

## 双特异性抗体种类及其特点

双特异性抗体按结构区分主要有两大类：含 Fc 区的双特异性抗体（IgG-like 双特异性抗体）与不含 Fc 区的双特异性抗体（non-IgG-like 双特异性抗体）。

### 含 Fc 区双特异性抗体

IgG-like 双特异性抗体结构与普通的单克隆抗体类似，呈“Y”型结构。具有较好的稳定性，较高的亲和力，在体内的半衰期比较长。

### Triomabs 双特异性抗体

Triomabs 双特异性抗体（Trifunctional Antibodies）是将 CD3 特异性大鼠源 IgG2b 抗体和肿瘤靶向小鼠源 IgG2a 抗体进行体细胞杂交获得的双特异性抗体。Triomabs 通过 Fv 功能区分别结合肿瘤细胞及 T 细胞，通过 Fc 功能区募集表达 FcR 的功能细胞，如 NK 细胞、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞及树突状细胞等，形成复合体，刺激 T 细胞分泌细胞因子清除肿瘤细胞 因此 Triomabs 又被称为三功能抗体。

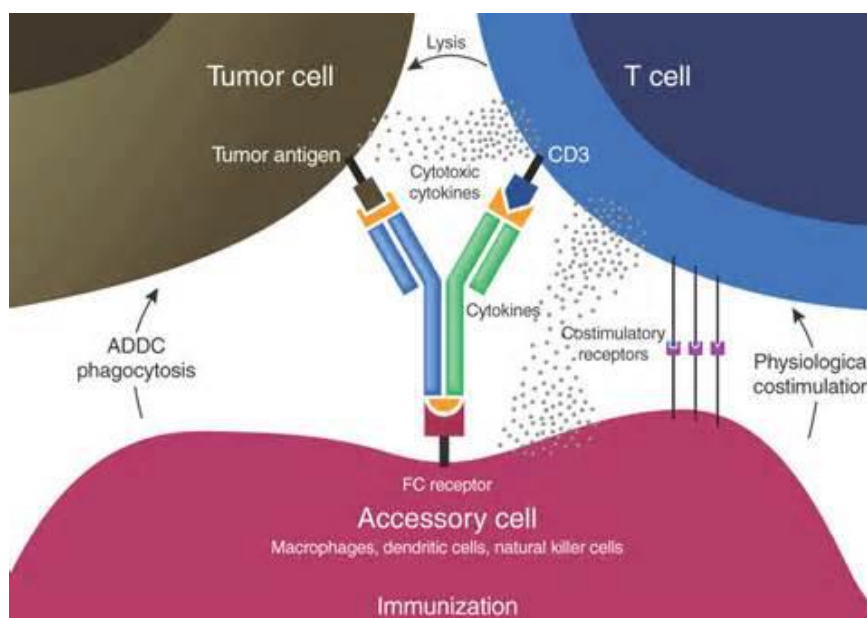


图 1：Triomabs 双特异性抗体结构及作用原理

### 杵臼结构(knob-in-hole, kih IgG) 双特异性抗体

杵臼结构抗体是利用 knob-in-hole 技术制备的双特异性抗体。其结构特点为：组成双特异性抗体的两对轻重链对，其中一对的重链的 CH3 区发生突变形成一个突起的“杵”的结构，另一对的重链的 CH3 区发生突变形成一个凹陷的“臼”的结构，杵臼结构设计有利于两种种异源抗体重链的正确装配。

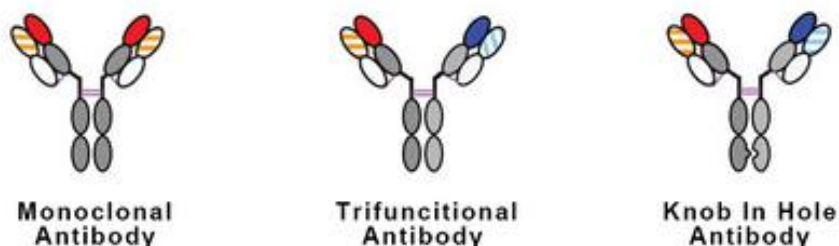


图 2：单克隆抗体、三功能抗体、knob-in-hole 抗体结构

### CrossMab 双特异性抗体

CrossMab 双特异性抗体是利用 CrossMab 技术，将双特异性抗体的其中一条 Fab 抗体臂的功能区进行互换得到的双特异性抗体。

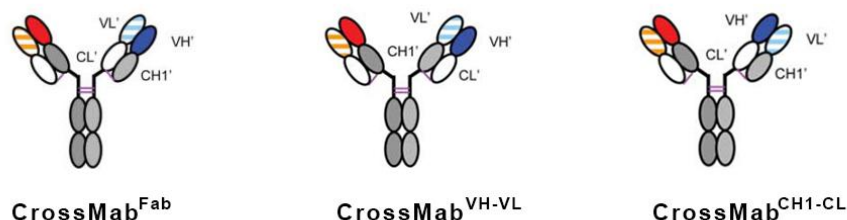


图 3：常见的 CrossMab 双特异性抗体结构

CrossMAB 是一种抗体 Fab 抗体臂的功能区互换的技术，是由罗氏开发的技术平台。该技术在“knob-in-hole”技术的基础上通过 Fab 臂功能区互换，解决了同源轻重链正确装配的问题，进一步提高了装配的成功率。

### DVD-Ig 双特异性抗体

在正常抗体轻、重链的 N 末端分别再接入另一个抗体的 VL 和 VH,形成双特异性抗体。

### Two-in-one 双特异性抗体

又称作 DAF 抗体 (Dual Action Fab)，是普通抗体经过噬菌体展示技术改造得到的抗体，其结构特点为每一个抗原结合臂都有两种抗原的结合靶点。

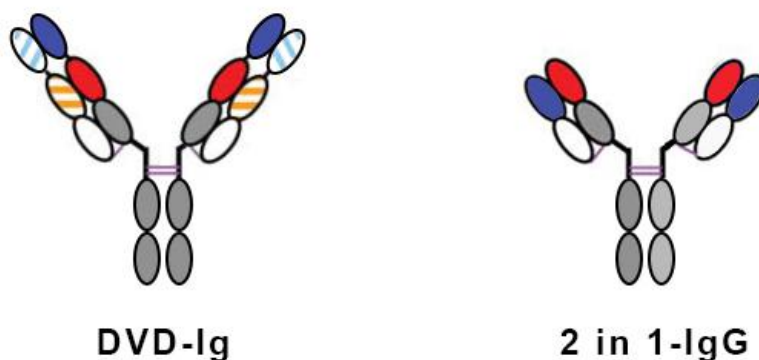


图 4 : DVD-Ig 与 2 in 1-IgG 结构图

## 不含 Fc 区的双特异性抗体

这种构型的双特异性抗体缺失了 Fc 区，由两个抗体的 VH 区及 VL 区组成或者由 Fab 片段组成。此类双特异性抗体主要有 BiTE，DART，TandAbs，bi-Nanobody 等。

## BiTE

BiTE 是将抗 CD3 单链抗体 (scFv) 与不同抗肿瘤细胞表面抗原的单链抗体 (scFv) 通过肽段进行连接而获得，可同时结合 CD3 阳性 T 细胞及肿瘤细胞并诱导 T 细胞靶向杀伤肿瘤细胞。

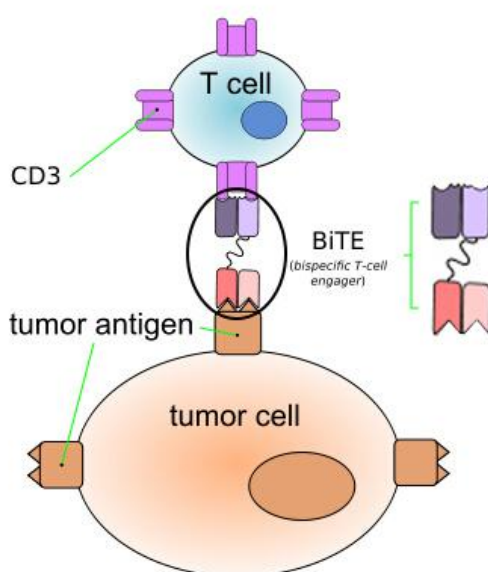


图 5 : BiTE 结构与作用原理

BiTE 的分子量为 55-60KDa,属于小分子,渗透性好,可以到达大分子抗体难以到达的部位与抗原发生结合。但亲和力和力较低,在体内的半衰期较短。

## DART 双特异性抗体

DART 双特异性抗体是由两条多肽链结合形成的异源二聚体抗体,其结构是将一个抗体可变区的 VH 和 VL 序列分别与另一个抗体可变区的 VL 和 VH 序列连接形成。此外,在两条多肽链的 C 末端引入了半胱氨酸,通过半胱氨酸形成链间二硫键,提高产品的稳定性。

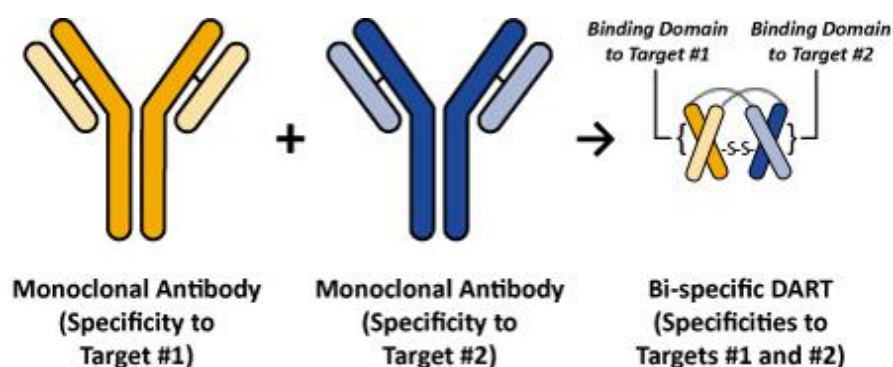


图 6 : DART 双特异性抗体结构

DART 的作用主要有三方面:与靶向配体结合,实现细胞因子阻断;与靶细胞结合,实现抑制或阻断细胞激活信号;招募效应细胞杀伤靶细胞。

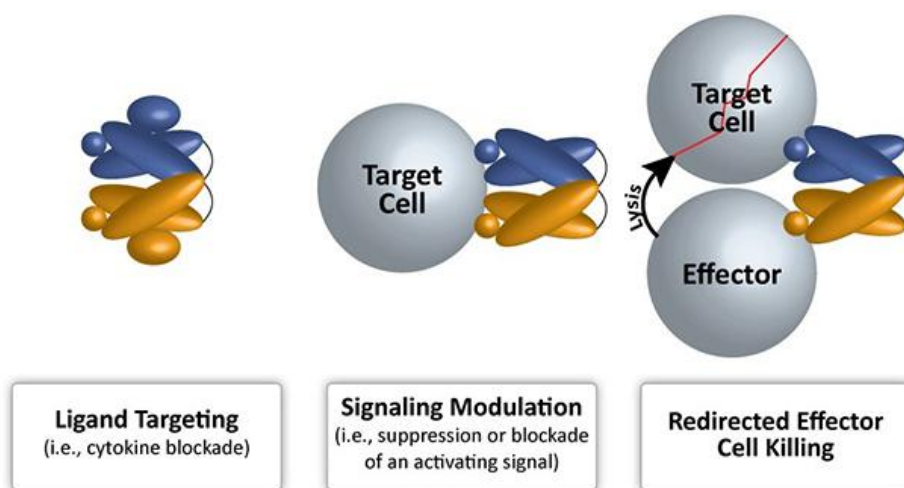


图 7 : DART 作用机制

## TandAbs 双特异性抗体

双特异性抗体是四价的抗体分子，结构为 Fv1-Fv2-Fv2-Fv1，是由两分子肽链反向配对形成的同源二聚体分子。

TandAbs 相对分子质量约为 110 kD，介聚体分子于全分子抗体及 BiTE 之间。TandAbs 可以同两种抗原结合，并且每种抗原都有两个结合位点。

TandAbs 可以招募效应细胞（T 细胞或 NK 细胞），并对靶细胞（肿瘤细胞或癌细胞）起到杀伤效果。当 TandAbs 连接了 T 细胞与肿瘤细胞后，T 细胞会被激活，释放穿孔素、颗粒酶、溶酶体酶等物质，这些物质会被传送到 T 细胞的细胞膜并分泌到细胞外的基质中。穿孔素会使靶细胞内形成气孔，从而促进裂解物质的进入，进而引起靶细胞的裂解。

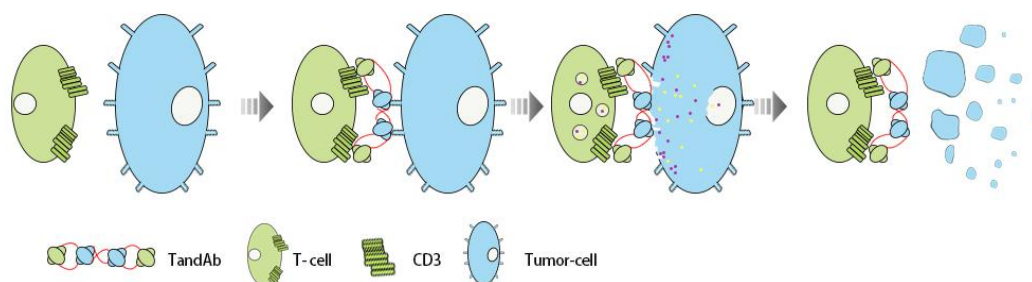


图 8：TandAbs 结构与作用原理

## 双特异性抗体特点

含 Fc 区的双特异性抗体：溶解性和稳定性好；具有较长的半衰期；ADCC 和 CDC 效应，增强肿瘤杀伤效果。

不含 Fc 区的双特异性抗体：体型较小；改良后大幅降低使用的剂量，约为普通抗体的 1/100 以下。

引用：郭婷婷,梁锦峰.双特异性抗体药物的研究进展[J].中国新药杂志,2016,25(5):521-522.

## 相关阅读

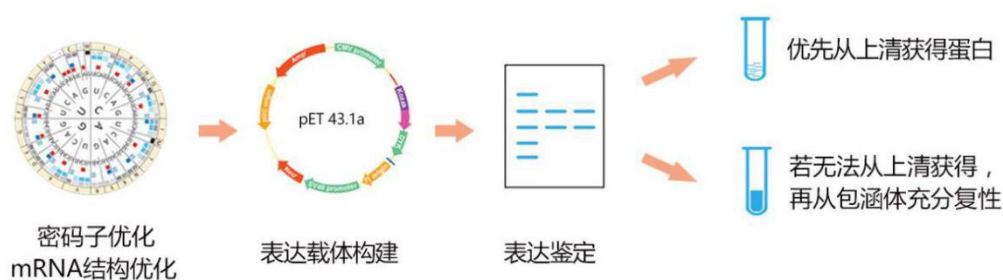
[双特异性抗体作用原理与制备方法综述](#)

## 南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

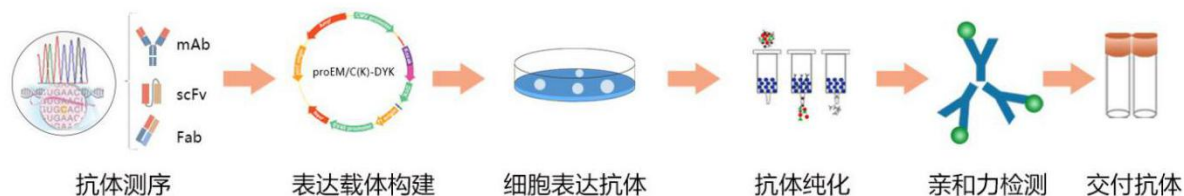
### 一、蛋白表达（哺乳动物细胞表达）蛋白被细胞充分修饰，活性有保障



### 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

