

# 基因工程抗体的生产技术

杨和平 黄宗之

(衡阳医学院分子生物学研究中心,衡阳,421001)

基因工程抗体又称重组抗体,是指利用重组 DNA 和蛋白质工程技术,对抗体基因进行加工改造和重新装配,经转染适当的受体细胞后所表达的抗体分子。本文扼要介绍基因工程抗体生产技术的原理、分类、技术路线和应用。

## 1 基因工程抗体的生产原理

天然抗体 IgG 是由二条相同轻链(L 链)和两条相同重链(H 链)组成,其中多数 N 端有由 1/2 条轻链和 1/4 条重链组成的可变区(variable region,V 区),多肽

链 C 端有由 1/2 条轻链和 3/4 条重链组成抗体的恒定区(constant region,C 区)。V 区是抗体与抗原的结合部位,其氨基酸序列随抗原的不同而变化。C 区与固定补体、通过胎盘等功能有关。抗体经木瓜酶处理,可得到两个相同的 Fab 段和一个 Fc 段,天然抗体是由获得性免疫产生的。多数基因工程抗体是通过基因工程技术(重组 DNA)与细胞工程技术(杂交瘤)而生产的。首先将鼠及人抗体的基因克隆出来,通过基因重组将鼠重链可变区基因与人重链 (下转第 158 页)

(上接第 152 页) 恒定基因连接,将其插入重组重链基因载体中;然后用重组的重链基因与人轻链基因一起转染非分泌型骨髓瘤细胞,通过上述步骤实现单克隆抗体的人源化;再通过新霉素(neo)阳性选择法筛选出转染瘤(抗体库筛选),经扩增培养并筛选出抗体分泌性克隆。

## 2 基因工程抗体的分类

抗体的结构比较复杂,因而也有利于研制不同类型的基因工程抗体,主要包括四个类型。

### 2.1 嵌合抗体(chimeric antibody)

又称“杂合抗体”(hybrid antibody)是指在同一抗体分子中含有不同种属来源抗体片段的抗体,即将鼠源性单克隆抗体(McAb)免疫球蛋白的轻重链 V 区基因与人免疫球蛋白的轻重链 C 区基因相连接,再与表达载体连接构建嵌合基因,表达抗体为“鼠-人”类型,即抗体的 Fab 或 F(ab')<sub>2</sub> 来源于鼠类,而 Fc 段来源于人类。所以这种鼠/人嵌合抗体既保持了鼠 McAb 的特异性,又减少了鼠抗体对人体的免疫源性,而且具有比鼠 McAb 更强的介导补体、细胞对靶抗原的杀伤和吞噬作用。但是,由于嵌合抗体中的鼠源性序列仍占一定比例,所以大剂量和重复给药仍会产生一定副作用。

### 2.2 重构抗体(reshaping)

从抗体结构来看,其 V 区含 3 个与抗原构型互补的决定区(complementarity determining regions, CDR),即抗原结合位点所在区,也称超变区,用鼠源性抗体的超变区基因 CDR 替换人源性抗体的 CDR 后,导入真核细胞中表达的产物称为重构抗体。由于这种重构抗体只含有很少一部分鼠源蛋白成分,并且对靶抗原又有较高的特异性和亲和力,因此具有广泛的临床应用。

### 2.3 单链抗体(single chain Fv, SCFv)

是指抗体重链可变区和轻链可变区由一个肽段首尾相连形成的单一肽链。单链抗体分子仅为 IgG 分子的 1/6,组织穿透力强,体内清除快;适应于肿瘤和心血管的导向治疗;可由大肠杆菌发酵生产;由于是单链,易于进行分子改造,如与毒素基因拼接成融合蛋白,将为动脉硬化的治疗具有广阔的前景。

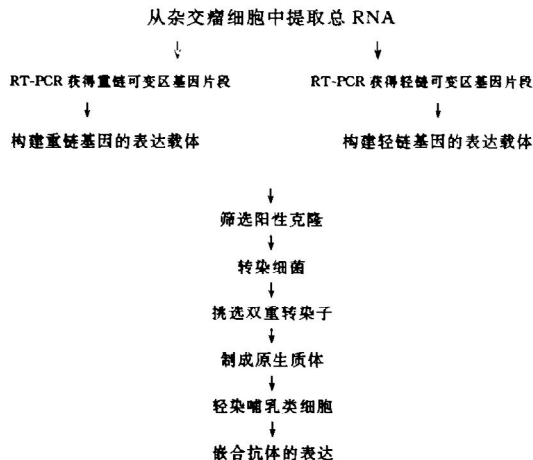
### 2.4 单区抗体(single domain antibody)

因为免疫球蛋白的重链可变区(VH 区)有很好的抗原结合亲和力,所以将单一 VH 区基因克隆到合适的载体中,获得的表达产物具有抗原结合活性,该抗体称为单区抗体。这种抗体虽然分子小,(下转第 161 页)

(上接第 158 页) 但特异性和亲和性差,若把单区抗体应用于临床仍有一定困难。

### 3 基因工程抗体的技术路线

由于基因抗体的种类不同,技术路线略有不同,本文仅介绍嵌合抗体的技术路线。



### 4 基因工程抗体在动脉硬化研究中的初步应用

有人在研究纤溶酶原激活剂(PA)中,为了提高 PA 的纤溶效果而制备了嵌合抗体。首先制备抗纤溶蛋白的 McAb59D<sub>8</sub>,将 59D<sub>8</sub>IgG2CH 区基因与编码组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)轻链的 cDNA 克隆到表达质粒 PsV<sub>2</sub>gpt 中,产生了新的表达质粒 PSVD8T,然后将分子量为 32KD 的单链尿激酶(scuPA)141~411 氨基酸片段插到 PSVD8T 中的 t-PA 轻链上。将该表达质粒转染到缺失重链的 59D<sub>8</sub> 杂交瘤细胞中,表达产物具有抗纤维蛋白 McAb 的特异性和 t-PA、scuPA 的纤溶性,能够特异地到达血栓部位,从而提高了纤溶效果。此外,在动脉粥样硬化的研究中,已广泛应用生长因子、细胞因子、癌基因、巨细胞病毒等的基因工程抗体。