

治疗性抗体人源度评价与人源化的计算方法研究进展



李文振, 周雨薇, 刘文雯, 黄 健*

(电子科技大学 生命科学与技术学院, 成都 611731)

摘要 治疗性抗体已成为全球生物制药行业不可或缺的组成部分。如何从海量非人源抗体中选择出或者基于非人源的先导抗体设计出人源化程度高的抗体从而降低其免疫原性, 这一问题已成为当今抗体药物开发领域的研究热点之一, 相应的经验、实验及计算方法统称为抗体人源化技术。已有研究证明, 在保持抗体特异性、亲和力和稳定性等特征的前提下, 提高抗体人源度能够有效降低其免疫原性。抗体人源化相关计算方法主要涉及人源化抗体的设计、抗体人源度的计算与评价等。当前, 许多计算工具已被证实为抗体人源化和人源度评价的有效工具。该文系统性概述了抗体人源化的理论依据以及基于此开发出的计算方法的发展历程, 并讨论了相关计算方法研究的最新进展。

关键词 人源度评价; 深度学习; 人源化; 免疫原性; 机器学习; 治疗性抗体

中图分类号 TP39; Q81

文献标志码 A

DOI 10.12178/1001-0548.2023216

Research Advancements in Computational Approaches for Evaluation of Degree of Humanness and Humanization of Therapeutic Antibodies

LI Wenzhen, ZHOU Yuwei, LIU Wenwen, and HUANG Jian*

(School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 611731, China)

Abstract Therapeutic antibodies have become the integral component of the global biopharmaceutical industry. The selection or design of highly humanized antibodies from a vast pool of non-human antibodies to reduce their immunogenicity has emerged as the prominent research focus in the field of antibody drug development. This area of study, encompassing experience, experiments, and calculation methods, is collectively referred to as antibody humanization technology. It has been demonstrated that enhancing the human-like characteristics of an antibody can effectively diminish its immunogenicity while preserving its specificity, affinity, and stability. The computational approach for antibody humanization primarily involves designing humanized antibodies and calculating and evaluating their degree of humanness. Currently, numerous computational tools have been proved the effective for both antibody humanization and evaluation purposes. This review comprehensively summarizes the theoretical foundation underlying antibody humanization along with the development of associated computational methodologies while discussing recent advancements in this domain.

Key words assessment of degree of humanness; deep learning; humanization; immunogenicity; machine learning; therapeutic antibodies

天然抗体是由浆细胞产生的免疫球蛋白, 在脊椎动物的免疫防御中起着至关重要的作用。它可通过识别并特异性结合抗原的特定表位来激活免疫应答^[1]。相较于小分子药物特异性差、毒性大、半衰期短等缺点, 抗体具有高特异性、高疗效、高安全性及半衰期长等优点, 这使其在多种疾病的诊断和治疗中展现出其他类型药物无可比拟的优势。

自 1986 年 FDA 批准的首个抗体药物莫罗单抗 (Muromonab-CD3, OKT3) 上市以来^[2], 抗体研发取得飞速进展。2021 年 4 月, 随着多塔利单抗 (Dostarlimab) 的获批, 抗体行业进入了里程碑式的“百抗”时代^[3]。截至 2023 年 7 月, FDA 共批准了 124 种抗体药物^[4], 广泛应用于肿瘤 (约 45%)、免疫介导性疾病 (约 27%) 和感染性疾病

收稿日期: 2023-09-21; 修回日期: 2023-10-15

基金项目: 国家自然科学基金 (62071099, 62371112)

作者简介: 李文振, 主要从事抗体生物信息学方面的研究。

*通信作者 E-mail: hj@uestc.edu.cn

(约 8%) 的治疗中。一些抗体如巴姆拉尼单抗 (bamlanivimab)、依替维单抗 (bamlanivimab) 等, 也被紧急用于应对 SARS-CoV-2 的免疫治疗中^[5]。

最早的单克隆抗体是通过杂交瘤技术筛选小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞的融合细胞获得的, 因此都是小鼠抗体^[6]。如 FDA 批准首个抗体药物莫罗单抗就是小鼠抗体。异种的小鼠抗体进入人体会引起人抗小鼠抗体 (Human Anti-Mouse Antibodies, HAMA) 的产生, 导致疗效丧失与严重变态反应。为此, 科学家在全小鼠单抗的基础上先后开发了由小鼠可变区与人类恒定区构成的嵌合抗体、由小鼠 CDR 区与人类 FR 区及恒定区构成的人源化抗体, 以及 CDR 区也优化过的人源化抗体^[7]。随着转基因小鼠、噬菌体展示、单个 B 细胞测序等技术的发展, 越来越多的全人类抗体已经上市。目前主要有 4 种类型的抗体用于治疗人类疾病: 完全非人类抗体 (主要来源于小鼠天然 B 细胞库)、嵌合抗体^[8]、人源化抗体^[9-10] 和全人类抗体^[11]。除了小鼠来源的抗体药物外, 已批准及处于临床试验中及临床前研究的抗体药物还有来源于大鼠等异种动物的, 尤其是大量来源于骆驼科动物、鲨鱼、牛属及野牛属动物的各具特色的候选抗体^[12-14]。此外, 除制备方法与工艺上的区别, 4 种类型的抗体中的人源片段的比例也有所不同。总之, 治疗性抗体中的非人源片段可能会被人体免疫系统所识别, 进一步诱导发生一系列的免疫反应, 其中最主要的就是抗药抗体 (Anti-Drug Antibodies, ADAs) 的形成^[15]。诱导发生这一系列的免疫反应的能力称为抗体的免疫原性。抗体的免疫原性可能对其安全性和药代动力学产生负面影响, 甚至可能影响抗体治疗药物的皮下给药, 这对抗体药物的批准构成重大障碍^[16-18]。依法珠单抗 (Efalizumab) 是一种重组人源化 IgG1 单克隆抗体, 用于治疗斑块状银屑病。然而, 该药物与严重的免疫相关副作用——特发性多形性红斑和中毒性表皮坏死相关联。因此, 经过审查评估, 依法珠单抗于 2009 年退市。一般来说, 抗体包含的人类序列比例越大, 用于人体后发生免疫反应的可能性越小^[19]。抗体的人源化技术已经被证明可以在保持其特异性、亲和力和稳定性等特征的前提下, 有效降低其免疫原性^[20]。2001 年, 第一个人源化抗体阿仑单抗 (alemtuzumab)^[21] 被美国 FDA 批准用于治疗细胞慢性淋巴细胞白血病, 这一里程碑事件标志着人类在降低抗体免疫原性方面有了新的解决方案。截至 2023 年 8 月, 已通过人源化方法开

发了约 80 种处于不同审查或批准阶段的候选抗体。

人源化程度的评价是非人源抗体可开发性评估不可或缺的环节, 也是抗体药物开发领域研究的前沿与热点^[22]。在过去几十年中, 对抗体人源化的研究取得了显著进展, 并积累了大量的数据和经验。抗体人源化主要涉及两个研究方向, 即使用计算方法对抗体的人源度 (Degree of Humanness) 进行评价和通过计算或实验的方法来提高抗体的人源化水平。本综述系统性地回顾了过去的抗体人源化和人源度评价的计算方法和进展, 讨论了现有方法的优势和弊端, 并对未来可能出现的新的解决方案进行了展望。

1 抗体的人源度评价

各类的抗体人源化研究都围绕将非人源抗体转化为更接近人类结构的人源化抗体, 以降低其在临床应用中的免疫原性。事实上, 世卫组织要求抗体可变区域中人类含量百分比大于 85% 才可命名为人源化抗体 (-zumab)^[23]。其计算方式是用 BLAST^[24] 将抗体的可变区序列与其最接近的人类种系对应部分进行比较。如通过该方法计算, 帕利珠单抗 (palivizumab) 具有 87.9% 可变的重链人类种系身份, 符合人源化抗体的标准。抗体的“人源度评价”是抗体开发优化前的一个基础性工作, 是抗体人源化过程中不可或缺的部分。人源度评价度量候选抗体与人源抗体之间的相似程度, 是候选抗体是否需要进行人源化和人源化成功与否的硬性指标。一切的抗体人源化工具都需围绕抗体人源化程度来对抗体进行人源化改造。许多计算方法被开发出来用于评估候选抗体与目标人源化抗体之间的人源度。

大多数人源度评价方式是基于样本和一组参考人类序列之间成对的序列比对。Abhinandan 和 Martin 开发了“Z 评分”, 将给定抗体与人类可变区域序列的小型数据库进行比对, 计算其序列同一性^[25]。具体来说, 首先使用 ssearch33^[26] 程序将序列对齐, 然后使用下列公式计算每个序列的平均序列同一性:

$$\mu_i = \sum_{j=1, j \neq i}^N P_{ij} / (N-1) \quad (1)$$

式中, N 是人类数据集中的序列数; P_{ij} 分别是查询数据集和目标数据集中第 i 个和第 j 个序列之间的成对序列标识。

类似的方法被用于计算整个人类种系的平均原始人源度:

$$\bar{\mu} = \sum_{i=1}^M \mu_i / M \quad (2)$$

最后, 将计算而得的每个序列的平均序列同一性 μ_i 在 $\bar{\mu}$ 的尺度下进行归一化, 得到的结果即为每个序列的“Z评分”。

与此相似的是, 文献[27]开发了“G评分”以试图对输入抗体序列最初来源于哪个种系框架进行分类[27]。“G评分”的计算方法与“Z评分”相似, 不同的点是其根据最有可能从中衍生的最接近的种系将表达的序列划分为不同的家族。随后, 文献[28]对人类抗体序列的CDR区进行蛋白BLAST, 而后根据与输入序列的比对, 将人类序列中的匹配序列进行排序, 并将前20个匹配序列同一性求平均以获得“T20评分”。该评分可以有效衡量抗体可变区域看起来与人类相似的程度。文献[29-30]在序列比对的基础上通过统计推断来区分人类和非人序列, 这些方法考虑了底层分子的物理化学特性或相关性。

最近, 机器学习方法在区分人类和非人类序列方面表现出优异的性能[31-32]。一个有代表性的例子是基于长短期记忆网络(LSTM)的深度学习模型, 它可以通过长时间选择性的记忆模式来学习抗体序列数据的分布[31]。该模型在人类抗体序列上进行训练, 可以有效地区分“我”和“非我”, 即人类和非人类序列。模型为每一个序列计算一个NLS评分, 分数越低表示原生程度越高。NLS评分计算公式如下:

$$\text{NLS} = -\frac{1}{T} \sum_{t=1}^T \log p_t(x^{(t)} | x^{(1)}, \dots, x^{(t-1)}, x^{(t+1)}, \dots, x^{(T)}) \quad (3)$$

式中, p_t 由玻尔兹曼分布 $e^{-\epsilon^{(t)}} / \sum_{x' \in X} e^{-\epsilon^{(t)'}}$ 定义, 其中能量项 $\epsilon^{(t)}$ 是需要学习的参数。

该模型可以帮助设计更好的代表自然序列多样性的合成文库, 以及选择合适的框架和突变来指导抗体人源化。另一个有代表性的人源化计算工具Hu-mAb基于随机森林分类器建立, 能够准确区分每一个人和非人类可变结构域序列[33]。该模型为每一个V基因类型构建了单独的随机森林分类器, 以实现现实的V基因类型特异性序列表示。每个V基因类型的随机森林模型都根据最大化 Youden's

J统计量设置分类阈值分数, 高于该分数的序列将被归类为人类序列。由Hu-mAb得到的评分已被证实与观察到的免疫原性水平呈负相关。

表1展示的是当今代表性的抗体人源度评价计算方法汇总。总的来说, 尽管先前的抗体人源度评价工具或多或少存在一些缺陷(如对解析或建模抗体结构的要求和训练数据集大小的限制等), 但最新的几种基于大规模数据集训练的机器学习模型似乎克服了这些限制, 使得能够大规模对候选抗体进行人源度评价, 进一步指导抗体的人源化。

表1 代表性的抗体人源度评价计算方法汇总

工具名	方法	年份	文献
Z评分	序列比对	2007	[25]
G评分	序列比对	2010	[27]
T20评分	序列比对	2013	[28]
NLS评分	机器学习	2019	[31]
Hu-mAb	机器学习	2022	[33]

2 抗体人源化的计算方法

从算法角度来看, 任何的抗体人源化方案都在试图最大化一些人源度评价分数。广义上的人源度评价分数可以通过与人源抗体序列比对得出, 也可以是同源建模中表示亲和力是否良好的能量分数。甚至, 一些人源化方案的提出都伴随一套与之匹配的人源化评估标准。从所使用的方法来看, 抗体人源化的计算方法包括序列比对、结构模拟和统计推断等。本节将重点回顾近年来一些抗体人源化的原理与方案。

通常来说, 抗体-抗原结合特异性和亲和力由可变结构域中的互补决定区(CDR)决定。抗体人源化的常用方法就是将非人源抗体的CDR区移植到与其具有最高同源性的人类框架上[34-35]。直接采用移植方法最主要的问题在于其对特定靶标的亲和力可能会降低或丧失[36]。原因是原本鼠抗体框架区中的游标区残基(Vernier Zone Residues)会通过 β 折叠影响CDR的构象和抗体的亲和力。而使用人类抗体框架替代鼠抗体框架时, 会导致原鼠抗体的CDR构象被破坏, 进而影响对特定靶标的亲和力[37]。通过保留这些游标区残基, 可以确保人源化抗体在结构上与原始鼠源抗体相似, 并且具有与原始鼠抗体相近的亲和力。基于此原理, 早期的人源化尝试通常基于试错法, 涉及任意残基的反向突变以恢复功效或降低免疫原性, 但这需要昂贵且耗时

的实验来操作及验证。后来,一些系统的抗体人源化的计算方案被开发出来。Tabhu 是一个专门用于抗体人源化的平台,包括用于人类模板选择、移植、反向突变评估、抗体建模和结构分析的工具,帮助用户完成人源化实验方案的所有关键步骤^[38]。具体来说,Tabhu 首先使用序列比对的方法从数据库中选择与非人源抗体相似度最高的人类框架供体,将非人源抗体的 CDR 嫁接到选定的人类供体框架中。进一步,使用 proABC^[39] 估计天然抗体和新抗体之间结合模式的相似性。然后,对残基进行反向突变,重新评估天然抗体和新抗体直接的结合模式相似性。循环上述过程,直至达到所需的结合模式相似性。文献 [40] 的研究则试图直接通过机器学习的方式来选择能保留 CDR 区空间构象的最优的框架受体。其事实依据是 VH-VL 取向的变化可能会引起抗原结合的变化^[41-43]。该方法首先根据文献 [43] 推导出的 6 个 ABangle 方向参数来表征 VH-VL 方向,然后使用随机森林模型评估 VH 和 VL 界面处的一组 54 个保守残,以得出 6 个 ABangle 参数中每个参数的估计值。最后,根据 VH-VL 取向的预期差异对每个变体进行排名,丢弃预期表现出与参比抗体明显不同的 VH-VL 取向的人源化变体以减少要克隆、表达和测试的变体总数。

另一个人源化的思路是直接将非人源抗体的特定氨基酸残基替换为人种系抗体中的氨基酸,使非人源抗体看起来更像来源于“人类”^[44]。这种方法基于一个共识,即 T 细胞依赖性反应是生物制剂免疫原性的主要驱动因素,并且在这一途径中激发免疫的核心单位是一个小型线性肽表位^[45]。基于此原理,CoDAH 可通过对氨基酸残基的突变同时生成多种变体,而后通过结构建模的方式评估突变对蛋白质稳定性和“人性”的影响^[46-47]。得益于大量的晶体结构和精确的同源模型^[48],文献 [49-50] 在此原理上进一步引入同源建模来选择更好的变体。这种方法不是基于线性序列的人源化,而是考虑了小鼠抗体的三级结构和折叠。其大致的流程是通过创建小鼠同源模型,并根据与人类种系的序列比对结果,在模型中将小鼠中不同的残基替换为人源化序列。最后,根据能量最小化的原则选择最优的变体。

在人源度评价中,基于 LSTM 的深度学习模型已经证明了其区分人类和非人类抗体序列的能力。除此之外,深度学习在生成具有良好可开发性特征的随机抗体序列库^[51]或改善亲和力^[52]方面也取得了显著的成果^[53]。最近,BioPhi^[32] 平台上称之

为“智人(Sapiens)”的基于深度学习的人源化方案能够通过语言建模对 OAS 数据库进行训练,最终大规模地产生与人类专家手动人源化相媲美的序列。“智人”基于掩码语言建模^[54],其中输入的“句子”是抗体可变区域的氨基酸序列,“单词”是单个氨基酸残基。在训练过程中,输入序列中的部分氨基酸会被随机替换为掩码标记或突变成随机氨基酸。该模型经过训练后可以识别这些替换并预测原始氨基酸。抗体人源化的计算方法汇总如表 2 所示。

表 2 抗体人源化的计算方法汇总

工具名	方法	年份	文献
CoDAH	结构建模	2015	[46]
Tabhu	结构建模	2015	[38]
Bujotzek	机器学习	2016	[40]
Kurella	同源建模	2018	[49]
Hu-mAb	机器学习	2021	[33]
Hsieh	分子动力学模拟	2022	[55]
Sapiens	机器学习	2022	[32]

需要特别说明的是,即使异种抗体人源化后其人源化评分提高,免疫原性显著降低,但依然存在诱导抗药抗体产生的潜能。即使是全人类抗体,在某种程度上仍存在潜在的免疫原性风险,需要进一步进行充分的免疫原性评估。如通过人源化途径获得的伯考赛珠单抗(Bococizumab),通过 Hu-mAb 计算的重轻链人源度得分分别为 0.915(HV1)和 0.905(KV1),高于来自大鼠的阿仑单抗的 0.825(HV4)和 0.72(KV1)。然而,阿仑单抗作为第一个获批的人源化抗体,迄今还用于复发性多发性硬化治疗;而伯考赛珠单抗因为在三期临床试验中由于大量病人出现了高滴度的 ADA,最终未能获批上市^[56]。后期的全基因组关联研究发现,伯考赛珠单抗的 ADA 与 HLA 的 DRB1 和 DQB1 有关,这提示即使是经人源化后人源度程度高的单抗,仍应进一步进行免疫原性的分析与研究^[57]。

3 结束语

抗体在人类免疫防御中发挥重要作用,并且抗体药物在各种疾病治疗中潜力巨大。抗体人源化是提高抗体治疗药物安全性和效果的关键策略,计算方法和机器学习模型的发展为抗体人源化提供了新的解决方案和工具。到目前为止,已经开发了多种人源化和人源度评价的计算方法。总体而言,这些方法的性能不断提升,在包括语言模型在内的人工

智能的驱动下,逐步接近人类专家水平。此外,其快速、高通量和经济等多重优势使得更快开发出更多、更经济、更安全的抗体药物成为可能。

正如文中所述,人源化程度高的抗体也不应忽视其诱导免疫反应的潜能。抗体的人源度评价和人源化计算方法可作为大规模初筛或优化工具,并纳入抗体前期开发流程中。对于高风险候选抗体,若要进一步开发,应先通过经验和计算方法降低风险,而后再和低风险候选抗体一起进行实验验证。

参考文献

- [1] BUSS N A, HENDERSON S J, MCFARLANE M, et al. Monoclonal antibody therapeutics: History and future[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12(5): 615-622.
- [2] SMITH S L. Ten years of Orthoclone OKT3 (muromonab-CD3): A review[J]. *J Transpl Coord*, 1996, 6(3): 109-119.
- [3] MULLARD A. FDA approves 100th monoclonal antibody product[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(7): 491-495.
- [4] The Antibody Society. Therapeutic monoclonal antibodies approved or in review in the EU or US[EB/OL]. [2023-08-01]. <http://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies>.
- [5] NING L, ABAGNA H B, JIANG Q, et al. Development and application of therapeutic antibodies against COVID-19[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(6): 1486-1496.
- [6] ULITZKA M, CARRARA S, GRZESCHIK J, et al. Engineering therapeutic antibodies for patient safety: Tackling the immunogenicity problem[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2020, 33: 1-12.
- [7] DI I A, BARBERO L, FRAONE T, et al. Preclinical risk assessment strategy to mitigate the T-cell dependent immunogenicity of protein biotherapeutics: State of the art, challenges and future perspectives[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 234: 115500.
- [8] MORRISON S L, JOHNSON M J, HERZENBERG L A, et al. Chimeric human antibody molecules: Mouse antigen-binding domains with human constant region domains[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81(21): 6851-6855.
- [9] JONES P T, DEAR P H, FOOTE J, et al. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse[J]. *Nature*, 1986, 321(6069): 522-525.
- [10] ALMAGRO J C, FRANSSON J. Humanization of antibodies[J]. *Front Bio Sci*, 2008, 13: 1619-1633.
- [11] NELSON A L, DHIMOLEA E, REICHERT J M. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(10): 767-774.
- [12] MUYLDERMANS S. A guide to: Generation and design of nanobodies[J]. *Febs J*, 2021, 288(7): 2084-2102.
- [13] LIU X, CHEN Q. Progress in shark single-domain antibody[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, 36(6): 1069-1082.
- [14] PEREIRA E P V, VAN T M F, FLOREAN E, et al. Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73: 293-303.
- [15] VAISMAN M A, GUTIERREZ G M, DEKOSKY B J, et al. The molecular mechanisms that underlie the immune biology of anti-drug antibody formation following treatment with monoclonal antibodies[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1951.
- [16] NING L, HE B, ZHOU P, et al. Molecular design of peptide-fc fusion drugs[J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(3): 203-208.
- [17] HANSEL T T, KROPSHOFER H, SINGER T, et al. The safety and side effects of monoclonal antibodies[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2010, 9(4): 325-338.
- [18] CHIRINO A J, ARY M L, MARSHALL S A. Minimizing the immunogenicity of protein therapeutics[J]. *Drug Discovery Today*, 2004, 9(2): 82-90.
- [19] HWANG W Y K, FOOTE J. Immunogenicity of engineered antibodies[J]. *Methods*, 2005, 36(1): 3-10.
- [20] LU R M, HWANG Y C, LIU I J, et al. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 1.
- [21] WEAVER T A, KIRK A D. Alemtuzumab[J]. *Transplantation*, 2007, 84(12): 1545-1547.
- [22] DZISOO A M, 任丽萍, 谢诗扬, 等. 治疗性抗体可开发性评估研究进展[J]. *电子科技大学学报*, 2021, 50(3): 476-480.
- [23] DZISOO A M, REN L P, XIE S Y, et al. Progress in research on evaluation of developability of therapeutic antibody[J]. *Journal of University of Electronic Science and Technology of China*, 2021, 50(3): 476-480.
- [24] JONES T D, CARTER P J, PLUCKTHUN A, et al. The INNs and outs of antibody nonproprietary names[J]. *MAbs*, 2016, 8(1): 1-9.
- [25] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs[J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [26] ABHINANDAN K R, MARTIN A C R. Analyzing the "Degree of Humanness" of antibody sequences[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 369(3): 852-862.
- [27] PEARSON W R, LIPMAN D J. Improved tools for biological sequence comparison[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1988, 85(8): 2444-2448.
- [28] THULLIER P, HUIH O, PELAT T, et al. The humanness of macaque antibody sequences[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 396(5): 1439-1450.
- [29] GAO S H, HUANG K, TU H, et al. Monoclonal antibody humanness score and its applications[J]. *BMC Biotechnol*, 2013, 13: 55.
- [30] SEELIGER D. Development of scoring functions for antibody sequence assessment and optimization[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76909.
- [31] CLAVERO Á A, DI M T, PEREZ G S, et al. Humanization of antibodies using a statistical inference

- approach[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 14820.
- [31] WOLLACOTT A M, XUE C, QIN Q, et al. Quantifying the nativeness of antibody sequences using long short-term memory networks[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2019, 32(7): 347-354.
- [32] PRIHODA D, MAAMARY J, WRIGHT A, et al. BioPhi: A platform for antibody design, humanization, and humanness evaluation based on natural antibody repertoires and deep learning[J]. *MAbs*, 2022, 14(1): 2020203.
- [33] MARKS C, HUMMER A M, CHIN M, et al. Humanization of antibodies using a machine learning approach on large-scale repertoire data[J]. *Bioinformatics*, 2021, 37(22): 4041-4047.
- [34] PELAT T, BEDOUELLE H, REES A R, et al. Germline humanization of a non-human primate antibody that neutralizes the anthrax toxin, by in vitro and in silico engineering[J]. *J Mol Biol*, 2008, 384(5): 1400-1407.
- [35] ROBERT R, STRELTSOV V A, NEWMAN J, et al. Germline humanization of a murine Abeta antibody and crystal structure of the humanized recombinant Fab fragment[J]. *Protein Sci*, 2010, 19(2): 299-308.
- [36] PAVLINKOVA G, COLCHER D, BOOTH B J, et al. Effects of humanization and gene shuffling on immunogenicity and antigen binding of anti-TAG-72 single-chain Fvs[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(5): 717-726.
- [37] SAFDARI Y, FARAJNIA S, ASGHARZADEH M, et al. Antibody humanization methods – a review and update[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2013, 29: 175-186.
- [38] OLIMPIERI P P, MARCATILI P, TRAMONTANO A. Tabhu: Tools for antibody humanization[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(3): 434-435.
- [39] OLIMPIERI P P, CHAILYAN A, TRAMONTANO A, et al. Prediction of site-specific interactions in antibody-antigen complexes: The proABC method and server[J]. *Bioinformatics*, 2013, 29(18): 2285-2291.
- [40] BUJOTZEK A, LIPSMEIER F, HARRIS S F, et al. VH-VL orientation prediction for antibody humanization candidate selection: A case study[J]. *MAbs*, 2016, 8(2): 288-305.
- [41] ABHINANDAN K R, MARTIN A C. Analysis and prediction of VH/VL packing in antibodies[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2010, 23(9): 689-697.
- [42] CHAILYAN A, MARCATILI P, TRAMONTANO A. The association of heavy and light chain variable domains in antibodies: Implications for antigen specificity[J]. *Febs J*, 2011, 278(16): 2858-2866.
- [43] DUNBAR J, FUCHS A, SHI J, et al. ABangle: Characterising the VH-VL orientation in antibodies[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2013, 26(10): 611-620.
- [44] LAZAR G A, DESJARLAIS J R, JACINTO J, et al. A molecular immunology approach to antibody humanization and functional optimization[J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(8): 1986-1998.
- [45] JAWA V, COUSENS L P, AWWAD M, et al. T-cell dependent immunogenicity of protein therapeutics: Preclinical assessment and mitigation[J]. *Clin Immunol*, 2013, 149(3): 534-555.
- [46] CHOI Y, NDONG C, GRISWOLD K E, et al. Computationally driven antibody engineering enables simultaneous humanization and thermostabilization[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2016, 29(10): 419-426.
- [47] CHOI Y, HUA C, SENTMAN C L, et al. Antibody humanization by structure-based computational protein design[J]. *MAbs*, 2015, 7(6): 1045-1057.
- [48] KURODA D, SHIRAI H, JACOBSON M P, et al. Computer-aided antibody design[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2012, 25(10): 507-521.
- [49] KURELLA V B, GALI R. Antibody design and humanization via in silico modeling[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1827: 3-14.
- [50] KURELLA V B, GALI R. Structure guided homology model based design and engineering of mouse antibodies for humanization[J]. *Bioinformation*, 2014, 10(4): 180-186.
- [51] AMIMEUR T, SHAVER J M, KETCHEM R R, et al. Designing feature-controlled humanoid antibody discovery libraries using generative adversarial networks[EB/OL]. [2020-04-12]. <https://www.xueshufan.com/publication/3015700791>.
- [52] AKBAR R, ROBERT P A, WEBER C R, et al. In silico proof of principle of machine learning-based antibody design at unconstrained scale[J]. *MAbs*, 2022, 14(1): 2031482.
- [53] ZHOU Y, HUANG Z, LI W, et al. Deep learning in preclinical antibody drug discovery and development[J]. *Methods*, 2023, 218: 57-71.
- [54] DEVLIN J, CHANG M W, LEE K, et al. BERT: Pre-training of deep bidirectional transformers for language understanding[EB/OL]. [2018-10-11]. <https://arxiv.org/abs/1810.04805>.
- [55] HSIEH Y C, LIAO J M, CHUANG K H, et al. A universal in silico V(D)J recombination strategy for developing humanized monoclonal antibodies[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 58.
- [56] RIDKER P M, TARDIF J C, AMARENCO P, et al. Lipid-reduction variability and antidrug-antibody formation with bococizumab[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(16): 1517-1526.
- [57] CHASMAN D I, HYDE C L, GIULIANINI F, et al. Genome-wide pharmacogenetics of anti-drug antibody response to bococizumab highlights key residues in HLA DRB1 and DQB1[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 4266.

编辑 刘飞阳