

第四章 抗体制药

4.3 基因工程抗体及其制备

一、课程目标

1) 知识学习目标

1. 掌握基因工程抗体类型及其特性
2. 熟悉基因工程抗体的基本结构和分子量

2) 思政育人（生命健康与科学家的社会责任感）

癌症是目前人类面临的第三大杀手，如何攻克癌症成为全球科学家面临的严峻挑战。在细胞分裂的过程中和调控机制中，包含了许多值得开发的抗肿瘤药物靶点，单抗可以作用于靶点进行治疗。通过分析肿瘤细胞形成的外因和内因，形成生命健康的价值观，并感悟到“事物发展的不平衡必然形成不良的后果”，同时让同学们认识到运用所学知识造福人类的社会使命感。

二、思政案例

单克隆抗体的对癌症靶向治疗作用。

三、课程组织

知识点 1: 抗体的结构

Ig 分子氨基端 L 链的 1/2 与 H 链的 1/4 区段的氨基酸组成及排列顺序多变，称为**可变区 (variable region, V 区)**。

羧基端 L 链的 1/2 与 H 链的 3/4，氨基酸的组成和排列比较恒定，称为**恒定区 (constant region)**。

在 V 区中，某些特定位置的氨基酸残基显示更大的变异性，构建了抗体分子和抗原分子发生特异性结合的关键部位，将其称为**互补决定区 (complementary determining region, CDR)**。C 区决定了 Ig 分子的**异种抗原性**。

基因工程抗体的目的:

- 1、基因工程抗体领域的研究重点之一，就是降低鼠源性单克隆抗体分子的**免疫原性**；
- 2、降低抗体的相对分子质量，以增加组织的**透过性**。

思政案例: 结合抗体在肿瘤靶向治疗过程中的作用，思考为什么要降低抗体的分子量。

目的：通过分析肿瘤细胞形成的外因和内因，形成生命健康的价值观，并感悟到“事物发展的不平衡必然形成不良的后果”，同时让同学们认识到运用所学知识造福人类的社会使命感。

知识点 2：人鼠嵌合抗体 (chimeric Ab)

在基因水平上把鼠源性单克隆抗体的重链 (H) 和轻链 (L) 可变区分离出来，分别与人 Ig 的重链和轻链的稳定区基因连接成人—鼠嵌合抗体的 H 和 L 链基因，再共转染骨髓瘤细胞，就能表达出完整的人—鼠嵌合抗体。

知识点 3：改形抗体 (reshaped Ab)

Ig 分子中参与构成抗原结合部位的区域是 H 链和 L 链 V 区中的互补决定区 (CDR)，而不是整个可变区。如果将鼠源性单克隆抗体的 CDR 序列替换人 Ig 分子中的 CDR 序列，可使人的 Ig 分子具有鼠源性单克隆抗体的抗原结合的特异性；抗体分子中鼠源部分只占很小比例，可基本消除免疫原性。

知识点 4：小分子抗体

1. **Fab 片段** Fab 片段由重链 VH 加 CH1 及完整的轻链构成，大小为完整抗体的 1/3。Fab 穿透实体瘤的能力强，且在体内有较高的肿瘤灶/血液浓度比。

2. **单域抗体 (single domain antibody) 和最小识别单位**：单域抗体指 VH 或 VL，其分子大小仅为完整抗体的 1/12。由单个 CDR 构成的小分子抗体称最小识别单位 (minimal recognition unit, MRU)，其也具有与抗原结合的能力，但亲和力极低，使其实际应用受到限制。

3. **Fv 片段及其共价联结的衍生物**：Fv 片段由 VH 和 VL 组成，是抗体的抗原结合部位，分子量只有完整分子的 1/6。

4. **单链抗体 (single chain Fv, ScFv)**：单链抗体分子是由一条单一肽链按 VH—Linker—VL 或 VL—linker—VH 的顺序组成。这接头 (linker) 的长短对单链抗体的稳定性、折叠和亲和力都有影响，长些的接头则 Fv 不够稳定，而太短则影响 VH 和 VL 的适度配合以结合抗原。根据计算，15 个氨基酸残基左右的长度比较合适，常用的接头为 (Gly4Ser)₃。其大小仅为完整抗体分子的 1/6，是抗体与抗原结合的最小单位。**ScFv 较之 Fab** 的优点是分子更小，更有利于穿透组织和清除，单链抗体的制备流程较简单，易进行分子改造，ScFv 基因片段还可以与适当的酶基因或毒素蛋白基因重组，用于产生酶联抗体或重组免疫毒素。单链抗体的亲和力比相应的 Fab 低。