

## 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。

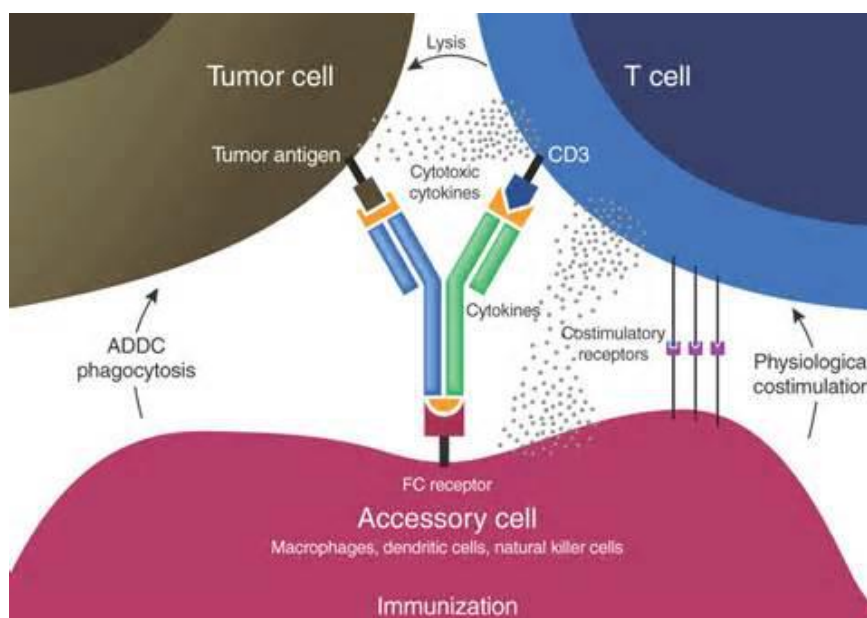


图 1：Triomabs 双特异性抗体结构及作用原理

### 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。

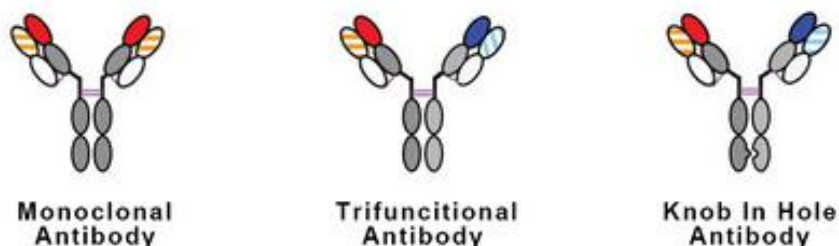


图 2：单克隆抗体、三功能抗体、knob-in-hole 抗体结构

### 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。

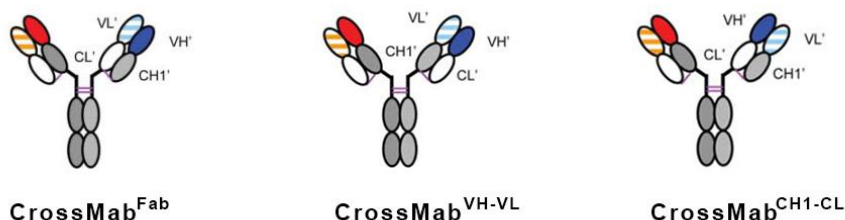


图 3：常见的 CrossMab 双特异性抗体结构

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。

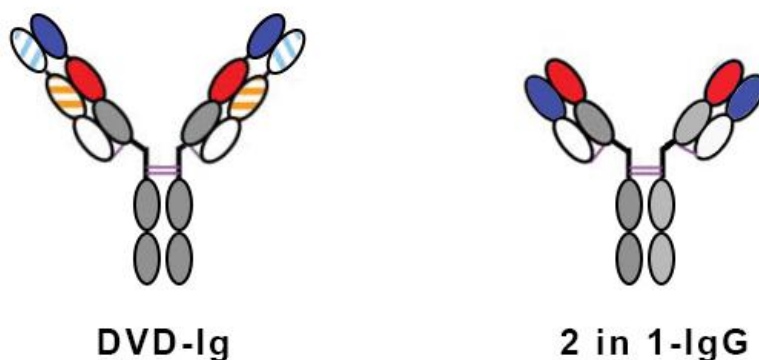


图 4 : DVD-Ig 与 2 in 1-IgG 结构图

### 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。

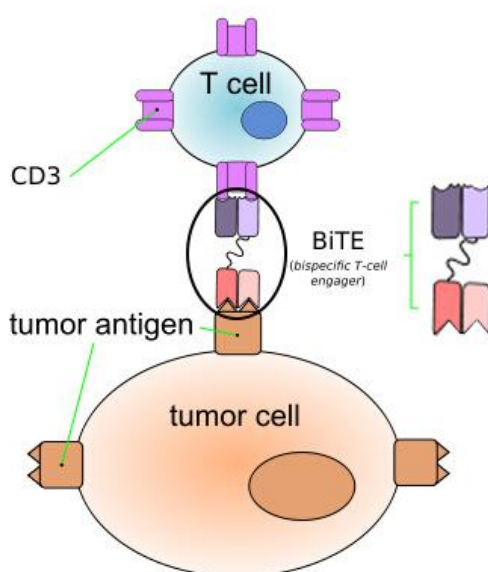


图 5 : BiTE 结构与作用原理

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。

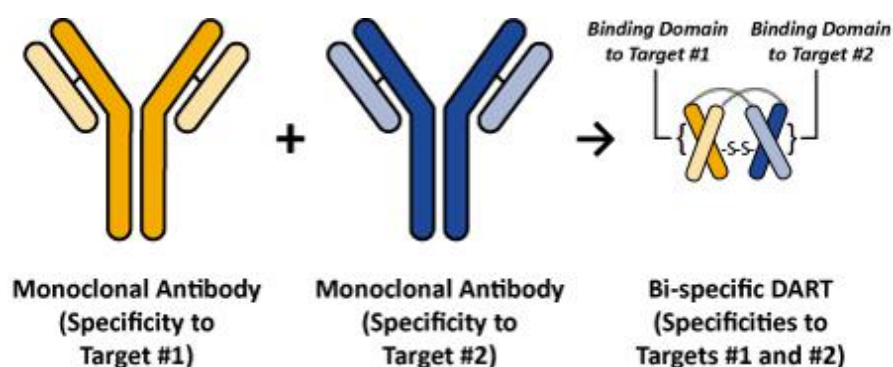


图 6 : DART 双特异性抗体结构

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。

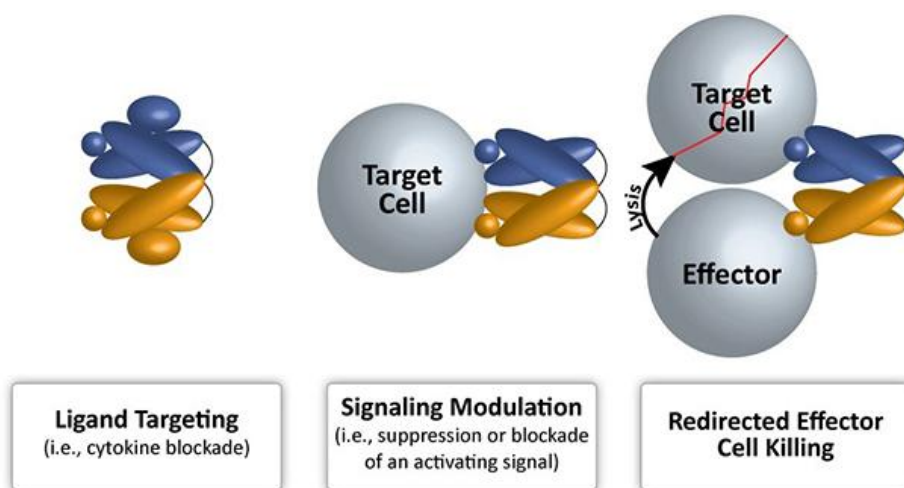


图 7 : DART 作用机制

## 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。

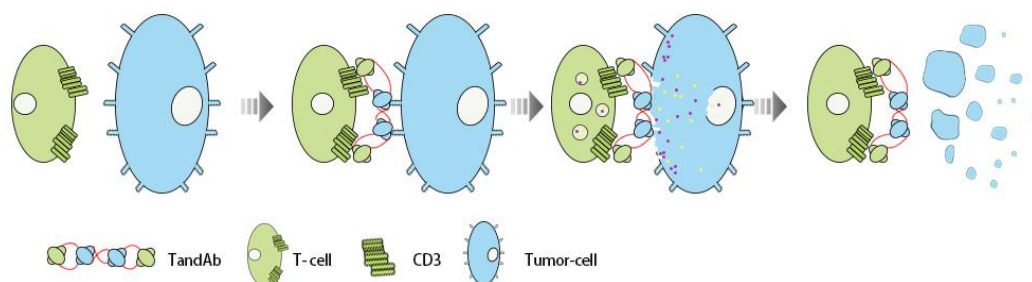


图 8：TandAbs 结构与作用原理

## 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](#)

## 更多优质服务推荐

1

SingleB® mAb Discovery Service

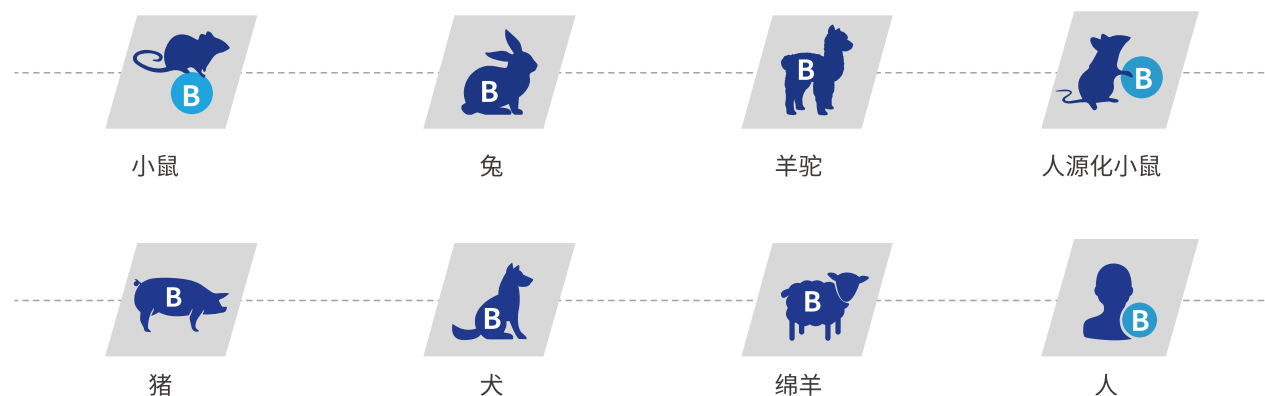
### SingleB® 单B细胞快速单抗发现

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。

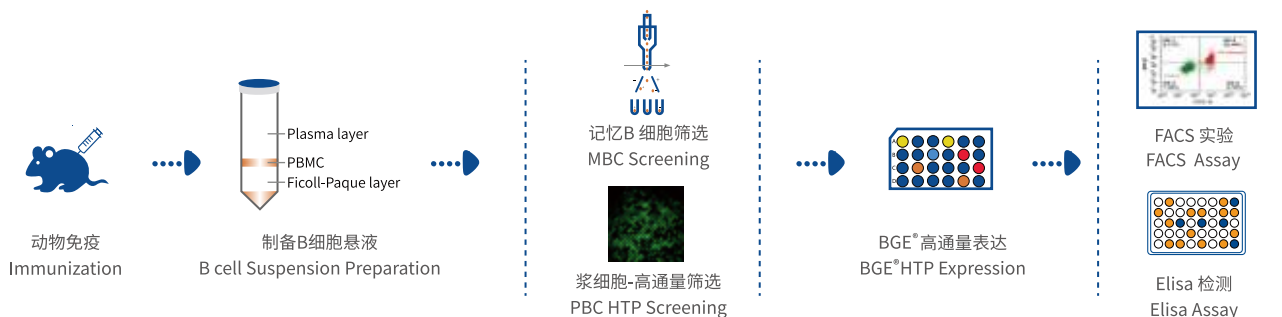
#### 平台优势

- 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

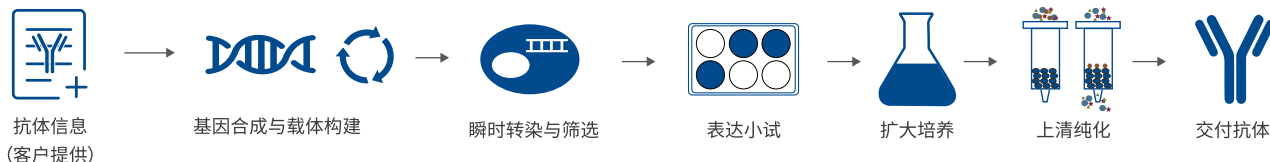
## 重组抗体表达

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、(Fab')<sub>2</sub>、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

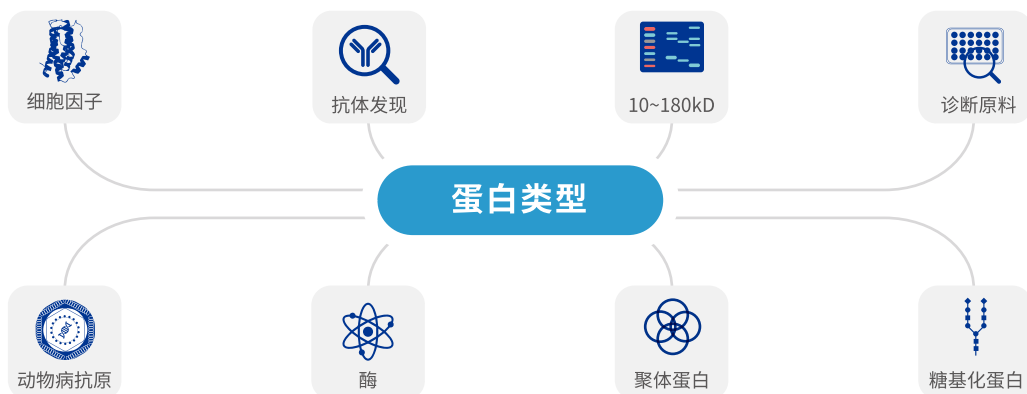


Recombinant Protein Expression Service

## 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。

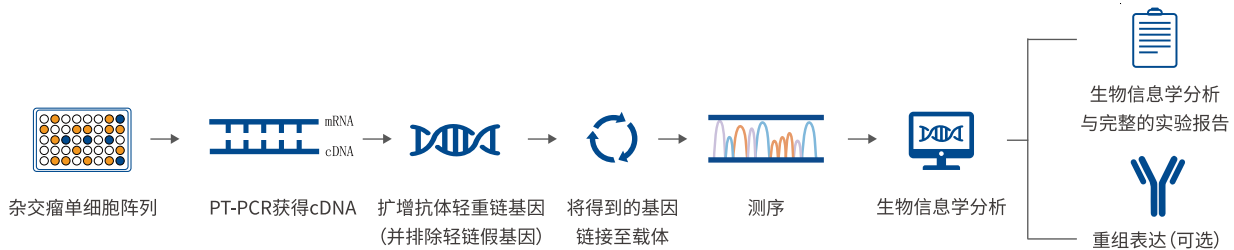
### 应用场景

- 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



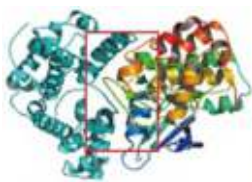
# 5

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。



# 6

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

# 7

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



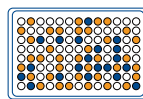
基因合成&质粒抽提



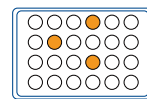
稳定转染



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