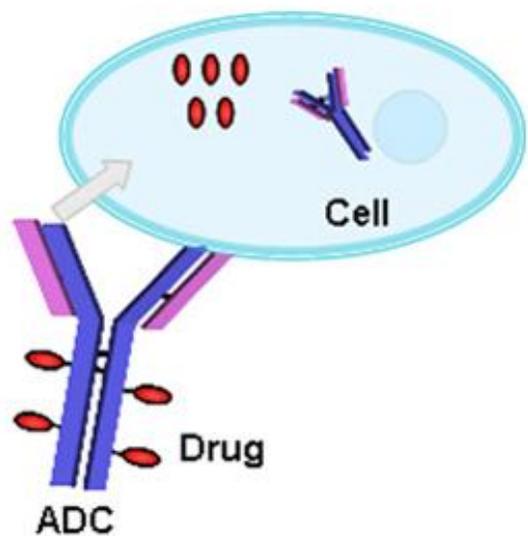


抗体的应用方向扩大



对抗体提出了更多的要求

抗体类药物已经成为生物制药的主要方向



Antibody-Drug Conjugate (ADC)

抗体的制备从诊断，转向 治疗

最初抗体主要被用于肿瘤体外免疫诊断和体内免疫显像，随着抗体工程技术的不断进步，近年来人们将更多的目光集中在治疗肿瘤的抗体药物开发上。

抗体介导的靶向性治疗

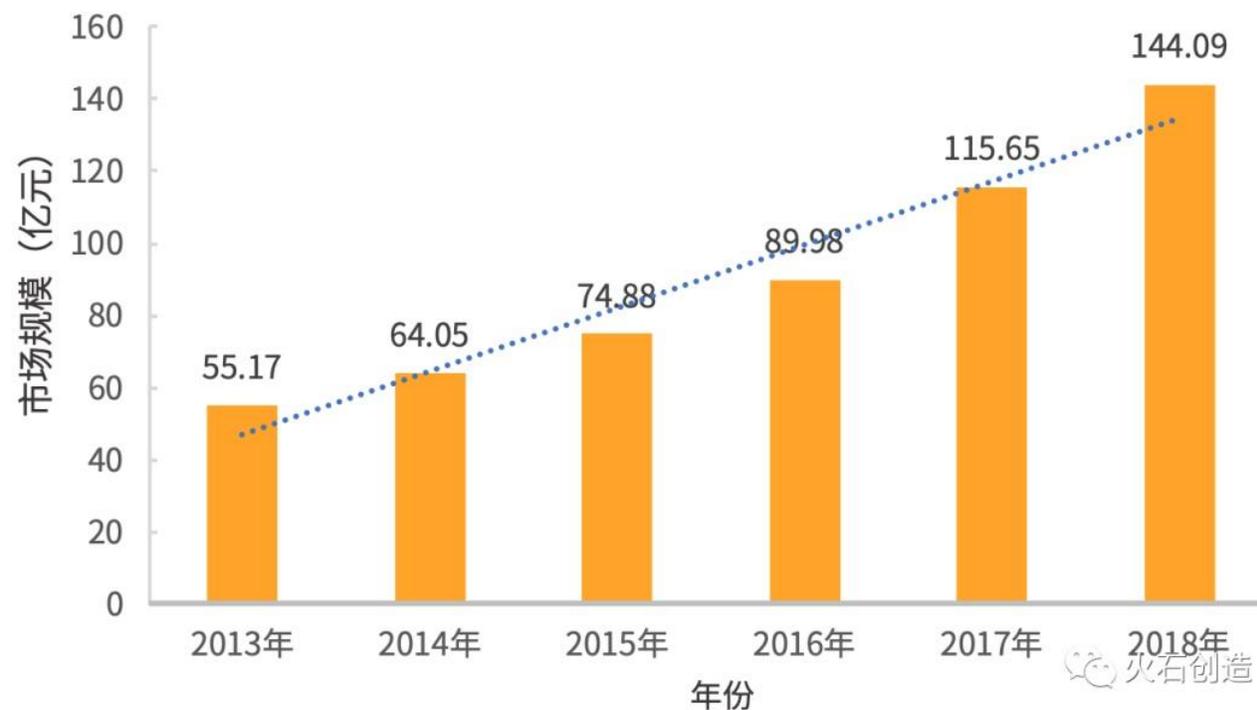
抗体在治疗中的应用--免疫药物

- 定义

由抗体成分组成的药物

主要特点：

- 利用抗原抗体特异性识别和结合的能力为治疗提供精确制导----**靶向治疗。**



抗体药物在精准治疗中的应用

随着生物技术的发展，抗体在疾病治疗方面的作用越来越受到人们的重视。

上市时间	通用名	商品名	公司	靶点	适应症
2018.6.15	纳武利尤单抗 (Nivolumab)	欧狄沃 (Opdivo)	百事美施贵宝BMS	PD-1	EGFR阴性、ALK阴性的局部晚期或转移性非小细胞肺癌（NSCLC）
2018.6.20	依达赛珠单抗 (Idarucizumab)	泰毕安 (Praxbind)	勃林格殷格翰BI	-	需要迅速逆转泰毕全（达比加群酯）的抗凝效应时使用
2018.7.26	帕博利珠单抗 (Pembrolizumab)	可瑞达 (Keytruda)	默沙东MSD	PD-1	经过系统治疗的晚期黑色素瘤
2018.7.31	依洛尤单抗 (Evolocumab)	瑞百安 (Repatha)	安进Amgen	PCSK9	纯合子家族性高胆固醇血症
2019.1.24					成人动脉粥样硬化性心血管疾病（ASCVD）
2018.9.5	依库珠单抗 (Eculizumab)	舒立瑞 (Soliris)	亚力兄弟Alexion	补体蛋白C5	阵发性睡眠性血红蛋白尿症（PNH）和非典型溶血性尿毒症综合征
2018.11.30	艾美赛珠单抗 (Emicizumab)	舒友立乐 (Hemlibra)	罗氏Roche	-	存在凝血因子VIII抑制物的A型血友病
2018.12.17	帕妥珠单抗 (Pertuzumab)	帕捷特 (Perjeta)	罗氏Roche	HER2	高复发风险的HER2阳性早期乳腺癌的辅助治疗
2018.12.17	特瑞普利单抗	拓益	君实生物	PD-1	既往标准治疗失败后的局部进展或转移性黑色素瘤
2018.12.27	信迪利单抗	达伯舒	信达生物	PD-1	至少经过二线系统化疗的复发或难治性经典型霍奇金淋巴瘤
2019.2.22	利妥昔单抗生物类似药	汉利康	复宏汉霖	CD20	非霍奇金淋巴瘤
2019.5.28	地舒单抗 (Denosumab)	安加维 (XGEVA)	安进Amgen	RANKL	不可手术切除或者手术切除可能导致严重功能障碍的骨巨细胞瘤
2019.5.31	卡瑞利珠单抗	艾立妥	恒瑞	PD-1	至少经过二线系统化疗的复发或难治性经典型霍奇金淋巴瘤

抗体药物的应用：

目前正在正在进行开发和已经投入市场的抗体性药物主要有以下几种用途：

一．器官移植排斥反应的逆转；

肿瘤免疫诊断；

肿瘤免疫显像；

肿瘤导向治疗；

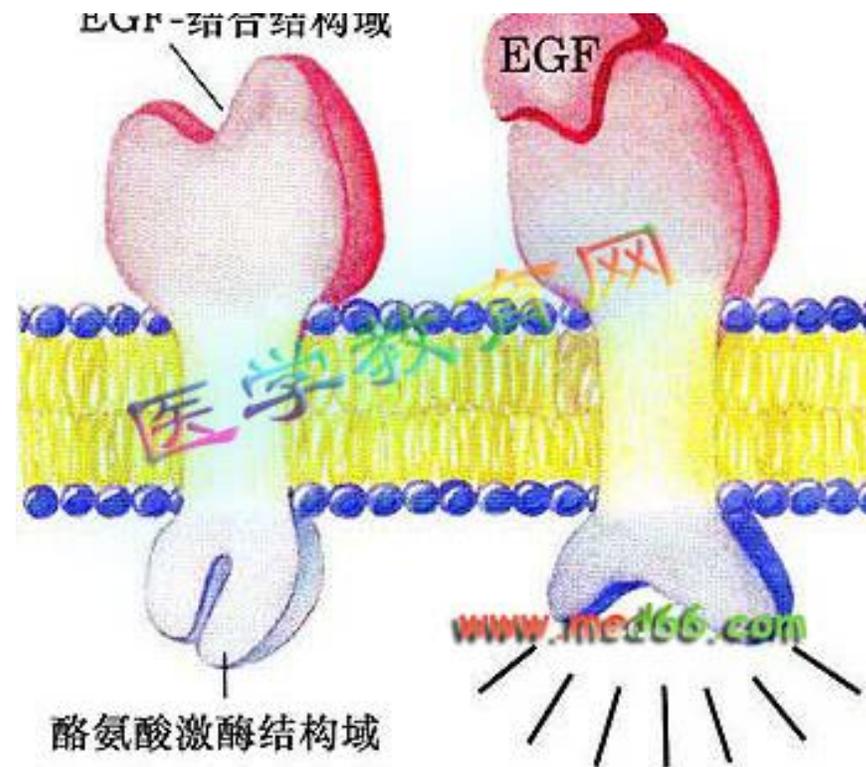
哮喘、牛皮癣、类风湿性关节炎、红斑狼疮、多发性硬化症及其他自身免疫性疾病；

抗独特型抗体作为分子瘤苗治疗肿瘤；

靶向药物的分类

1、封闭类抗体药物

- 作用机理
 - 应用抗体特异的封闭在肿瘤发生过程中起**重要作用的蛋白**，从而使肿瘤细胞凋亡或生长抑制（中和作用）
- 作用靶点
 - 可溶性蛋白，膜蛋白，可溶性因子，功能性蛋白
- 代表性药物：AVASTIN（VEGF）；爱必妥（EGF受体）

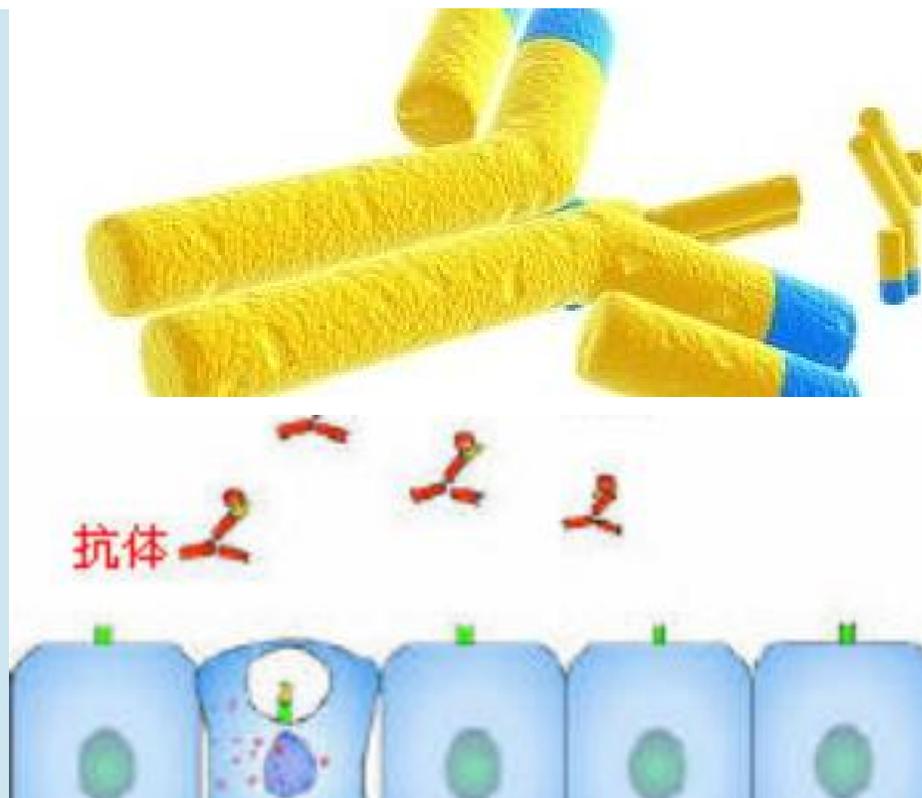


靶向药物的分类

功能性因子

2. 作用于信号传导类药物

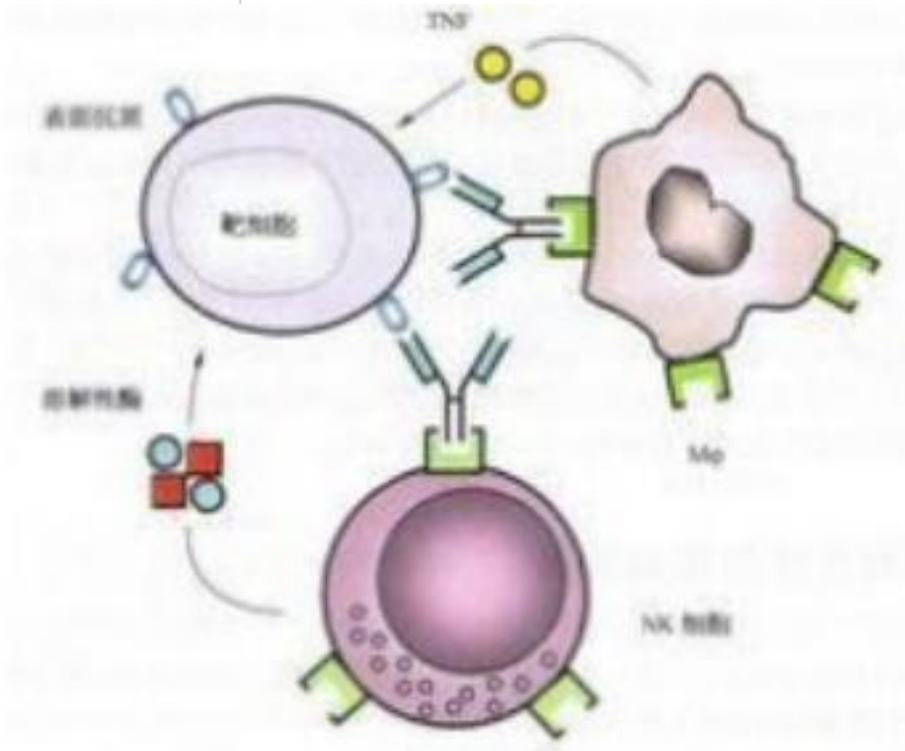
- 作用机理
 - 通过阻断肿瘤细胞内与肿瘤发生有关的**信号传导途径**，抑制肿瘤细胞的生长
- 作用靶点
 - 蛋白酪氨酸激酶； 蛋白激酶C； 丝裂原活化蛋白激酶； 核转录因子NF- κ B；
- 代表药物： 格列卫， 吉菲替尼； 厄罗替尼； 范德他尼。



靶向药物的分类

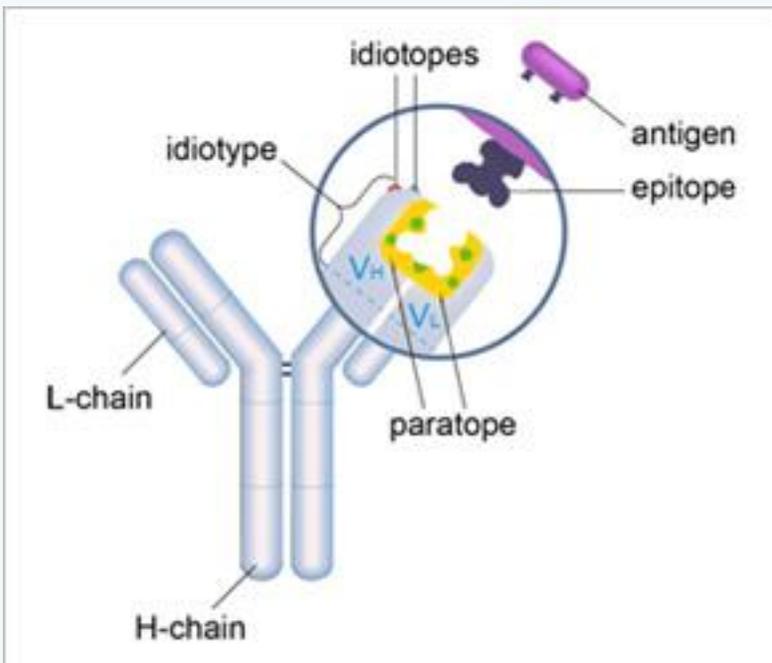
3、效应分子杀伤类药物

- 作用机理
 - 这类药物含有抗体的**Fc片段**，在与肿瘤细胞特异结合后，由Fc介导CDC、ADCC作用以及巨噬细胞吞噬作用
- 作用靶点
 - 细胞表面的分化抗原
 - 常见药物Rituxan，美罗华（CD20）



靶向药物的分类

对付肿瘤免疫逃逸



4、抗独特性疫苗类抗体药物

作用机理

- 该药物即是可以与特定抗原特异结合的抗体，又是可以诱导机体产生抗抗体的抗原
- 肿瘤抗原多是**半抗原**，一般无法引发机体产生免疫反应
 - 作用靶点
- CEA
- 神经节苷酯GD3或GD2 对抗肺癌。

第 二 节

为什么现有抗体制备技术不能满足实际需要？

问题2：

一、抗体生产的成本

1. 动物饲养：



20-30元/只



80-120元/只



30-40元/只

第一代和第二代抗体都需要依赖哺乳动物来生产抗体。

饲养费用：1元/天

饲养周期：短则40天，长则数月

一、抗体生产的成本

2. 多克隆抗体的生产过程:



小鼠

采血0.5-1ml

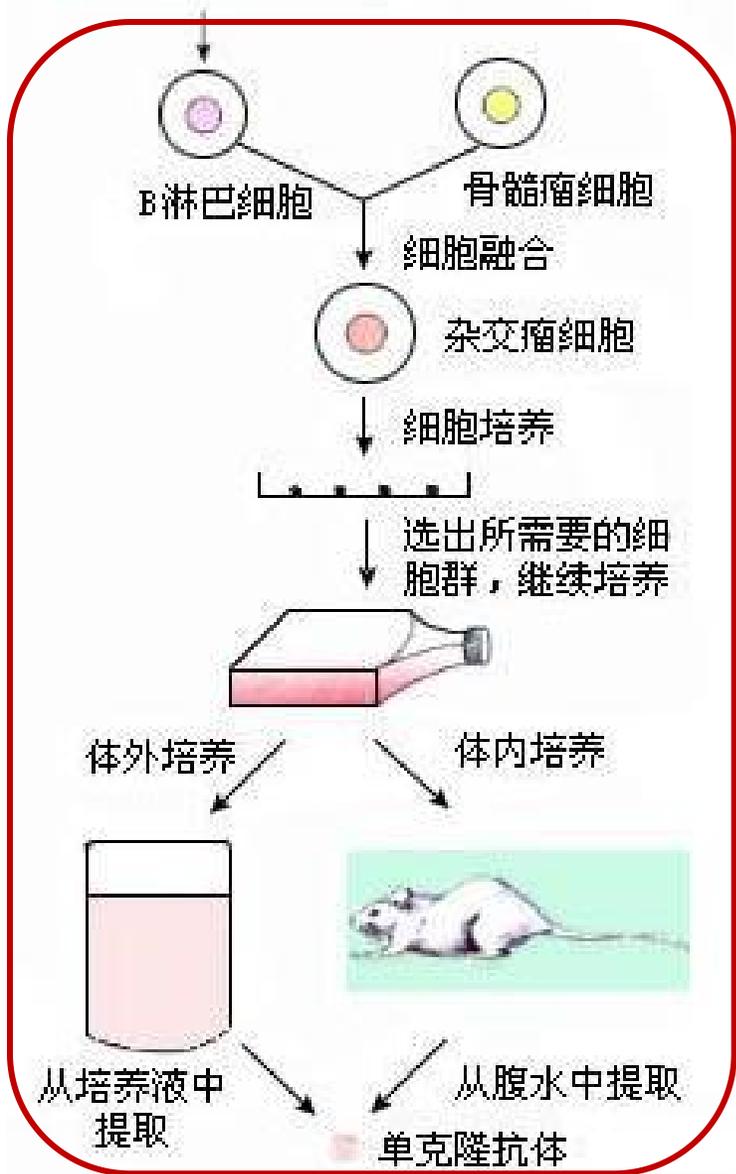
获得血清: 100-200ul

经亲和力和特异性分选后可能量会更少

多克隆抗体: 1-5mg



抗原



2. 单克隆抗体的生产过程:



细胞融合



克隆培养



接种腹水



提取单抗

单克隆抗体在多克隆抗体生产的基础上, 还需要进行复杂的细胞工程操作, 长时间的细胞培养, 克隆筛选。甚至多次牺牲动物, 价格尤其昂贵。

抗体高昂的成本组合

经济成本

动物的购买

标准化可控化的动物饲养

伦理成本

需要侵入式操作

需要大量牺牲动物

高昂的成本限制抗体的规模化生产，缺少规模化生产进一步提升了抗体生产的成本。

抗体的成本

抗体的生产能力:

单克隆抗体 0.5-5.0mg/ml

多克隆抗体 1.0-5.0mg/ml

市场**实验性**抗体的价格:

多克隆抗体: 500元/100微克

单克隆抗体: 2000元-4000元/100微克

昂贵的制备成本, 严重制约了抗体的广泛使用

美国政府初期花
4.5亿美元订购
了30万剂



特朗普已接受再生元（Regeneron）针对新冠病毒的抗体鸡尾酒疗法REGN-COV2的治疗。

均价一支:1500美元
单剂1200mg
特朗普一个疗程使用了：8
克

二、抗体的应用需求



抗体的体内应用，尤其是抗体药物对抗体提出了更高要求：

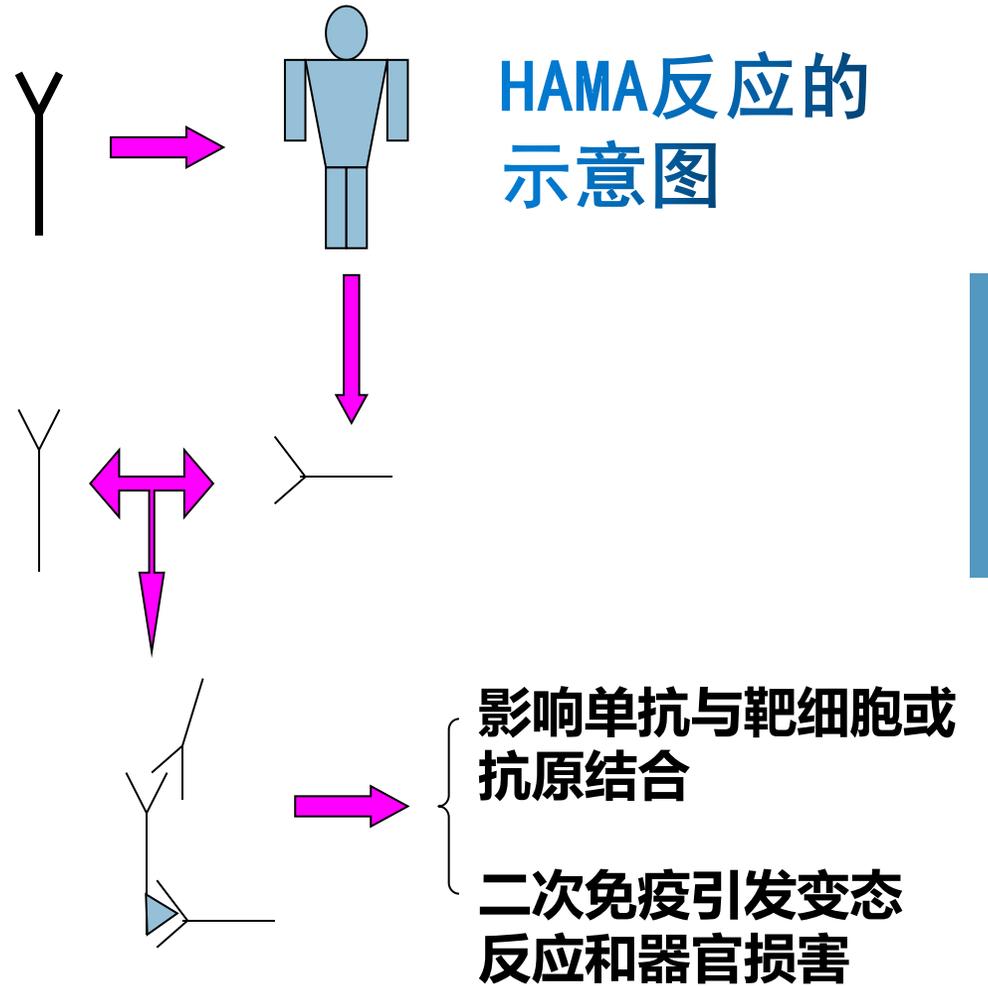
- 能够准确识别并结合靶点（**高穿透力，准确**）
- 高特异性和**高亲和力**（ $K_d=10^8\sim 10^{10}L/M$ ）
- 一旦结合到靶抗原上，能诱导效应功能(**高效应力**)
- 抗体符合生物制品标准（**安全**）
- 对人没有免疫原性，不诱导机体对抗体的排斥反应（**不排斥**）



三、现有抗体不能满足需求的原因

1. 排斥反应，血清半衰期短

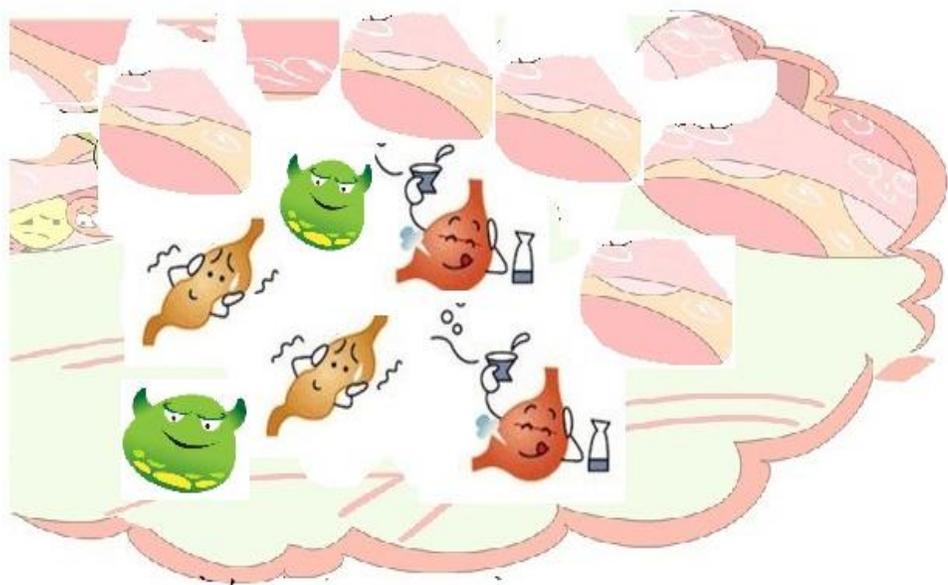
人抗小鼠抗体
(HAMA) human anti-mouse antibody



2. 分子量大，达靶部位量不足

150KD

Y型刚性结构



进入组织间隙
进入器官
进入内部



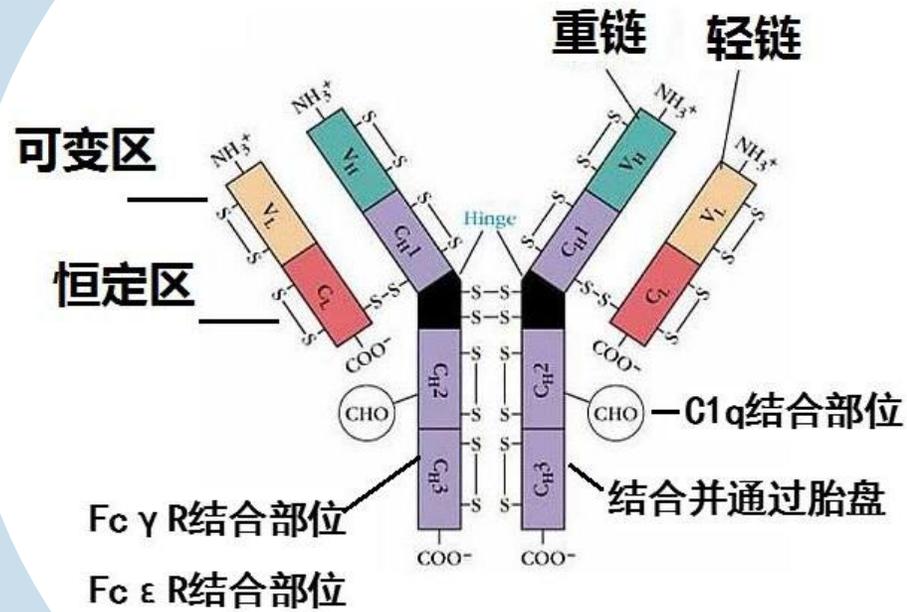
太胖了，进不去啊!

3.功能效能不足

动物源抗体临床应用的障碍

- 抗体的功能区是**有**
种属特异性的：

鼠源性的抗体Fc段不能有效的激活人的补体，也不能和人的免疫细胞有效互动



总结：鼠抗体治疗存在的问题及对策

问 题

- 异源蛋白导致产生抗抗体，影响靶向性和效果在体内被清除速度快
- 靶部位摄取的量太低
- 效应功能弱
- 价格昂贵

对 策

- 抗体人源化或制备人源抗体
- 改变抗体分子大小
- 连接毒素、放射性同位素、药物
- 生物反应器。体外大规模体系生产

四、基因工程抗体的研制策略

01 获取特异性抗体基因

针对某一抗原，某一靶位，获得相应的基因编码序列，用于基因工程操作和后续的功能改进；

02 人源化改造

降低抗体的鼠源性特征，减弱HAMA效应的影响，提高抗体的体内半衰期；

03 小型化改造

在保有抗体特异性结合抗原能力的基础上，降低抗体的分子量，并在结构上帮助抗体拥有更高的穿透力；

04 功能化改造

根据实际应用需要，赋予抗体更多的功能和应用场景；

第 参 节

怎么制备基因工程抗体

问题3：

一、基因工程抗体基本概念

非免疫学方式获得的抗体

基因工程抗体 (genetic engineering antibody)

- **基因工程的目的**：使抗体变得更加完美，更适合实际使用。
- **定义1**：根据不同的目的和需要，利用DNA重组技术或蛋白质工程技术，在**基因水平上**对抗体分子进行加工、改造和重组装配，然后导入受体细胞进行表达产生的抗体分子。也称**第三代抗体**。





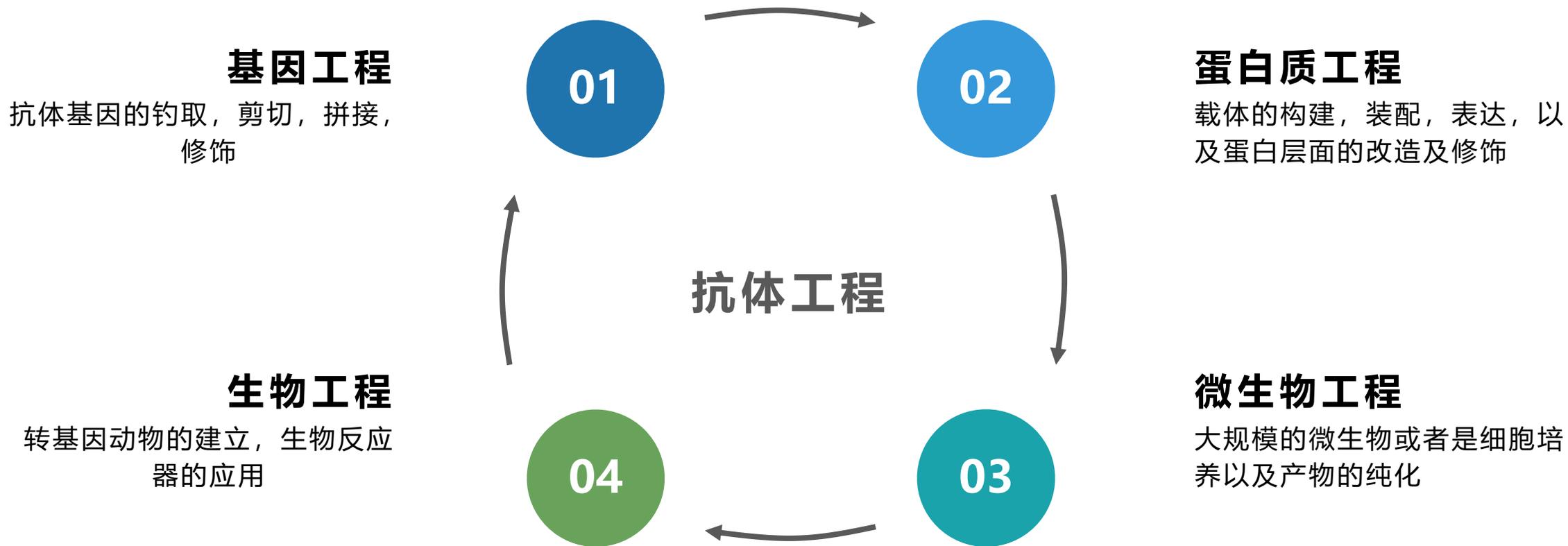
应用于体内治疗的 基因工程抗体

- - - 抗体工程药物的概念

又称**抗体药物**、单克隆抗体治疗剂、抗体治疗剂。

定义2：为了适应实际应用中对抗体的更高要求，通过细胞工程或基因工程方法制备，用于治疗的单克隆抗体、抗体片段、基因工程改造的抗体，以及抗体免疫偶联物或抗体融合蛋白，称为抗体工程药物。也被称为基因工程抗体。

基因工程抗体的技术基础



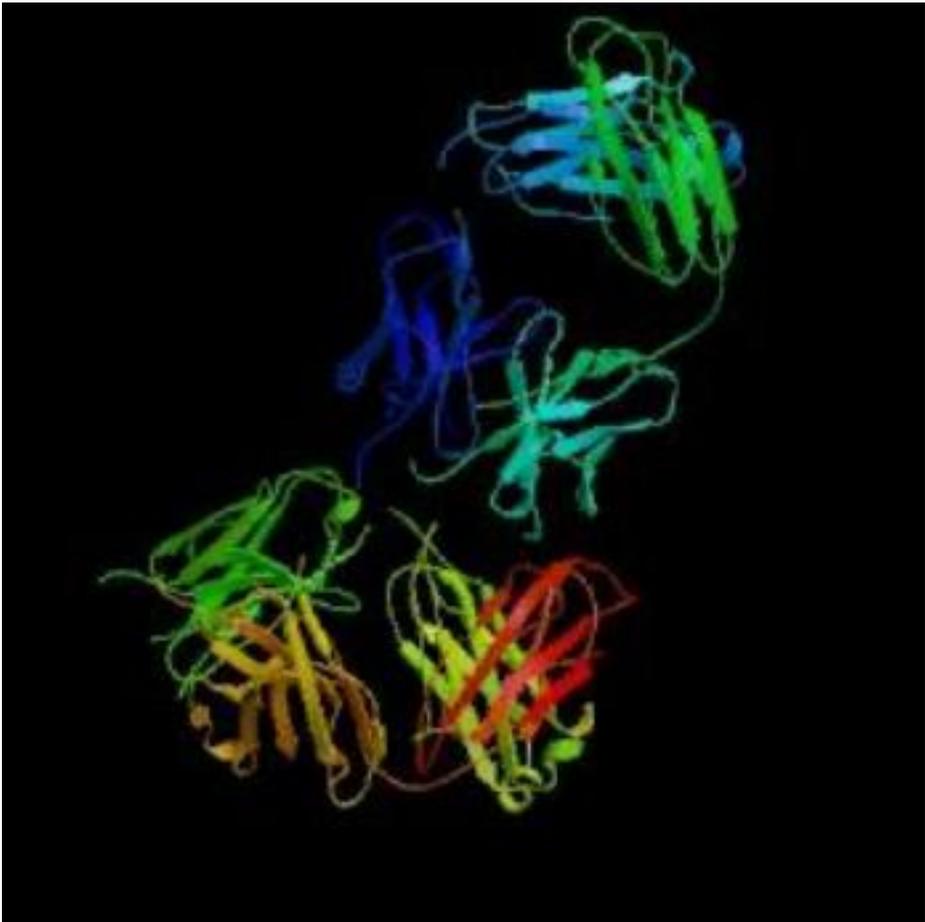
为了生产更物美价廉的抗体

多种工程模块的整合



通过基因工程手段实现抗体的
体外表达和功能改造

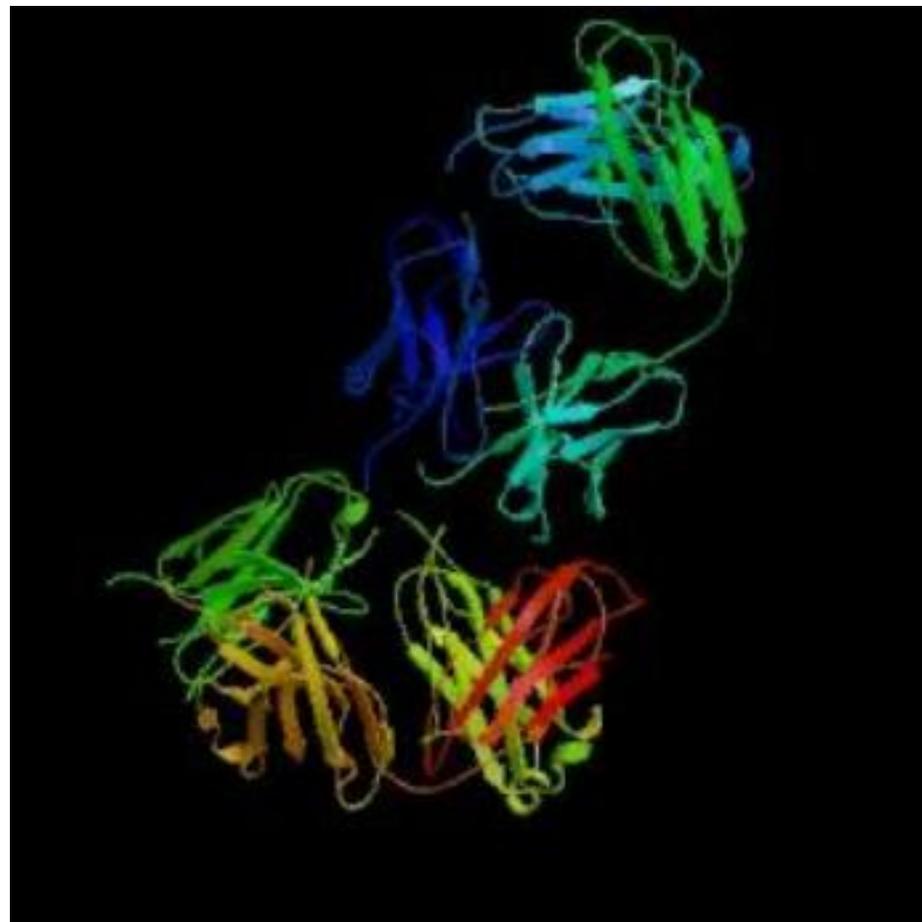
利用微生物的特性建立经济
高效的生产体系



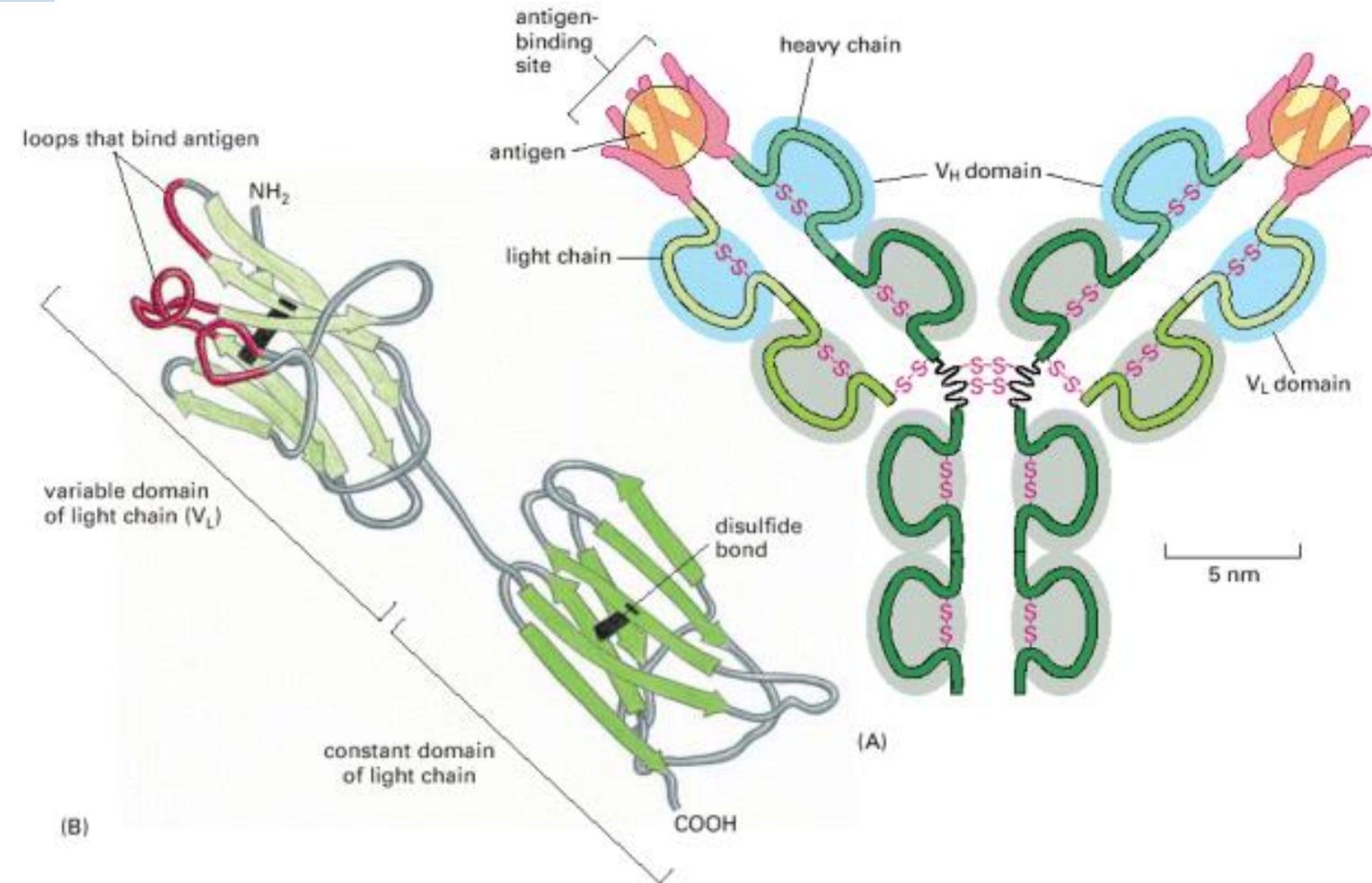
二、抗体基因的钓取

1. 抗体分子结构与 抗体可变区的 克隆

logo



(一) 抗体结构复杂性



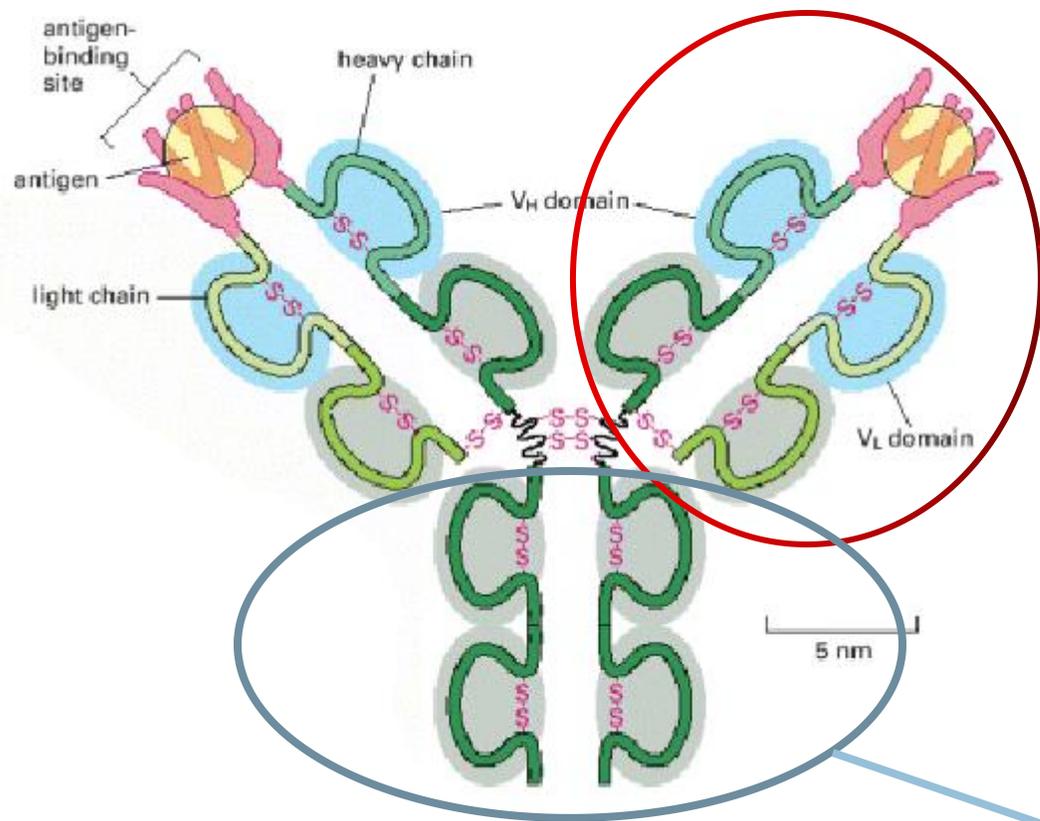
抗体的基因根据功能分为两类：

V区：抗体识别抗原,并且能够与抗原相结合的机能,这些是抗体可变区(V区)的机能;

C区：抗原结合的抗体能够引起一系列的生理活性,这些是抗体恒定区(C区)的机能。

V区和C区均位于基因组的不同位置。

抗体的结构分类：



V区:
 VL: V、J
 VH: V、D、J

功能区位置	主要功能
C _H 1 ~ 3和C _L	Ig遗传标志所在
C _H 2(IgG)、C _H 3(IgM)	C1q结合部位
C _H 2 ~ C _H 3(IgG)	结合并通过胎盘
C _H 3(IgG)	FcγR结合部位
C _H 4(IgE)	FcεR结合部位

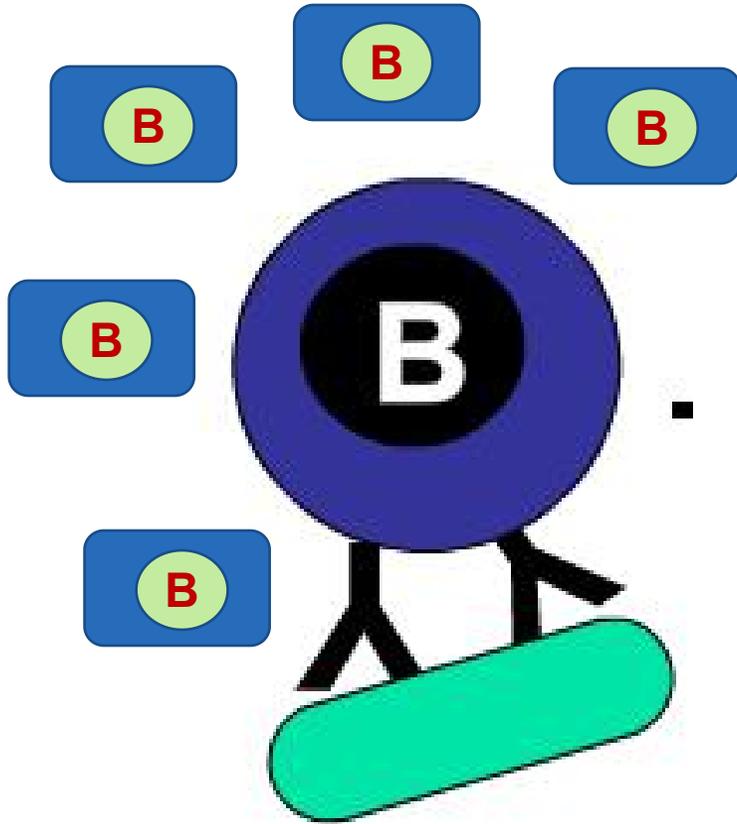
(一) 抗体结构复杂性

V区按结构还可以细化：

可变区中**互补决定区CDR** 具有很大的变异性，其余部分**骨架区FR** 保守。



抗体基因的储存模式：



抗体基因存储在大量的**B细胞克隆**中

每个B细胞克隆保存一种抗体的编码序列

遇到抗原时，能识别抗原的B细胞克隆获得扩增和亲和力成熟。

所有的B细胞都存在体内的血液和免疫器官内，**我们需要把针对某一抗原，特异性和敏感性最好，亲和力最高的B细胞克隆找出来，作为我们钓取抗体基因的模板。**



2. 如何选取钓取抗体基因的模板

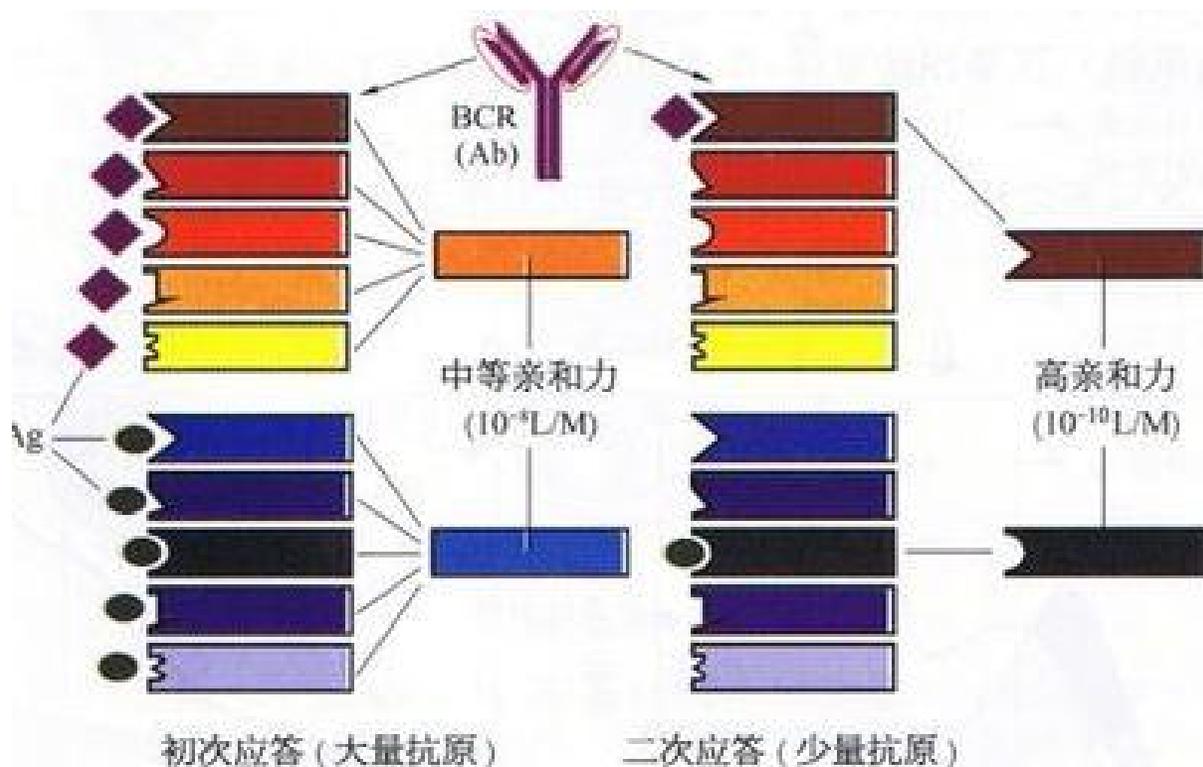
- ✓ 特异性杂交瘤细胞系
- ✓ 抗体基因文库



目的基因的获取

从 10^{10-14} 的可能性中获得高亲和力的有效抗体基因，是一件难度很大的尝试。

针对某一特定抗原的特异性抗体的编码序列，**无文献可以查阅**



针对某一特定抗原的特异性抗体的编码序列，**无明确的获得渠道**





如何将特异性克隆挑选出来？

基因多样性对于目的基因的获取意义重大！

获取目的基因的两个思路：

1. 用RT-PCR方法从杂交瘤细胞的mRNA中扩增VH及VL基因。
 - ① 已经通过动物的免疫系统完成了亲和力成熟
2. 用探针或者PCR从基因文库中钓取；
 - ① 通过人工建立基因文库，涵盖尽可能多的抗体基因用于筛选



思路一：从单克隆杂交瘤细胞系中提取抗体基因

通过**抗原反复筛选**，比对后，选择特异性和亲和力最好的**杂交瘤细胞**系作为钓取抗体基因的模板。



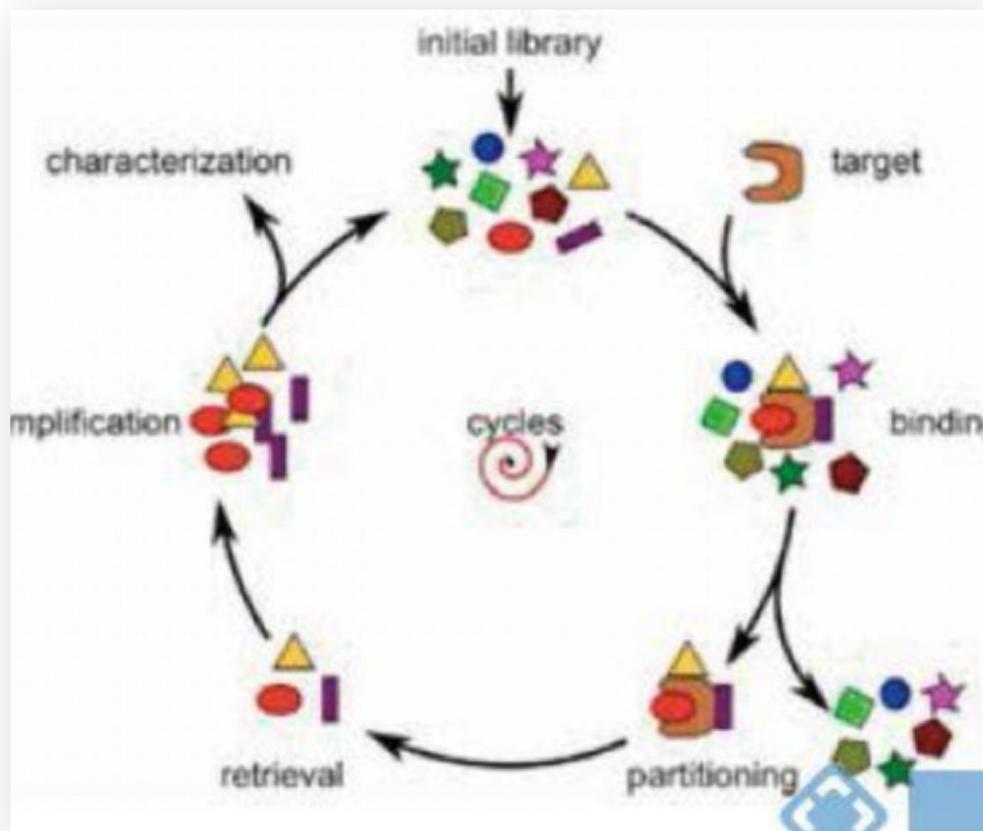
思路一：从单克隆杂交瘤细胞系中提取抗体基因

优点：简单，直接，方法简单

缺点：你必须先获得针对某一种抗原的高亲和力单克隆抗体生产细胞株。只分泌单一抗体，限制了各种特异性抗体的选择范围。

- 用RT-PCR方法从**单克隆抗体生产细胞**的mRNA中扩增VH及VL基因。
- 对于**单克隆抗体生产细胞**来说，它仅仅产生一种抗体，所以，它的抗体基因，针对一种抗原，一个表位编码，具有极高的特异性。
- 因此，针对某一抗原生产基因工程抗体，可考虑直接从高亲和力的单克隆抗体生产细胞中直接克隆。

思路二：基于抗体文库模拟体内抗体克隆筛选的过程



- 针对Ig基因的多样性，建立抗体库，包含可能的Ig基因的所有信息，并将信息片段化和克隆化。
- 抗体库代表了B细胞受体基因重排所形成的抗体分子多样性或抗体基因多样性的总和。



思路二：基于抗体文库模拟体内抗体克隆筛选的过程

优点：不针对特定抗原，不需要免疫，不需要获得高特异性单克隆抗体株。可针对免疫原性低的抗原产生抗体。

缺点：建立一个具有完备性的抗体库是不容易的。未经免疫的B细胞包含基因信息丰富，但是每种基因信息丰度都很低，获取难度大，筛选困难多，初次应答的特征明显。

- 基于文库筛选后获得的克隆进行进一步的探针钓取，或者PCR钓取。
- 往往难以一次性获得高亲和力和高特异性的抗体基因





3.如何扩增抗体基因

- ✓ 引物的设计位置
- ✓ 简并引物的应用
- ✓ 引物设计的基本原则
- ✓ 恒定区的基因钓取

RT-PCR法的关键： 引物设计的位置

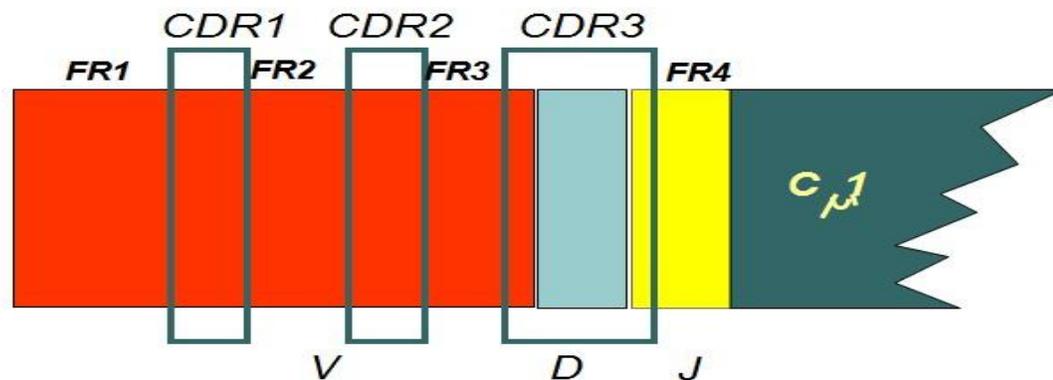
无法预知抗体序列，
所以只能根据已知的
恒定区序列设计引物。

参考Kabat数据库中免疫球
蛋白的**保守序列设计引物**。

避开抗体可变区，
选取保守的序列 J链或恒定区

5'末端：第一骨架
区或引导肽序列

● 3'末端：保守
的恒定区或J链
区



简并引物的应用

即使是抗体的恒定区，依旧存在多种的可能性，因此要设计**简并引物**。

简并碱基代码

代码	碱基	代码	碱基
R	A, G	Y	C, T
K	G, T	S	G, C
M	A, C	W	A, T
B	G, C, T	V	A, G, C
D	A, G, T	H	A, C, T
N	A, G, C, T		

- 简并引物中必定有一种引物可以和该基因的DNA序列精确互补。
- 简并引物（degenerate primers）是指碱基序列不同，但有相同碱基数的一组针对某一基因相同区域的寡核苷酸混合物。



克隆可变区基因常用的引物

克隆鼠 κ 轻链可变区所用的部分引物

序号	序列	序号	序列
1	5' ATGAAGATTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTG	7	5' ATGGGCWTCAAAGATGGAGTCACAKWYYCWGG
2	5' ATGGAGWCAGACACAACCTCCTGYTATGGGTG	8	5' ATGTGGGGAYCTKTTTTYCMTTTTTCAATG
3	5' ATGAGTGTGCTCACTCAGGTCCTGGS TTG	9	5' ATGGTRTCCWCASCTCAGTTCCTTG
4	5' ATGAGGCCCTGCTCAGWTTYTTGGMWTCTTG	10	5' ATGTATATATGTTTGTGTCTATTTCT
5	5' ATGGATTTWCAGGTGCAGATTWTCAGCTTC	11	5' ATGGAAGCCCCAGCTCAGTTCTCTTCC
6	5' ATGAGGTKCY YTGYTSAYCTYCTCTGRGG	12	5' ACTGGATGGTGGGAAGATGG

注：W = A/T；Y = C/T；S = C/G；R = A/G；K = G/T；最后一条引物在鼠 κ 轻链恒定区内，其余的都是在 κ 轻链可变区引导肽序列内。

克隆鼠重链可变区所用的部分引物

序号	序列	序号	序列
1	5' ATGAAATGCAGCTGGGGCATSTTCTTC	9	5' ATGGMTTGGGTGTGGIMCTTGCTTATTCCTG
2	5' ATGGGATGGAGCTRATCATSYTCTT	10	5' ATGGGCAGACTTACCATTCTCATTCTG
3	5' ATGAAGWTGTGGTAAACTGGGTTTTT	11	5' ATGGATTTTGGGCTGATTTTTTTTATTG
4	5' ATGRAC TTTGGGYTCAGCTTGR TTT	12	5' ATGATGGTGTAAAGTCTTCTGTACCTG
5	5' ATGGACTCCAGGCTTCAATTTAGTTTTCCCT	13	5' CAGTGGATAGACAGATGGGGG
6	5' ATGGCTTGTCTY TRGSGCTRCTCTTCTGC	14	5' CAGTGGATAGACCGATGGGGG
7	5' ATGGRATGGAGCKGGRGTCTTTMTCTT	15	5' CAGTGGATGAGCTGATGGGGG
8	5' ATGAGAGTGCTGATTCTTTTGTG	16	5' CAAGGGATAGACAGATGGGGC

注：W = A/T；Y = C/T；M = A/C；K = G/T；R = A/G；S = C/G；最后四条引物在鼠 γ 恒定区，其余的引物都在可变区引导肽序列内。

引物设计的 注意事项

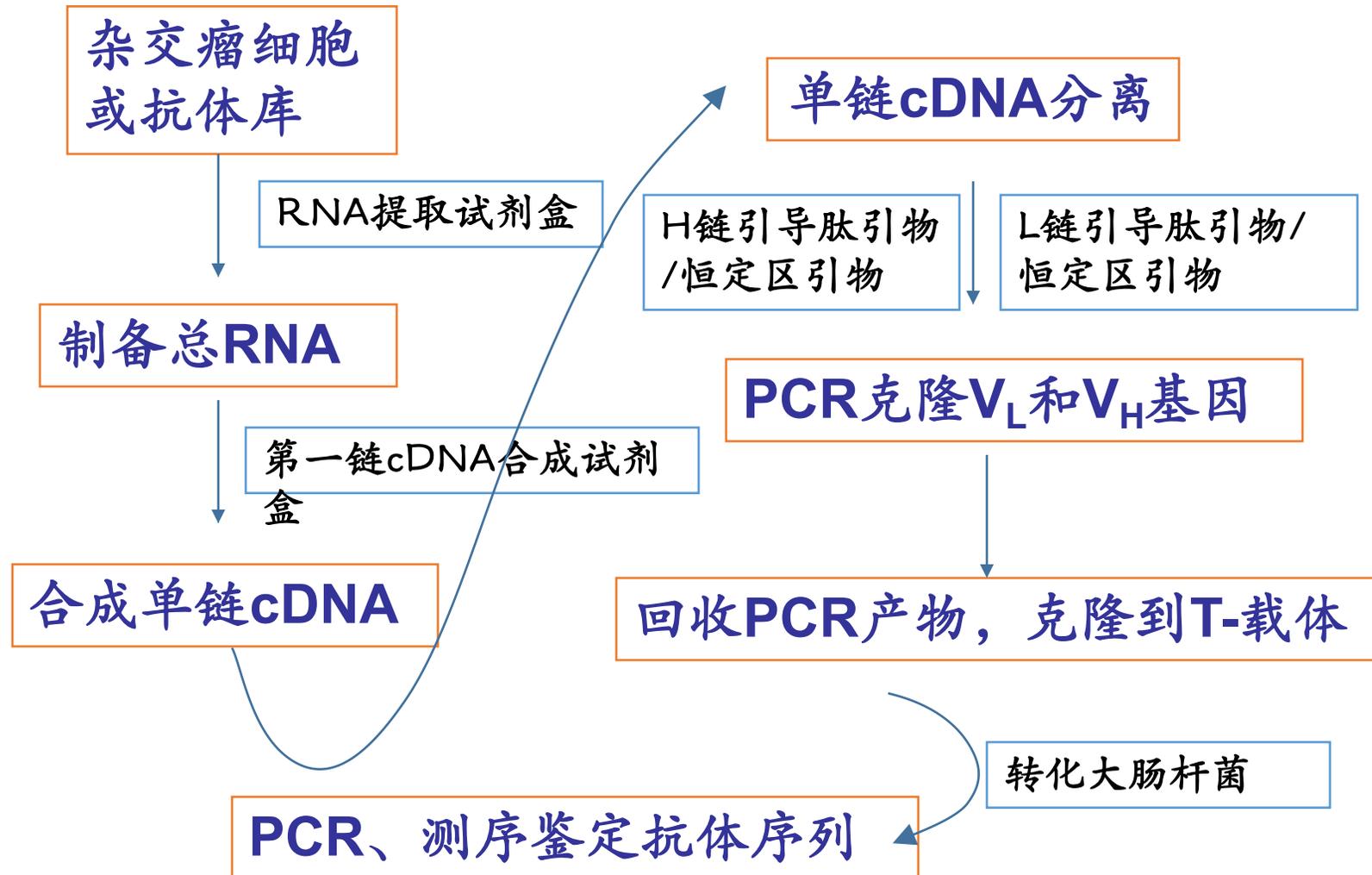
01 引物的末端一般应包含有一个**内切酶位点**

02 内切酶位点的外侧一般加若干个**保护碱基**。

03 • 尽量采用引导肽部分的引物。
方便进行下一步载体的构建



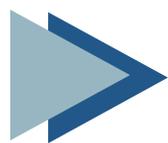
PCR克隆可变区基因的操作流程



抗体恒定区基因的钓取

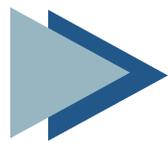
FC段类型的选择

首选IgG1



活化补体能力

IgM > IgG1 > IgG3 > IgG2



ADCC作用

IgG1 > IgG3



与Fc受体结合能力

IgG1、IgG3 > IgG4、IgG2



ADCC + CDC

IgG1



抗原结合功能

IgG2、IgG4



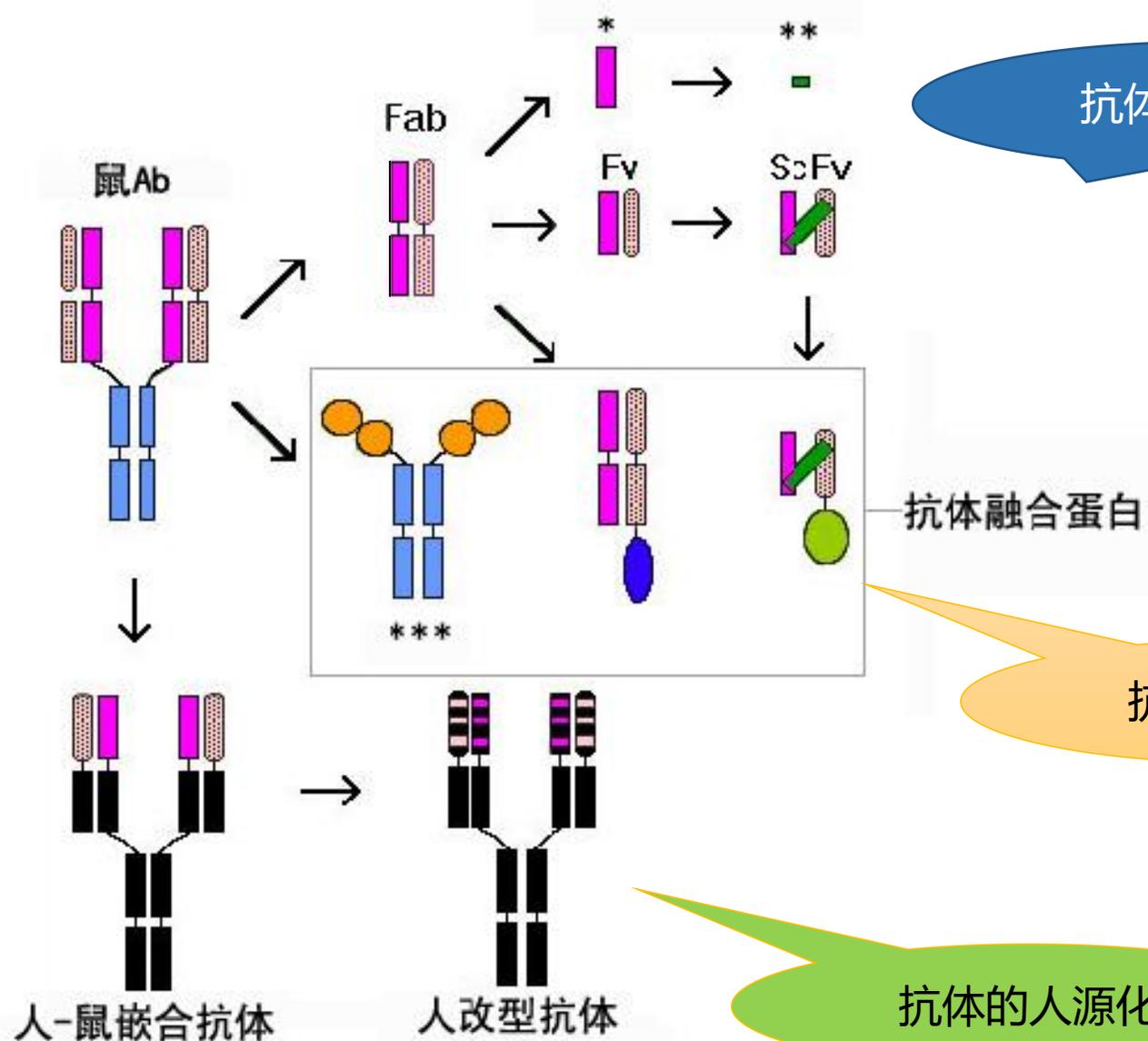


4. 抗体基因的修饰和拼接

基于我们的生产目标，对抗体基因进行进一步的修饰和拼接，产生我们所需要的生产性能。

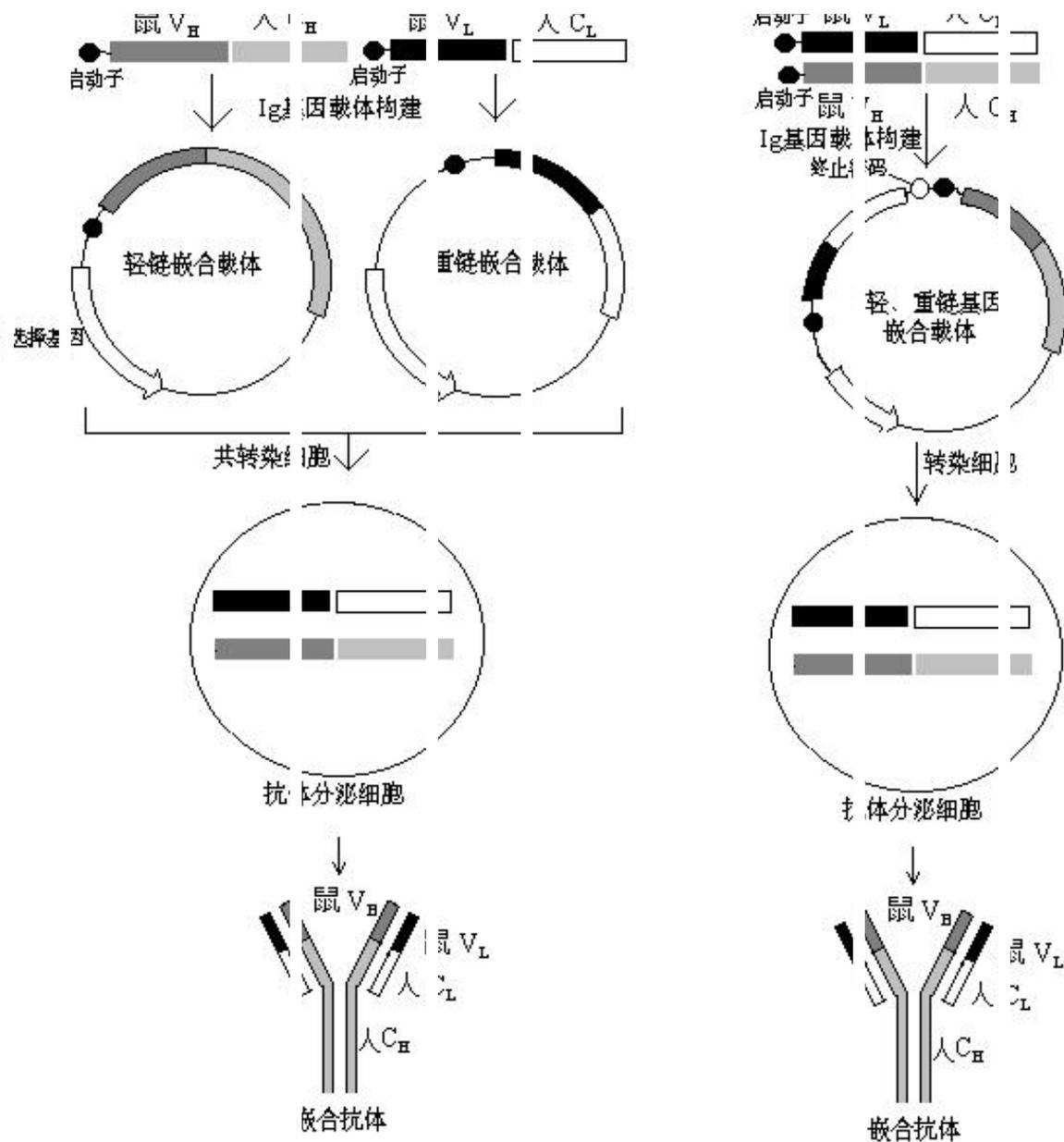


4. 抗体基因的修饰和拼接

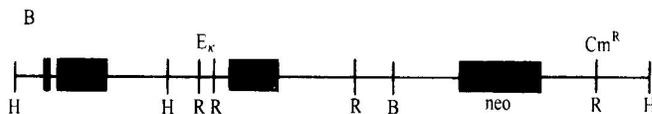
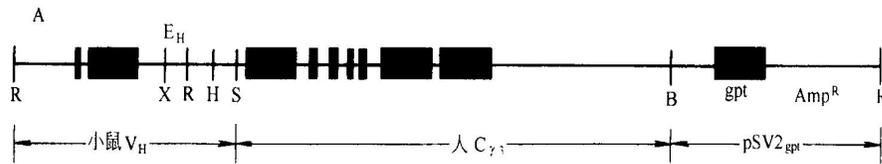


5. 表达体系的构建

共转染模式和单载体转染模式



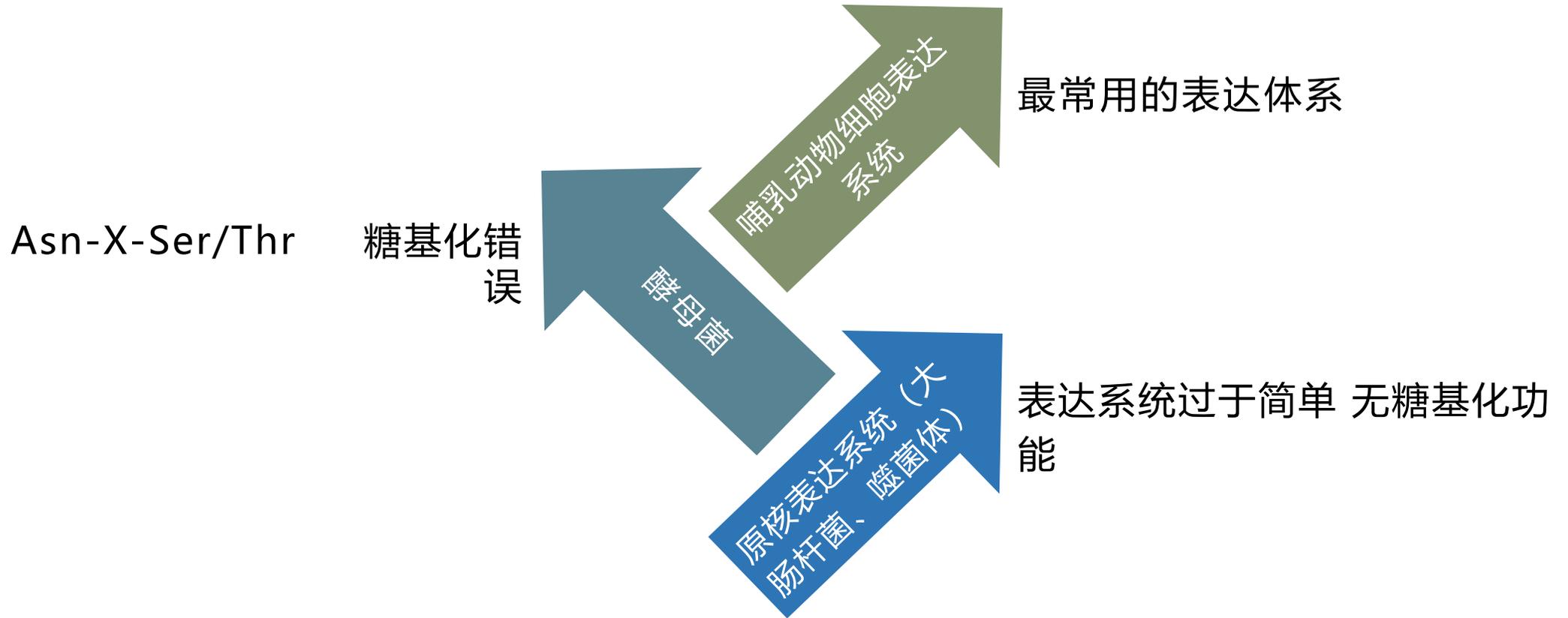
5.1 表达载体的要求 (真核为例)



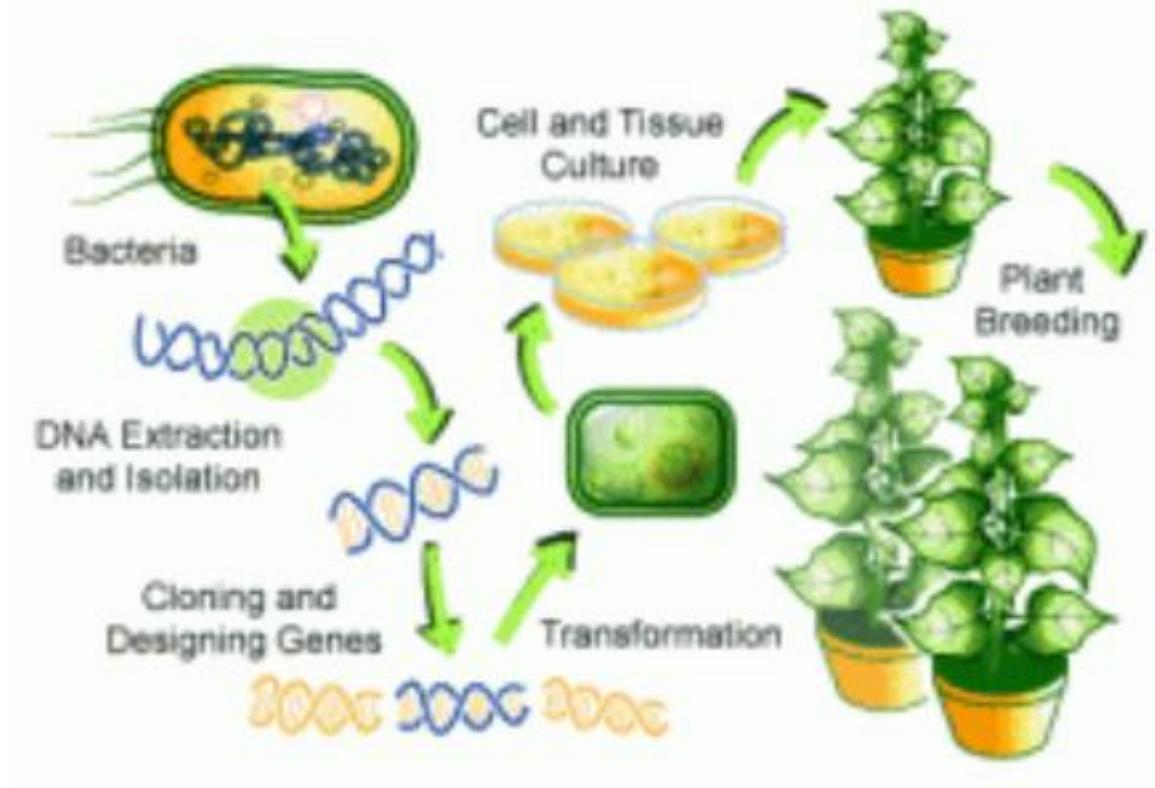
- **强启动子**
 - CMV、EF-1 α
- 真核细胞选择性的**mRNA翻译和翻译后加工信号**
 - Kozak序列、翻译终止密码子、mRNA切割及加尾信号、mRNA剪切信号
- **转录终止子**
- **原核启动子和筛选标志**
- **真核表达筛选标志**
 - DHFR (二氢叶酸还原酶)、CS (谷氨酸合成酶)



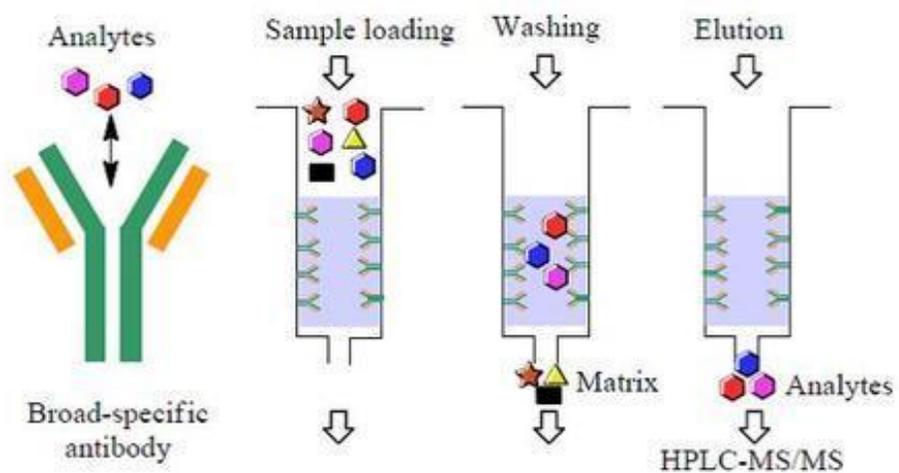
5.2. 表达系统的选择



昆虫细胞表达系统和烟草表达系统



6. 抗体的纯化和性能鉴定



亲和力的评定
滴度分析
功能评价



复习参考题：

为什么要制备基因工程抗体？

答案：

一. 从使用上来看：

- 使用范围更广；
- 功能更强大；

二. 从价格和获取方式上来看：

- 获取更便利
- 价格更低廉

复习参考题：

制备基因工程抗体的优势目的：

- 通过基因工程技术的改造，可以最大程度降低抗体的鼠源性，降低甚至消除人体对抗体的排斥反应。
- 基因工程抗体的分子较小，穿透力强，更易到达病灶的核心部位。
- 可以根据治疗的需要，制备多种用途的新型抗体。
- 可以采用原核细胞、真核细胞或植物等多种表达系统大量生产抗体分子，成本大大降低。

复习参考题：

基因工程抗体的研制策略

鼠抗体的人源化及人源抗体制备技术

- 鼠抗体的人源化

 - 嵌合抗体

 - 改型抗体

 - 表面重塑抗体

- 人源化抗体技术

 - 抗体库技术

 - 转人Ig基因小鼠技术

抗体的功能化改造

 - 小分子抗体

 - 抗体融合蛋白

 - 双功能抗体

 - 抗体偶联毒素

复习参考题：

一. 基因工程抗体的基本步骤：

激活细胞/cDNA库的建立-----探针/PCR钓取可变区基因-----可变区
基因工程改造-----与恒定区相连（可选）-----插入载体-----真核表达
-----鉴定。

总技术流程

基因工程抗体技术流程

基因克隆: 从人或其他源中分离出感兴趣的抗体基因。 通过PCR扩增或合成目标抗体的可变区 (VH和VL) 和恒定区 (CH和CL) 基因片段。 将这些基因片段进行连接、测序等操作。

载体构建和转染: 将获得的抗体基因片段克隆至适当的表达载体中, 如质粒或表达向量。 将构建好的载体转染至宿主细胞, 常用的宿主细胞包括CHO细胞、HEK293细胞等。

细胞培养和表达: 将转染后的细胞培养在适宜条件下, 如使用培养皿、摇瓶或生物反应器等。 监控细胞生长和抗体表达情况。

表达和纯化: 在细胞培养过程中, 抗体会被表达出来并积累在细胞内或培养基中。 通过细胞破裂、离心和过滤等步骤分离出抗体。 使用柱层析 (如亲和层析、离子交换层析、凝胶过滤等) 进一步纯化抗体, 去除杂质。

筛选和鉴定: 对纯化后的抗体进行活性和亲和力等特性的鉴定。 通过不同的筛选方法 (如ELISA、流式细胞术等) 筛选出具有高活性和亲和力的抗体。

加工和贮存: 将鉴定出的高质量抗体进行必要的加工处理, 如添加稳定剂、调整pH等。 将抗体药物或试剂进行无菌过滤、分装, 并贮存在适当的条件下。

质量控制和释放: 对最终产品进行严格的质量控制检测, 包括纯度、活性、稳定性、无菌性等。 确保产品符合预定的质量标准和法规要求后, 方可释放用于临床研究或市场销售。



2. 抗体可变区基因克隆的注意事项

- 模板的选择：

杂交瘤细胞

- 只分泌单一抗体，限制了各种特异性抗体的选择范围。

B细胞天然基因库

- 未经免疫的B细胞包含基因信息丰富，但是每种基因信息丰度都很低，获取难度大，筛选困难多，初次应答的特征明显。

合成基因库

- 人工方法建立基因库，容量大，筛选容易，可以进一步进行亲和力的成熟和筛选。



谢谢聆听

单击此处添加副标题内容

