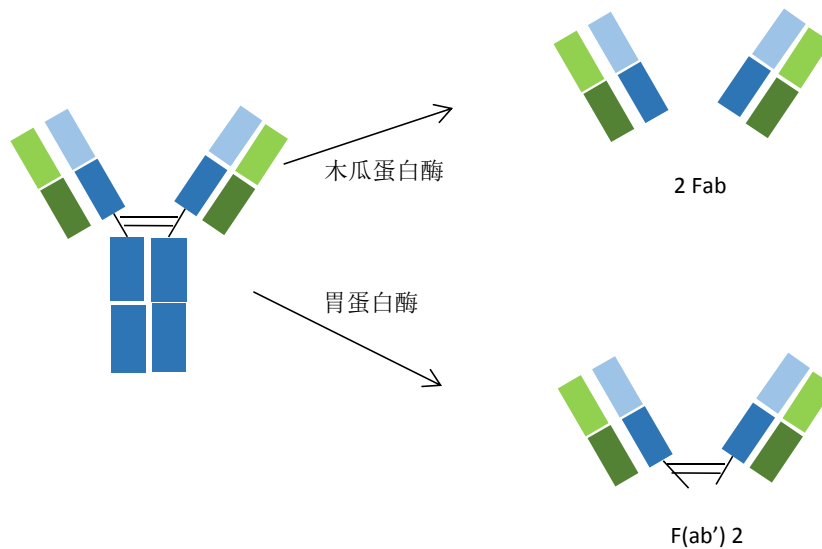


## 全长抗体切割技术

### 技术简介

全长抗体切割技术，是指使用工具（蛋白酶及化学物质）将抗体分子切割成特定大小片段技术。抗体片段是整个免疫球蛋白的功能区，由抗原结合片段（Fab）和可结晶片段（Fc）组成。Fab 可用于在不引导免疫反应的情况下结合其靶抗原，Fc 片段的去除减少了非特异性相互作用，满足穿透组织或减少空间位阻应用。

### 技术原理



抗体切割简要图

抗体切割后，因去掉了某些功能结构域以及分子量的改变，具有与全长抗体不同的特性：

抗体结构域	功能	抗体片段	特性
VH、VL	结合抗原	Fab、F(ab') <sub>2</sub>	比整个 IgG 偶联快 无 FC 段，免疫原性低 不与巨噬细胞、B 细胞、T 细胞等结合
CH1、CL	同种异型的遗传标记		
CH2	补体 C1q 结合位点, IgG 通过 CH2 区通过胎盘		
Fc	活化补体、介导与细菌蛋白结合	Fc	研究 IgG 效应功能 不受抗原结合干扰 免疫组化中用于封闭

## 常用工具

### 1 木瓜蛋白酶 Papain

木瓜蛋白酶是一种非特异性巯基内肽酶，活性位点上含有巯基，还原形式下具有活性。还原剂存在情况下将 IgG 分子铰链区肽键断裂，产生三个大小相似的片段：两个 Fab 片段和一个 Fc 片段。木瓜蛋白酶用于 IgG 消化，主要生成 Fab 片段，但也可以用于生成 F(ab')<sub>2</sub> 片段，在半胱氨酸不存在的条件下，可生成 F(ab')<sub>2</sub> 片段。

### 2 胃蛋白酶

胃蛋白酶是一种非特异性内肽酶，酸性 pH 有活性，在中性或碱性 pH 下发生不可逆变性。胃蛋白酶消化通常产生一个 F(ab')<sub>2</sub> 片段和多个 Fc 小型肽段，Fc 片段大量降解，小型片段可通过透析、凝胶过滤或离子交换色谱与 F(ab')<sub>2</sub> 分离。

### 3 无花果蛋白酶

无花果蛋白酶是一种硫醇蛋白酶，根据所含半胱氨酸的浓度将小鼠单克隆 IgG1 消化成 F(ab')<sub>2</sub> 或 Fab 片段。无花果蛋白酶在 4mM 半胱氨酸存在的情况下生成 F(ab')<sub>2</sub>。在 25mM 半胱氨酸存在的情况下生成 Fab 片段。

### 4 胰蛋白酶

胰蛋白酶是一种丝氨酸蛋白酶，可增加酶与底物的比率或温度将提高消化速率。胰蛋白酶在 PH8.0 条件下可将 IgM 切割成 F(ab')<sub>2</sub>、Fab 和 Fc<sub>5</sub>μ 片段。

## 参考文献

[1] 尤长宣, 罗荣城, 丁雪梅, 等. 基因工程技术制备人源抗 HBsAg 抗体 Fab 片段[J]. 现代免疫学, 2000, 20(001):33-34.

[2] 杨子义, 王世真, 李军. 高效高活性抗体片段的制备[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 1998, 14(3):3.