



从鼠源到全人源单克隆抗体制备技术 及改造策略的研究进展

施蕾, 林洁平, 廖淑珍, 招春飞, 刘华锋, 潘庆军*

(湛江市慢性肾脏病防控重点实验室, 广东医科大学附属医院肾脏疾病研究所, 广东 湛江 524001)

【摘要】 单克隆抗体(单抗)因其专一性、高效价、低耐药性等显著优势,已成为生物制药业行业发展最快的领域之一,并成功用于治疗多种癌症、自身免疫病和其他疾病等。从最初的鼠源性单抗发展至现今的全人源单抗,新的制备技术不断涌现,如单细胞分选和测序技术等。同时,通过改变全人源单抗的糖基化水平、优化单抗亲和力和成熟技术等,有助于进一步提高其稳定性、亲和力。目前,全人源单抗的疗效和安全性仍受到行业关注,也面临很多挑战,如何平衡在降低其免疫原性的同时,进一步提高其亲和力等,仍寄希望于新的技术或策略。

【关键词】 鼠源;全人源;单克隆抗体;糖基化;单细胞分选技术

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 04-0528-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.020

Research progress of preparation technology and retrofit strategy of antibodies from mouse to whole human monoclonal antibodies

SHI Lei, LIN Jieping, LIAO Shuzhen, ZHAO Chunfei, LIU Huafeng, PAN Qingjun*

(Key Laboratory of Prevention and Management of Chronic Kidney Disease of Zhanjiang City, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Corresponding author: PAN Qingjun. Email: stilwapan@gmail.com

【Abstract】 Monoclonal antibodies (mAbs) have become one of the fastest-growing areas in the bio-pharmaceutical industry because of their unique advantages such as high specificity, high potency, and low drug resistance, and they have been successfully used in the treatment of various cancers, autoimmune diseases and other diseases. From the initial development of murine monoclonal antibodies to the current whole human monoclonal antibodies, new preparation techniques, such as single cell sorting and sequencing techniques, have been emerging. Meanwhile, it will help to further improve its stability and affinity by changing the glycosylation level of whole human monoclonal antibody and optimizing the affinity maturation technology of monoclonal antibodies. At present, the efficacy and safety of whole human monoclonal antibodies are still concerned by the industry, and they also face many challenges, such as how to balance them while reducing their immunogenicity, and further improve their affinity, are still promising new technologies or strategies.

【Key words】 murine; whole human; monoclonal antibody; glycosylation; single cell sorting technology

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

抗体是B淋巴细胞经抗原刺激而增殖分化为浆细胞后所产生的一种糖蛋白,主要介导体液免疫。单

一B淋巴细胞系只产生针对一种特异性抗原决定簇的抗体,即单克隆抗体(简称单抗, monoclonal

【基金项目】 国家自然科学基金(No. 81471530);广东省自然科学基金(No. 2015A030313526)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No. 81471530), Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 2015A030313526).

【作者简介】 施蕾(1989—),女,内科学硕士研究生。研究方向:自身免疫性肾脏疾病。E-mail: 115205784@qq.com

【通信作者】 潘庆军,男,副教授,博导。研究方向:自身免疫性疾病。Email: stilwapan@gmail.com

antibodies, mAbs)^[1]。单抗具有结构均一、纯度高、特异性强、效价高、交叉反应少、制备成本低等优点。其生物学功能主要有^[2]:(1)与抗原结合后募集免疫分子,如补体介导的细胞毒性作用(complement dependent cytotoxicity, CDC)、抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)等;(2)阻断配体-受体相互作用或引发细胞内信号通路,如诱导凋亡,这种机制主要依赖于其与抗原(配体或受体)结合功能。当前,40 多种单抗已被批准用于临床治疗自身免疫性疾病、肿瘤和移植等,且有大量的单抗正在研发^[3]。

1 全人源单抗的制备技术

1.1 人源化小鼠

1975 年 Kohler 和 Milstein^[4]通过小鼠杂交瘤技术获得了单抗。鼠源单抗会诱发患者机体的免疫应答,使其被快速清除,故治疗效果较差。人源性单抗可减少鼠基因序列引起的免疫反应,提高治疗的效能及安全性^[5]。随后开启了人源化单抗制备的历史。1977 年,Abgenix 公司(美国)使用转基因技术制备出含人免疫球蛋白基因的转基因小鼠(XenoMouse)^[6]。2001 年, Karpas 等^[7]从人多发性骨髓瘤细胞中筛选出一株细胞株,其能在体外保持稳定的扩增能力,被命名为 Karpas707 细胞,拟用于融合人 B 细胞,进而制备全人源单抗,但至今相关报道甚少。全人源单抗作为一个新兴技术正处于上升期,受到国内外医药领域研究者广泛关注^[8]。据报道,与抗体库平台技术相比,转基因小鼠平台技术在开发全人源抗体中更具优势,成为目前最具有优势的抗体药物研发平台。Medarex 公司(隶属于百时美施贵宝)的 HuMAb-MouseTM 与 Abgenix 公司(隶属于安进)的 XenoMouse 技术是目前最为成熟的转基因小鼠技术。在此基础上, Regeneron 的科学家设计了 VelocImmuneTM mouse 技术平台进行抗体药物的筛选,并且在此平台上进一步构建了“共有轻链小鼠”(common light chain mouse),利用这种小鼠产生的抗体的亲和力较高^[9]。但产生全人源单抗的转基因小鼠的研发周期长,需要投入巨额的研发基金,迄今为止国内的转基因小鼠核心技术平台较少。目前,已有数种全人源单抗制备技术^[10]。与此同时,针对治疗性单抗的改造可增强其治疗的安全性和有效性,如优化单抗亲和力成熟、改变单抗糖基化水平等。

1.2 噬菌体展示技术

1985 年, Smith^[11]第一次将外源基因插入丝状

噬菌体 f1 的基因 III,使目的基因编码的多肽以融合蛋白的形式展示在噬菌体表面,创建了噬菌体展示技术。随后, Scott 等^[12]提出表面展示系统, Chiswell 等^[13]在此基础上提出了噬菌体展示系统。此后 30 年间,研究者在微流体噬菌体展示技术(microfluidic-based phage display)的基础上进行进一步研究开发,使其具有简单、高效和低廉的优点^[14]。噬菌体展示技术用于单抗的制备,仅需获得免疫球蛋白的基因序列,即可制备相应的抗体片段^[15];因此,可快速筛选单抗,避免了传统杂交瘤方法的限制性和周期长等问题。根据使用的噬菌体类型不同,噬菌体展示系统被分为:丝状(M13)噬菌体展示系统^[16]、T7 噬菌体展示系统^[17]、lambda^[18]或 T4^[19]噬菌体展示系统。目前,噬菌体抗体库技术已经十分成熟,可筛选出高特异性、亲和力强的抗体基因序列,进而制备全人源抗体。如雅培公司研发的抗肿瘤坏死因子(TNF)全人单抗 Humira(修乐美),用于治疗关节炎等^[10]。

1.3 酵母展示技术

1997 年, Boder 与 Wittrup^[20]首次建立酵母展示系统,并且用遗传学方法改进酵母菌株。酵母展示技术提高了细胞表面蛋白结合的亲和力和稳定性,最先使用于抗体的亲和力成熟^[20-21]。与噬菌体相比,酵母的颗粒足够大,以致其可以使用流式细胞技术和荧光激活细胞分选进行筛选和分离^[22]。大多数酵母细胞表面展示系统运用经典的糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚定蛋白、凝集素和絮凝剂^[23]。酵母展示系统常被用于 scFv 库、Fab 库、IgG 库及 ZZ 结构域等抗体库的构建^[24]。

1.4 哺乳动物细胞表面展示技术

哺乳动物细胞是表达具有天然活性蛋白的重要宿主, Akamatsu 等^[25]利用哺乳动物细胞进行抗体的展示及筛选,从而获得特异性抗体。中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary, CHO)细胞是用于真核基因表达的最成功的哺乳动物细胞,是目前在生物工程上广泛使用的哺乳动物细胞^[26]。与噬菌体展示技术相比,外源蛋白更易在 CHO 细胞中合成并且分泌到培养基;重组蛋白能够正确折叠、修饰、组装多亚基蛋白并且其理化性质、生物学性质几乎与天然蛋白相似^[27]。但外源基因在 CHO 表达系统中比在酵母展示系统中的表达效率低且重组蛋白的生产成本高,故通过改进 CHO 细胞表达技术,如调控表达技术、优化载体和基因、改造宿主细胞等,从而提高外源基因的表达效率,这在生物技术的发展中具有很高的应用价值^[28]。

1.5 单个 B 细胞分选技术

近年,单个细胞分选技术引起广泛关注。Hu 等^[29]用 CD19、IgG 和 HA 特异性 BCR 标记联合筛选抗原特异性记忆 B 细胞,该技术有效地增加了高亲和力抗原特异性全人源单抗的获取。Smith 等^[30]发现了一种快速制备全人源单抗的方法,即将单细胞 RT-PCR 与嵌套式 PCR 组合获取抗体的基因信息。与噬菌体展示相比,该方法可提高抗体的有效性和产量。目前,基于该技术已制备出抗流感、抗炭疽病毒和抗肺炎球菌全人源抗体。另外,Nogales-Gadea 等^[31]运用一种更简单、可直接制备全人源单抗的技术即,运用 EB 病毒感染人记忆 B 细胞同时加入 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9) 激动剂的方法,制备全人源单抗:首先,分离外周血 PBMC,运用分选技术获得 B 细胞,再用 EB 病毒感染使之永生代,在感染过程中加入 TLR9 激动剂激活,持续培养后,筛选最优活性的 B 细胞,随后运用 PCR 技术进行测序和克隆^[32]。

近年来,研究者们运用微流体 PCR 和 DNA 测序技术可从大量细胞中分析单个细胞, Ramsköld 等^[33-34]开发出一种的 Smart-Seq 基因测序法,可显著改善转录组的覆盖范围,精确分析临床相关单细胞中的基因表达情况。基于此技术, Picelli 等^[35]开发出与 Smart-seq 相比更经济、高效的 Smart-seq2 技术^[36]。

目前,单细胞抗体纳米孔 (SCAN) 技术是第一个能够定量单个 B 细胞分泌抗体水平的技术,可直接检测分泌的自身抗体,明确其抗原特异性和产生自身抗体的细胞,具有高通量、高敏感性和高特异性。Esfandiary 等^[37]运用 SCAN 技术检测来自单个 B 细胞的同型特异性抗 SSA/Ro60 和抗 SSB/La 的自身抗体,并可定量 B 细胞分泌两种抗体的水平。

2 全人源单抗的改造策略

当前,市售治疗性单抗多属于 IgG 类 (IgG1 和某些 IgG2 和 IgG4 亚型)。IgG 其发挥功能主要依赖 Fab 段的抗体中和作用、Fc 介导的补体激活作用 (诱发补体依赖的细胞毒作用, CDC)、活化的 Fc γ R (Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIIa) 诱导 ADCC 以及新生儿 Fc 受体 (FcRn) 介导的半衰期改变等。人 IgG 以重链的差异 (γ 1、 γ 2、 γ 3、 γ 4) 分为 4 个亚型: IgG1 (60% ~ 70%)、IgG2 (15% ~ 20%)、IgG3 (5% ~ 10%)、IgG4 (4% ~ 6%)。目前,研究者们通过以下几个方面对单抗的疗效进行优化。

2.1 亲和力成熟

通过优化单抗的亲和力,能相应地提高单抗的

有效性,减少其不良反应。研究者将一些构建抗体库的方法应用到抗体库技术中以便产生更大库容量的突变抗体库,或模拟体内亲和力成熟的显著突变或热点突变基因构建小容量库,从而筛选出高亲和力的特异性抗体^[2, 38]。

2.2 糖基化修饰

糖基化修饰在抗体的功能调节中起着关键作用^[39]。大部分 IgG 分子仅在每个 Fc γ 2 区域 Asn - 297 存在一个保守的 N - 糖基化修饰位点,约 20% 在 IgG 可变区有第二个 N - 糖基化位点,所有位点都位于重链^[40]。糖基化能够影响 Fc 段的结构和稳定性,而 Fc 糖基化修饰能够调节 IgG 的效应功能,包括 ADCC、CDC 以及半衰期。因此, IgG 的 Fc 糖链对抗体与各种受体的最佳结合、抗体对病原体的有效清除,以及治疗性抗体的临床应用都是必不可少的^[41]。

正常人 IgG 的 Fc 寡糖主要为核心岩藻糖基化的复杂双天线型,多因为末端糖的半乳糖基化和唾液酸化而产生异质性。核心岩藻糖缺失可显著增强 IgG 的 ADCC,原因在于核心岩藻糖基化缺失的抗体与 Fc γ RIIIa 的亲和力显著增强^[42]。但在一些治疗应用上,减少或消除 ADCC 活性也是必要的。Gong 等^[43]发现抗-CD20 单抗, IgG4 非岩藻糖基化水平 < 30%, IgG4 抗体与其受体的结合力是最弱的。这表明,非岩藻糖基化 IgG4 能够降低其效应功能,增加单抗的治疗效果。末端半乳糖基化也显著影响 IgG 功能,半乳糖残基的缺失与类风湿性关节炎的发病相关^[44], Liu 等^[45]认为在单抗中较低水平的末端半乳糖能够降低 CDC 活性。末端唾液酸化在哺乳动物表达系统产生的单抗主要有两种类型: N - 乙酰神经氨酸 (NeuAc) 和 N - 羟乙基神经氨酸 (NeuAc), 后者是人类唾液酸的形式。Scallan 和 Anthony 等^[46-47]发现提高 IgG Fc 的唾液酸含量能够降低 ADCC 的活性,使其与细胞表面抗原结合活性降低。此外,人类 IgG 中还存在少量无岩藻糖 Fc 糖链 (含或不含二等分乙酰葡萄糖胺) 和少量高甘露糖结构。Anthony 等^[47]发现含有末端乙酰葡萄糖胺基化的 IgG 可与血清甘露糖结合蛋白结合并激活补体。Zhou 等^[48]用甘露糖抑制剂 (kifunensine) 处理 CHO 细胞,干预某血管瘤单抗糖链的合成,发现高甘露醇处理可提高单抗的疗效。

2.3 Fc 受体改造

研究者发现 Fc 受体与多种抗体依赖性疾病相关,是治疗性抗体药物在治疗过程中的关键靶点,单抗的 Fc 段能够通过介导其效应功能提升其功效^[49-50]。目前,市售治疗性单抗多为 IgG1 亚型,其

Fc 段效应功能较高,然而,有着功能多样性的 IgG1 同型和 IgG 亚型通过增加稳定性,如将两种抗体同型的氨基酸序列进行交换 (cross-isotypes),以提高临床安全性,减少不良事件的发生^[43, 51]。

在 IgG 亚型中,虽然 IgG4 含量最少,但 IgG4 型抗体最具生物学独特性^[52],其铰链区独特的结构决定其缺乏激活补体^[53]和结合 Fc 受体的能力^[54],在不需要 Fc 段效应功能的治疗性抗体开发方面是主要选择,如自身免疫性疾病系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎等^[55]。故用非岩藻糖基化 IgG4 同型抗体替代 IgG1 亚型单抗,能够增加单抗的临床疗效^[43]。但 Bruhns 等^[54]发现,IgG4 抗-CD28 抗体用于临床试验时,在志愿者体内发现 IgG4 复合物与 Fc γ RIIA 及 Fc γ RIIIA 结合的沉积物,可引起多器官功能障碍。这意味着,治疗性抗体也存在潜在的风险,需要针对性的修饰或改造,以降低或避免这种风险。

参 考 文 献 (References)

- [1] 唐亚华, 黄红林. 单克隆抗体的研究进展 [J]. 生物技术世界, 2015, (03): 96.
Tang YH, Huang HL. Research progress of monoclonal antibodies [J]. Biotech World, 2015, (03): 96.
- [2] 宋文娅, 石远凯, 韩晓红. 单克隆抗体类药物的免疫原性分析 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(21): 2462–2465.
Song WY, Shi YK, Han XH. Immunogenicity analysis of monoclonal antibody drugs [J]. Chin J New Drugs, 2016, 25 (21): 2462–2465.
- [3] Ouisse LH, Gautreau-Rolland L, Devilder MC, et al. Antigen-specific single B cell sorting and expression-cloning from immunoglobulin humanized rats: a rapid and versatile method for the generation of high affinity and discriminative human monoclonal antibodies [J]. BMC Biotechnol, 2017, 17(1): 3.
- [4] Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity [J]. Nature, 1975, 256(5517): 495–497.
- [5] 刘萍, 陈苗苗, 刘学荣, 等. 单克隆抗体研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(01): 67–70.
Liu P, Chen MM, Liu XR, et al. Research progress in monoclonal antibodies [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2012, 39(01): 67–70.
- [6] Green LL. Antibody engineering via genetic engineering of the mouse: XenoMouse strains are a vehicle for the facile generation of therapeutic human monoclonal antibodies [J]. J Immunol Methods, 1999, 231(1–2): 11–23.
- [7] Karpas A, Dremucheva A, Czepulkowski B H. A human myeloma cell line suitable for the generation of human monoclonal antibodies [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(4): 1799–1804.
- [8] 邵思蜜, 张起. 全人源化单克隆抗体的专利分析 [J]. 科技创新与应用, 2015, (22): 30–31.
Shao SM, Zhang Q. Patent analysis of fully humanized monoclonal antibody [J]. Technol Innovat Applicat, 2015, (22): 30–31.
- [9] 王志明. 转基因小鼠技术在全人源抗体药物研发中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(22): 2596–2602.
Wang ZM. Application of transgenic mouse technology in the discovery and development of full human antibody drugs [J]. Chin J New Drugs, 2016, 25(22): 2596–2602.
- [10] 许卓斌, 王旻. 抗体与抗体药物的前世今生 [J]. 自然杂志, 2016, 38(04): 271–277.
Xu ZB, Wang W. Pastlife of antibody and antibody drugs [J]. Chin J Nature, 2016, 38(04): 271–277.
- [11] Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface [J]. Science, 1985, 228(4705): 1315–1317.
- [12] Scott JK, Smith GP. Searching for peptide ligands with an epitope library [J]. Science, 1990, 249(4967): 386–390.
- [13] Chiswell DJ, McCafferty J. Phage antibodies: will new ‘coliclonal’ antibodies replace monoclonal antibodies? [J]. Trends Biotechnol, 1992, 10(3): 80–84.
- [14] Tan Y, Tian T, Liu W, et al. Advance in phage display technology for bioanalysis [J]. Biotechnol J, 2016, 11(6): 732–745.
- [15] Andris-Widhopf J, Rader C, Steinberger P, et al. Methods for the generation of chicken monoclonal antibody fragments by phage display [J]. J Immunol Methods, 2000, 242(1–2): 159–181.
- [16] Specthrie L, Bullitt E, Horiuchi K, et al. Construction of a microphage variant of filamentous bacteriophage [J]. J Mol Biol, 1992, 228(3): 720–724.
- [17] Demerec M, Fano U. Bacteriophage-Resistant Mutants in Escherichia Coli [J]. Genetics, 1945, 30(2): 119–136.
- [18] Lederberg EM, Lederberg J. Genetic studies of lysogenicity in Escherichia coli [J]. Genetics, 1953, 38(1): 51–64.
- [19] Leiman PG, Kanamaru S, Mesyanzhinov VV, et al. Structure and morphogenesis of bacteriophage T4 [J]. Cell Mol Life Sci, 2003, 60(11): 2356–2370.
- [20] Boder ET, Wittrup KD. Yeast surface display for screening combinatorial polypeptide libraries [J]. Nat Biotechnol, 1997, 15(6): 553–557.
- [21] Kondo A, Ueda M. Yeast cell-surface display – applications of molecular display [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 64(1): 28–40.
- [22] VanAntwerp JJ, Wittrup KD. Fine affinity discrimination by yeast surface display and flow cytometry [J]. Biotechnol Pro, 2000, 16(1): 31–37.
- [23] 叶波, 林影, 韩双艳. 酵母细胞表面展示系统的研究进展及其应用 [J]. 工业微生物, 2007, 37(06): 53–58.
Ye B, Lin Y, Han SY. Development and applications in yeasty cell surface display system [J]. Indust Microbiol, 2007, 37(06): 53–58.
- [24] 李书成, 韩宁, 李翀. 抗体库技术研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(02): 278–284.
Li SC, Han N, Li C. Research Progress in antibody library technology [J]. Med Recapitulate, 2018, 24(02): 278–284.
- [25] Akamatus Y, Pakabunto K, Xu Z, et al. Whole IgG surface display on mammalian cells: Application to isolation of neutralizing chicken monoclonal anti-IL–12 antibodies [J]. J Immunol Methods, 2007, 327(1–2): 40–52.
- [26] 来大志, 齐连权, 于长明, 等. 改造中国仓鼠卵巢细胞 [J]. 生物工程学报, 2002, 18(04): 415–419.

- Lai DZ, Qi LQ, Yu CM, et al. Modification of Chinese hamster ovary cells[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2002, (04): 415–419.
- [27] Barnes LM, Bentley CM, Dickson AJ. Stability of protein production from recombinant mammalian cells [J]. Biotechnology and bioengineering, 2003, 81(6): 631–639.
- [28] 李世崇, 黄培堂, 陈昭烈. 中国仓鼠卵巢细胞表达新技术[J]. 生物技术通讯, 2009, 20(03): 422–425.
- Li SC, Huang PT, Chen ZL. New technology of Chinese hamster ovary cells expression system [J]. Lett Biotechnol News, 2009, 20(03): 422–425.
- [29] Hu W, Chen A, Miao Y, et al. Fully human broadly neutralizing monoclonal antibodies against influenza A viruses generated from the memory B cells of a 2009 pandemic H1N1 influenza vaccine recipient [J]. Virology, 2013, 435(2): 320–328.
- [30] Smith K, Garman L, Wrammert J, et al. Rapid generation of fully human monoclonal antibodies specific to a vaccinating antigen [J]. Nat Protoc, 2009, 4(3): 372–384.
- [31] Nogales-Gadea G, Saxena A, Hoffmann C, et al. Generation of recombinant human IgG monoclonal antibodies from immortalized sorted B cells [J]. J Vis Exp, 2015, (100): e52830.
- [32] Vrolix K, Fraussen J, Losen M, et al. Clonal heterogeneity of thymic B cells from early-onset myasthenia gravis patients with antibodies against the acetylcholine receptor [J]. J Autoimmun, 2014, 52: 101–112.
- [33] Goetz JJ, Trimarchi JM. Transcriptome sequencing of single cells with Smart-Seq [J]. Nat Biotechnol, 2012, 30(8): 763–765.
- [34] Ramskold D, Luo S, Wang YC, et al. Full-length mRNA-Seq from single-cell levels of RNA and individual circulating tumor cells [J]. Nat Biotechnol, 2012, 30(8): 777–782.
- [35] Picelli S, Bjorklund AK, Faridani OR, et al. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells [J]. Nat Methods, 2013, 10(11): 1096–1098.
- [36] Ziegenhain C, Vieth B, Parekh S, et al. Comparative analysis of single-cell RNA sequencing methods [J]. Mol Cell, 2017, 65(4): 631–643.
- [37] Esfandiary L, Gupta N, Voigt A, et al. Single-cell antibody nanowell: a novel technology in detecting anti-SSA/Ro60 – and anti-SSB/La autoantibody-producing cells in peripheral blood of rheumatic disease patients [J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 107.
- [38] 代鹏, 周广青, 马军武. 提高抗体库容量和亲和力方法的新进展[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(08): 713–717.
- Dai P, Zhou GQ, Ma JW. Advances of improving the capacity and affinity of antibody library [J]. Immunol J, 2012, 28(08): 713–717.
- [39] Yu M, Brown D, Reed C, et al. Production, characterization, and pharmacokinetic properties of antibodies with N-linked mannose–5 glycans [J]. MAbs, 2012, 4(4): 475–487.
- [40] Higel F, Seidl A, Sorgel F, et al. N-glycosylation heterogeneity and the influence on structure, function and pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc fusion proteins [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2016, 100: 94–100.
- [41] Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for FcγR: current models [J]. Immunol Lett, 2002, 82(1–2): 57–65.
- [42] 衣常红, 高春芳. IgG 糖基化修饰及其意义研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(11): 1051–1056.
- Yi CH, Gao CF. Progress in glycosylation of IgG and its significance [J]. Chinese Journal of Immunology, 2010, 26(11): 1051–1056.
- [43] Gong Q, Hazen M, Marshall B, et al. Increased in vivo effector function of human IgG4 isotype antibodies through afucosylation [J]. MAbs, 2016, 8(6): 1098–106.
- [44] Lauc G, Huffman JE, Pucic M, et al. Loci associated with N-glycosylation of human immunoglobulin G show pleiotropy with autoimmune diseases and haematological cancers [J]. PLoS Genet, 2013, 9(1): e1003225.
- [45] Liu L. Antibody glycosylation and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins [J]. J Pharm Sci, 2015, 104(6): 1866–1884.
- [46] Scallan BJ, Tam SH, McCarthy SG, et al. Higher levels of sialylated Fc glycans in immunoglobulin G molecules can adversely impact functionality [J]. Mol Immunol, 2007, 44(7): 1524–1534.
- [47] Anthony R M, Nimmerjahn F, Ashline DJ, et al. Recapitulation of IVIG anti-inflammatory activity with a recombinant IgG Fc [J]. Science, 2008, 320(5874): 373–376.
- [48] Zhou Q, Shankara S, Roy A, et al. Development of a simple and rapid method for producing non-fucosylated oligomannose containing antibodies with increased effector function [J]. Biotechnol Bioeng, 2008, 99(3): 652–665.
- [49] Dijkstra HM, van de Winkel JG, Kallenberg CG. Inflammation in autoimmunity: receptors for IgG revisited [J]. Trends Immunol, 2001, 22(9): 510–516.
- [50] Saxena A, Wu D. Advances in therapeutic Fc engineering - Modulation of IgG-associated effector functions and serum half-life [J]. Front Immunol, 2016, 7: 580.
- [51] Brezski RJ, Georgiou G. Immunoglobulin isotype knowledge and application to Fc engineering [J]. Curr Opin Immunol, 2016, 40: 62–69.
- [52] Jefferis R. Isotype and glycoform selection for antibody therapeutics [J]. Arch Biochem Biophys, 2012, 526(2): 159–166.
- [53] Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, et al. Immunoglobulin G4: an odd antibody [J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39(4): 469–477.
- [54] Bruhns P, Iannascoli B, England P, et al. Specificity and affinity of human Fcγ receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses [J]. Blood, 2009, 113(16): 3716–3725.
- [55] Pan Q, Lan Q, Peng Y, et al. Nature, functions, and clinical implications of IgG4 autoantibodies in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis [J]. Discov Med, 2017, 23(126): 169–174.