

抗体的小型化——小 分子抗体

2024

抗体工程研究所 陈瑶





基因工程抗体的发展方向

- 鼠抗体的人源化及人源抗体制备技术
- 改变抗体分子大小增强穿透性
- 增强抗体效应功能

主要内容

- 一. **小分子抗体的定义**
- 二. 小分子抗体的分类
- 三. 小分子抗体的优缺点
- 四. 小分子抗体的应用

一. 小分子抗体的定义

1. 抗体的结构与功能 CONTENTS

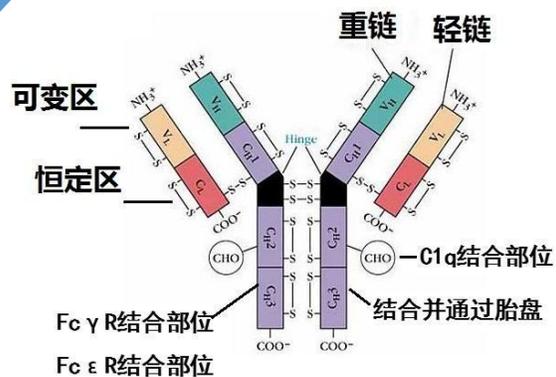
1

结构精密

2

体积庞大

150KD, 具有严密的Y型结构的超大蛋白质分子



抗体必须小型化!

抗体使用存在的问题:

- 分子量庞大;
- 对实体肿瘤器官穿透力弱。



150 KD

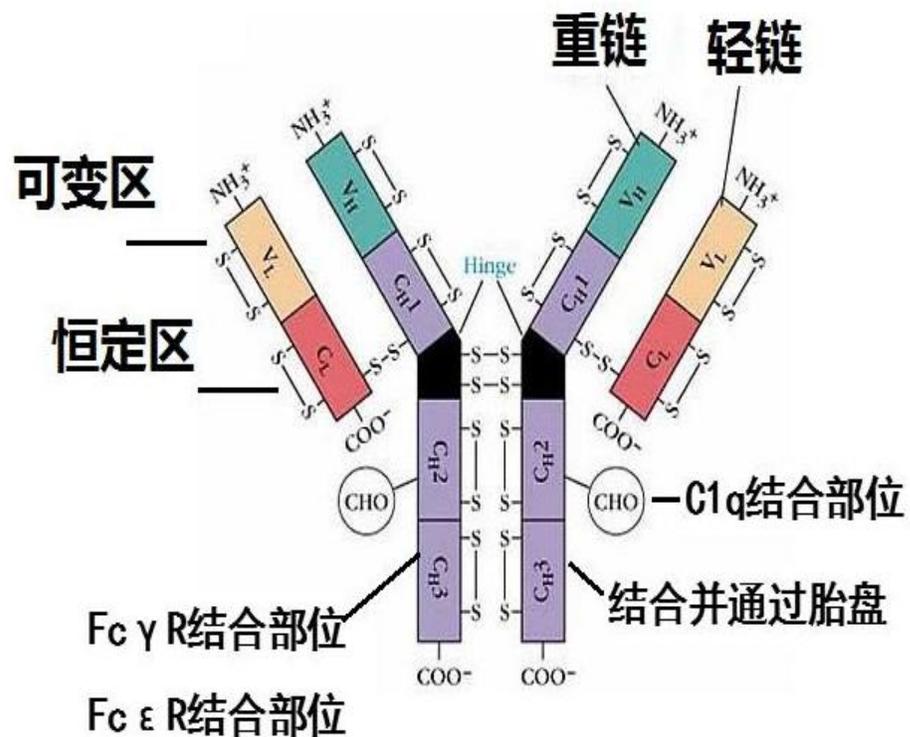
短小精悍

哪都能去



2.小分子抗体的设计目的:

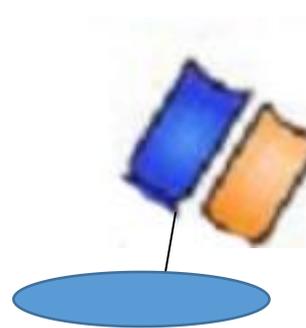
小分子抗体的设计和制备, 将抗体的功能片段化和专业化!



减少分子量

150KD-50KD-25KD-更小

独立化抗体与抗原特异性结合的能力



发挥特异性特长

完成专业任务

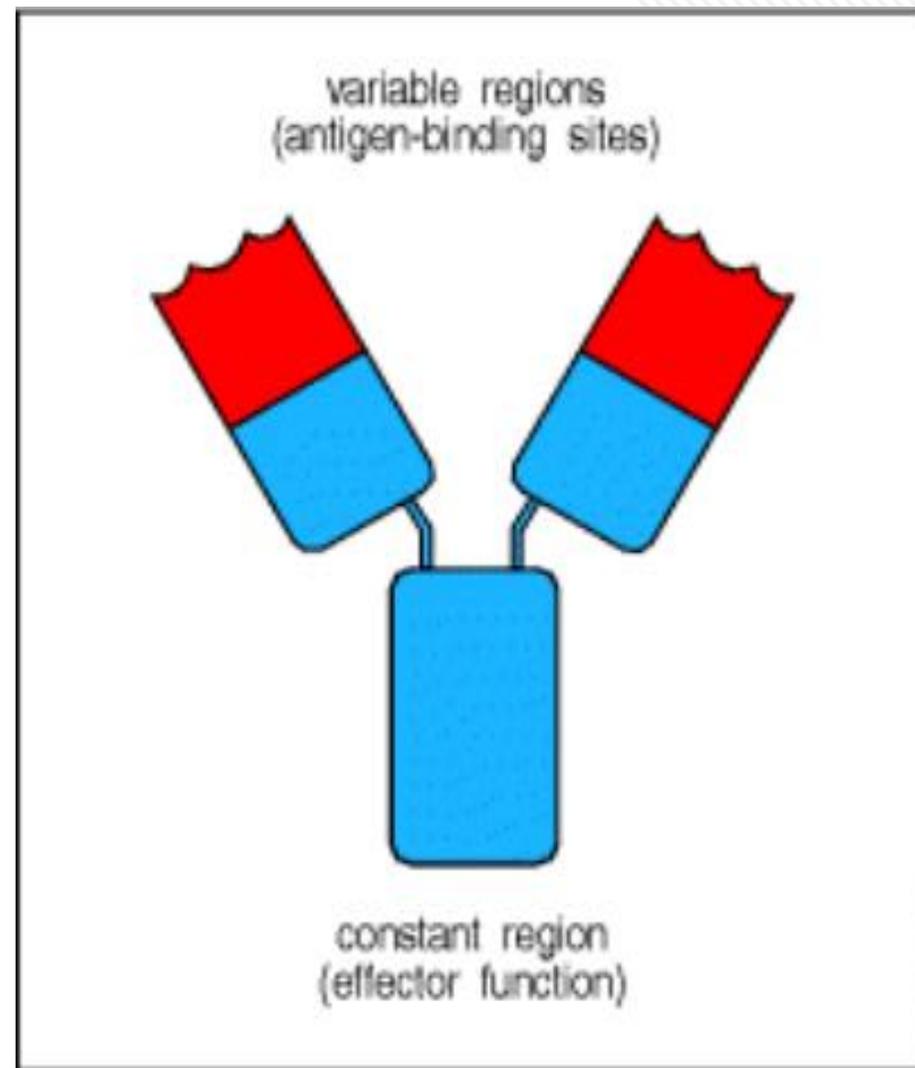
3. 抗体小型化

抗体的新概念

- 抗体分为“广义”的抗体和“狭义”的抗体
- 狭义的抗体：
 - 多克隆抗体和单克隆抗体，基本局限于细胞工程抗体的范畴（**二价四链**）
- 广义的抗体：
 - 具有抗原识别结合功能的物质皆可称之为抗体，包括大量小分子片段。

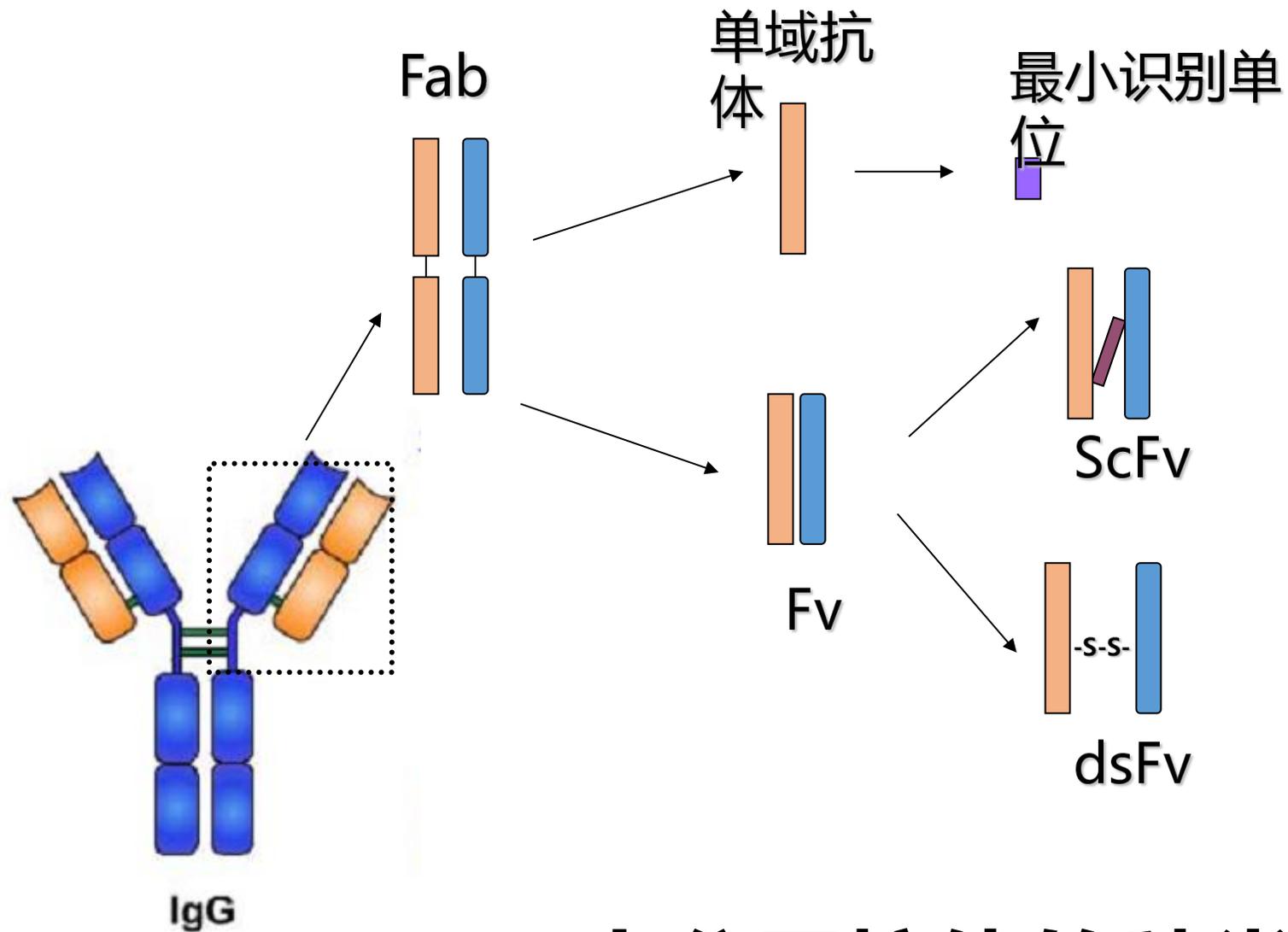
4.小分子抗体的定义

分子量较小的具有抗原结合功能的小分子片段，称为小分子抗体。



主要内容

- 一. 小分子抗体的定义
- 二. 小分子抗体的分类
- 三. 小分子抗体的优缺点
- 四. 小分子抗体的应用

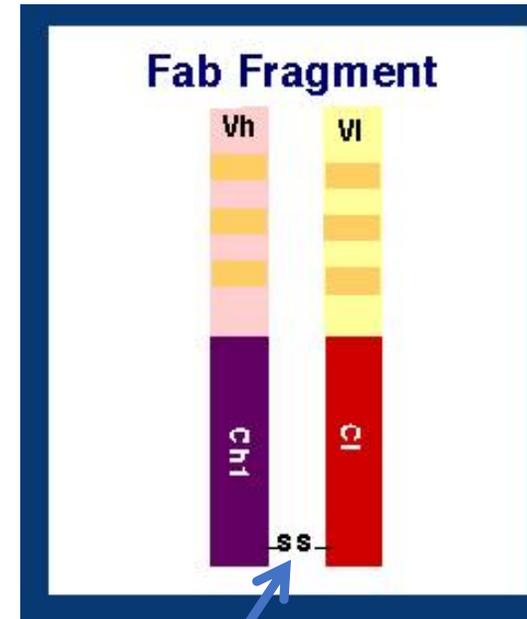


小分子抗体实际上就是利用基因工程手段从完整抗体中拆出与抗原结合能力的片段

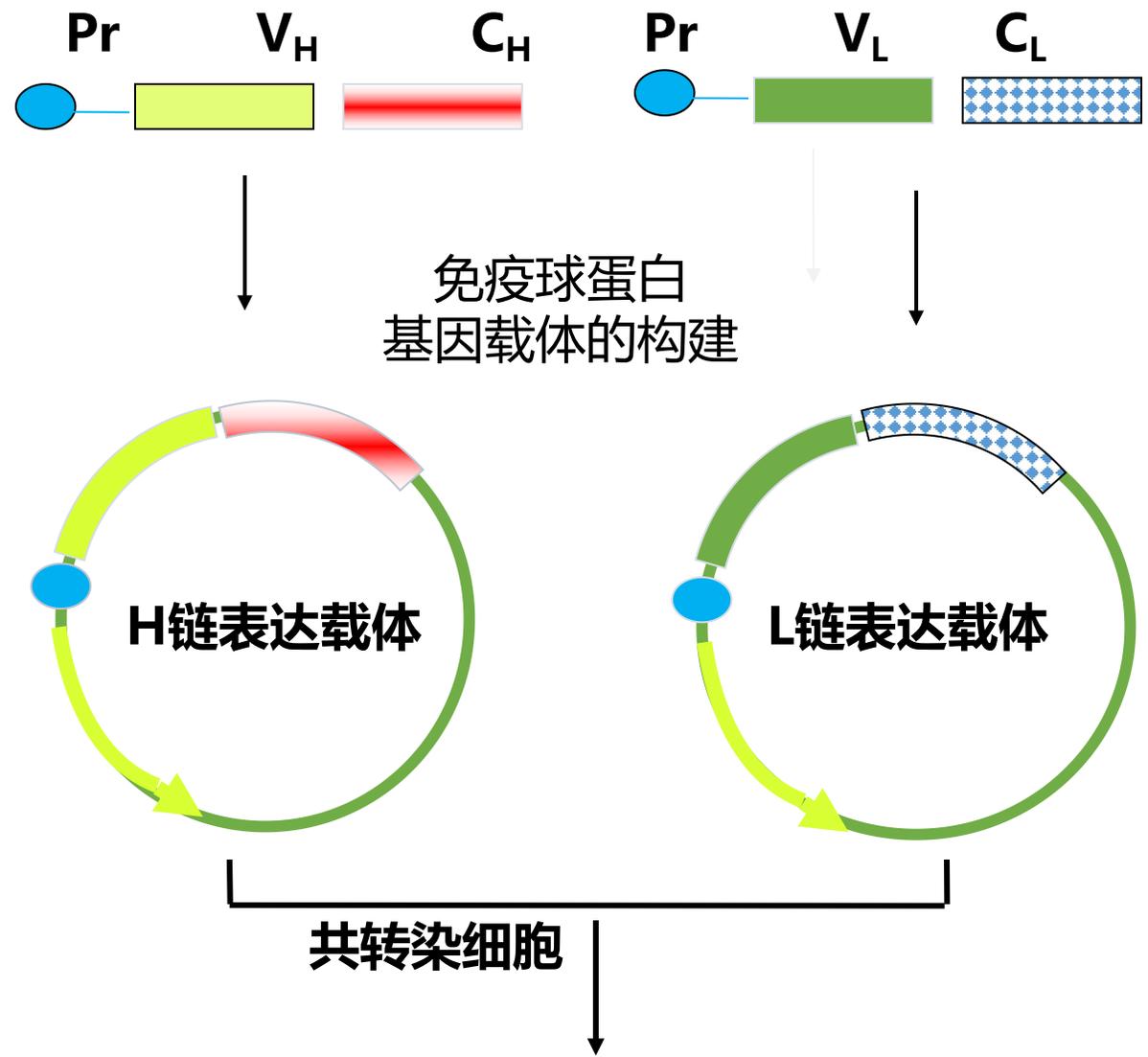
小分子抗体的种类

1. Fab段

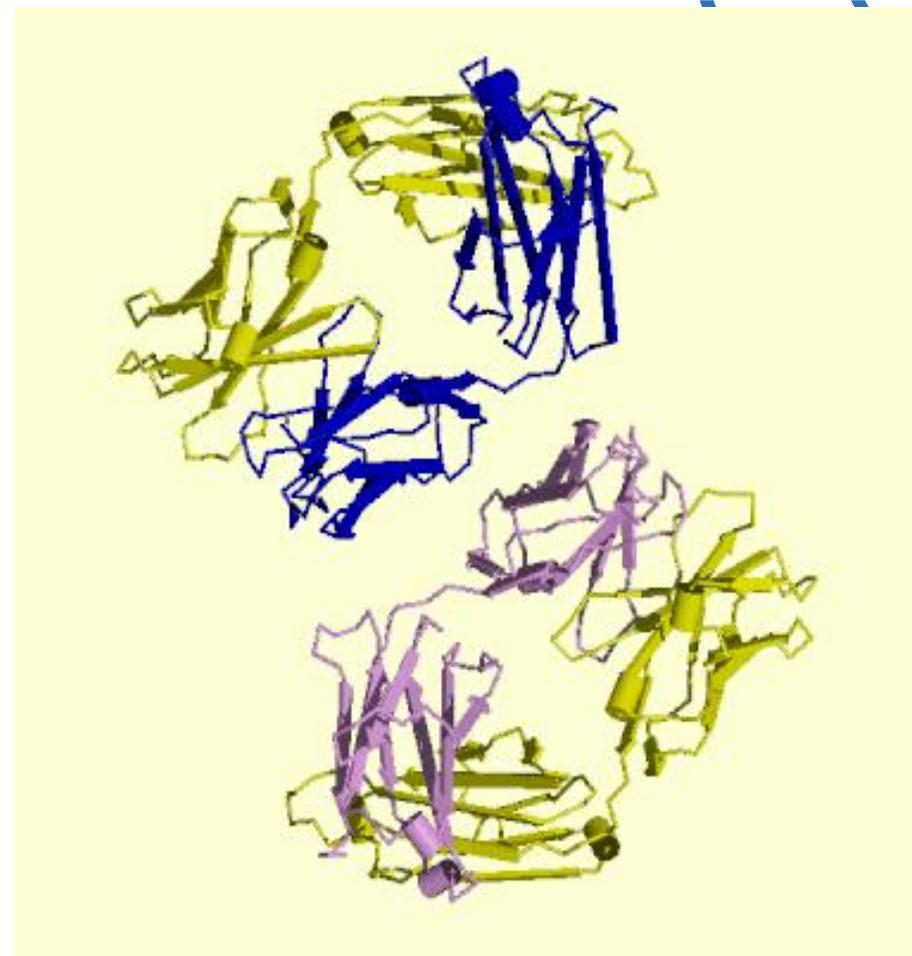
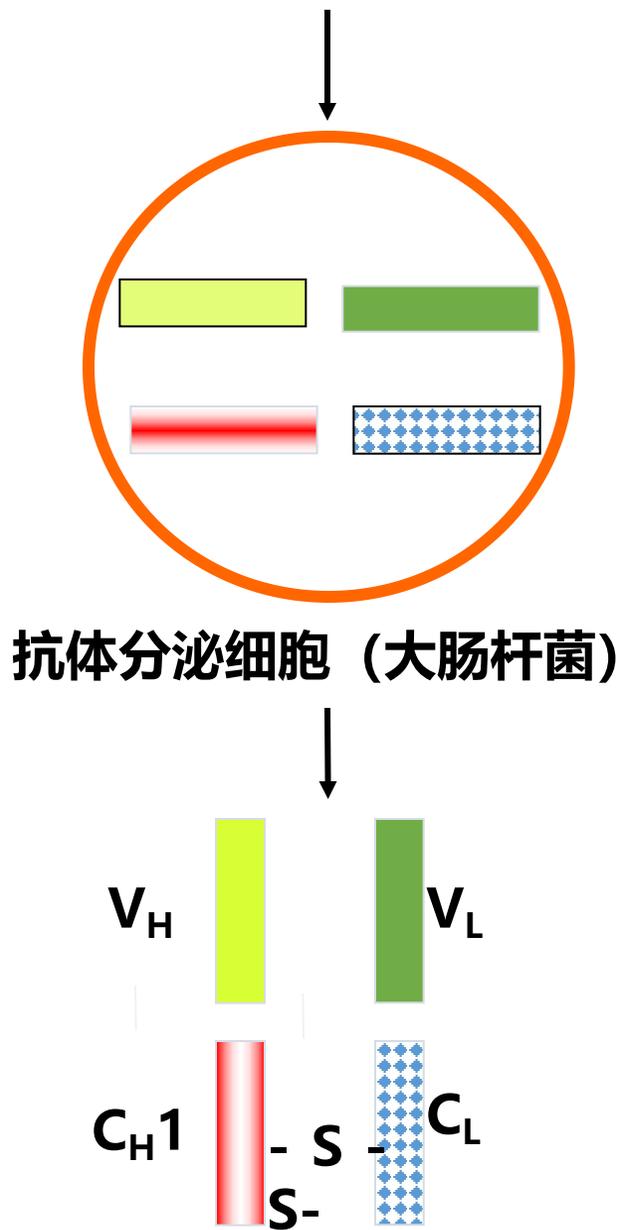
- **1.1定义:**
- **完整的轻链和Fd (VH + CH1) 组成**
- 分子结构稳定
- 主要发挥抗体的抗原结合功能
- 仅有一个抗原结合位点
- 分子量 ~ 50kDa
- 无Fc段, 适合免疫导向诊断和治疗



1.2 Fab 抗体分子的制备



Fab 抗体分子的制备



轻链重链的组合需要链间二硫键来装配

大肠杆菌组装Fab有一定的风险性

1.3 Fab 基因工程构建方法及其性能

来源和人源化：

人源化改造的鼠抗体，或者是来源于人源化噬菌体抗体库的筛选，以确保小分子抗体的人源化。

表达方式：

通过大肠杆菌以分泌表达的方式表达L链和Fd链，二者能在细菌的外周质腔中折叠成具有一定构象的Fab；

优势：

该Fab具有抗体的活性。因为其不含有Fc段、分子量小、结合力高、抗原性低，故在肿瘤治疗和诊断上有其优越性。

1

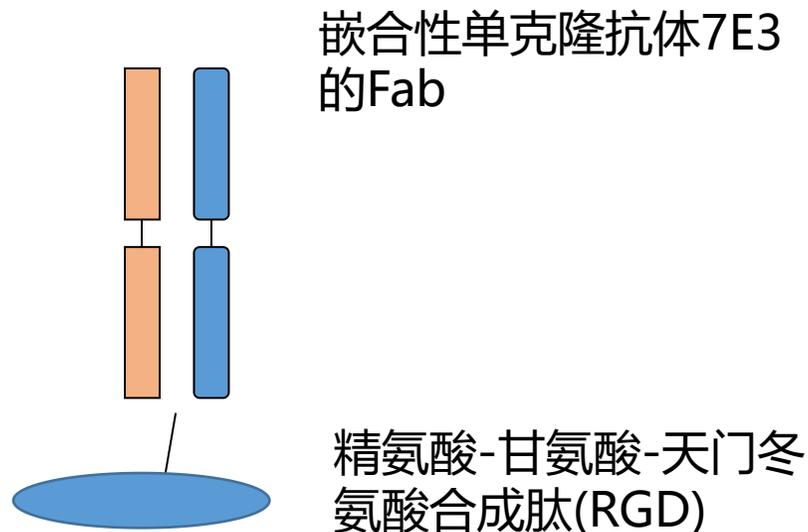
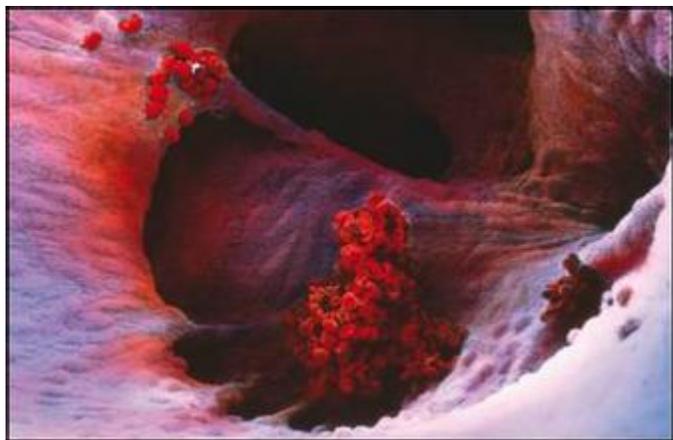
2

3

目前已有多个片段药物获得FDA批准上市。

1.4 Fab的临床应用

1) 阿昔单抗(abciximab, ReoPro)



靶点：血小板糖蛋白IIb/IIIa受体

作用机制：防止纤维蛋白原、血小板凝集因子(VWD)、玻璃体结合蛋白及纤维蛋白结合素与激活的血小板结合；

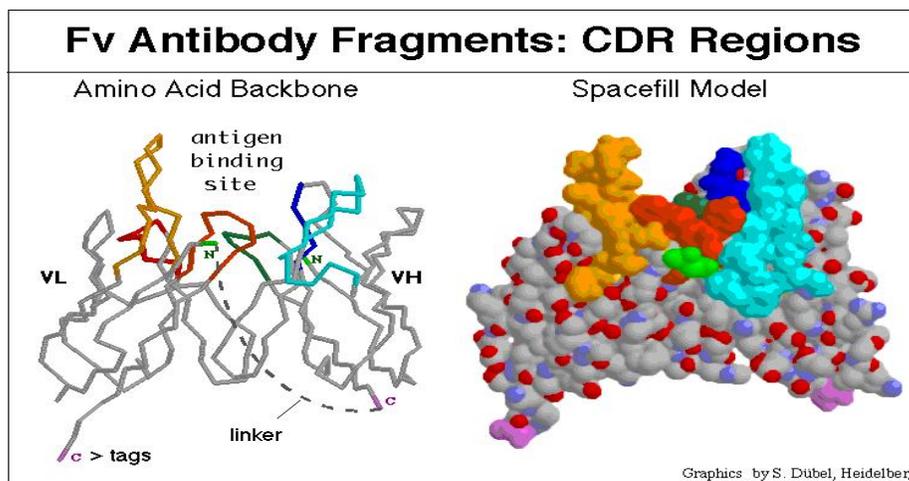
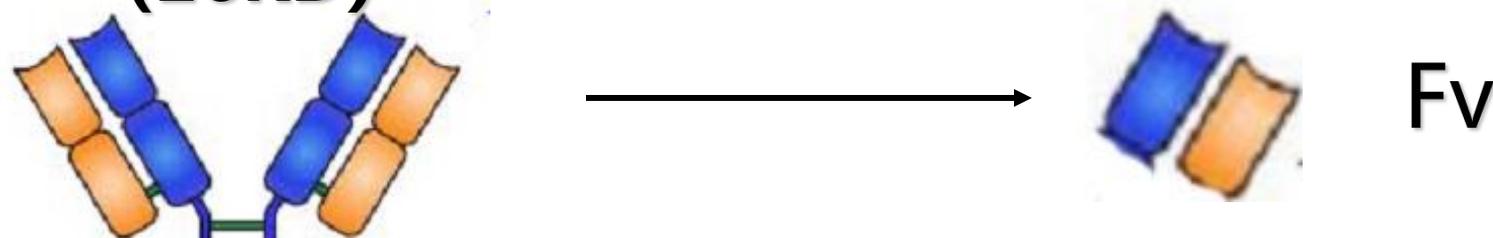
适应症：本品适用于经皮穿刺冠状血管成形术或动脉粥样化切除术，为防止病人突然发生冠状血管堵塞引起心肌急性缺血的辅助治疗

Fab的临床应用

- 一. 阿昔单抗(abciximab, ReoPro): 1994 年12 月FDA 批准的第一个重组Fab 片段, 该产品以血小板糖蛋白 II b / III a 为靶点, 用以防止血小板聚集及血栓形成, 作为冠状动脉导管插入术时预防心肌缺血的辅助用药, 取得了巨大的成功;
- 二. 兰尼单抗(Lucentis): 治疗黄斑变性, 2006 年获得FDA 的批准。
- 三. 赛妥珠单抗(cimzia): 克罗恩病和风湿性关节炎, 2008 年获得FDA 的批准。
- 四. Brolucizumab: 用于治疗与年龄相关的湿性黄斑变性 (AMD) , 2019 年获得FDA 的批准。
 - 鉴于极高的稳定性, 在临床研究中, Fab 占据了临床研发抗体片段的大多数(30 /54 种) 。

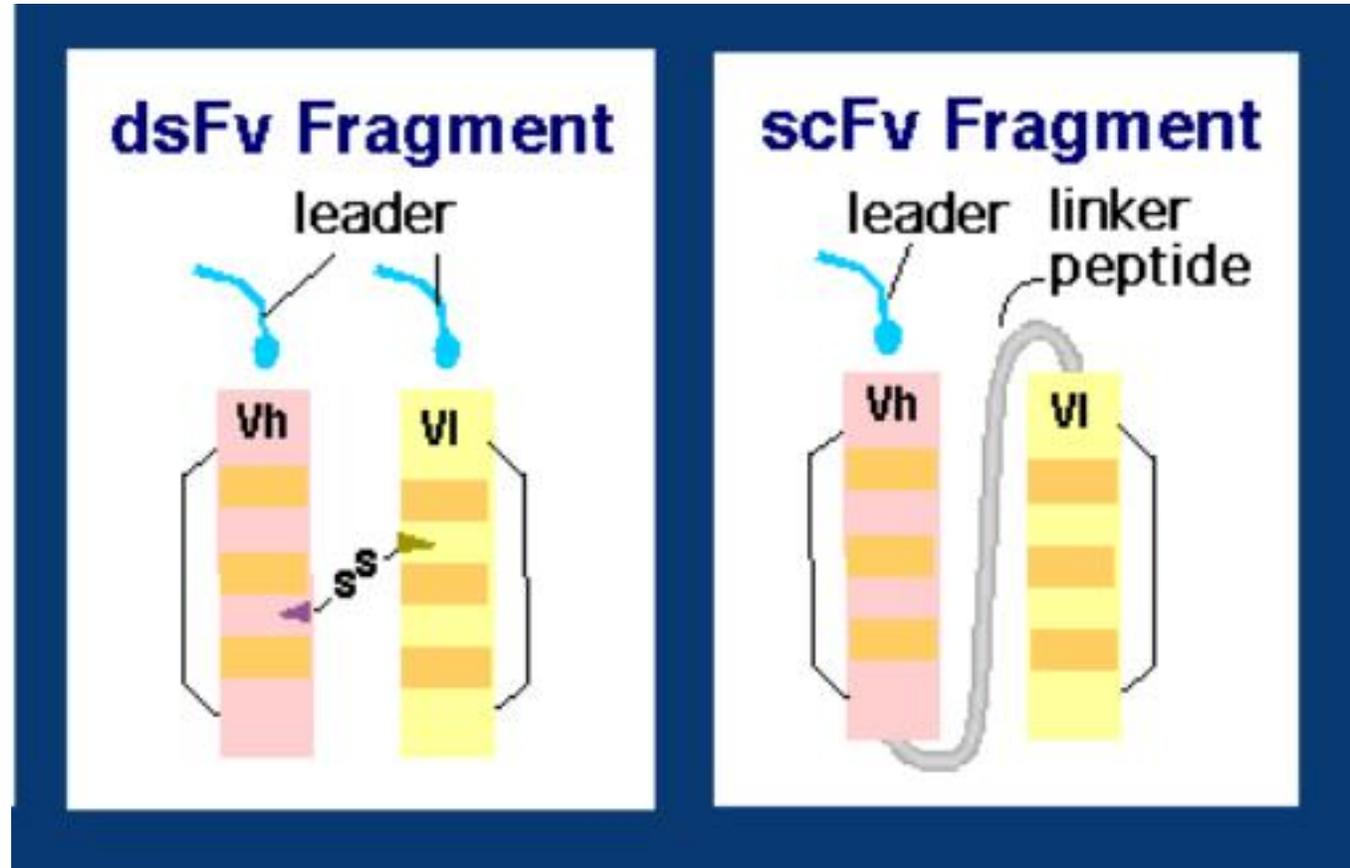
2.Fv段

- 2.1 定义
- Fv: 由重链可变区V_H和轻链可变区V_L组成。
(26KD)



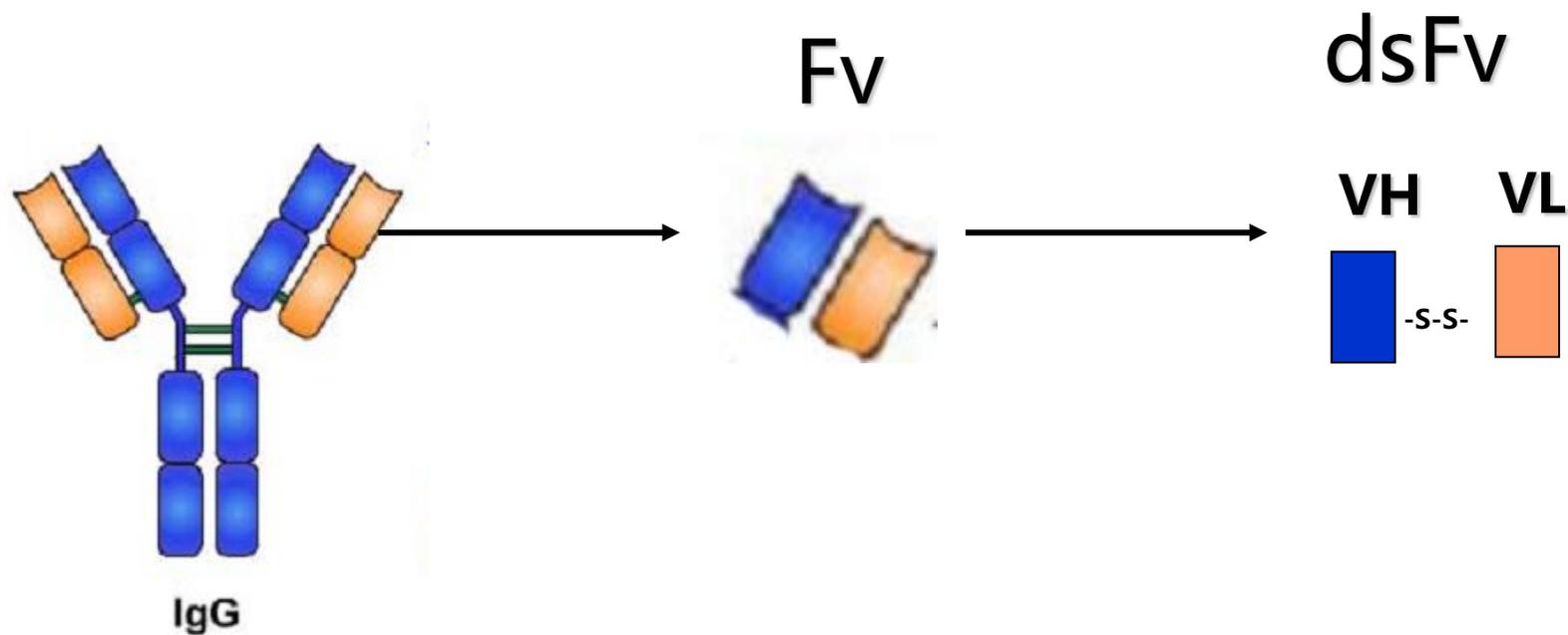
是含有完整抗原结合部位的最小抗体片段;

2.2 Fv 段稳定方式

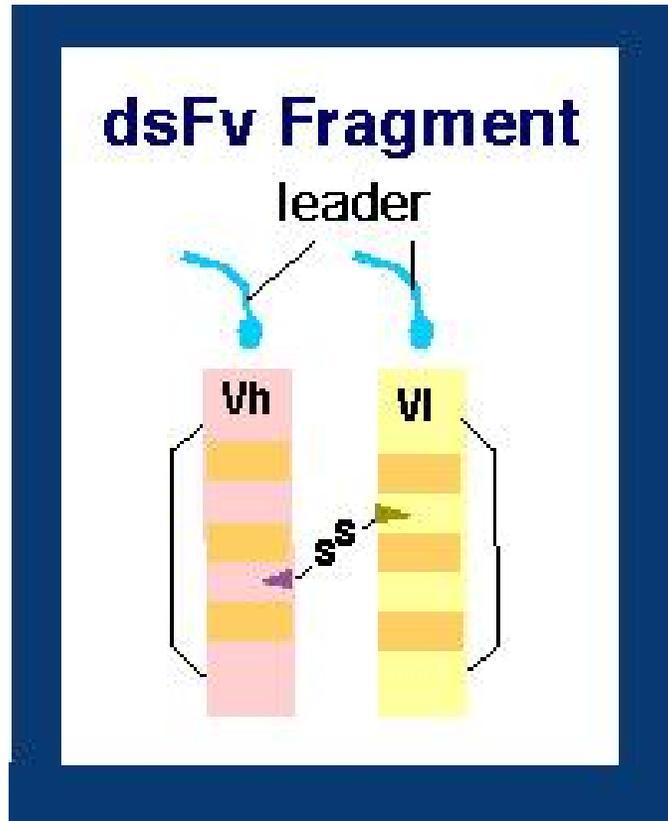


2.2.1 二硫键稳定的Fv (dsFv)

- 二硫键稳定的Fv (dsFv)：通过位于VH和VL结构保守的框架区之间的**二硫键连接起来**而构成的重组抗体。



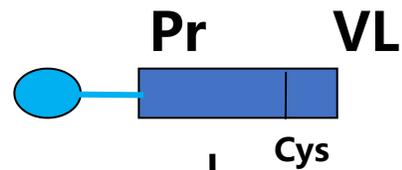
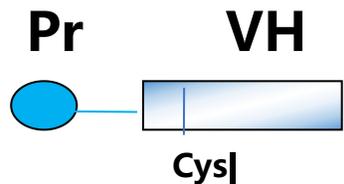
dsFv



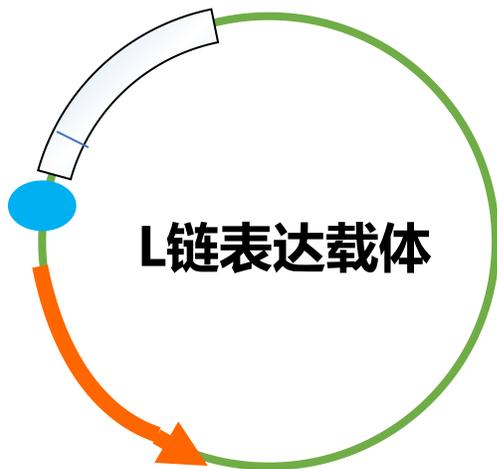
- 二硫键是在V_H和V_L的特定区域各定点突变出一个半胱氨酸而形成。
- 重组dsFv半胱氨酸的位置由计算机分析确定，位于远离抗原结合区 (CDR) 的框架区 (FR) 内。
 - V_{H44}-V_{L100}
 - V_{H105}-V_{L43}

定点突变

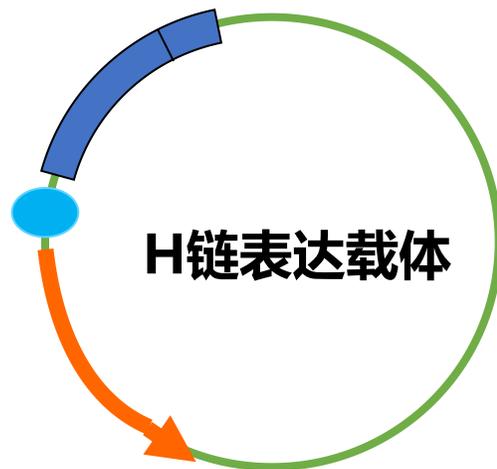
ds-Fv



分别构建载体



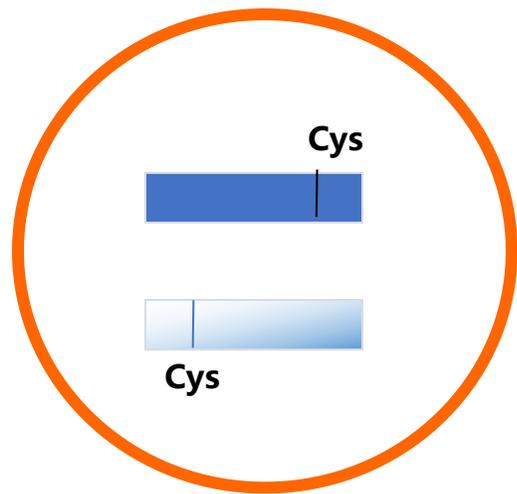
L链表达载体



H链表达载体

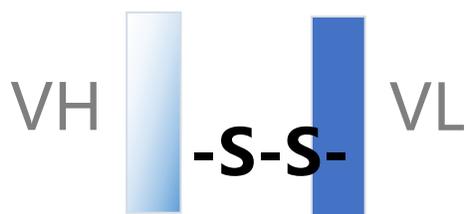
共转染细胞

Fv [二硫键稳定的Fv (disulfide-stabilized Fv, ds-Fv)]小分子抗体的制备

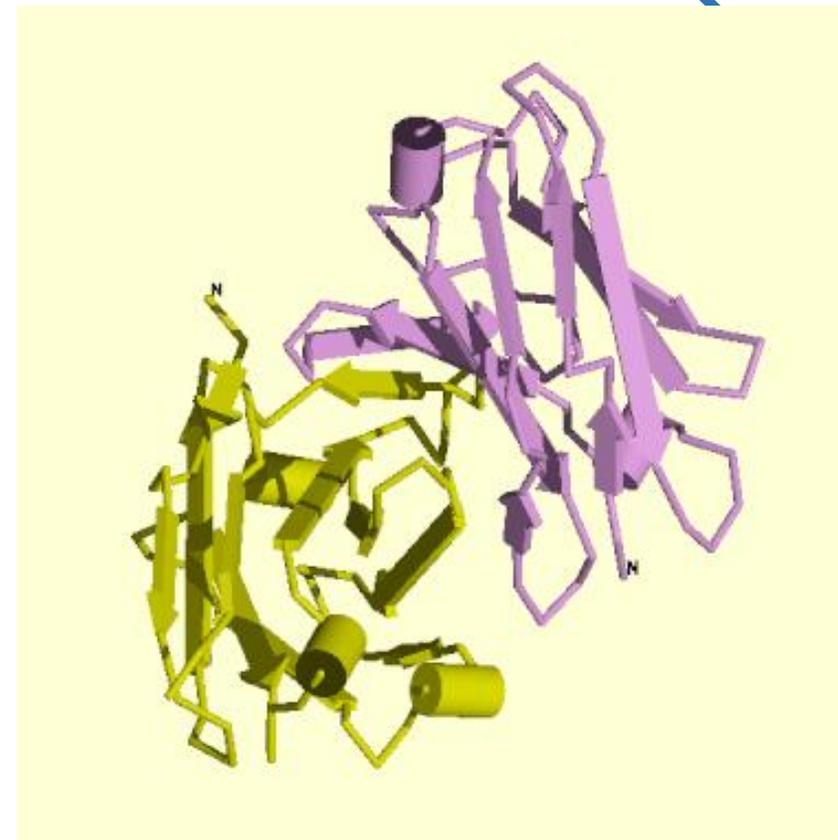


抗体分泌细胞

ds-Fv



Fv小分子抗体的制备

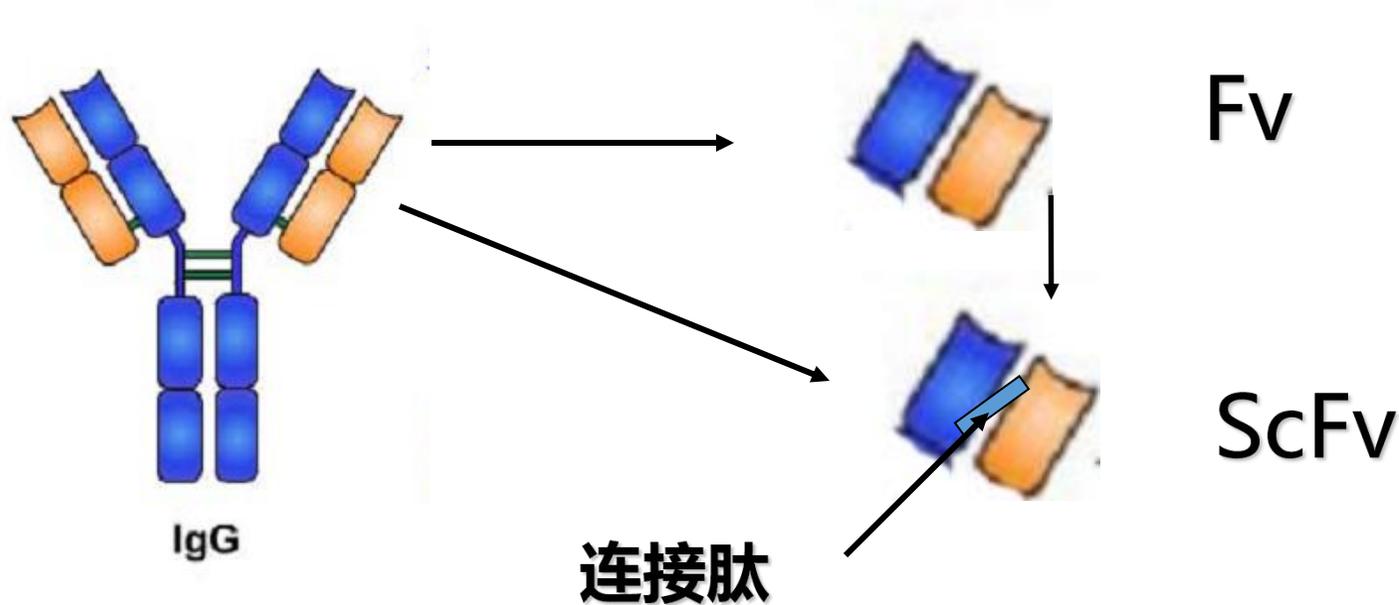


disulfide-stabilized Fv,
ds-Fv

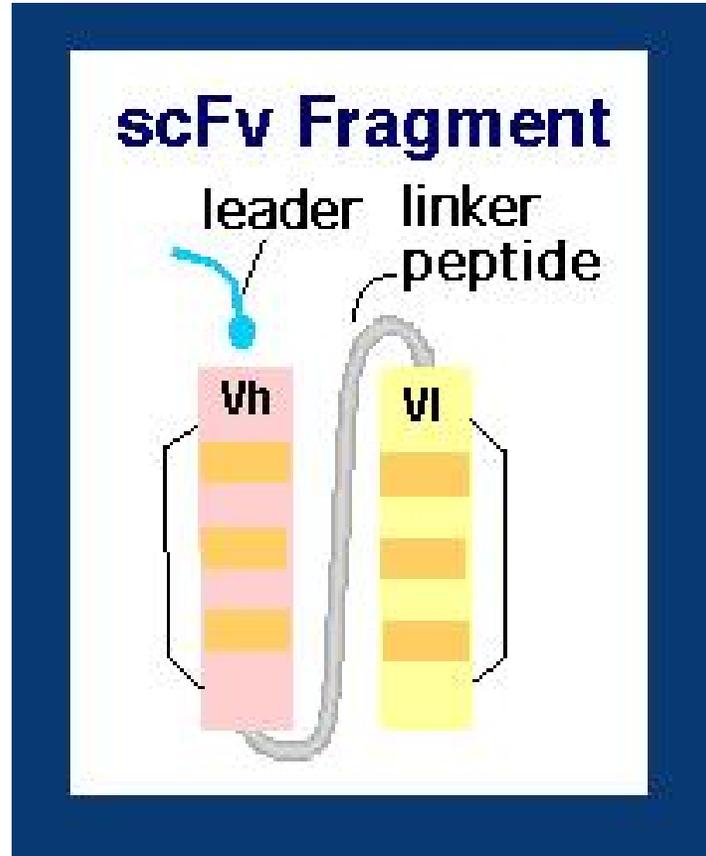
大肠杆菌需要将表达产物引入外周质腔进行轻重链的装配

单链稳定的Fv抗体(scFv)

- 单链抗体（Single-chain variable fragment, ScFv）：在DNA水平用一段长度合适的寡聚核苷酸序列将重链可变区和轻链可变区连接起来，形成单一链的分子。



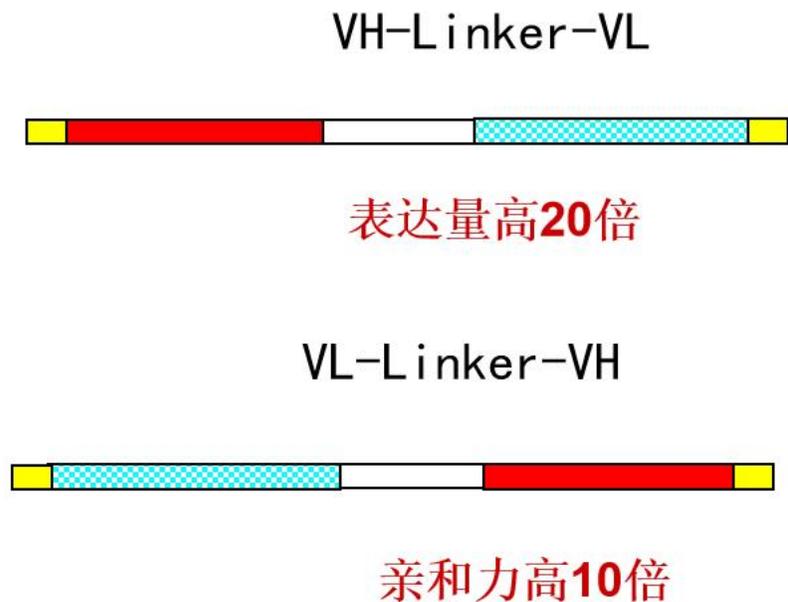
2.2.2单链抗体 (ScFv)



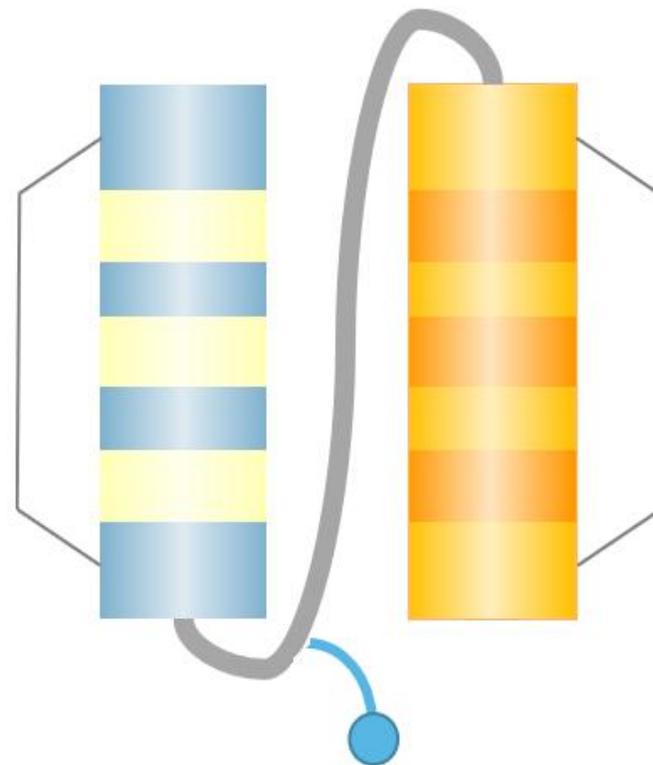
- 相对分子量较小，仅为完整抗体的1/6 (28KD) 。
- 连接肽 (linker peptide) : 长度在10-15个氨基酸左右，具有柔软性，侧链少，抗原性弱等特点。常用的连接肽是 (Gly4Ser)3。

承担了维持V_H和V_L空间构象的功能。

连接肽的位置与抗体的表达水平相关:



可以根据需要选择连接的方向



连接效应因子的最好位

点: Linker可以在不影响抗体结构的同时对抗体进行“武装”。

Sc-Fv

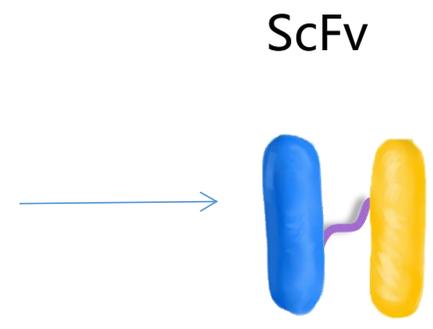
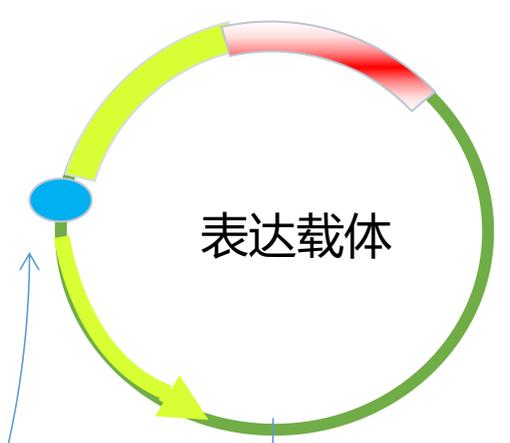
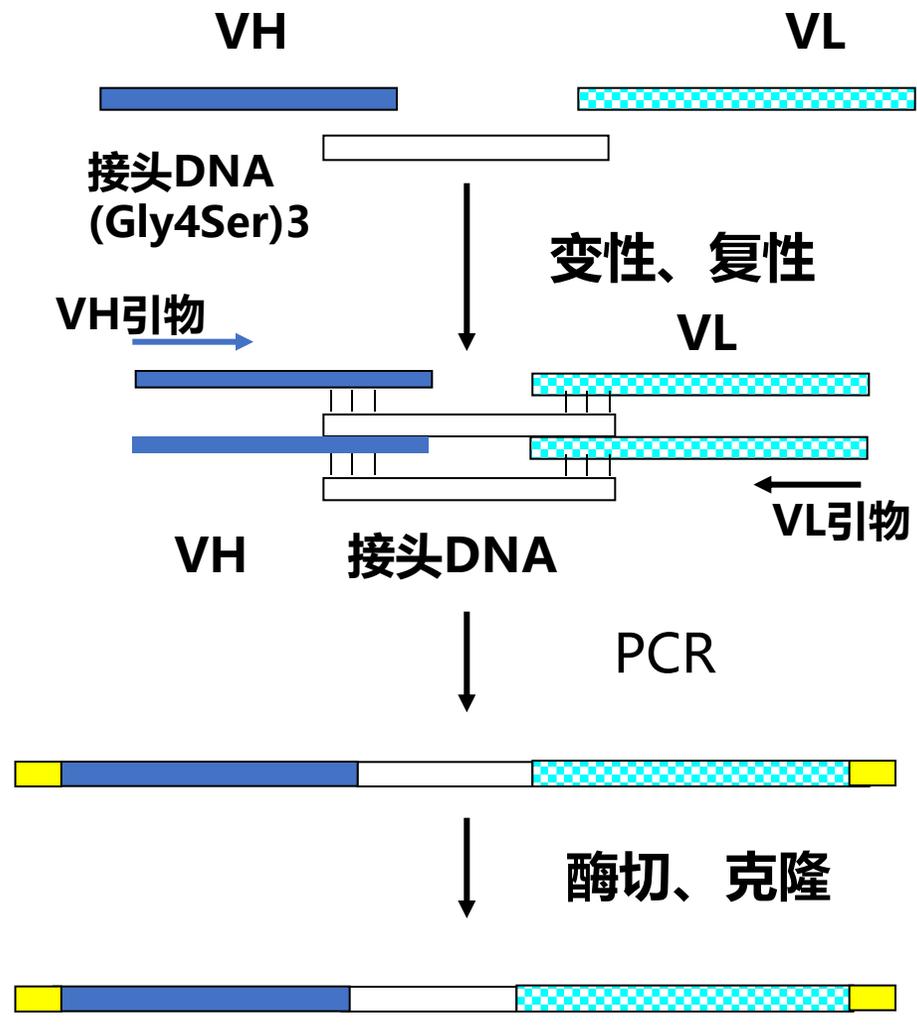
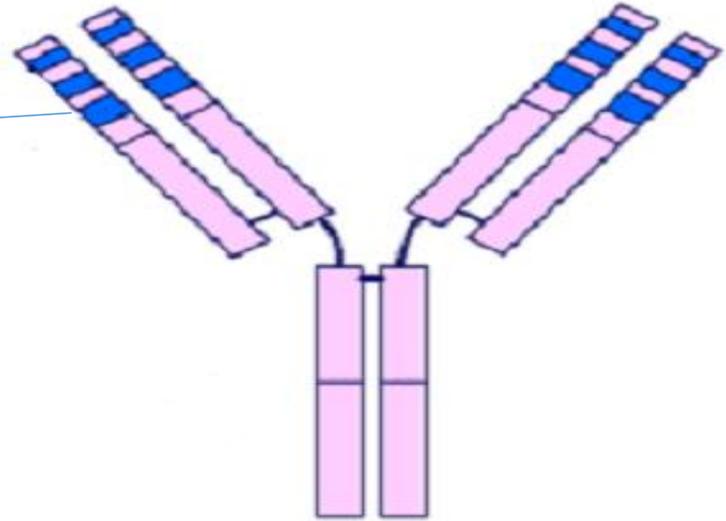


图 ScFv (single chain Fv,scFv)的构建

上午9时12分36秒

3. 最小识别单位



- 只含有一个CDR多肽的抗体，称为超变区多肽 (hypervariable region polypeptides, HRP) ，或最小识别单位(minimal recognition unit, MRU)。

CDR

- 约为完整抗体分子的 $1/80 \sim 1/70$

- 16 ~ 30个氨基酸。
- 对组织细胞具有极强的穿透性。
- 与抗原结合的能力是最不完全及不稳定的。

最小识别单位(molecular recognition unit, MRU)

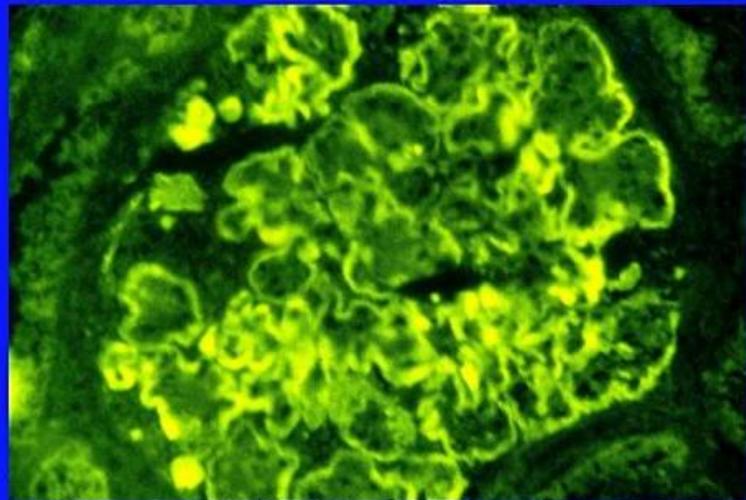


图8089 I 型膜增生性肾小球肾炎, IgG呈花瓣状颗粒状沉积于毛细血管壁及系膜区 (荧光, $\times 400$)



有特异性

低亲和力

快速特异性结合, 但是
结合不稳定

可有效体内显影, 但是
不会因为结合抗原造成
免疫损伤

4. 纳米抗体

- 纳米抗体的定义;
- 纳米抗体的制备特点;
- 纳米抗体的使用优势;



纳米抗体的发现



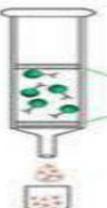
血清



上样

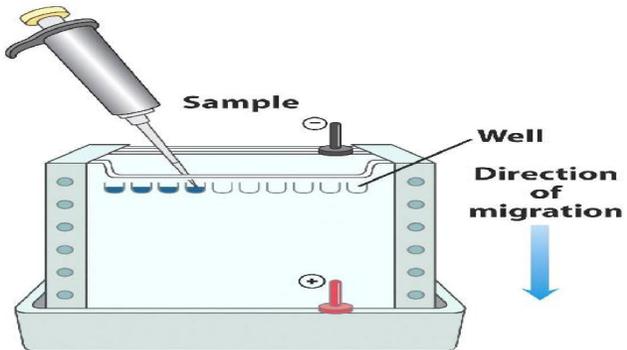


洗涤



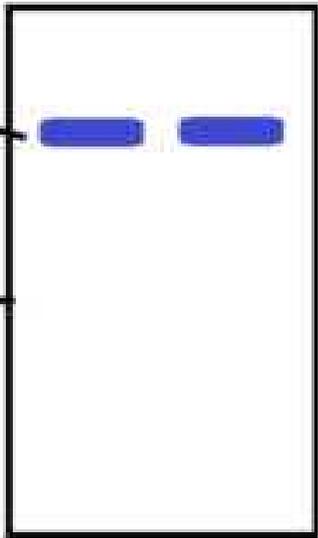
洗脱

填料



上午9时12分36秒

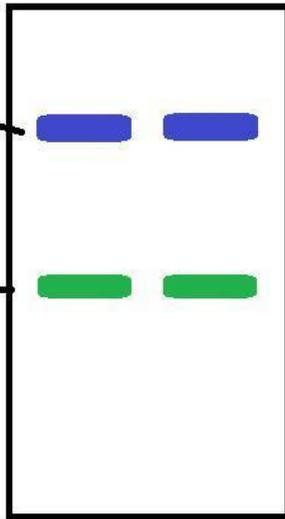
重链



轻链

Camel Ig

重链



轻链

Human IgG

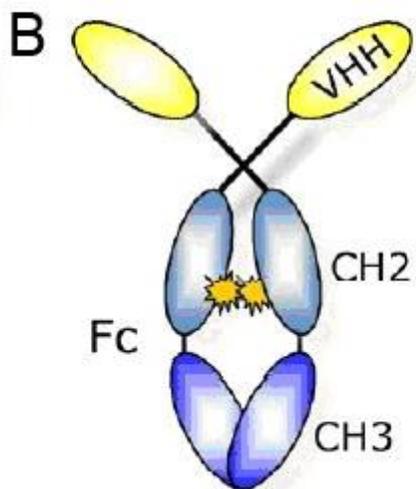
双峰驼



单峰驼



Camel Ig



大羊驼



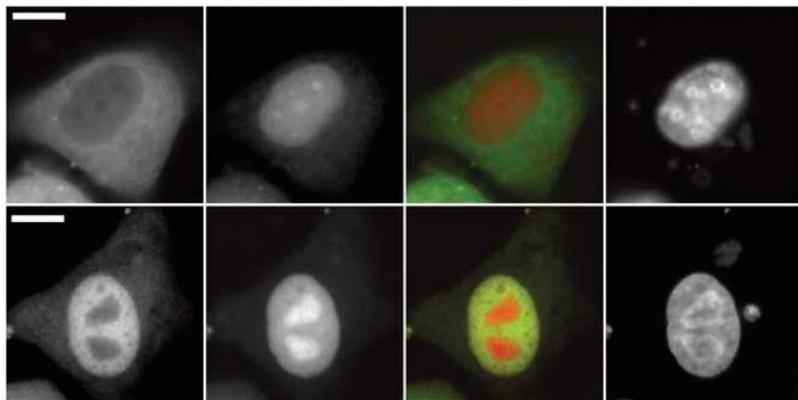
小羊驼

这种只有重链的抗体存在于所有的骆驼类的生物体内!

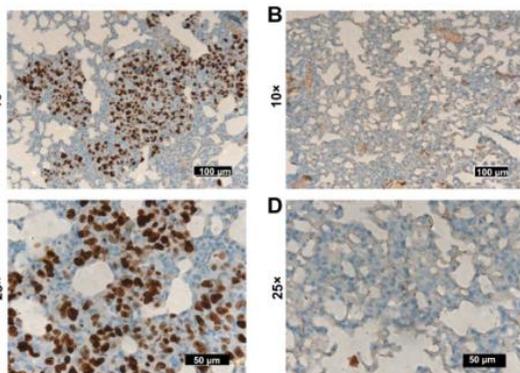
骆驼单链抗体 具有独立结合抗原的能力



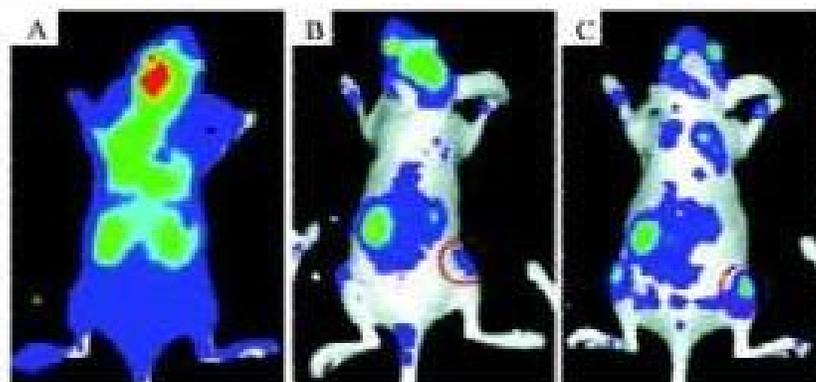
ELISA



细胞免疫荧光



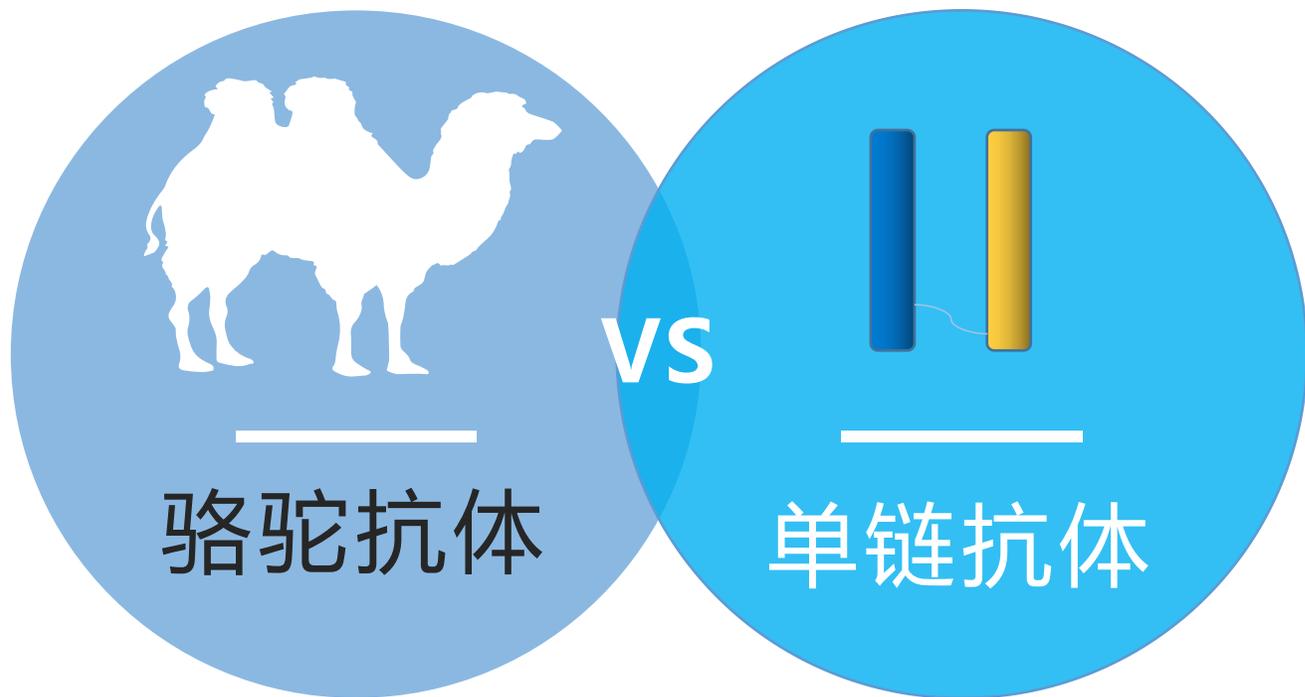
免疫组化



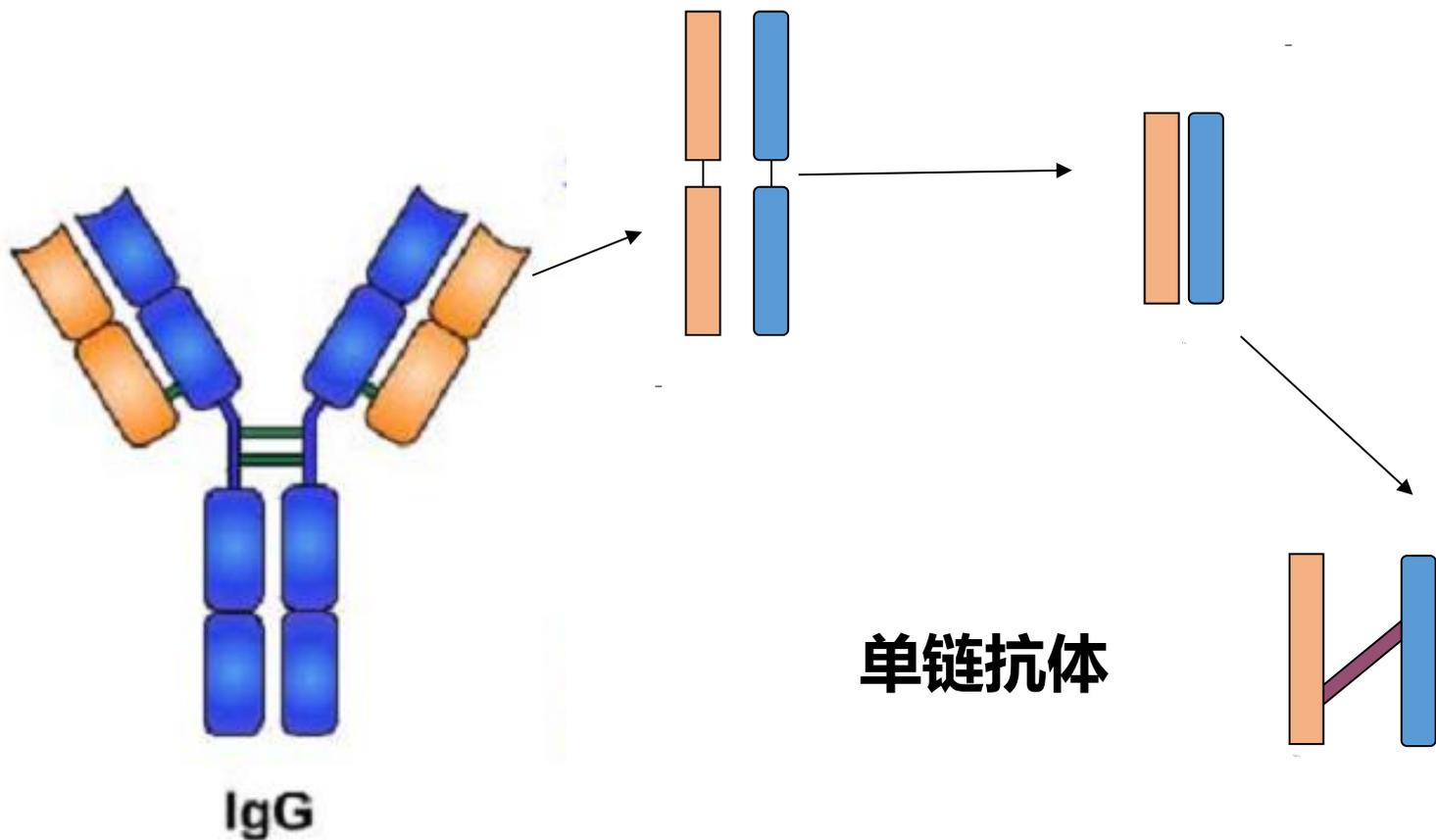
体内免疫成像



纳米抗体的特点和优势：



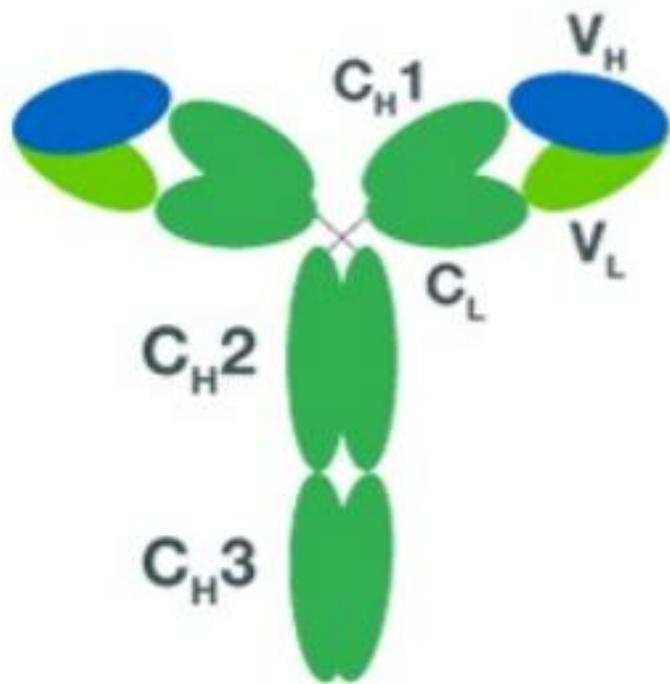
抗体小型化的困境



- 1. 实际上还是双链抗体
- 2. 亲和力低
- 3. 稳定性差

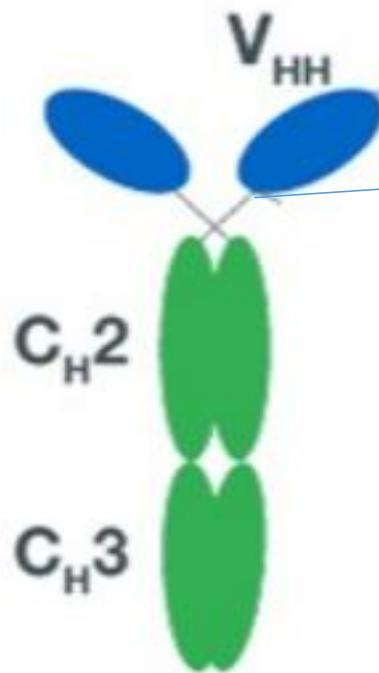
抗体的小型化与轻链重链的拼装之间的矛盾

抗体小型化的困境



普通抗体

抗原结合需要两条链

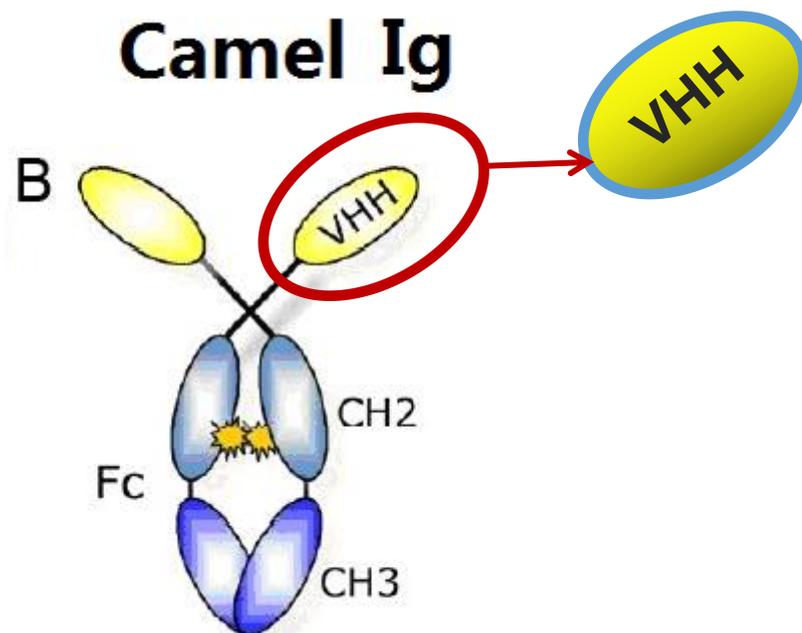


重链抗体

抗原结合只需要一条链

为抗体小型化提供新的思路

骆驼抗体小型化的尝试



VHH

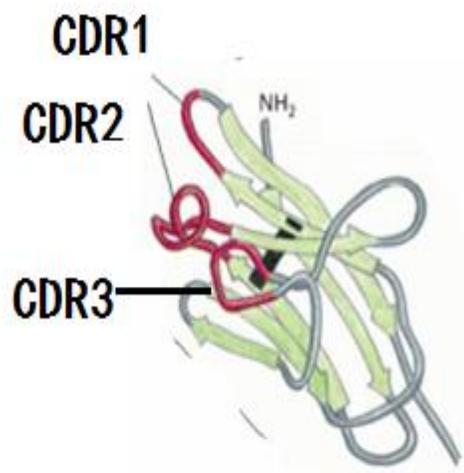
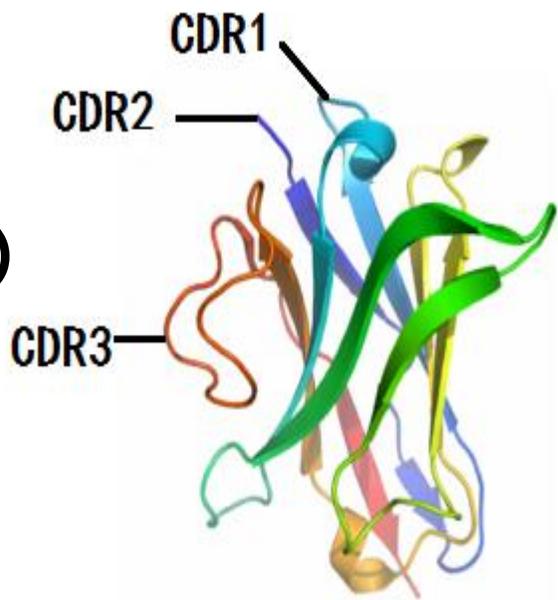
(Variable domain of heavy chain of heavy chain antibody)

分子量：
15KD
直径：5nm

•定义：骆驼来源的一种单链抗体的可变区。其分子量约为完整抗体的1/10，故称为纳米抗体（Nanobody, Nb）；

纳米抗体的结构特征

VHH
(纳米抗体)

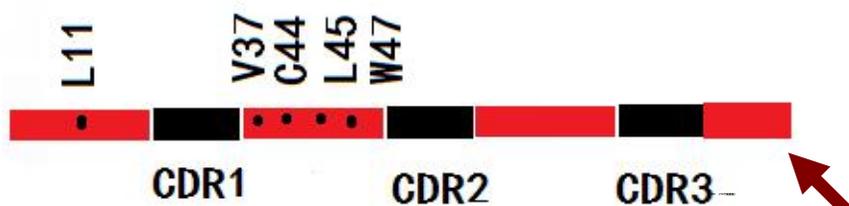


VH
人抗体重链可变区

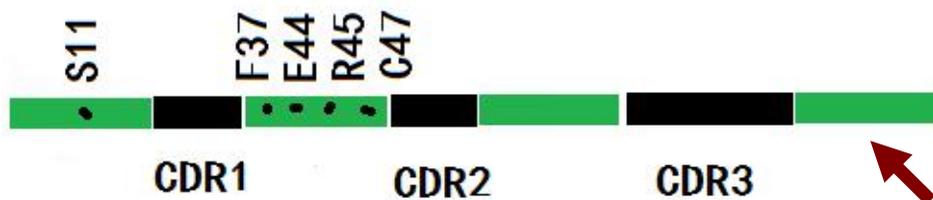
更大的CDR环

单链即可结合抗原

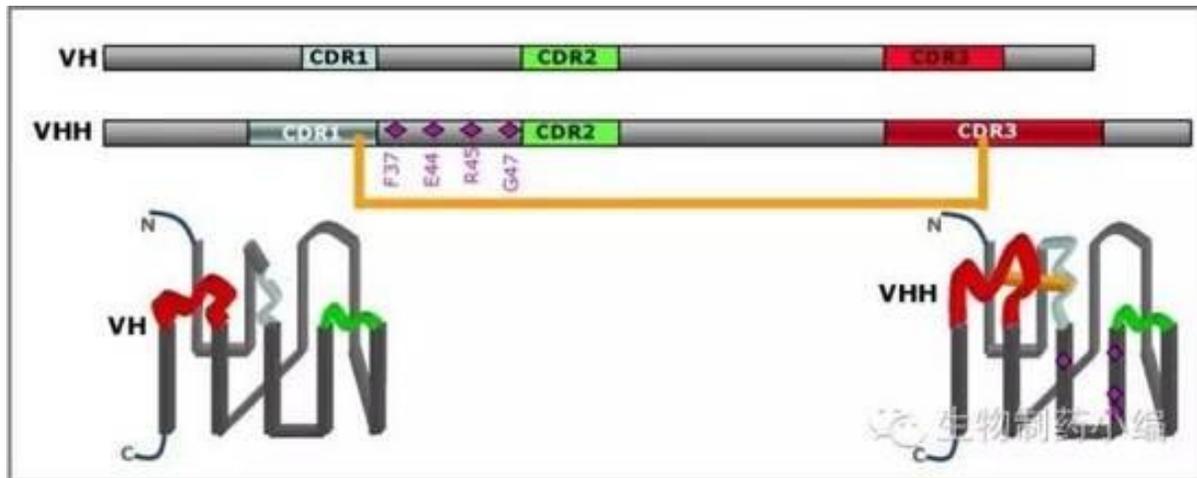
VH



VHH



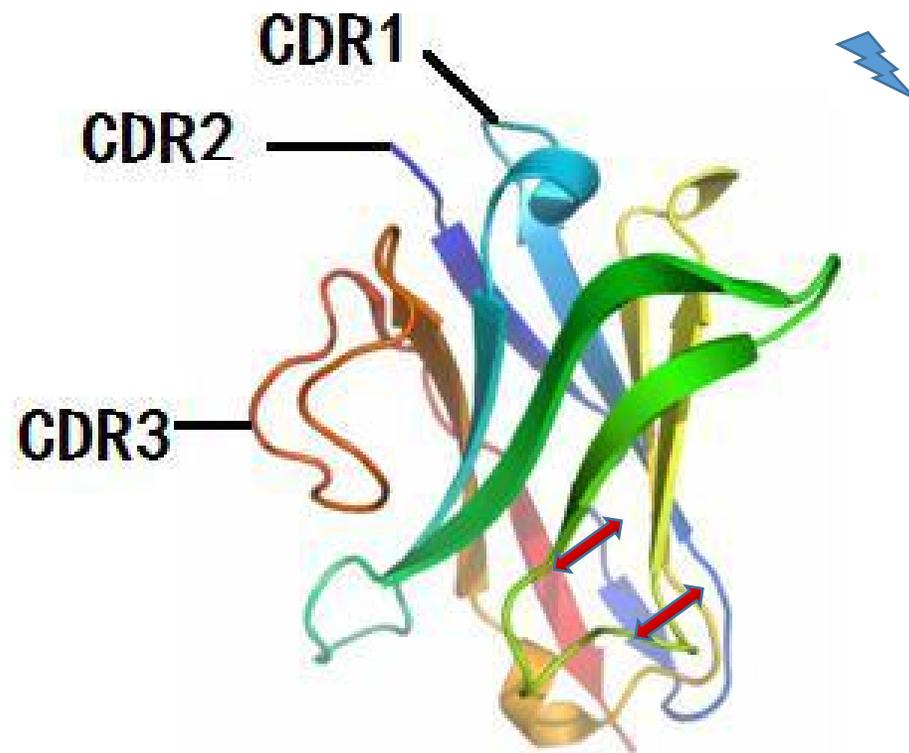
纳米抗体的结构特征



水溶性和稳定好

二硫键存在于结构域的内部

更多的亲水性氨基酸



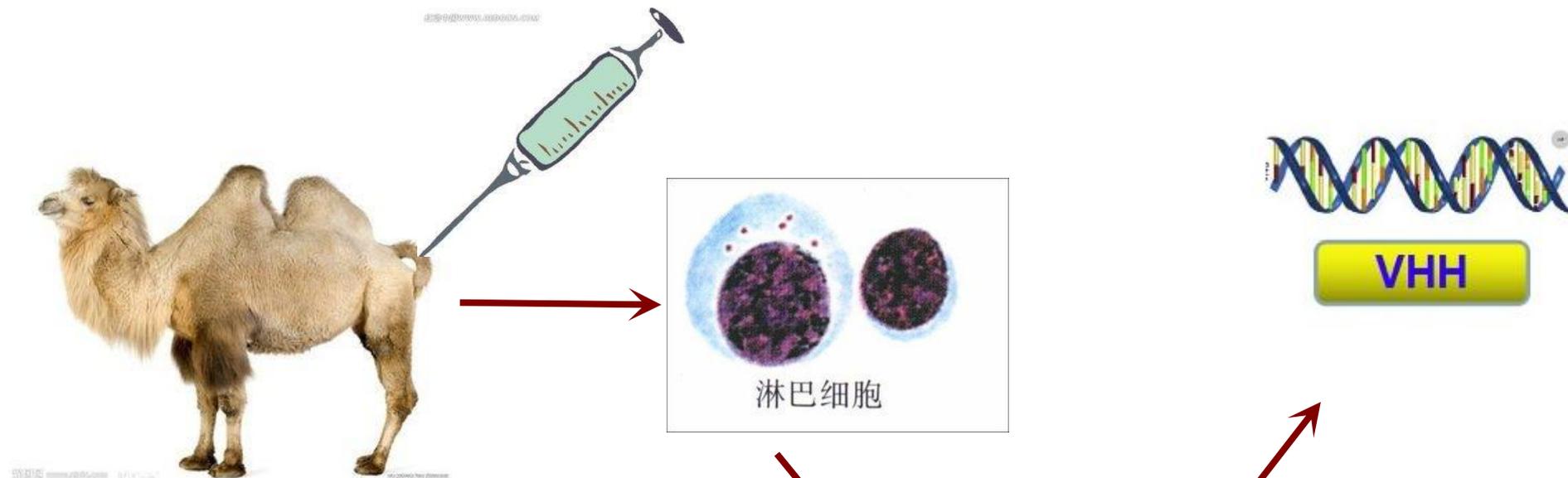
第一节

纳米抗体的研制

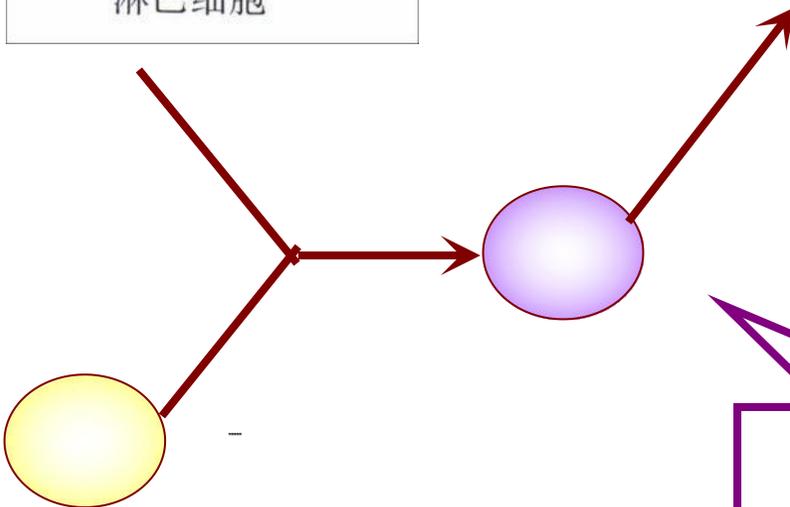


上午9时12分37秒

1. 纳米抗体的制备——特异性Nanobody基因的钓取

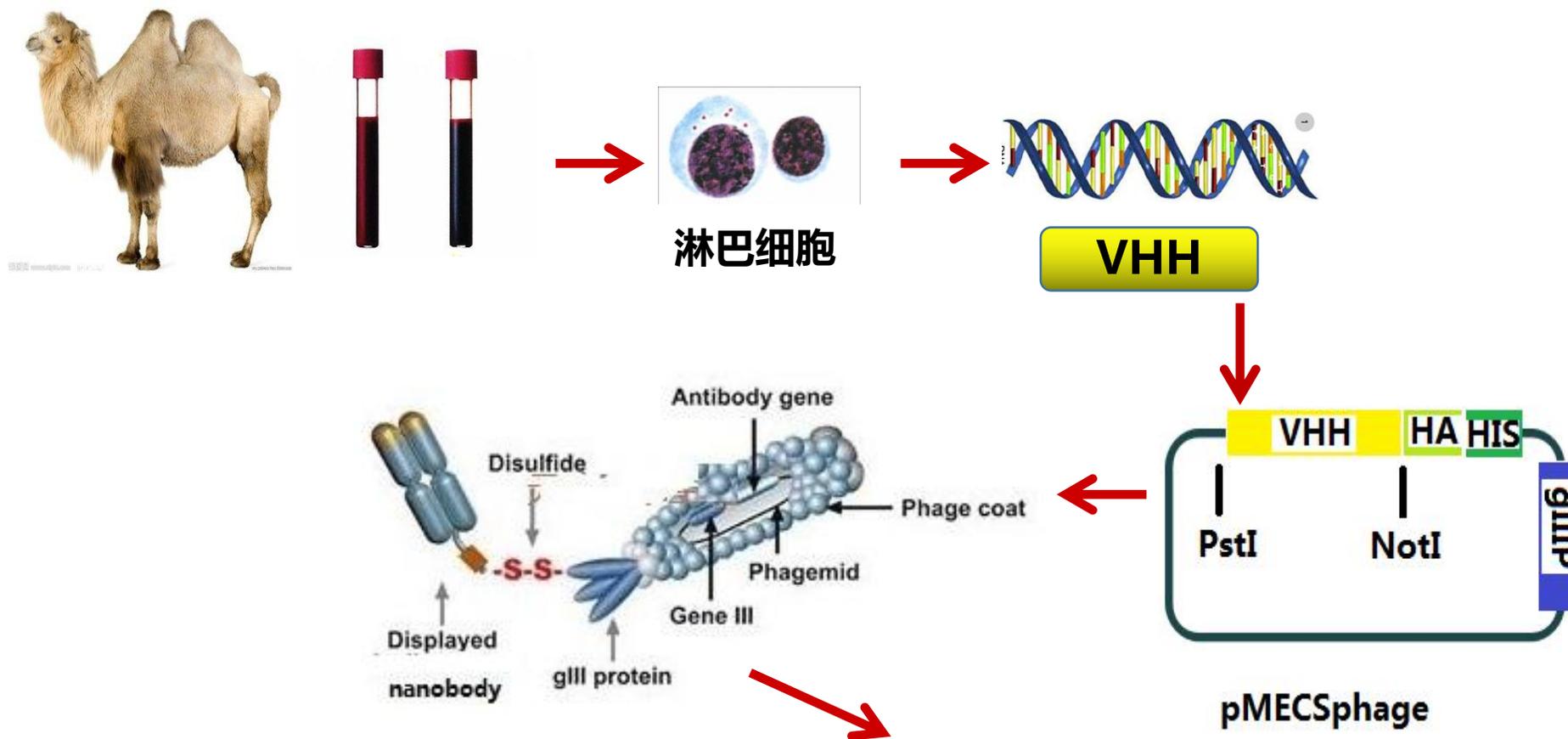


免疫策略
需摸索



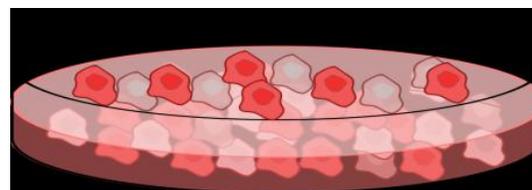
没有现成的
杂交瘤平台

1.1 Nanobody噬菌体抗体库的建立

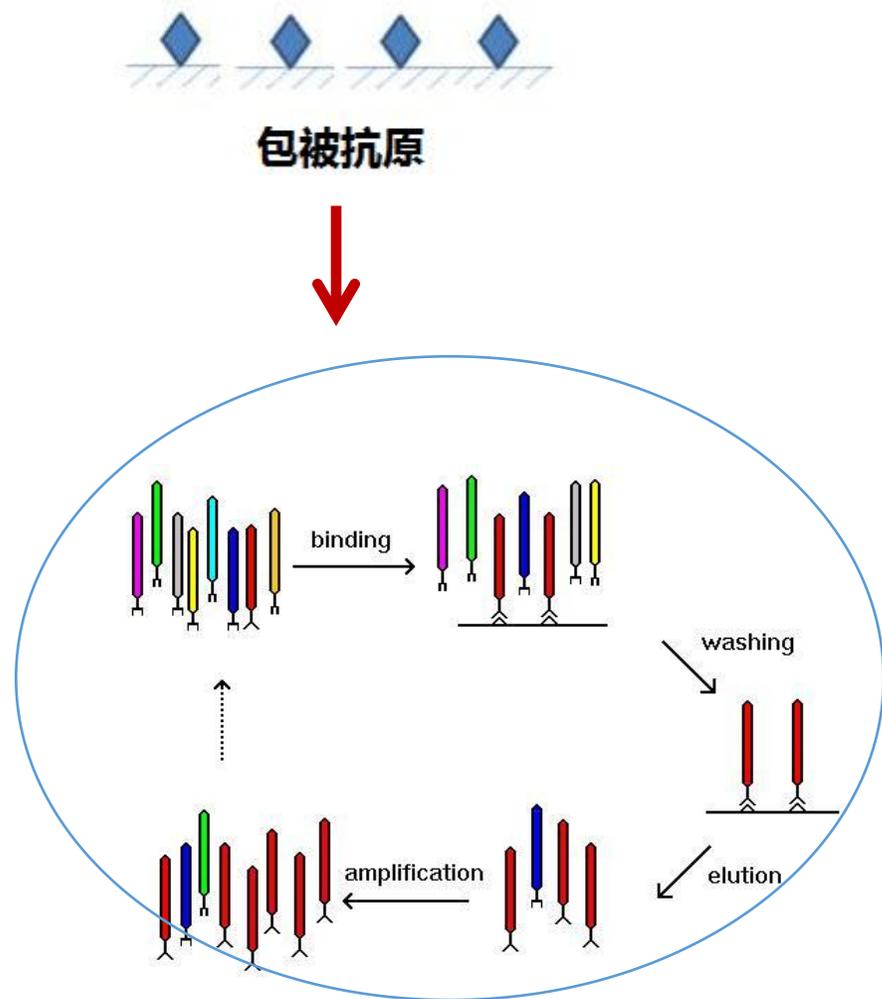


利用噬菌体展示技术，构建骆驼VHH基因库

上午9时12分37秒

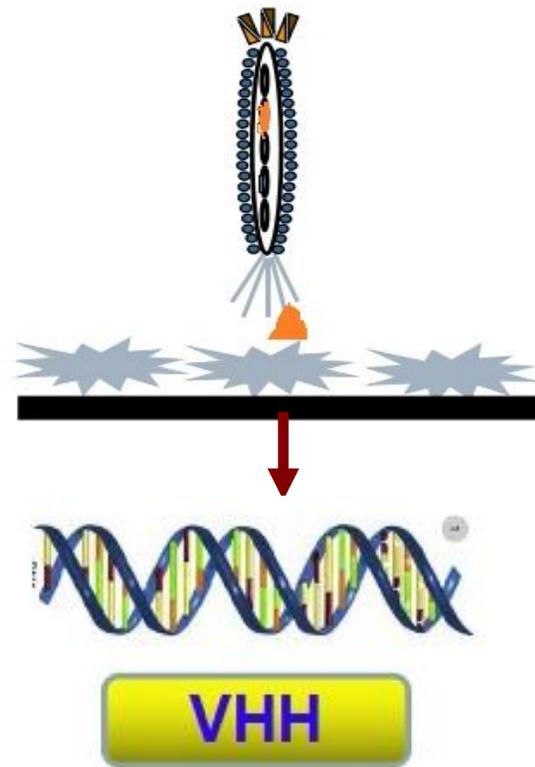


1.2 特异性Nanobody的钓取



吸附-洗脱-扩增

上午9时12分37秒



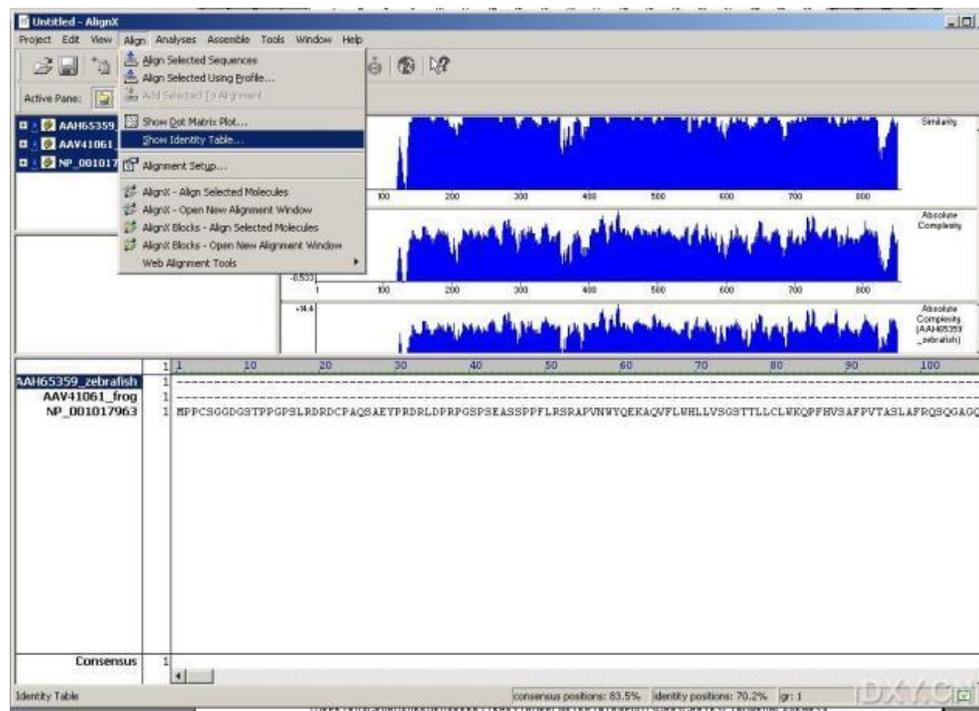
获得亲和力好特异性高的抗体基因

2.Nanobody 基因的人源化改造

人源化改造简单

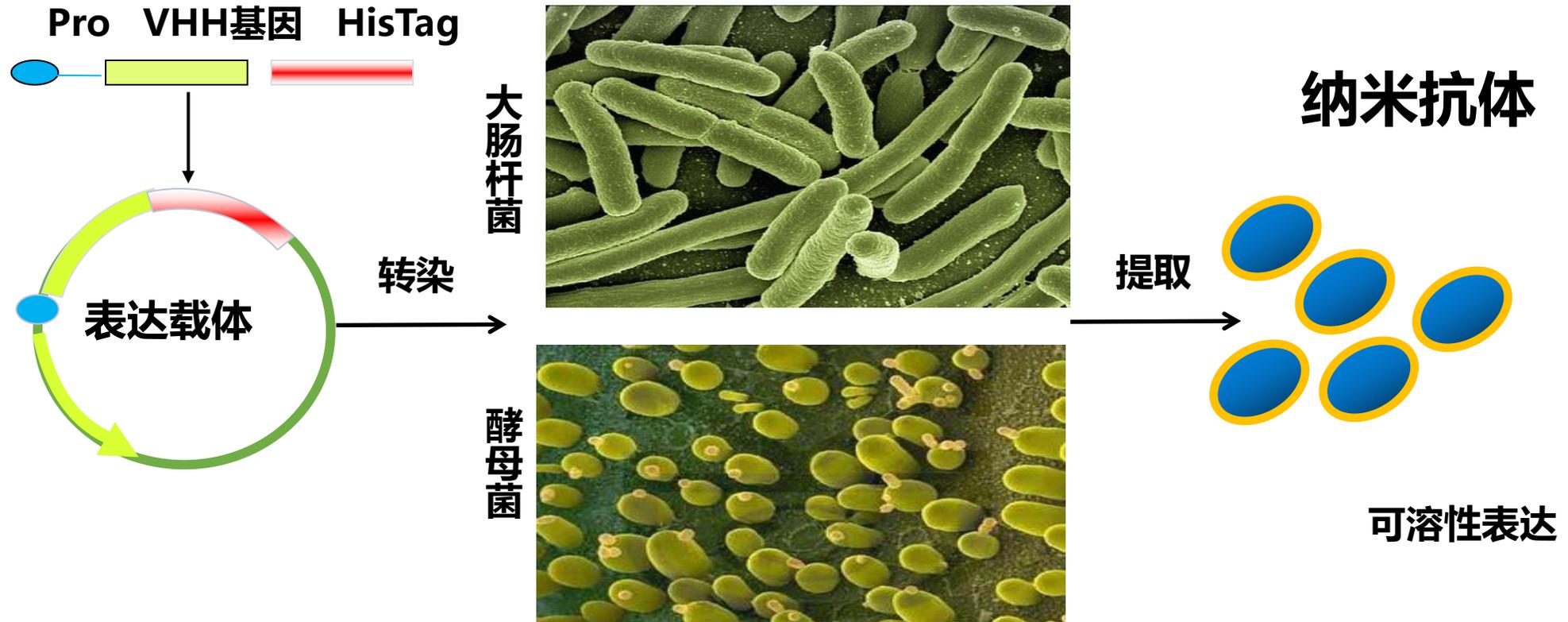


Gene Homology



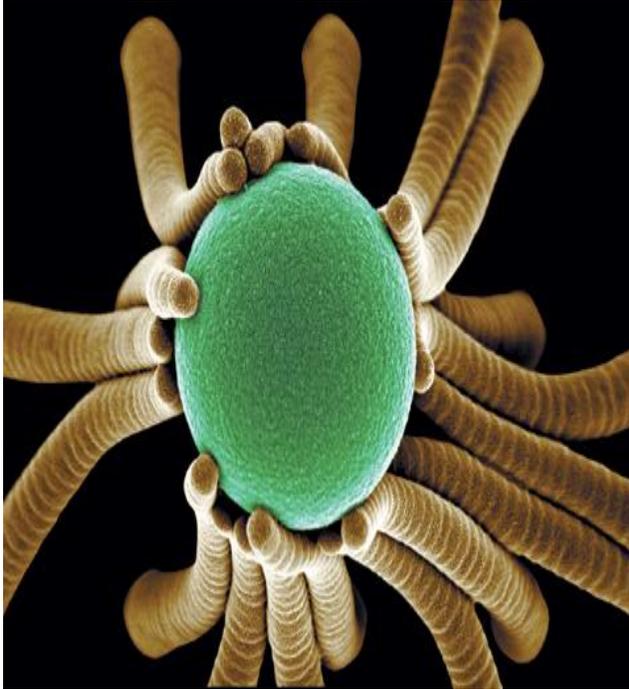
跟VH进行序列比对，与人源VH 基因家族序列具有较高的同源性；仅有不到10个氨基酸是有差别的，非常易于进行人源化改造。

3.Nanobody 的表达



适合简单的表达系统 (大肠杆菌, 酵母), 制备简单, 价格低廉

纳米抗体的性能评价

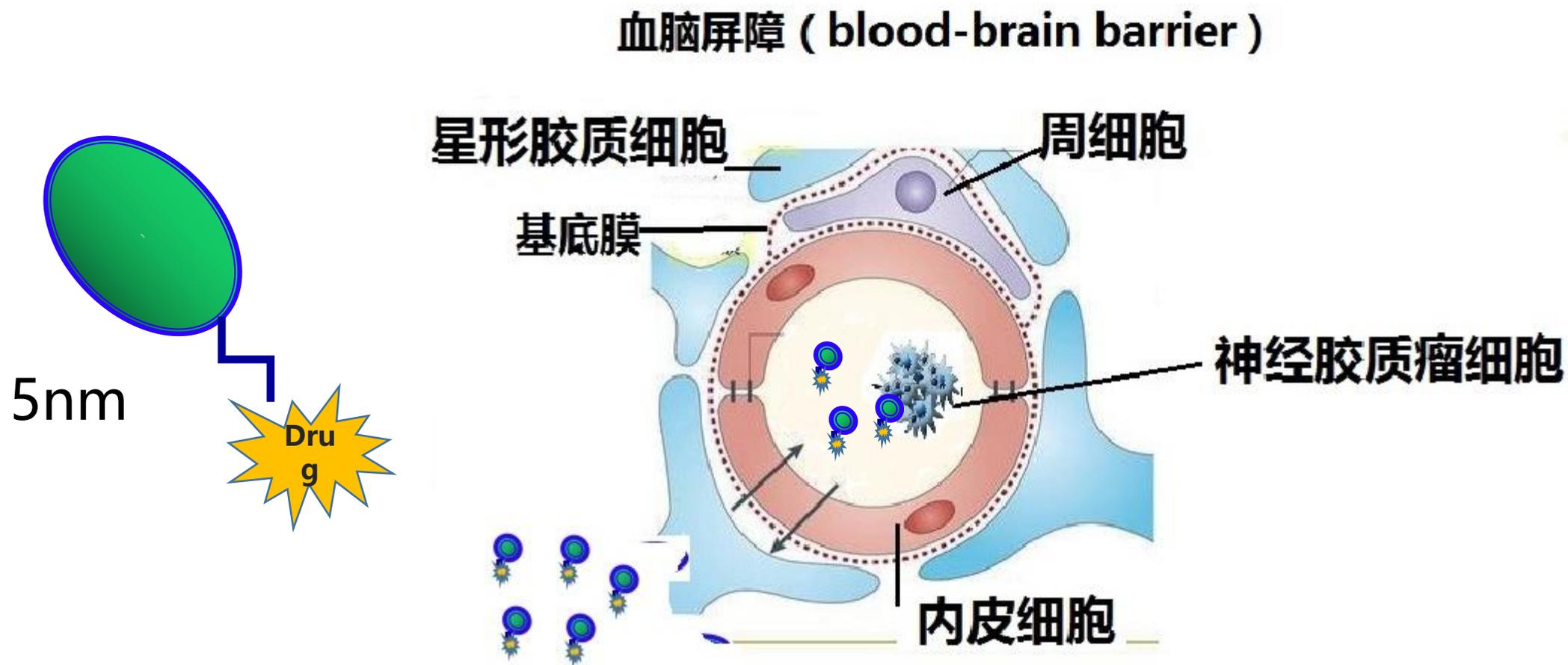


问题1：纳米抗体能用吗？

问题2：纳米抗体好用吗？

是否能够为我们开启更
微观的世界？

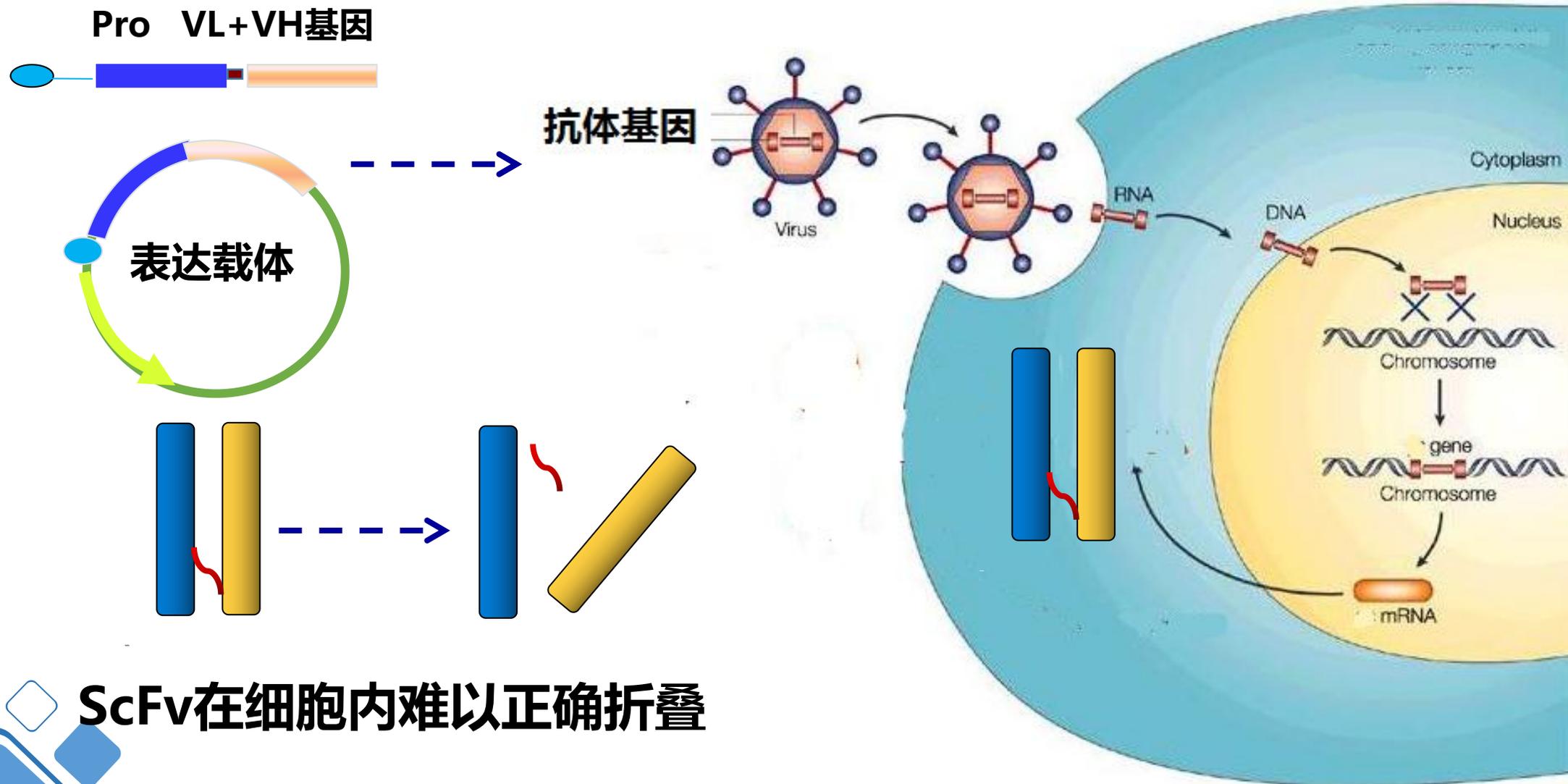
Nanobody 具有纳米级的穿透力



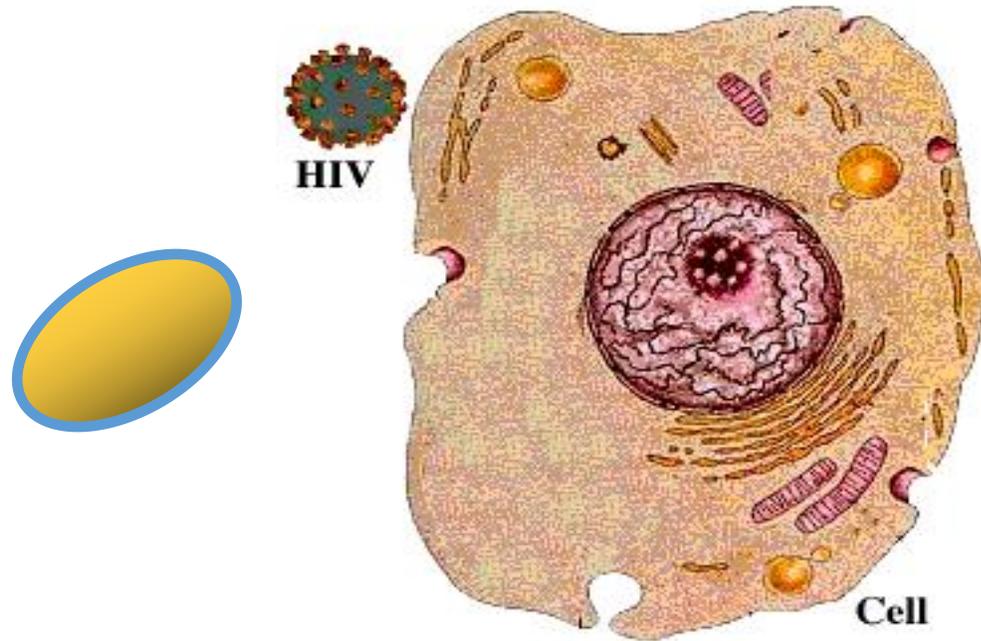
可以穿透血脑屏障

Nanobody 赋予抗体细胞内功能

细胞内抗体



细胞内Nanobody 抗病毒治疗



针对艾滋病毒的细胞内纳米抗体

gp160/120 毒力基因

Tat 激活病毒转录

Rev 病毒复制

Vif 病毒感染

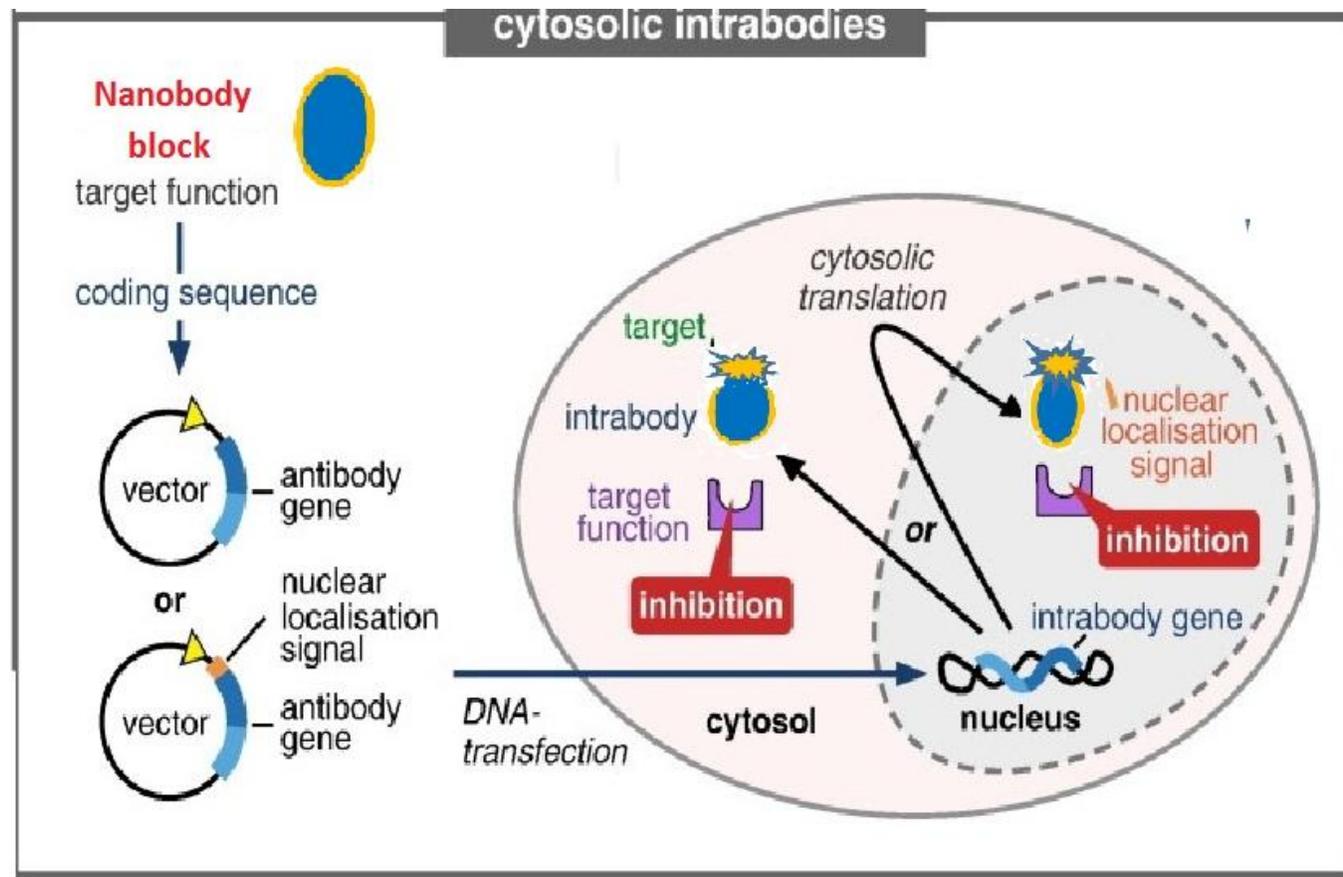
在CD4细胞内捕获病毒，阻止病毒的转录，复制，和感染能力。

细胞内Nanobody 的抗肿瘤作用

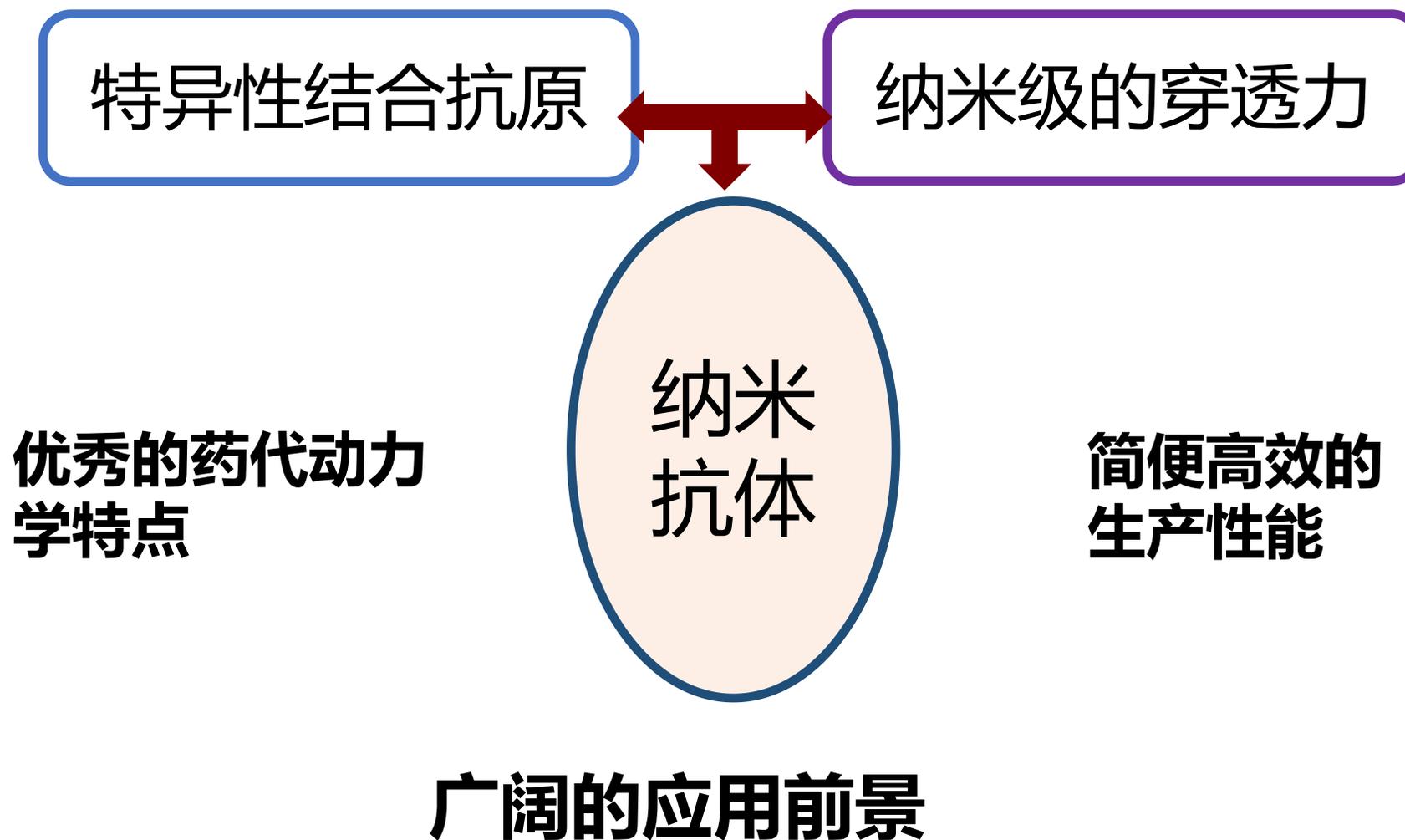
抑制生长因子受体或癌蛋白，
抑制肿瘤细胞生长，产生治疗
效果

结合细胞内的功能分子

调控信号通路，研究某蛋白与
肿瘤发生发展的关系。



Nanobody 的总结:



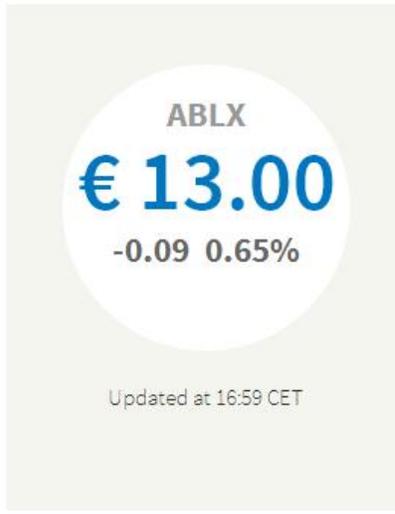
FierceBiotech: 最值得关注的十大新一代生物技术平台

- 1 Ablynx: Nanobodies
- 2 Aileron: Stapled peptides
- 3 bluebird bio: Single-gene mutation gene therapy
- 4 Dicerna: DsiRNAs
- 5 Galena: Therapeutic vaccines
- 6 MacroGenics: DARTs
- 7 Mersana Therapeutics: Antibody-drug conjugates
- 8 Micromet: BiTES
- 9 Santaris: Locked nucleic acids
- 10 Xencor: XmAbs

具有广阔而强大的应用前景!



纳米抗体，改变未来医疗



上午9时12分37秒

内容小结：

纳米抗体的基本特点是：

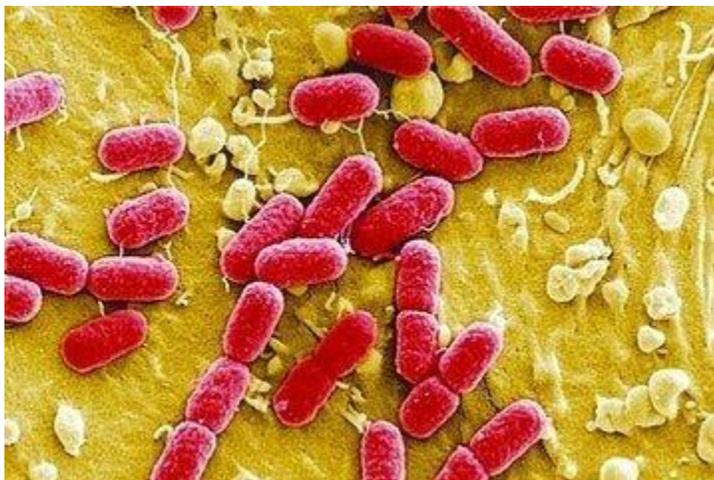
- 一．作为单链抗体具有与抗原良好的结合能力；
- 二．分子量小，穿透力强；
- 三．制备简单，价格低廉。

主要内容

- 一．小分子抗体的定义
- 二．小分子抗体的分类
- 三．小分子抗体的优缺点
- 四．小分子抗体的应用

1.小分子抗体的优缺点

优点:



1.分子量小，背景低

穿透力强，更适合制药和体内诊断需要

2.结构相对简单

不要复杂的糖基化折叠过程，适合简单高效的表达系统。

3.易于工程改造

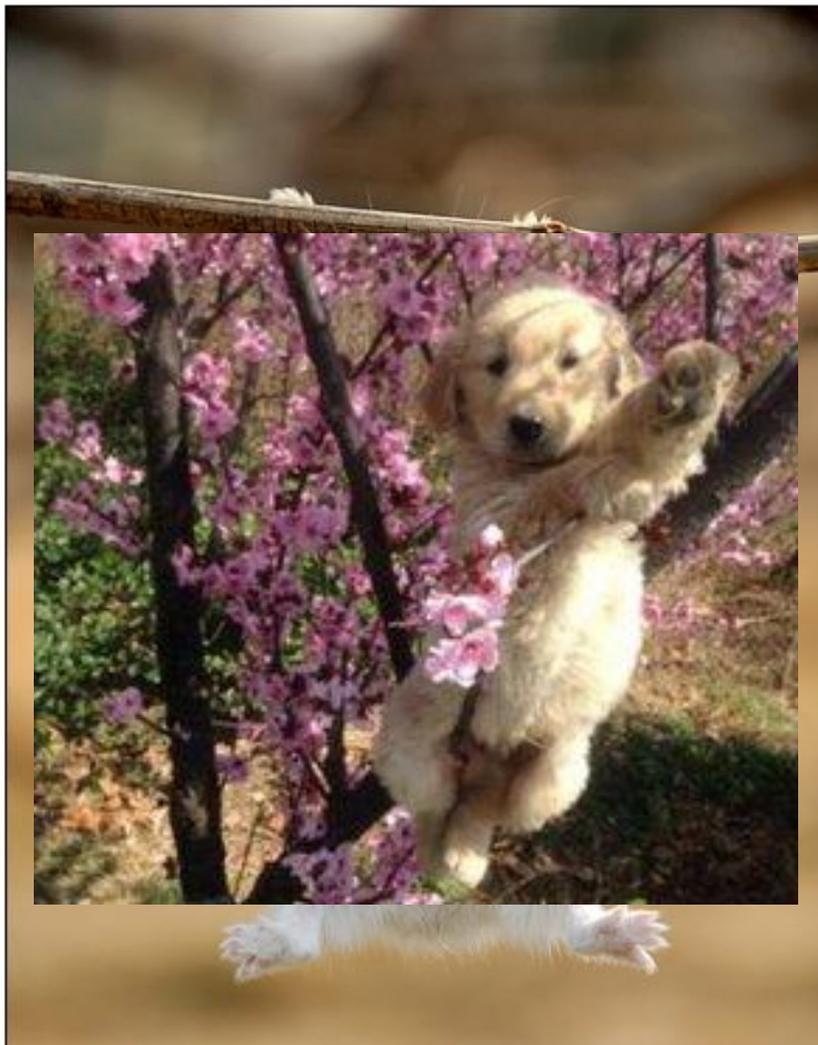
可定向设计和实现应用目的。

2.小分子抗体的优缺点

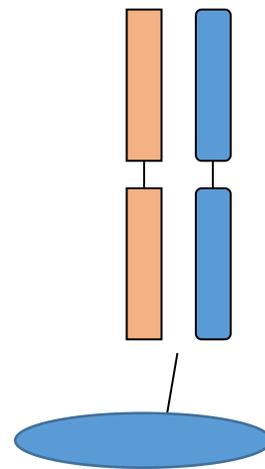
缺点:



1.作为单体单
与抗原的结合



和抗原结合的能
有抗体的功能性
功能性不足。



添加相应的功能片段

2.小分子抗体的改进方向：



多价多特异性小分子抗体

01

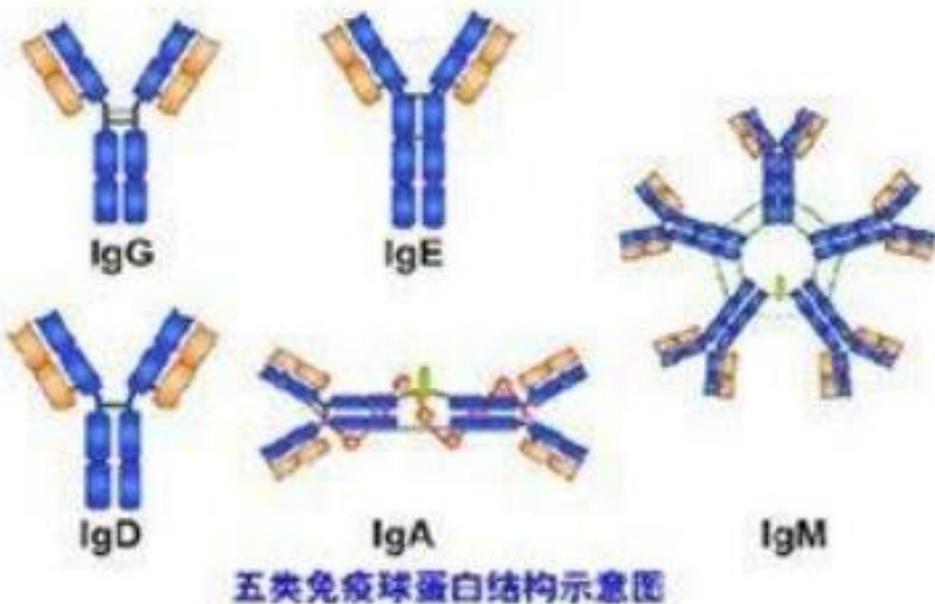
多价多特异性抗体在增加小分子抗体亲和力的同时，赋予小分子抗体免疫调节，以及功能靶向的能力。

抗体融合蛋白与抗体螯合物

02

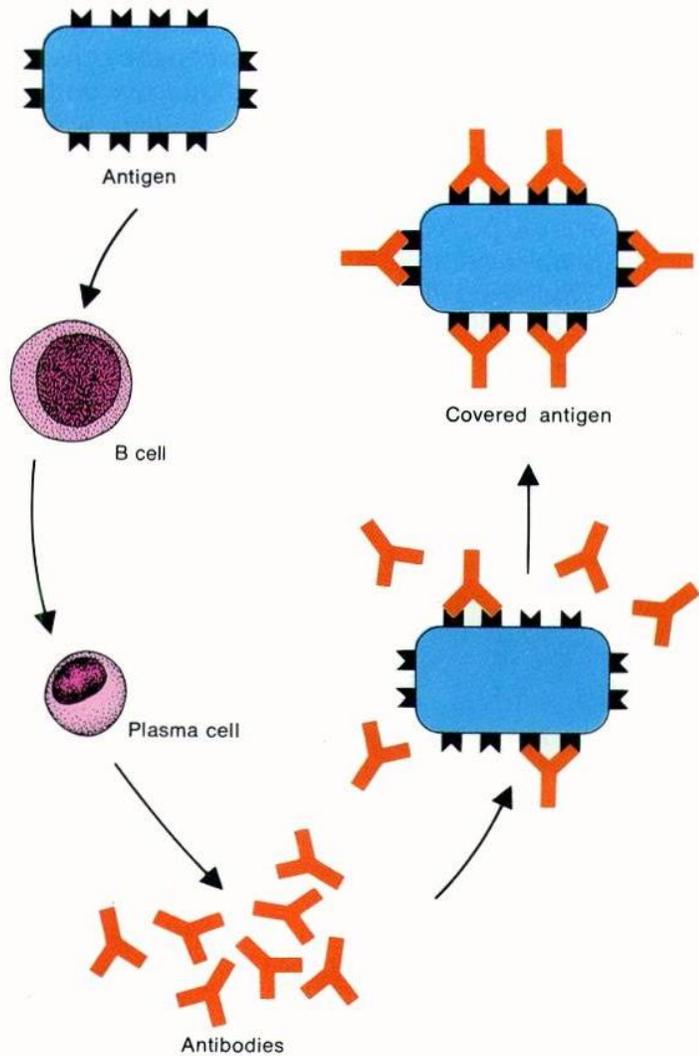
抗体融合蛋白及抗体螯合物，将通过赋予抗体功能的定制，提高靶向治疗，个体化治疗的效果。

2.1 双体抗体和多体抗体（多价抗体）



免疫球蛋白分单体和多聚体，IgG,IgE,IgD为单体，IgM为五聚体（血型抗体），分泌型IgA（乳汁、眼泪、唾液等中）为二聚体。

一个单体有2个抗原结合位，这个角度理解，抗体的单体是二价的，如IgG（含量最多的抗体）。IgA有四个抗原结合位，IgM有10个抗原结合位。

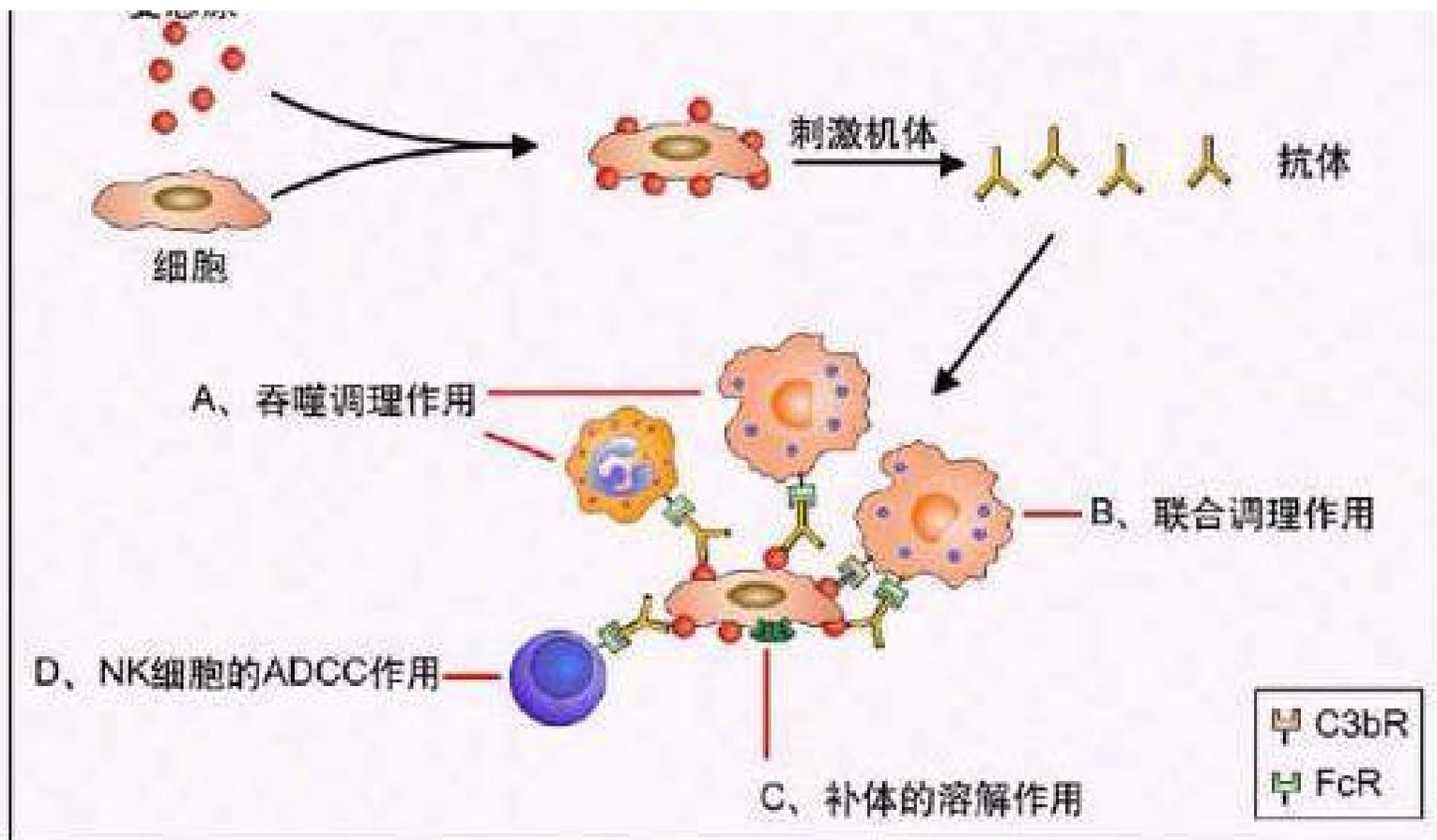


抗原抗体反应图

当机体处于不平衡的状态下，即便抗体分子和抗原有很高的固有亲和力，还是很容易从靶标上解离下来。

但是非单价的抗体由于能够识别多个靶位，而解离速度明显降慢。譬如IgM的解离速度，就优于IgG.

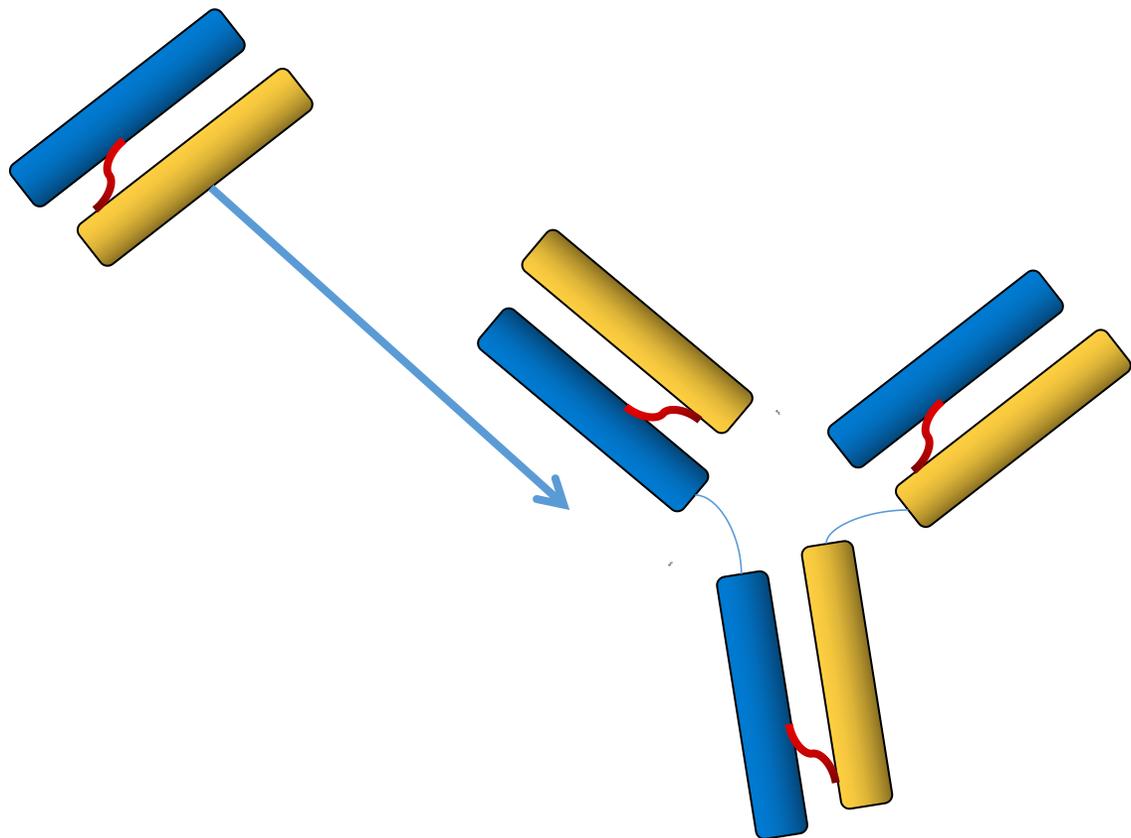
肿瘤的靶向治疗存在以下的问题：



靶位被识别后，结合稳定性差，解离迅速，治疗效果不稳定。

靶向治疗的靶点多 为小分子，半抗原，不易被识别和结合

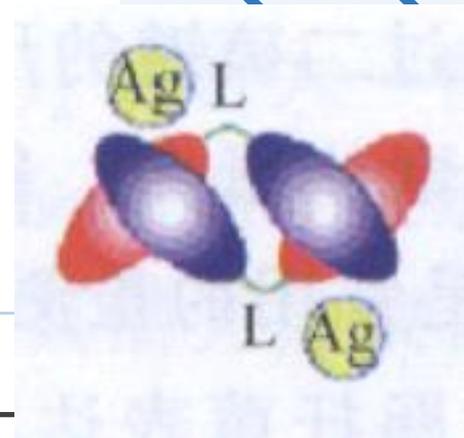
基于单价小分子抗体构建的多价抗体



由于单价抗体片段(如ScFv、Fab)与靶抗原作用后保留时间短且解离速度快;**(半衰期短, 作用时间短)**

所以在实际应用中有必要设计多价抗体分子, 这种多价分子可显示出与抗原更加强的亲和力和慢的解离速度;

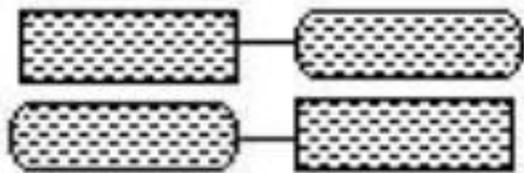
双体分子 (Diabody)



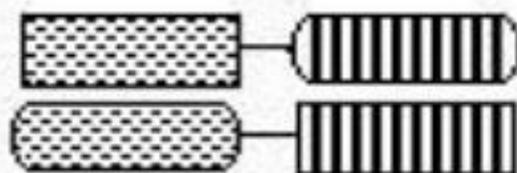
Diabody: ScFV抗体的二聚体形式。基本上就是模拟了抗体二聚体的结构。

- 基于基因工程构建
- 具有二个抗原结合位点，分子量 ~ 60KDa。
- 分子量较小，具有穿透力强的优势，易于通过血管壁进入实体瘤。

Diabody



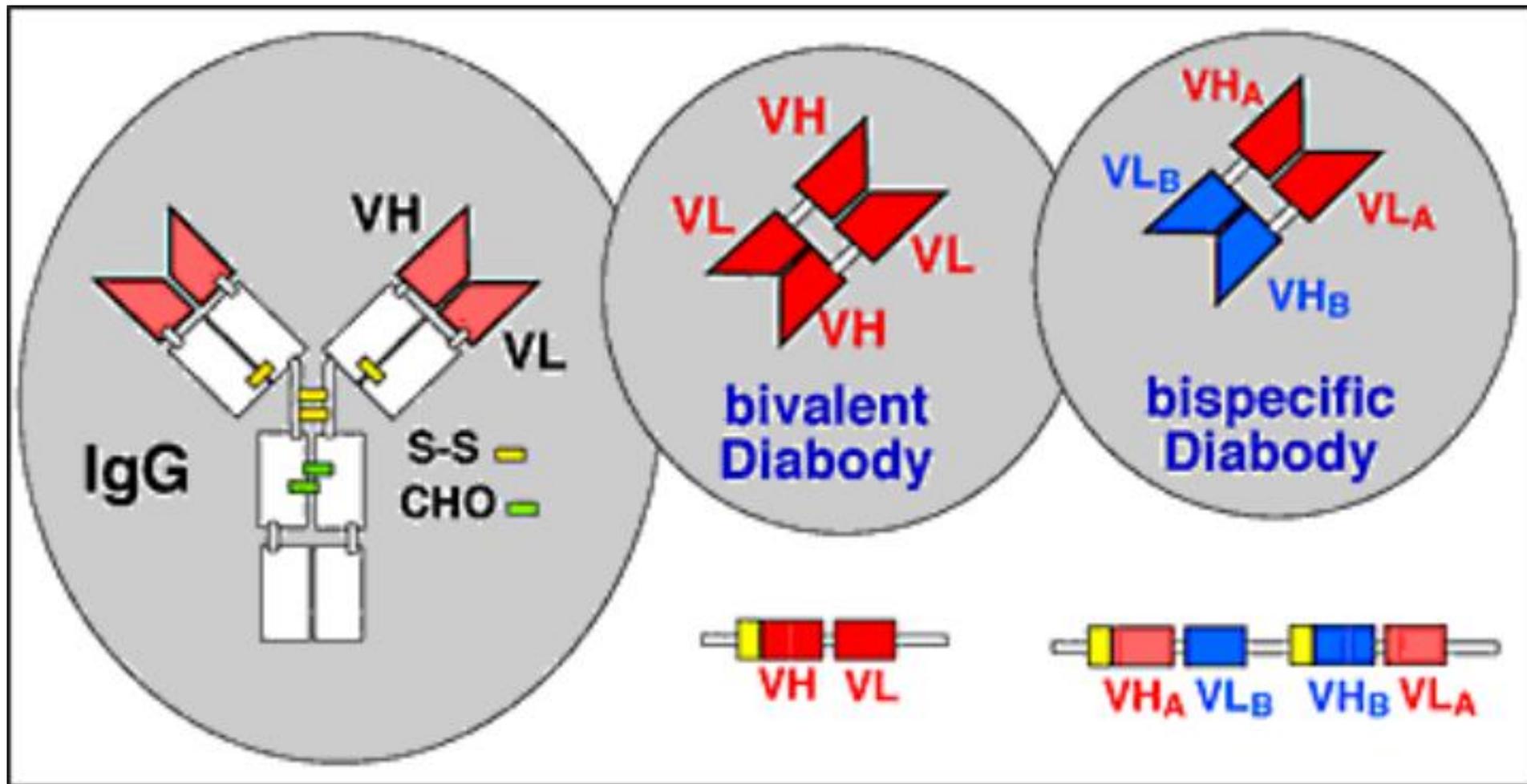
bivalent



bispecific

- 简而言之，用基因工程及蛋白质工程的方法将 scFv 形成二聚体，即可成为双体抗体 (diabody)。
- 如果形成双体的两条 scFv 是**来源相同**，针对同一抗原的，称之为**双价抗体 (bivalent diabody)**，其功能特点类似 (Fab)₂，但是比 (Fab)₂ 分子量小，免疫原性低。
- 两条**不同来源**的 scFv 组合成具有两种不同抗原结合特征的新型抗体即为**双特异单链抗体 (bispecific single chain Fvs, bisFvs)**，又称之为 bispecific diabody。

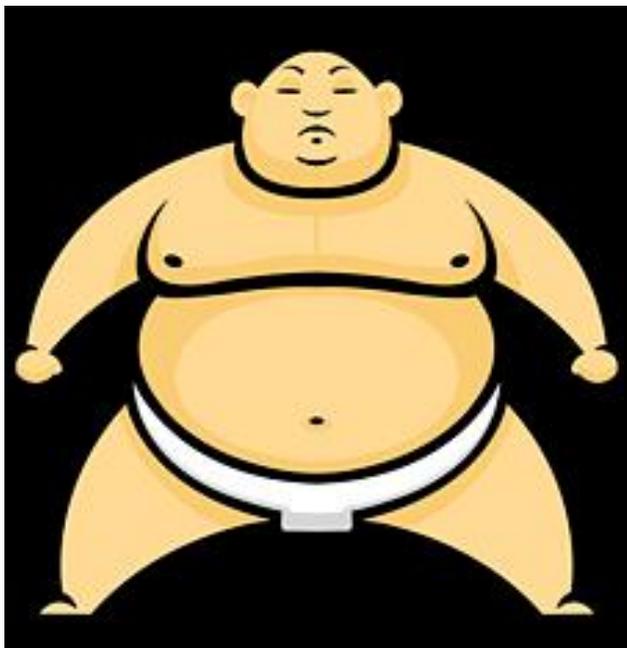
Diabody structure





- 根据实际的需要，Fab和ScFv片段不仅能够通过化学的或基因工程linker构成二聚体，还能够形成三聚体或四聚体或更多。例如Fab就被用化学连成二价或三价的多聚体，实验表明其与抗原的保持性有显著的提高；

150KD



上午9时12分37秒



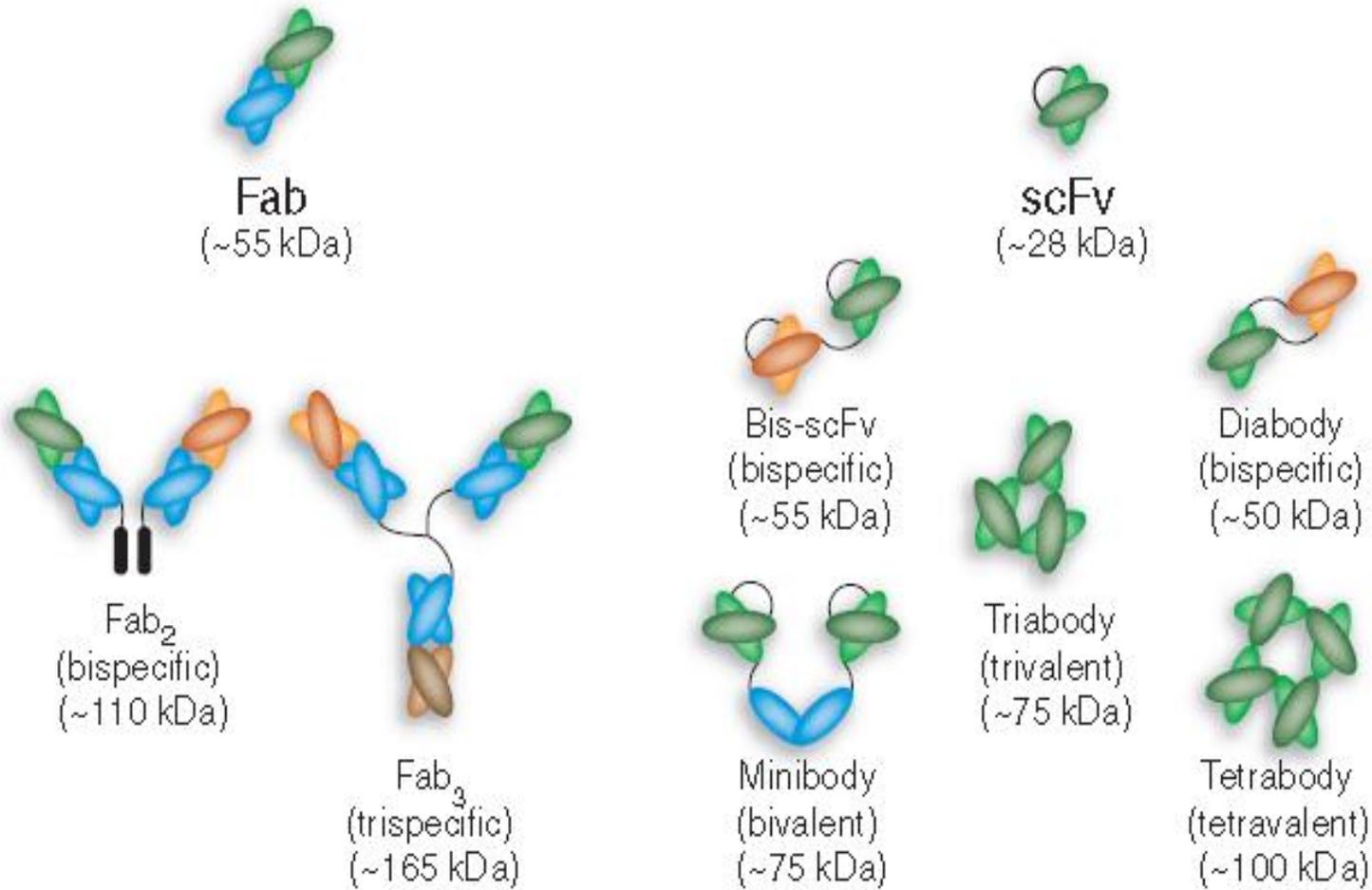
编号: 7395799 红动中国 (www.redocn.com) 二马1993



150KD

65



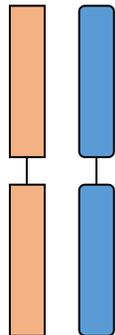


小分子抗体的类型和结构

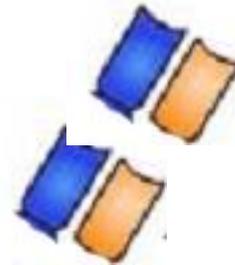
双价，或多价小分子抗体的优势：

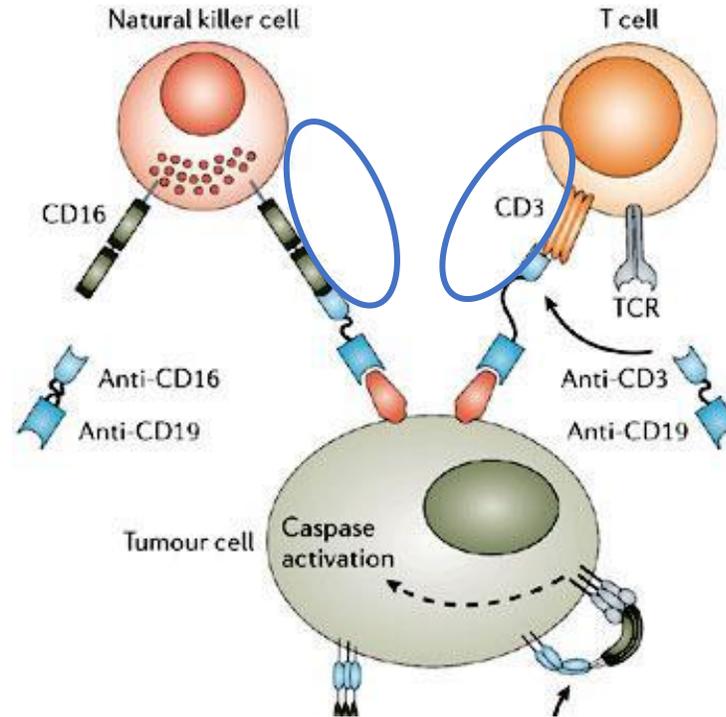
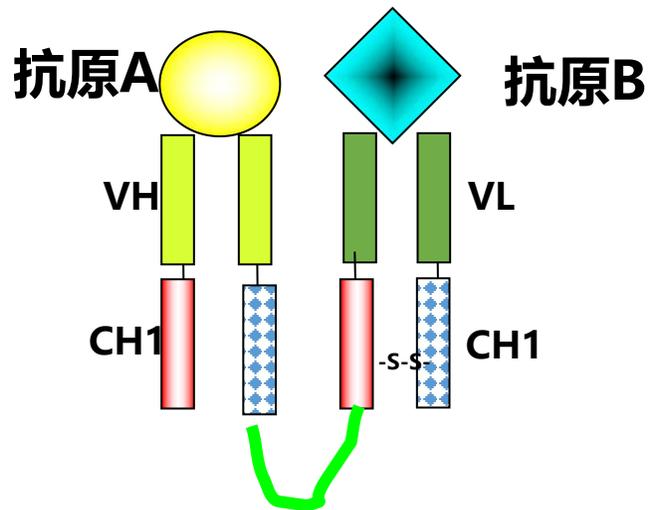
- 1.相对于单体ScFV来说，双体或者多体分子的血液滞留时间更长，与**抗原的亲合力更大**，在肿瘤治疗方面效果更好。
- 2.相对于mAb分子量偏大，渗透力弱，以及ScFV渗透力强但是亲和力不足，双体分子（60KD左右）显示出更好的**综合效果**，拓展了抗体分子靶向治疗的功能。

Fab



Diabody





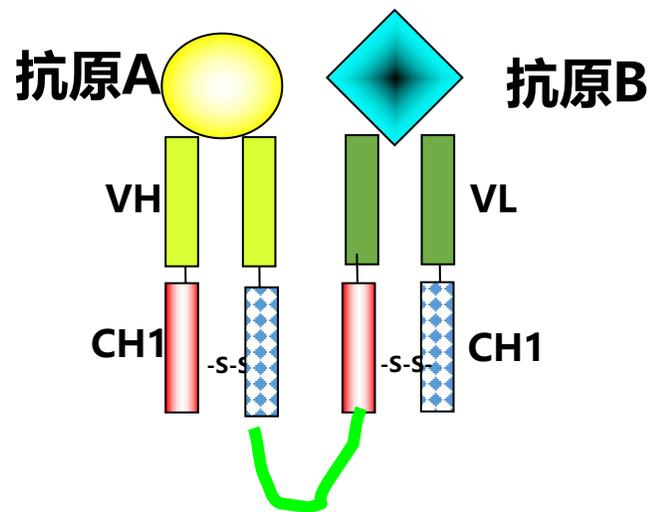
3.在双体抗体中，bisFvs 分子是仅相当于F (ab) 大小，由于其具有独特的与两个抗原位点结合的能力，因此无论是作为导向药物载体，效应细胞识别、连接，还是作为免疫阻断抗体，免疫诊断试剂等等，都具有更为广阔的应用前景。目前，人们已在许多领域，尤其是肿瘤的诊断、治疗等方面对bisFvs 的应用进行了尝试。

2.2 双特异性抗体主要内容

- 双特异性抗体的定义
- 化学交联法双特异性抗体的制备
- 细胞工程双特异性抗体的制备方法
- 基因工程双特异性抗体的构建方法
- 双特异性抗体的应用

2.2.1 双特异性抗体(Bispecific Antibody)

- 双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)是含有两种特异性抗原结合位点的人工抗体。



- 结构双价
- 功能单价

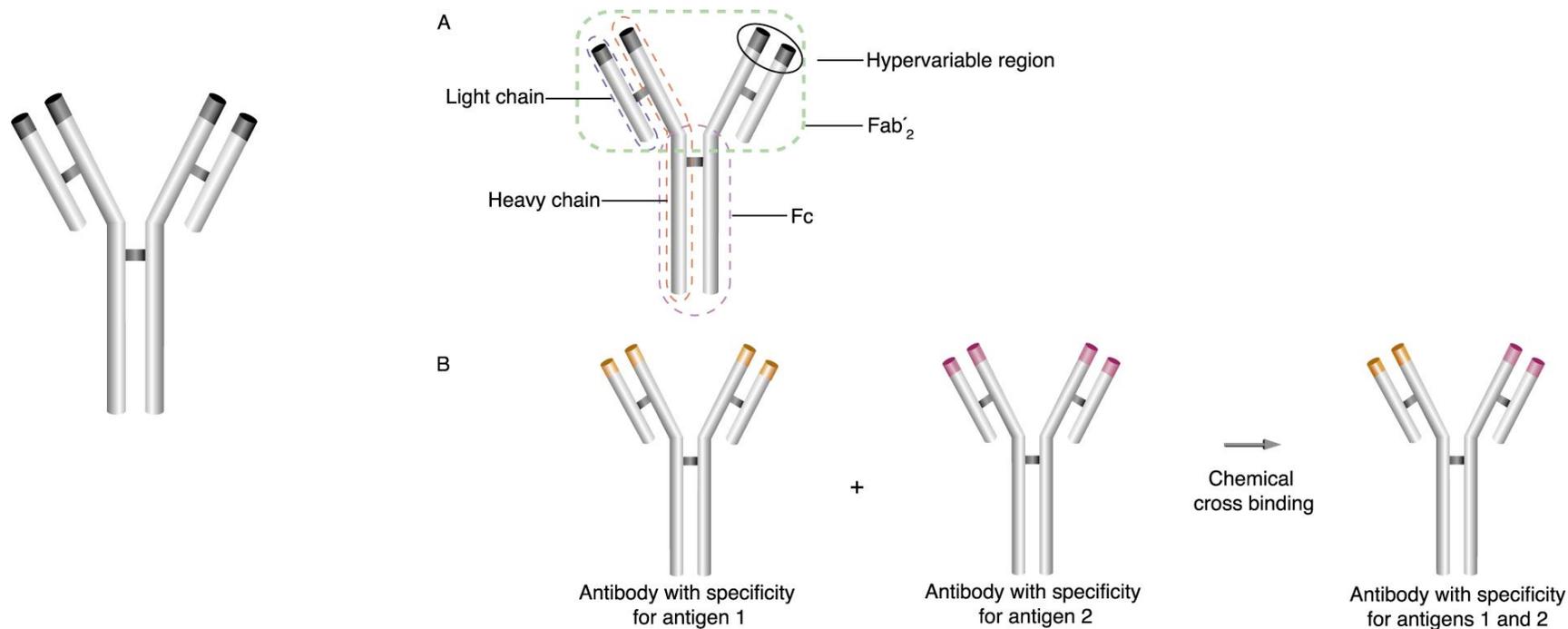


双特异性抗体的制备方法

- 化学交联法
- 细胞工程法 (杂种-杂交瘤)
- 基因工程法

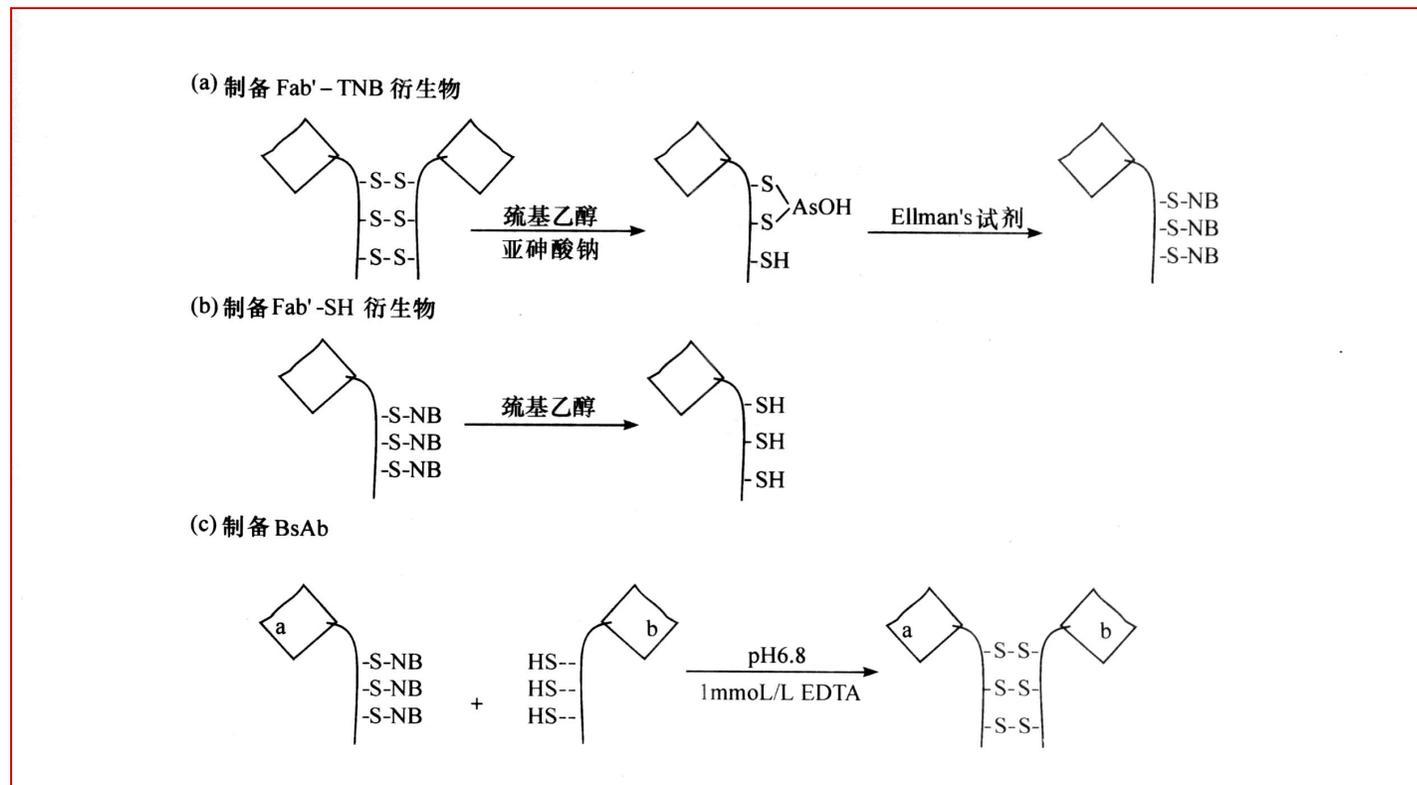


2.2.2 化学交联法

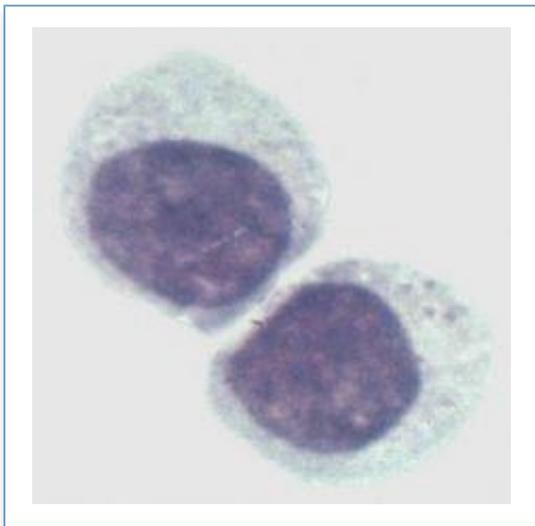


通过特定的化学交联剂的作用，使不同特异性的抗体分子或其功能性片段间形成二硫键，产生异源二聚体。

化学交联法



- 优点：简便迅速，产量高，易纯化。
- 缺点：易影响结合活性，稳定性不高，致畸、致癌？



2.2.3 细胞工程法：二次杂交瘤技术

定义：两种不同靶向的抗体生成细胞产生细胞融合形成杂交瘤，其亲本Ig基因共显性表达，**在一个细胞内同时产生两组不同来源的Ig H链和L链。**



细胞工程法 - 二次杂交瘤

- 四源杂交瘤(quadroma)

杂交瘤细胞 (Ag1)



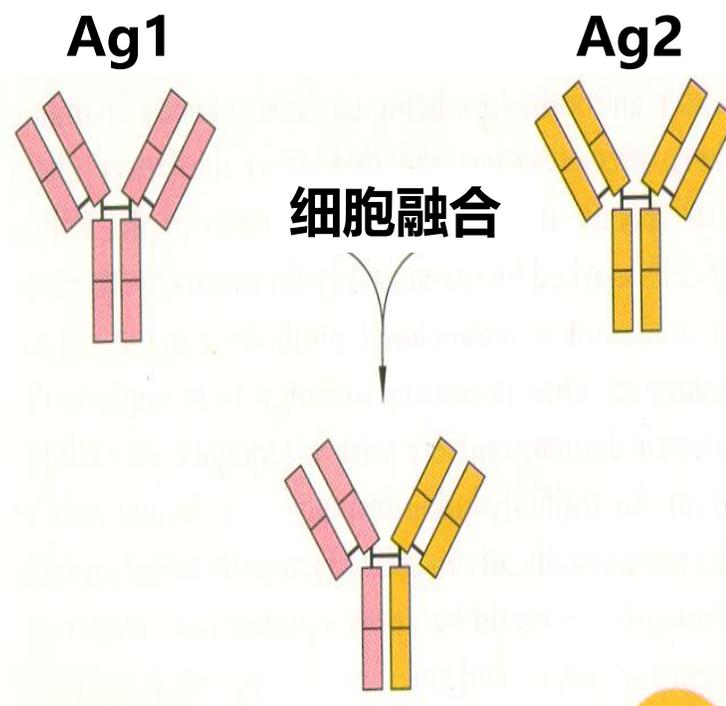
杂交瘤细胞 (Ag2)

- 三源杂交瘤 (trioma)

杂交瘤细胞 (Ag1)

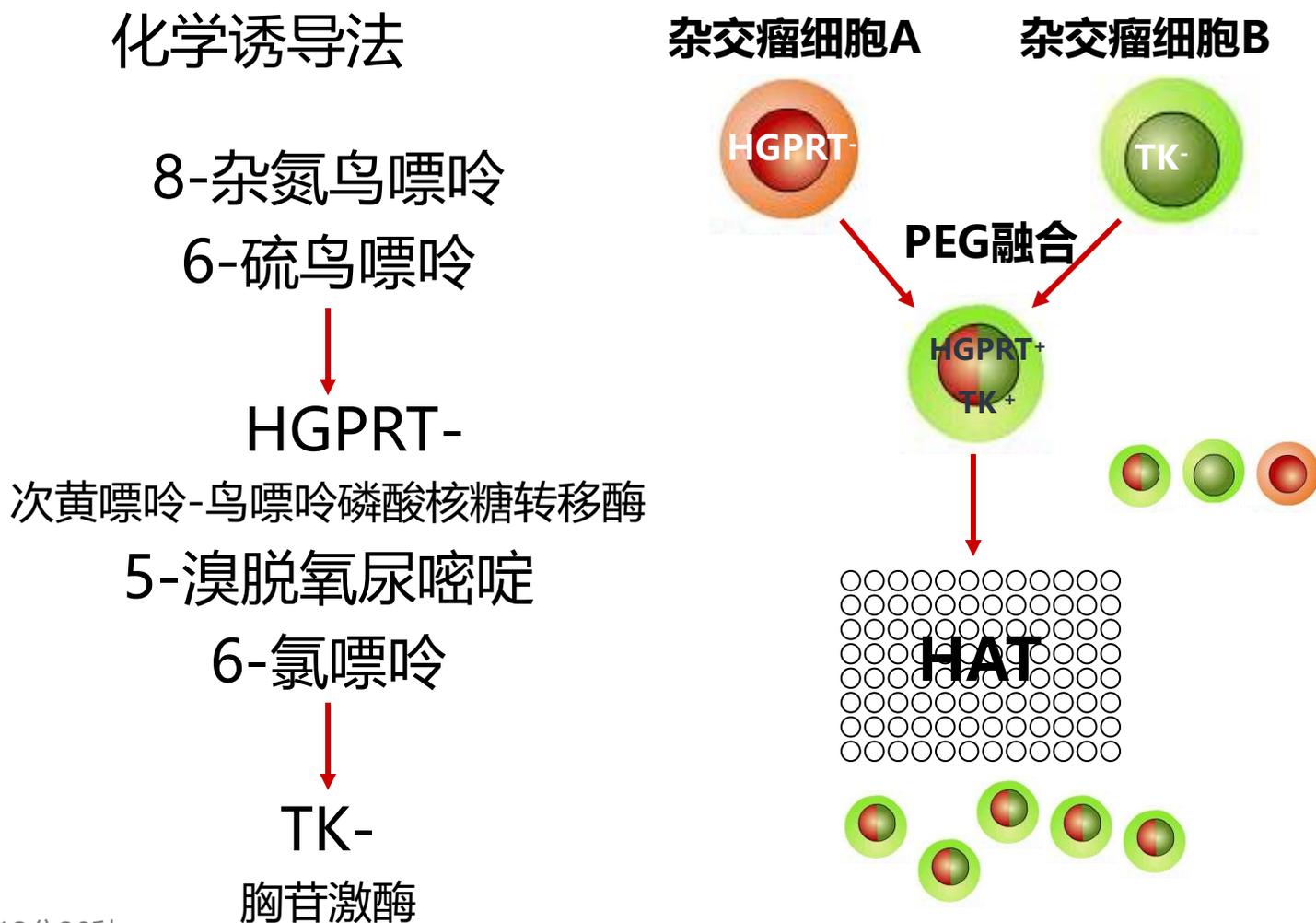


免疫脾细胞 (Ag2)



双特异性抗体

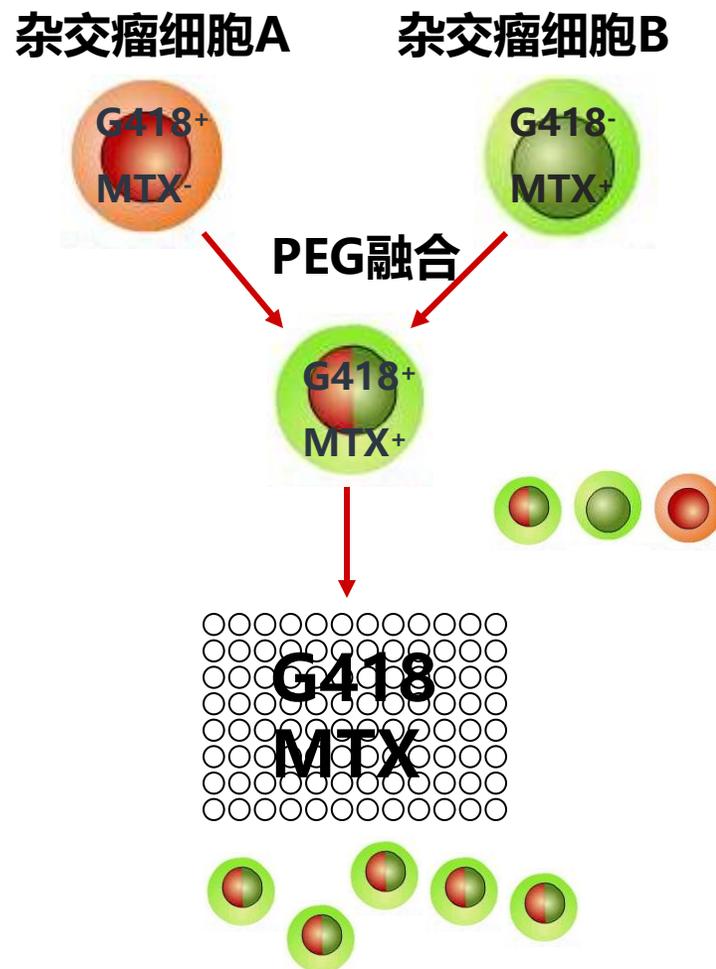
二次杂交瘤细胞的筛选



二次杂交瘤细胞的筛选

基因转染法

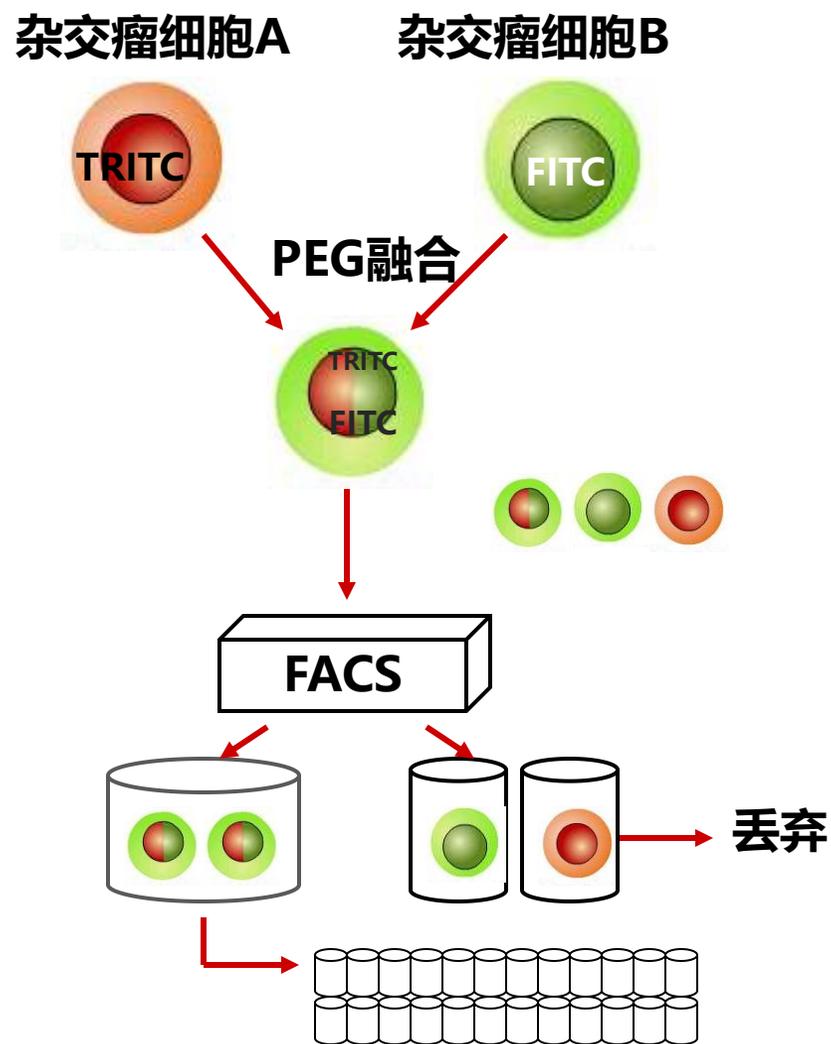
将某些抗药性基因直接导入杂交瘤细胞，使其产生抗药性细胞株。



二次杂交瘤细胞的筛选

荧光标记法

利用显色不同的荧光素分别标记两种亲本杂交瘤细胞，融合后的二次杂交瘤细胞将带有双色荧光，可用荧光激活细胞分选仪（FACS）选择性收集。



细胞工程法 - 二次杂交瘤

杂交的效果是不可控的，分辨杂交效果只能依赖免疫学检测。

hybrid-hybridmoma

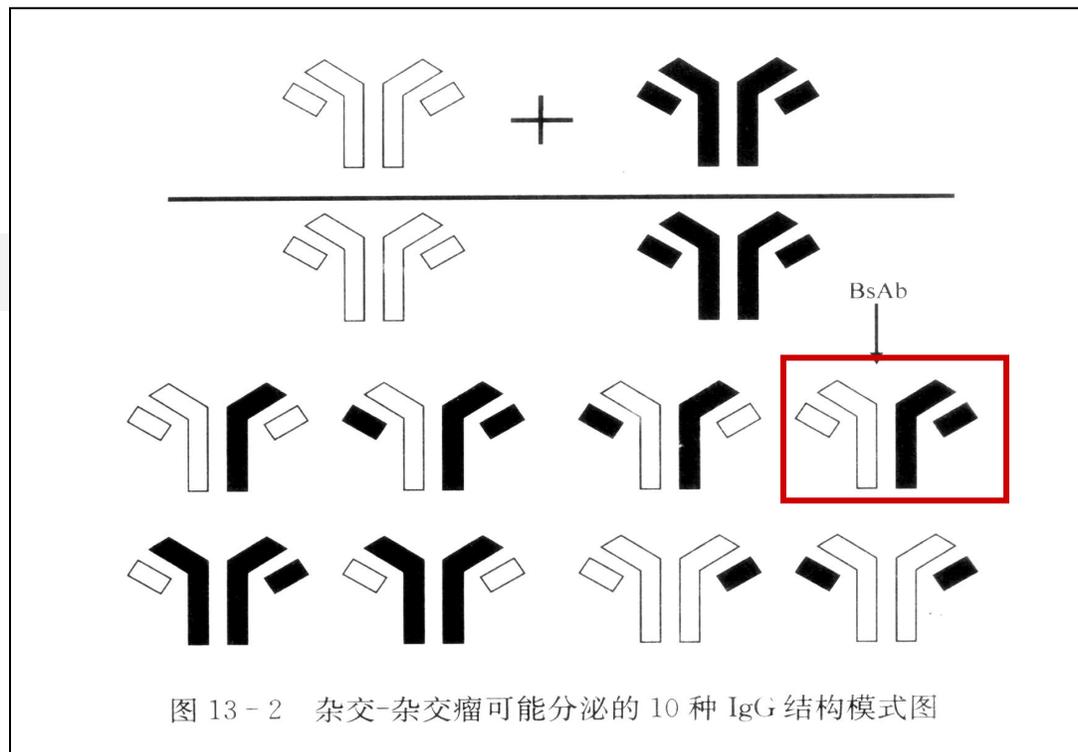


图 13-2 杂交-杂交瘤可能分泌的 10 种 IgG 结构模式图

细胞工程法 - 二次杂交瘤



细胞工程法制备BsAb优点

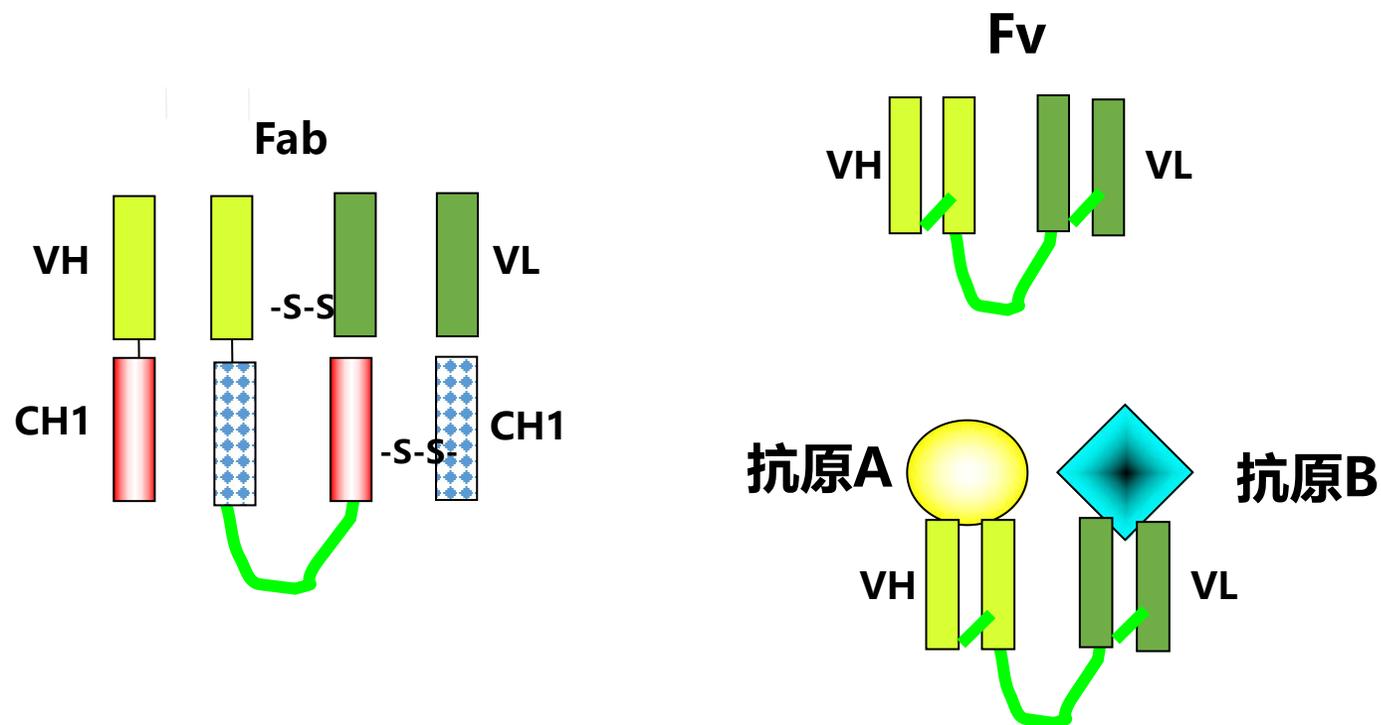
- 合成、组装与分泌过程与天然Ig相同
- BsAb具有严格的Ig分子结构
- 获得杂交 - 杂交瘤细胞系后容易大量制备



细胞工程法制备BsAb缺点

- 抗体不均一，难以纯化；
- 多倍体杂交瘤细胞稳定性差；
- 分子质量过大，不适于临床治疗，产生HAMA。

2.2.4 基因工程双特异性抗体



- 优点：可建立在抗体人源化和小分子抗体的基础上；
- 方法稳定，产物分子质量较小，可大量生产，且成本大大降低，操作简便。



基因工程双特异性 抗体的构建方法



01 末端半胱氨酸残基(Cys)共价交联

02 链间连接肽相连

03 微型抗体

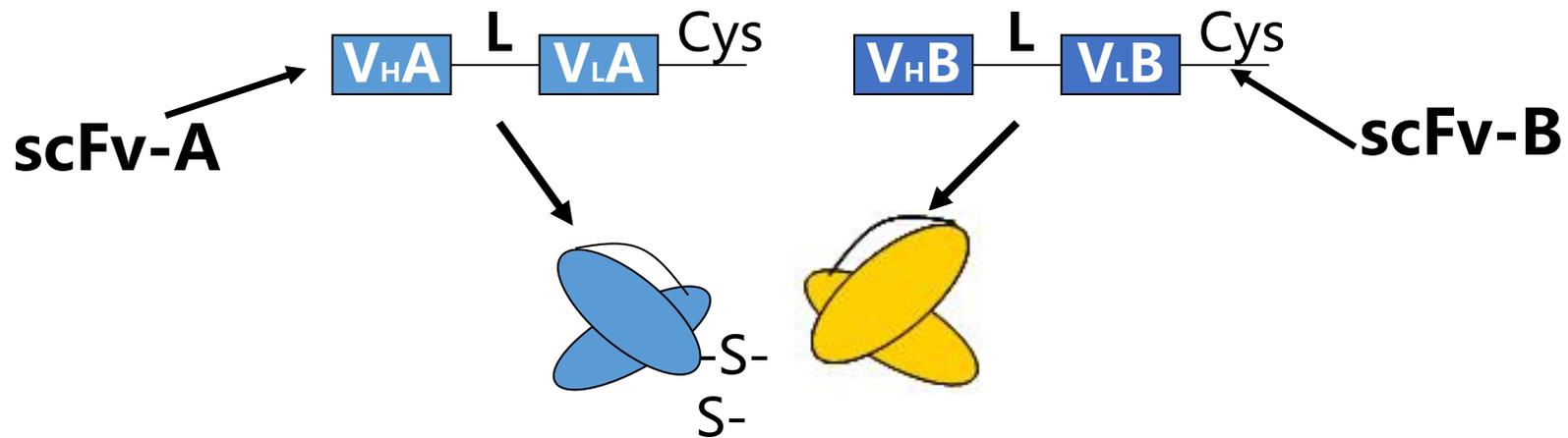
04 双体形式的双特异抗体

05 多特异性抗体



末端半胱氨酸残基 (Cys) 共价交联

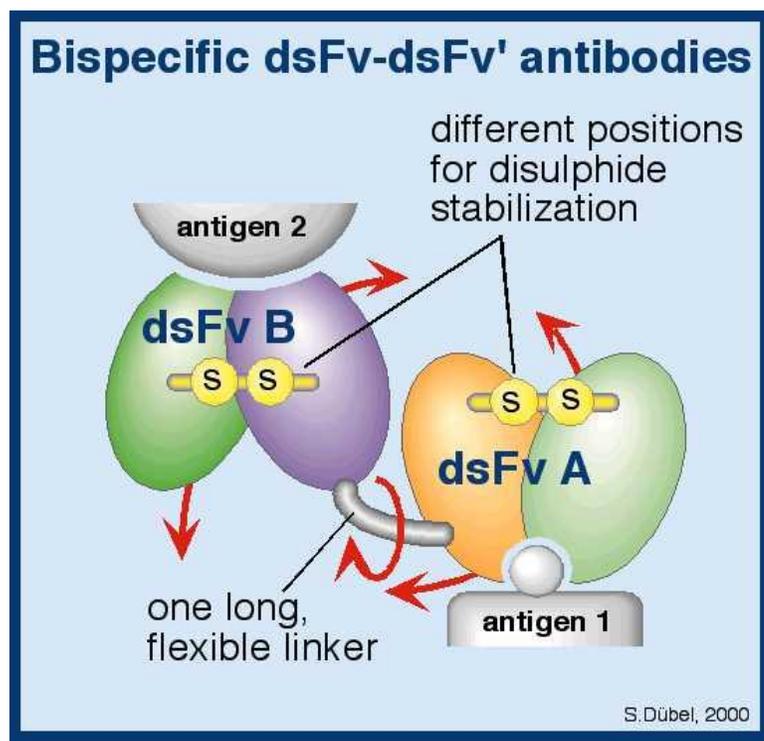
在两种scFv分子C末端分别带上自由的Cys，通过常规二硫键共价交联，形成双特异性抗体



Bispecific scFV-scFV antibodies

链间连接肽相连

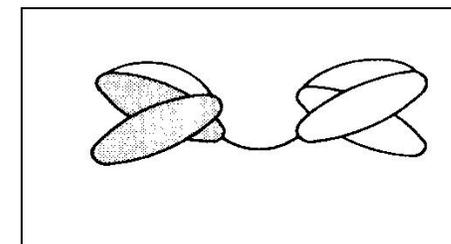
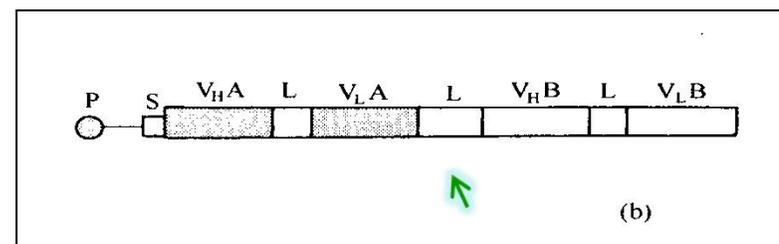
- 两个scFv分子间引入柔性接头 (Gly₄Ser)₃



Bispecific ScFV-ScFV antibodies

ScFv-A

ScFv-B



微型抗体 (miniantibodies)



微型抗体

指利用一个专门的二聚化结构域将两个单链抗体连接为一个异二聚体分子。

二聚化结构

能促使蛋白质亚基之间装配成功能性二聚体的结构。

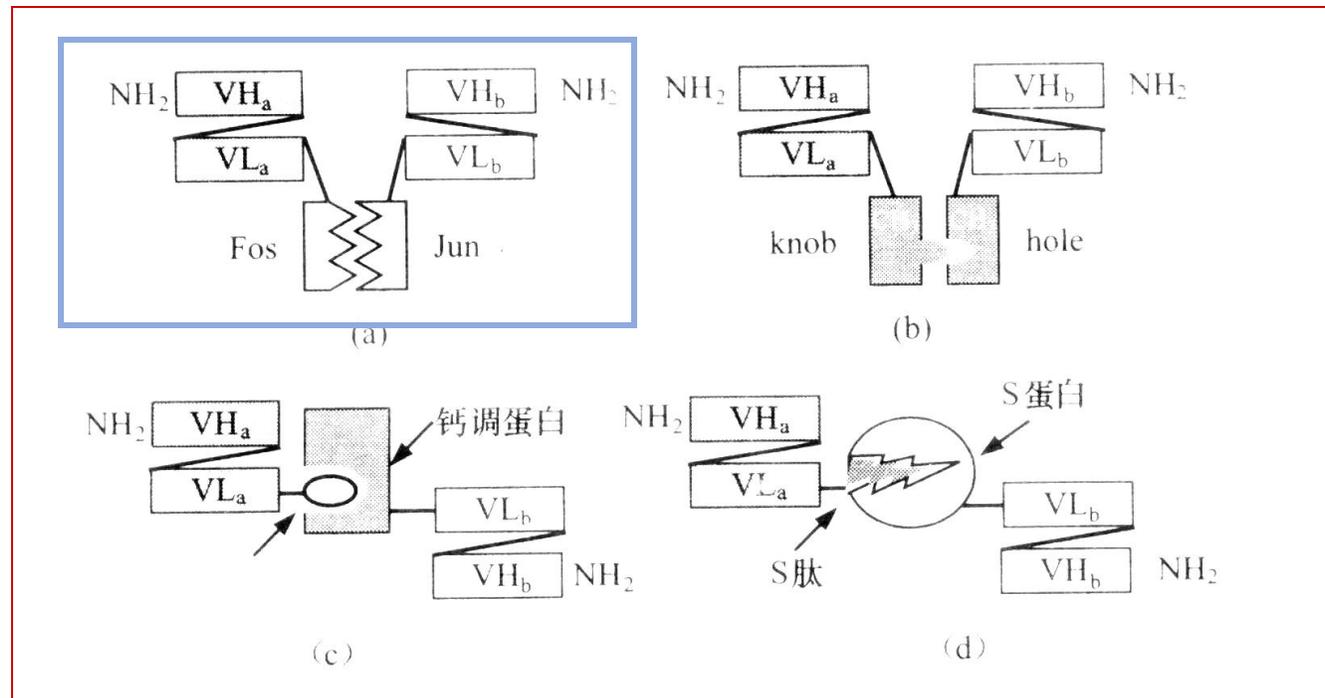


“knobs into holes” 技术

1996年，Ridgway 等人首次将 “knobs into holes” 技术应用到BsAb异源双聚体形成的制备上.



“knobs into holes” 结构

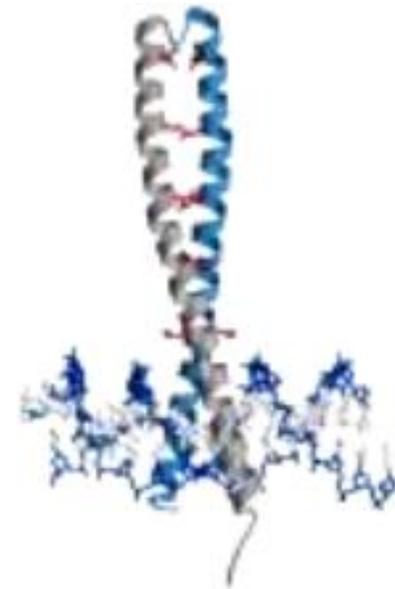
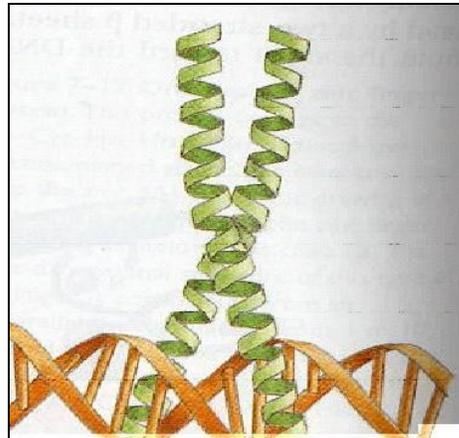
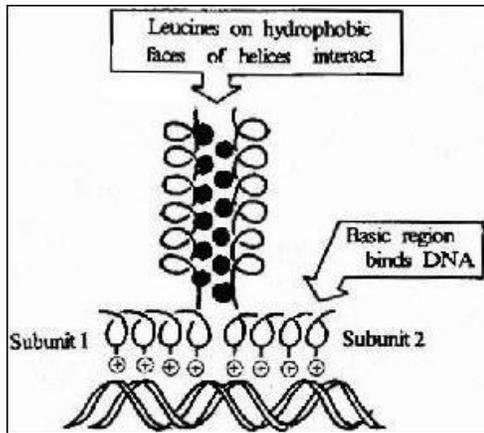


异二聚化结构域构建的双特异性微抗体模式

- (a) Fos/Jun 亮氨酸拉链; (b) CH₃ 的杵/臼结构;
- (c) 钙调蛋白/钙调蛋白结合肽; (d) 核酶 S 蛋白/S 肽

亮氨酸拉链

- 亮氨酸拉链 (leucine zipper)：由伸展的氨基酸组成，每7个氨基酸中的第7个氨基酸是亮氨酸，亮氨酸是疏水性氨基酸，排列在 α -螺旋的一侧，所有带电荷的氨基酸残基排在另一侧。当2个蛋白质分子平行排列时，亮氨酸之间相互作用形成二聚体，形成“拉链”。



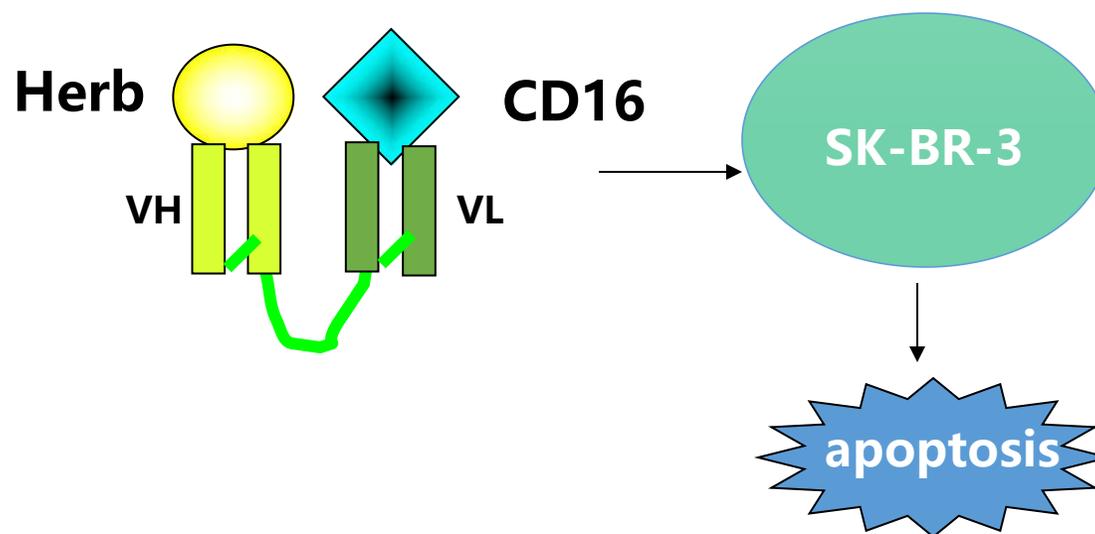
通常采用的方法是：

将一条 IgG 重链上CH3结构域中的氨基酸突变为带小侧链的氨基酸 (hole)

将另一条 IgG 重链上与之相对应的氨基酸突变为带大侧链的氨基酸 (knob)

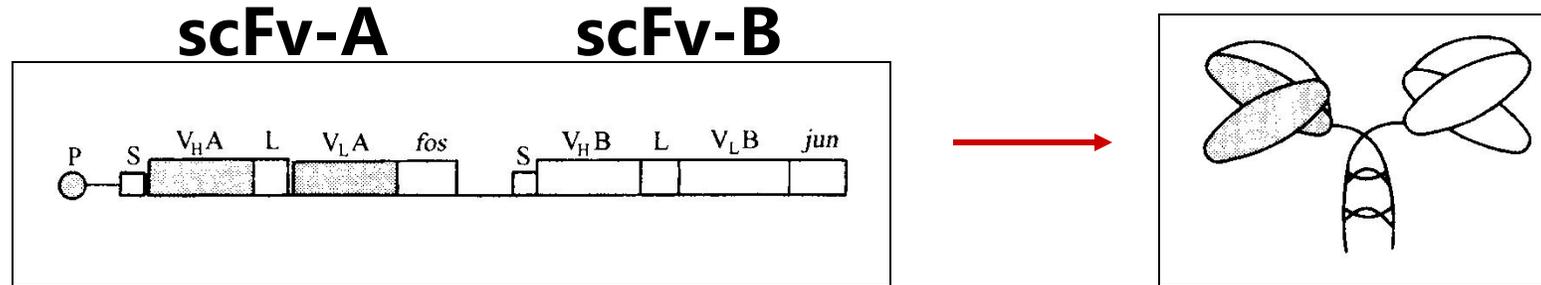
共转染编码这两条重链的基因至同一真核宿主细胞表达。

其中CH3是主要决定抗体亚基相互结合的关键位点，因此主要改建的位置是抗体的CH3



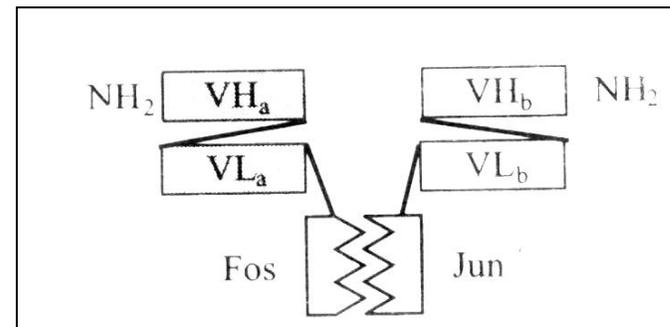
微型抗体 (miniantibodies)

Fos-Jun(两个癌蛋白编码基因序列富含亮氨酸拉链的转录因子, 自身不能形成同源二聚体, 而更倾向形成异源二聚体)



ScFva-fos

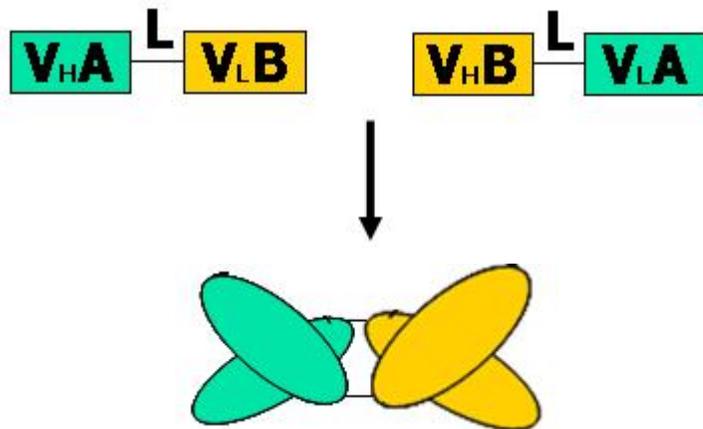
ScFvb-Jun



∅双体型双特异性抗体 (非共价键二聚体)

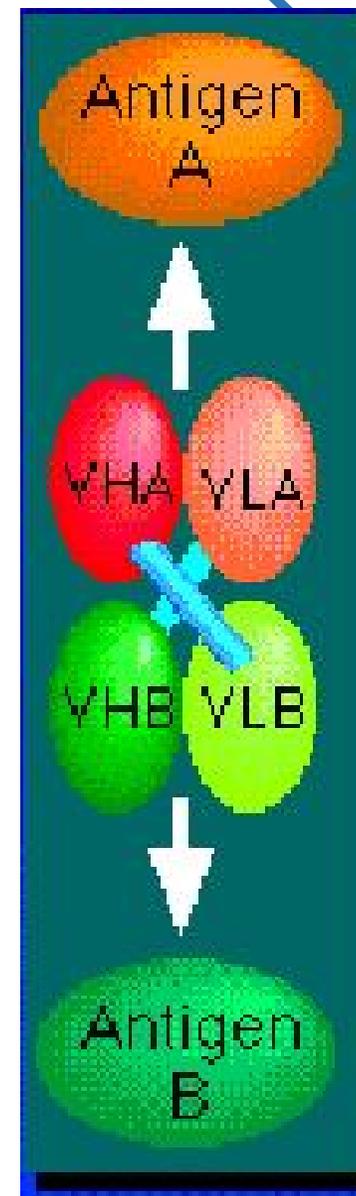
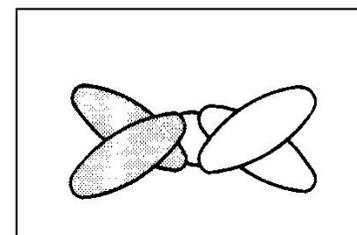
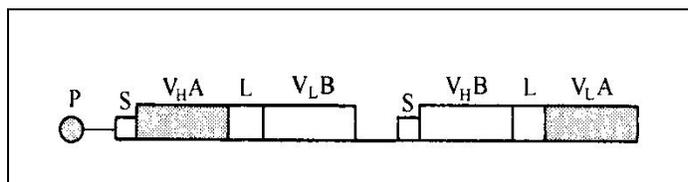
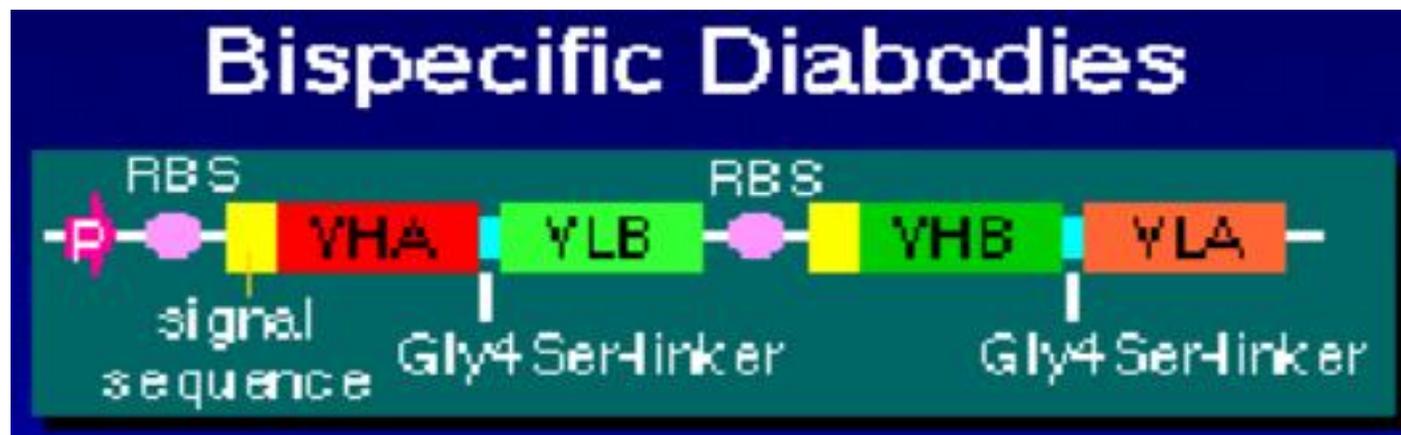
将两种不同抗体的VH和VL用较短的linker连接形成两种不同单链，当它们共表达时，其相互间连接在一起，形成双特异性抗体

1993, Holliger

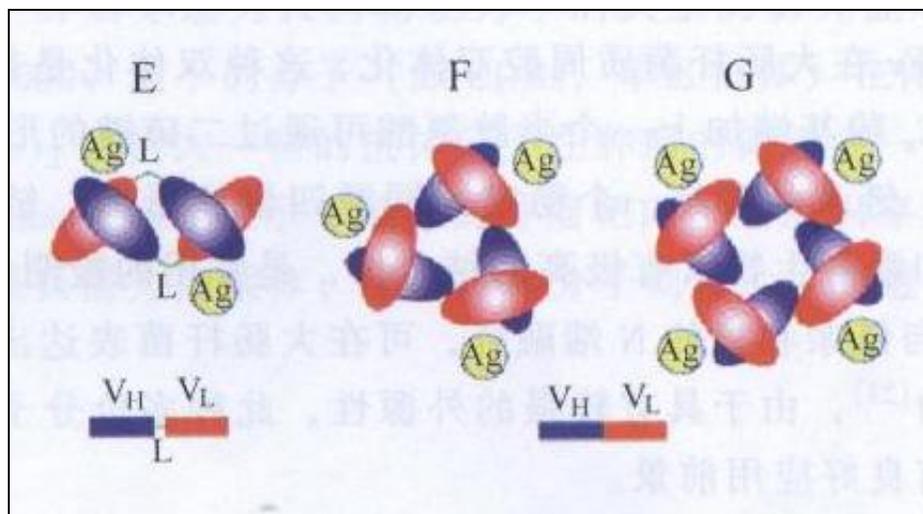
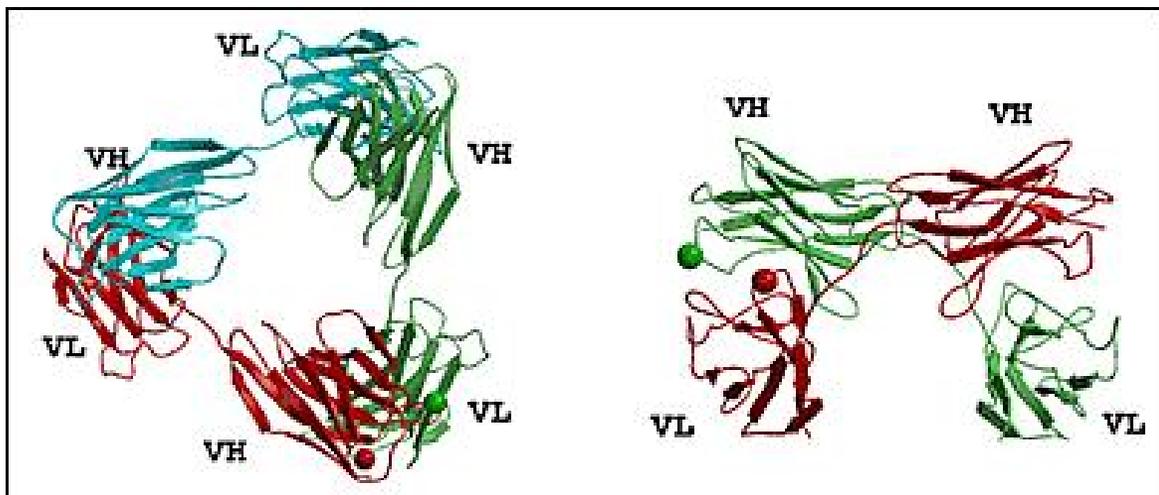


○当单链抗体VL和VH之间的连接肽足够短 (3-12个氨基酸) 时, VH和VL不能正常的形成抗原结合位点。反而倾向与另外一对单链抗体相互配对。

双体形式的双特异抗体

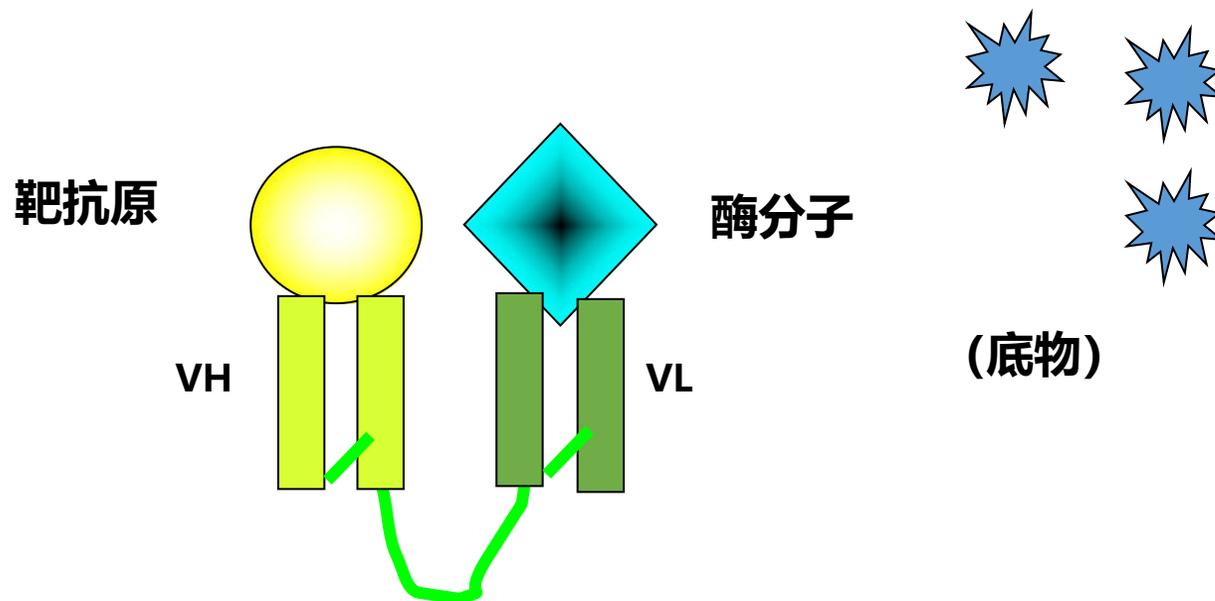


多特异性抗体



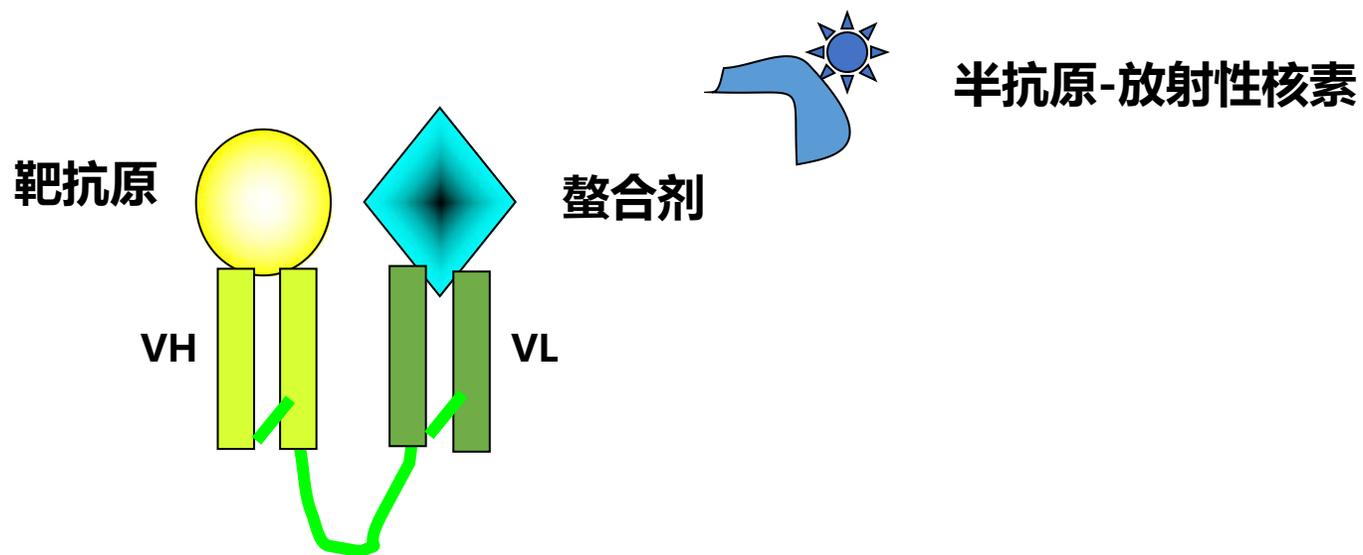
在免疫检测中的应用

- 一个臂结合靶抗原，另一个臂结合酶



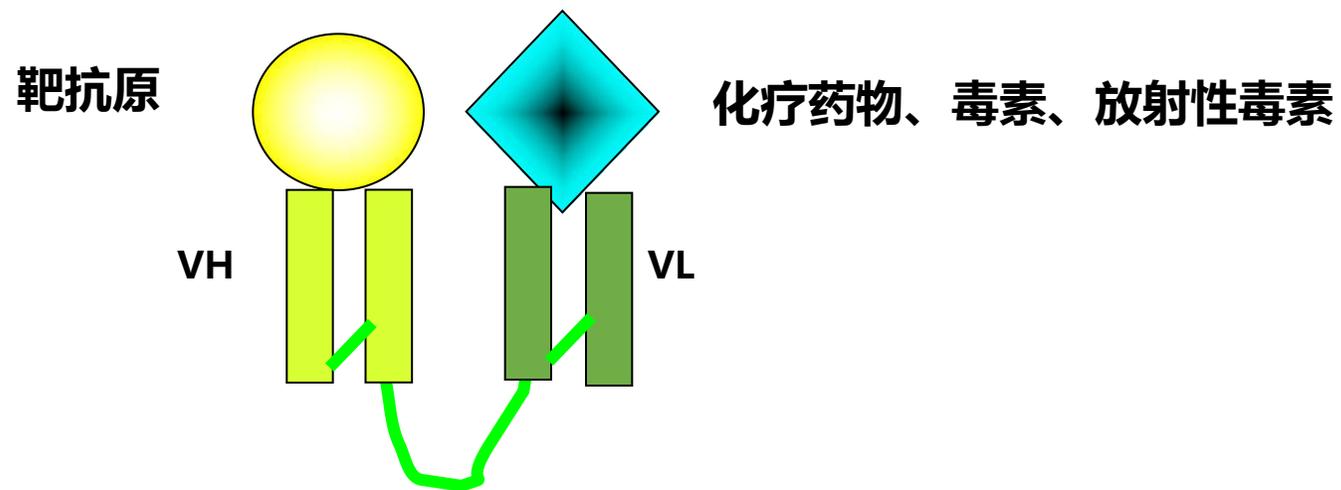
在肿瘤放射免疫显像中的应用

- 一个臂结合肿瘤细胞表面抗原，另一个臂结合半抗原螯合剂

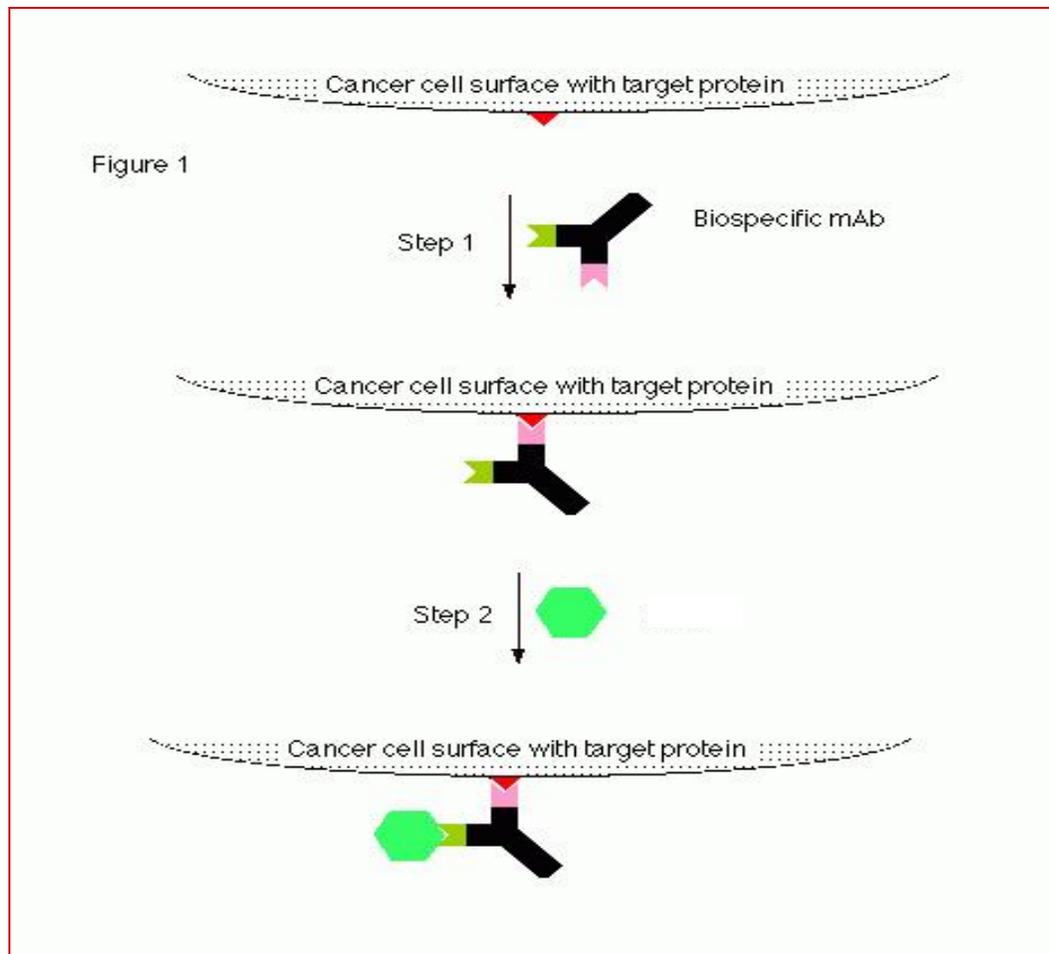


介导药物杀伤效应

- 一个臂结合肿瘤细胞表面抗原，另一个臂结合药物

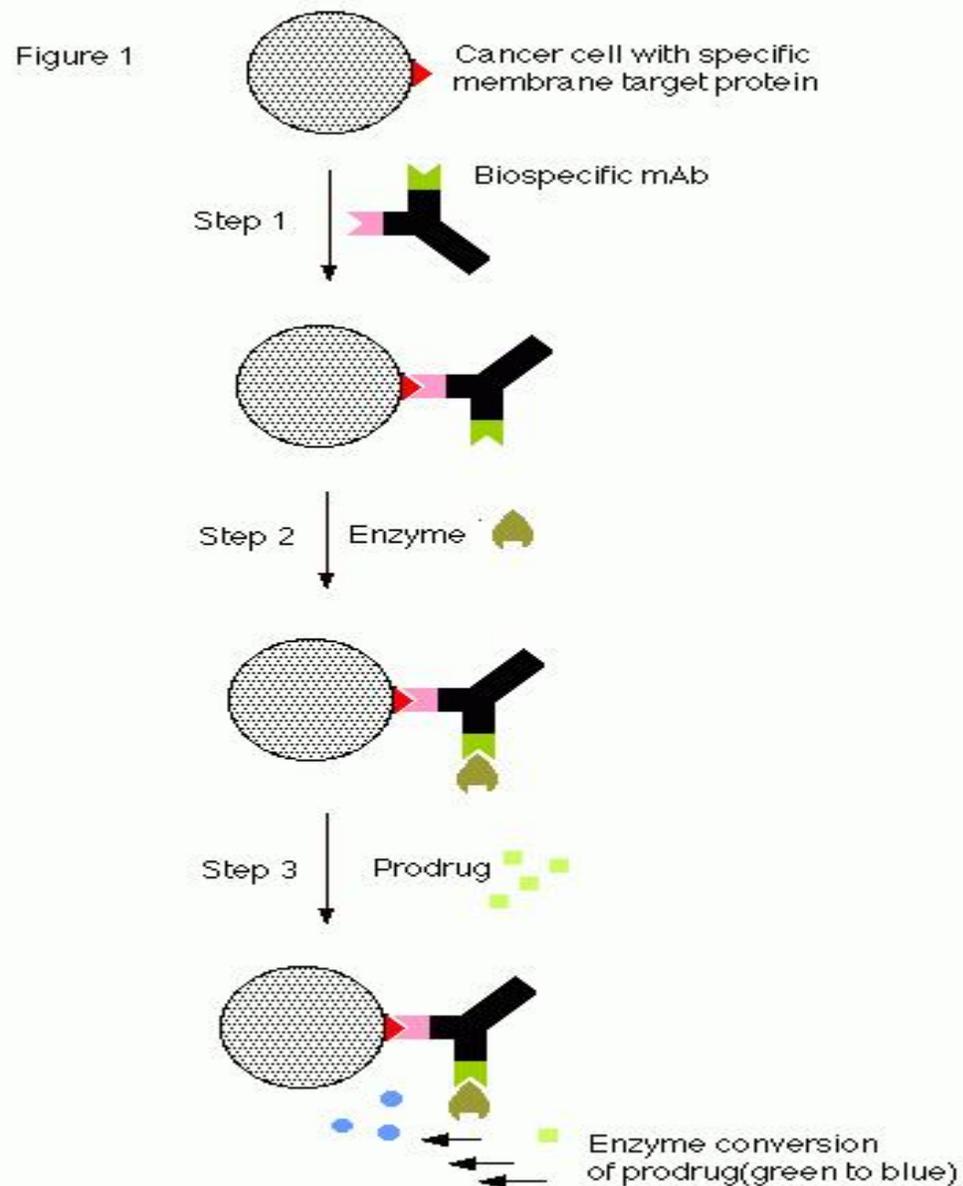


介导药物杀伤效应



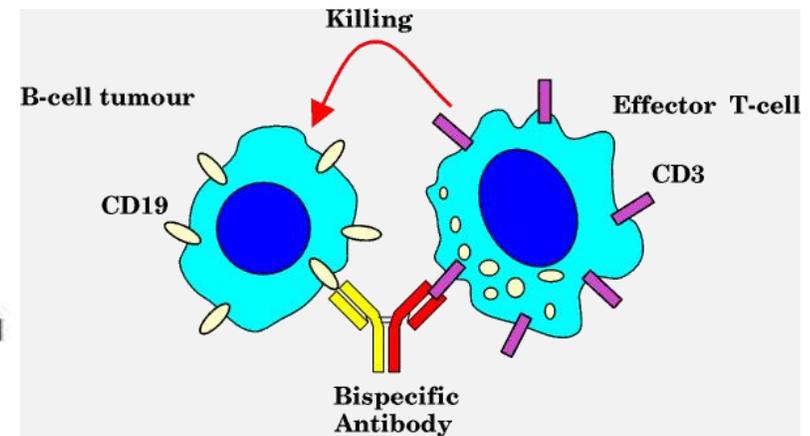
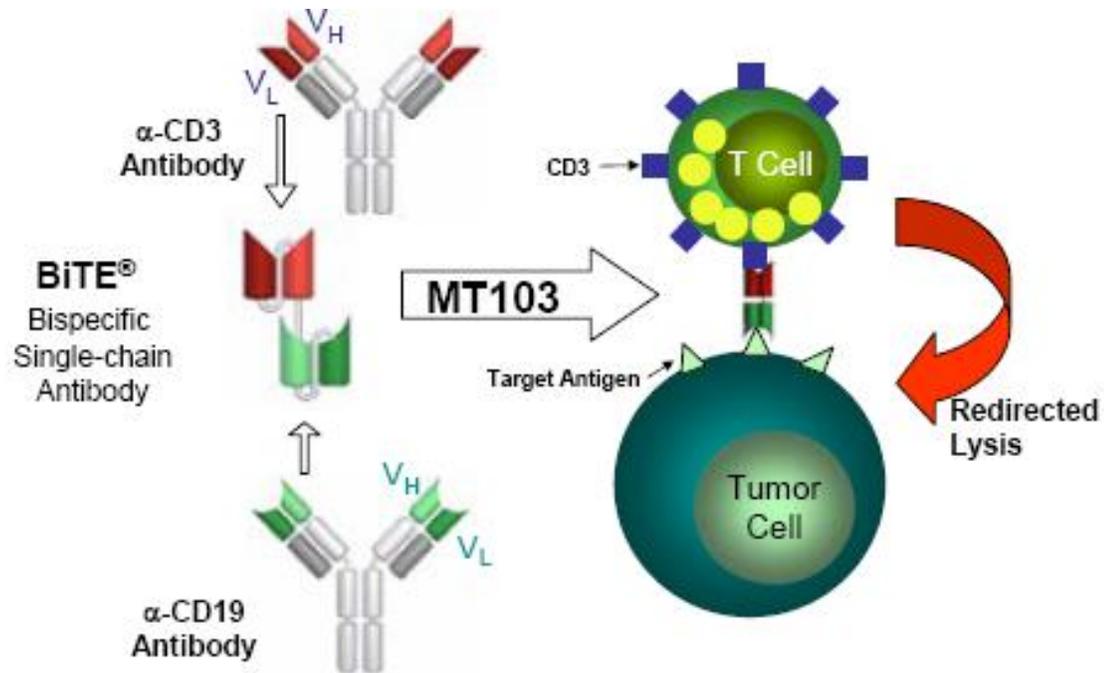
ADEPT

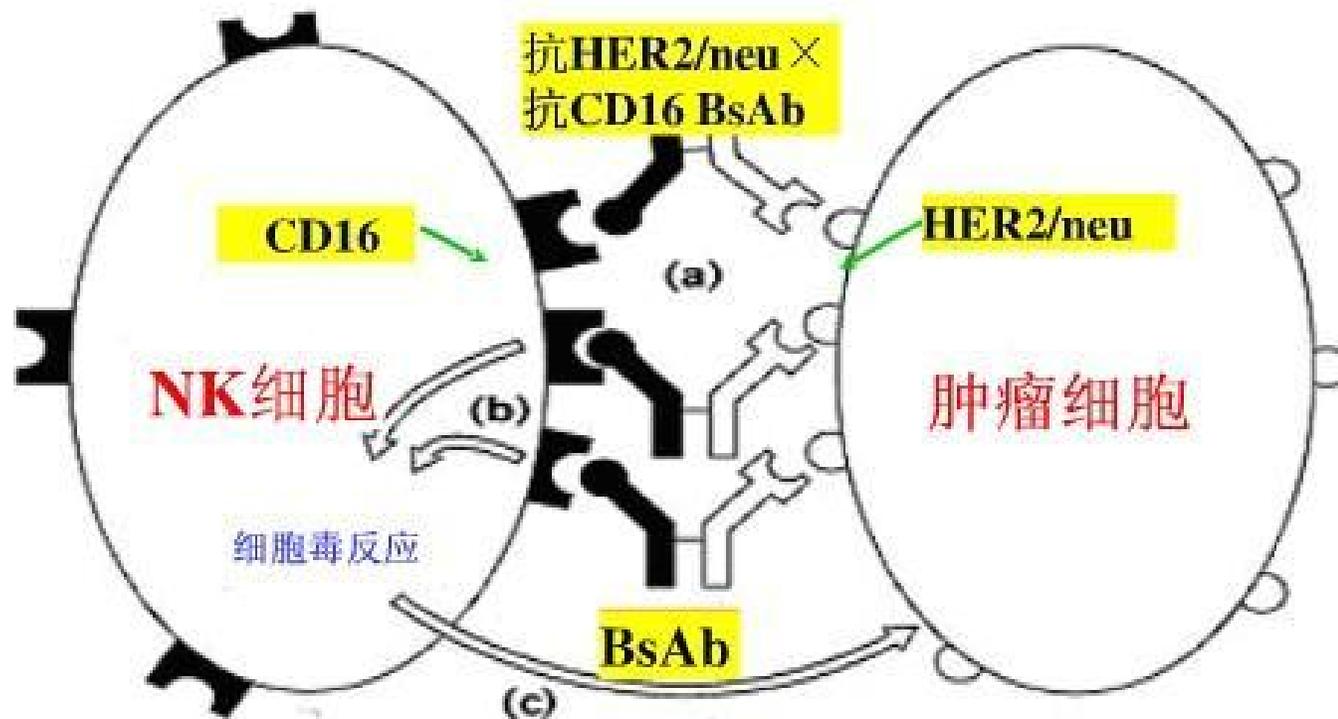
(抗体介导的酶
前体疗法)



介导细胞杀伤效应

- 双特异性抗体其一个臂结合肿瘤细胞表面抗原，另一个臂不但结合免疫活性细胞起介导作用，而且能激活免疫细胞。





双特异性抗体介导的杀伤作用机制

(a), BsAb桥连效应细胞和靶细胞; (b), 连接的触发分子启动细胞毒反应; (c), 效应细胞对靶细胞产生致死性杀伤反应。

双特异性 抗体的效 应靶

效应细胞	靶分子	效应
T细胞	TCR/CD3,CD2	杀伤肿瘤细胞
NK细胞	FcγRIII,CD44,CD56,CD38	杀伤肿瘤细胞 病毒感染细胞
中性粒细胞	FcγRI,CR3, Fc αRI	杀伤肿瘤细胞 病毒感染细胞
单核巨噬细胞	FcγRI,CR3, FcαRI	杀伤肿瘤细胞 病毒感染细胞
树突状细胞	FcγR	抗原递呈
红细胞	CR1	免疫粘附





双特异性抗体的优点：

1.增加了抗原结合价：

- 同天然抗体相比，单价或者双价的基因工程抗体分子小，体内半衰期短，且与靶细胞结合效果差。
- 多价结合体的基因工程抗体的构建有利于提高抗体的效能并延长血清半衰期。



双特异性抗体的优点

2. 双抗原结合位点丰富了抗体的功能：

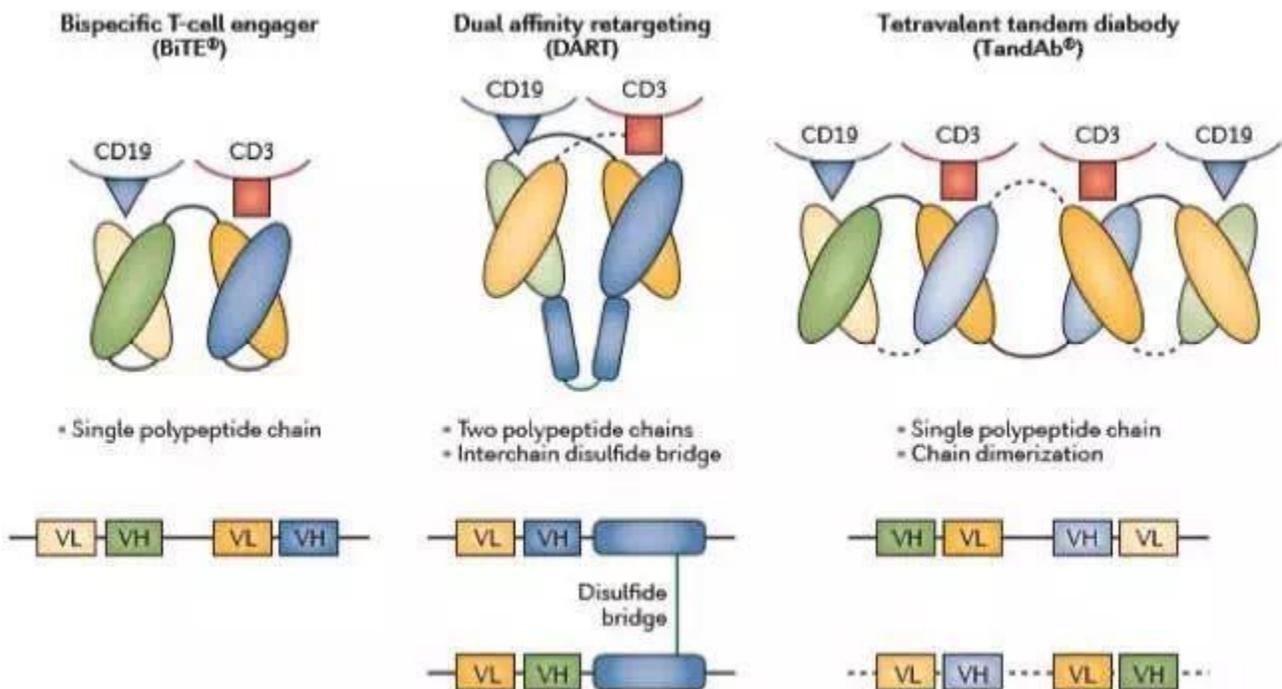
1 双特异性抗体是将2个结合点表现为不同的特异性，抗体的一个结合点的特异性表现为靶细胞（如肿瘤细胞）结合，另一结合点可与“药物”（如毒素、抗癌药物、细胞毒性细胞，效应性细胞因子）结合。

2 这种双特异性的结合，可使作用物直接地、高密度地作用于靶细胞，提高了疗效，从而可相对地减少对患者的副作用。



双特异性抗体的优点

3. 这种方法的**最大挑战**是打破免疫耐受，增强CTL细胞识别和杀伤肿瘤细胞的能力。



课后小结

- 一. 小分子抗体的定义和分类
- 二. 小分子抗体的特点
- 三. 优势与劣势
- 四. 纳米抗体的基本特点
- 五. 纳米抗体的应用
- 六. 双特异性抗体的定义
- 七. 从细胞学角度和基因工程角度分别了解双特异性抗体的主要构建方法