

深度解析兔单抗开发策略，助力抗体药开发降本提速

丁莉丹 博士

金斯瑞生物抗体&病毒载体部总监

2025年3月13日

www.genscript.com



– Contents

01 兔单克隆抗体优势及发展历史介绍

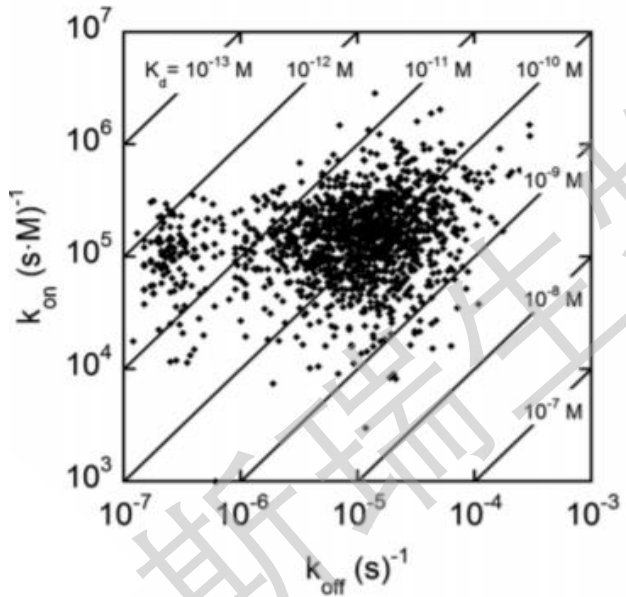
02 金斯瑞MonoRab™兔单抗平台的创新及升级

03 金斯瑞兔单抗平台成功案例分享

兔单克隆抗体优势及发展史

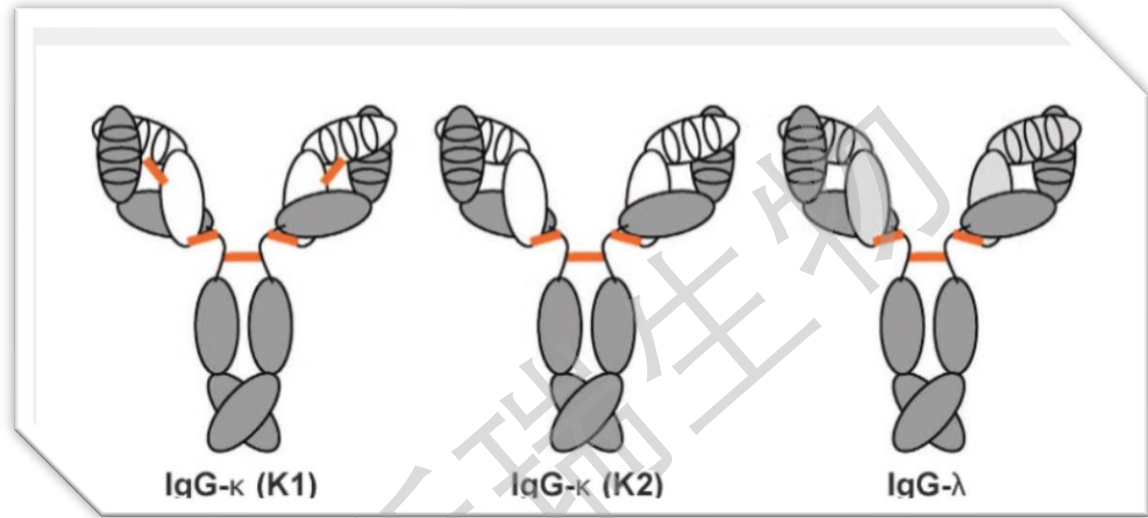
01.

兔单抗具有更高的亲和力和更稳定的抗体结构



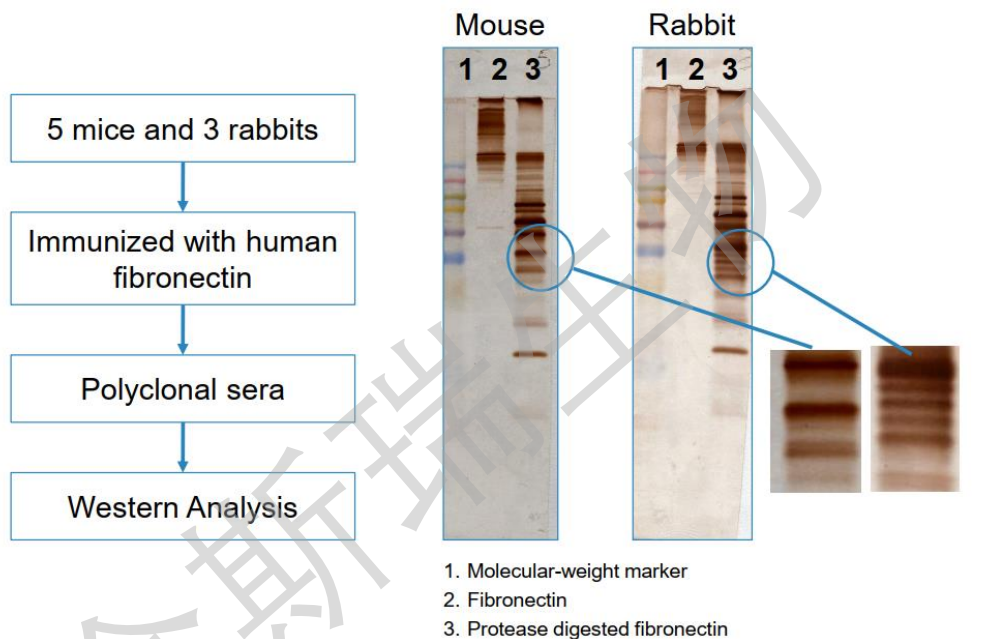
J. P. Landry et al. J Immunol Methods (2015)

兔单抗拥有更高的亲和力



- 兔单抗只有一种IgG亚型，拥有比鼠单抗更多的二硫键
- 可变区序列更长，尤其是CDR3

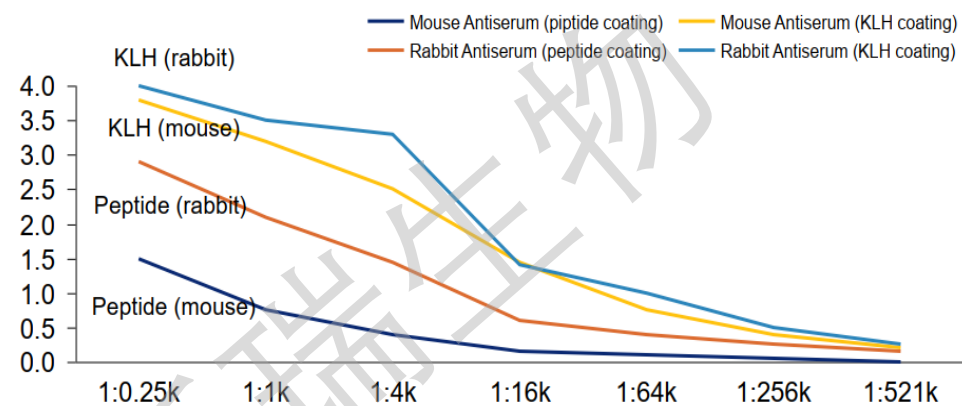
兔单抗表位识别能力更强以及有更强的免疫优势



Weimin Zhu; 2013; RabMAB-a-brief-history

兔单抗免疫后血清能够识别更多的表位

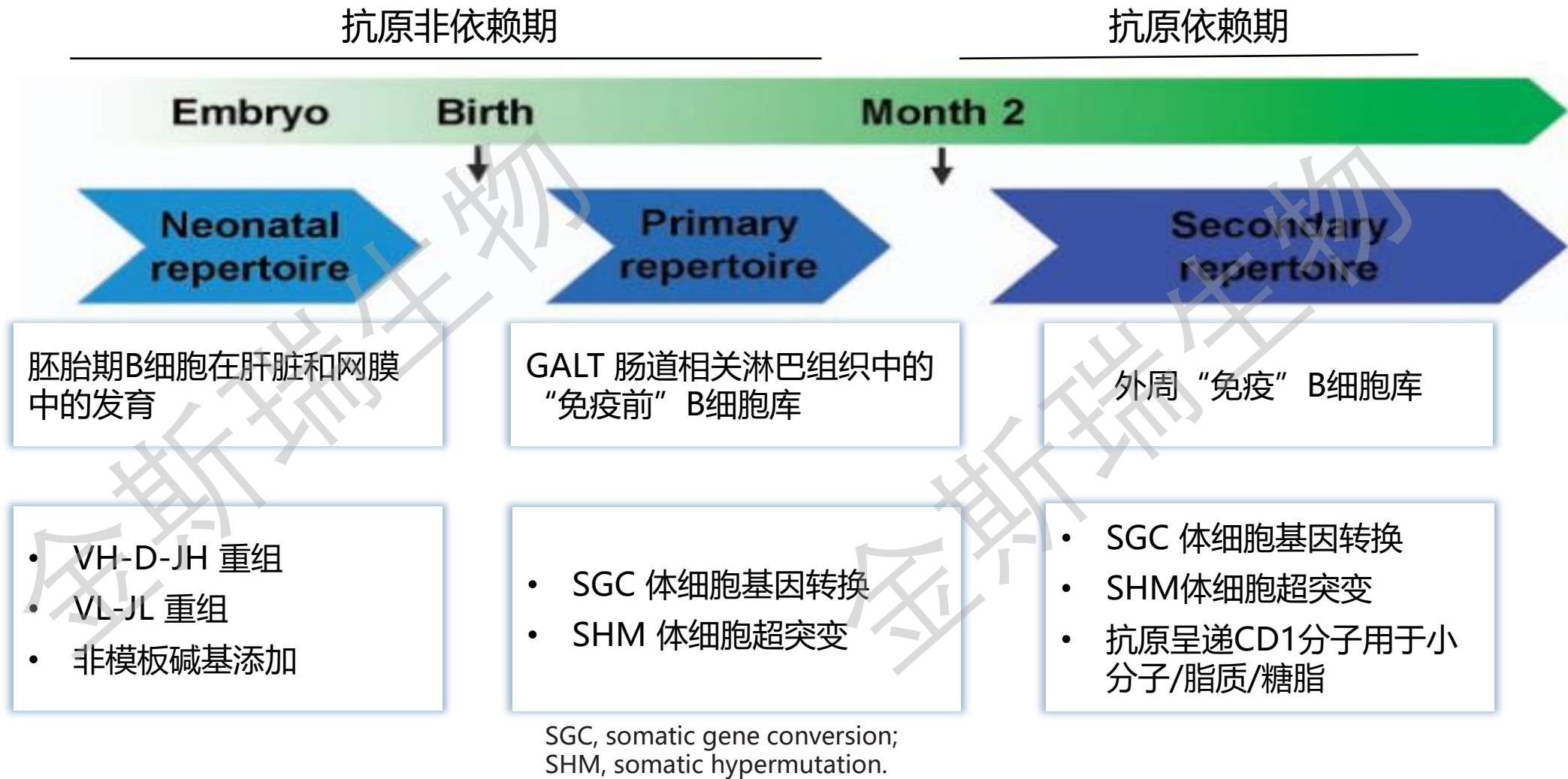
ELISA Titer Testing – (Peptide-KLH Immunization, 4 injections, 3 weeks interval)



- Rabbit: ~30% immune response towards **peptide**, ~70% to **KLH**
- Mouse: ~10% immune response towards **peptide**, ~90% to **KLH**

兔比鼠更有免疫优势

兔独特的B细胞发育过程



Justus Weber et al. Experimental & Molecular Medicine (2017)

— 兔单抗优势 – 鼠/兔抗体对比

对比项目	鼠	兔
亲和力	K_D 多在 10^{-8} - 10^{-9} M, 少数到 10^{-10} M	K_D 多在 10^{-9} - 10^{-11} M, 部分能到 10^{-12} M
IgG特征	IgG1/3, IgG2a/b	一种, 含额外的二硫键
表位识别	有限	相似表位、难度表位
CD1*亚型	仅CD1b	CD1a1/2, CD1b/d/e
非蛋白抗原识别能力	一般	强
B细胞发育与抗体成熟	骨髓内一次成熟	GALT内二次成熟
应用	WB, ELISA, IP, FACS, 少数适用于IHC和ICC	WB, ELISA, IP, IF, FACS, IHC, ICC

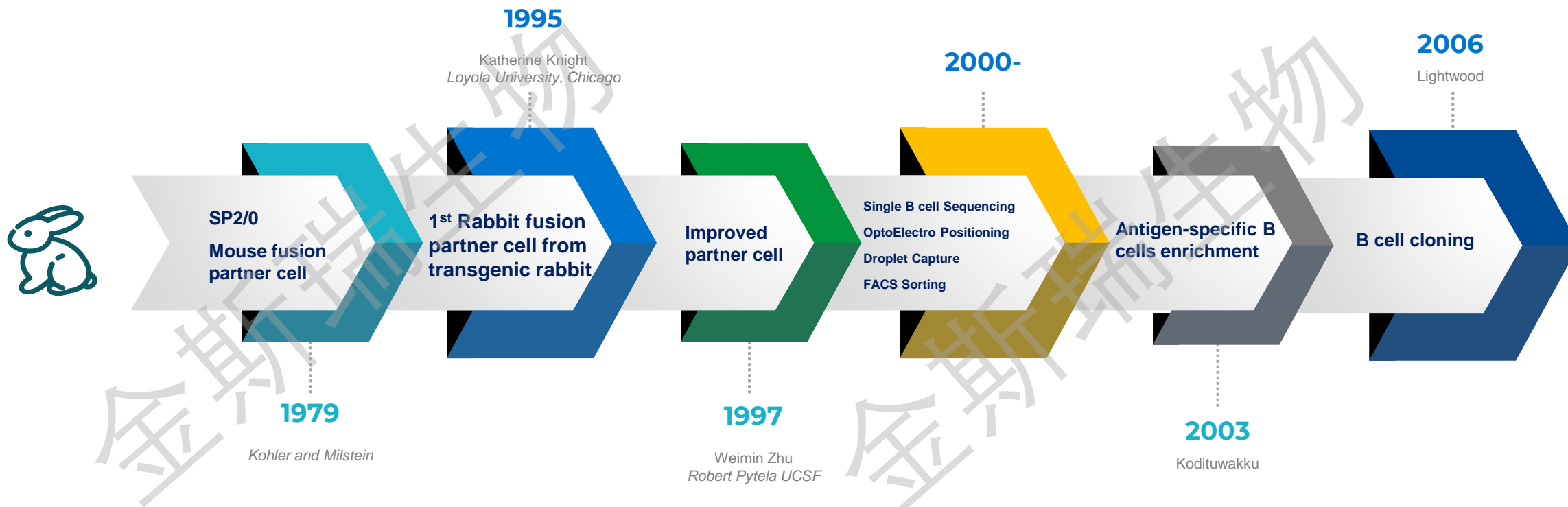
CD1*: 脂类和糖脂类抗原呈递分子

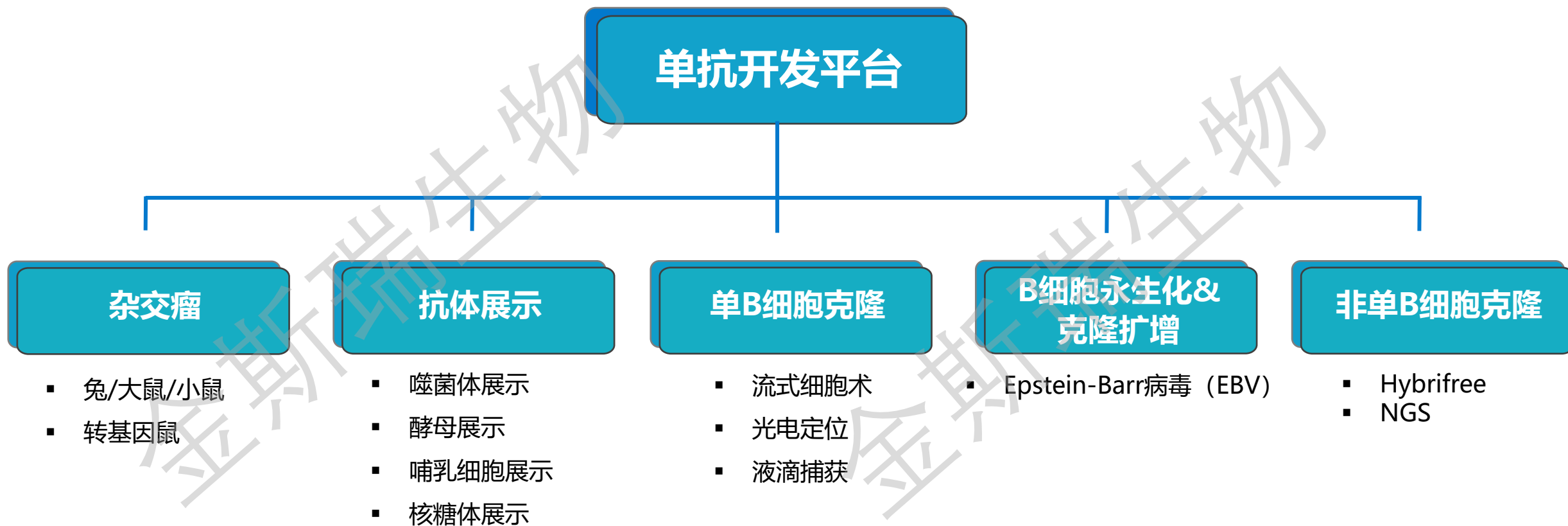
为什么大家目前市面上更多的 在售抗体是鼠单抗？

发展历史比鼠单抗短

普遍兔单抗比鼠单抗开发成本高

— 兔单抗发展史

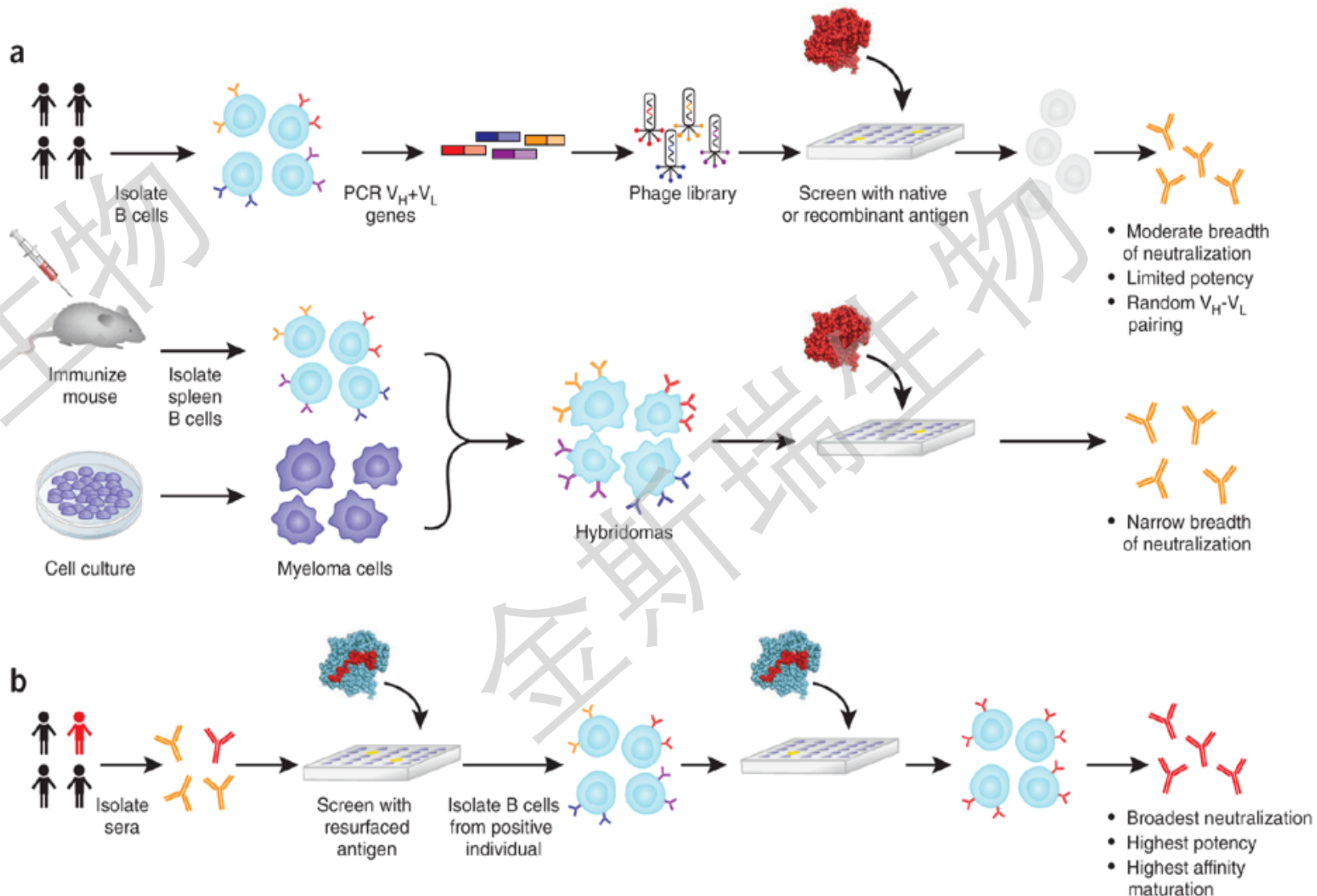




噬菌体展示

杂交瘤

B细胞克隆



— 兔单抗制备技术对比

技术	优势 	缺点
噬菌体展示	<ul style="list-style-type: none">• 高通量• 物种适用范围广	<ul style="list-style-type: none">• 丢失轻重链配对信息• 亲和力受损• 库容量有限• 库建成后难再进化• 表达有偏好性
杂交瘤	<ul style="list-style-type: none">• 保留轻重链配对信息• 技术成熟	<ul style="list-style-type: none">• 通量低、周期长、不稳定• 融合效率有限• 物种适用范围窄
B细胞克隆	<ul style="list-style-type: none">• 保留轻重链配对信息• 高通量• 物种适用范围广• 目前技术成熟• 周期短	<ul style="list-style-type: none">• 原代细胞培养及分化存在挑战

金斯瑞MonoRab™ 兔单抗平台 的创新及升级

02.

一 客户痛点





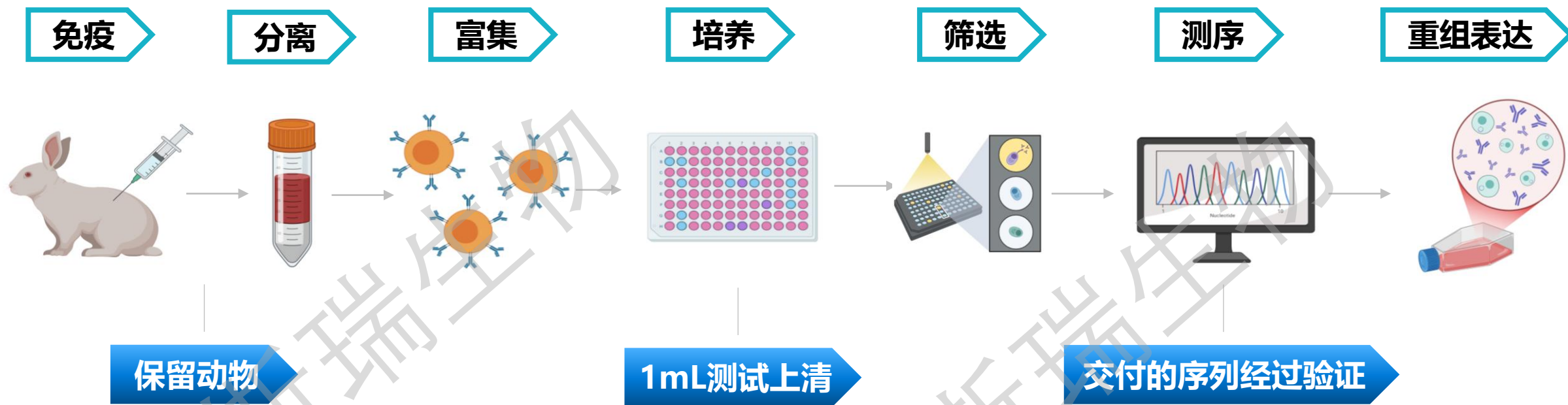
市场现象

兔单抗成本高于鼠单抗!



我们的平台研发极大降低成本!

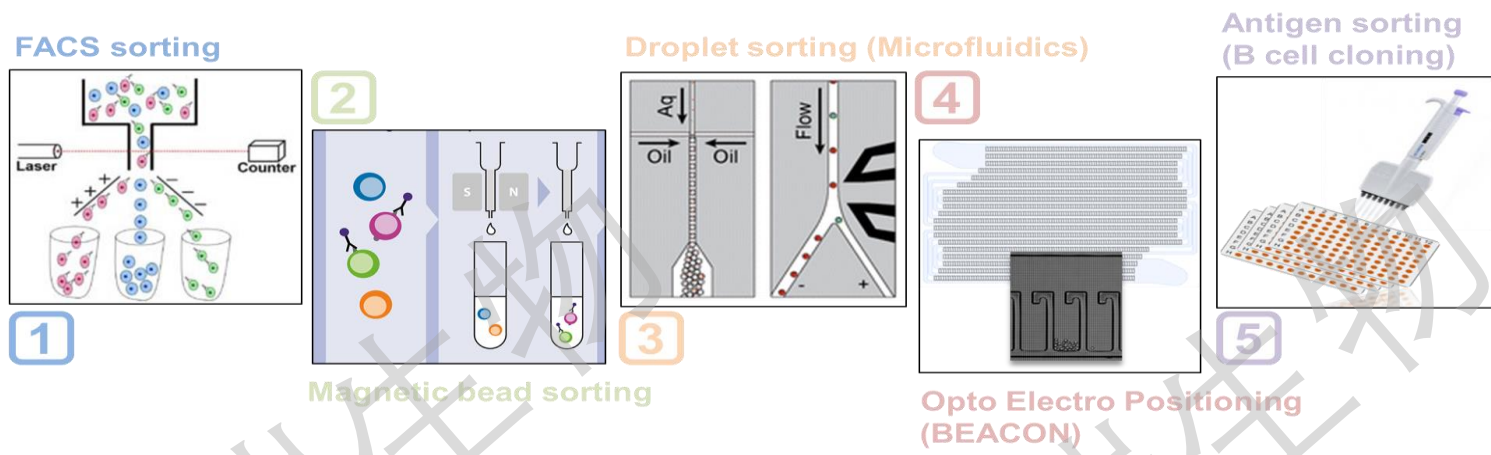
— MonoRab™服务内容——B细胞克隆平台



短至 **10周** 获得所需抗体

该流程使用**MonoExpress™**免疫技术

自研的快速、高效的免疫技术

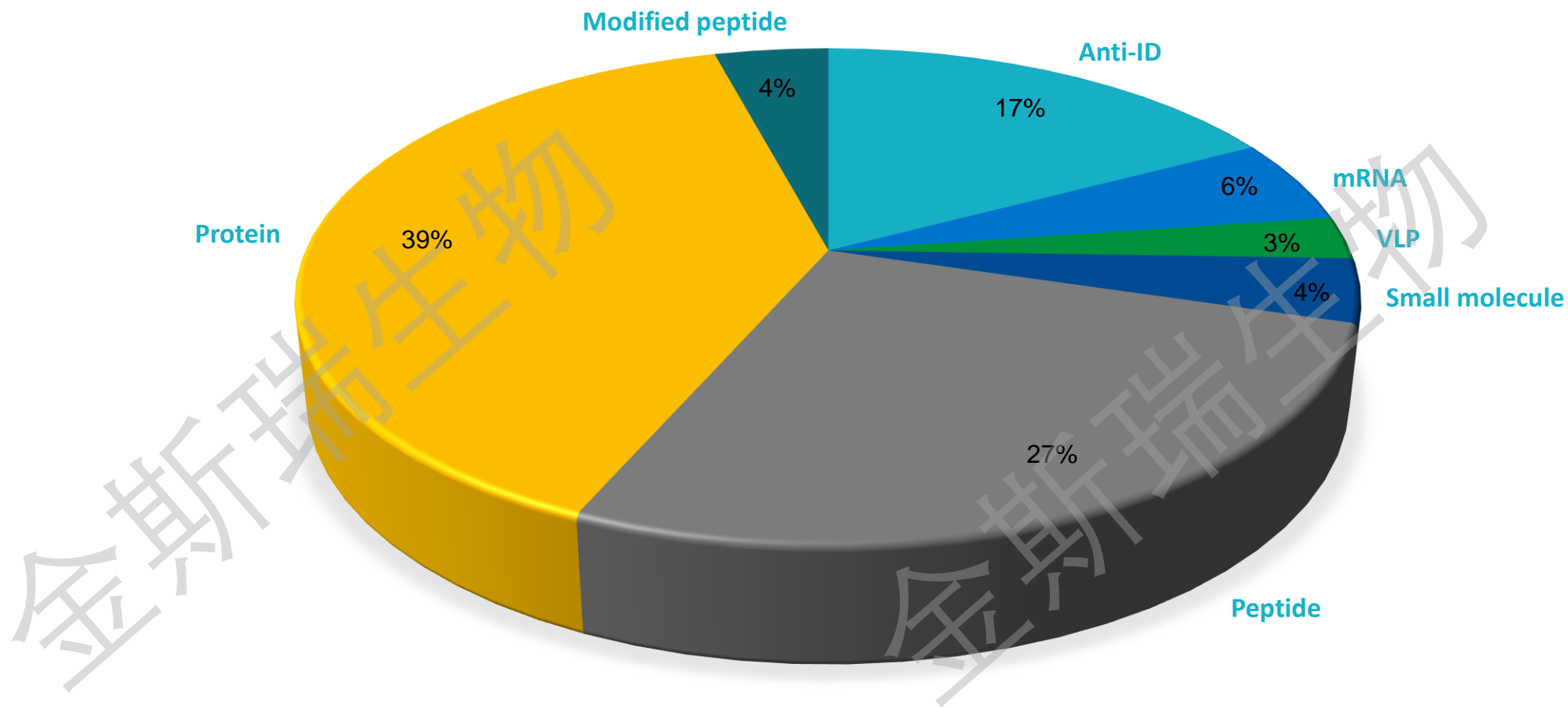


	特定设备	时间	单B细胞	分选后的细胞活力	标记抗原
FACS分选	FACS	长	是	弱	有
磁珠分选	磁珠和支架	中等	是	中等	有
液滴分选 (微流控)	Cyto-Mine	长	是	分选后裂解	有
光电定位	Beacon	长	是	分选后裂解	有
★ 抗原富集和分选 (金斯瑞B细胞克隆)	N/A	短	不是(1-3 克隆每孔)	高	无

金斯瑞B细胞克隆 (抗原富集和分选部分)

- ✓ 不影响细胞活力
- ✓ 不遮蔽结合表位
- ✓ 可在几小时内完成
- ✓ 仪器非依赖

— 2024年兔单抗开发靶点类型总结



能够开发针对不同抗原目标的兔单抗

金斯瑞兔单抗平台 成功案例分享

03.



诊断



抗体药开发



学术研究

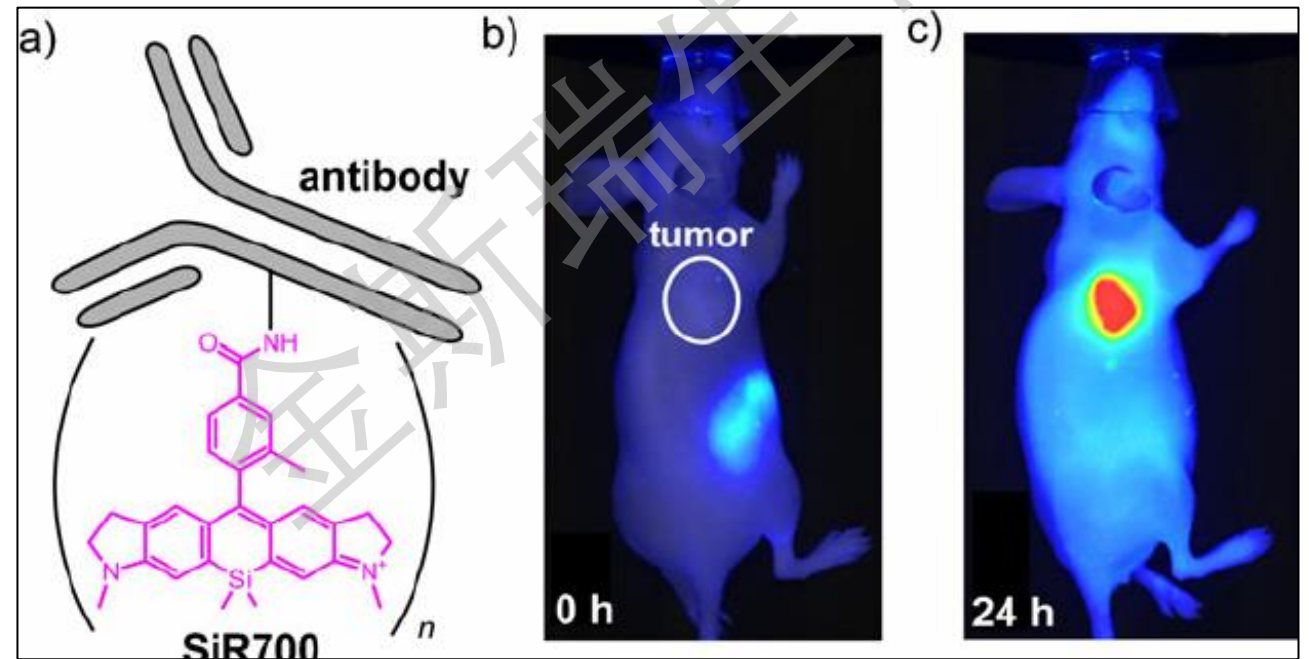
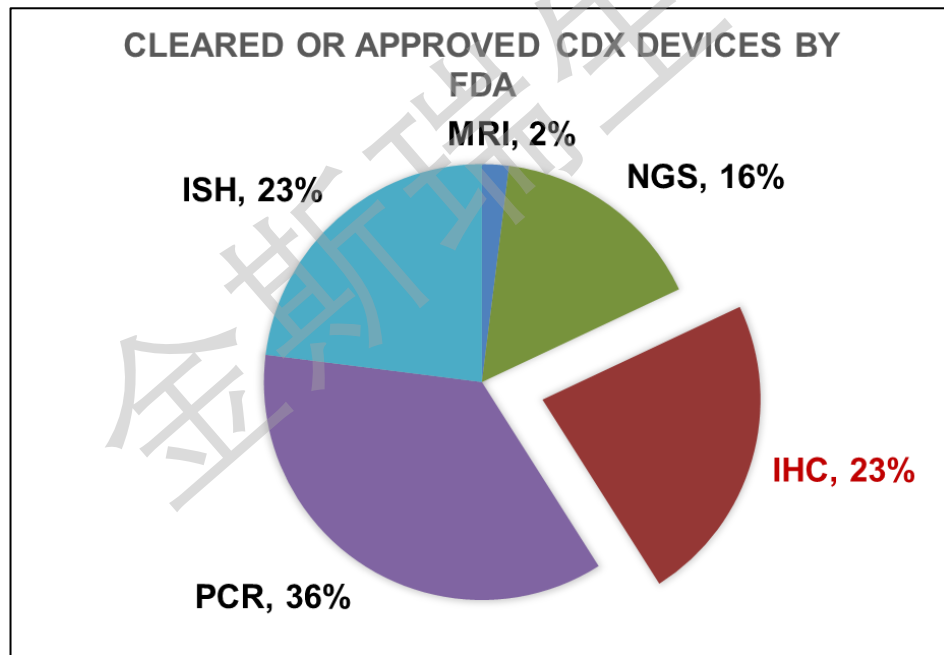
— 兔单抗的应用——诊断

1. 体外诊断

各种体外诊断 (IVD) 检测方法, 如免疫组织化学 (IHC)、酶联免疫吸附测定 (ELISA) 和放射免疫测定 (RI)

2. 体内成像

将单克隆抗体 (mAbs) 标记上放射性或荧光分子, 以帮助追踪它们在体内的路径并有助于结果的量化。



<https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools>

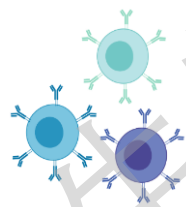
兔单抗的应用：IHC 检测诊断案例

目标：生成一种针对小鼠和人类蛋白质的特异性单克隆抗体

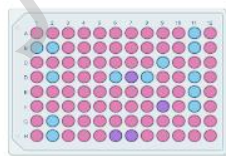
挑战：抗原与小鼠的同源性为100%



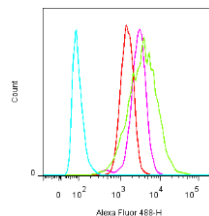
鼠蛋白免疫兔子



B 细胞克隆



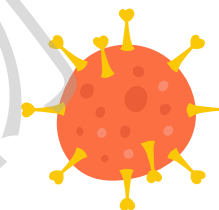
300+鼠/人ELISA
双重阳性克隆



103 FACS 阳性克隆

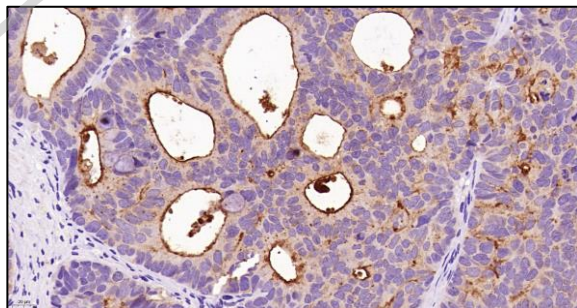


Top31 克隆推进
NGS 测序

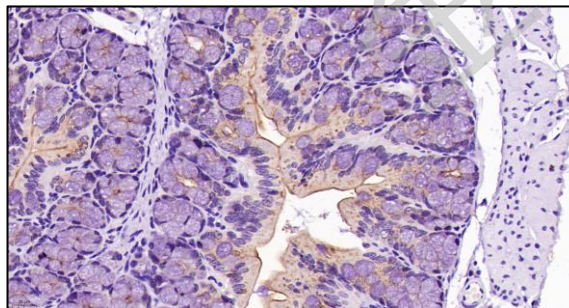


9 株CAR 细胞功能
性抗体验证 和2 株
IHC 验证抗体

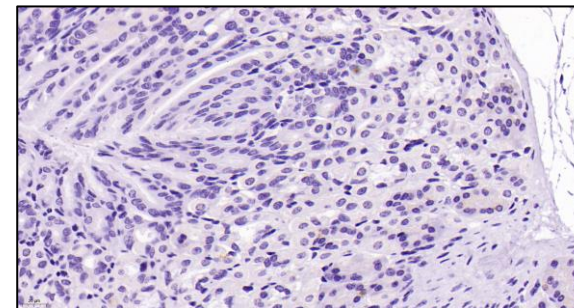
人肿瘤



鼠的肠



鼠的胃



兔单抗的应用——抗体药开发

1. 抗独特型抗体

药代动力学 (PK) 检测

2. 单克隆抗体 (mAb) 治疗

高特异性的抗体避免了非特异性结合，因此提供了安全性；高灵敏度的抗体只需低剂量给药，因此引起的毒性水平最低。

3. CAR-T 疗法

帮助构建嵌合抗原受体的scFv链；生成灵敏且特异性的抗ID单克隆抗体，有助于监测疗法的有效性。



兔单抗的应用：抗体药开发案例一

项目抗原: Tri-specific antibody

免疫抗原: scFv-His

目标: 3 株阻断型抗独特性抗体



只有 27 株 scFv-his (+) & 对其他 IgG1 对照的弱交叉反应性

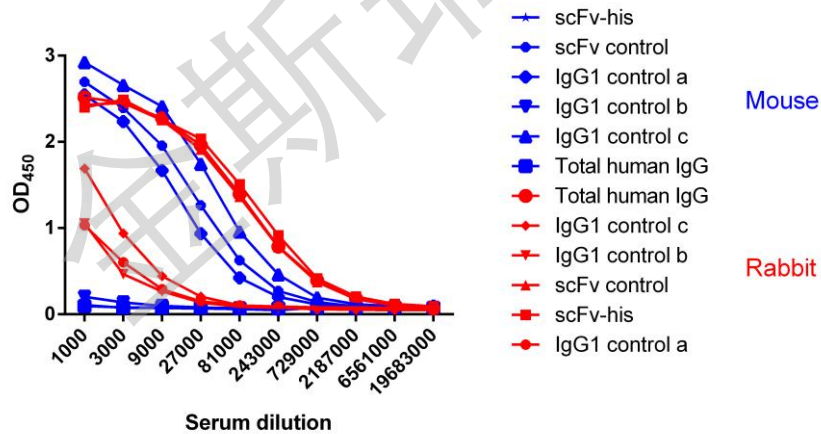


133 株 scFv-his (+) & 其他对照 (-)

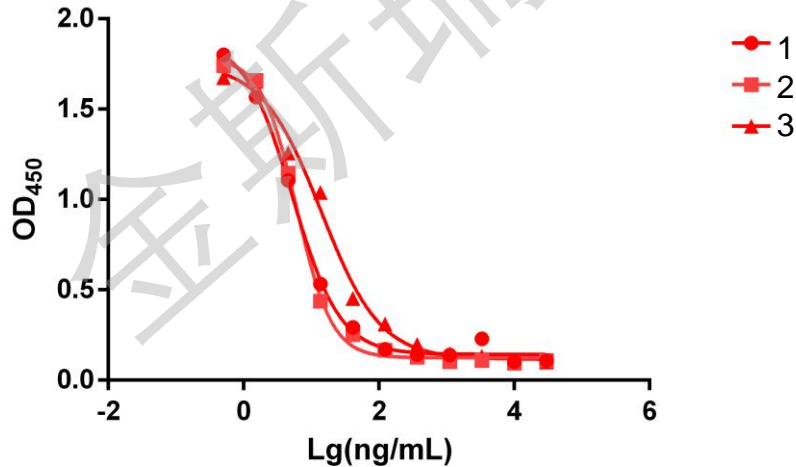
Top 96 克隆 是阻断型 (阻断率 > 30% 从阻断 ELISA 的结果)

Top 3 株推进合成抗体做阻断ELISA

间接ELISA检测第三次免疫后抗血清的结果



重组Anti-ID抗体的抑制结果



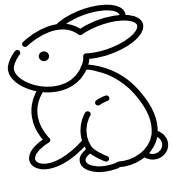
兔抗Anti-ID生成较高数量的阳性克隆!

兔单抗的应用：抗体药开发案例二

项目抗原：开发 anti-MMAE 抗体同时不识别 MMAF

免疫原靶点：MMAE

反筛靶点：MMAF

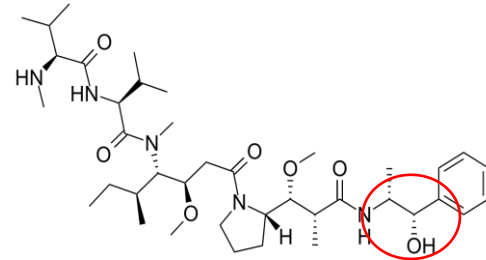


一轮B 细胞克隆

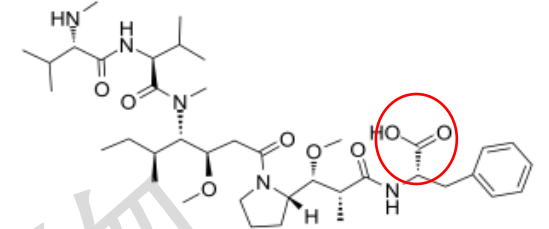
214 株: ADC(+) linker-KLH(-)

24/Top192 株: 阻断 ELISA 针对 MMAE (阳性) & MMAF (阴性)

15 克隆: 纯化后抗体推进检测

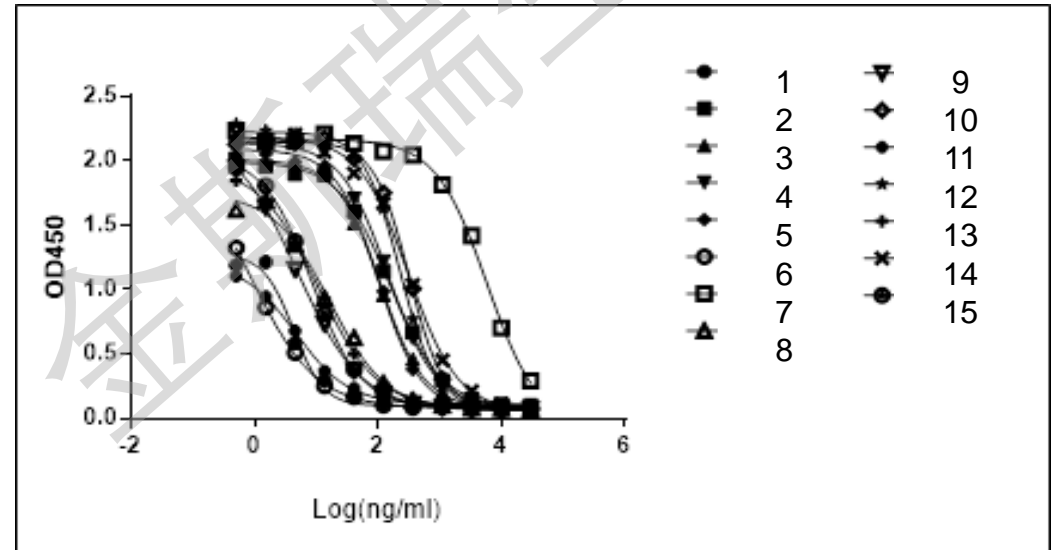


MMAE (Monomethyl auristatin E)



MMAF (Monomethyl auristatin F)

重组抗体克隆ELISA 结果



我们能够开发针对不同类型靶点抗原的Anti-ID抗体

— 兔单抗的应用——学术研究（膜蛋白开发）

靶点蛋白: 7-次跨膜蛋白 CCR9

免疫物种: 兔 & 鼠

免疫原类型: DNA, 细胞 和 mRNA

免疫原	FACS-阳性	FACS EC50
CCR9-DNA -兔	0	N/A
CCR9-细胞 -兔	3	N/A
CCR9-mRNA-LNP -兔	394	~0.11ug/mL
CCR9-mRNA-LNP -鼠	9	~0.75ug/mL

总结:

1. 通过 mRNA 免疫获得的 FACS 抗体阳性率远高于 DNA/细胞系免疫
2. 通过 mRNA 免疫, 兔子产生的 FACS 阳性克隆亲和力比小鼠更高。

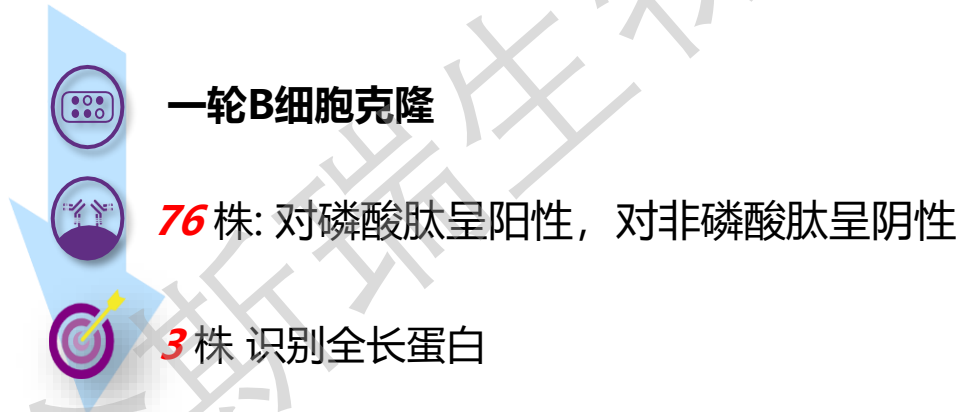
— 兔单抗的应用——学术研究（磷酸化抗体开发）

免疫原：磷酸化多肽

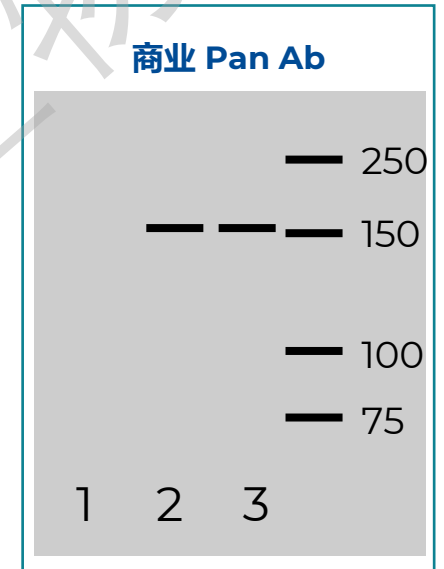
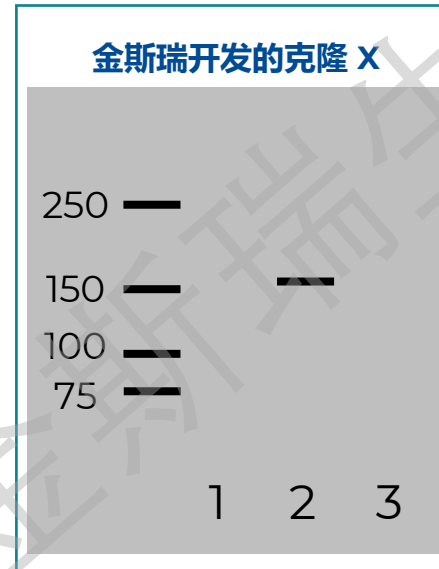
目标：生成对磷酸肽阳性且对非磷酸肽阴性的兔单克隆抗体

挑战：高一致性的阳性和多种反筛材料；使用肽免疫以用于 WB 应用检测全长蛋白

结果：成功开发出76株对磷酸肽特异的兔抗体，并验证了3株用于 WB 应用识别原蛋白的抗体



成功开发出76株对磷酸肽特异的兔抗体，并验证了3株用于 WB 应用且识别全长蛋白的抗体



- 1: X基因敲除细胞
- 2: X基因敲除细胞+ WT X rescue
- 3: X基因敲除细胞+ TA mutation rescue

Thanks for listening