

第四章

单克隆抗体与基因工程抗体的制备

定 义

- **单克隆抗体：**由B细胞杂交瘤产生的只识别抗原分子上一种抗原决定簇的抗体分子。
- **多克隆抗体：**识别抗原分子上多个抗原决定簇的多种抗体分子的混合物。

杂交瘤技术的建立

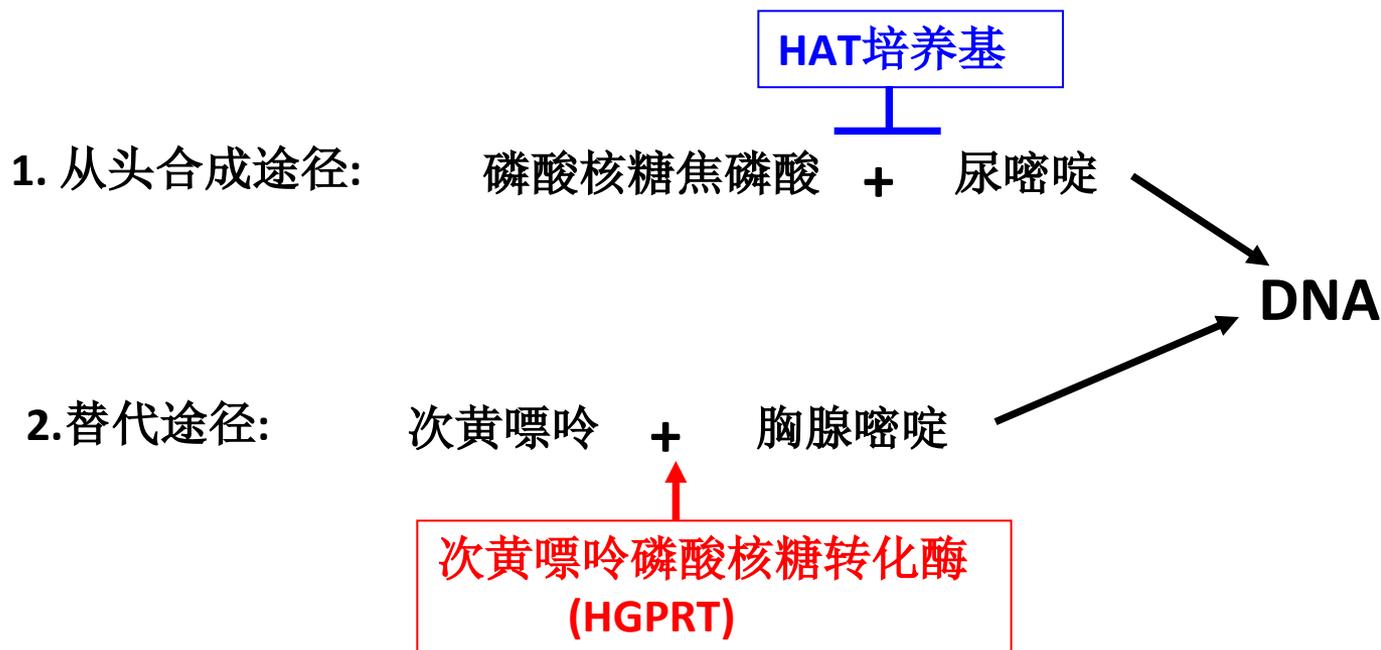
- **1965年 Harris** Hela细胞和小鼠艾氏腹腔积液癌细胞用仙台病毒 融合成杂交瘤细胞
 - **1965年 Sachs** 建立BALB/c小鼠多发性骨髓瘤细胞系
 - **1975年 Koehler Milstein** 建立第一个B细胞杂交瘤细胞株 分泌抗绵羊红细胞抗体并能体外永久培养
- 1984年度诺贝尔医学和生理学奖**

第一节 杂交瘤技术的基本原理

- 具分泌特异性抗体能力的致敏B细胞和骨髓瘤细胞融合成为B细胞杂交瘤。
- 特性： 体外永久培养特性
合成分泌特性性抗体
- 融合剂： PEG(聚乙二醇)
- 小鼠骨髓瘤细胞株
次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转换酶(HGPRT)缺陷 NS-1 SP2/0
- HAT培养基
次黄嘌呤(H)， 氨基蝶呤(A)， 胸腺嘧啶(T)

杂交瘤细胞的选择原理

- 选择机制



阳性杂交瘤细胞的克隆化培养

克隆化：单个细胞培养形成克隆

克隆化方法：

有限稀释法

显微操作法

FACS 分选法

软琼脂平板法

第二节 单克隆抗体的制备

一、单克隆抗体的生产

1、动物体内诱生法

接种前1周 降植烷或液体石蜡

接种 50万 或100万 个杂交瘤细胞

约2周后 收腹水

2、体外培养法 培养瓶中培养

转瓶或发酵罐式悬浮培养生物反应器

中空纤维或微囊化固相化生物反应器

第二节 单克隆抗体的制备

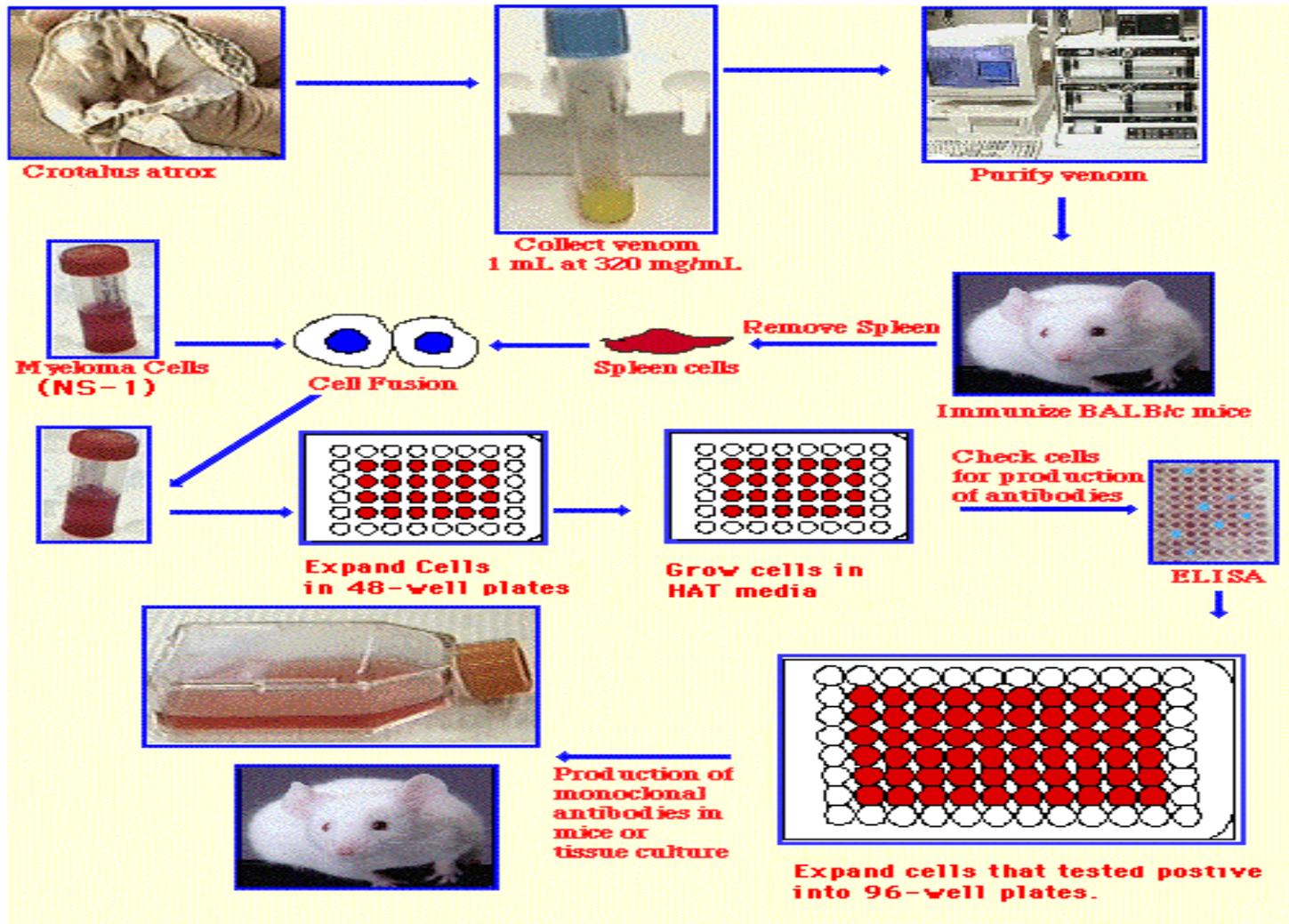
二、单克隆抗体的纯化

白蛋白/球蛋白分离
葡聚糖凝胶 亲和层析

三、单克隆抗体的鉴定

Ig 类型 特异性 抗体效价 亲和力
表位测定 染色体分析

单克隆抗体制备



单克隆抗体的特性

特性：

高特异性；

高均一性；

弱凝集反应和不呈现沉淀反应；

易受PH、温度及电解质浓度影响

基因工程抗体技术

- **基因工程抗体：**应用DNA重组及蛋白工程技术对编码抗体基因按不同需要进行改造和装配，经导入适当的受体细胞后重新表达的抗体。
- **特点：**对人体的免疫原性低
分子量小
采用原核等表达体系，成本降低

基因工程抗体种类

- 人源化抗体

- 1、嵌合抗体

(Chimeric antibodies)

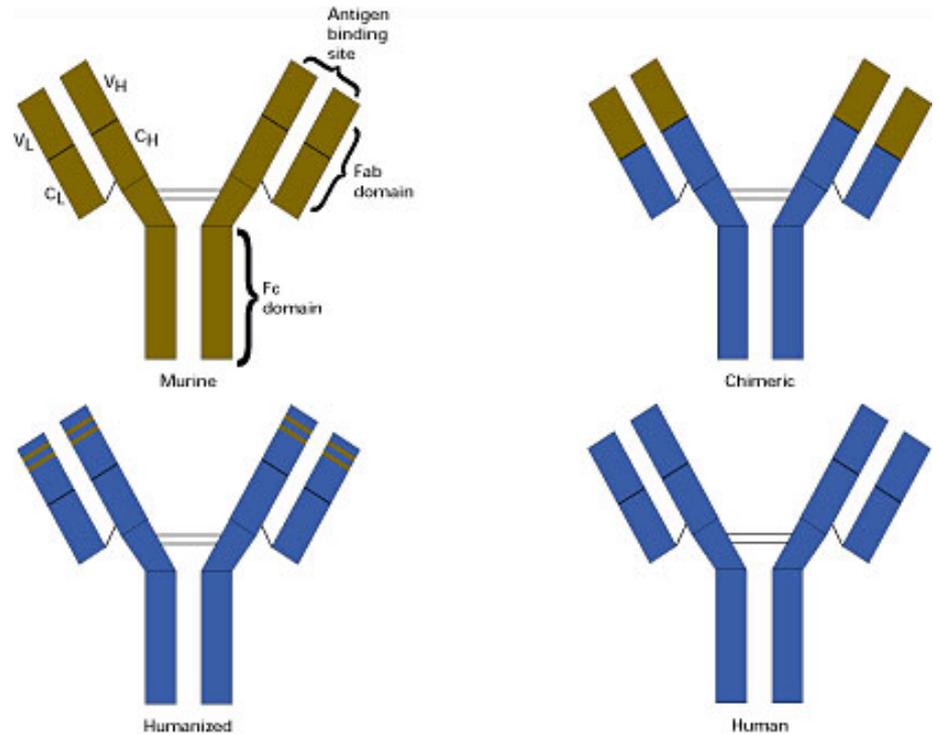
鼠可变区基因

人恒定区基因

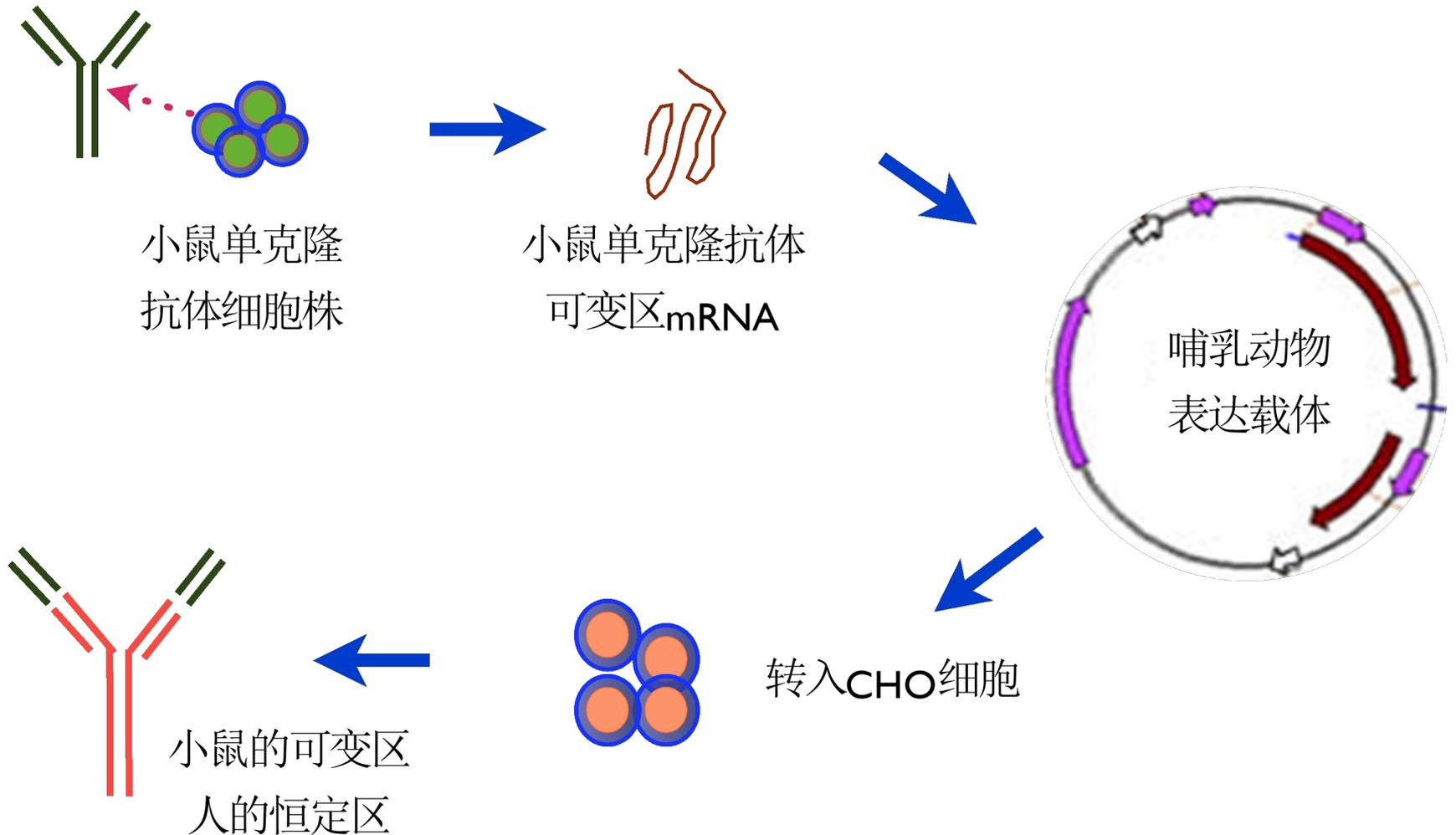
- 2、改形抗体

(Reshaped antibody, Rab)

人抗体中的可变区互补决定簇(CDR)换成鼠源单抗CDR



嵌合抗体的制备



基因工程抗体种类

- 小分子抗体

 - 抗原结合片段 (Fab)

 - 可变区片段 (Fv)

 - 单链可变区片段 (ScFv)

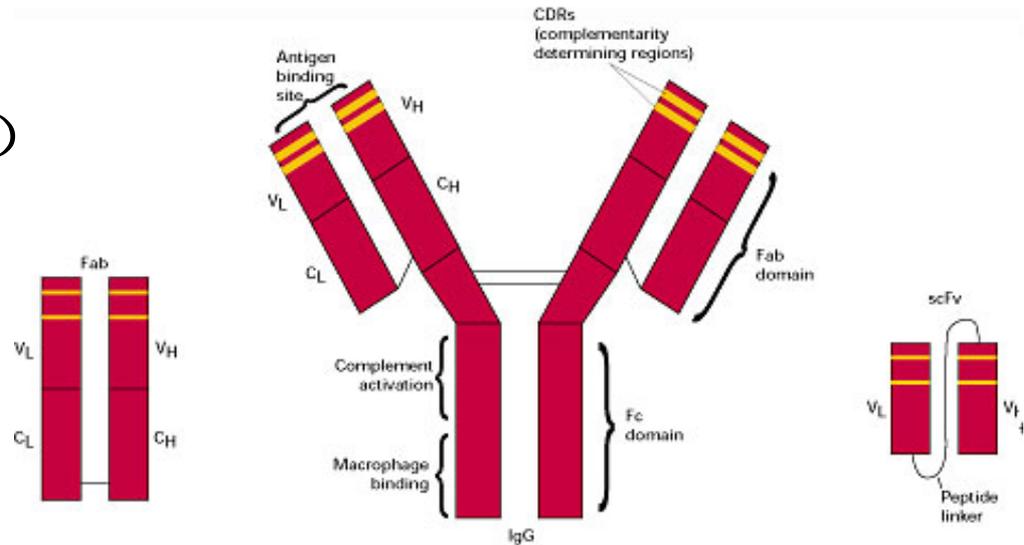
 - 单区抗体 (SdAb)

- 双特异性抗体

 - 化学交联BsAb

 - 细胞工程BsAb

 - 基因工程BsAb



基因工程抗体种类

- 抗体库技术
- 抗体融合蛋白
 - 含Fv的抗体融合蛋白
 - 含Fc的抗体融合蛋白

第四章 单克隆抗体的应用

- 1、检验医学实验室诊断试剂
- 2、蛋白质纯化
- 3、临床影像诊断与治疗（肿瘤）