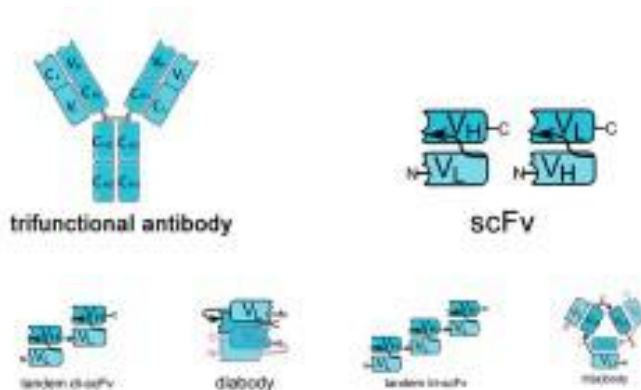


单链抗体 (scFv) 概述

单链抗体 (single-chain variable fragment , **scFv**) 是由抗体重链的可变区与轻链的可变区在一段肽链的连接下构成的小分子, 是具有抗体活性的最小功能结构单位。单链抗体可以由表达系统进行表达, 也可以用噬菌体展示技术进行制备。由于其分子质量小, 穿透力强, 半衰期短, 免疫原性低等特点, 在疾病临床诊断、治疗、预防等方面具有重要作用和广阔的应用前景。本文就单链抗体的结构、制备、应用等方面做一个概述。



scFv 结构

完整的抗体由两条重链 (heavy chain , H) 和两条轻链 (light chain , L) 构成, 透过人工改造, 可使其只表达可变区, 通过人工合成的连接肽 (Linker) 基因将抗体重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L) 连接成重组基因, 由该重组基因表达的抗体就称为单链抗体 (scFv)。在结构上, 可以将重链的 N 端与轻链的 C 端相连, 也可以将轻链的 N 端与重链的 C 端相连。Linker 长度通常为 15~25 个氨基酸, 通常由甘氨酸 (Gly) 和丝氨酸 (Ser) 构成, 具有一定弹性及蛋白酶抗性, Linker 的作用是连接 V_H, V_L, 并保持一定的弹性, 使 V_H, V_L 的功能区折叠后仍可配对, 构成单价抗原结合位点。

scFv 片段为一价, 可以通过连接两个 scFv 片段制作出二价的 scFv。二价 scFv 一般有两种结构, 一种是形成一条含有两个重链可变区与两个轻链可变区的单肽链, 叫做串联抗体 (tandem di-scFvs); 另一种是将 Linker 的长度从 15 缩短到 3~12 个, 使来自两个不同分子的 V_H 和 V_L 功能区相互配对, 形成一个二聚体结构, 叫做 Diabodies (如果 Diabodies 是由来自两个不同抗原的可变区组成, 那么就会形成双特异性抗体)。与此类似, 可以生产一条具有三个重链可变区与三个轻链可变区的串联抗体 (tandem di-scFvs), 也可以通过进一步缩短 Linker 长度, 从

而使来自三个不同分子的 V_H 和 V_L 功能区相互配对, 形成一个三聚体(triabodies)。与一般的 scFv 片段相比, scFv 多聚体抗原结合价增加, 具有更高的亲和力。

单链抗体的制备与高亲和力 scFv 片段筛选

scFv 可在多个表达系统中进行表达, 目前比较常用的, 是大肠杆菌表达系统和哺乳动物表达系统。通过噬菌体展示技术也可生产得到 scFv 片段。通过免疫动物实验得到[杂交瘤细胞](#), 从中提取 cDNA, 利用逆转录 PCR (RT-PCR) 得到全套抗体的重链可变区 V_H 与轻链可变区 V_L , 利用重叠 PCR (SOE-PCR) 将 V_H , V_L 片段拼接扩增得到单链抗体可变区基因片段 (scFv)。将 scFv 基因克隆到合适的噬菌体载体中, 电转感受态大肠杆菌, 辅助噬菌体超染, 得到的上清液即为单链抗体库。以特异性抗原为固相, 经 3~5 轮的“吸附-洗脱-扩增”筛选, 即可得到富集的能与抗原特异性结合的单链抗体。([噬菌体展示技术制备 scFv 详细实验步骤](#))

单链抗体的纯化

单链抗体缺乏在完整抗体中含有的 Fc 片段, 因此普通的结合位点 (Protein G) 不能用来纯化抗体。通常, 在 scFv 片段的 C 端加上 6 个组氨酸, 然后利用金属螯合亲和层析 (IMAC) 可以对单链抗体进行纯化。除此之外, 蛋白 L 可以和轻链的可变区相互作用, 因此也可以用蛋白 L 进行抗体的纯化。

某些特殊的 ScFv 片段也可以被 Protein A 捕获并纯化, 但其中的原理处于未知状态。

单链抗体的应用

scFv 具有分子质量小、穿透力强、特异性较高等优点, 在靶向治疗、影像诊断、细胞内免疫、生物检测等方面有着重要的应用。在靶向治疗方面, 可以将药物和毒素与 scFv 链接, 形成免疫药物或者免疫毒素等, 利用抗原与抗体特异性结合的特点, 定位于靶细胞, 对靶细胞进行特异性免疫杀伤; 在影像诊断方面, 由于 scFv 穿透力强, 在肿瘤组织中的分布指数较完整抗体分子高, 在放射显像时, 放射性核素排出较快, 对身体危害小, 可用于肿瘤的显像定位诊断; 在细胞内免疫方面, 病毒感染生物体后, 细胞内表达能识别某种病毒编码蛋白的抗体, 从而阻止病毒在细胞间传递, 抗病毒蛋白的单链抗体可以在细胞内克隆与表达, 从而可用于病毒感染性疾病的诊断和治疗; 在生物监测方面, scFv 亲和力好, 易于制备, 因此被用来快速准确检测食物和水等物质中的有害物质。

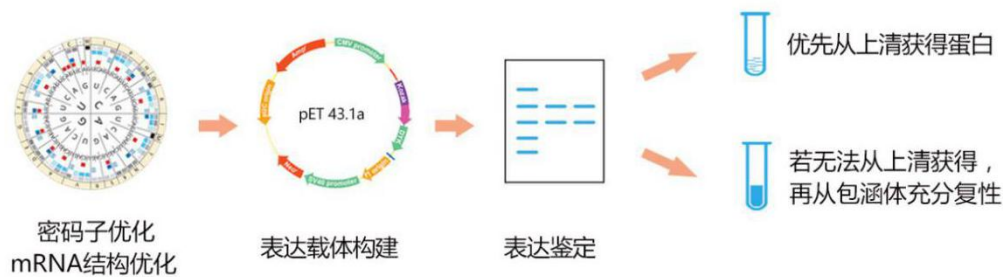
目前, scFv 已经成为基因工程研究的热点。随着对 scFv 研究的不断深入, 相信在不久的将来, scFv 将凭借自身的优势, 在医学、食品等领域发挥更巨大的应用。

南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

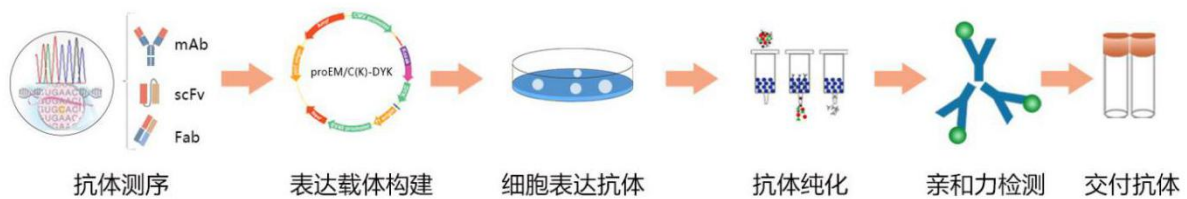
一、蛋白表达（哺乳动物细胞表达）蛋白被细胞充分修饰，活性有保障



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

