



**TURUN
YLIOPISTO**

Allosteeriset vasta-aineet

LuK -tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biokemian tutkinto-ohjelma

Laatija:
Sami Koivusilta

28.5.2026
Turku

Kandidaatintutkielma

Tutkinto-ohjelma, oppiaine: Biokemia

Tekijä(t): Sami Koivusilta

Otsikko: Allosteeriset vasta-aineet

Ohjaaja(t): Hanna Sanmark

Sivumäärä: 25 sivua

Päivämäärä: 28.5.2026

Allosteeriset vasta-aineet ovat monoklonaalisten vasta-aineiden sovellus, joka tarjoaa mahdollisuuden vaikuttaa laajasti proteiinien toimintaan sekä solujen prosesseihin. Allosteerisen säätelyn kautta vaikuttaminen tuottaa vähemmän off-target-vaikutuksia, sillä allosteeriset kohdat ovat vähemmän konservoituneita, kuin ortosteeriset kohdat. Tämän vuoksi allosteeriset vasta-aineet ovat spesifisempiä kohteelleen, kuin perinteiset vasta-aineet. Ne voivat toimia myös ortosteerisen ligandin läsnä ollessa aktivoiden (PAAM) tai inhiboiden (NAAM) kohdeproteiinin toimintaa toimimatta suoraan agonistina tai antagonistina. Ne voivat myös stabiloida proteiinin konformaation aktiiviseen tai inaktiiviseen muotoon. Allosteerisen vaikutusmekanismin omaavia vasta-aineita on ollut käytössä jo nelisenkymmentä vuotta. Vasta-aineiden uudet muodot, kuten nanobodit ja VHH-vasta-aineet tarjoavat edelleen uusia mahdollisuuksia etenkin lääkekäytössä hyvien farmakologisten ominaisuuksien vuoksi.

Avainsanat: Vasta-aine, allosteria, säätely, lääkeaine

Sisällysluettelo

1	Johdanto	4
2	Allosteeristen vasta-aineiden peruseriaatteen	5
2.1	Allosteria	5
2.2	Vasta-aineet	6
2.2.1	Fragmentoidut vasta-aineet	8
3	Allosteeristen vasta-aineiden suunnittelu ja tuottaminen	9
3.1	Suunnittelu ja sen haasteet	9
3.1.1	Allosteeriseen vasta-aineen suunnittelu	9
3.1.2	Faaginäyttökiteknikka	11
4	Allosteeristen vasta-aineiden toimintamekanismit	12
4.1	Terapeuttisia allosteerisia vasta-aineita ja niiden toimintamekanismeja	12
4.1.1	Muronomabi-CD3 (OKT3) elinsiirteen hylkimisenestossa	12
4.1.2	Trastuzumabi -HER2 toiminnan estäjä	13
4.1.3	Ciplakitsumabi ja tromboottinen trombosytopeninen purppura	15
4.1.4	Sotrovimabi koronaviruksen estossa	16
4.1.5	Gevokitsumabi autoimmunisuuden ehkäisemisessä	18
4.1.6	G-proteiinikytkettyihin reseptoreihin (GPCR) vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet	18
4.1.7	Ligandiohjattuihin ionikanaviin vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet	19
4.1.8	Norovirukseen vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet	20
4.1.9	Stafylokokki enterotoksiini B (SEB) -patogeeniin vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet	20
4.2	Allosteeristen vasta-aineiden muut bioteknologiset käyttökohteet	21
5	Tulevaisuuden mahdollisuudet	22
	Lähteet	23

1 Johdanto

Allosteeriset vuorovaikutukset ovat elintärkeissä rooleissa aineenvaihdunta- ja signaalointiprosesseissa. Ne ovat useiden farmakologisten tutkimusten keskiössä, sillä allosteeristen säätelymekanismien avulla voidaan löytää kohdespesifisempiä lääkemolekyylejä. Aikaisemmin allosteriaa tutkittiin klassisesti entsyymien ominaisuutena, mutta nykyään kaikille reseptorisuperperheille löytyy allosteerisen säätelijän esimerkki, kuten jänniteohjatuille ionikanaville, G-proteiinikytketyille reseptoreille (GPCR) ja tyrosiinikinaasireseptoreille. (Christopoulos ja muut 2014.)

Vasta-aineet allosteerisina säätelijöinä eivät ole uusi ilmiö, vaan ensimmäinen terapeuttiseen käyttöön sallittu monoklonaalinen vasta-aine, muromomabi-CD3 (OKT3), paljastui allosteeriseksi säätelijäksi (Kjer-Nielsen ja muut 2004). Vasta-aineita on siis hyödynnetty ja edelleen hyödynnetään tärkeinä työkaluina sairauksien hoidossa. Niitä käytetään myös diagnostiikan ja tutkimuksen reagensseina, kuten analyyseissä ja purifikaatioissa kuin myös fysiologisten vasteiden välittämisessä ja modulaatiossa. (Lipman ja muut 2005.)

Allosteerisia vasta-aineita on kehitetty runsaasti lääkekäyttöön etenkin niiden vähäisten off-target-vaikutusten vuoksi. Ne ovat spesifisempiä klassisiin vasta-aineisiin verrattuna, sillä allosteeriset säätelykohdat ovat vähemmän konservoituneita niiden ortosteerisiin kohtiin verrattuna.

2 Allosteeristen vasta-aineiden perusperiaatteet

2.1 Allosteria

Allosteria on yleinen ja voimakas proteiiniaktiivisuuden säätelytapa (Panjkovich ja Daura 2012). Se indusoi proteiinien rakenteellisia muutoksia sitoutumalla kohtiin, jotka eivät sijaitse proteiinin aktiivisessa kohdassa. Toisin sanoen allosteerinen säätelijä sitoutuu kohdeproteiinin epitooppeihin, joilla ei ole päällekkäisyyttä ortosteerisen ligandin kohdan kanssa. (Fournier ja muut 2025) Allosteerisen säätelyn kriteeri siis on, että allosteeriseen kohtaan sitoutuvan molekyylin tulee vaikuttaa ortosteerisen ligandin sitoutumiseen konformaationaalisesti sitoutumatta kuitenkaan ortosteeriseen kohtaan tai estämällä sen sitoutumisen steerisesti. (Christopoulos ja muut 2014.) Sitoutuminen saa aikaan energeettisiä muutoksia proteiinissa johtaen sen rakenteen ja siten toiminnan muuttumiseen (Liu ja Nussinov 2017).

Allosteerinen säätely voidaan jakaa sitoutumista seuraavan vaikutuksen perusteella positiivisiin allosteerisiin säätelijöihin (PAM) ja negatiivisiin allosteerisiin säätelijöihin (NAM). Positiivisen allosteerisen säätelijän sitoutuminen saa aikaan sellaisen muutoksen ortosteerisessa kohdassa, että sen ligandin on helpompi sitoutua. Negatiivisen allosteerisen säätelijän sitoutuminen puolestaan saa aikaan sen, että ortosteeriseen kohtaan on vaikeampi sitoutua. Eli allosteerisen säätelijän tyyppin mukaan seurauksena voi olla proteiinin aktiivisuuden lisääntyminen tai väheneminen. (Abdel-Magid 2015.)

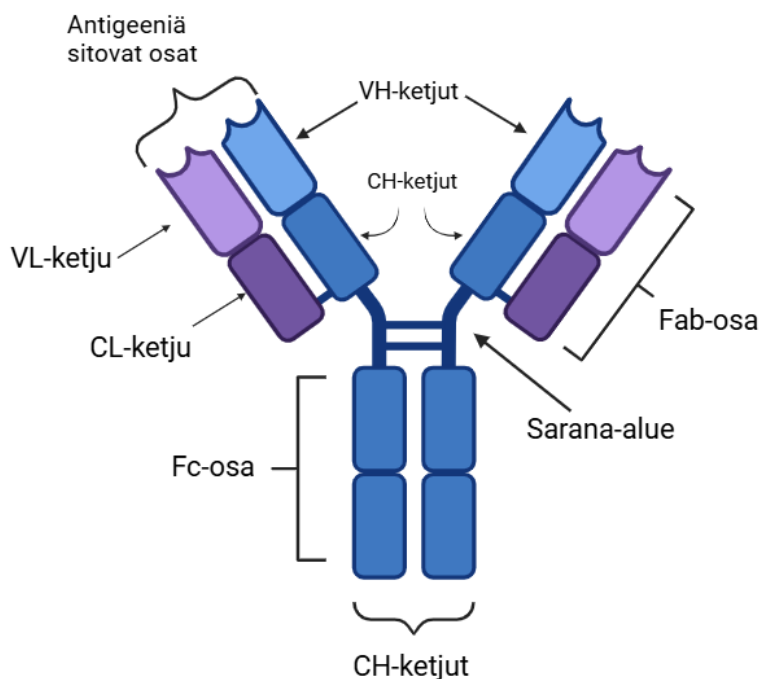
Kuten muutoinkin allosteriassa, niin myös allosteeristen vasta-aineiden toiminnot jaotellaan samoin perustein. Jos vasta-aine on positiivinen säätelijä, kutsutaan sitä silloin positiiviseksi allosteeriseksi vasta-aine modulaattoriksi (PAAM). Tällöin se stabiloi konformaatioita, jotka edistävät ortosteerisen ligandin sitoutumista tai muutoin edistää proteiinin aktiivisuuden lisääntymistä. Negatiivista säätelijää kutsutaan negatiiviseksi allosteeriseksi vasta-aine modulaattoriksi (NAAM). Tällöin sen aikaansaama vaste stabiloi proteiinissa rakennetta, jossa se sitoo ortosteerista ligandiaan heikommin ja näin vähentää proteiinin aktiivisuutta. (Fournier ja muut 2025)

Lääkeaineiden kehittämisessä allosteria tarjoaa mahdollisuuksia vaikuttaa kohteisiin, joiden aktiivisia kohtia vastaavia lääkeainemolekyylejä on vaikea tuottaa. Allosteeristen säätelijöiden käytön etuna on myös se, että allosteeriset kohdat eivät ole niin konservoituneita kuin aktiiviset kohdat, minkä vuoksi allosteeriset säätelijät voivat aiheuttaa vähemmän haittavaikutuksia. Toisin sanoen allosteeriset säätelijät ovat selektiivisempiä, kuin konservoituneihin rakenteisiin sitoutuvat ligandit. (Tee ja muut 2024.) Allosteeriset ligandit voivat siis kohdistua reseptorien alaluokkiin spesifisemmin, sillä alaluokan määrittävät aminohapposekvenssit vaihtelevat enemmän reseptorien alaluokkien välillä verrattuna niiden ortosteeristen kohtien aminohapposekvensseihin (Christopoulos ja muut 2014).

2.2 Vasta-aineet

Vasta-aineet ovat globuliinien proteiiniperheeseen kuuluvia proteiineja, joita kutsutaan immunoglobuliineiksi. Vasta-aineita esiintyy ainoastaan selkärangkaisilla veressä ja muissa eritteissä. Ne ovat humoraalisen, eli vasta-ainevälitteisen, immuunipuolustuksen erikoistuneiden B-lymfosyyttien, eli plasmasolujen, tuottamia glykoproteiineja, joilla on voimakas antigeenispesifisyys. Niiden tehtävänä on normaalisti tunnistaa elimistölle vieraita ja potentiaalisesti vaarallisia rakenteita, eli antigeenejä, joita ne pystyvät erottamaan jopa yhden aminohappotähteen perusteella. Tunnistettuaan antigeenin vasta-aineet saavat aikaan vasteita, kuten esimerkiksi klassisen komplementtijärjestelmän aktivaation tai fagosytoosin (Lipman ja muut 2005).

Tyypillinen vasta-aine on Y-kirjaimen muotoinen proteiini, joka koostuu kahdesta antigeeniä sitovasta Fab-alueesta (fragment antigen-binding) ja yhdestä Fc-alueesta (fragment crystallizable region). Fab-alueet muodostavat Y:n käsivarret ja sitoutuvat antigeenin epitoppeihin. Antigeenin sitoutuminen tapahtuu Fab-alueiden kärjissä sijaitsevilla CDR-alueilla (complementarity-determining regions), jotka ovat muuttuvia, lenkkimäisiä rakenteita proteiinin N-terminaalissa. Näitä muuttuvia osia kutsutaan Fv-alueiksi (fragment variable). Fc-alue sijaitsee C-terminaalissa, määrittää vasta-aineen alaluokan ja osallistuu immuunivasteen efektoritoimintoihin. Fab- ja Fc-alueet yhdistyvät sarana-alueen kautta, joka mahdollistaa käsivarsien joustavan liikkeen. (Lipman ja muut 2005.)



Kuva 1. Klassisen vasta-aineen pöarakenteet. (Biorender.com)

Nisökköiden vasta-aineet jaotellaan viiteen eri pöäluokkaan IgG, IgM, IgA, IgD, ja IgE, kun esimerkiksi linnuilla pöäluokkia on kolme: IgY, IgM ja IgA (Lipman ja muut 2005). Pöäluokka määrytyy sen mukaan, minkälainen vasta-aineen fc-osa on. Fc-osa vastaa siitä, mihin muihin kehon omiin solujen solukalvorakenteisiin vasta-aine voi sitoutua ja näin saada aikaan erilaisia vasteita soluissa. Eri pöäluokkien vasta-aineet esiintyvötkin eri kudoksissa, kuten IgG veressä ja IgA limakalvoille eritettyinä.

Pöäluokat voidaan edelleen jakaa alaluokkiin, kuten IgG1, IgG2 ja IgG3. Alaluokkien rakenteet ovat hyvin konservoituneita, mutta eroavat etenkin sarana-alueen ja fc-osan CH2-domainin osalta. (Vidarsson ja muut 2014.)

Vasta-aineet voidaan luokitella poly- ja monoklonaalisiin. Polyklonaaliset vasta-aineet ovat vasta-aineita, jotka on tuotettu eri plasmasolujen toimesta, ja ne edustavat kattavaa kuvaa niiden isöntörganismin kohtaamien antigeenien kirjosta. Monoklonaaliset vasta-aineet ovat puolestaan tuotettu yhden plasmasolun toimesta ja ne kaikki omaavat samanlaisen paratoopin. Polyklonaalisia vasta-aineita tuotetaankin yleensä selkärankaisessa nisökköössö, kun taas monoklonaalisia tuotetaan hybridoomasoluilla. (Lipman ja muut 2005)

2.2.1 Fragmentoidut vasta-aineet

Vasta-aineiden tutkimus- ja terapiakäytössä hyödynnetään fragmentoituja vasta-aineita. Fragmentoiduilla vasta-aineilla on useita etuja verrattuna kokonaisen vasta-aineen käyttöön, kuten parempi liukoisuus, pienempi koko, stabiilius ja matalammat tuotantokustannukset. Käyttö perustuu siihen, että vasta-aineen affiniteetti on pelkästään riippuvainen fab-domainista ja sen CDR-alueista. Proteiini- ja rekombinantti-DNA teknologian avulla fragmentoituja vasta-aineita on kehitetty useita, kuten fab, scFv, diabodit ja nanobodit. Suosituimpia näistä ovat scFv-vasta-aineet (single-chain variable fragments) ja kameliperäiset raskasketjun variaabelidomainit VHH (heavy-chain variable domains), joita kutsutaan nanobodeiksi. Aikaisemmin pienimpänä mahdollisena pidetty scFv-vasta-ainefragmentti koostuu konventionaalisen vasta-aineen kevyt- ja raskasketjun variaabelidomaineista, jotka on liitetty toisiinsa taipuisalla linkkerillä. Linkkeri koostuu glutamiini- ja lysiinipätkistä, mikä lisää liukoisuutta sekä glysiini- ja seriinipätkistä, jotka lisäävät taipuisuutta. Kevyt- ja raskasketjun päissä on niille ominaiset spesifisestä sitoutumisesta ja affiniteetista vastaavat kuusi CDR-aluetta. Nanobodien olemassaolo perustuu kameleilla esiintyviin HCAb:n (heavy-chain only antibodies), eli vasta-aineisiin, jotka koostuvat ainoastaan raskasketjuista. Raskasketjun päädyissä on konventionaalisten vasta-aineiden tapaan fab-osat, joissa on edelleen CDR-alueet. Nanobodeissa on siis vain kolme CDR-aluetta. Tämän puutteen nanobodit korvaavat suuremmilla CDR-alueilla. Toisin kuin normaalit fysiologiset vasta-aineet, fragmentoidut vasta-aineet eivät kykene aiheuttamaan efektorifunktioita toisissa soluissa ilman käsittelyä, sillä niistä puuttuvat efektorivasteista vastuussa olevat fc-osat. Niihin voidaan kuitenkin lisätä fc-osia tarvittaessa, jolloin efektorifunktiotkin ovat mahdollisia. (Asaadi ja muut 2021.)

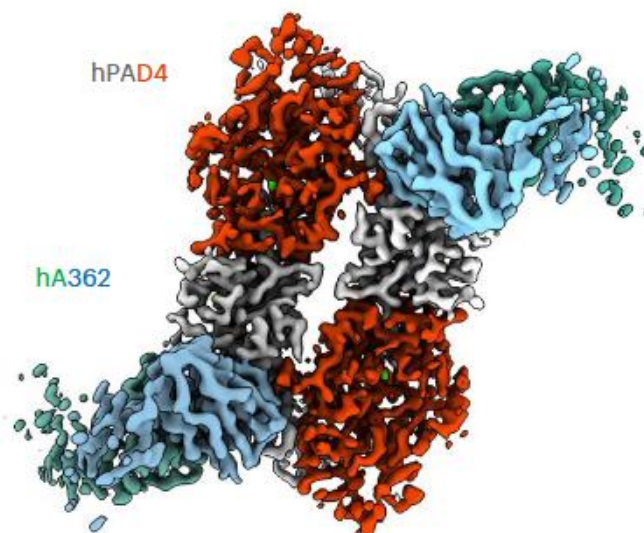
ScFv-fragmentit ja nanobodit ovat rakenteeltaan erilaisia, mikä heijastuu myös niiden ominaisuuksiin. Esimerkiksi nanobodit ovat puolet scFv-fragmentteja pienempiä, mikä johtaa niiden erilaiseen kudosläpäisevyyteen, ja niiden kolme CDR-osaa mahdollistaa helpomman muokkauksen antigeenispesifisyyteen. ScFv-fragmenttien haittapuolena on niiden suurempi immunogeenisyys verrattuna nanobodeihin. Toisaalta samankaltaisesta affiniteetin suuruudesta huolimatta ne sitoutuvat eri muotoisiin epitooppiin mikä voi määrittää sen kumpia halutaan käyttää missäkin tilanteessa. (Asaadi ja muut 2021.)

3 Allosteeristen vasta-aineiden suunnittelu ja tuottaminen

3.1 Suunnittelu ja sen haasteet

3.1.1 Allosteeriseen vasta-aineen suunnittelu

Allosteerisen vasta-aineen suunnittelu aloitetaan sen kohteena olevasta proteiinista. Arginiini deiminaasi 4:n allosteerisen säätelijän suunnittelussa hyödynnettiin itse kohdeproteiinia natiivissa konformaatioissa, joka immobilisoitiin, minkä jälkeen sille tehtiin laaja vasta-ainekirjasto faaginäyttökoneella. Faaginäyttökoneesta seuloitut vasta-aineet olivat sellaisia, joilla oli voimakas affiniteetti kohdeproteiinia kohtaan. Seuraavassa vaiheessa vasta-aineet seuloitiin sen mukaan, miten vaikuttivat kohdeproteiinin aktiivisuuteen. Valikoituneiden vasta-aineiden allosteerisuudesta varmistuttiin lopuksi kryogeenisellä elektronimikroskoopilla (cryo-EM), jonka avulla saatiin selville, oliko vasta-aine sitoutuneena kohdeproteiinin ortosteeriseen vai allosteeriseen kohtaan. (Zhou ja muut 2024.)



Kuva 2. Ihmisen arginiini deaminaasi 4 (hPAD4) ja kaksi allosteerista vasta-ainetta (hA362) positiivisina säätelijöinä. Arginiini deaminaasi 4 on aktiivinen homodimeerinä, jolloin kahden monomeerin tulee yhdistyä toisiinsa, jotta se voi katalysoida arginiinin muuttamista ornitiiniksi. Kuvassa allosteeriset vasta-aineet edistävät monomeerien tarttumista toisiinsa ja näin sen aktiivisuutta. (Muokattu Zhou ja muut 2024 artikkelin kuvasta 3).

Allosteeristen vasta-aineiden suunnittelu on haastavaa, sillä perinteiset tavat allosteeristen säätelykohtien löytämiselle on tarkoitettu pienille molekyyileille. Tähän tarkoitukseen on olemassa useita laskennallisia metodeja, kuten molekyylidynamiikkasimulaatiot (MD) ja koneoppiminen (ML). Pienten molekyylien allosteeriselle säätelylle on ominaista, että ne sitoutuvat proteiinien taskuihin, mikä ei ole allosteeristen vasta-aineiden toimintatapa. Allosteeristen vasta-aineiden säätelytapa perustuu proteiinien välisiin interaktioihin. Tämän vuoksi allosteeristen vasta-aineiden suunnittelussa hyödynnetään teoreettista ymmärrystä siitä, kuinka evolutiivisesti konservoituneita allosteeriset säätelymekanismit ovat riippumatta niiden rakenteen ja sekvenssin vaihtelusta. (Fournier ja muut 2025.) Proteiinien allosteeriset säätelykohdat vaikuttavat olevan voimakkaasti konservoituneita ja sidoksissa erilaisiin laskotusmistapoihin, kuten esimerkiksi β -tynnyreihin (Tee ja muut 2022).

Kuten aiemmin on mainittu, niin allosteerinen vasta-aine on samalla monoklonaalinen vasta-aine. Tällöin sen suunnitteluun kuuluvat samat peruseriaatteet, kuin ortosteeristen vasta-aineiden suunnitteluun. Vasta-aineiden suunnittelun haasteena on, että ne tulee optimoida käyttötarkoitukseensa, joten sen suunnittelussa tulee ottaa huomioon useita eri ominaisuuksia, kuten liukoisuus, stabiliteetti, spesifisyys ja affiniteetti. Riippuen halutusta vasteesta voi olla, että vasta-aineesta halutaan esimerkiksi bispesifinen tai että se suorittaa jonkin tietyn efektorifunktion. Nämä tekijät monimutkaistavat vasta-aineiden suunnittelua ja jonkin ominaisuuden optimointi saattaa heikentää toista haluttua ominaisuutta. Vasta-aineiden CDR-osien suunnitteluun on kehitetty laskennallisia menetelmiä, kuten OptCDR, joka suunnittelee vasta-aineen CDR-osat vastaamaan tarkasti kohdeproteiinin epitooppia. Toinen tapa on matkia luonnollisia proteiinien interaktioita ja suunnitella CDR-alueet vastaamaan interaktioivia aminohapposekvenssejä. (Tiller ja Tessier 2015.)

3.1.2 Faaginäyttökniikka

Faaginäyttökniikka hyödynnetään allosteeristen vasta-aineiden määrittämisessä selvityksen alkuvaiheessa, kun halutaan erottaa vasta-aineet, jotka ovat spesifisiä kohdeproteiinille. Se perustuu bakteriofaagin fenotyypin ja sen kapseloituneen genotyypin linkittymiseen siten, että faagi esittelee molekyylikirjastoa pinnallaan. Faaginäyttökniikkaa hyödynnetään proteiinien interaktioiden, reseptorien sitoutumiskohtien ja proteiinimolekyylien tutkimuksessa. Se onkin yksi parhaista menetelmistä tuottaa suuria määriä haluttuja vasta-aineita. Peruseriaatteena faagin kapsidia koodaavaan geeniin liitetään haluttua vasta-ainetta tuottava geeni siten, ettei kapsidin toiminnallisuus häiriinny. Halutun vasta-aineen ekspressiota faagin pinnalla seuraa biopannaukseksi kutsuttu vaihe, missä toistetuin syklein inkuboidaan faageja siten, että ne sitoutuvat mikrotiiterilevyyn kiinnitettyihin antigeneihin, joita seuraavat peseminen ja amplifikaatio. Pesuissa irtoavat ne faagit, jotka eivät ekspressoi ollenkaan tai riittävästi kohteeseen sitoutuvaa vasta-ainetta kapsidissaan. Amplifikaatiossa inkubaatiossa kiinnittyneet faagit laitetaan lisääntymään isäntäorganismiin, eli bakteeriin, jonka jälkeen vaiheet toistetaan, kunnes saadaan tyydyttäviä vasta-aineita. (Bazan ja muut 2012.)

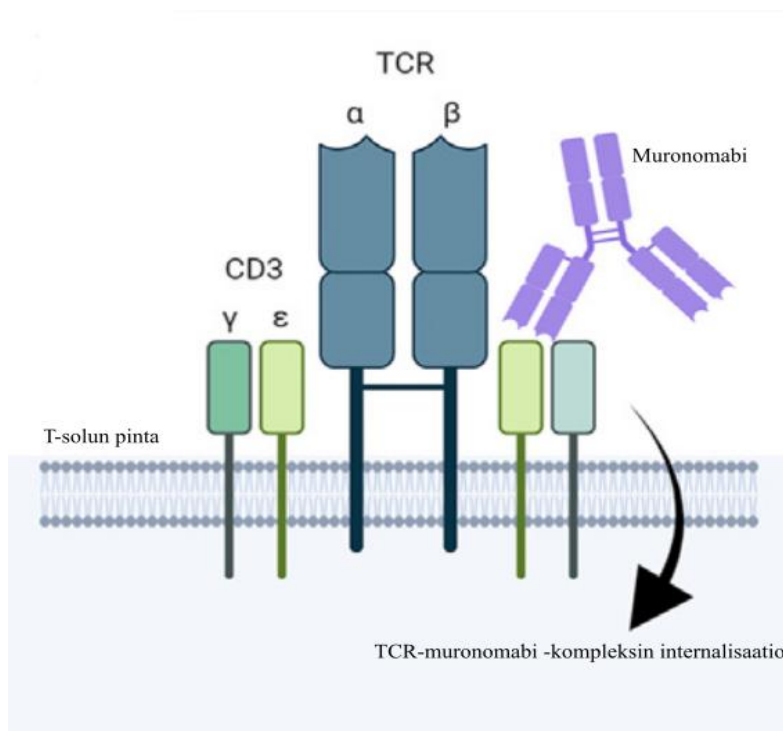
4 Allosteeristen vasta-aineiden toimintamekanismit

Allosteeristen vasta-aineiden toimintamekanismit riippuvat siitä, millaisessa tarkoituksessa niitä käytetään. Niitä voidaan hyödyntää niin positiivisessa modulaatiossa kuin negatiivisessakin. On myös mahdollista käyttää niitä toisin, kuten esimerkiksi estämällä jonkin proteiinin sitoutumisen toiseen proteiiniin tai aiheuttamalla reseptori-proteiinikompleksin takaisinoton sisälle soluun solukalvolta, mitä voidaan hyödyntää esimerkiksi jonkin aineen solun sisälle saattamisessa vasta-aineeseen sitoutuneena.

4.1 Terapeuttisia allosteerisia vasta-aineita ja niiden toimintamekanismeja

4.1.1 Muronomabi-CD3 (OKT3) elinsiirteen hylkimisenestossa

Jo tutkielmassa aikaisemmin mainittu ensimmäinen terapeuttiseen käyttöön sallittu monoklonaalinen vasta-aine muronomabi CD3 sai käyttöluvan jo 1986. Se on IgG_{2a} -immunoglobuliini, joka tuotettiin hybridoomatekniikalla hiirten soluissa. (Kuhn ja Weiner 2016) Käytännössä se estää kaikki T-solufunktiot, mukaan lukien induktiiviset ja efektoriset vasteet. (Todd ja Brogden 1989) Se kohdistuu T-lymfosyytin T-solureseptorien (TCR) apureseptori CD3:n epsilon-alayksikköön. Vasta-aineen sitoutuminen apureseptoriin johtaa koko vasta-aine-T-solureseptorikompleksin internalisaatioon, eli se otetaan takaisin sisälle soluun, mikä estää TCR:n toiminnan. TCR on tärkeässä roolissa antigeenien tunnistuksessa T-soluvälitteisissä immuunivasteissa. Kuitenkin niiden vääränlainen toiminta saattaa johtaa autoimmuunisuuteen sytotoksisten toimintojen kautta, joita internalisaatio estää. Muronomabi-CD3:sta käytettiin hylkimisenestolääkkeenä elinsiirtojen yhteydessä. (Fournier ja muut 2025) Sitä pystyttiin käyttämään munais-, maksa- ja sydänsiirteiden akuuttien hylkimisreaktioiden hoitamiseen sekä profylaktisena hoitona munais- ja sydänsiirteiden hylkimisreaktioille. Kuitenkin muronomabi CD3:a on seurannut useita haittavaikutuksia, etenkin ensimmäisten annosten yhteydessä. Vakavimpia näistä ovat aseptinen meningiitti sekä keuhkoödeema. (Todd ja Brogden 1989) Muronomabi CD3:n voimakas immunogeenisyys on perua sen hiiriperäisyydestä, sillä ihmisen immuunijärjestelmä muodostaa vasta-aineita hiiriperäisille vasta-aineille. Se myös aktivoi T-solujen proliferaatiota sekä saa kehon tuottamaan runsaasti sytokiineja, eli tulehdusvälittäjäaineita. (Kuhn ja Weiner 2016)

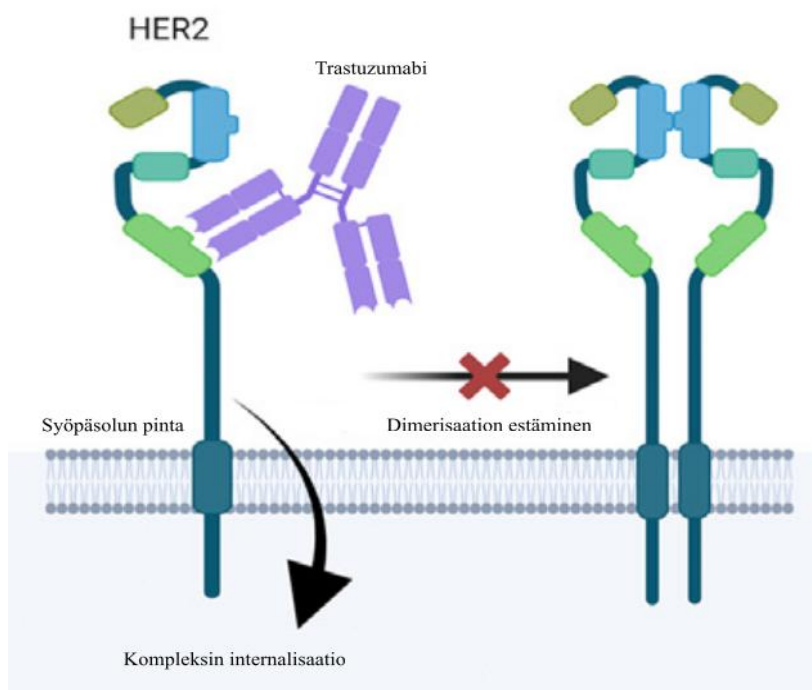


Kuva 3. Muronomabi-CD3 sitoutuneena T-solureseptorin apureseptori CD3:n epsilon alayksikköön johtaen koko kompleksin internalisaatioon. (Muokattu Fournier ja muut 2025 artikkelin kuvasta 1A)

4.1.2 Trastuzumabi -HER2 toiminnan estäjä

Trastuzumabi vaikuttaa useissa eri soluissa esiintyvään reseptoriin HER2 (human epidermal growth factor receptor 2). HER2 on tyrosiinikinaasireseptori, jota syöpäsolut yliekspressoivat, mikä johtaa syöpäsolujen lisääntyneeseen kasvuun ja kehittymiseen. Tyrosiinikinaasireseptorien toiminta perustuu niiden dimerisoitumiseen, mikä aktivoi tyrosiinikinaasireseptorin kinaasiaktiivisuuden, mikä puolestaan johtaa signaaliin solun sisälle. Trastuzumabi siis inhiboi kyseisen signalointireitin. Trastuzumabi sitoutuu HER2:n IV-domeeniin, mikä estää HER2:n dimerisoitumisen. Allosterisen vasta-aineen sitoutuminen indusoi myös HER2- ja trastuzumabin muodostaman kompleksin internalisaatiota. Trastuzumabia hyödynnetään myös toisella tavalla sen aiheuttaman internalisaation vuoksi. Vasta-aineisiin voidaan liittää lääkeaineita, jolloin syntyy vasta-aine-lääke-konjugaatteja (ADC). Internalisaation johdosta lääkeaine päätyy kompleksin mukana kohdesoluun ja saa siellä aikaan vasteen. Syöpäsolujen kohdalla lääkeaine on sytotoksinen ja internalisaatio saa aikaan syöpäsolun tuhoutumisen. (Fournier ja muut 2025) Trastuzumabilla on myös HER2-ektodomeenien pilkkoutumisesta syntyvien fosforyloitujen p95-proteiinien toimintaa estävä

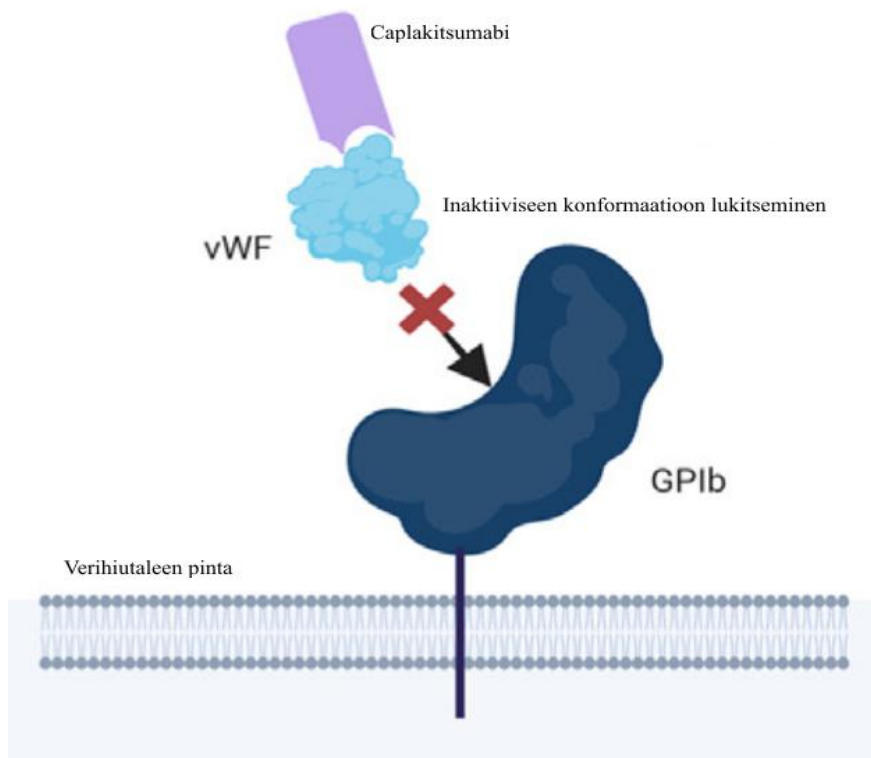
vaikutus inhiboimalla niiden toimintaa. p95-proteiini on proteiini, joka voi edistää syövän kasvua ja kehitystä lisäämällä syöpäsolun signaalia. Se myös inhiboi syöpäsolujen solusyklin etenemistä edistämällä p27^{Kip1}/Cdk2-kompleksien muodostumista ja indusoi vastaineriippuvaisia soluvälitteisiä sytotoksisia reaktioita, mitkä tuhoavat syöpäsoluja. Trastuzumabi voi myös mahdollisesti estää angiogeneesiä ja metastasointia. (Molina ja muut 2001.)



Kuva 4. Trastuzumabin sitoutuminen HER2-reseptoriin johtaa kompleksin internalisaatioon sekä estäen HER2-monomeerien dimerisoitumisen ja näin estäen signaalia. (Muokattu Fournier ja muut 2025 artikkelin kuvasta 1B)

4.1.3 Caplakitsumabi ja tromboottinen trombosytopeeninen purppura

Caplakitsumabi perustuu kamelieläimistä löydettyihin nanobodeihin ja onkin ensimmäinen lajiaan terapeuttisessa käytössä. Se on bivalentti, eli kahdesta samanlaisesta nanobodista koostuva, nanobodi, jotka ovat yhdistetty toisiinsa kolmesta alaniinista muodostetulla linkkerillä. Bivalenttisuus lisää sen aviditeettia tuhatkertaiseksi monovalenttiseen versioon verrattuna. Sen etuina ovat myös pieni koko, mikä mahdollistaa hyvän kudosläpäisevyyden sekä sen stabiliteetti. Sitä voidaan myös tuottaa edullisesti bakteeriekspressiosysteemeissä. Von Willebrandin tekijät ovat glykoproteiineja, jotka säätelevät verisuonen seinämän kollageenin ja verihiutaleen vuorovaikutusta sekä kantavat tekijä VIII, mitkä ovat tärkeitä tekijöitä hemostaasissa, eli veren hyytymisprosessissa. Caplakitsumabi sitoutuu tarkemmin von Willebrandin tekijöiden A1 domeenin alaosaan, eikä aiheuta steeristä estettä sen fysiologiselle toiminnalle. Caplakitsumabia käytetään tromboottisen trombosytopeenisen purppuran (TPP) hoidossa. Perinnöllinen TPP on seurausta ADAMTS13-geenin toimintahäiriöstä, kuten mutaatiosta. ADAMTS13 on metalloproteaasi, jolla on tärkeä tehtävä von Willebrandin tekijöiden pilkkomisessa normaalissa fysiologisessa hyytymisprosessissa. Jos pilkkoutumista ei pääse tapahtumaan, niin seurauksena syntyy ultrasuuria von Willebrandin tekijä -multimeereja, jotka aiheuttavat voimakasta ja liiallista hyytymistä johtaen vaikeaan trombosytopeniaan, kudosten hapenpuutteeseen sekä elintoimintojen häiriöihin. Perinnöllisen TPP:n lisäksi on olemassa myös hankittu TPP. Siinä immuunipuolustus muodostaa autovasta-aineita omia ADAMTS13-metalloproteaaseja vastaan. Aiemmin hankitun TPP:n hoitoon käytettiin immunosuppression ja plasmansiirron yhdistelmähoitoa sekä A1-domeenin antagonistista estoa. Caplakitsumabi toimiikin parhaiten muiden hoitokeinojen yhteydessä vähentäen potilaiden kuolleisuutta huomattavasti. (Lee ja muut 2021.)

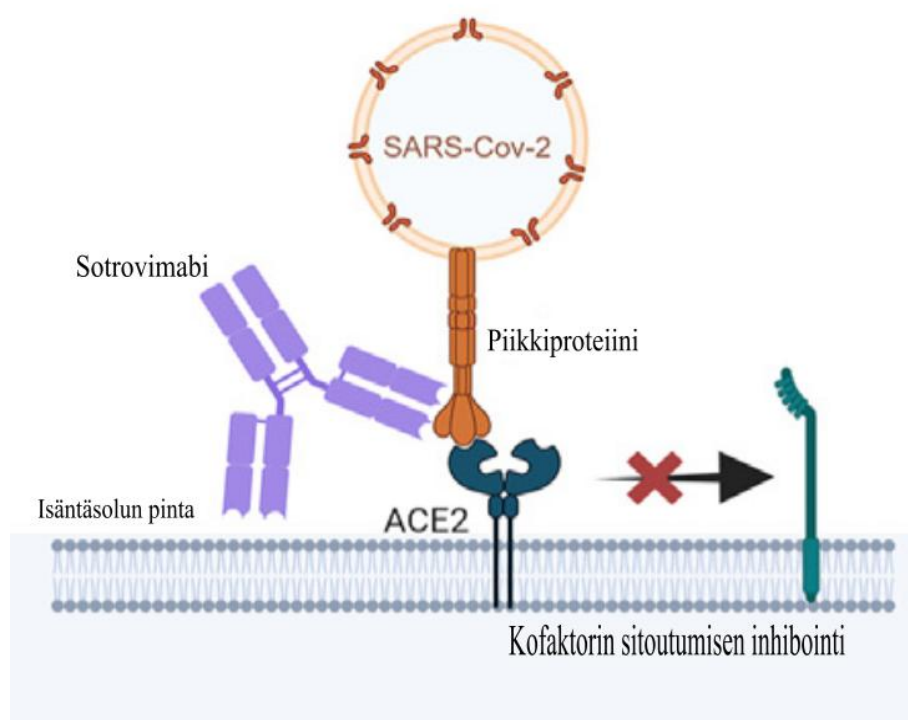


Kuva 5. Caplakitsumabi sitoutuneena von Willebrandin tekijään (vWF) estäen sen sitoutumisen verihiutaleen solukalvon reseptorikompleksin (GPIb) kanssa. (Muokattu Fournier ja muut 2025 artikkelin kuvasta 1E)

4.1.4 Sotrovimabi koronaviruksen estossa

Sotrovimabi syntyi COVID-19 pandemian aikana sen aiheuttaman paineen takia. SARS-CoV-2 on aiheuttanut maailmanlaajuisesti yli 6.1 miljoonaa kuolemaa. Lievätkin infektiot voivat aiheuttaa merkittäviä infektion jälkeisiä terveysongelmia ja johtaa pitkäaikaiseen työkyvyttömyyteen. Vasta-ainepohjaisen lääkkeen kehittäminen useiden eri koronavirusrokotteiden olemassaolon myötä on perusteltu rokotevastaisuuden nousulla sekä uusien varianttien syntymisellä. Sotrovimabi on kaksoistoiminnallinen monoklonaalinen vasta-aine, jonka epitooppina toimii glykaanin sisältävä voimakkaasti konservoitunut S-reseptoria sitova domeeni, mikä ei kilpaile ACE2-reseptorin sitoutumisen kanssa. Infektiota neutraloivan vaikutuksen lisäksi Sotrovimabi saa aikaan immuunipuolustuksen efektorifunktioita sekä välittää vasta-aine-riippuvaista sellulaarista sytotoksista reaktiota (ADCC) sekä vasta-aine-riippuvaista sellulaarista fagosytoosia (ADCP) *in vitro*. Sotrovimabi sitoutuu SARS-CoV-2:n kapsidin piikkiproteiinin distaaliseen osaan sen ortosteeriseen isäntäsolun reseptoria (ACE2) sitovaan osaan verrattuna. Sitoutuminen estää piikkiproteiinin aikaansaaman isäntäsolun

kofaktorin sitoutumisen ACE2-reseptoriin siten, että se estää piikkiproteiinin normaalin toiminnan estämällä kofaktorin sitoutumisen piikkiproteiiniin ja näin estää koronaviruksen pääsemisen soluun estäen infektiota. Molekyylidynaamiset tietokonesimulaatiotutkimukset osoittivat, että Sotrovimabin sitoma epitooppi ei ole mutaatioherkkä, joten lääkettä voidaan käyttää myös SARS-CoV-2-virusvarianteille. (Cathcart ja muut 2021.)



Kuva 6. Sotrovimabin sitoutuminen SARS-COV-2:n piikkiproteiiniin estäen ACE2-reseptorin kofaktorin sitoutumisen. (Muokattu Fournier ja muut 2025 artikkelin kuvasta 1F)

4.1.5 Gevokitsumabi autoimmuunisuuden ehkäisemisessä

Gevokitsumabi on tuore terapeutinen allosteerinen vasta-aine. Tarkemmin se on monoklonaalinen IgG₂ anti-IL-1 β -vasta-aine. Se vaikuttaa tulehdusvälittäjäaine interleukiini-1 β :n (IL-1 β) toimintaan. IL-1 β on IL-1 reseptorityyppi I:n (IL-1RI) ligandi, joka sitoutuessaan saa aikaan IL-1RI:n sitoutumisen koreseptoriinsa IL-1RAcP:n, mikä puolestaan saa aikaan tulehdusvasteen aktivaation solussa geeniekspression muutoksen kautta. Vaihtoehtoisesti IL-1 β voi sitoutua IL-1RII-reseptoriin, joka toimii tietynlaisena hämäysreseptorina. Tällöin primääri signaalivaste jää tapahtumatta, eikä tulehdussignaalivälitysketju käynnisty. Kuitenkin liiallinen IL-1 β -aktiivisuus voi saada aikaan useita erilaisia autoimmuunisairauksia, kuten idiopaattista lastenreumaa, Muckle-Wells syndroomaa, pyogeenista artriittia ja aknea. IL-1 β :n inhibointi onkin tuottanut terapeuttista hyötyä useiden autoimmuunisairauksien hoidossa. Se inhiboi IL-1 β reseptoria allosteerisen mekanismin kautta ja estää tulehdusvälittäjäaineen aikaansaaman signaaliaktivaation. (Issafras ja muut 2014.)

4.1.6 G-proteiinikytkettyihin reseptoreihin (GPCR) vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet

GPCR:t esiintyvät lähes kaikkia elimistössä ja niillä on lukemattomia eri rooleja ja ihmisellä onkin yli 800 GPCR-geeniä. GPCR:n kautta useat ekstrasellulaariset signaalit, kuten fotonit, hormonit, hermovälittäjäaineet ja kasvutekijät saavat aikaan vasteita soluissa. Niiden endogeenisiä säätelijöitä ovat ionit, useat biomolekyylit ja proteiinikomponentit. Kun eksogeeniset signaalimolekyylit ovat vuorovaikutuksessa GPCR:n kanssa on seurauksena muutos GPCR:n konformaatioissa, mikä puolestaan johtaa signaalikaskadiin. Signaalikaskadit saavat aikaan sekä genomisia sekä ei-genomisia vasteita soluissa, jotka säätelevät solun perustavanlaatuisia toimintoja, kuten kasvua, aineenvaihduntaa ja apoptoosia. (Shpakov 2023.)

Tarkemmin GPCR:n ekstrasellulaarinen aktivaatio johtaa G-proteiinin konformaation muutoksen jälkeen esimerkiksi syklisen adenosini-3,5-monofosfaatin (cAMP) aktivoitumiseen tai proteiinikinaasin fosforyloitumiseen. GPCR-vasta-aineet ovat lupaava lääkekehityksen kohde, sillä monoklonaaliset vasta-aineet tarjoavat etuja muihin pieniin molekyyleihin nähden, kuten parempi spesifisyys ja affiniteetti. Tällä hetkellä markkinoilla on vain kolme vasta-ainetta, joita käytetään GPCR:n modulaatioon eri sairauksissa. (Yang ja muut 2021.)

Esimerkkinä GPCR:n kehitetyistä allosteerisista vasta-aineista ovat nanobodit DN10 ja DN13, jotka toimivat GPCR mGlu2:n positiivisina allosteerisina säätelijöinä. Molemmat sitoutuivat reseptoriin ainoastaan silloin, kun sen ortosteerinen ligandi, agonisti, oli sitoutuneena, eli ne stabiloivat tätä konformaatiota. Näistä vain DN13 sopii allosteerisen säätelijän kriteereihin, sillä DN10:llä on osittaista agonismia. mGlu2 on keskushermostossa esiintyvä GPCR, jolla on rooli hippokampuksen pelon tunteen välittämisessä. Se kuuluu metabotropisten glutamaattireseptoreiden perheeseen. Proteiiniperhe on mielenkiinnon kohteena, sillä niitä säätelemällä voidaan mahdollisesti kehittää hoitokeinoja esimerkiksi neurogeneratiivisiin tai psykiatrisiin sairauksiin, tällä hetkellä antipsykoottien kehittämiseen. (Scholler ja muut 2017.)

4.1.7 Ligandiohjattuihin ionikanaviin vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet

Ligandiohjatut ionikanavat (LGIC) ovat solukalvon läpäiseviä proteiineja, jotka säätelevät ionien sisään- ja ulosvirtausta solusta. Asetyylikoliinireseptori (AChR) on ligandiohjattu ionikanava, josta on karakterisoitu useita allosteerisia pienmolekyylien säätelemiä allosteerisia kohtia, joskaan ei vasta-ainepohjaista. Se on potentiaalinen lääkekohde esimerkiksi muistisairauksien hoidossa. Vuonna 2022 kehitettiin nanobodit C4 ja E3, jotka kohdistuvat nikotiinisen asetyylikoliinireseptorin $\alpha 7$:n ekstrasellulaariseen domeeniin. Näistä E3 on hitaasti assosioituva PAAM, joka edistää asetyylikoliinin sitoutumisesta seuraavaa ionivirtausta. C4 ei vaikuta itse reseptorin toimintaan, mutta estää E3:n sitoutumisen, joten se toimii niin kutsuttuna hiljaisena allosteerisena säätelijänä. Kumpikaan ei kilpaile ortosteeriseen kohtaan sitoutuvan α -bungarotoksiinin kanssa, joten ne ovat allosteerisia säätelijöitä. (Li ja muut 2023.)

4.1.8 Norovirukseen vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet

Norovirus on ihmiselle gastroenteriittiä aiheuttava virus, joka saa aikaan runsasta terveydellistä ja taloudellista haittaa maailmanlaajuisesti. Tästä huolimatta niitä vastaan ei ole saatu kehitettyä rokotetta eikä lääkettä. Tämä on perua niiden nopeasta mutatoitumisesta, mikä johtaa niiden kapsidiproteiinien rakenteiden muuttumiseen. Virukselle ominainen mutatoitumiskohde on sen kapsidiproteiinin spesifisyys histoveriryhmäantigeeneille (HBGA), mikä määrittää sen, kuinka hyvin virus pystyy tarttumaan niitä ekspressoiviin soluihin. Nanobodi M4 kykenee neutraloimaan norovirus GII.4 variantin sitoutumalla kapsidiproteiinin konservoituneeseen epitooppiin etäällä HBGA-sitoutumiskohdasta. Tämä johtaa noroviruksen hajoamiseen ja infektion neutraloitumiseen. (Salmen ja muut 2023.)

4.1.9 Stafylokokki enterotoksiini B (SEB) -patogeeniin vaikuttavat allosteeriset vasta-aineet

Staphylococcus aureus on ihmisen normaaliin ihon mikrobiflooraan kuuluva bakteeri, joka voi tuottaa vaarallista enterotoksiini B:tä. Se on voimakas superantigeeni, joka saa aikaan voimakasta immuunijärjestelmän häiriötä, kun se sitoutuu MHCII-molekyyliin ja T-solureseptoriin (TCR). Se voi myös aktivoida muita immuunisoluja, kuten antigeenijäsentiteleviä soluja (APC), mikä johtaa valtavaan T-solukloonin aktivaatioon, minkä johdosta useiden kemokiinien ja sytokiinien tuotanto lisääntyy merkittävästi. Tätä kutsutaan sytokiinimyrskyksi. Sytokiinimyrsky voi johtaa lopulta monielinvaurioon. Superantigeeniä vastaan on kehitetty monoklonaalinen vasta-aine Hm0487, joka estää SEB:n sitoutumiseen sen kohdesoluihin allosteerisella mekanismilla, jossa se häiritsee kompleksin muodostusta SEB:n, TCR:n ja MHCII:n välillä. (Fan ja muut 2024.)

4.2 Allosteeristen vasta-aineiden muut bioteknologiset käyttökohteet

Vaikka allosteeriset vasta-aineet ovatkin vakuuttaneet tulevaisuuden terapeuttien molekyylien kehityksessä, niin niillä on myös käyttöä myös laajemmassa lääkekehityksen kontekstissa.

Tehoseulonta (HTS) on bioteknologiassa ja lääkekemiassa käytettävä tekniikka, jossa hyödynnetään robotiikkaa, detektoreja ja ohjelmistoja, jotta voitaisiin nopeuttaa lääkekehitysprosessin alkuvaiheita. Se mahdollistaa useiden, jopa satojen tuhansien, molekyylien ja biomolekyylien analyysin. (Mayr ja Bojanic 2009) Esimerkkinä allosteerisiin vasta-aineisiin liittyen ConfoTherapeutics kehitti ConfoBodies -alustan, joka hyödyntää nanobodeja HTS:ssä tukeakseen GPCR:n kohdistuvia pienmolekyyliä siten, että ne joko tukevat aktiivista tai inaktiivista GPCR-konformaatiota. (Laeremans ja muut 2022). Konformaatioiden stabiloimisessa myös Genentechin tieteilijät löysivät allosteerisen vasta-aineen avulla solunsisäisestä KRAS-proteiinista uuden konformaation, joka voisi tulevaisuudessa olla lääkekehityksen kohteena. Ennen tätä uutta konformaatiota kyseinen proteiini nähtiin siten, että sitä kohtaan ei voitaisi kehittää lääkettä. (Weng ja muut 2024.)

Vasta-aineita on jo menneisyydessä käytetty proteiinien konformaatioiden stabiloimiseen kokristallisaatiossa, kun tutkittavaan proteiiniin on ollut sitoutuneena vasta-aineen Fab-osa. Pienemmät vasta-ainefragmentit ovat nykypäivänä tärkeämmässä roolissa, kuten nanobodit. Ne ovat tärkeitä uusien konformaatioiden löytämisessä etenkin kompleksisissa proteiineissa, kuten GPCR:a. Kuten sanottu, allosteeriset vasta-aineet eivät toimi ainoastaan arvokkaina terapeuttisina biomolekyyleinä, vaan myös merkittävänä työkaluina lääkekehityksessä ja proteiinien rakennetutkimuksessa. (Fournier ja muut 2025.)

5 Tulevaisuuden mahdollisuudet

Tulevaisuuden mahdollisuuksiin lukeutuvat uuden sukupolven vasta-aine formaattien suunnittelu. Tällaisia esimerkiksi ovat bispesifiset NK-solu aktivaattorit, jotka kohdistuvat NK-solujen reseptoriin ja tuumoriantigeeniin syöpäsolussa indusoiden ADCC-reaktion johtaen syöpäsolun apoptoosiin. Hajottaja-vasta-aine konjugaatit (DAC) ovat myös uusi formaatti, jotka ovat konjugoituja vasta-aineita, joiden konjugaattina toimii proteolyysiä-kohdistavat kimairat (PROTAC). Kun tämä kompleksi sitoutuu esimerkiksi HER2:n allosteeriseen kohtaan, johtaa tämä HER2:n internalisaatioon, mikä puolestaan johtaa solun tuhoutumiseen PROTAC:n toimesta. Eräs allosteeristen vasta-aineiden toimintamalli perustuu siihen, että ne ovat ehdollisesti aktiivisia. Tämä tarkoittaa sitä, että ympäristön molekyylit ja ominaisuudet vaikuttavat siihen onko vasta-aine aktiivinen. (Fournier ja muut 2025.)

Allosteeriset vasta-aineet taipuvat moneksi ja tulevaisuus näyttää, tuleeko allosteeriset säätelymekanismit olemaan ominaisuuksien vuoksi tärkein tapa vaikuttaa uusilla lääkeaineilla. Myös tekoäly (AI) tuo uuden kulmansa allosteeristen vasta-aineiden käyttöön, kun laskennalliset menetelmät ennustamaan allosteeristen vasta-aineiden epitooppeja kehittyä. Allosteeriset vasta-aineiden käyttömahdollisuudet vaikuttavat olen lähes rajattomat. Niiden toimintamahdollisuudet vaikuttavat olevan sidottu siihen, kuinka tarkasti ja hyvin prosessi, johon niillä halutaan vaikuttaa, on tarkasti selvillä.

Lähteet

- Abdel-Magid, A. F. (2015) Allosteric Modulators: An Emerging Concept in Drug Discovery. *ACS Med Chem Lett* **6**:104–107.
- Asaadi, Y., Jouneghani, F. F., Janani, S. & Rahbarizadeh, F. (2021) A comprehensive comparison between camelid nanobodies and single chain variable fragments. *Biomark Res* **9**:87.
- Bazan, J., Calkosiński, I. & Gamian, A. (2012) Phage display—A powerful technique for immunotherapy: 1. Introduction and potential of therapeutic applications. *Hum Vaccines Immunother* **8**:1817–1828.
- Cathcart, A. L., Havenar-Daughton, C., Lempp, F. A., Ma, D., Schmid, M. A., Agostini, M. L., ... Hebner, C. M. (2021, maaliskuuta 10) The dual function monoclonal antibodies VIR-7831 and VIR-7832 demonstrate potent in vitro and in vivo activity against SARS-CoV-2. *Immunology*.
- Christopoulos, A., Changeux, J.-P., Catterall, W. A., Fabbro, D., Burris, T. P., Cidlowski, J. A., ... Langmead, C. J. (2014) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XC. Multisite Pharmacology: Recommendations for the Nomenclature of Receptor Allosterism and Allosteric Ligands. *Pharmacol Rev* **66**:918–947.
- Fan, H., Zhao, L., Wang, W., Yu, F., Jing, H., Yang, Y., ... Zeng, H. (2024) A highly neutralizing human monoclonal antibody targeting a novel linear epitope on staphylococcal enterotoxin B. *Hum Vaccines Immunother* **20**:2360338.
- Fournier, L., Guarnera, E., Kolmar, H. & Becker, S. (2025) Allosteric antibodies: A novel paradigm in drug discovery. *Trends Pharmacol Sci* **46**:311–323.
- Issafras, H., Corbin, J. A., Goldfine, I. D. & Roell, M. K. (2014) Detailed Mechanistic Analysis of Gevokizumab, an Allosteric Anti-IL-1 β Antibody with Differential Receptor-Modulating Properties. *J Pharmacol Exp Ther* **348**:202–215.
- Kjer-Nielsen, L., Dunstone, M. A., Kostenko, L., Ely, L. K., Beddoe, T., Mifsud, N. A., ... Rossjohn, J. (2004) Crystal structure of the human T cell receptor CD3 $\epsilon\gamma$ heterodimer complexed to the therapeutic mAb OKT3. *Proc Natl Acad Sci* **101**:7675–7680.

- Kuhn, C. & Weiner, H. L. (2016) Therapeutic Anti-Cd3 Monoclonal Antibodies: From Bench to Bedside. *Immunotherapy* **8**:889–906.
- Laeremans, T., Sands, Z. A., Claes, P., De Blicke, A., De Cesco, S., Triest, S., ... Menet, C. (2022) Accelerating GPCR Drug Discovery With Conformation-Stabilizing VHHs. *Front Mol Biosci* **9**:863099.
- Lee, H. T., Park, U. B., Jeong, T. J., Gu, N., Lee, S. H., Kim, Y. & Heo, Y.-S. (2021) High-resolution structure of the vWF A1 domain in complex with caplacizumab, the first nanobody-based medicine for treating acquired TTP. *Biochem Biophys Res Commun* **567**:49–55.
- Li, Q., Nemečz, Á., Aymé, G., Dejean De La Bâtie, G., Prevost, M. S., Pons, S., ... Corringier, P.-J. (2023) Generation of nanobodies acting as silent and positive allosteric modulators of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Cell Mol Life Sci* **80**:164.
- Lipman, N. S., Jackson, L. R., Trudel, L. J. & Weis-Garcia, F. (2005) Monoclonal Versus Polyclonal Antibodies: Distinguishing Characteristics, Applications, and Information Resources. *ILAR J* **46**:258–268.
- Liu, J. & Nussinov, R. (2017) Energetic redistribution in allostery to execute protein function. *Proc Natl Acad Sci* **114**:7480–7482.
- Mayr, L. M. & Bojanic, D. (2009) Novel trends in high-throughput screening. *Curr Opin Pharmacol* **9**:580–588.
- Panjkovich, A. & Daura, X. (2012) Exploiting protein flexibility to predict the location of allosteric sites. *BMC Bioinformatics* **13**:273.
- Salmen, W., Hu, L., Bok, M., Chaimongkol, N., Ettayebi, K., Sosnovtsev, S. V., ... Prasad, B. V. V. (2023) A single nanobody neutralizes multiple epochally evolving human noroviruses by modulating capsid plasticity. *Nat Commun* **14**:6516.
- Scholler, P., Nevoltris, D., De Bundel, D., Bossi, S., Moreno-Delgado, D., Rovira, X., ... Pin, J.-P. (2017) Allosteric nanobodies uncover a role of hippocampal mGlu2 receptor homodimers in contextual fear consolidation. *Nat Commun* **8**:1967.
- Shpakov, A. O. (2023) Allosteric Regulation of G-Protein-Coupled Receptors: From Diversity of Molecular Mechanisms to Multiple Allosteric Sites and Their Ligands. *Int J Mol Sci* **24**:6187.

- Tee, W.-V., Lim, S. J. M. & Berezovsky, I. N. (2024) Toward the Design of Allosteric Effectors: Gaining Comprehensive Control of Drug Properties and Actions. *J Med Chem* **67**:17191–17206.
- Tee, W.-V., Tan, Z. W., Guarnera, E. & Berezovsky, I. N. (2022) Conservation and Diversity in Allosteric Fingerprints of Proteins for Evolutionary-inspired Engineering and Design. *J Mol Biol* **434**:167577.
- Tiller, K. E. & Tessier, P. M. (2015) Advances in Antibody Design. *Annu Rev Biomed Eng* **17**:191–216.
- Todd, P. A. & Brogden, R. N. (1989) Muromonab CD3: A Review of its Pharmacology and Therapeutic Potential. *Drugs* **37**:871–899.
- Vidarsson, G., Dekkers, G. & Rispen, T. (2014) IgG Subclasses and Allotypes: From Structure to Effector Functions. *Front Immunol* **5**.
- Weng, C., Faure, A. J., Escobedo, A. & Lehner, B. (2024) The energetic and allosteric landscape for KRAS inhibition. *Nature* **626**:643–652.
- Yang, D., Zhou, Q., Labroska, V., Qin, S., Darbalaei, S., Wu, Y., ... Wang, M.-W. (2021) G protein-coupled receptors: Structure- and function-based drug discovery. *Signal Transduct Target Ther* **6**:7.
- Zhou, X., Kong, S., Maker, A., Remesh, S. G., Leung, K. K., Verba, K. A. & Wells, J. A. (2024) Antibody discovery identifies regulatory mechanisms of protein arginine deiminase 4. *Nat Chem Biol* **20**:742–750.

