

抗体亲和力成熟

抗体亲和力成熟(antibody affinity maturation)是指机体正常存在的一种免疫功能状态。在体液免疫中,再次应答所产生抗体的平均亲和力高于初次免疫应答。这种现象称为抗体亲和力成熟。机体的这种功能状态是长期进化和对外界环境不断适应的结果,对机体防御和维持自身免疫监控有着十分重要的意义。

体内亲和力成熟

抗体亲和力成熟形成的原因,是抗体形成细胞本身的基因突变和抗原对 B 细胞克隆的选择性激活。机体在接受抗原刺激后,体细胞发生高频突变,突变产生的各种亲和力不同的 B 细胞克隆,经过滤泡树突细胞捕获,使得后代 B 细胞及其产生的抗体对抗原的平均亲和力得到了提升,从而实现了亲和力的体内成熟。

在机体体液免疫系统中, B 淋巴细胞应对抗原刺激诱导,产生抗体。在反复暴露于抗原的过程中,产生高亲和力的抗体。这涉及两个相互关联的过程:首先在骨髓抗体轻重链的胚系基因片段经 V-(D)-J 随机重排产生超过 10⁶ 的组合,这是抗体特异性免疫反应的分子基础;其次,机体接受抗原刺激后,在二级淋巴器官的生发中心,抗体基因尤其是互补决定区(complementarity determining region, CDR)发生高频突变,突变导致抗体结合特性改变。经过滤泡树突状细胞提呈抗原,只有抗原亲和力最高的 B 细胞将选择生存进一步分化为浆细胞和记忆细胞。对于高频突变,近期研究表明:活化的胞嘧啶核苷脱氨酶(activation-induced cytidine deaminase, AID)将胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶,突变后的尿嘧啶引发错配和碱基剪切并引发 DNA 修复,而不正确修复进一步加剧突变产生,导致抗体基因高频突变诱发高亲和力抗体产生。

体外抗体亲和力成熟

抗体制备技术的发展,经历了多克隆技术、单克隆技术和抗体库技术 3 个发展阶段。与单、多克隆技术相比,抗体库技术在基因水平上的操作非常灵活,可对基因序列进行分析、修饰和加工以改进抗体特性或赋予抗体新特性,突破了以往仅局限于抗抗原分子设计的限制。然而,抗体库来源的抗体与传统的单、多克隆抗体相比,实际应用非常少见,主要是因为库来源抗体与天然抗体相比,亲和力偏低,难以满足多种实际需求。特别是来自于未经免疫的天然抗体库中的抗体,抗体的亲和力通常在微摩尔水平,这仅与动物在初次免疫应答后获得的抗体亲和力水平相当。因此人们依据体内抗体亲和力成熟原理,模拟体内亲和力成熟过程、采取各种策略对抗体基因进行相应突变,进行体外亲和力成熟研究。

常用的抗体体外亲和力成熟技术

根据体内抗体亲和力成熟原理,在体外抗体亲和力成熟过程中,选择突变区域以及如何引入突变是一个关键问题,目前的突变策略主要分为三大类,随机突变、置换和定向突变。

易错 PCR

易错 PCR 是目前最常用的抗体突变技术，可以在抗体基因的全长或部分区域随机引入突变。在聚合酶对目的基因扩增时，通过应用错配率高的聚合酶或调整反应条件等，以一定的频率向目的基因中随机引入突变，并通过多轮 PCR 反复进行随机诱变，累计突变效应，最终获得目的蛋白的随机突变体。

链置换

链置换是保留某个特定抗体的重链或轻链，另一条链与一个随机化的互补链进行组合，从中筛选更高活性的突变株。通过固定抗体两条链中的一条链，对另一条链构建具有足够多样性的置换文库，随机组合有可能产生最佳链组合，经过[噬菌体抗体库筛选](#)可获得高亲和力的新抗体。链置换策略常采用轻链替换。

定点突变

由于天然抗体在亲和力成熟过程中，体细胞高频突变发生区域并非均匀分布，而是主要集中在与抗原直接接触的 CDR 区。在抗体的亲和力体外成熟过程中，CDR 区是最常选用的定点突变区域，这样既可以获得足够的序列多样性，又不会破坏蛋白质结构。对 CDR 进行定点突变时，可以对多个 CDR 进行平行突变或进行逐步优化。

DNA 改组

DNA 改组技术是对同源的抗体基因，采用脱氧核糖核酸酶 I 将其切割成不超过 50bp 的片段，再随机组合后进行 PCR 扩增成完成的抗体基因的技术。它包含了抗体片段随机化切割、重组和筛选的过程，一定程度上模拟了天然抗体的亲和力成熟过程，并加快了体外定向进化速度。

Tips:

1、在链置换中为什么通常替换的都是轻链？

答：因为抗体重链在抗结合活性和结构方面比较重要，所以链置换策略常采用轻链替换，以尽量避免链替换后抗体结合特异性发生变化。

2、抗体库技术与单、多抗技术相比，有何优劣？

答：优势：抗体库技术筛选范围大、实验周期短、操作简单、不许进行免疫操作、可应用于大规模生产

劣势：亲和力弱，不易激发人体的抗原-抗体反应。临床应用受限较大。

相关阅读

[噬菌体展示技术](#)

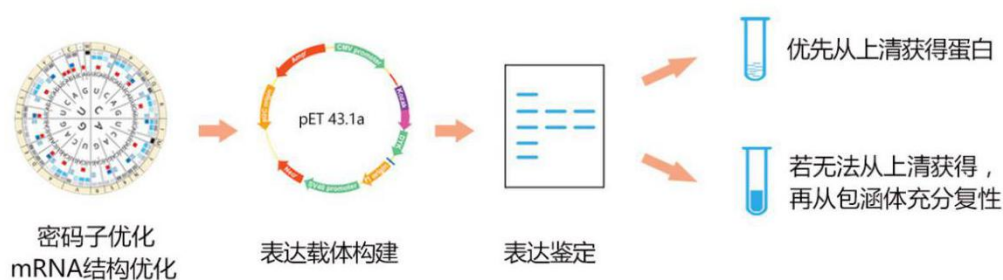
[噬菌体展示技术与抗体亲和力成熟](#)

南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

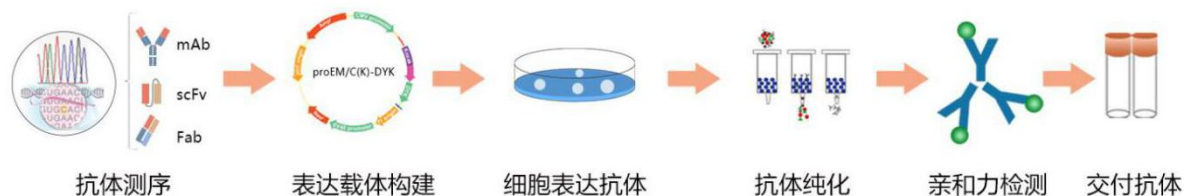
一、蛋白表达（哺乳动物细胞表达）蛋白被细胞充分修饰，活性有保障



二、蛋白表达（大肠杆菌表达）成功率>95%，不成功不收费，成功有保障



三、重组抗体表达 若想改造一个抗体，可以试试重组表达



四、稳定细胞系构建 研究级细胞系构建 & 高表达细胞株开发

