

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022年2月17日 (17.02.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/033435 A1**

(51) 国际专利分类号:  
*C07K 16/10* (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)  
*G01N 33/569* (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/111550

(22) 国际申请日: 2021年8月9日 (09.08.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202010797020.1 2020年8月10日 (10.08.2020) CN

(71) 申请人: 和铂医药(苏州)有限公司(HARBOUR BIOMED (SUZHOU) CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。

(72) 发明人: 郭宇(GUO, Yu); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 饶子和(RAO, Zihe); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 刘礼乐(LIU, Lile); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。 郭俊(WU, Jun); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。 张宏恺(ZHANG, Hongkai); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 汪焱焱(WANG, Xiaoxiao); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。 付丹(FU, Dan); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 聂翠(NIE, Cui); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。 缴

鹏(JIAO, Peng); 中国天津市南开区卫津路94号, Tianjin 300071 (CN)。 卢忠华(LU, Zhonghua); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号A3楼202单元, Jiangsu 215000 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所(SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE); 中国上海市小木桥路681号外经大厦21楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: ANTI-CORONAVIRUS ANTIBODY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种抗冠状病毒的抗体及其应用

(57) Abstract: Disclosed are an anti-coronavirus antibody and the use thereof, wherein the coronavirus is a novel coronavirus, and in particular, an antibody that specifically binds to a novel coronavirus S-RBD protein and an antigen-binding fragment thereof are related to. The antibody or antigen-binding fragment thereof comprises a heavy chain variable region and a light chain variable region, and wherein the heavy chain variable region contains HCDR1, HCDR2 and HCDR3, and the light chain variable region contains LCDR1, LCDR2 and LCDR3. The antibody or antigen-binding fragment thereof has a higher binding ability to the novel coronavirus, and has a better neutralization activity (the IC50 values of neutralization activity are all lower than the  $\mu\text{g/mL}$  level), a better mutant virus coverage profile, and diverse binding epitopes.

(57) 摘要: 一种抗冠状病毒的抗体及其应用, 所述冠状病毒为新型冠状病毒, 特别涉及一种特异性结合新型冠状病毒S-RBD蛋白的抗体及其抗原结合片段。所述抗体或其抗原结合片段包括重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含HCDR1、HCDR2和HCDR3, 所述的轻链可变区包含LCDR1、LCDR2和LCDR3。所述抗体或其抗原结合片段与新冠病毒具有较高的结合能力, 且具有较优的中和活性(中和活性的IC50值都低于 $\mu\text{g/mL}$ 级别)、较好的突变病毒覆盖谱, 多样的结合表位。

WO 2022/033435 A1

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

## 一种抗冠状病毒的抗体及其应用

本申请要求申请日为 2020/8/10 的中国专利申请 2020107970201 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

### 技术领域

本发明属于生物医药领域，具体涉及一种抗冠状病毒的抗体及其应用，所述冠状病毒为新型冠状病毒，特别涉及一种特异性结合新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白的抗体及其抗原结合片段。

### 背景技术

新型冠状病毒感染（世界卫生组织正式命名新型冠状病毒引发的疾病为 COVID-19，新型冠状病毒为 SARS-CoV-2）对全球的公共卫生和经济造成了巨大破坏。它快速传播并成为全球大流行病，严重程度是前所未有的。它对全球经济和医疗体系造成了巨大破坏，而且这种影响很可能将持续很长时间。

研究表明，SARS-CoV-2 病毒利用自生的刺针蛋白（S 蛋白）与人细胞膜上的血管紧张素转换酶 II（ACE2）结合，从而侵入并进一步感染目标细胞。SARS-CoV-2 的 S 蛋白由 S1 和 S2 子单元组成，而其用于结合 ACE2 蛋白的结构域（又被称为受体结合结构域，RBD）位于 S1 亚基中（*SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, Hoffmann et al., 2020, Cell 181, 1-10*）。如果能够阻断 S-RBD 结构域与 ACE2 蛋白的相互作用，则很大程度上有可能阻断 SARS-CoV-2 的感染途径，从而进一步阻止病毒的感染。上述研究成果都提示，SARS-CoV-2 的 S-RBD 蛋白很有可能成为新冠治疗的一个重要靶标。

目前，全球都在为快速开发有效治愈新冠感染的方法上付出努力。大量新型或是已经上市的小分子药物的临床试验，疫苗和抗体等大分子药物的临床前到临床开发等，都在全球范围内快速推进。然而，由于新冠病毒的特殊性，至今整个治疗以及预防药物的开发工作仍在等待重大的突破或成功。

正在开发的治疗手段中，小分子药物，例如瑞德西韦、氯喹在某些治疗病例中显示出某些阳性结果，但在随后的临床试验中并未证明有效。此外，这些小分子药物的副作用可能很严重（*Rethinking the role of hydroxychloroquine in the treatment of COVID - 19, Meyerowitz et al., FASEB J. 2020 May;34(5):6027-6037; Hydroxychloroquine and chloroquine:*

*a potential and controversial treatment for COVID-19, Zou et al., Arch Pharm Res. 2020 Aug 1; Remdesivir for the Treatment of COVID-19: A Systematic Review of the Literature, Musa et al., West J Emerg Med. 2020 May 20;21(4):737-741*。

疫苗是最常见的抗病毒感染的治疗方法，已按预期大量感染。这包括传统疫苗和新型疫苗，例如 mRNA 疫苗。大量的患者血液样本为疫苗开发提供了足够的资源，与开发其他新药物相比，估计的疫苗生产时间表相对较快。目前，临床试验中目前报告了数十种疫苗。但是，一些最新研究开始质疑疫苗刺激的中和抗体对 SARS-CoV-2 的耐受性，这可能会严重影响这种治疗的有效性(QX Long et al., *Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections, Nature Medicine 26, 1200–1204 (2020)*)。

另一个选择是抗体药物，它已成为治疗重大疾病（如癌症）的重要力量。通常，抗体药物在特异性，给药频率和毒副作用方面具有明显的优势。尽管抗体药物的开发可能需要很长时间。目前，抗 SARS-CoV-2 抗体的第一轮研发成果大部分集中于从康复患者血液中筛选中和抗体，或从以往冠状病毒（如 2003 年的 SARS 病毒）的中和抗体中筛选与 SARS-CoV-2 有较好的交叉反应的中和抗体。目前以及报道了十几种有治疗前景的中和抗体，其中一些已进入临床阶段（CY Wang et al., *A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection, Nature Communications, 11, 2251 (2020)*; R Shi et al., *A human neutralizing antibody targets the receptor binding site of SARS-CoV-2, Nature, 584, 120–124 (2020)*; D Pinto et al., *Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody, Nature, 583, 290–295 (2020)*; M Yuan et al., *A highly conserved cryptic epitope in the receptor-binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV, Science, 08 May 2020: Vol. 368, Issue 6491, pp. 630-633*)。这些抗体虽然获得快速，但是往往表现出相对较低的靶标亲和力，和相对较弱的中和活性。抗 SARS-CoV-2 抗体的第二波浪潮则大部分使用 SARS-CoV-2 S1 蛋白或 SARS-CoV-2 S-RBD 蛋白作为特抗原进行特异性免疫筛选，获得特异性更好，亲和力更高的抗体。以这种方式产生的抗体需要经历更多更长时间的筛选开发，因此有望具有更好的性能，如更高的结合亲和力，更高的中和活性，更突出的稳定性，以及更优的临床效果等。

## 发明内容

本发明所要解决的技术问题是克服现有技术中缺乏有效地抗冠状病毒的抗体，提供一种抗新型冠状病毒的抗体，特别是特异性结合新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白的抗体及其抗原结合片段。

本发明主要通过以下技术手段解决上述技术问题。

本发明第一方面提供一种抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，所述的轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；其中：

所述 HCDR1 包含如 SEQ ID NO. 1 所示的序列或其变体 1、如 SEQ ID NO. 2 所示的序列或其变体 2、如 SEQ ID NO. 3 所示的序列或其变体 3、如 SEQ ID NO. 9 所示的序列或其变体 7、如 SEQ ID NO. 112、52、28~31 所示的序列构成的群组中的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含选自由如 SEQ ID NO. 4 所示的序列或其变体 4、如 SEQ ID NO. 5 所示的序列或其变体 5、如 SEQ ID NO. 6 所示的序列或其变体 6、如 SEQ ID NO. 8 所示的序列或其变体 8、如 SEQ ID NO. 7、32~34、68 和 189 所示的序列构成的群组中的氨基酸序列，所述 HCDR3 包含选自由 SEQ ID NO. 10 或其变体 10、如 SEQ ID NO. 12 所示的序列或其变体 12、SEQ ID NO. 69、35、73、36、37~42 以及 74 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列；

所述 LCDR1 包含选自由如 SEQ ID NO. 14 所示的序列或其变体 14、如 SEQ ID NO. 15 所示的序列或其变体 15、如 SEQ ID NO. 16 所示的序列或其变体 16、如 SEQ ID NO. 17 所示的序列或其变体 17、如 SEQ ID NO. 18 所示的序列或其变体 18、如 SEQ ID NO. 19 所示的序列或其变体 19 以及如 SEQ ID NO. 43 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含选自由如 SEQ ID NO. 20 所示的氨基酸或其变体 20、如 SEQ ID NO. 21 所示的氨基酸或其变体 21、如 SEQ ID NO. 22 所示的氨基酸或其变体 22、SEQ ID NO. 44~47 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含选自由如 SEQ ID NO. 23 所示的序列或其变体 9、如 SEQ ID NO. 24 所示的序列或其变体 11、如 SEQ ID NO. 25 所示的序列或其变体 25、如 SEQ ID NO. 26 所示的序列或其变体 26、如 SEQ ID NO. 27 所示的序列或其变体 13、SEQ ID NO. 48~50、95、104 以及 101 组成的群组中的氨基酸序列；

所述变体 1 含有突变 F2Y、S5N/T、S6D/Y/E、Y7N/F 以及 G8T 中的一个或多个，所述变体 2 含有突变 T6S 和/或 T10N，所述变体 3 含有突变 E6R、T8D、M9I 以及 H10Y/L/N 中的一个或多个，所述变体 7 含有突变 G6S；

所述变体 4 含有突变 I2L、N6Q、G7D、T9N、S10T/G 以及 F15L 中的一个或多个，所述变体 5 含有突变 T9S 和/或 K16M，所述变体 6 含有突变 V1I、N8Y、K9R/T/Q、F10Y 以及 Q16K 中的一个或多个，所述变体 8 含有突变 V7A 和/或 K16Q；

所述变体 10 含有突变 A1G、D2G、G3T 以及 E5D 中的一个或多个，所述变体 12 含

有突变 D1E、Y7F 以及 M9L 中的一个或多个；

所述变体 14 含有突变 G10S，所述变体 15 含有突变 S3T、E4K、D7S、S8T、Y9S、N11Y、F13Y 以及 H15F 中的一个或多个，所述变体 16 含有突变 T3S 和/或 H10Y、所述变体 17 含有突变 G7D，所述变体 18 含有突变 I6V、W9Y/D 以及 A11N 中的一个或多个，所述变体 19 含有突变 H8Q、N10D 以及 F14Y 中的一个或多个；

所述变体 20 含有突变 Y4H/S，所述变体 21 含有突变 K1A、A2T 以及 K6E/Q 中的一个或多个，所述变体 22 含有突变 S1R/L、T2A 以及 A6E 中的一个或多个，所述变体 9 含有突变 N5T，所述变体 11 含有突变 G3A，所述变体 25 含有突变 T5S 和/或 T7P，所述变体 26 含有突变 S7W，所述变体 13 含有 Q1S、N4T、E5H 以及 G6V/D 中的一个或多个。

在本发明所述的抗体或其抗原结合片段中，较佳地：所述的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 或其变体 3 所示、所述的 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 或其变体 4 所示且所述 HCDR3 如 SEQ ID NO. 12 或其变体 12 所示；

或者，所述的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 或其变体 1 所示、所述的 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 6 或其变体 6 所示且所述的 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38、40、42 或者 74 所示。

在本方面一较佳实施方案中，所述变体 1 的序列如 SEQ ID NO. 51、54、55 或者 108 所示，所述变体 2 的序列如 SEQ ID NO. 11 或者 81 所示，所述变体 3 的序列如 SEQ ID NO. 109、110、111 或者 13 所示，所述变体 7 的序列如 SEQ ID NO. 53 所示，所述变体 4 的序列如 SEQ ID NO. 56~59 以及 SEQ ID NO. 187 中任一所示，所述变体 5 的序列如 SEQ ID NO. 60 所示，所述变体 6 的序列如 SEQ ID NO. 106 或者 61~67 中任一个所示，所述变体 8 的序列如 SEQ ID NO. 107 所示，所述变体 10 的序列如 SEQ ID NO. 70 或者 SEQ ID NO. 186 所示，所述变体 12 的序列如 SEQ ID NO. 71、72 或者 188 所示。

进一步较佳地：

所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 51 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 56 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 69 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 11 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 60 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 112 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 32 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 35 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 9 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 107 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示；

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 2 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 70 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 52 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 33 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 36 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 109 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 71 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 110 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 57 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 12 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 111 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 12 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 58 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 72 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 81 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 53 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 8 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 59 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 69 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 28 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 68 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 37 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 54 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 106 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 29 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 34 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 39 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 6 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 40 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 55 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 61 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 30 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 62 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 13 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序

列如 SEQ ID NO. 7 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 41 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 55 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 63 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 31 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 64 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 108 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 65 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 66 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 67 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 42 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 81 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 186 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 109 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 187 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 188 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 9 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 189 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示；

更佳地，所述的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 113~137 或其变体所示，所述变体与突变前的序列具有至少 90%、至少 95% 或者至少 99% 的序列同一性，同时至少保留突变前序列的功能；所述变体的序列优选 SEQ ID NO. 164~166、SEQ ID NO. 171~179 中任一个所示。

基于如上所述的抗体或其抗原结合片段，较佳地：

所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 或其变体 15 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 或其变体 22 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 27 或其变体 13 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 或其变体 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 或其变体 20 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 23 或其变体 9 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 或其变体 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 21 或其变体 21 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 26 或其变体 26 所示；

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 19 或其变体 19 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 24 或其变体 11 所示。

更具体地, 所述变体 14 的序列优选如 SEQ ID NO. 75 所示, 所述变体 15 的序列优选如 SEQ ID NO. 76 或者 77 所示, 所述变体 16 的序列优选如 SEQ ID NO. 78 或者 79 所示, 所述变体 17 的序列优选如 SEQ ID NO. 80 所示, 所述变体 18 的序列优选如 SEQ ID NO. 82 或者 83 所示, 所述变体 19 的序列优选如 SEQ ID NO. 84~86 中任一个所示, 所述变体 20 的序列优选如 SEQ ID NO. 89 或者 90 所示, 所述变体 21 的序列优选如 SEQ ID NO. 93 或者 94 所示, 所述变体 22 的序列优选如 SEQ ID NO. 87、88 或者 92 所示, 所述变体 9 的序列优选如 SEQ ID NO. 96 所示, 所述变体 11 的序列优选如 SEQ ID NO. 103 所示, 所述变体 25 的序列优选如 SEQ ID NO. 100 所示, 所述变体 26 的序列优选如 SEQ ID NO. 105 所示, 所述变体 13 的序列优选如 SEQ ID NO. 98 或者 99 所示, 较佳地:

所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 14 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 44 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 95 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 87 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 98 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 77 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 88 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 48 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 78 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 25 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 76 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 87 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 27 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 43 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 45 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 99 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 89 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 23 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 90 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 23 所示;

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 16 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 100 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 75 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 44 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 101 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 79 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 92 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 49 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 82 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 93 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 50 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 83 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 46 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 102 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 94 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 26 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 84 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 24 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 85 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 21 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 105 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 86 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 19 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 84 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 104 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 90 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示；

更佳地，所述的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138~157、SEQ ID NO. 91、SEQ ID NO. 97 或其变体所示，所述变体与突变前的序列具有至少 90%、至少 95% 或者至少 99% 的序列同一性，同时至少保留突变前序列的功能；所述变体的序列优选如 SEQ ID NO. 158~163、SEQ ID NO. 167~170 以及 SEQ ID NO. 180~183 中的任一个所示。

在本发明一具体实施方案中，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 113 所示，

且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 114 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 139 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 115 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 140 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 116 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 141 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 117 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 142 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 118 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 143 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 119 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 144 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 120 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 145 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 121 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 146 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 122 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 147 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 123 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 139 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 124 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 148 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 125 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 149 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 126 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 150 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 127 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 151 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 128 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 152 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 129 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 153 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 130 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 154 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 131 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 155 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 132 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 156 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 133 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 154 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 134 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 157 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 135 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 155 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 136 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 91 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 137 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 97 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 174 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 150 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的

氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 179 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 183 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者, 所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示, 且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示。

具体详见下表, 表中数字指的是 SEQ ID NO.。本发明使用 Chothia 编号规则, CDR 区划分则参考 Chothia 和 KABAT 混合规则。

抗体名称	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PR300872	113	138	51	56	69	14	44	95
PR300874	114	139	11	60	10	15	87	98
PR300886	115	140	112	32	35	77	88	48
PR300902	116	141	9	107	73	78	22	25
PR300911	117	142	2	5	70	76	87	27
PR300914	118	143	52	33	36	43	45	99
PR300928	119	144	109	4	71	80	89	96
PR300929	120	145	110	57	12	17	20	23
PR300950	121	146	111	4	12	80	20	96
PR300953	122	147	3	58	72	17	90	23
PR300961	123	139	81	5	10	15	87	98
PR300965	124	148	53	8	73	16	22	100
PR300985	125	149	3	59	69	75	44	101
PR300992	126	150	28	68	37	79	92	49
PR301042	127	151	54	106	38	82	93	50
PR301052	128	152	29	34	39	83	46	102
PR301056	129	153	1	6	40	18	94	26
PR301077	130	154	55	61	74	84	47	24
PR301078	131	155	30	62	74	85	47	103
PR301086	132	156	13	7	41	18	21	105
PR301099	133	154	55	63	74	84	47	24
PR301100	134	157	31	64	74	86	47	103
PR301103	135	155	108	65	74	85	47	103
PR301105	136	91	1	66	74	19	47	103
PR301261	137	97	1	67	42	84	47	104
PR301441	173	169	81	5	10	15	87	98
PR301555	173	168	81	5	10	15	87	98
PR301556	173	167	81	5	10	15	87	98
PR301557	172	169	81	5	10	15	87	98
PR301442	172	168	81	5	10	15	87	98
PR301558	172	167	81	5	10	15	87	98
PR301559	171	169	81	5	186	15	87	98
PR301560	171	168	81	5	186	15	87	98
PR301443	171	167	81	5	186	15	87	98
PR301444	178	182	109	4	71	80	89	96
PR301561	178	181	109	4	71	80	89	96
PR301562	178	180	109	4	71	80	90	96
PR301563	177	182	109	4	71	80	89	96
PR301445	177	181	109	4	71	80	89	96
PR301564	177	180	109	4	71	80	90	96
PR301565	176	182	109	4	71	80	89	96
PR301566	176	181	109	4	71	80	89	96
PR301446	176	180	109	4	71	80	90	96
PR301567	175	182	109	187	188	80	89	96
PR301568	175	181	109	187	188	80	89	96
PR301447	175	180	109	187	188	80	90	96

如上所述的抗体或其抗原结合片段，其可为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、双特异性抗体、多特异性抗体、重链抗体、单域抗体或单区抗体的形式，或为由上述抗体制得的单克隆抗体或多克隆抗体。

当为全长抗体时，其轻链恒定区可包含人源的κ、λ链或其变体，本发明一较佳实施例中所用轻链恒定区的氨基酸序列如序列表中 SEQ ID NO. 184 所示；其重链恒定区可包含人源的 IgG1, 2, 3, 4 或其变体。本发明一较佳实施例中所用重链恒定区的氨基酸序列如序列表中 SEQ ID NO. 185 所示。

另外，本发明所述抗体或其抗原结合片段能够其特异性结合，但不限于新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白。

本发明的第二方面提供了一种分离的核酸，其编码如本发明第一方面所述的抗体或其抗原结合片段。

本发明的第三方面提供了一种包含如本发明第二方面所述的分离的核酸的表达载体。

本发明的第四方面提供了一种宿主细胞，其包含如本发明第三方面所述的表达载体；优选地，所述宿主细胞为原核细胞或真核细胞。

本发明的第五方面提供了一种抗新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白或其抗原结合片段的制备方法，其包含培养如本发明第四方面所述的宿主细胞。

本发明的第六方面提供了一种药物组合物，其包含如本发明第一方面所述的抗体或其抗原结合片段。

本发明的第七方面提供了如本发明第一方面所述的抗体或其抗原结合片段在制备治疗新型冠状病毒相关的疾病的药物中的应用。

本发明的第八方面提供一种嵌合抗原受体，其包含如上所述的抗体或其抗原结合片段。

本发明的第九方面提供一种抗体药物偶联物，其包含细胞毒性剂，以及如上所述的抗体或其抗原结合片段。

本发明的第十方面提供一种试剂盒，其包括如如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的药物组合物、如上所述的嵌合抗原受体和/或如上所述的抗体药物偶联物。

本发明的第十一方面提供一种套装药盒，其包含药盒 A 和药盒 B，其中：

所述药盒 A 含有如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的药物组合物、如上所述的嵌合抗原受体和/或如上所述的抗体药物偶联物；

所述药盒 B 含有其他抗肿瘤抗体或者包含所述其他抗肿瘤抗体的药物组合物，和/或由激素制剂、靶向小分子制剂、蛋白酶体抑制剂、成像剂、诊断剂、化疗剂、溶瘤药物、

细胞毒性剂、细胞因子、共刺激分子的激活剂、抑制性分子的抑制剂以及疫苗组成的群组中的一种或多种。

本发明的第十一方面提供一种诊断、治疗和/或预防冠状病毒介导的疾病或病症的方法，所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的嵌合抗原受体、如上所述的抗体药物偶联物或如上所述的药物组合物，或者使用如上所述的套装药盒治疗有需要的患者。

本发明的第十二方面提供一种免疫检测或者测定冠状病毒的方法，其包括使用如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的嵌合抗原受体、如上所述的抗体药物偶联物或如上所述的药物组合物；优选地，所述检测为非诊断和/或治疗目的的。

本发明的第十三方面提供一种联合疗法，其包括分别向有需要的患者施用如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的嵌合抗原受体、如上所述的抗体药物偶联物或如上所述的药物组合物，和第二治疗剂；所述第二治疗剂较佳地包含其他抗肿瘤抗体或者包含所述其他抗肿瘤抗体的药物组合物，和/或由激素制剂、靶向小分子制剂、蛋白酶体抑制剂、成像剂、诊断剂、化疗剂、溶瘤药物、细胞毒性剂、细胞因子、共刺激分子的激活剂、抑制性分子的抑制剂以及疫苗组成的群组中的一种或多种。

本发明的第十四方面提供一种给药装置，其特征在于，所述给药装置包括如上所述的抗体或其抗原结合片段、如上所述的嵌合抗原受体、如上所述的抗体药物偶联物或如上所述的药物组合物；

优选地，所述给药装置还包括将所述抗体或其抗原结合片段、所述嵌合抗原受体、所述抗体药物偶联物或者所述药物组合物施用于受试者的部件，例如注射器或输液装置。

此处需要说明的是：本发明中所述“变体 1”、“变体 2”以及“变体 3”等中的数字本身并无特殊含义，仅为区分相同术语。

在符合本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：

本发明的抗体或其抗原结合片段与新冠病毒具有较高的结合能力，且具有较优的中和活性（中和活性的 IC50 值都低于  $\mu\text{g/mL}$  级别）、较好的突变病毒覆盖谱，多样的结合表位。此外，本发明抗体或其抗原结合片段具有更优的对于新冠 S 蛋白与人 ACE2 蛋白的阻断效果，以及较优的稳定性与成药性。

## 附图说明

图 1 显示了人源化抗体的中和活性。

图 2 显示了鼠源抗体的中和活性。

图 3 显示了 PR300902VH 和 VL 的变体与原始序列的比对。

图 4 显示了 PR300928VH 和 VL 的变体与原始序列的比对。

图 5 显示了 PR300961VH 和 VL 的变体与原始序列的比对。

图 6 显示了 PR301077 小鼠病毒预防和治疗实验。

## 具体实施方式

下面通过实施例的方式进一步说明本发明，但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件，或按照商品说明书选择。

在本申请中，术语“抗体”通常是指包含结合抗原的部分的蛋白质，以及任选地允许结合抗原的部分采用促进抗体与抗原结合的构象的支架或骨架部分。可典型地包含抗体轻链可变区（VL）、抗体重链可变区（VH）或上述两者。例如本申请中的“重链抗体”不含 VL 区，仅含 VH 区。VH 或 VL 区可进一步被区分为称为互补决定区（CDR）的高变区，它们散布在称为框架区（FR）的更保守的区域中。每个 VH 或 VL 可由三个 CDR 和四个 FR 区构成，它们从氨基端至羧基端可按以下顺序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的实例包括但不限于全长抗体、重链抗体（HCAb）、抗原结合片段（Fab，Fab’、F(ab)2、Fv 片段、F(ab’)2、scFv、di-scFv 和/或 dAb）、免疫缀合物、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、抗体片段、抗体衍生物、抗体类似物或融合蛋白等，只要它们显示出所需的抗原结合活性即可。

在本申请中，术语“可变”通常是指这样的事实，即抗体的可变结构域的序列的某些部分变化强烈，它形成各种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。然而，变异性并非均匀地分布在抗体的整个可变区中。它集中在轻链和重链可变区中的三个区段，称为 CDR 或高变区（HVR），FR 为可变域中更高度保守的部分。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个 FR 区，大部分采用  $\beta$ -折叠构型，通过三个 CDRs 连接，形成环连接，并且在一些情况下形成  $\beta$ -折叠结构的一部分。每条链中的 CDRs 通过 FR 区紧密靠近在一起，并与来自另一条链的 CDR 一起形成抗体的抗原结合位点，恒定区不直接参与抗体与抗原的结合，但是它们表现出不同的效应功能，例如参与抗体的依赖于抗体的细胞毒性。

在本申请中，术语“核酸”是指 DNA 分子和 RNA 分子。其可以是单链或双链的，但优选是双链 DNA。当将核酸与另一个核酸序列置于功能关系中时，核酸是“有效连接的”。例如，如果启动子或增强子影响编码序列的转录，那么启动子或增强子有效地连接至所述编码序列。

在本申请中，术语“特异性结合”通常是指抗体通过其抗原结合域与表位结合，并且该结合需要抗原结合域和表位之间的一些互补性。根据该定义，当抗体相比于其将结合随机的，不相关的表位而言更容易通过其抗原结合域与表位结合时，抗体被称为“特异性结合”该抗原。

在本申请中，术语“Fab”通常指常规抗体（例如 IgG）中与抗原结合的部分，包括抗体的重链可变区 VH、轻链可变区 VL 和重链恒定区结构域 CH1 以及轻链恒定区 CL。在常规抗体中，VH 的 C 端与 CH1 的 N 端联结形成重链 Fd 片段，VL 的 C 端与 CL 的 N 端联结形成轻链，CH1 的 C 端又进一步与重链的铰链区和其他恒定区结构域联结形成重链。在一些实施例中，“Fab”也指 Fab 的变体结构。例如，在某些实施例中，VH 的 C 端与 CL 的 N 端联结形成一个多肽链，VL 的 C 端与 CH1 的 N 端联结形成另一个多肽链，形成 Fab(cross VH/VL) 的结构；在某些实施例中，Fab 的 CH1 不与铰链区联结，而是 CL 的 C 端与重链的铰链区联结，形成 Fab(cross Fd/LC) 的结构。

在本申请中，术语“VH”通常指抗体的重链可变区 VH 结构域，即可以是人或者其他动物的常规抗体（H2L2 结构）的重链可变区 VH，也可以是骆驼科等动物的重链抗体（HCAb 结构）的重链可变区 VHH，还可以是利用 Harbour HCAb 转基因小鼠产生的全人源重链抗体（HCAb 结构）的重链可变区 VH。

在本领域中，可以通过多种方法来定义抗体的 CDR，例如基于序列可变性的 Kabat 定义规则（参见，Kabat 等人，免疫学的蛋白质序列，第五版，美国国立卫生研究院，贝塞斯达，马里兰州（1991））和基于结构环区域位置的 Chothia 定义规则（参见，A1-Lazikani 等人，JMol Biol 273:927-48,1997）。本申请还可使用包含 Kabat 定义和 Chothia 定义的 Combined 定义规则确定可变结构域序列和全长抗体序列中的氨基酸残基。在本发明中，根据 Chothia 定义确定各序列。

本发明涉及的多种抗 SARS-CoV-2 抗体，是相关研发人员使用 SARS-CoV-2-S-RBD 作为特异性抗原，免疫野生型或者人源化小鼠（H2L2 [https://harbourantibodies.com/science-technology/h2l2/#.Xxj\\_oZ4zbIU](https://harbourantibodies.com/science-technology/h2l2/#.Xxj_oZ4zbIU)），并进一步通过 Beacon 平台（Ref. <https://www.berkeleylights.com/systems/beacon/>, Rapid single B cell antibody discovery using nanopens and structured light, mAbs, <https://doi.org/10.1080/19420862.2019.1624126>）进行单

B 细胞筛选得到的。它们具有较高的针对 S-RBD 的亲合力，以及优异的对 SARS-CoV-2 病毒的中和效果。这些抗体有可能发展成为有效的药物和疗法，从而为 COVID-19 提供有效的治疗方法。

本发明对选定的鼠源中和抗体进行了人源化，同时对于几个选定的中和抗体都进行了翻译后修饰的序列优化。对于人源化以及序列优化的抗体，都使用 BLI (或者 ELISA) 的方法考察了其对于新冠 S 蛋白的亲合力变化，用竞争 ELISA 法考察了其对于新冠 S 蛋白与人 ACE2 蛋白相互左右的阻断活性变化。同时，利用 293 瞬转的表达量，蛋白纯度 (SEC 以及 SDS-PAGE 考察)，以及 Uncle (Unchained Labs) 检测 Tm, Tagg, 分子聚集度等指标，考察并比较其成药性。结果显示，这些候选蛋白都表现出较好的成药性，且其人源化和翻译后修饰改良都很成功。

以下将通过具体实施例详细介绍本发明。

### 实施例 1 能高效结合新冠 RBD 蛋白以及新冠 S 蛋白的候选抗体的初步获得

使用 2019 新型冠状病毒 (SARS-CoV2-2019) 的 S 蛋白中的 RBD 结构域 (受体结合结构域) 免疫野生型 (BALB/c, 共 5 只) 或者人源化 (H2L2, 共 10 只) 小鼠，并通挑选血浆对抗原阳性反应的小鼠取其的脾细胞和骨髓细胞，用 Miltenyi (Miltenyi Biotec, #130-092-530) 和 Stem Cell 的试剂盒 (Stemcell, #18957) 富集表达抗体的浆细胞 (plasma B cell)。再通过 Beacon (Berkeley Lights, Beacon® Optofluidic System) 初步考察单个 B 细胞培养上清对新冠 RBD 蛋白的结合情况，并导出培养上清能有效结合新冠 RBD 的阳性细胞，随后通过分子克隆手段扩增出单个 B 细胞中的抗体可变区序列，并进行测序。测序后进行分析，将 CDR 区序列完全一致的抗体作为一个独立序列，共获得 191 个独立的鼠源抗体重轻链对 (一个独立鼠源抗体对包括一个 VH, 一个 VL 两个序列)，以及 105 个独立的人源抗体重轻链对。

将获得的独立序列通过基因合成以及分子克隆手段，得到相应抗体的哺乳动物表达载体，并将其使用 PEI (SIGMA, #24885) 转染至 HEK293T 细胞在 24 孔板中培养 3 天。培养条件：37°C, 5% 二氧化碳。取 0.1 mL 培养上清通过 ELISA 的方法检测其对新冠 S 蛋白 (后简称 S 蛋白) 的结合活性。

方法描述：S 蛋白 SARS-CoV-2 (2019-nCoV) Spike Protein (S1 Subunit, His Tag), (Sino Biological, #40591-V08H) 4°C 包被免疫板过夜，封闭之后加入 100 μL 上清，室温反应 1 小时，之后加入二抗 anti-Human IgG (Fc) HRP (Jackson Immuno Research Labs, #109-035-098) 反应 1 小时。使用 TMB 显色试剂盒 (潮州英创生物科技有限公司, TMB-S-003) 进行显色，反应终止之后在 SpectraMax PLUS 384 酶标仪 (Molecular Devices) 上，读取

其 OD405。OD405 > 0.25 被标注为阳性。

24 孔版培养上清检测之后，共有 56 株全人候选抗体，71 株鼠源候选抗体序列在 ELISA 上的 OD405>0.25，被初步确认为阳性候选。

筛选出的候选抗体株将在 HEK293 悬浮细胞体系中进行瞬时培养，并获得纯化的抗体蛋白用于进一步的考察。

### 实施例 2 候选阳性抗体使用 HEK293 细胞进行瞬时表达和纯化

将实施例 1 筛选获得的阳性抗体株的哺乳动物表达载体，使用 PEI (SIGMA, #24885) 转染至 HEK293F 悬浮细胞 (Gibco, # R79007) 中，并在所述培养条件中培养 7 天。培养条件：37°C, 5% 二氧化碳, 125 rpm。培养上清收获之后，通过 Protein A (AmMag Protein A Magnetic Beads, Genscript, L00695) 纯化用填料进行亲和层析纯化。得到的蛋白通过 SDS-PAGE 的方式 (SurePAGE, Bis-Tris, 10x8, 4-12%, 12 wells, Genscript, M00653) 初步考察其纯度。

所有候选蛋白在 HEK293 瞬时表达体系中的表达情况在约 10mg/L~100mg/L 之间。且这些候选抗体的 SDS-PAGE 结果都显示其获得的抗体纯度>90%。

上述瞬时表达结果表明初步筛选获得的阳性抗体，都具有较好的成药性，为后续开发提供了保障。

### 实施例 3 候选阳性抗体的 ELISA 结合活性考察

将上一步获得的阳性候选抗体，通过 ELISA 的方法，检测其对于新冠 S 蛋白的结合活性

方法描述：S 蛋白 SARS-CoV-2 (2019-nCoV) Spike Protein (S1 Subunit, His Tag), (Sino Biological, #40591-V08H) 和 2019-nCoV Spike Protein (S1 Subunit, His Tag) (Genscript, 批号: P9FE001), 4°C 包被免疫板过夜，封闭之后加入梯度稀释的候选抗体 (梯度稀释选择的浓度，如 15µg/mL 起始，10 倍梯度稀释，到 0.000015µg/mL，共 7 个浓度)，室温反应 1 小时，之后加入二抗 anti-Human IgG (Fc) HRP (Jackson Immuno Research Labs, #109-035-098) 反应 1 时间。使用 TMB 显色试剂盒 (潮州英创生物科技有限公司, TMB-S-003) 进行显色，反应终止之后在 SpectraMax PLUS 384 酶标仪 (Molecular Devices) 上，读取其 OD405。用 Graphpad 将每个抗体的 OD405 对其浓度的对数值作图，并通过四参数拟合，获得该抗体结合新冠 S 蛋白的 EC50 值。

部分阳性抗体的 EC50 值见下表 1-1。

表 1-1

抗体名称	新冠 S 蛋白结合
	ELISA EC50 (nM)
PR300874	0.03256
PR300911	0.7342
PR300961	0.02143
PR300992	0.01871
PR300886	0.01023
PR300928	0.01762
PR300929	0.01234
PR300950	0.01877
PR300953	0.01723
PR300985	0.01561
PR300872	0.03563
PR300914	0.02424
PR300965	0.06918
PR300902	0.03803
PR301042	0.02487
PR301052	0.0134
PR301056	0.1361
PR301086	0.08274
PR301077	0.01723
PR301078	0.01152
PR301099	0.08655
PR301100	0.01614
PR301103	0.009127
PR301105	0.4071
PR301261	0.01264

上述抗体与新冠 S 蛋白 ELISA 检测的 EC50 值基本都达到了~10pM 甚至更低的级别。这一结果比目前文献报道的现有抗体要更优 (*D. Wrapp et al., Structural Basis for Potent Neutralization of Betacoronaviruses by Single-Domain Camelid Antibodies, 2020, Cell 181, 1–12*; *Z. Lv et al., Structural basis for neutralization of SARS-CoV-2 and SARS-CoV by a potent therapeutic antibody, Science 10.1126/science.abc5881 (2020)*), 预示了本发明的候选抗体与新冠病毒 S 蛋白有更强的结合能力。

对上述抗体的 VH 和 VL 序列使用 Chothia 规则进行编号, 并综合考虑 Chothia 和 KABAT 的规则确定其 CDR 区。具体见表 1-2、1-3。

表 1-2

抗体名称	VH	CD R1		CD R2		CD R3	
PR300872VH	113	51	GYTFTEFTMH	56	GLNPNNDDTTYNQKF KG	69	EDGNYVSFAY
PR300874VH	114	11	GYSFTSYWM N	60	MIHPSDSESRLNQKF MD	10	ADGYEWYFDV
PR300886VH	115	112	GFSLTSYGVH	32	VIWAGGNTNYNSAL MS	35	YRYDAFAY

PR300902VH	116	9	GFTFSGYTMS	107	YISNGGANTYYPDTV QG	73	HRDWDDAMD Y
PR300911VH	117	2	GYSFTTYWM T	5	MIHPDSETRLNQKF KD	70	GGGYDWYFD V
PR300914VH	118	52	GFTFNTYAM N	33	RIRSKSDNYAAYYADS VKD	36	ADGYSSWFAY
PR300928VH	119	109	GYTFTEYTM Y	4	GINPNNGDTSYNQKF KG	71	DGYPPYFAMD Y
PR300929VH	120	110	GYTFTEYTML	57	GINPNNGDTGYNQKF KG	12	DGYPPYYAMD Y
PR300950VH	121	111	GYTFTEYTIY	4	GINPNNGDTSYNQKF KG	12	DGYPPYYAMD Y
PR300953VH	122	3	GYTFTEYTM H	58	GINPNNGDNTYNQKL KG	72	DGYPPYYALD Y
PR300961VH	123	81	GYSFTSYWV N	5	MIHPDSETRLNQKF KD	10	ADGYEWYFDV
PR300965VH	124	53	GFTFSSYTMS	8	YISNGGVNTYYPDTV KG	73	HRDWDDAMD Y
PR300985VH	125	3	GYTFTEYTM H	59	GINPNNGDTTYNQKF KG	69	EDGNYVSFAY
PR300992VH	126	28	GFNIKDYHM H	68	WIDPENGNSIYHPNFQ G	37	PYGFISWFAY
PR301042VH	127	54	GFTFSSNGMH	106	VIWYDGSNKFYADSV KG	38	HSGYYYGYFF DY
PR301052VH	128	29	GGSSIRSSNW WS	34	EIFQSGITNYNPSLKS	39	DGDYYGSGSS YFDY
PR301056VH	129	1	GFTFSSYGMH	6	VIWYDGSNKFYADSV QG	40	NYYGSGIYLW YFDL
PR301077VH	130	55	GFTFSYYGM H	61	VIWYDGSNRFYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301078VH	131	30	RFTFSNYDM H	62	VIWYDGSYKYYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301086VH	132	13	GYTFTRYDIN	7	WMNPNSGNTGYAQK FQG	41	ALGWDVFDI
PR301099VH	133	55	GFTFSYYGM H	63	VIWYDGSNRYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301100VH	134	31	GFNFSSYYGIH	64	VIWYDGSNKYYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301103VH	135	108	GFTFNNDYGM H	65	VIWYDGSYTYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301105VH	136	1	GFTFSSYGMH	66	VIWYDGSYQYYADSV KG	74	DPPGLRFRFDY
PR301261VH	137	11	GYSFTSYWM N	67	IIWYDGSNKYYADSV KG	42	ETSYSGYDWG YFDS

表 1-3

抗体名称	VL	CDR 1		CDR 2		CDR 3	
PR300872VH	138	14	KSSQSLLYSGNQKNYL A	44	WASTRES	95	QQYYSYPLT
PR300874VH	139	15	RASESVDSYGNSFMH	87	RASNLES	98	QQSNEDPWT
PR300886VH	140	77	RASKSVSTSGYSYMF	88	LASNLES	48	QHSRELPYT
PR300902VH	141	78	SASSSVSYM	22	STSNLAS	25	HQWSTYT
PR300911VH	142	76	RATESVDSYGNSFMH	87	RASNLES	27	QQSNEGPWT
PR300914VH	143	43	RSSQSLVHNNGNTYLH	45	KVSNRFS	99	SQSTHVPWT
PR300928VH	144	80	KASQNVDTNVA	89	SASHRYS	96	QQYNTYPWT

PR300929VH	145	17	KASQNVGTNVA	20	SASYRYS	23	QQYNNYPWT
PR300950VH	146	80	KASQNVDTNVA	20	SASYRYS	96	QQYNTYPWT
PR300953VH	147	17	KASQNVGTNVA	90	SASSRYS	23	QQYNNYPWT
PR300961VH	139	15	RASESVDSYGNSFMH	87	RASNLES	98	QQSNEDPWT
PR300965VH	148	16	SATSSVSYMH	22	STSNLAS	100	HQWSSYP
PR300985VH	149	75	KSSQSLLYSSNQKNYL A	44	WASTRES	101	HQYYSYPLT
PR300992VH	150	79	SASSSVSYMY	92	RTSNLAS	49	QQYHSYPYM YT
PR301042VH	151	82	RASQSISSYLN	93	ATSSLQS	50	QQSYSTPPT
PR301052VH	152	83	RASQSVSSDLA	46	GASTRAT	102	QQYNNWPLT
PR301056VH	153	18	RASQSISSWLA	94	KASSLES	26	QQYNSYST
PR301077VH	154	84	RSSQSLLHSDGYNLYD	47	LGSNRAS	24	MQGLQTPLT
PR301078VH	155	85	RSSQSLLHSDGYNLYD	47	LGSNRAS	103	MQALQTPLT
PR301086VH	156	18	RASQSISSWLA	21	KASSLKS	105	QQYNSYWT
PR301099VH	154	84	RSSQSLLHSDGYNLYD	47	LGSNRAS	24	MQGLQTPLT
PR301100VH	157	86	RSSQSLLQSDGYNLYD	47	LGSNRAS	103	MQALQTPLT
PR301103VH	155	85	RSSQSLLHSDGYNLYD	47	LGSNRAS	103	MQALQTPLT
PR301105VH	91	19	RSSQSLLHSDGYNFLD	47	LGSNRAS	103	MQALQTPLT
PR301261VH	97	84	RSSQSLLHSDGYNLYD	47	LGSNRAS	104	MQTLQTPPW T

#### 实施例 4 候选阳性抗体的 ELISA 阻断活性考察

将实施例 2 种获得的阳性候选抗体，通过 ELISA 的方法，检测其对于新冠 S 蛋白-人 ACE2 蛋白相互作用的阻断活性

方法描述：ACE2 蛋白 Human ACE2 protein, His tag (Acro, #AC2-H52H8) 和 Human ACE2 protein, hFc tag (Genscript, #T80801 (no catalog product), Lot:T2006002) 4℃包被免疫板过夜，封闭之后加入待检测的候选抗体(梯度稀释选择的浓度，如 15μg/mL 起始，10 倍梯度稀释，到 0.000015μg /mL，共 7 个浓度)，同时加入人 RBD 蛋白 (mFc-tag) (Sino Biological,#40592-V05H)，37℃反应 1 小时。之后加入二抗 anti-Mouse IgG (Fc) HRP (Sigma, #A0168) 反应 1 时间。使用 TMB 显色试剂盒 (潮州英创生物科技有限公司，#TMB-S-003) 进行显色，反应终止之后在 SpectraMax PLUS 384 酶标仪 (Molecular Devices) 上，读取其 OD405。用 Graphpad 将每个抗体的 OD405 对其浓度的对数值作图，并通过四参数拟合，获得该抗体阻断新冠 S 蛋白与人 ACE2 蛋白的 IC50 值。

部分阳性抗体的 IC50 值见下表 2。对于不完全阻断的抗体，不呈现 IC50 值，只写最高浓度的抑制率，完全不阻断的抗体用“NA”表示。

表 2

抗体名称	新冠 RBD-人 ACE2 作用阻断效果
	IC50 (nM)
PR300874	NA
PR300911	NA

PR300961	NA
PR300992	0.1896
PR300886	0.2266
PR300928	0.05037
PR300929	0.03676
PR300950	0.1674
PR300953	0.05763
PR300985	0.08788
PR300872	0.1894
PR300914	0.2838
PR300965	0.932
PR300902	0.1726
PR301042	最高抑制率 40%
PR301052	NA
PR301056	0.5159
PR301086	2.256
PR301077	0.4935
PR301078	最高抑制率 50%
PR301099	最高抑制率 70%
PR301100	最高抑制率 50%
PR301103	1.186
PR301105	最高抑制率 70%
PR301261	0.8706

上述抗体中，明确具有阻断效果的候选抗体，其阻断新冠 S 蛋白与人 ACE2 蛋白相互作用的效果，IC<sub>50</sub> 值较低，基本都达到了 nM 或者 sub-nM 的级别，更有部分达到了 ~10pM 级别。这些数据与文献报道的现有抗体相比较（D. Wrapp et al., Structural Basis for Potent Neutralization of Betacoronaviruses by Single-Domain Camelid Antibodies, 2020, Cell 181, 1 - 12; Z. Lv et al., Structural basis for neutralization of SARS-CoV-2 and SARS-CoV by a potent therapeutic antibody, Science 10.1126/science.abc5881 (2020)), 展示出了更优的对于新冠 S 蛋白与人 ACE2 蛋白的阻断效果。

#### 实施例 5 候选阳性抗体通过 BLI 方法考察其亲和力

将实施例 2 获得的阳性候选抗体，通过生物膜干涉(Biolayerinterferometry, BLI)的方法，检测其对于新冠 S 蛋白，以及新冠 RBD 蛋白的结合动力学方法描述：将候选稀释至终浓度 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  直接固化到 AHC biosensor 上，对动力学测量，将抗原蛋白（新冠 S 蛋白，或新冠 RBD 蛋白，相关信息见前述）用 10 X Kinetics buffer 分别稀释至 800 nM, 400 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM 其中的 3 个浓度（取决于结合信号的强弱），进样 100s, 解离时间为 400-800s, 10 mM glycine HCl (pH1.5) 再生 15s。使用简单一对一 Langmuir 结合模型（Octet Red96 数据分析软件），计算结合速率(kon)和解离速率(kdis)。平衡解离常数(kD) 以比率 kdis/kon 计算。

测量的亲和力结果见表 3-1。

表 3-1

抗体名称	新冠 S 蛋白亲和力	新冠 RBD 蛋白结合
	BLI KD (M)	BLI KD (M)
PR300874	6.318E-09	5.297E-10
PR300911	<1.0E-12	3.441E-09
PR300961	5.219E-09	5.067E-11
PR300992	2.046E-09	8.396E-10
PR300886	5.39E-09	1.121E-10
PR300928	1.316E-09	<1.0E-12
PR300929	1.062E-09	<1.0E-12
PR300950	1.503E-09	<1.0E-12
PR300953	2.085E-09	<1.0E-12
PR300985	5.85E-09	2.333E-10
PR300872	3.933E-08	2.9E-10
PR300914	1.163E-08	9.58E-11
PR300965	4.308E-09	<1.0E-12
PR300902	8.122E-10	<1.0E-12
PR301042	1.54E-09	6.61E-09
PR301052	3.002E-08	8.907E-11
PR301056	3.141E-08	<1.0E-12
PR301086	7.503E-09	<1.0E-12
PR301077	5.433E-10	2.334E-09
PR301078	0.000000111	<1.0E-12
PR301099	7.348E-09	2.659E-09
PR301100	5.55E-10	7.22E-09
PR301103	0.000000042	<1.0E-12
PR301105	6.047E-09	2.078E-09
PR301261	4.88E-08	<1.0E-12

上述抗体与新冠 S 蛋白的亲和力达到 nM 和 0.1 nM 级别，与新冠 RBD 蛋白的结合能达到 pM 的级别。这些结果显示本发明的候选抗体与新冠病毒有很高的结合能力。

#### 实施例 6 候选阳性抗体通过体外病毒感染法考察其中和活性

将 SARS-CoV-2 病毒（100 TCID<sub>50</sub> 每孔）和稀释的抗体的混合物在 37°C 孵育 1 小时，然后接种至预先传代至 96 孔板的 VeroE6 细胞，在 37°C 继续培养 48 小时。采用免疫荧光检测抗体中和效率：弃去细胞上清，用在 PBS（pH = 7.2）配置的 4% 多聚甲醛于室温固定细胞 15 分钟，PBS 洗涤细胞 3 次后，再用 0.25% 的 Triton-X 100 透化细胞 10-15 分钟。PBS 洗涤 3 次后，使用含 5% BSA 的 PBS 在 37°C 封闭细胞 1 小时，然后与自制的抗 SARS-CoV-2 NP 兔血清作为一抗 37°C 孵育 2 小时，经 PBS 洗涤后再与荧光素 488 标记的羊抗兔 IgG 二抗孵育。用 Hoechst 33258 将细胞核染色 10 分钟。用 Operetta CLSTM 高内涵细胞分析系统扫描细胞荧光图并计数分析每孔细胞总数与病毒感染细胞个数。采用 Graphpad 软件计算抗体抑制病毒的 IC<sub>50</sub> 和 IC<sub>90</sub>。

实验结果详见图 1 和图 2，通过图 1 和图 2 可知：上述抗体对新冠病毒具有极高的

中和活性，其 IC<sub>50</sub> 均达到几十到几百 ng/ml 的级别，展示出优异的抑制病毒效果，预示其将来在临床上会展示出优秀的抗病毒疗效。

各分子的 IC<sub>50</sub> 值信息见下表 3-2（表中 IC<sub>50</sub> 单位为 μg/mL）。

表 3-2

抗体名称	IC <sub>50</sub>	抗体名称	IC <sub>50</sub>	抗体名称	IC <sub>50</sub>
PR301052	0.6482	PR301078	0.5416	PR300902	1.093
PR301056	0.4059	PR301100	~0.6077	PR300911	0.8193
PR301077	0.02791	PR301103	0.04720	PR300914	~0.1048
PR301086	0.4353	PR301261	1.302	PR300928	0.04681
PR301099	~0.05034	PR300872	0.6417	PR300992	0.1798
PR301105	0.4044	PR300874	0.1155	PR300961	0.1723
PR301042	1.752	PR300886	0.1488	PR300953	0.01659
PR300929	0.03002	PR300950	0.06778	PR300985	0.1598
PR300965	1.489				

#### 实施例 7 中和抗体通过竞争 ELISA 考察其相互之间的结合表位差异

将实施例 6 确认的具有中和活性的候选抗体，通过竞争 ELISA 的方法考察其相互之间的结合表位差异

方法描述：待检测抗体 1μg/mL 浓度下，4℃包被免疫板过夜，封闭之后加入与新冠 S 蛋白(GenScript, 批号 P9FE001, 进行 Biotin 标记)混合的竞争抗体。竞争抗体浓度选择 10μg/mL 或者 25μg/mL。没有加入竞争抗体的为对照组，37℃反应 1 小时。之后加入 Streptavidin HRP (sigma, #S2438) 反应 1 时间。使用 TMB 显色试剂盒（潮州英创生物科技有限公司，#TMB-S-003）进行显色，反应终止之后在 SpectraMax PLUS 384 酶标仪（Molecular Devices）上读取其 OD<sub>405</sub>。使用该公式，得出两个抗体的阻断百分比（对照组的 OD<sub>405</sub>-检测组的 OD<sub>405</sub>）/对照组的 OD<sub>405</sub>×100%。

根据这些抗体相互阻断的情况，对这些候选抗体进行抗原表位分组。其中，在同一个抗原表位组中的抗体，两两之间的 ELISA 阻断百分比>40%。这些候选抗体共可以分成如下几个抗原表位组。其中组 1、2、3 之间两两不竞争（即，抗原表位组 1 中的抗体，与抗原表位组 2 和 3 的抗体两两之间的阻断百分比小于 20%），组 1.5 与组 1 和 2 有部分竞争，组 2.5 与组 2 及组 3 部分竞争。组 4 与组 1 完全竞争，与组 2，2.5，1.5 部分竞争，与组 3 基本不竞争。具体见表 4。

表 4

抗体名称	抗原表位组
PR300874	组 3
PR300911	组 3
PR300961	组 3
PR300992	组 2.5

PR300886	组 1.5
PR300928	组 1
PR300929	组 1
PR300950	组 1
PR300953	组 1
PR300985	组 1
PR300872	组 1
PR300914	组 2
PR300965	组 2
PR300902	组 2
PR301042	组 4
PR301052	组 3
PR301056	组 1.5
PR301086	组 2.4
PR301077	组 4
PR301078	组 4
PR301099	组 4
PR301100	组 4
PR301103	组 4
PR301105	组 4
PR301261	组 4

通过竞争 ELISA 获得的抗原表位分组结果,显示了本发明获得的新冠病毒候选抗体,其结合表位的多样性。

#### 实施例 8 中和抗体通过 SEC 考察其瞬时表达蛋白纯度

将实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体,通过 HPLC-SEC 的方法考察其纯度  
方法描述:按照实施例 2 所述方法瞬时转染表达并通过蛋白 A 亲和层析一步纯化,得到相应候选抗体。使用安捷伦 1260 Infinity II 高效液相色谱仪,月旭 Welch Xtimate SEC-300 分离柱,1 X PBS, pH 7.4 为流动相进行 HPLC-SEC 分析。得到的蛋白主峰纯度见下表。所有抗体的瞬时表达一步纯化后纯度都大于 90%,大部分抗体都大于 95%。该结果表明这些候选抗体具有较好的结构稳定性,将有助于后续药学开发。具体见表 5。

表 5

抗体名称	HPLC-SEC 主峰纯度 %
PR300874	98
PR300911	90
PR300992	95
PR300886	95
PR300929	87
PR300961	93

PR300928	97
PR300950	92
PR300953	99
PR300872	92
PR300914	97
PR300965	98
PR300902	93
PR301042	91
PR301052	93
PR301056	98
PR301086	97
PR301077	99
PR301078	99
PR301099	99
PR301103	99
PR301105	99
PR301261	91

#### 实施例 9 候选中和抗体通过假病毒法考察其体外中和活性

根据理化性质，抗原表位组，以及其他活性结果，挑选部分实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体，通过体外假病毒感染的方法考察其中和活性。假病毒中和实验使用的是常规 murine leukemia virus (MLV) 体系构建的新冠假病毒。MLV 新冠假病毒制备方法在相关文献 (Millet, J. K. & Whittaker, G. R. Murine Leukemia Virus (MLV)-based Coronavirus Spike-pseudotyped Particle Production and Infection. *Bio Protoc* 6, <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2035> 10.21769/BioProtoc.2035. (2016) 和 *Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody, Nature*, 583, 290–295 (2020)) 有详细描述。

中和实验方法描述：按照最终浓度的两倍准备待测抗体(稀释梯度从 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$  起始，5 倍梯度稀释，到 0.000038 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，共 9 个浓度)。将准备好的待测抗体稀释液与等体积新冠假病毒在 96 孔板内混合并在室温孵育 1 个小时。加入 20000 个 ACE2 过表达的 HEK293 细胞，在 37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% 二氧化碳培养箱中孵育 48 小时。然后使用 Bio-Glo<sup>TM</sup> (Promega, G7064) 试剂盒进行检测。通过 Envision 仪器读取的荧光值确定感染程度，并使用 GraphPad 进行数据分析，计算出中和活性的 IC<sub>50</sub>。

结果表明，这些候选抗体都在假病毒体系中展示出较优的中和活性，且中和活性的 IC<sub>50</sub> 值都低于  $\mu\text{g}/\text{mL}$  级别，具体如表 6 所示。该结果与真病毒中和活性结果相吻合。表 6 中抗体 S309、REGN10987 分别来源于现有技术文献"*Cross-neutralization of SARS-CoV-*

2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody Nature. 2020 Jul;583(7815):290-295. doi: 10.1038/s41586-020-2349-y. Epub 2020 May 18; 和 "Studies in humanized mice and convalescent humans yield a SARS-CoV-2 antibody cocktail Science. 2020 Aug 21;369(6506):1010-1014. doi: 10.1126/science.abd0827. Epub 2020 Jun 15.

表 6 假病毒中和活性结果 (IC50)

抗体名称	中和效率(IC 50) (µg/mL)
PR301077	0.0077
PR301056	曲线拟合不好, 约 1.0
PR301086	3.071
PR300928	0.03039
PR300902	0.19
PR300961	0.1633
PR301099	0.1364
PR300953	0.01517
S309	部分抑制
REGN10987	0.1624

**实施例 10 候选中和抗体的序列优化**

根据理化性质、抗原表位组以及其他活性结果, 挑选部分实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体, 根据其氨基酸序列性质进行优化。

方法描述: 对于鼠源候选抗体, 通过 CDR-grafting+back mutation 的方法进行人源化。同时对于所有候选抗体, 通过突变去除其具有脱氨、异构、N-糖基化修饰, 游离巯基的氨基酸残基。

获得的优化后的抗体可变区序列见下表 7。得到优化抗体, 通过实施例 2 的方式获得抗体蛋白, 并初步考察其成药性, 并与原始序列进行比较。通过实施例 3 的方法, 考察其结合活性, 并于原始序列抗体进行比较。

表 7 重链/轻链可变区的变体序列

PR300902VL 变体序列 (SEQ ID NO. 158~163)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNL ASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO. 158)
	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNL ASGVPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDAATYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO. 159)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNL LASGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO. 160)
	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLIYSTSNL ASGIPARFSGSGSDYTLTISSLEPEDFAVYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO. 161)
	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLIYSTSNL ASGIPARFSGSGSDYTLTISSLEPEDAAVYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK

	(SEQ ID NO. 162) EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSAASSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYSTSNL ASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCHQWSTYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO. 163)
PR300902VH 变体序列 (SEQ ID NO. 164~166)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTMSWVRQAPGKGLEWVAYI SQGGANTYYPDTVQGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRD WDDAMDYWGQGMVTVSS (SEQ ID NO. 164)
	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTMSWVRQAPGKGLEWVAYI SNGGANTYYPDTVQGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRD WDDAMDYWGQGMVTVSS (SEQ ID NO. 165)
	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTMSWVRQAPGKGLEWVSYI SNGGANTYYPDTVQGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHRD WDDAMDYWGQGMVTVSS (SEQ ID NO. 166)
PR300961VL 变体序列 (SEQ ID NO. 167~170)	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIY RASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDVANYCQQSNEDPWTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO. 167)
	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIY RASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDVANYCQQSNEDPWTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO. 168)
	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIY RASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDVANYCQQSNEDPWTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO. 169)
	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIY RASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYCQQSNEDPWTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO. 170)
PR300961VH 变体序列 (SEQ ID NO. 171~174)	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKLSCKASGYSTSYWVNWVRQAPGQGLEWIG MIHPDSETRLNPKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARADT YEWYFDVWGRGTLTVSS (SEQ ID NO. 171)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKLSCKASGYSTSYWVNWVRQAPGQGLEWIG MIHPDSETRLNPKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARADG YEWYFDVWGRGTLTVSS (SEQ ID NO. 172)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSKASGYSTSYWVNWVRQAPGQGLEWM GMIHPDSETRLNPKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARA DGYEWYFDVWGRGTLTVSS (SEQ ID NO. 173)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSKASGYSTSYWVNWVRQAPGQGLEWM GMIHPDSETRLNPKFKDRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARA DGYEWYFDVWGRGTLTVSS (SEQ ID NO. 174)
PR300928VH 变体序列 (SEQ ID NO. 175~179)	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTMWVRQAPGQRLEWMG GINPNQGDTSYNQKFKGRATLTVDKSATTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREG YPPYFAMDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO. 175)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTMWVRQAPGQRLEWMG GINPNQGDTSYNQKFKGRATLTVDKSATTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDG YPPYFAMDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO. 176)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKISCKTSGYTFTEYTMWVRQAPGQRLEWMG GINPNNGDTSYNQKFKGRATLTVDKSATTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDG YPPYFAMDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO. 177)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSKTSGYTFTEYTMWVRQAPGQRLEWMG GINPNNGDTSYNQKFKGRVTITVDKSATTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGY PYYFAMDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO. 178)
	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSKTSGYTFTEYTMWVRQAPGQRLEWMG GINPNNGDTSYNQKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGY PYYFAMDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO. 179)
PR300928VL 变体序列 (SEQ ID NO. 180~183)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPKGAPKGLIYSAS SRYSGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSVQPEDLATYFCQQYNTYPWTFGQGTKV EIK (SEQ ID NO. 180)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPKGAPKGLIYSAS HRYSGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSVQPEDLATYFCQQYNTYPWTFGQGTKV

	EIK (SEQ ID NO. 181)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGKAPKGLIYSAS HRYSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDLATYFCQQYNTYPWTFGQGTKV
	EIK (SEQ ID NO. 182)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWFQQKPGKAPKSLIYSAS HRYSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNTYPWTFGQGTKV
	EIK (SEQ ID NO. 183)

几个优化后抗体重轻链可变区与原始序列的比对如附图 3~5 (与原始序列相同的氨基酸用点表示)。且优化后的抗体其结合活性与原始抗体相当。

表 8 人源化抗体结合数据

抗体名称	母抗体	可变区重链	可变区轻链	EC50 binds S1, nM
PR300961		SEQ ID NO. 174	SEQ ID NO. 170	0.005
PR301441	PR300961	SEQ ID NO. 173	SEQ ID NO. 169	0.0154
PR301555	PR300961	SEQ ID NO. 173	SEQ ID NO. 168	0.02315/0.01639
PR301556	PR300961	SEQ ID NO. 173	SEQ ID NO. 167	0.02719
PR301557	PR300961	SEQ ID NO. 172	SEQ ID NO. 169	0.04382
PR301442	PR300961	SEQ ID NO. 172	SEQ ID NO. 168	0.02938
PR301558	PR300961	SEQ ID NO. 172	SEQ ID NO. 167	0.0405
PR301559	PR300961	SEQ ID NO. 171	SEQ ID NO. 169	不结合
PR301560	PR300961	SEQ ID NO. 171	SEQ ID NO. 168	不结合
PR301443	PR300961	SEQ ID NO. 171	SEQ ID NO. 167	不结合
PR300928		SEQ ID NO. 179	SEQ ID NO. 183	0.01676
PR301444	PR300928	SEQ ID NO. 178	SEQ ID NO. 182	0.02036
PR301561	PR300928	SEQ ID NO. 178	SEQ ID NO. 181	0.02197
PR301562	PR300928	SEQ ID NO. 178	SEQ ID NO. 180	0.01503
PR301563	PR300928	SEQ ID NO. 177	SEQ ID NO. 182	0.02173
PR301445	PR300928	SEQ ID NO. 177	SEQ ID NO. 181	0.01472
PR301564	PR300928	SEQ ID NO. 177	SEQ ID NO. 180	0.01541
PR301565	PR300928	SEQ ID NO. 176	SEQ ID NO. 182	0.01428
PR301566	PR300928	SEQ ID NO. 176	SEQ ID NO. 181	0.01487
PR301446	PR300928	SEQ ID NO. 176	SEQ ID NO. 180	0.009434
PR301567	PR300928	SEQ ID NO. 175	SEQ ID NO. 182	7.543
PR301568	PR300928	SEQ ID NO. 175	SEQ ID NO. 181	9.41
PR301447	PR300928	SEQ ID NO. 175	SEQ ID NO. 180	2.221

### 实施例 11 候选中和抗体考察对突变体 RBD 蛋白或是突变病毒的覆盖程度

根据理化性质, 抗原表位组, 以及其他活性结果, 挑选部分实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体, 通过 ELISA 的方法, 检测其对于带有不同突变的新冠 RBD 蛋白的结合活性。同时, 使用带有突变的 S 蛋白的假病毒, 使用如以上实施例所述的假病毒

中和实验,进一步验证候选抗体对突变体的覆盖程度。考察的突变体包括: F342L, N354D, N354D+D364Y, V367F, R408I, A435S, W436R, K458R, G476S, V483A, D364Y, V341I, D364Y, (*Emergence of RBD mutations in circulating SARS-CoV-2 strains enhancing the structural stability and human ACE2 receptor affinity of the spike protein*, <https://doi.org/10.1101/2020.03.15.991844>); Q493N (*Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2*. *Nature*. 2020 May; 581(7807):221-224.); K444Q, V445A, Y453F, L455F, F486V, Q493K (*Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies*. *Science*, 10.1126/science.abd0831, 2020 ); N439K, S494P, V483I, L455I & F456V (*Bivalent binding of a fully human IgG to the SARS-CoV-2 spike proteins reveals mechanisms of potent neutralization*, *bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.03.15.991844); *The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity*, Li et al., 2020, *Cell* 182, 1-11 文章中报道的突变体; 以及近期出现的南非突变体 K417N+E484K+N501Y, 巴西突变体 K417T+E484K+N501Y 以及印度突变体 L452R+E484Q。*

ELISA 结合考察的方法描述: 上述突变体 RBD 蛋白 4℃ 包被免疫板过夜, 封闭之后加入候选中和抗体 (梯度稀释选择的浓度, 如 15µg/mL 起始, 10 倍梯度稀释, 到 0.000015µg/mL, 共 7 个浓度), 室温反应 1 小时, 之后加入二抗 anti-Human IgG (Fc) HRP (Jackson Immuno Research Labs, 货号 109-035-098 ) 反应 1 时间。使用 TMB 显色试剂盒 (潮州英创生物科技有限公司, TMB-S-003) 进行显色, 反应终止之后在 SpectraMax PLUS 酶标仪 (Molecular Devices, 型号) 上, 读取其 OD405。用 Graphpad 将每个抗体的 OD405 对其浓度的对数值作图, 并通过四参数拟合, 获得该抗体结合突变体 RBD 蛋白的 EC50 值(nM)。根据 EC50 值, 对其结合情况进行考察, 部分结果见下表 9-1 至表 9-4。可以看到, 本发明的候选抗体能覆盖大部分突变体。

表 9-1

抗体名称	新冠 RBD 突变体 蛋白										新冠 RBD 蛋白
	N354D+D364Y	V367F	G476S	V483A	N354D	W436R	A435S	K458R	F342L	R408I	
PR301077	0.05	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.07
PR301056	0.06	0.03	0.22	0.04	0.04	0.04	0.02	0.05	0.04	0.04	0.10
PR301042	top at 0.598	0.12	0.02	1.23	0.03	0.04	0.03	0.05	0.05	0.03	top at 1.304
PR301086	0.09	0.05	0.12	0.07	0.03	0.04	0.02	0.05	0.04	0.02	0.43
PR300902	0.1	0.1	0.09	0.07	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04	top at 0.575	0.15
PR300874	0.11	0.05	0.05	0.05	0.04	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.13

PR300928	0.04	0.04	0.05	0.04	0.07	0.03	0.03	0.04	0.04	0.06	0.06
PR300914	0.07	0.04	0.05	0.05	0.04	0.03	0.02	0.06	0.03	0.03	0.12
PR300961	0.1	0.03	0.04	0.03	0.05	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.07
PR300985	0.05	0.03	0.79	0.06	0.04	0.03	0.03	0.04	0.04	0.07	0.09
IgG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 9-2

抗体名称	新冠突变体蛋白							新冠 RBD 蛋白
	L455F	Y453F	V445A	K444Q	Q493K	V341I	F486V	
PR301077	0.01	0.01	0.03	0.02	1.62	0.01	0.01	0.03
PR300902	0.02	0.01	0.05	0.04	0.02	0.02	0.03	0.03
PR300928	0.01	0.01	0.03	0.03	0.01	0.01	N.A.	0.02
PR300961	0.01	0.01	0.07	1.05	0.01	0.01	0.02	0.06
PR301086	0.03	0.02	top at 1.521	0.05	top at 2.014	0.02	0.02	0.02

表 9-3

抗体名称	新冠突变体蛋白					新冠 RBD 蛋白
	L455I + F456V	V483I	S494P	Q493N	N439K	
PR301077	0.03	0.02	0.01	0.04	0.02	0.01
PR300902	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02	0.01
PR300928	0.01	0.04	0.02	0.10	0.04	0.02
PR300961	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
PR301086	0.02	0.04	0.04	0.06	0.06	0.03

表 9-4

抗体名称	新冠 RBD 突变体蛋白			新冠 RBD 蛋白
	K417N+E484K+N501Y	K417T+E484K+N501Y	L452R+E484Q	
PR300961	3.91	0.26	0.10	0.06
PR301446	0.63	0.23	0.11	0.08

上述抗体与目前文献报道的新冠 RBD 蛋白突变体均有结合，且结合能力和与野生型新冠 RBD 蛋白的结合能力在同一水平。该结果说明本发明的候选抗体具有较好的突变病毒覆盖谱，预示其在临床使用过程中，对于突变毒株会有更好的覆盖率与疗效。

假病毒中和考察的方法描述：将准备好的待测抗体稀释液（稀释梯度从 50 $\mu$ g/mL 起始，10 倍梯度稀释，到 0.000005 $\mu$ g/mL，共 8 个浓度）与等体积新冠假病毒在 96 孔板内混合并在室温孵育 1 个小时。加入 ACE2 过表达的 HEK293 细胞，在 37 $^{\circ}$ C, 5% 二氧化碳

培养箱中孵育 48 小时。48 小时后，取细胞洗净裂解，并加入荧光素酶底物考察通过假病毒感染进入细胞并表达的荧光素酶活性，在化学发光检测仪中读取数值。计算中和抑制率：抑制率=[1-(样品组的发光强度均值-空白对照均值) / (阴性组的发光强度均值-空白对照均值)]\*100%。根据中和抑制率结果，利用 Reed-Muench 法计算 IC50。其 IC50 (μg/ml) 见下表 10。

表 10

抗体名称	新冠 RBD 突变体假病毒									新冠 RBD 假病毒
	F342L	N354D+D364Y	N354D	V367F	R408I	W436R	G476S	V483A	D614G	
PR301077	0.012	0.008	0.024	0.007	0.010	0.010	0.017	0.016	0.009	0.012
PR300961	0.629	0.158	0.991	0.075	0.379	0.010	0.188	0.119	0.035	0.145

### 实施例 12 候选中和抗体通过 Uncle 考察成药性

根据理化性质，抗原表位组，以及其他活性结果，挑选部分实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体，使用 Uncle 初步考察成药性。

方法描述：使用 Uncle 多功能蛋白质稳定性分析系统，上样 9 μL 候选抗体于 Uni 管中，采用 25-95°C (0.3°C/分钟) 程序升温，分别于荧光模式和静态光散射 (SLS) 模式下测得 T<sub>m</sub> 和 Tagg 值，动态光散射 (DLS) 模式下测得粒径分布结果。

获得结果见下表 11：

表 11

	PR300874	PR300886	PR300928	PR301056	PR301077	PR301086
浓度	5mg/mL	3.5mg/mL	5.6mg/mL	2.7mg/mL	10mg/mL	1.8mg/mL
T <sub>m</sub> (°C)	72.71	69	75.03	70.92	70.11	80.7
T <sub>agg</sub> (°C) at 266 nm	70.28	68.2	73.14	64.05	67.33	71.97
T <sub>agg</sub> (°C) at 473 nm	73.73	71.83	75.57	76.84	69.13	75.38
初始 SLS at 266 nm (counts x10 <sup>4</sup> )	0.31	0.28	0.29	0.29	0.28	0.22
最大 SLS at 266 nm (counts x10 <sup>4</sup> )	13.99	52.22	23.41	6.59	36.68	46.87
初始 diameter (nm) (25°C)	11.36	11.13	11.76	11.34	12.14	11.49
初始 PDI	0.045	0.057	0.01	0.033	0.036	0.05
最终 PDI	0.185	0.305	0.131	0.418	0.172	0.275

由表 11 可见，检测的抗体都表现出了优良的热稳定性，无聚集现象。

### 实施例 13 候选中和抗体通过小鼠模型考察体内药效

根据理化性质，抗原表位组，以及其他活性结果，挑选实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体 PR301077，使用小鼠模型考察其体内中和效果。

方法描述: 选取 8 周左右的 BALB/c 小鼠, 先注射 IFN $\alpha$ R1 的中和抗体阻断其 IFN $\alpha$ R1 的活性, 随后注射 Adv-hACE2, 使其体内细胞表达人 ACE2 蛋白。约 5 天后, 使用 SARS-CoV-2 病毒感染小鼠。病毒感染后 2~12 小时左右, 给小鼠注射一定剂量(5mg/kg, 20mg/kg 两个剂量组) 的待考察抗体, 其中阴性对照组使用等体积的 PBS 溶液代替抗体。在随后的 4 天内观察小鼠的体重变化。感染后第 4~5 天处死小鼠, 并考察小鼠肺部的病毒负载, 小鼠体内各种细胞因子分泌情况, 以及肺部的组织病理染色结果。

体内实验结果证明, PR301077 在小鼠模型中表现出较好的抗病毒效果, 如图 6 所示。

#### 实施例 14 部分候选中和抗体晶体结构解析

根据理化性质, 抗原表位组, 以及活性结果, 挑选实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体 PR301077, PR300953 和 PR300961, 进行后续的晶体结构解析。

方法描述: 由(GGGGS)<sub>3</sub> 多肽连接子连接候选抗体的轻重链可变区形成单链可变区片段。用含有 BamHI 和 NotI 限制位点的 pAcGP67 载体 (BD BaculoGold™, 554756) 合成该片段的 cDNA, 并用 DH10Bac 感受态细胞 (Thermo Fisher, 10361012) 转化之后在 Sf9 细胞 (Gibco™, 11496015) 内进行表达。将表达出来的病毒去转染 Hi5 细胞 (Thermo Fisher, B85502), 从而由培养上清里面纯化得到抗体的单链可变区片段。

将 SARS-CoV-2 RBD 蛋白和纯化得到的单链可变区片段按 1.2 : 1 的摩尔比混合后孵育两小时, 再用 Superdex 75 16/60 尺寸排阻色谱柱(GE Healthcare)进行纯化。4mg/mL 和 8mg/mL 的 SARS-CoV-2 RBD/单链可变区片段复合体在 16 °C 按照蒸气扩散沉滴法进行结晶筛选。结晶母液成分为 1% w/v 胰蛋白胨, 0.001 M 叠氮化钠, 0.05 M HEPES 钠盐 (pH 7.0), 12% w/v 聚乙二醇 3,350, 或者 containing 0.8 M 四水酒石酸钠钾, 0.1 M Tris pH 8.5, 0.5% w/v 聚乙二醇单甲醚 5,000, 又或者 0.2 M 氯化钠, 0.1 M Tris 碱 pH 8.5, 29% w/v 聚乙二醇 3,350。7 天后柱状晶体开始出现。晶体以 4 M 甲酸钠作为保护剂用干燥氮蒸气进行冷冻保存。

晶体衍射数据的采集分别是在 Beamline PX06SA of the Swiss Light Source, Paul Scherrer Institute, Villigen, Switzerland (波长, 1Å) (PR301077), and Shanghai Synchrotron Radiation Facility (SSRF) BL17U1 (波长, 0.97915 Å) (PR300953 and PR300961) 完成。数据处理使用 MOSFLM 或者 HKL3000 软件包。结构解析使用分子置换的方法和 SARS-CoV-2 RBD 结构数据(PDB ID: 6M0J)在 PHASER 软件中完成。在 COOT 软件中建立原始模型并在 PHENIX 软件里进一步优化。模型的几何结构用 MolProbity 程序进行验证。再用 PyMOL 画出结构图。抗体表位, 互补位点及其相互作用通过 European Bioinformatics

Institute 的 PISA ([http://www.ebi.ac.uk/pdbe/prot\\_int/pistart.html](http://www.ebi.ac.uk/pdbe/prot_int/pistart.html))进行确认。

抗体 Fab 与抗原 Spike-RBD 复合物的结构通过 X 射线晶体学分别获得 2.5Å、2.1Å 和 2.2Å 分辨率的解析结果。结构结果显示，所有三个单抗均识别出 SARS-CoV-2 突出蛋白 RBD (Spike-RBD) 的新型表位。总体而言，PR301077 和 PR300953 结合 RBD 的表位与 hACE2 与 RBD 的结合位点 (也成为受体结合基序, RBM) 相互重叠, 因此阻断了 RBD 与细胞受体 hACE2 的结合。相反, PR300961 结合 RBD 的表位则在受体结合基序 (RBM) 相邻的位置, 从而使 PR300961 成为 SARS-CoV-2 的非阻断性中和抗体。

具体来说, PR301077 结合表位直接位于 SARS-CoV-2 Spike RBD 的受体结合基序 (RBM) 区域; 重链和轻链的隐埋表面积 (BSA) 分别为 873.5Å<sup>2</sup> 和 190.8Å<sup>2</sup>, 从而通过直接的空间位阻, 阻碍了受体 hACE2 与 RBD 的结合。所有的重链互补决定区 (HCDR) 和轻链互补决定区 (LCDR) 都参与与 SARS-CoV-2 RBD 的相互作用, 而其主要的相互作用是极性相互作用以及氢键相互作用。HCDR 的 F27, Y31, Y32, W52, Y53, F59, P101, L103, F105, 以及 LCDR 的 Y35, Y37 和 Y54, 与 RBD 上由 Y449, Y453, L455, F456, F486, Y489, F490, L492, Y495 和 Y505 组成的疏水簇之间通过疏水相互作用互相结合。此外, HCDR 的 Y31, Y32, W52, Y53, D54, S56, N57, R58, G101, G102, R104, R106 与 LCDR 的 H31, N33, Y35, Y54, Y37, T99 还与 RBD 之间形成氢键, 进一步加强两者之间的结合作用。

PR300953 的情况则略有不同。虽然这个抗体同样具有强力的结合, 阻断以及中和活性, 但它与 RBD 之间的隐埋表面积相比 PR301077 要小很多, 其中重链为 368.6Å<sup>2</sup>, 轻链为 220.2Å<sup>2</sup>。PR300953 的互补决定区 (CDR) 形成了一个深凹的结合袋, 并紧密覆盖了 RBM 区的柔性尖端 (RBD 上的 I472 至 F490), 与 RBD 和 hACE2 的结合位点部分重叠。PR300953 与 RBD 之间的相互作用主要通过大量氢键网络稳定。HCDR 的 T33, H35, N52, N55, D57, T59, D99, Y101 和 Y105 识别由 RBD 上 Q474, A475, G476, S477, N487 和 Y489 构成的凸起区域。LCDR 的 Y91, N92, N93, Y94, W96 与和 RBD 上的 S477, S478, N481 和 F486 之间的静电相互作用进一步稳定了抗体与抗原的结合。

#### 实施例 15 部分候选中和抗体通过体外病毒感染法考察其对新变异毒株的中和活性

根据理化性质, 抗原表位组, 以及其他活性结果, 挑选部分实施例 6 中确认的具有中和活性的候选抗体 (PR301077、PR300953、PR300928、PR301446), 用实施例 6 同样的实验方法考察其对最新变异毒株 (南非株) 的中和活性。结果如表 12 所示, PR301077 对武汉株具有很强中和活性, 但是对南非株无效。PR300953 对武汉株和南非株具有同样

的中和活性。PR300928 人源化改造得到的 PR301446 对武汉株和南非株都具有极强的中和活性。

表 12

IC50	武汉株	南非株
PR301077	27.9 ng/mL	No Activity
PR300953	259.9 ng/mL	259.5 ng/mL
PR300928	46.05 ng/mL	Not tested
PR301446	3.19 ng/mL	4.78 ng/mL

虽然以上描述了本发明的具体实施方式，但是本领域的技术人员应当理解，这些仅是举例说明，在不背离本发明的原理和实质的前提下，可以对这些实施方式做出多种变更或修改。因此，本发明的保护范围由所附权利要求书限定。

## 权利要求

1. 一种抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包括重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，所述的轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；其中：

所述 HCDR1 包含如 SEQ ID NO. 1 所示的序列或其变体 1、如 SEQ ID NO. 2 所示的序列或其变体 2、如 SEQ ID NO. 3 所示的序列或其变体 3、如 SEQ ID NO. 9 所示的序列或其变体 7、如 SEQ ID NO. 112、52、28~31 所示的序列构成的群组中的氨基酸序列，所述 HCDR2 包含选自由如 SEQ ID NO. 4 所示的序列或其变体 4、如 SEQ ID NO. 5 所示的序列或其变体 5、如 SEQ ID NO. 6 所示的序列或其变体 6、如 SEQ ID NO. 8 所示的序列或其变体 8、如 SEQ ID NO. 7、32~34、68 和 189 所示的序列构成的群组中的氨基酸序列，所述 HCDR3 包含选自由 SEQ ID NO. 10 或其变体 10、如 SEQ ID NO. 12 所示的序列或其变体 12、SEQ ID NO. 69、35、73、36、37~42 以及 74 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列；

所述 LCDR1 包含选自由如 SEQ ID NO. 14 所示的序列或其变体 14、如 SEQ ID NO. 15 所示的序列或其变体 15、如 SEQ ID NO. 16 所示的序列或其变体 16、如 SEQ ID NO. 17 所示的序列或其变体 17、如 SEQ ID NO. 18 所示的序列或其变体 18、如 SEQ ID NO. 19 所示的序列或其变体 19 以及如 SEQ ID NO. 43 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列，所述 LCDR2 包含选自由如 SEQ ID NO. 20 所示的氨基酸或其变体 20、如 SEQ ID NO. 21 所示的氨基酸或其变体 21、如 SEQ ID NO. 22 所示的氨基酸或其变体 22、SEQ ID NO. 44~47 所示的序列组成的群组中的氨基酸序列，所述 LCDR3 包含选自由如 SEQ ID NO. 23 所示的序列或其变体 9、如 SEQ ID NO. 24 所示的序列或其变体 11、如 SEQ ID NO. 25 所示的序列或其变体 25、如 SEQ ID NO. 26 所示的序列或其变体 26、如 SEQ ID NO. 27 所示的序列或其变体 13、SEQ ID NO. 48~50、95、104 以及 101 组成的群组中的氨基酸序列；

所述变体 1 含有突变 F2Y、S5N/T、S6D/Y/E、Y7N/F 以及 G8T 中的一个或多个，所述变体 2 含有突变 T6S 和/或 T10N，所述变体 3 含有突变 E6R、T8D、M9I 以及 H10Y/L/N 中的一个或多个，所述变体 7 含有突变 G6S；

所述变体 4 含有突变 I2L、N6Q、G7D、T9N、S10T/G 以及 F15L 中的一个或多个，所述变体 5 含有突变 T9S 和/或 K16M，所述变体 6 含有突变 V1I、N8Y、K9R/T/Q、F10Y 以及 Q16K 中的一个或多个，所述变体 8 含有突变 V7A 和/或 K16Q；

所述变体 10 含有突变 A1G、D2G、G3T 以及 E5D 中的一个或多个, 所述变体 12 含有突变 D1E、Y7F 以及 M9L 中的一个或多个;

所述变体 14 含有突变 G10S, 所述变体 15 含有突变 S3T、E4K、D7S、S8T、Y9S、N11Y、F13Y 以及 H15F 中的一个或多个, 所述变体 16 含有突变 T3S 和/或 H10Y、所述变体 17 含有突变 G7D, 所述变体 18 含有突变 I6V、W9Y/D 以及 A11N 中的一个或多个, 所述变体 19 含有突变 H8Q、N10D 以及 F14Y 中的一个或多个;

所述变体 20 含有突变 Y4H/S, 所述变体 21 含有突变 K1A、A2T 以及 K6E/Q 中的一个或多个, 所述变体 22 含有突变 S1R/L、T2A 以及 A6E 中的一个或多个, 所述变体 9 含有突变 N5T, 所述变体 11 含有突变 G3A, 所述变体 25 含有突变 T5S 和/或 T7P, 所述变体 26 含有突变 S7W, 所述变体 13 含有 Q1S、N4T、E5H 以及 G6V/D 中的一个或多个。

2. 如权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段, 其特征在于, 所述的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 或其变体 3 所示、所述的 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 或其变体 4 所示且所述 HCDR3 如 SEQ ID NO. 12 或其变体 12 所示;

或者, 所述的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 或其变体 1 所示、所述的 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 6 或其变体 6 所示且所述的 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38、40、42 或者 74 所示。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的抗体或其抗原结合片段, 其特征在于, 所述变体 1 的序列如 SEQ ID NO. 51、54、55 或者 108 所示, 所述变体 2 的序列如 SEQ ID NO. 11 或者 81 所示, 所述变体 3 的序列如 SEQ ID NO. 109、110、111 或者 13 所示, 所述变体 7 的序列如 SEQ ID NO. 53 所示, 所述变体 4 的序列如 SEQ ID NO. 56~59 以及 SEQ ID NO. 187 中任一所示, 所述变体 5 的序列如 SEQ ID NO. 60 所示, 所述变体 6 的序列如 SEQ ID NO. 106 或者 61~67 中任一个所示, 所述变体 8 的序列如 SEQ ID NO. 107 所示, 所述变体 10 的序列如 SEQ ID NO. 70 或者 SEQ ID NO. 186 所示, 所述变体 12 的序列如 SEQ ID NO. 71、72 或者 188 所示; 较佳地:

所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 51 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 56 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 69 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 11 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 60 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 112 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 32 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 35 所示;

或者, 所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 9 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序

列如 SEQ ID NO. 107 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 2 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 70 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 52 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 33 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 36 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 109 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 71 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 110 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 57 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 12 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 111 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 4 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 12 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 58 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 72 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 81 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 53 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 8 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 59 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 69 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 28 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 68 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 37 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 54 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 106 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 29 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 34 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 39 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 6 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 40 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 55 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 61 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 30 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 62 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 13 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 7 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 41 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 55 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 63 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 31 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 64 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 108 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 65 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 66 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 67 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 42 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 81 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 5 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 186 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 109 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 187 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 188 所示；

或者，所述 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 9 所示、所述 HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 189 所示且所述 HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 73 所示；

更佳地，所述的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 113~137 或其变体所示，所述变体与突变前的序列具有至少 90%、至少 95% 或者至少 99% 的序列同一性，同时至少保留突变前序列的功能；所述变体的序列优选 SEQ ID NO. 164~166、SEQ ID NO. 171~179 中任一个所示。

4. 如权利要求 1~3 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 或其变体 15 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 或其变体 22 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 27 或其变体 13 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 或其变体 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 或其变体 20 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 23 或其变体 9 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 或其变体 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 21 或其变体 21 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 26 或其变体 26 所示；

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 19 或其变体 19 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 如 SEQ ID NO. 24 或其变体 11 所示。

5. 如权利要求 4 所述的抗体或其抗原结合片段, 其特征在于, 所述变体 14 的序列如 SEQ ID NO. 75 所示, 所述变体 15 的序列如 SEQ ID NO. 76 或者 77 所示, 所述变体 16 的序列如 SEQ ID NO. 78 或者 79 所示, 所述变体 17 的序列如 SEQ ID NO. 80 所示, 所述变体 18 的序列如 SEQ ID NO. 82 或者 83 所示, 所述变体 19 的序列如 SEQ ID NO. 84~86 中任一个所示, 所述变体 20 的序列如 SEQ ID NO. 89 或者 90 所示, 所述变体 21 的序列如 SEQ ID NO. 93 或者 94 所示, 所述变体 22 的序列如 SEQ ID NO. 87、88 或者 92 所示, 所述变体 9 的序列如 SEQ ID NO. 96 所示, 所述变体 11 的序列如 SEQ ID NO. 103 所示, 所述变体 25 的序列如 SEQ ID NO. 100 所示, 所述变体 26 的序列如 SEQ ID NO. 105 所示, 所述变体 13 的序列如 SEQ ID NO. 98 或者 99 所示, 较佳地:

所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 14 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 44 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 95 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 87 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 98 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 77 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 88 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 48 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 78 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 25 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 76 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 87 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 27 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 43 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 45 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 99 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 89 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 23 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示;

或者, 所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 17 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 90 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 23 所示;

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 16 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 22 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 100 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 75 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 44 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 101 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 79 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 92 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 49 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 82 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 93 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 50 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 83 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 46 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 102 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 94 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 26 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 84 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 24 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 85 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 18 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 21 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 105 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 86 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 19 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 103 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 84 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 47 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 104 所示；

或者，所述 LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 80 所示、所述 LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 90 所示且所述 LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 96 所示；

更佳地，所述的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138~157、SEQ ID NO. 91、SEQ ID NO. 97 或其变体所示，所述变体与突变前的序列具有至少 90%、至少 95% 或者至少 99% 的序列同一性，同时至少保留突变前序列的功能；所述变体的序列优选如 SEQ ID NO. 158~163、SEQ ID NO. 167~170 以及 SEQ ID NO. 180~183 中的任一个所示。

6. 如权利要求 5 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链可变区的氨

氨基酸序列如 SEQ ID NO. 113 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 114 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 139 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 115 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 140 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 116 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 141 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 117 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 142 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 118 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 143 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 119 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 144 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 120 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 145 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 121 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 146 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 122 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 147 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 123 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 139 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 124 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 148 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 125 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 149 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 126 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 150 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 127 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 151 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 128 所示，且所述轻链可变区的

氨基酸序列如 SEQ ID NO. 152 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 129 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 153 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 130 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 154 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 131 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 155 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 132 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 156 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 133 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 154 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 134 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 157 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 135 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 155 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 136 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 91 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 137 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 97 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 174 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 150 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 173 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 169 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 171 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 167 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 179 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 183 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 177 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示，且所述轻链可变区的

氨基酸序列如 SEQ ID NO. 181 所示；

或者，所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 175 所示，且所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示。

7. 如权利要求 1~6 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，其为全长抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、双特异性抗体、多特异性抗体、重链抗体、单域抗体或单区抗体的形式，或为由上述抗体制得的单克隆抗体或多克隆抗体；

当为全长抗体时，其重链恒定区选自 hIgG1、hIgG2、hIgG3 或 hIgG4 或其变体，其轻链恒定区选自 κ 链或者 λ 链或其突变；较佳地，所述重链恒定区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 185 所示，所述轻链恒定区的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 184 所示。

8. 如权利要求 1~7 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，其特异性结合新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白。

9. 一种分离的核酸，其编码如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

10. 一种包含如权利要求 9 所述的分离的核酸的表达载体。

11. 一种宿主细胞，其包含如权利要求 10 所述的表达载体；优选地，所述宿主细胞为原核细胞或真核细胞。

12. 一种抗新型冠状病毒抗原 S-RBD 蛋白或其抗原结合片段的制备方法，其包含培养如权利要求 11 所述的宿主细胞。

13. 一种药物组合物，其包含如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

14. 如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备治疗新型冠状病毒相关的疾病的药物中的应用。

15. 一种嵌合抗原受体，其包含如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

16. 一种抗体药物偶联物，其包含细胞毒性剂，以及如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

17. 试剂盒，其包括如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 13 所述的药物组合物、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体和/或如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物。

18. 一种套装药盒，其包含药盒 A 和药盒 B，其中：

所述药盒 A 含有如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 13 所述的药物组合物、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体和/或如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物；

所述药盒 B 含有其他抗肿瘤抗体或者包含所述其他抗肿瘤抗体的药物组合物, 和/或由激素制剂、靶向小分子制剂、蛋白酶体抑制剂、成像剂、诊断剂、化疗剂、溶瘤药物、细胞毒性剂、细胞因子、共刺激分子的激活剂、抑制性分子的抑制剂以及疫苗组成的群组中的一种或多种。

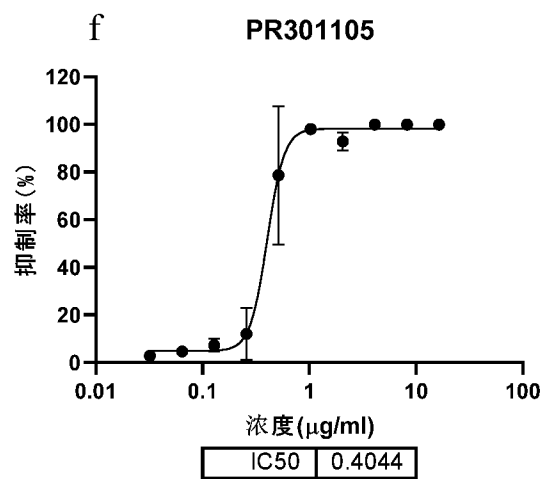
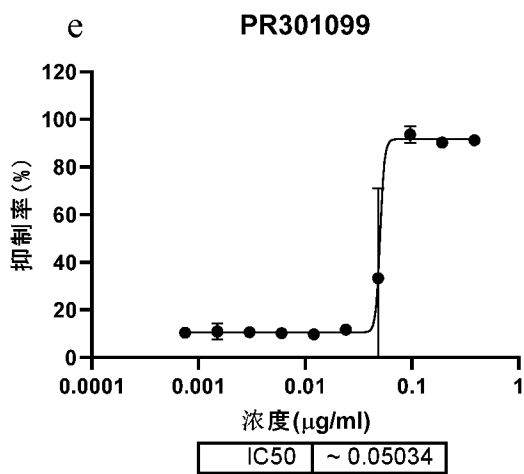
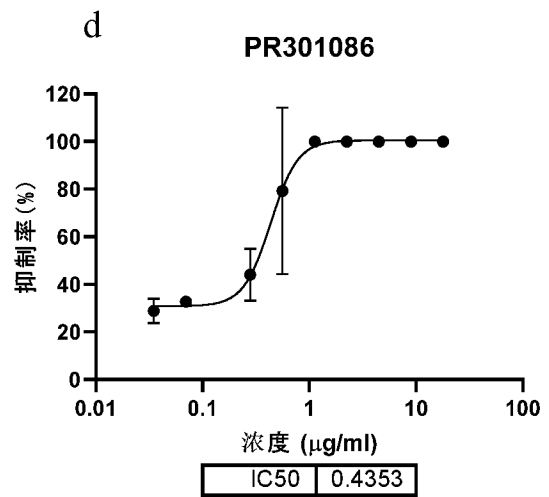
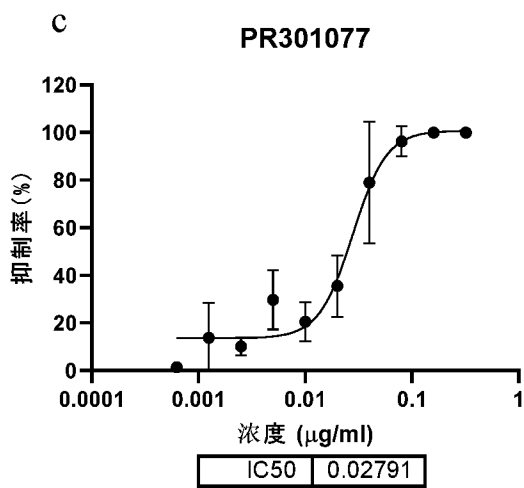
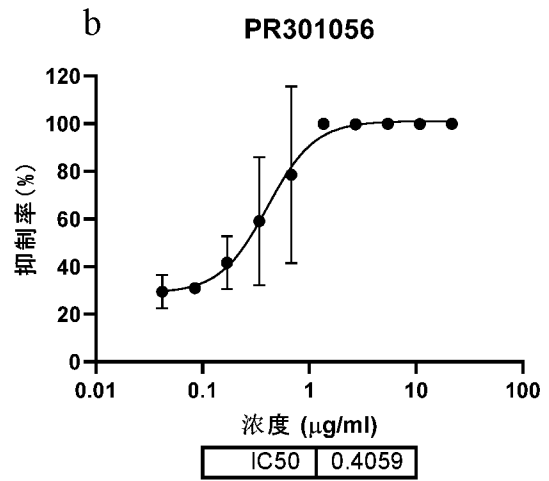
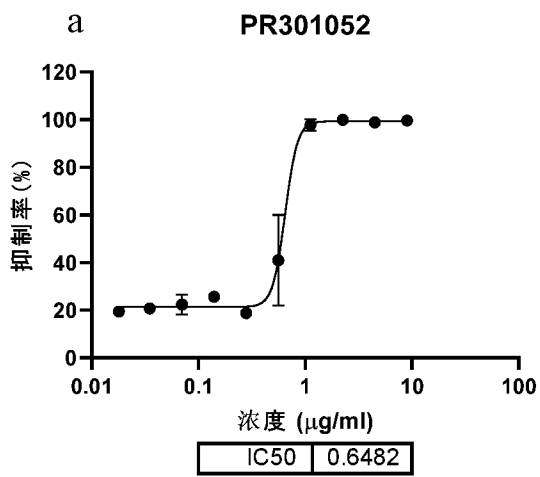
19. 一种诊断、治疗和/或预防冠状病毒介导的疾病或病症的方法, 所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体、如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物或如权利要求 13 所述的药物组合物, 或者使用如权利要求 18 所述的套装药盒治疗有需要的患者。

20. 一种免疫检测或者测定冠状病毒的方法, 其包括使用如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体、如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物或如权利要求 13 所述的药物组合物; 优选地, 所述检测为非诊断和/或治疗目的的。

21. 一种联合疗法, 其包括分别向有需要的患者施用如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体、如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物或如权利要求 13 所述的药物组合物, 和第二治疗剂; 所述第二治疗剂较佳地包含其他抗肿瘤抗体或者包含所述其他抗肿瘤抗体的药物组合物, 和/或由激素制剂、靶向小分子制剂、蛋白酶体抑制剂、成像剂、诊断剂、化疗剂、溶瘤药物、细胞毒性剂、细胞因子、共刺激分子的激活剂、抑制性分子的抑制剂以及疫苗组成的群组中的一种或多种。

22. 一种给药装置, 其特征在于, 所述给药装置包括如权利要求 1~8 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、如权利要求 15 所述的嵌合抗原受体、如权利要求 16 所述的抗体药物偶联物或如权利要求 13 所述的药物组合物;

优选地, 所述给药装置还包括将所述抗体或其抗原结合片段、所述嵌合抗原受体、所述抗体药物偶联物或者所述药物组合物施用于受试者的部件, 例如注射器或输液装置。



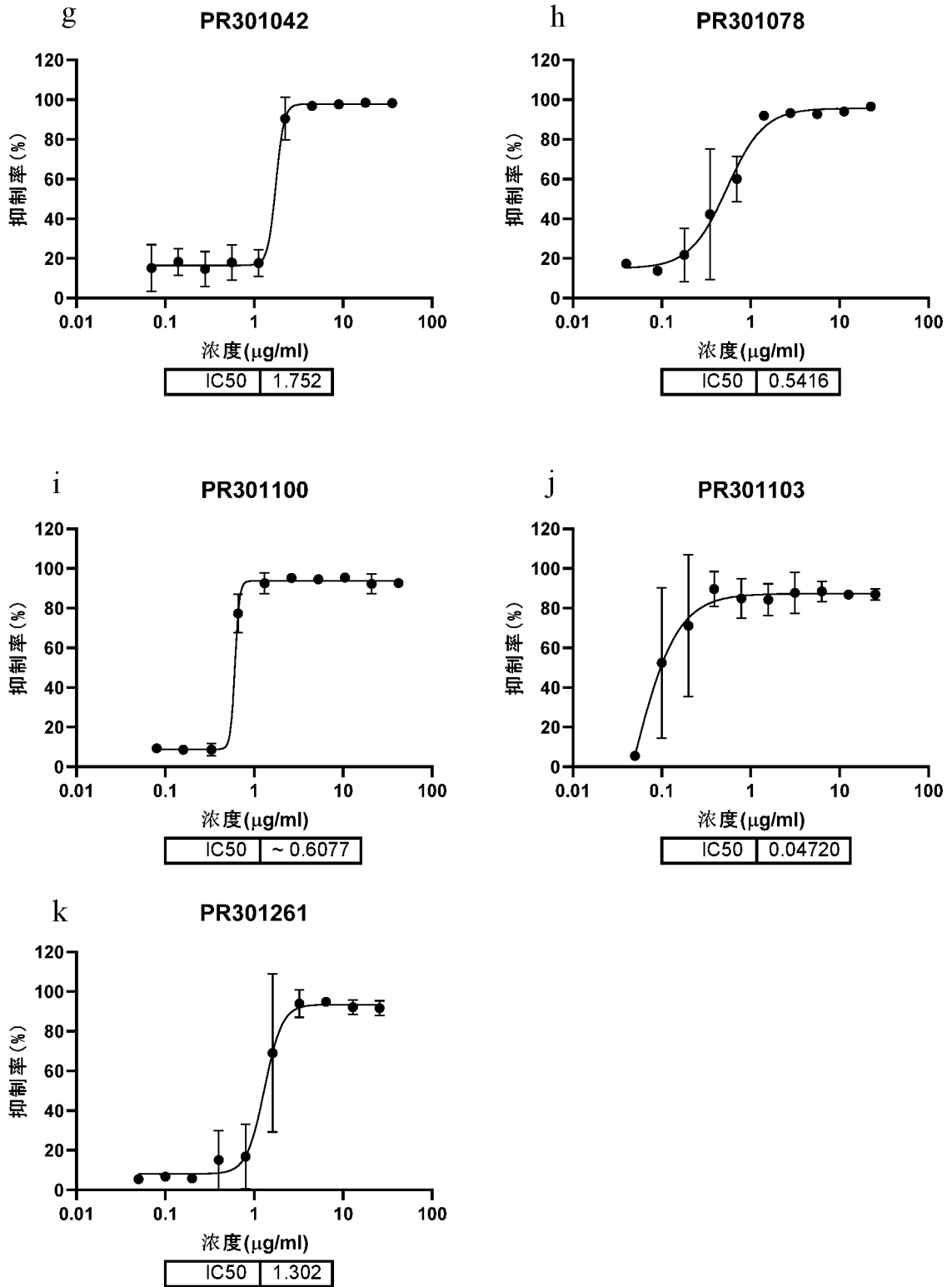
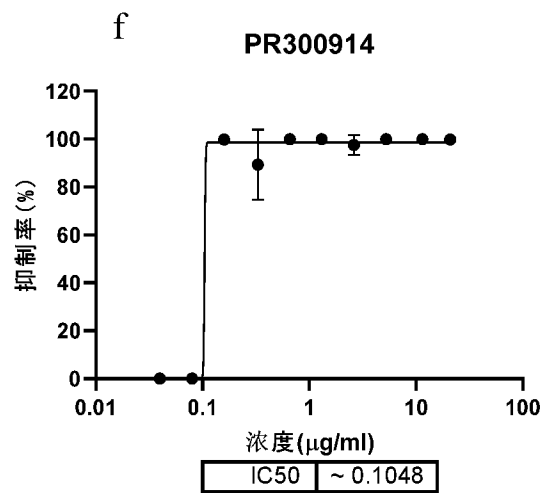
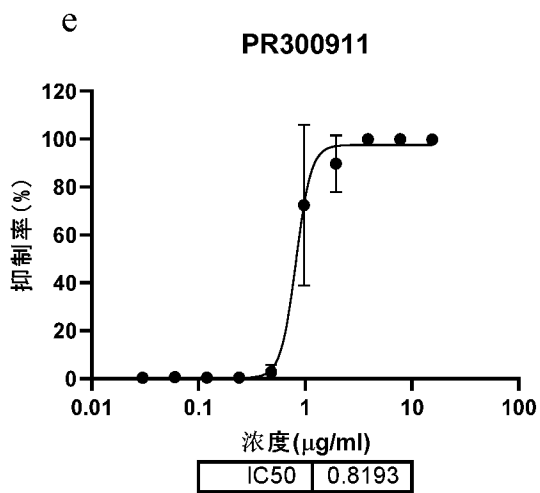
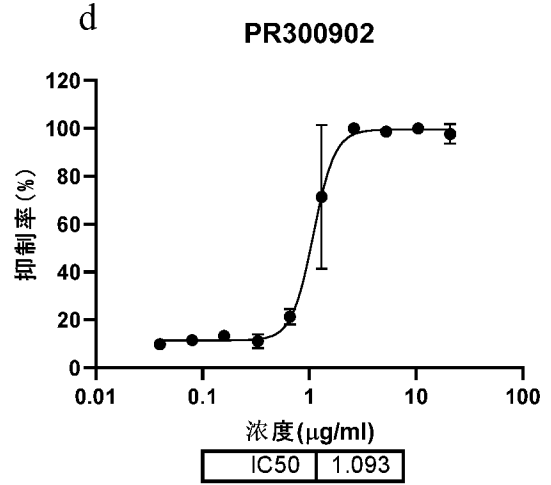
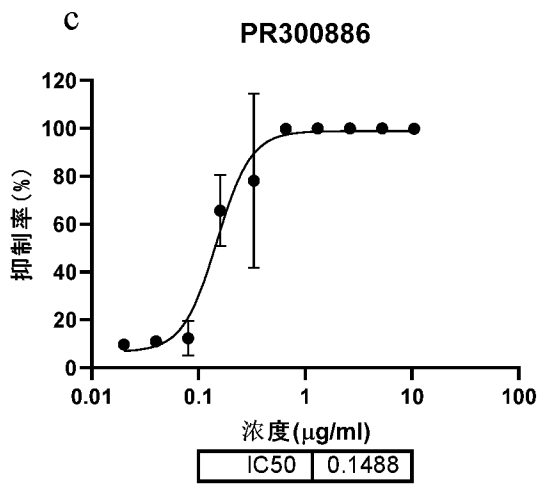
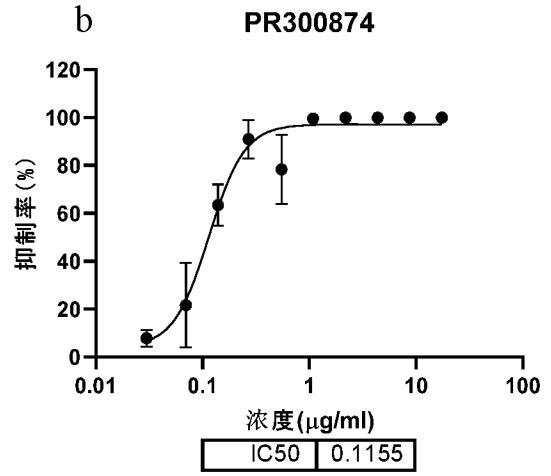
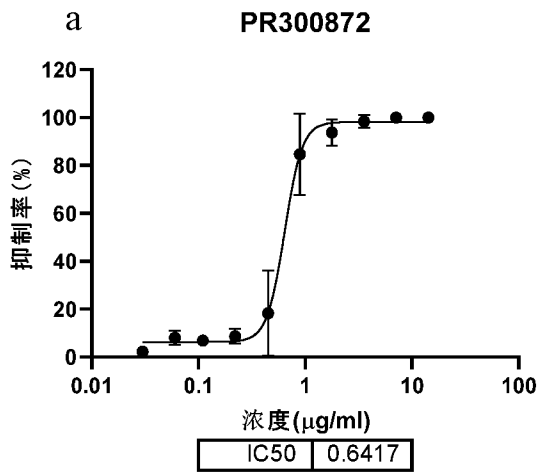
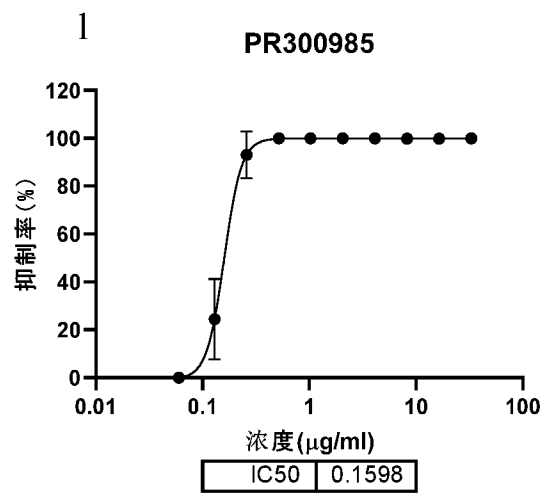
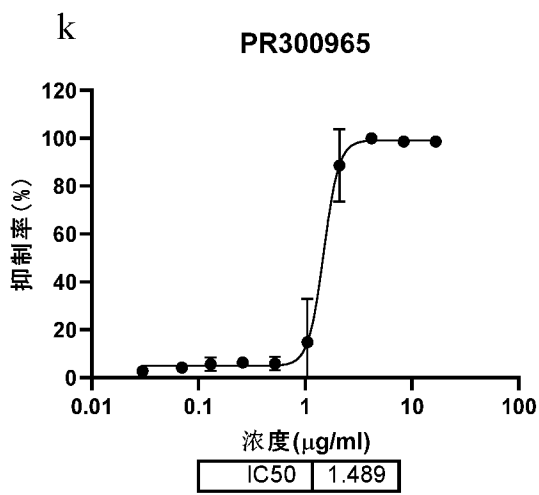
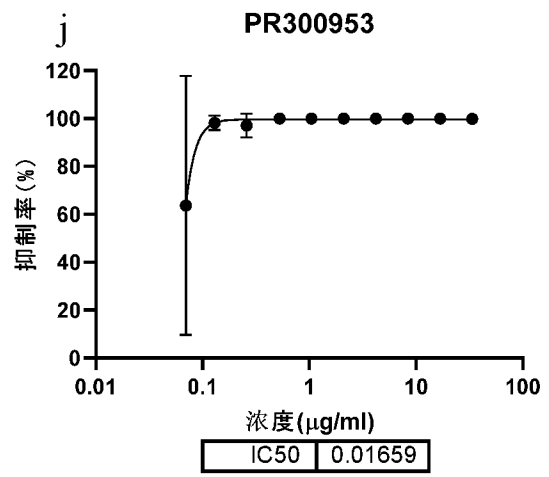
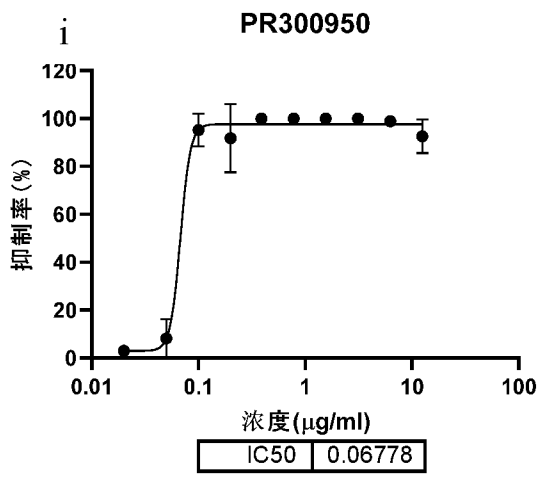
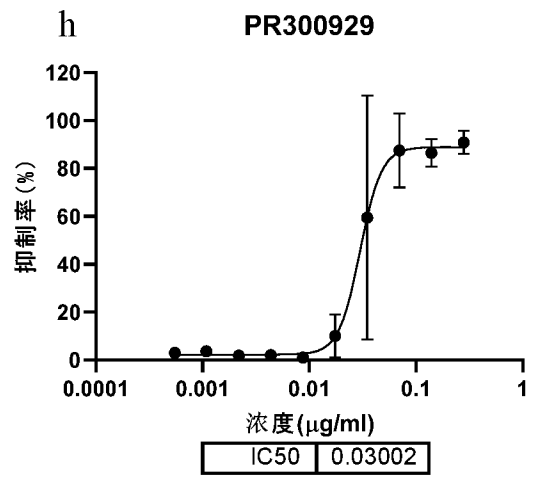
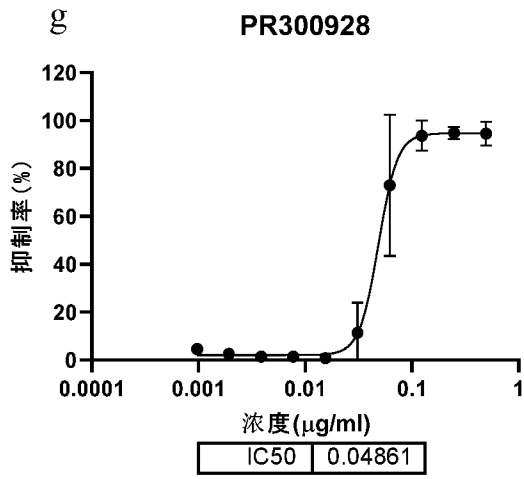


图 1





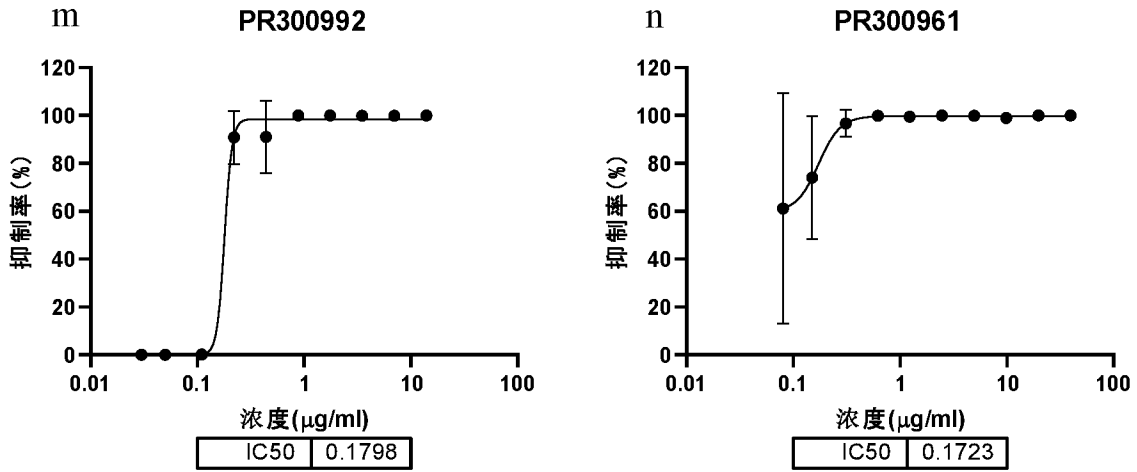


图 2

```

PR300902VH
PR300902VH.huv2
PR300902VH.huv1
PR300902VH.hu

    **,* *****(***)***(***)**
EVKLVESSSSLVQPPSSLKLSCAASGFTFSGYTHNSWVRQTPEKSLEWVAYISNGGANTYY 60
..Q.....R.....A.G.G.....Q..... 60
..Q.....R.....A.G.G..... 60
..Q.....R.....A.G.G.....S..... 60

PR300902VH
PR300902VH.huv2
PR300902VH.huv1
PR300902VH.hu

    *****
PDTVQSRFTISRDNAKNTLVLQNSSLKSEDYAHYVYCARHRDWDGADYWGQGTGVTVSS 119
.....S.....N..RA...V.....M..... 119
.....S.....N..RA...V.....M..... 119
.....S.....N..RA...V.....M..... 119

.*:*****(***)***(***)**
QIVLTQSPAIMSASLGEIEITLTCASSSSVSYNHVYQKMSSTSPKLLIYSTSNLASGVPSR 60
D.Q.....SSL...V.DRV.I.....P.KA..... 60
D.Q.....SSL...V.DRV.I.....P.KA..... 60
D.QM.....SSL...V.DRV.I.....P.KA..... 60
E.....TL.L.P..RA..S.....P.QA.R.....I.A. 60
E.....TL.L.P..RA..S.....P.QA.R.....I.A. 60
E.....TL.L.P..RA..S.....P.QA.R.....I.A. 60

PR300902VL
PR300902VL.huv1.2
PR300902VL.huv1.1
PR300902VL.hu1.0
PR300902VL.hu2.2
PR300902VL.hu2.1
PR300902VL.hu2.0

    *****
FSGSSGTFYSLTISSVEAEDAADYVYCHQWSTYTFSSGQTKLEIK 164
.....D.T.....LQP..F.T.....Q..... 164
.....D.T.....LQP..F.T.....Q..... 164
.....DFT.....LQP..F.T.....Q..... 164
.....D.T.....L.P..F.V.....Q..... 164
.....D.T.....L.P..F.V.....Q..... 164
.....DFT.....L.P..F.V.....Q..... 164

```

图 3



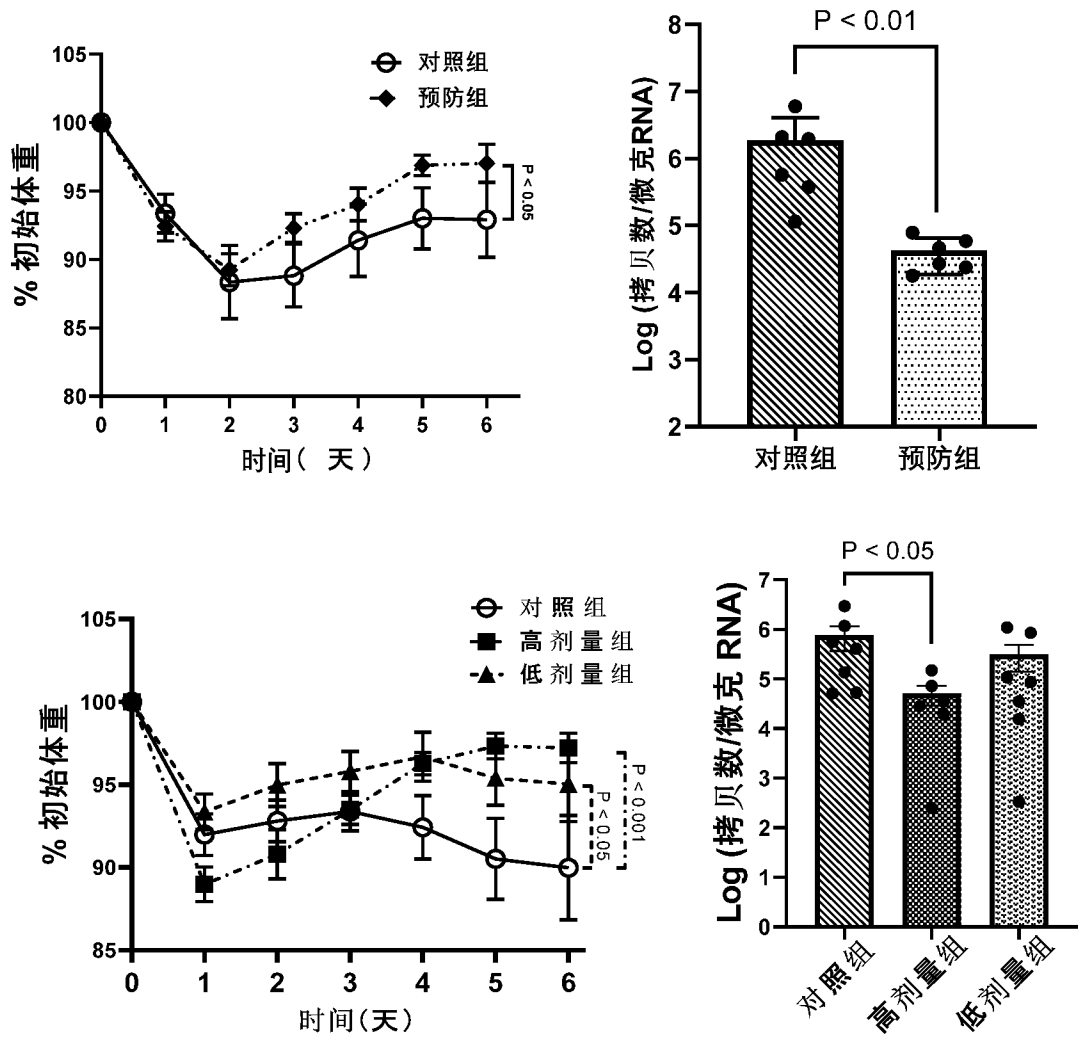


图 6

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/111550

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07K 16/10(2006.01)i; G01N 33/569(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; G01N; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) VEN, TWXT, USTXT, WOTXT, STN, SpringerLink, ISI Web of Knowledge, Elsevier Science Direct, Embase, NCBI, Unipro, Nature, Science, PUBMED, CNKI, 万方, 中国专利生物序列检索系统, 冠状病毒, sars, sars-cov-2, spike, rbd, antibody or antibodies, scfv, 序列.		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ROGERS, T.F. et al. "Isolation of Potent SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies and Protection from Disease in a Small Animal Model" <i>Science</i> , Vol. 369, No. 6506, 01 August 2020 (2020-08-01), pp. 1-12	1-22
A	YUAN, M. et al. "Structural Basis of a Shared Antibody Response to SARS-CoV-2" <i>Science</i> , 13 July 2020 (2020-07-13), pp. 1-10	1-22
A	JU, B. et al. "Human Neutralizing Antibodies Elicited by SARS-CoV-2 Infection" <i>Nature</i> , Vol. 584, 26 May 2020 (2020-05-26), pp. 115-119	1-22
A	KONWARH, R. "Nanobodies: Prospects of Expanding the Gamut of Neutralizing Antibodies Against the Novel Coronavirus, SARS-CoV-2" <i>Frontiers in Immunology</i> , Vol. 11, 23 June 2020 (2020-06-23), ARTICLE 1531, pages 1-6	1-22
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search <b>28 October 2021</b>		Date of mailing of the international search report <b>10 November 2021</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer   Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2021/111550**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YANG, J.Y. et al. "A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity" <i>Nature</i> , Vol. 586, 29 July 2020 (2020-07-29), pp. 572-577	1-22
A	CN 111423508 A (JIANGSU DISEASE CONTROL AND PREVENTION CENTER (JIANGSU PUBLIC HEALTH INSTITUTE)) 17 July 2020 (2020-07-17) entire document	1-22

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - on paper or in the form of an image file.
  - b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: **19, 21**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  - [1] Claims 19 and 21 relate to diagnosis and treatment methods for diseases, and thus do not comply with PCT Rule 39.1 (iv). However, a search has still been carried out on the basis of a corresponding use in drug preparation.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2021/111550**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 111423508 A	17 July 2020	None	



C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	YANG, J.Y. 等. "A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity" NATURE, 第586卷, 2020年 7月 29日 (2020 - 07 - 29), 第572-577页	1-22
A	CN 111423508 A (江苏省疾病预防控制中心江苏省公共卫生研究院) 2020年 7月 17日 (2020 - 07 - 17) 全文	1-22

## 第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a.  作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
  - 纸件或图形文件形式
- b.  根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c.  仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
  - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2.  另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1.  权利要求： 19、21  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
[1] 权利要求19、21涉及疾病的诊断、治疗方法，因此不符合R39.1(iv)的规定，仍然基于其相应的制药用途进行检索。
2.  权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3.  权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2021/111550

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 111423508 A	2020年 7月 17日	无	