

N-糖链切除对重组抗狂犬病毒单克隆抗体中和活性的影响

吕若芸[§], 王 辉[§], 陈 忱, 张世雄, 张晓楠, 曹晨华, 魏敬双^{*}

华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 抗体药物研制国家重点实验室, 石家庄 050015

摘 要: 重组抗狂犬病毒单克隆抗体是一种全人源的抗病毒感染单抗, 主要用于狂犬病毒暴露后预防。采用糖苷酶处理 2 种重组抗狂犬病毒单克隆抗体 Mab1、Mab2 水解切除 N-糖链, 通过糖染色和毛细管电泳检测确定 N-糖链酶解程度, 利用快速荧光灶抑制试验检测其中和活性, 分析 N-糖链切除对该单抗中和活性的影响。结果显示, N-糖链切除后抗体中和活性无明显变化。说明 N-糖链对这两株抗狂犬病毒单抗的体外中和活性不是必须的结构成分。

关键词: 重组抗狂犬病毒单克隆抗体; N-糖链切除; 毛细管电泳; 中和活性

DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2016.04.10

Effect of the N-glycan Removal on the Neutralization Activity of Recombinant Anti-rabies Monoclonal Antibodies

LV Ruo-yun[§], WANG Hui[§], CHEN Chen, ZHANG Shi-xiong, ZHANG Xiao-nan, CAO Chen-hua, WEI Jing-shuang^{*}

State Key Laboratory of Antibody Research & Development, New Drug Research and Development Company Ltd., North China Pharmaceutical Corporation, Shijiazhuang 050015, China

Abstract: The recombinant anti-rabies monoclonal antibody were fully-human-derived antibody and were used for post-exposure prophylaxis of rabies virus. The N-glycan of two anti-rabies monoclonal antibodies (Mab1 and Mab2) were hydrolyzed by the PNGase in this study, the capillary electrophoresis and gel staining by periodic acid-schiff method were used to determine the residual N-glycan after hydrolysis. The rapid fluorescent focus inhibition test was used to compare the neutralization bio-activity of the intact Mab1 and the Mab2 without N-glycan. The result showed that the neutralization bioactivity of Mab1 and Mab2 did not change after the N-glycan was removed from the antibodies. That suggests the N-glycan was not the indispensable composition for in-vitro neutralization bioactivity of Mab1 and Mab2.

Key words: recombinant anti-rabies virus monoclonal antibody; N-glycan removal; capillary electrophoresis; neutralization activity

重组单克隆抗体是通过蛋白质突变和修饰而形成的复杂混合异构物, 其结构和功能复杂。在对抗体糖基化的研究中人们发现, N 糖基化是其最常见、复杂的蛋白质翻译后修饰之一。通常 IgG 的每个重链 Fc 区靠近铰链处的 CH2 结构域均有一个 N-连接的糖基化位点(Asn₂₉₇), 该位点十分保守^[1-2], 其可通过单价链接形成双角 N-糖链。在 CH2 区 N-糖链协助维持一种开放的马蹄

形构象, 有利于促进与 Fc γ 受体的互作^[3]。研究表明糖链在维持重组单克隆抗体的正常结构、功能以及其生物学特性(识别抗原触发免疫系统细胞、调节信号活性等)和物理化学性质(溶解度、蛋白质折叠等)中发挥着重要作用, 不同糖型对其功能和活性的影响不完全相同^[4-6]; 抗体的 N-糖基化与 Fc 区功能相关, 可影响抗体 Fc 部分的结构特点、免疫原性(尤其是 1,3- α -Gal 糖类)、药

收稿日期: 2016-05-18; 接受日期: 2016-06-12

基金项目: “十二五”国家科技重大专项(2014ZX09201041)资助。

作者简介: § 吕若芸与王 辉为本文共同第一作者。吕若芸, 工程师, 研究方向为单抗药物纯化与质量研究。E-mail: lvry2010@163.com。
王 辉, 工程师, 研究方向为单抗药物纯化与质量研究。E-mail: whui@163.com。* 通信作者: 魏敬双, 正高级工程师, 研究方向为生物技术药物研发。E-mail: weijsh@hotmail.com