

## 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 10<sup>6</sup> 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](#)

# 更多优质服务推荐

1

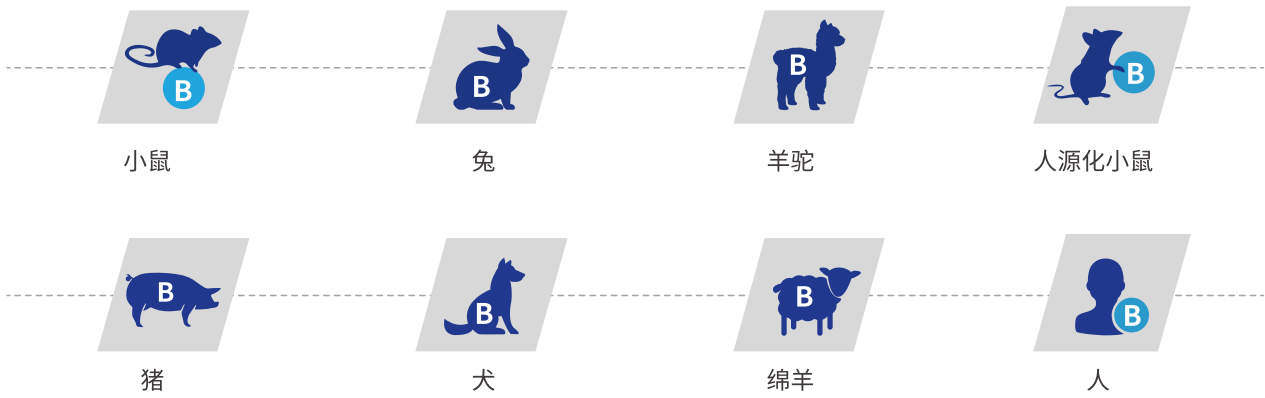
## SingleB® mAb Discovery Service SingleB®单B细胞快速单抗发现

德泰生物提供SingleB®单B细胞快速单抗发现服务,利用SmartFlow® FACS记忆B细胞筛选平台与DeepLight®浆细胞筛选平台,实现记忆B细胞与浆细胞的双筛选。平台适用于小鼠、兔、羊驼、人源化小鼠、绵羊等多种免疫对象,从动物免疫到获得单抗,快至29天,比传统杂交瘤技术至少节省120天。

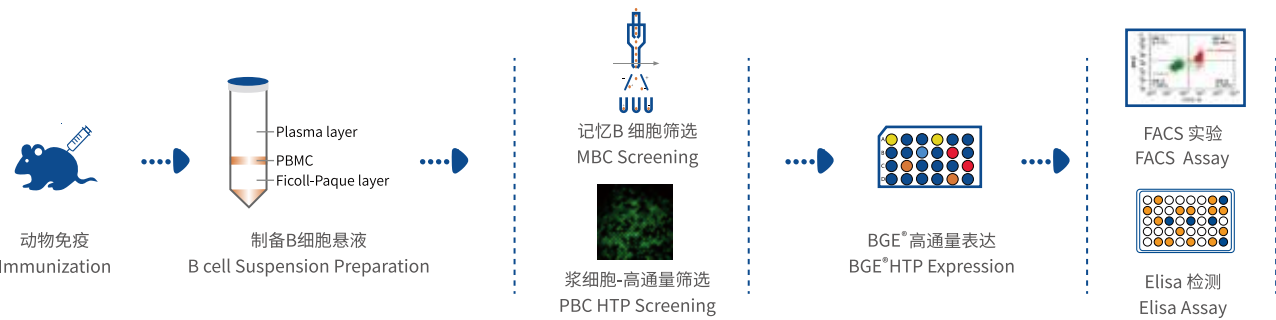
### 平台优势

|                                                                                                            |                                                                                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  支持蛋白、多肽、细胞、病毒等多种类型抗原免疫   |  记忆B细胞 & 浆细胞双筛选,保证B细胞多样性 |
|  单细胞扩增阳性率高,无需刺激培养,减少多样性损失 |  重轻链天然配对,亲和力更优           |
|  高通量,周期短,单抗发现快至29天        |  ELISA、FACS、WB、IHC等多平台验证 |

### 可开发单抗物种



### 服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

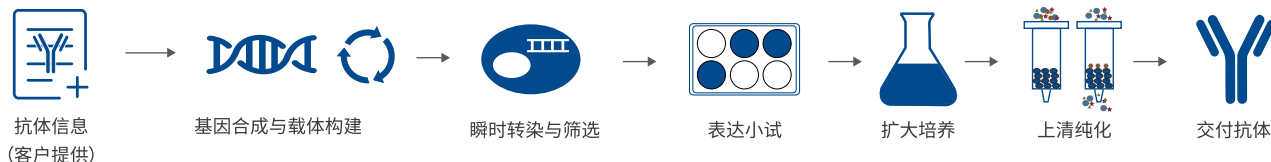
## 重组抗体表达

德泰生物拥有完善的重组抗体表达与纯化体系、抗体多工艺质量验证体系。已交付的重组抗体项目种类包括scFv、Fab、 $(\text{Fab}')_2$ 、VHH、嵌合抗体、双特异性抗体、Fc融合蛋白、全长IgG、IgM。cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器用于HEK293/CHO细胞的小试及大量培养。HPLC纯度、内毒素、浓度等要求均可以根据您的下游应用进行定制。

### 服务优势



### 服务流程

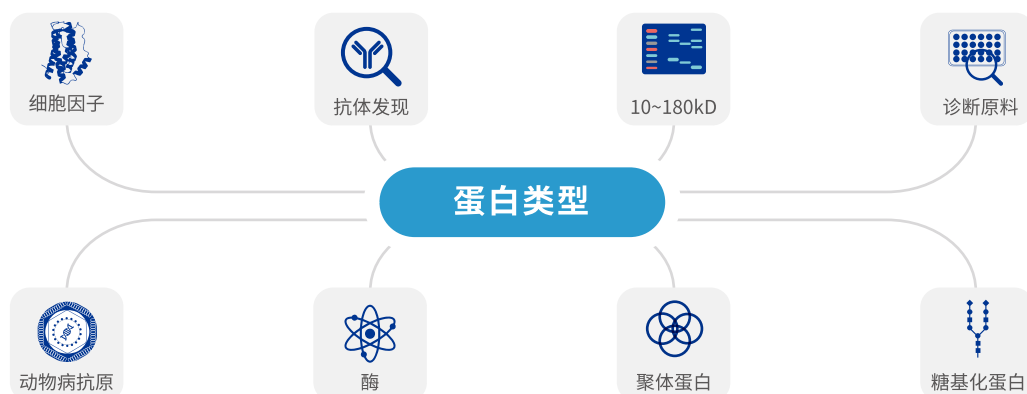


Recombinant Protein Expression Service

## 重组蛋白表达

原核蛋白表达系统、哺乳动物细胞蛋白表达系统

德泰生物拥有完善的原核蛋白表达与纯化体系和哺乳动物细胞蛋白表达与纯化体系。基于细胞因子、酶、诊断原料蛋白的工业化需求，我们配备了发酵设备并推出了大规模发酵制备服务；我们还配备了cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器，用于HEK293/CHO等真核细胞的小试及大量培养。



## 4

Hybridoma Antibody Gene Sequencing Service

## 杂交瘤抗体基因测序

德泰生物拥有mRNA全长测序平台和Failsafe®假基因排除技术,能够提供快速、可靠的杂交瘤抗体基因测序服务。

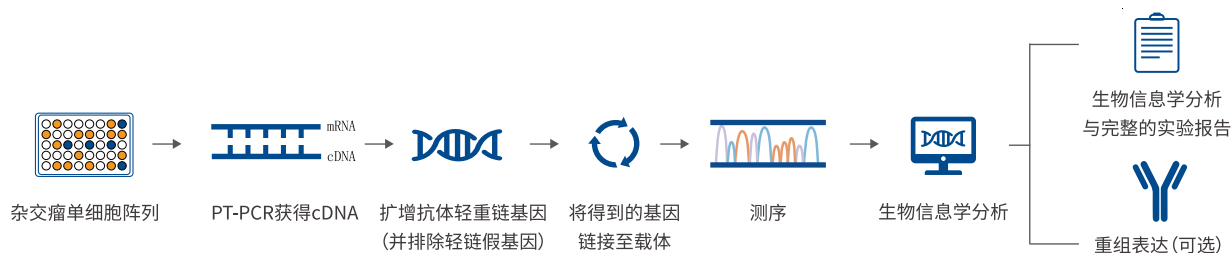
## 应用场景

- 抗体序列保护:获取抗体基因序列后可通过专利对CDR区进行保护。
- 生产方式备份:杂交瘤存在退化转阴风险,抗体序列可通过基因工程方式轻松转化为抗体样品。
- 抗体工程改造:获得的抗体序列可用于抗体人源化、双特异性抗体等抗体工程改造。

## 服务优势

- 极速体验:测序5天,表达5天,全程高通量
- 细胞需求少:只需1~5个细胞,可以接收孔板样品
- 保证测序结果准确:采用Failsafe®假基因排除技术,可排除κ轻链假基因
- 测序范围广:可测小鼠、大鼠、兔、羊等物种的IgM和IgG的所有亚型
- 一站式服务:德泰生物拥有丰富经验,可提供表达验证服务

## 服务流程



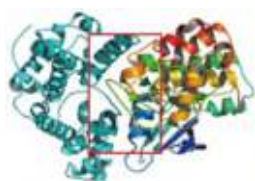
## 5

Biomolecular Interaction Analysis Service

## 分子间相互作用检测

德泰生物提供的分子间相互作用检测服务基于表面等离子共振 (SPR) 平台及生物膜干涉技术 (BLI) 平台,能够实现对分子间亲和力的定量和定性分析。与传统的GST pull down, 免疫共沉淀, 酵母双杂交等相比, 具有更高的灵敏度、检测通量及较低的样品要求等优点。

## 检测范围



蛋白和蛋白



蛋白和小分子



蛋白和抗体



蛋白和抗体Fab片段

检测范围包括蛋白-蛋白、抗体-抗原、抗体片段-抗原、蛋白-抗体、蛋白-小分子、抗体-多肽、蛋白-DNA、DNA-DNA间的相互作用。



Antibody Humanization Service

## 抗体人源化

德泰生物人源化改造服务基于人工智能之深度学习算法,通过构建抗体结构模型、CDR移植与回复突变、识别关键氨基酸及人源化运算,获得人源化程度高且突变能低的抗体序列。

### 服务优势



重链和轻链同时参与优化



改造后的抗体人源化程度>90%



人源化抗体的亲和力与初始抗体相当



可进行多物种的抗体人源化

### 服务流程

- 1 Antibody sequence confirmation
- 2 Human germline acceptor selection
- 3 CDR grafting
- 4 Back mutation
- 5 Mutation energy ranking
- 6 Antibody expression
- 7 Affinity ranking



Stable Cell Line Development Service

## 生产型稳转细胞株构建

德泰生物提供高表达哺乳动物稳定细胞株构建服务,筛选过程使用先进的可视化DeepLight®单克隆细胞筛选平台,较传统筛选流程快近100天,大大缩短了稳定细胞株的开发周期。

### DeepLight®细胞筛选平台的优势

|         | 有限稀释法筛选 | DeepLight® On-chip筛选 |
|---------|---------|----------------------|
| 筛选时间    | 8周      | 1天                   |
| 细胞分离效率  | 低       | 高                    |
| 筛选通量    | 低       | 高                    |
| 单细胞水平筛选 | 否       | 是                    |

### 服务流程



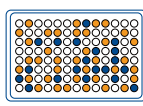
基因合成&质粒抽提



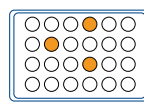
稳定转染



On-chip筛选



压力筛选



扩大培养



交付单克隆细胞株

### 服务优势



更快的筛选速度

从DNA到细胞株  
较传统方法快近100天



百k级筛选通量

一次筛选640k细胞  
优选高表达细胞株



可视化筛选结果

先进DeepLight®平台  
高表达细胞株实时成像



稳定高产

可稳定转代50代  
重组单抗可达5 g/L