(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107206069 A
(43)申请公布日 2017.09.26

(21)申请号 201580054916.8

(22)申请日 2015.10.09

(30)优先权数据
14193094.1 2014.11.13 EP
62/062469 2014.10.10 US
62/067096 2014.10.22 US
62/074842 2014.11.04 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.04.10

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2015/073487 2015.10.09

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/055656 EN 2016.04.14

(71)申请人 埃博灵克斯股份有限公司
地址 比利时根特-茨维纳德
申请人 维克特拉有限公司

(72)发明人 K.阿洛塞里 E.德普拉 M.胡贝尔 T.科尔布 B.米林格 M.格马尼 J.席克 M-L.萨根蒂尼

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 任晓华 罗文锋

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
A61K 47/10(2006.01)
A61K 9/00(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61M 11/00(2006.01)
A61M 15/00(2006.01)
A61M 11/04(2006.01)
A61M 15/02(2006.01)
A61M 16/00(2006.01)
A61M 16/20(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61M 15/06(2006.01)

权利要求书4页 说明书57页
序列表65页 附图34页

(54)发明名称

RSV感染的治疗

(57)摘要

提供了用于治疗幼儿中的RSV感染的方法。更具体地，提供了方法，其中以具体的剂量方案将结合hRSV的F蛋白并且中和RSV感染的多肽施用于幼儿肺部。

CN 107206069 A

1.用于治疗幼儿中的RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用多肽，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D (通过免疫测定测量)结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90 (在微量中和测定中测量)中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量通过吸入施用于所述儿童。

2.用于治疗幼儿中的RSV感染的多肽，其以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，其以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且其包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

3.权利要求1或2的方法或多肽，其中所述沉积剂量为每天0.020-0.035 mg/kg。

4.权利要求3的方法或多肽，其中所述沉积剂量为每天0.024 mg/kg。

5.权利要求1-4任一项的方法或多肽，其中所述吸入的剂量为每天0.20-0.40 mg/kg。

6.权利要求5的方法或多肽，其中所述吸入的剂量为每天0.20-0.35 mg/kg。

7.权利要求6的方法或多肽，其中所述吸入的剂量为每天0.24 mg/kg。

8.权利要求1-7任一项的方法或多肽，其中标称剂量为每天1.00-2.00 mg/kg。

9.权利要求8的方法或多肽，其中所述标称剂量为每天1.00-1.75 mg/kg。

10.权利要求9的方法或多肽，其中所述标称剂量为每天1.20 mg/kg。

11.权利要求1-10任一项的方法或多肽，其中连续2-5天每天施用所述多肽。

12.权利要求11的方法或多肽，其中连续3天每天施用所述多肽。

13.权利要求1-12任一项的方法或多肽，其中所述RSV感染为下呼吸道RSV感染。

14.权利要求1-13任一项的方法或多肽，其中所述幼儿的年龄小于24个月。

15.权利要求14的方法或多肽，其中所述幼儿年龄为1个月至小于24个月。

16.权利要求14的方法或多肽，其中所述幼儿年龄为5个月至小于24个月。

17.权利要求1-16任一项的方法或多肽，其中所述幼儿的年龄小于36个月。

18.权利要求17的方法或多肽，其中所述幼儿年龄为1个月至小于36个月。

19.权利要求17的方法或多肽，其中所述幼儿年龄为5个月至小于36个月。

20.权利要求1-19任一项的方法或多肽，其中所述幼儿是婴儿。

21.权利要求1-19任一项的方法或多肽，其中所述幼儿是幼童。

22.权利要求1-21任一项的方法或多肽，其中所述幼儿经诊断患有下呼吸道RSV感染，但在其它方面是健康的。

23.权利要求1-22任一项的方法或多肽，其中所述幼儿由于下呼吸道RSV感染而住院。

24.权利要求1-23任一项的方法或多肽，其中所述抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域包含具有SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的CDR1、具有 SEQ ID NO: 49-50之一的氨基酸序列的CDR2、和具有 SEQ ID NO: 61的氨基酸序列的CDR3。

25.权利要求24的方法或多肽，其中所述抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域选自SEQ ID NO: 1-34的氨基酸序列之一。

26.权利要求25的方法或多肽，其中所述多肽 选自SEQ ID NO: 65-85的氨基酸序列之

一。

27.权利要求26的方法或多肽，其中所述多肽是SEQ ID NO: 71。

28.权利要求1-27任一项的方法或多肽，其中所述多肽作为单一疗法施用。

29.权利要求1-27任一项的方法或多肽，其中施用至少一种另外的治疗剂。

30.权利要求29的方法或多肽，其中所述另外的治疗剂是支气管扩张剂。

31.权利要求30的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂属于β2-模拟物的类别。

32.权利要求31的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂属于长效β2-模拟物的类别。

33.权利要求32的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂选自福莫特罗或其溶剂化物、沙美特罗或其盐、以及其混合物。

34.权利要求31的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂属于短效β2-模拟物的类别。

35.权利要求34的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂选自沙丁胺醇、特布他林、吡布特罗、非诺特罗、妥布特罗、左旋沙丁胺醇以及其混合物。

36.权利要求35的方法或多肽，其中沙丁胺醇以200微克的剂量施用。

37.权利要求30的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂属于抗胆碱剂类别。

38.权利要求37的方法或多肽，其中所述支气管扩张剂 选自噻托溴铵、氧托铵、异丙托溴铵以及其混合物。

39.雾化器，其包含0.100-0.500 mL的50 mg/mL的多肽组合物，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成。

40.权利要求39的雾化器，其中至少一种抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域包含具有SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的CDR1、具有 SEQ ID NO: 49-50之一的氨基酸序列的CDR2、和具有 SEQ ID NO: 61的氨基酸序列的CDR3。

41.权利要求40的雾化器，其中所述至少一种抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域选自SEQ ID NO: 1-34的氨基酸序列之一。

42.权利要求41的雾化器，其中所述多肽选自SEQ ID NO: 65-85的氨基酸序列之一。

43.权利要求42的雾化器，其中所述多肽是SEQ ID NO: 71。

44.权利要求39-43任一项的雾化器，其是振动筛式雾化器。

45.权利要求39-44任一项的雾化器，其具有固定流的空气或氧气。

46.权利要求39-46任一项的雾化器，用于治疗幼儿中的RSV感染。

47.权利要求46的雾化器，其中所述RSV感染是下呼吸道RSV感染。

48.权利要求46或47的雾化器，其中所述幼儿的年龄小于24个月。

49.权利要求48的雾化器，其中所述幼儿年龄为1个月至小于24个月。

50.权利要求48的雾化器，其中所述幼儿年龄为5个月至小于24个月。

51.权利要求46-50任一项的雾化器，其中所述幼儿的年龄小于36个月。

52.权利要求51的雾化器，其中所述幼儿年龄为1个月至小于36个月。

53.权利要求51的雾化器，其中所述幼儿年龄为5个月至小于36个月。

54.权利要求46-53任一项的雾化器，其中所述幼儿是婴儿。

55.权利要求46-53任一项的雾化器，其中所述幼儿是幼童。

56.权利要求46-55任一项的雾化器,其中所述幼儿经诊断患有下呼吸道RSV感染,但在其它方面是健康的。

57.权利要求46-56任一项的雾化器,其中所述幼儿由于下呼吸道RSV感染而住院。

58.权利要求39-57任一项的雾化器,其中所述多肽作为单一疗法施用。

59.权利要求39-57任一项的雾化器,其中施用至少一种另外的治疗剂。

60.权利要求59的雾化器,其中所述另外的治疗剂是支气管扩张剂。

61.权利要求60的雾化器,其中所述支气管扩张剂属于β2-模拟物的类别。

62.权利要求61的雾化器,其中所述支气管扩张剂属于长效β2-模拟物的类别。

63.权利要求62的雾化器,其中所述支气管扩张剂选自福莫特罗或其溶剂化物、沙美特罗或其盐、以及其混合物。

64.权利要求61的雾化器,其中所述支气管扩张剂属于短效β2-模拟物的类别。

65.权利要求64的雾化器,其中所述支气管扩张剂选自沙丁胺醇、特布他林、吡布特罗、非诺特罗、妥布特罗、左旋沙丁胺醇以及其混合物。

66.权利要求65的雾化器,其中沙丁胺醇以200微克的剂量施用。

67.权利要求60的雾化器,其中所述支气管扩张剂属于抗胆碱剂类别。

68.权利要求67的雾化器,其中所述支气管扩张剂选自噻托溴铵、氧托铵、异丙托溴铵以及其混合物。

69.权利要求39-68任一项的吸入装置,其包含:

(a) 具有振动筛的气溶胶发生器;

(b) 用于待雾化的液体的储库,所述储库与所述振动筛流体连接;

(c) 气体入口开口;

(d) 面罩,其具有

- 壳体,

- 气溶胶入口开口,

- 患者接触面,和

- 在所述壳体中的具有选自0.5至5 mbar范围的呼出阻力的单向呼出阀或双向吸入/呼出阀;和

(e) 流动通道,其从所述气体入口开口延伸至所述面罩的气溶胶入口开口,所述流动通道具有

- 侧向开口,所述气溶胶发生器通过所述侧向开口至少部分地插入至所述流动通道内,

- 以1-20 L/min的流速在所述气体入口开口和所述面罩的气溶胶入口开口之间的恒定流动阻力。

70.权利要求69的吸入装置,其中所述流动通道经大小调节并成形,以在所述侧向开口的紧上游的位置,实现流速2 L/min的至少4 m/s的平均气体速度,和/或其中所述侧向开口上游的流动通道经过成形,以使在气体以1-20 L/min的流速传导穿过所述流动通道时实现层流。

71.权利要求69或70任一项的吸入装置,其中所述气体入口开口成形为管接头,并且其中所述流动通道优选不呈现其它用于接收气体的入口开口。

72.权利要求69-71任一项的吸入装置，其中所述气溶胶发生器经定向，以与所述流动通道的纵轴呈大约90°的角度将雾化的气溶胶发射至所述流动通道内，并且其中所述吸入装置优选包含用于启动和停止气溶胶发生器的操作的开关，其中所述气溶胶发生器的操作包括振动筛的连续振动。

73.权利要求69-72任一项的吸入装置，其中所述面罩具有不超过90 mL、或不超过70 mL，或不超过约50 mL的标称内部体积；或其中所述标称内部体积小于患者的平均潮气量。

74.权利要求69-73任一项的吸入装置，其中所述面罩具有在任一方向都具有不超过3 mbar的阻力的双向吸入-和呼出阀，并且其中所述面罩的标称内部体积不超过约50 mL。

75.权利要求69-74任一项的吸入装置，其中所述侧向开口和所述面罩的气溶胶入口开口之间的流动通道的内部体积不超过30 mL。

RSV感染的治疗

发明领域

[0001] 本发明提供了用于治疗幼儿中的RSV感染的方法。更具体地，本发明提供了用于肺部施用至幼儿的中和RSV的免疫球蛋白单可变结构域的具体剂量方案。

[0002] 发明背景

呼吸道合胞病毒(RSV)是婴儿和很小的幼儿中严重呼吸道感染反复发作的原因，并且导致每年冬季月份期间的流行疫情。RSV通常在进入点：沿着鼻腔和气道的纤毛上皮细胞(Black 2003,Respir. Care 48:209-31;discussion 231-3)引起其原发感染。原发感染通常症状为从温和的上呼吸道疾病到更严重的下呼吸道感染(LRTI)的临床迹象，包括支气管肺炎和细支气管炎(Aliyu,等人2010,Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 3:147-155)，其主要在婴儿中发生。

[0003] 跨膜糖蛋白F和G是RSV的主要表面抗原。附着蛋白(G)介导对细胞受体的结合，而F蛋白促进与细胞膜的融合，使得可以穿透进入宿主细胞(Lopez等人1998,72:6922-8)。基于G蛋白的抗原和遗传变异性，已经鉴定出2种RSV的血清型(A和B)，以及若干种亚型。

[0004] 与G蛋白相反，F蛋白在RSV血清型A和B之间是高度保守的(89%氨基酸同一性)，并且因此被认为是开发病毒进入抑制剂的主要靶标。糖蛋白F还诱导受感染细胞与相邻未受感染细胞的融合。此标志性特征导致出现多核细胞形成(上皮细胞合胞体)，其允许复制的病毒核糖核酸(RNA)的细胞间的传播，从而赋予针对宿主免疫应答的额外防护(Black 2003)。

[0005] RSV感染给卫生保健基础设施造成了显著的负担，并且对于治疗选择仍有很高的医疗需求，尤其是因为还没有可用的疫苗来预防RSV感染。

[0006] 市场上可用的唯一药物产品是针对病毒糖蛋白F的人源化的单克隆抗体(SYNAGIS® (帕利珠单抗))，其预防性地用于有很高风险遭受严重hRSV感染的儿童。SYNAGIS®的使用受到限制(至少部分)是由于这种产品的高成本。由于可用于RSV感染的治疗的药物不足，对于住院婴儿的标准护理大多数都是支持性的(例如，补液/补食、观察、以及需要时的呼吸支持)。显然需要改善的和/或更便宜的预防和/或治疗剂，用于预防和/或治疗hRSV感染。

[0007] 本公开的SEQ ID NO: 65-85是针对人类呼吸道合胞病毒融合蛋白的免疫球蛋白单可变结构域。SEQ ID NO: 65-85由3个通过弹性接头重组连接的抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成。

[0008] SEQ ID NO: 65-85在体内和体外经过广泛地表征(参见例如 WO 2010/139808;其内容整体上通过引用并入)。所述抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域特异性地且强力地结合呼吸道合胞病毒(RSV) F蛋白。在HEp2细胞中的体外微中和研究表明，这些抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域抑制病毒生命周期的早期活动，防止细胞外病毒感染无病毒的(virus naïve)细胞。SEQ ID NO: 65-85的功效在RSV-感染的棉鼠中得到确认。

[0009] 由于SEQ ID NO: 65-85是要用于中和并抑制RSV，因而认为通过气溶胶装置直接递送并在呼吸道中沉积是优选的且最适宜的施用途径。作为雾化器溶液的免疫球蛋白单可变结构域(包括SEQ ID NO: 65-85)的制剂在WO 2011/098552中已有广泛描述。

[0010] SEQ ID NO: 71吸入的安全性、耐受性和药代动力学(PK)参数已经在成年志愿者中的三个I期临床研究进行了进一步评估。这些研究显示出SEQ ID NO: 71的吸入和静脉(i.v.)输注一般都耐受良好。然而,不可能将功效从成年人向儿童,或者从较年长儿童向较年幼儿童外推,因为由RSV引起的下呼吸道疾病很少在这些群体中发生。

[0011] 发明概述

为了应对对于RSV感染的有效预防和/或治疗的这种长期存在却未得以解决的需求(特别是在高风险群体如儿童中),本发明提供了用于将生物制剂向儿童群体肺部施用的剂量方案。更具体地,本发明提供了用于将免疫球蛋白单可变结构域向幼儿(如婴儿和幼童(toddler))肺部施用的剂量方案。

[0012] 如上文所述,对于RSV中和药物,不可能将功效从成年人向儿童,或者从较年长儿童向较年幼儿童外推,因为由RSV引起的下呼吸道疾病很少在这些群体中发生。因此,只能基于建模方法确定剂量。

[0013] 对于儿科群体的剂量确定通常是使用与体重、身高、或年龄相关的函数从成人剂量来按比例确定的。某些治疗剂(例如,如PULMOZYME® (阿法链道酶)),对所有年龄,包括婴儿,均以固定的剂量给予。与这些通常的剂量确定不同,在本发明中设计了建模的方法,其中也考虑了生长及发育的过程,如器官成熟、血流的变化、机体组成、以及消除机制的个体发生学,包括药物在发育中的肺泡腔中的递送和沉积以及其从该处的吸收。

[0014] 本发明出乎意料地确定了,用于将生物制剂向幼儿肺部施用的剂量方案主要是由儿童的生理学以及其成熟中器官的差异来推动的。更特别地,本发明人确定了,本发明中的剂量确定主要是由药物在发育中儿童的肺部中肺部递送、分布和吸收与在成人的肺部中递送、分布和吸收相比的差异来指引的。因此,在RSV感染的儿童中推动全身以及局部PK的首要参数看起来是肺泡吸收腔中药物的量。基于本发明的建模方法,估计使用0.024 mg/kg体重的沉积剂量,在肺泡腔中达到目标浓度(9 μg/ml),在该浓度下获得在临床上有意义的RSV活性降低。由于肺泡表面积(以及相应的肺泡体积),随着体重而按比例变化,对于经体重归一化的剂量,肺泡浓度实际上并不依赖于年龄。

[0015] 基于上文设计的模型和观测,本发明提供了用于将中和RSV的免疫球蛋白单可变结构域向儿科对象肺部施用的剂量方案,该剂量方案在观测到病毒活性的下呼吸道产生局部药物浓度。

[0016] 因此,本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的方法,所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用多肽,所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白,所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV,并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成,其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg、优选每天0.020-0.035 mg/kg、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量,通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面,可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外,在此方法的某些方面,可以在微量中和测定中测量IC90。

[0017] 本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的多肽,其以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白,其以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV,并且其包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成,其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg、优选每天0.020-

0.035 mg/kg、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。在此多肽的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此多肽的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0018] 本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用多肽，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.20-0.40 mg/kg、优选每天0.20-0.35 mg/kg、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0019] 本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的多肽，其以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，其以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且其包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.20-0.40 mg/kg、优选每天0.20-0.35 mg/kg、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。在此多肽的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此多肽的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0020] 本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用多肽，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天1.00-2.00 mg/kg、优选每天1.00-1.75 mg/kg、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测定K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0021] 本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的多肽，其以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，其以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且其包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天1.00-2.00 mg/kg、优选每天1.00-1.75 mg/kg、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。在此多肽的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此多肽的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0022] RSV感染包括上呼吸道的RSV感染，下呼吸道的RSV感染，包括细支气管炎和支气管肺炎，以及与RSV感染相关的疾病和/或病症，如与hRSV相关的呼吸系统病、上呼吸道感染、下呼吸道感染、细支气管炎(肺中小气道的炎症)、肺炎、呼吸困难、咳嗽、(反复发作的)哮鸣和(加重的)哮喘或COPD (慢性阻塞性肺病)。在一方面，所述RSV感染是下呼吸道RSV感染。因此，本发明涉及用于治疗幼儿中的下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有下呼吸道RSV感染的儿童施用多肽，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单

可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg、优选每天0.020-0.035 mg/kg、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量；以每天0.20-0.40 mg/kg、优选每天0.20-0.35 mg/kg、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量；以每天1.00-2.00 mg/kg、优选每天1.00-1.75 mg/kg 、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。本发明还涉及用于治疗幼儿中的下呼吸道RSV感染的多肽，其以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，其以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且其包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg、优选每天0.020-0.035 mg/kg、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量；以每天0.20-0.40 mg/kg、优选每天0.20-0.35 mg/kg、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量；以每天1.00-2.00 mg/kg、优选每天1.00-1.75 mg/kg、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量，通过吸入施用于患有下呼吸道RSV感染的儿童。在此多肽的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此多肽的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0023] 在一方面，所述幼儿的年龄小于24个月。

[0024] 在一方面，所述幼儿的年龄小于36个月。

[0025] 在一方面，所述幼儿年龄为1个月至小于24个月。

[0026] 在一方面，所述幼儿年龄为1个月至小于36个月。

[0027] 在一方面，所述幼儿年龄为5个月至小于24个月。

[0028] 在一方面，所述幼儿年龄为5个月至小于36个月。

[0029] 在一方面，所述幼儿是婴儿。

[0030] 在一方面，所述幼儿是幼童。

[0031] 在一方面，所述幼儿经诊断患有下呼吸道RSV感染但在其它方面是健康的。

[0032] 在一方面，所述幼儿由于下呼吸道RSV感染而住院。

[0033] 所述多肽(也称作“本发明的多肽”)包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本上由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或者由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成。在一方面，本发明的多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白。在一方面，本发明的多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV。在优选的方面，本发明的多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白并且以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV。在此多肽的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此多肽的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0034] 本发明优选的多肽涵盖至少一个(优选两个，最优选三个)抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域，其包含具有SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的CDR1、具有SEQ ID NO: 49-50之一的氨基酸序列的CDR2、和具有 SEQ ID NO: 61的氨基酸序列的CDR3。在一方面，本发明优选的多肽涵盖至少一个(优选两个，最优选三个)抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域，其选自SEQ ID NO: 1-34的氨基酸序列之一。在一方面，本发明的多肽选自SEQ ID NO: 65-85的氨基酸序列之一、优选SEQ ID NO: 71。

[0035] 本发明的多肽可以作为单一疗法施用或者与另一种治疗剂组合施用。在一方面，本发明的多肽作为单一疗法进行施用。在一方面，本发明的多肽作为组合疗法进行施用。

[0036] 因此，本发明还提供了用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括通过吸入向患有RSV感染的儿童同时、分别或依次施用抗-RSV多肽和支气管扩张剂(bronchodilator)，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，其以90 ng/mL或更低的IC90中和RSV，并且其包含三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中将所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg、每天0.020-0.035 mg/kg、或每天0.024 mg/kg的沉积剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0037] 因此，在另一方面，本发明还提供了用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括通过吸入向患有RSV感染的儿童同时、分别或依次施用抗-RSV多肽和支气管扩张剂，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和RSV，并且所述多肽包含三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中将所述多肽以每天0.20-0.40 mg/kg、每天0.20-0.35 mg/kg、或每天0.24 mg/kg的吸入剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0038] 因此，在另一方面，本发明还提供了用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括通过吸入向患有下呼吸道RSV感染的儿童同时、分别或依次施用抗-RSV多肽和支气管扩张剂，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和RSV，并且所述多肽包含三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成、或由三个抗-RSV免疫球蛋白单可变结构域组成，其中将所述多肽以每天1.00-2.00 mg/kg、每天1.00-1.75 mg/kg、或每天1.20 mg/kg的标称剂量，通过吸入施用于儿童。在此方法的某些方面，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此方法的某些方面，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0039] 在一方面，连续2至5天或更多天，每天施用所述多肽，如连续2天、连续3天、连续4天、连续5天，或更多天，每天施用，如例如连续3天。

[0040] 支气管扩张剂优选属于β2-模拟物类别或者属于抗胆碱剂类别。在一方面，支气管扩张剂是长效的β2-模拟物，如例如福莫特罗或其溶剂化物、沙美特罗或其盐、或者其混合物。在另一方面，支气管扩张剂是短效的β2-模拟物，如例如沙丁胺醇、特布他林、吡布特罗、非诺特罗、妥布特罗、左旋沙丁胺醇、或者其混合物。在另一方面，支气管扩张剂是抗胆碱剂，如例如噻托溴铵、氧托铵、异丙托溴铵或者其混合物。

[0041] 本发明还涉及雾化器，其包含0.150-0.400 mL的以50 mg/mL的浓度包含本发明多肽的组合物。在一方面，所述雾化器是振动筛式雾化器。在一方面，所述雾化器具有固定的空气或氧气流。本发明还涉及用于本发明方法的此类雾化器，其包含0.150-0.400 mL的以50 mg/mL的浓度包含本发明多肽的组合物。本发明示例性的雾化器包含0.150-0.400 mL的50 mg/mL组合物、基本由0.150-0.400 mL的50 mg/mL组合物组成、或由0.150-0.400 mL的50 mg/mL组合物组成，所述组合物包含多肽、基本由多肽组成、或由多肽组成，所述多肽以$5x10^{-10}$ M或更低的K_D结合hRSV的F-蛋白，所述多肽以90 ng/mL或更低的IC90中和hRSV，并且所述多肽包含三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域、基本由三个抗-hRSV免疫球蛋白单

可变结构域组成、或由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成。在此雾化器的某些实施方案中，可以通过免疫测定测量K_D。或者或另外，在此雾化器的某些实施方案中，可以在微量中和测定中测量IC90。

[0042] 附图简述

图1是描述本发明中使用的建模策略概览的示意图。标称剂量：填充至雾化器中的SEQ ID NO:71的量；递送剂量：在由振动筛式雾化器生成的，并且在面罩中可用于吸入的气溶胶颗粒中的SEQ ID NO:71的量；吸入剂量：上呼吸道处可用的气溶胶颗粒中SEQ ID NO:71的量(也即，吸入的剂量)；沉积剂量：下呼吸道中沉积的气溶胶颗粒中SEQ ID NO:71的量；全身剂量：经下呼吸道的肺泡衬液吸收的并释放进入循环的SEQ ID NO: 71的量。

[0043] 图2是本发明用于肺部施用的模型中肺器官的图示。模型结构与标准PK-SIM®模型相比的扩展由代表肺泡衬液的粗体框标注(ALF室)。

[0044] 图3是描述PBPK模型构建和拓展步骤的示意图。IP：肺内；IV：静脉内；物化数据：SEQ ID NO: 71的表征。

[0045] 图4是描述如使用MPPD工具计算的，对于静息鼻吸入，沉积在呼吸道不同区域的吸入剂量的分数的图。年龄特异性肺模型：3个月、21个月、23个月和28个月。

[0046] 图5是描述如使用MPPD工具计算的，与来自正常呼吸的结果相比，对于不同的呼吸困难境况，依赖于年龄的沉积在肺泡腔中的吸入剂量的分数的图。

[0047] 图6A-6B是一对图，其提供了实验的与模拟的SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱的比较，其中(A) 在单一剂量IV应用于大鼠(剂量5 mg/kg)之后。符号：实验数据，线：模拟；(B) 在多剂量IV应用于狗(3 mg/kg、10 mg/kg、和30 mg/kg的增量剂量)之后。符号：实验数据，线：模拟。

[0048] 图7是系列图，其提供在肺部应用于大鼠之后(表B-1：研究1)，实验的与模拟的SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱的比较。符号：实验数据，线：模拟。

[0049] 图8是系列图，其提供在肺部应用于大鼠后SEQ ID NO: 71在BALF中的实验量(表B-1：研究1)与SEQ ID NO: 71在肺泡吸收室中模拟量的比较。符号：实验数据(根据肺叶的重量，将来自右肺的实验BALF数据拓展至整个肺部)，线：模拟。

[0050] 图9是系列图，其提供了在肺部应用于大鼠后第1天和第14天实验的与模拟的SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱的比较(表B-1：研究4)。符号：实验数据，线：模拟。

[0051] 图10是系列图，其提供了在肺部应用于大鼠后SEQ ID NO: 71在BALF中的实验量(表B-1：研究4)与在第1和14天肺泡吸收室中的模拟量的比较。符号：实验数据，线：模拟。

[0052] 图11A-11C是系列图，其提供了在以(A) 70 mg；(B) 140 mg；(C) 210 mg肺部应用SEQ ID NO: 71之后(表B-2：研究5)，单一个体的实验的与模拟的血浆浓度-时间谱的比较。符号：实验数据，线：模拟。

[0053] 图12是提供了在IV施用后个体的实验SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱(表B-1：研究6)与从大鼠拓展的人类模型的模拟结果的比较的图。灰线标注了LLOQ。

[0054] 图13是提供了在IV施用后实验个体排出至尿液中的剂量的累积分数(表B-1：研究6) 与从大鼠拓展至人类模型的模拟结果的比较的图。

[0055] 图14A-14B是一对图，其提供了来自第二个临床研究，在单一剂量吸入(A)和多剂量吸入(B)后，个体实验的SEQ ID NO: 71血浆(圆)和ALF (方格)浓度-时间谱(表B-1：研究

6)与从大鼠拓展的人类模型的模拟结果(线)的比较。

[0056] 图15是提供了在IV施用后个体实验的SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱(表B-1:研究6) 与优化的人类IV模型(流体动力学半径:2.46 nm;肾清除率:5%的GFR和另外的血浆清除过程)的模拟结果的比较的图。灰线标注了LLOQ。

[0057] 图16是提供了在IV施用后实验个体排出至尿液中的剂量的累积分数(表B-1:研究6)与优化的人类IV模型(流体动力学半径:2.46 nm;肾清除率:5%的GFR和另外的血浆清除过程)的模拟结果的比较。

[0058] 图17A-B是一对图,其提供了来自第二个临床研究,在单一剂量吸入(A)和多剂量吸入(B)后,个体实验的SEQ ID NO: 71血浆(圆)和ALF (方格)浓度-时间谱(表B-1:研究6)与优化的人类吸收模型(流体动力学半径:2.46 nm,肾清除率:5%的GFR,另外的血浆清除过程,以及肺泡厚度的可选值:0.2 μm)的模拟结果(线)的比较。

[0059] 图18A-18B是一对图,其提供了个体实验的SEQ ID NO: 71血浆浓度-时间谱(A)和累积尿液排出(B)与IV应用后群体模拟的结果(表B-1:研究6)的比较。阴影区:第5-95百分位的群体模拟,实线:群体模拟的中值,圆:个体实验数据。

[0060] 图19A-19B是一对图,其提供了对于单一剂量肺部应用,个体实验的SEQ ID NO: 71血浆(A)和ALF (B)浓度-时间谱与对第二个临床研究的群体模拟结果(表B-1:研究6)的比较。阴影区:第5-95百分位的群体模拟,实线:群体模拟的中值,空心圆:个体实验数据。实心的符号(血浆谱):实验数据的中值,第5和第95百分位(仅在所有个体(n=23)的数据都可得时,才显示)。

[0061] 图20A-20B是一对图,其提供了对于多剂量肺部应用,个体实验的SEQ ID NO: 71血浆(A)和ALF (B)浓度-时间谱与对第二个临床研究群体的模拟结果(表B-1:研究6)的比较。阴影区:第5-95百分位的群体模拟,实线:群体模拟的中值,空心圆:个体实验数据。实心的符号(血浆谱):实验数据的中值,第5和第95百分位(仅在所有个体(n=15)的数据都可得时,才显示)。

[0062] 图21A-21B是一对图,其提供了个体实验的SEQ ID NO: 71的血浆浓度-时间谱与对第一个人类研究的单一剂量吸入(A)和多剂量吸入(B)的群体模拟结果(表B-1:研究5)的比较。阴影区:第5-95百分位的群体模拟,实线:群体模拟的中值,空心圆:个体实验数据,实心的符号:实验数据的中值,第5和第95百分位(仅在所有个体的数据都可得时才显示,对于单一剂量n=18而对于多剂量n=12)。

[0063] 图22A-22B是一对图,其提供了对于0-1周岁的儿童组的ALF浓度-时间曲线。灰线标注了9 μg/ml的目标浓度。A:线性浓度标度;B:对数浓度标度。

[0064] 图23A-23B是一对图,其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)的血浆浓度-时间曲线。施用方案:0-24-48 h。A:线性浓度标度;B:对数浓度标度。

[0065] 图24A-24B是一对图,其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)的ALF浓度-时间曲线。施用方案:0-24-48 h。A:线性浓度标度;B:对数浓度标度。

[0066] 图25A-25B是一对图,其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)的血浆浓度-时间曲线。施用方案:0-24 h。A:线性浓度标度;B:对数浓度标度。

[0067] 图26A-26B是一对图,其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)的ALF浓度-时间曲线。施用方案:0-24 h。A:线性浓度标度;B:对数浓度标度。

[0068] 图27A-27B是一对图，其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)血浆浓度-时间曲线。施用方案：单一剂量。A：线性浓度标度；A：对数浓度标度。

[0069] 图28A-28B是一对图，其提供了对于汇集的群体(5-24个月大的儿童)的ALF浓度-时间曲线。施用方案：单一剂量。A：线性浓度标度；B：对数浓度标度。

[0070] 图29是描述在hRSV-感染的新生羔羊肺中检测病毒抗原的图。在感染后第6天，从右上叶、左上叶、左中叶和左下叶，对每叶取样2个肺片。通过免疫组织化学检测病毒抗原并且对每个视野的受感染的支气管/细支气管或肺泡的数目进行计数。结果表示为组合的三个研究中所有动物的所有经评估的肺叶的均值 ± SEM。

[0071] 图30A-30B是对实施例12中描述的分析的结果进行说明的一对图。A. 病毒病变的裸眼肺检查：Rt Cr：右上叶；Rt Mid：右中叶；Rt Cd：右下叶；Acc：副叶；Lt Cr：左上叶；Lt Mid：左中叶；Lt Cd：左下叶。结果表示为组合的三个研究中所有动物每剂量水平和每肺叶的均值 ± SEM。B. hRSV-感染的新生羔羊中的组织学肺实变得分。对2期羊的肺进行病变评分。实变得分是典型hRSV病变的整体得分。其意味着将若干特征组合成一个整体得分。结果表示为组合的三个研究中所有动物的均值 ± SEM。

[0072] 图31是显示临床综合评分的图。临床综合评分是基于表B-4中所示标准来确定的。结果表示为组合的三个研究中所有动物的每剂量水平的均值 ± SEM。

[0073] 图32是描述在hRSV-感染的新生羔羊中，连续3天或5天，每天通过吸入施用之后，上皮细胞肺衬液中SEQ ID NO: 71浓度的图。ELF中SEQ ID NO: 71浓度衍生自在BALF (在尸检后取样)中测量的浓度(在基于Urea校正法而对稀释归一化之后(值经RBC校正))。BALF是在最后剂量之后24小时取样的。对于组合的所有3个研究，将结果显示为均值 ± SD。阴影线代表目标浓度。

[0074] 图33显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的横截面侧视图。

[0075] 图34显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的透视图。

[0076] 图35显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的俯视图。

[0077] 图36显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的侧视图。

[0078] 图37显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的仰视图。

[0079] 图38显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的前视图。

[0080] 图39显示了根据本发明的吸入装置的具体实施方案的后视图。

[0081] 附图中使用的数字标记的列表

100	吸入装置
101	气溶胶发生器
102	振动筛
103	储库(reservoir)
104	气体入口开口
105	面罩
106	壳体
107	气溶胶入口开口
108	患者接触面
109	阀 (单向呼气或双向吸气/呼气阀)

110	流动通道
111	侧向开口
112	开关
113	管接头
114	盖
115	钥匙锁
116	USB-端口
117	孔
118	基部单元
119	混合通道单元
200	SAINT模型
201	SAINT模型的面部/喉部分
202	SAINT模型的鼻部分
300	玻璃纤维过滤组件。

[0082] 发明详述

定义

除非另有明示或定义,所使用的所有术语都具有其在本领域中的通常含义,其将是技术人员清楚的。可参考例如标准教科书,如Sambrook等人"Molecular Cloning:A Laboratory Manual" (2nd. Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989);F. Ausubel等人eds., "Current protocols in molecular biology", Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987);Lewin "Genes II",John Wiley & Sons, New York,N.Y., (1985);Old等人"Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering", 第二版, University of California Press,Berkeley, CA (1981);Roitt等人"Immunology"(6th Ed.), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001);Roitt等人Roitt's Essential Immunology, 10th Ed. Blackwell Publishing, UK (2001);and Janeway等人"Immunobiology"(6th Ed.), Garland Science Publishing/ Churchill Livingstone, New York (2005),以及本文引用的一般背景技术。

[0083] 除非另有明示,可以进行所有没有具体描述细节的方法、步骤、技术和操作,并且已经按照本身已知的方式来进行,如技术人员清楚的那样。同样可以参考例如标准手册和本文提到的一般技术背景以及其中引用的另外的参考文件;以及还有例如以下综述:Presta 2006 (Adv. Drug Deliv. Rev. 58 (5-6):640-56),Levin和Weiss 2006 (Mol. Biosyst. 2(1):49-57),Irving等人2001 (J. Immunol. Methods 248(1-2):31-45),Schmitz等人2000 (Placenta 21 Suppl. A:S106-12),Gonzales等人2005 (Tumour Biol. 26(1):31-43),其描述了蛋白工程的技术,如亲和性成熟和其它用于改善蛋白如免疫球蛋白的特异性和其它期望性质的技术。

[0084] 核酸序列或氨基酸序列被认为是"*(处于)基本上分离的(形式)*" - 例如,与其所得自的反应介质或培养基相比 - 当其已经与至少一种在所述来源或介质中通常与其关联的其它成分分开时,如另一种核酸,另一种蛋白/多肽,另一种生物成分或大分子或者至少

一种污染物、杂质或微量成分。特别是，当其已经被纯化至少2倍、特别是至少10倍、更特别是至少100倍、以及高达1000倍或更多时，则认为核酸序列或氨基酸序列是“基本上分离的”。“处于基本上分离的形式”的核酸序列或氨基酸序列优选是基本上同质的，如使用适宜的技术确定的，如适宜的层析技术，如聚丙烯酰胺凝胶电泳。

[0085] 当核苷酸序或氨基酸序列分别被描述为“包含”另一核苷酸序列或氨基酸序列时，或者被描述为“基本上由另一核苷酸序列或氨基酸序列组成”时，这意味着后者的核苷酸序或氨基酸序列已经分别掺入至首先提到的核苷酸序列或氨基酸序列内，但是更通常的是这一般意味着首先提到的核苷酸序列或氨基酸序列分别在其序列中包含核苷酸或氨基酸残基的区段，所述区段分别具有与后者的序列相同的核苷酸序列或氨基酸序列，而不论首先提到的序列实际上是如何产生或获得的(其例如可以是通过任何适宜的方法)。通过非限制性实例的方式，当本发明的多肽被描述为包含免疫球蛋白单可变结构域，这可以意味着所述免疫球蛋白单可变结构域序列已经被掺入至本发明多肽的序列内，但是更通常的是这一般意味着本发明的多肽在其序列中含有所述免疫球蛋白单可变结构域的序列，而不论所述本发明的多肽是如何产生或获得的。另外，当核酸或核苷酸序列被描述为包含另一核苷酸序列时，首先提到的核酸或核苷酸序列优选为这样：当其表达为表达产物(例如多肽)时，由后者的核苷酸序列编码的氨基酸序列形成所述表达产物的一部分(换句话说，后者的核苷酸序列与首选提到的较大核酸或核苷酸序列处在同一阅读框中)。

[0086] “基本上由……组成(″essentially consist(s) of″或″consist(s) essentially of″)”是指本发明方法中所用的免疫球蛋白单可变结构域与本发明的多肽完全相同，或者对应于本发明的多肽，其具有有限数目的氨基酸，如1-20个氨基酸残基、例如1-10个氨基酸残基以及优选1-6个氨基酸残基、如1、2、3、4、5或6个氨基酸残基，添加在免疫球蛋白单可变结构域的氨基末端、添加在羧基末端、或添加在氨基末端和羧基末端二者。

[0087] 另外，如本文所用的术语“序列”(例如在术语如“免疫球蛋白序列”、“可变结构域序列”、“免疫球蛋白单可变结构域序列”，“VHH序列”或“蛋白序列”中)，应当一般性地理解为包括相关的氨基酸序列以及编码其的核酸序列或核苷酸序列，除非上下文要求更加局限的理解。

[0088] 将能够(特异性地)结合具体的抗原决定簇、表位、抗原或蛋白(或至少其一部分、片段或表位)，或者对其具有亲和性和/或对其具有特异性的氨基酸序列(如免疫球蛋白单可变结构域、抗体、本发明的多肽、或者一般性地抗原结合蛋白或多肽或者其片段)，称作是“抗”或“针对”所述抗原决定簇、表位、抗原或蛋白。

[0089] 所述亲和性表示分子相互作用的强度或稳定性。亲和性通常以K_D或解离常数给出，其具有摩尔/升(或M)的单位。亲和性也可以表示为缔合常数K_A，其等于$1/K_D$并且具有(摩尔/升)$^{-1}$ (或M^{-1})的单位。在本说明书中，两种分子(如免疫球蛋白单可变结构域或本发明的多肽与hRSV的F-蛋白)之间相互作用的稳定性将主要以它们相互作用的K_D值的方式来表示；技术人员清楚，考虑到$K_A=1/K_D$的关系，通过其K_D值来明确分子相互作用的强度也可以用于计算相应的K_A值。所述K_D-值也从特动力学的意义上表征了分子相互作用的强度，因为其通过众所周知的关系式$DG=RT.\ln(K_D)$ (等价于$DG=-RT.\ln(K_A)$)而与结合的自由能(DG)相关，其中R等于气体常数，T等于绝对温度以及ln表示自然对数。

[0090] 被认为有意义(例如特异性的)的生物学相互作用的K_D通常在10^{-10}M (0.1 nM)至

10^{-5}M (10000 nM)的范围。相互作用越强，其K_D越低。

[0091] 所述K_D也可以表示为复合物的解离速率常数(表示为k_{off})与其缔合速率(表示为k_{on})的比例(也即$K_D = k_{off}/k_{on}$和$K_A = k_{on}/k_{off}$)。解离速率k_{off}具有单位s^{-1} (其中s是秒的SI单位标注)。缔合速率k_{on}具有单位$M^{-1}s^{-1}$。缔合速率可在10^2 $M^{-1}s^{-1}$至大约10^7 $M^{-1}s^{-1}$之间变化，接近生物分子相互作用的受扩散限制的缔合速率常数。解离速率与给定分子相互作用的半衰期相关，其关系为$t_{1/2}=\ln(2)/k_{off}$。解离速率可以在10^{-6} s^{-1} (具有数天的$t_{1/2}$的接近不可逆的复合物)至1 s^{-1} ($t_{1/2}$=0.69 s)之间变化。

[0092] 抗原结合蛋白对抗原或抗原决定簇的特异性结合可以通过本身已知的任何适宜方式来确定，包括例如，Scatchard分析和/或竞争性结合测定，如放射性免疫测定(RIA)，酶免疫测定(EIA)和夹心竞争性测定，以及本领域中本身已知的其不同的变式；以及本文提到的其它技术。

[0093] 两种分子间分子相互作用的亲和性可以经本身已知的不同技术来测量，如众所周知的表面等离子共振(SPR)生物传感器技术(参见例如Ober等人2001，Intern. Immunology 13:1551-1559)，其中一种分子固定在生物传感器芯片上而另一种分子在流动条件下经过所述固定的分子，产生k_{on}、k_{off}的测量值并因此产生K_D (或K_A)值。这可以例如使用熟知的Biacore仪器(Pharmacia Biosensor AB，Uppsala，Sweden)来进行。动力学排斥测定(KinExA) (Drake等人2004，Analytical Biochemistry 328:35-43)测量溶液中的结合活动而无需标记结合配偶体，并且是基于复合物解离的动态排斥。

[0094] GYROLAB™免疫测定系统提供了用于自动化的生物分析和快速样品周转的平台(Fraley等人2013，Bioanalysis 5:1765-74)。

[0095] 技术人员也清楚，如果测量过程以某种方式影响所指分子的内在结合亲和性(例如通过与一种分子的生物传感器上的涂层相关的人工假象)，所测量的K_D可对应于表观K_D。另外，如果一种分子含有超过一个对另一种分子的识别位点，可以测量表观K_D。在此情形中，所测量的亲和性可以受到两种分子相互作用的亲合力的影响。

[0096] 可用于评估亲和性的另一方法是Friguet等人1985 (J. Immunol. Methods 77:305-19)的2-步ELISA (酶联免疫吸附测定)方法。此方法建立了溶液相结合平衡测量，并避免了与分子之一吸附至支持物如塑料上相关的可能的人工假象。

[0097] 然而，对K_D的准确测量可能是非常劳动力密集的，并且因此经常确定表观K_D值来评估两种分子的结合强度。应当注意的是，只要所有的测量都是以一致的方式进行的(例如保持测定条件不变)，表观K_D测量值就可以用作真实K_D的近似，并且因而在本文中的K_D和表观K_D应当以同样的重要性或相关性来对待。

[0098] 术语“病毒的感染性”，如本文所用是指当暴露于所述病毒时，实际被所述病毒感染的活体对象的比例。

[0099] “病毒的中和”，如本文所用是指通过将中和性化合物结合至病毒体来对病毒的感染性(如本文所定义的)进行调节和/或降低和/或防止和/或抑制，如使用适宜的体外、细胞或体内测定(如进一步提到的那些)所测量的。

[0100] 术语“剂量”是指施用于对象的本发明多肽的量。

[0101] “标称剂量”是指填充至雾化器中的本发明多肽的量。标称剂量可以容易地基于填充体积(填充至雾化器中的治疗组合物的体积)和治疗组合物中本发明多肽的浓度来确定。

[0102] “递送剂量”是指由振动筛式雾化器所生成的并且在面罩中可用于吸入的气溶胶颗粒中的本发明多肽的量。

[0103] “吸入剂量”是指上呼吸道处可用的气溶胶颗粒中本发明多肽的量(也即,吸入的剂量)。吸入剂量可以作为百分比(%)从标称剂量计算,并且将取决于雾化器的特征。吸入剂量通常在填充剂量的10%至20%或更多之间变化。

[0104] 吸入剂量可以例如,使用幼儿上气道的气道模型来进行确定。此种模型为例如Sophia解剖学婴儿鼻喉(SAINT)模型(Janssens等人2001,J. Aerosol Med.14:433-41)。所述SAINT模型是9个月大的儿童上气道的解剖学正确的铸型/再现,其使用光固化立体成型技术(stereolithographic technique)构建并且用于研究在幼儿中的气溶胶沉积。可以对应用于本发明方法中的施用条件进行接近地模拟。例如用FOX雾化器施用,显示出从填充至雾化器的总剂量中,预期有大约20%被吸入。

[0105] “沉积剂量”是指沉积于下呼吸道的气溶胶颗粒中本发明多肽的量。沉积剂量可以从吸入剂量计算并且将取决于所吸入的颗粒的特征以及患有RSV感染的幼儿的呼吸模式。感染RSV的儿童中的呼吸模式描述于例如Amirav等人2002 (J. Nucl. Med. 43:487-91),Amirav等人2012 (Arch. Dis. Child 97:497-501),Chua等人1994 (Eur. Respir. J. 7:2185-91),Fok等人1996 (Pediatr. Pulmonol. 21:301-9),Wildhaber等人1999 (J. Pediatr. 135:28-33),Totapally等人2002 (Crit. Care 6:160-5),Mundt等人2012 (Pediatr. 2012:721295)中。

[0106] 沉积剂量应最好使用建模进行确定,将肺的形态学(年龄特异的)、颗粒性质(大小和密度)、以及呼吸模式(频率、容积)考虑在内。考虑了这些参数的模型例如是多路径粒子剂量测定(Multi-Path Particle Dosimetry, MPPD)。所述MPPD工具是年龄特异的对称肺模型,由NIH信息技术中心(NIH Centre for Information Technology) (CIT, US)以及国家公共健康与环境研究院(National Institute of Public Health and the Environment) (荷兰RIVM)所开发,并且可用于计算气溶胶在呼吸道中的沉积。其使得可以对于不同的儿科年龄组、以及对于不同大小的颗粒,来描述头部、气管支气管和肺泡区中的平均区域沉积、以及每个气道等级(airway generation)的平均分布。总的来说,区域沉积取决于肺部的形态学(其是年龄特异的)、颗粒性质(大小和密度分布)和呼吸模式(频率、容积)。对于感染RSV的儿童的静息鼻吸入以及2.63微米的颗粒MAD (质量中值直径),沉积于肺泡腔中的分数(fraction)计算为大约10%的吸入剂量。

[0107] “全身剂量”是指经下呼吸道的肺泡衬液吸收并释放至循环中的本发明多肽的量。所述全身剂量可以容易地通过测量体循环中本发明多肽的浓度来确定。

[0108] 如本发明中所用的“体循环”是心血管系统的部分,其将携氧血液从心脏输送至身体,并将脱氧血液带回心脏。

[0109] 术语“给药”是指施用本发明的多肽。除非有明确的不同指示,在本发明的背景下,术语“给药”是指本发明多肽的肺部施用。

[0110] 儿童一般是介于出生和青春期之间,或处于儿童发育期的人类对象。在本发明的背景下,“幼儿”是指小于24个月或小于36个月(3岁)的儿童。“婴儿(infant)”是很小的人类后代。通常认为该术语与婴孩(baby)同义。术语“婴儿”通常适用于年龄介于1个月至12个月之间的幼儿。当人类儿童学习走路时,可以换为使用术语“幼童”。“幼童”是年龄介于1岁至3

岁之间的儿童。在本发明的背景下，“幼童”是年龄介于1岁至小于24个月之间，或者年龄介于1岁至小于36个月(3岁)的儿童。

[0111] “儿科”是处理婴儿和儿童的医疗护理的医学分科。

[0112] “呼吸道”对于本发明的目的而言等同于“呼吸系统”、“气道组织”或“气道”。所述呼吸系统包含2个不同的区域：传导区，以及气道和血管腔隙位于其中的呼吸区(参见例如“Pulmonary Drug Delivery”，由Karoline Bechtold-Peters和Henrik Luessen编辑，2007，ISBN 978-3-87193-322-6，16-28页)。传导区由鼻、咽部、喉部、气管、支气管、和细支气管组成。这些结构形成了气体进出肺部的连续通道。所述呼吸区见于肺内深处，并且由呼吸性细支气管、肺泡管、和肺泡组成。这些薄壁结构允许吸入的氧气扩散至肺毛细血管来替换二氧化碳。在解剖学上，同样的结构常常分为上呼吸道和下呼吸道。上呼吸道结构见于头部和颈部，并且由鼻、咽部、和喉部组成。下呼吸道结构位于胸部或胸腔，并且包括气管、支气管、和肺(即，细支气管、肺泡管、和肺泡)。因此，下呼吸道是指从气管到肺部的气道部分。

[0113] “肺泡(alveolus，复数：″alveoli″)”是具有空腔形式的解剖学结构。位于肺实质中的肺泡是呼吸树的末端，其从肺泡囊或肺泡管(二者也都是与血液交换气体的部位)凸出。肺泡膜是气体交换界面。富含二氧化碳的血液从身体的其他部分泵至肺泡血管中，其在此通过扩散释放其二氧化碳并吸收氧。

[0114] 所述“肺泡衬液(ALF)”形成覆盖肺泡粘膜、小气道、和大气道的薄流体层。其构成了肺部和外部世界的第一道屏障。在本发明的背景下，此术语是指较深层的肺部。

[0115] 支气管肺泡灌洗(BAL)是医疗过程，其中将支气管镜穿过嘴或鼻进入肺部并将液体喷入肺部的小部分，并且随后收集用于检验。BAL是对肺泡衬液(ALF)的成分进行取样的最常见方式。

[0116] 如本发明中所用的“通过吸入施用”、“肺部施用”、“通过吸入递送”、和“肺部递送”是指将本发明的多肽施用至呼吸道。在本发明中，在这种递送方法中，本发明的多肽存在于(用雾化器)将本发明的多肽雾化而获得的气溶胶中。

[0117] “吸入装置”是用于经肺部将药物递送至体内的医疗装置。

[0118] 如本文所用的“气溶胶”是指分散在气体中细颗粒形式的液体的悬浮液(也即含有微小颗粒的细雾或喷雾)。如本文所用，术语“颗粒”是指液体，例如，小滴。用于将本发明的多肽递送至肺部的药物气溶胶可以经嘴和/或鼻吸入。在肺部递送中，认为生成小于约5或6微米的颗粒对于实现细颗粒级分(FPF)的沉积(也即在呼吸性细支气管和肺泡区域中)而言是必须的(O'Callaghan和Barry，1997，Thorax 52:S31-S44)。气溶胶中的颗粒大小可以表示为体积中值直径(VMD)。所述“体积中值直径”定义为气溶胶的几何颗粒直径，其中50%的气溶胶体积大于此值，并且50%小于此值。“质量中值空气动力学直径(MMAD)”定义为几何平均空气动力学直径，其中50重量%的颗粒小于此值，并且50%大于此值。当气溶胶颗粒的密度为1g/cm^{3}时，VMD和MMAD是相等的。

[0119] 如本发明中所用的术语“雾化”是指通过雾化器(如本文所进一步定义的)将液体转化为薄雾或细喷雾。

[0120] “气溶胶发生器”是能够从液体制剂生成气溶胶的装置或装置组件；例如用于吸入用途的药物组合物。作为同义词，可以使用术语“雾化器”或“雾化工具”。

[0121] 除非另有明确指出，“气体”是指适宜吸入的任何气体或气体混合物。

[0122] “侧向的”或“侧向地”，是指离开装置或装置组件的中间、中心或中轴。

[0123] 如本文所用，术语“对象”和“患者”可互换使用。如本文所用，术语“对象(subject或subjects)”是指人类。

[0124] 如本文所用的短语“药物可接受的”是指由联邦或国家政府的监管机构批准的，或者在美国药典、欧洲药典或其它一般公认的药典中所列的用于动物的，以及更特别是用于人类的。就此而言，其应当与制剂的其它组分相容并且不在对象中引起不可接受的有害作用。在健全医疗监管范围内，其是指，适宜用于接触人类和动物组织而没有过量毒性、刺激性、变应反应、或者其它问题或并发症，与合理的益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物、和/或剂型。

[0125] 如本文所用，术语“药学活性量”是指足以降低一或多种疾病和/或病症的严重性和/或持续时间的治疗剂(例如本发明的多肽)的量。

[0126] 本发明的多肽

本发明的多肽可以是非天然存在的。因而，本发明的多肽可以经过设计、制造、合成、和/或重组以产生非天然存在的序列。

[0127] *免疫球蛋白单可变结构域*

除非另有明示，术语“免疫球蛋白序列” - 用于本文无论是指重链抗体还是指常规的4-链抗体- 是用作概括性的术语以包括完整大小的抗体，其单个链，以及所有其部分、结构域或片段(分别包括但不限于抗原结合结构域，或片段如V_{HH}结构域或V_H/V_L结构域)。另外，如本文所用的术语“序列”(例如在术语如“免疫球蛋白序列”，“抗体序列”，“可变结构域序列”，“V_{HH}序列”或“蛋白序列”中)，应当一般性地理解为包括相关的氨基酸序列以及编码其的核酸或核苷酸序列，除非上下文要求更加局限的理解。

[0128] 术语“免疫球蛋白单可变结构域”与“单可变结构域”可互换使用，定义了其中抗原结合位点存在于单个免疫球蛋白结构域上并且由所述单个免疫球蛋白结构域形成的分子。这将免疫球蛋白单可变结构域与“常规的”免疫球蛋白或其片段(其中两个免疫球蛋白结构域，特别是两个可变结构域相互作用以形成抗原结合位点)区分开。通常，在常规免疫球蛋白中，重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL)相互作用以形成抗原结合位点。在此情形中，VH和VL二者的互补决定区(CDR)都促成抗原结合位点，也即总共6个CDR会参与抗原结合位点的形成。

[0129] 相反，免疫球蛋白单可变结构域的结合位点是由单个V_H或V_L结构域形成的。因而，免疫球蛋白单可变结构域的抗原结合位点是由不超过3个CDR形成的。

[0130] 术语“免疫球蛋白单可变结构域”和“单可变结构域”因而不包含常规免疫球蛋白或其片段，其需要至少两个可变结构域的相互作用来形成抗原结合位点。然而，这些术语却包含其中抗原结合位点由单可变结构域形成的常规免疫球蛋白的片段。

[0131] 一般来说，单可变结构域将是氨基酸序列，其基本上由4个框架区(分别是FR1至FR4)和3个互补决定区(分别是CDR1至CDR3)组成。此种单可变结构域和片段最优选是它们包含免疫球蛋白折叠(immunoglobulin fold)，或者能够在适宜条件下形成免疫球蛋白折叠。由此，所述单可变结构域可以例如包含轻链可变结构域序列(例如V_L-序列)或其适宜的片段；或者重链可变结构域序列(例如V_H-序列或V_{HH}序列)或其适宜的片段；只要其能够形成单一抗原结合单元(也即基本上由单可变结构域组成的功能性抗原结合单元，从而单一抗

原结合结构域不需要与另一可变结构域相互作用以形成功能性抗原结合单元，如在例如需要与另一可变结构域相互作用(例如通过V_H/V_L相互作用)来形成功能性抗原结合结构域的可变结构域(例如存在于常规抗体和scFv片段中)的情形)。

[0132] 在本发明的一个实施方案中，所述免疫球蛋白单可变结构域是轻链可变结构域序列(例如V_L-序列)，或重链可变结构域序列(例如V_H-序列)；更具体地，所述免疫球蛋白单可变结构域可以是衍生自常规四链抗体的重链可变结构域序列或者衍生自重链抗体的重链可变结构域序列。

[0133] 例如，所述单可变结构域或免疫球蛋白单可变结构域(或适宜用作免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸)可以是(单一)结构域抗体(或适宜用作(单一)结构域抗体的氨基酸)，“dAb”或dAb (或适宜用作dAb的氨基酸)或纳米抗体(Nanobody)(如本文所定义的，且包括但不限于V_{HH})；其它单可变结构域，或者其任意一个的任何适宜的片段。

[0134] 对于(单一)结构域抗体的一般性描述，同样可以参考本文所引用的现有技术，以及还有EP 0368684。对于术语“dAb’s”，可以参考例如Ward等人1989 (Nature 341:544-546)，Holt等人2003 (Trends Biotechnol. 21:484-490)；以及例如WO 04/068820、WO 06/030220、WO 06/003388、WO 06/059108、WO 07/049017、WO 07/085815以及Domantis Ltd.的其它公开的专利申请。还应注意，尽管因为并非来自哺乳动物来源而在本发明的背景下是次优选的，但是单可变结构域可以衍生自鲨鱼的某些物种(例如，所谓的“IgNAR结构域”，参见例如WO 05/18629)。

[0135] 特别地，所述免疫球蛋白单可变结构域可以是Nanobody® (如本文所定义的)或其适宜的片段*[注：Nanobody®、Nanobodies®和Nanoclone®是Ablynx N.V.的注册商标]*。对于纳米抗体的一般性描述，可以参考下文进一步的描述，以及参考本文引用的现有技术，如例如WO 08/020079 (16页)中的描述。

[0136] 对于V_{HH}’s和纳米抗体的进一步描述，可以参考Muyldermans 2001 (Reviews in Molecular Biotechnology 74:277-302)的综述文章，以及参考作为一般背景技术提及的以下专利申请：Vrije Universiteit Brussel的WO 94/04678、WO 95/04079和WO 96/34103；Unilever的WO 94/25591、WO 99/37681、WO 00/40968、WO 00/43507、WO 00/65057、WO 01/40310、WO 01/44301、EP 1134231和WO 02/48193；Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB)的WO 97/49805、WO 01/21817、WO 03/035694、WO 03/054016和WO 03/055527；Algonomics N.V.和Ablynx N.V.的WO 03/050531；加拿大国家研究委员会(National Research Council of Canada)的WO 01/90190；Institute of Antibodies的WO 03/025020 (= EP 1433793)；以及Ablynx N.V.的WO 04/041867、WO 04/041862、WO 04/041865、WO 04/041863、WO 04/062551、WO 05/044858、WO 06/40153、WO 06/079372、WO 06/122786、WO 06/122787和WO 06/122825以及Ablynx N.V.的其它的公开的专利申请。还参考这些申请中提到的其它现有技术，以及特别是国际申请WO 06/040153的41-43页中提到的参考文献列表，该列表和参考文献通过引用并入本文。如这些参考文献中所描述的，纳米抗体 (特别是VHH序列和部分人源化的纳米抗体)可特别由存在于一或多个框架序列中的一或多个“标志性残基”来表征。对于纳米抗体的进一步描述，包括纳米抗体的人源化和/或骆驼源化、以及其它修饰、部分或片段、衍生物或“纳米抗体融合体”、多价构建物(包括接头序列的一些非限制性的实例)和用于增加纳米抗体及其制品的半衰期的不同修饰可见于例如

WO 08/101985和WO 08/142164中。

[0137] 因而，在本发明的含义中，术语“免疫球蛋白单可变结构域”或“单可变结构域”包含衍生自非人类来源(优选骆驼)的多肽，优选骆驼重链抗体。它们可以被人源化，如此前所述。另外，该术语包含衍生自非骆驼来源(例如小鼠或人类)的多肽，其已经被“骆驼源化”，如例如在Davies和Riechmann 1994 (FEBS 339:285-290)，1995 (Biotechono. 13:475-479)，1996 (Prot. Eng. 9:531-537)以及Riechmann和Muyldermans 1999 (J. Immunol. Methods 231:25-38)中所述的。

[0138] 术语“免疫球蛋白单可变结构域”涵盖不同来源的免疫球蛋白序列，包括小鼠、大鼠、兔、驴、人类和骆驼免疫球蛋白序列。其也包括完全人类的、人源化的、或嵌合的免疫球蛋白序列。例如，其包含骆驼免疫球蛋白序列和人源化的骆驼免疫球蛋白序列，或骆驼源化的免疫球蛋白单可变结构域，例如骆驼源化的dAbs，如Ward等人1989中所述(参见例如WO 94/04678以及Davies和Riechmann 1994，1995和1996)以及骆驼源化的VH。

[0139] 此种免疫球蛋白单可变结构域同样可以任何适宜的方式以及从任何适宜的来源进行衍生，并且可例如是天然存在的V_{HH}序列(也即来自适宜的骆驼物种)，或者是合成的或半合成的氨基酸序列，包括但不限于部分或完全“人源化的”V_{HH}，“骆驼源化的”免疫球蛋白序列(以及特别是骆驼源化的V_H)，以及纳米抗体和/或通过如亲和性成熟(例如，从合成的、随机的或天然存在的免疫球蛋白序列，如V_{HH}序列开始)的技术获得的V_{HH}，CDR嫁接，镶嵌(veneering)，将衍生自不同免疫球蛋白序列的片段组合，使用重叠引物的PCR组装，以及技术人员熟知的用于免疫球蛋白序列工程化的类似技术；或任何前述的任意适宜组合。

[0140] 免疫球蛋白单可变结构域中氨基酸残基的总数目可以是在110-120个的区间，优选112-115个，且最优选113个(然而，基于本文以及WO 08/020079、WO 06/040153和其中引用的免疫球蛋白单可变结构域相关的参考文献中给出的免疫球蛋白单可变结构域序列的实例，将会清楚氨基酸残基的准确数目也将取决于免疫球蛋白单可变结构域中存在的具体CDR’s的长度)。

[0141] 免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸序列和结构可以认为是(然而并不限于)包含四个框架区或“FR’s”，其在现有技术和本文中分别称作“框架区1”或“FR1”；“框架区2”或“FR2”；“框架区3”或“FR3”；以及“框架区4”或“FR4”；所述框架区被三个互补决定区或“CDR’s”所隔断，其在现有技术中分别称作“互补决定区1”或“CDR1”；“互补决定区2”或“CDR2”；以及“互补决定区3”或“CDR3”。

[0142] 如WO 08/020079 (通过引用并入本文)的58和59页的段落q)中进一步描述的，免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸残基是根据Kabat等人(“Sequence of proteins of immunological interest”, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91)给出的V_H 结构域一般编号来进行编号的，如在Riechmann和Muyldermans 2000 (J. Immunol. Methods 240:185-195；参见例如此出版物的图2)的文章中应用于来自骆驼的V_{HH}结构域，并且相应地，免疫球蛋白单可变结构域的FR1包含位置1-30处的氨基酸残基，免疫球蛋白单可变结构域的CDR1包含位置31-35处的氨基酸残基，免疫球蛋白单可变结构域的FR2包含位置36-49处的氨基酸，免疫球蛋白单可变结构域的CDR2包含位置50-65处的氨基酸残基，免疫球蛋白单可变结构域的FR3包含位置66-94处的氨基酸残基，免疫球蛋白单可变结构域的CDR3包含位置95-102处的氨基酸残基，以及免疫球蛋白

单可变结构域的FR4包含位置103-113处的氨基酸残基。

[0143] 在本发明的方法中，所述免疫球蛋白单可变结构域结合hRSV的F-蛋白并且因此也称作“抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域”或“本发明的抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域”。更具体地，所述抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域可以优选以这样的亲和性(经适宜测量的和/或表示为K_D-值(实际的或表观的)、K_A-值(实际的或表观的)、k_{on}-速率和/或k_{off}-速率)结合hRSV的F蛋白：

- 其以1000 nM至1 nM或更低、优选100 nM至1 nM或更低、更优选15 nM至1 nM或者甚至10 nM至1 nM或更低的解离常数(K_D)结合hRSV的F蛋白；和/或

- 其以10^4 $M^{-1}s^{-1}$至大约10^7 $M^{-1}s^{-1}$之间、优选10^5 $M^{-1}s^{-1}$至10^7 $M^{-1}s^{-1}$之间、更优选大约10^6 $M^{-1}s^{-1}$或更高的k_{on}-速率结合hRSV的F蛋白；和/或

- 其以10^{-2} s^{-1} ($t_{1/2}$=0.69 s)至10^{-4} s^{-1} (提供具有数天的$t_{1/2}$的接近不可逆的复合物)之间、优选10^{-3} s^{-1}至10^{-4} s^{-1}之间、或更低的k_{off}速率结合hRSV的F蛋白。

[0144] 在一方面，所述免疫球蛋白单可变结构域能够中和hRSV。测定分子的中和能力的测定法包括例如Anderson等人(1985，J. Clin. Microbiol. 22:1050-1052；1988，J. Virol. 62:4232-4238)描述的微中和测定，或者此测定的变式，如例如WO 2010/139808中描述的，或例如Johnson等人(1997，J. Inf. Dis. 176:1215-1224)描述的蚀斑减少测定，以及其变式。例如，在对hRSV Long的微中和测定中(如例如WO 2010/139808中所述的；375页，实施例6)，抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域可具有100 nM至1000 nM之间、优选100 nM至500 nM之间、或更低的IC50值。

[0145] 优选的抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域的CDR1、CDR2和CDR3序列的组合显示在表A-1中。在优选的方面，所述抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域具有SEQ ID NO: 46的CDR1、选自SEQ ID NO: 49和50的CDR2、以及SEQ ID NO: 61的CDR3。最优选地，CDR1是SEQ ID NO: 46、CDR2是SEQ ID NO: 49、以及CDR3是SEQ ID NO: 61。表A-1还显示了CDR序列和框架序列的优选组合。

[0146] 非限制性地，用于本发明多肽中的有利免疫球蛋白单可变结构域描述于WO 2010/139808中。优选地，所述抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域选自表A-2中SEQ ID NO: 1-34中的任一个。

[0147] *本发明的多肽*

用于本发明方法的免疫球蛋白单可变结构域可形成多肽(在本文称作“本发明的多肽”)的部分，其可以包含特异性结合hRSV的F-蛋白的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域或(基本上)由其组成，并且其可任选进一步包含一或多个其它氨基酸序列(全都任选经一或多个适宜的接头连接)。术语“免疫球蛋白单可变结构域”还可以涵盖本发明的此类多肽。例如且并非限制性地，所述一个或多个免疫球蛋白单可变结构域可以用作此种多肽中的结合单元，其可任选含有一或多个可用作结合单元的其它氨基酸序列，从而分别提供单价的、多价的或多特异性的本发明的多肽(对于含有一或多个VHH结构域的多价和多特异性多肽及其制备(制品)，还可以参考Conrath等人2001 (J. Biol. Chem. 276:7346-7350)，以及参考例如WO 96/34103，WO 99/23221和WO 2010/115998)。

[0148] 优选地，本发明的多肽涵盖包含三个或更多个单可变结构域形式的抗原结合单元的构建物，如上文所概述的。例如，可以将三个或更多个结合hRSV的免疫球蛋白单可变结构

域(在本文也称作“抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域”)连接起来形成三价的或多价的构建物。优选本发明的多肽由三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域组成。

[0149] 在上文所述的多肽中,所述三个或更多个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域可以直接彼此连接和/或经一或多个适宜的接头或间隔区连接。适宜用于多价多肽的间隔区或接头将是技术人员清楚的,并且一般可以是本领域中用于连接氨基酸序列的任何接头或间隔区。优选地,所述接头或间隔区适宜用于构建意图用于药物用途的蛋白或多肽。

[0150] 一些特别优选的间隔区包括本领域中用于连接抗体片段或抗体结构域的间隔区和接头。这些包括上文引用的一般背景技术中提到的接头,以及例如本领域中用于构建双抗体(diabodies)或ScFv片段的接头(然而,在此方面,需要注意的是,虽然在双抗体和ScFv片段中,所使用的接头序列应当具有允许相关的V_H和V_L结构域在一起形成完整抗原结合位点的长度、弹性度和其它性质,但对于本发明多肽中使用的接头的长度或弹性没有特定的限制,因为每个免疫球蛋白单可变结构域本身即形成完整的抗原结合位点)。

[0151] 例如,接头可以是适宜的氨基酸序列,以及特别是1-50个之间、优选1-30个之间、如1-20个之间或1-10个之间的氨基酸残基的氨基酸序列。广泛使用的肽接头包含Gly-Ser重复,例如1个、2个、3个、4个、5个、6个或更多个重复的(Gly)4-Ser,或者例如$(gly_x ser_y)_z$的类型,如(例如$(gly_4ser)_3$或$(gly_3ser_2)_3$,如WO 99/42077中所述的,或者铰链样区域如天然存在的重链抗体的铰链区域或类似序列(如WO 94/04678中所述的)。其它一些特别优选的接头有聚丙氨酸(如AAA),以及表A-4中提到的接头。

[0152] 其它适宜的接头一般包括有机化合物或聚合物,特别是适宜用在用于药物用途的蛋白质中的那些。比如,聚(乙二醇)部分已用于连接抗体结构域,参见例如WO 04/081026。

[0153] 在一方面,本发明的多肽结合hRSV的F-蛋白。更特别地,本发明的多肽可以优选以这样的亲和性(经适宜测量的和/或表示为K_D-值(实际的或表观的)、K_A-值(实际的或表观的)、k_{on}-速率和/或k_{off}-速率)结合hRSV的F蛋白:

- 其以100 nM至0.1 nM或更低、优选10 nM至0.1 nM或更低、更优选1 nM至0.1 nM或更低、如例如$5x10^{-10}$ M (0.5 nM)或更低的解离常数(K_D)结合hRSV的F蛋白;
- 其以10^4 $M^{-1}s^{-1}$至大约10^7 $M^{-1}s^{-1}$之间、优选10^5 $M^{-1}s^{-1}$至10^7 $M^{-1}s^{-1}$之间、更优选大约10^6 $M^{-1}s^{-1}$或更高的k_{on}-速率结合hRSV的F蛋白;和/或
- 其以10^{-2} s^{-1} ($t_{1/2}$=0.69 s)至10^{-4} s^{-1} (提供具有数天的$t_{1/2}$的接近不可逆的复合物)之间、优选10^{-3} s^{-1}至10^{-4} s^{-1}之间、更优选$5x10^{-3}$ s^{-1}至10^{-4} s^{-1}之间、或更低的k_{off}速率结合hRSV的F蛋白。

[0154] 在一方面,本发明的多肽能够中和hRSV。测定分子的中和能力的测定包括例如Anderson等人(1985,J. Clin. Microbiol. 22:1050-1052;1988,J. Virol. 62:4232-4238)描述的微中和测定,或者此测定的变式,如例如WO 2010/139808中描述的,或例如Johnson等人(1997,J. Inf. Dis. 176:1215-1224)描述的蚀斑减少测定,以及其变式。例如,在对hRSV Long的微中和测定中(如例如WO 2010/139808中所述的;375页,实施例6),本发明的多肽可具有10 pM至1000 pM之间、优选10 pM至250 pM之间、更优选50 pM至200 pM之间或更低的IC50值。本发明的多肽可以具有1 nM至100 nM之间、优选1 nM至10 nM之间、更优选1 nM至5 nM之间或更低的,如例如2 nM或更低的、或90 ng/mL或更低的IC90值。

[0155] 在优选的方面,本发明的多肽优选以这样的亲和性(经适宜测量的和/或表示为

K_D-值(实际的或表观的),如本文所述)结合hRSV的F-蛋白,其以100 nM至0.1 nM或更低、优选10 nM至0.1 nM或更低、更优选1 nM至0.1 nM或更低、如例如$5x10^{-10}$ M (0.5 nM)或更低的解离常数(K_D)结合hRSV的F蛋白;以及另外,本发明的多肽能够以10 pM至1000 pM之间、优选10 pM至250 pM之间、更优选50 pM至200 pM之间或更低的IC50值中和hRSV,或者以1 nM至100 nM之间、优选1 nM至10 nM之间、更优选1 nM至5 nM之间或更低,如例如2 nM或更低、或90 ng/mL或更低的IC90值中和hRSV。在一方面,本发明的多肽以$5x10^{-10}$ M (0.5 nM)或更低的亲和性结合hRSV的F-蛋白并且以90 ng/mM或更低的IC50 值中和hRSV。

[0156] 在具体的方面,本发明的多价的(如三价的)多肽可以包含选自SEQ ID NO: 1-34(表A-2)中任一者的至少三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域或基本由其组成。非限制性地,用于本发明方法的有利的多肽在WO 2010/139808中描述。优选本发明的多肽选自SEQ ID NO: 65-85 (表B-2)中任一者,优选SEQ ID NO: 71。

[0157] SEQ ID NO: 71是三价多肽,其由衍生自仅重链的美洲驼抗体的三个抗-hRSV免疫球蛋白可变结构域组成。所述三个抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域的每一个都结合hRSV的F-蛋白。

[0158] 本发明的多肽可以通过包括以下步骤的方法生产:

a) 在适宜的宿主细胞或宿主生物体或在另一适宜的表达系统中,表达核酸或核苷酸序列,或者编码本发明多肽的遗传构建物;

任选地随后:

b) 分离和/或纯化由此获得的本发明多肽。

[0159] 用于生产本发明多肽的方法可包括以下步骤:

a) 将宿主或宿主细胞培养和/或保持在这样的条件下,从而所述宿主或宿主细胞表达和/或产生至少一种本发明的多肽,

任选地随后:

b) 分离和/或纯化由此获得的本发明多肽。

[0160] 根据本发明一个优选的但非限制性的实施方案,本发明的多肽在细菌细胞中生产,特别是在适宜用于大规模药物生产的细菌细胞中。

[0161] 根据本发明另一优选的但非限制性的实施方案,本发明的多肽在酵母细胞中生产,特别是在适宜用于大规模药物生产的酵母细胞中。

[0162] 根据本发明又另一优选的但非限制性的实施方案,本发明的多肽在哺乳动物细胞中生产,特别是在人细胞中或者在人细胞系的细胞中,以及更特别是在适宜用于大规模药物生产的人细胞中或者人细胞系的细胞中。

[0163] 对于工业规模的生产,用于免疫球蛋白单可变结构域或含有免疫球蛋白单可变结构域的蛋白治疗剂的(工业化)生产的优选的异源宿主包括适宜用于大规模的表达/生产/发酵,并且特别是适宜用于大规模的药物表达/生产/发酵的大肠杆菌(*E. coli*)、毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、酿酒酵母(*S. cerevisiae*)的菌株。此类菌株的适宜实例将是技术人员清楚的。此类菌株以及生产/表达系统也可得自公司,如Biovitrum (瑞典Uppsala)。

[0164] 或者,哺乳动物细胞系,特别是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,可用于大规模的表达/生产/发酵,以及具体用于大规模的药物表达/生产/发酵。此类表达/生产系统同样也可以通过一些上文提及的公司获得。

[0165] 随后，可以使用本身已知的蛋白分离和/或纯化技术，如(制备性的)层析和/或电泳技术，示差沉淀技术，亲和性技术(例如使用与本发明多肽融合的特异性、可切割的氨基酸序列来)和/或制备性的免疫学技术(也即使用针对待分离的氨基酸序列的抗体)，从所述宿主细胞/宿主生物体和/或从其中培养所述宿主细胞或宿主生物体的培养基中分离本发明的多肽。

[0166] 本发明的方法

本发明提供了用于向幼儿肺部施用本发明多肽的方法和剂量方案。由此，这些方法和剂量方案可用于治疗(如本文所定义的)这些幼儿中的RSV感染。

[0167] RSV感染包括轻度的上呼吸道病，以及更严重的下呼吸道感染(LRTI)。下呼吸道RSV感染可包括细支气管炎和支气管肺炎，可能显示出典型的临床迹象和症状如呼吸急促、哮鸣、咳嗽、湿罗音、使用辅助肌，和/或鼻翼煽动。

[0168] RSV感染还可以包括与RSV感染相关的疾病和/或病症。此类与hRSV感染相关的疾病和/或病症的实例将是技术人员清楚的，并且例如包括以下疾病和/或病症：与hRSV相关的呼吸系统病、上呼吸道感染、下呼吸道感染、细支气管炎(肺中小气道的炎症)、肺炎、呼吸困难、咳嗽、(反复发作的)哮鸣和(加重的)哮喘或COPD (慢性阻塞性肺病)。

[0169] 因此，本发明还提供了方法和剂量方案，其用于治疗与hRSV相关的呼吸系统病、上呼吸道感染、下呼吸道感染、细支气管炎(肺中小气道的炎症)、肺炎、呼吸困难、咳嗽、(反复发作的)哮鸣和/或(加重的)哮喘或COPD (慢性阻塞性肺病)。

[0170] 在本发明的背景下，术语“治疗”不仅包括治疗疾病，还一般包括延缓或逆转疾病的进展，延缓与疾病相关联的一或多种症状的发作，减轻和/或缓解与疾病相关联的一或多种症状，降低疾病和/或与之相关联的任何症状的严重性和/或持续时间，和/或防止疾病和/或与之相关联的任何症状的严重性的进一步增加，防止、减少、或逆转由疾病所引起的生理学损害，以及一般对受治疗的患者有益的任何药物作用。

[0171] 本发明的方法提供了将本发明的多肽向对象的呼吸道的递送，以及更具体地，向对象的下呼吸道的递送。用于递送至呼吸道和/或通过吸入递送的方法是技术人员已知的并且例如描述于手册“Drug Delivery:Principles and Applications”(2005) by Binghe Wang,Teruna Siahaan and Richard Soltero (Eds. Wiley Interscience (John Wiley & Sons))中；在“Pharmacology PreTest™ Self-Assessment and Review”(11th Ed.) by Rosenfeld G.C., Loose-Mitchell D.S.中；以及在“Pharmacology”(3rd Edition) by Lippincott Williams & Wilkins, New York; Shlafer M. McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York; Yang K.Y., Graff L.R., Caughey A.B. Blueprints Pharmacology,Blackwell Publishing中。在本发明的方法中，本发明的多肽以可吸入的形式递送。更特别地，所述可吸入形式是通过(使用雾化器)使本发明的多肽雾化而获得的气溶胶。

[0172] 要治疗的对象是人类、更特别是幼儿。如技术人员所清楚的，待治疗的对象将特别是患有RSV感染的幼儿。例如，所述对象可以是患有RSV感染、如下呼吸道RSV感染的幼儿。

[0173] 在一方面，所述对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿。在一方面，所述对象是年龄5个月至小于24个月(如例如5个月至23个月)的幼儿。在一方面，所述对象是婴儿。在一方面，所述对象是幼童。

[0174] 在一方面，对象是经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)的幼儿。在一方面，对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿，其经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)。在一方面，对象为幼儿，其年龄为5个月至小于24个月(如例如5个月至23个月)、其年龄为5个月至小于36个月(如例如5个月至35个月)、其年龄为1个月至小于24个月(如例如1个月至23个月)、或者其年龄为1个月至小于36个月(如例如1个月至35个月)，其经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)。在一方面，对象是经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)的婴儿。在一方面，对象是诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)的幼童。

[0175] 在一方面，对象是经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)但其它方面健康的幼儿。在一方面，对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿，其经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)，但其它方面是健康的。在一方面，对象为幼儿，其年龄为5个月至小于24个月(如例如5个月至23个月)、其年龄为5个月至小于36个月(如例如5个月至35个月)、其年龄为1个月至小于24个月(如例如1个月至23个月)、或者其年龄为1个月至小于36个月(如例如1个月至35个月)，其经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)，但其它方面是健康的。在一方面，对象是经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)但其它方面健康的婴儿。在一方面，对象是经诊断患有RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)但在其它方面健康的幼童。

[0176] 在一方面，所述对象是幼儿，其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院。在一方面，对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿，其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院。在一方面，对象为幼儿，其年龄为5个月至小于24个月(如例如5个月至23个月)、其年龄为5个月至小于36个月(如例如5个月至35个月)、其年龄为1个月至小于24个月(如例如1个月至23个月)、或者其年龄为1个月至小于36个月(如例如1个月至35个月)，其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院。在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院的婴儿。在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院的幼童。

[0177] 在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染的幼儿。在一方面，对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿，其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染。在一方面，对象为幼儿，其年龄为5个月至小于24个月(如例如5个月至23个月)、其年龄为5个月至小于36个月(如例如5个月至35个月)、其年龄为1个月至小于24个月(如例如1个月至23个月)、或者其年龄为1个月至小于36个月(如例如1个月至35个月)，其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染。在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染的婴儿。在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染的幼童。

[0178] 在一方面，对象是由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染，如细支气管炎或支气管肺

炎)而住院并且经诊断患有RSV感染但在其它方面健康的幼儿。在一方面,对象是年龄小于24个月或小于36个月(3岁)的幼儿,其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染,如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染,但在其它方面是健康的。在一方面,对象为幼儿,其年龄为5个月至小于小于24个月(如例如5个月至23个月)、其年龄为5个月至小于36个月(如例如5个月至35个月)、其年龄为1个月至24个月(如例如1个月至23个月)、或者其年龄为1个月至小于36个月(如例如1个月至35个月),其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染,如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染,但在其它方面是健康的。在一方面,对象是婴儿,其由于感染(例如下呼吸道RSV感染,如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有感染,但在其它方面是健康的。在一方面,对象是幼童,其由于RSV感染(例如下呼吸道RSV感染,如细支气管炎或支气管肺炎)而住院并且经诊断患有RSV感染,但在其它方面是健康的。

[0179] 在本发明的方法中,按照经选择的给药方案,将本发明的多肽,如SEQ ID NO: 71,通过吸入施用于患有RSV感染,如下呼吸道RSV感染的对象,从而实现治疗。

[0180] 本发明多肽的活性可以通过在治疗期间测量病毒负载的减少来进行评估。所述病毒负载可以,例如在幼儿的鼻粘液中进行确定。可以例如通过使用吸鼻器的鼻抽吸,橡胶球注射器或鼻拭子,从鼻中取出粘液。所述病毒负载可以通过本领域已知的任何方法来确定,如例如聚合酶链反应,或者培养。

[0181] 本发明多肽的活性也可以通过测量血清中的某些生物标志物如例如IL-8和KL-6来进行评估。

[0182] 白细胞介素-8 (IL-8)是宿主对损伤和感染应答的重要的介质。血清中的IL-8水平可以通过本身已知的任何方法,使用技术人员已知的技术来测量,如例如依照商业可用的测定:人IL-8 ELISA试剂盒(Life Technologies;Cat# KHC0081),人IL-8 ELISA试剂盒(Thermo Fisher Scientific Inc.;Cat# EH2IL8,EH2IL82,EH2IL85),或者AlphaLISA IL8免疫测定研究试剂盒(PerkinElmer Inc.;Cat# AL224C,AL224F)。

[0183] Kerbs von Lungren 6抗原(KL-6)是高分子量糖蛋白,表达在肺泡II型细胞的表面上。KL-6的血清水平在以肺泡上皮细胞损伤为特征的多种间质性肺病中提升。血清KL-6已经与RSV细支气管炎的严重性相关联,并且提出其可以是RSV细支气管炎严重性的有用的生物标志物(Kawasaki等人2009,J. Med. Virol. 81:2104-8)。血清中的KL-6水平可以通过本身已知的任何方法,使用技术人员已知的技术测量,如例如依照商业可用的测定:KL-6人ELISA (BioVendor;Cat# RSCYK243882R), Krebs Von den Lungen 6免疫测定试剂盒(BIOTREND Chemikalien GmbH;Cat# E05k0061),或KL-6 ELISA试剂盒(Biorbyt;Cat# orb153677)。

[0184] 可以进行以下评估,来估计本发明多肽的临床活性:心率和外周毛细血管O_2饱和(SpO_2)水平;进食:(进食辅助的类型,进食的充足性),特别注意进食期间的水分和呼吸舒适度;呼吸率;哮鸣(在呼气/吸气期间);肺部听诊期间的湿罗音/捻发音;白天咳嗽;夜间咳嗽(引起的睡眠障碍);(呼吸肌)收缩(锁骨上,肋间,和肋下);整体表现(活动性,刺激,对环境的兴趣,和反应性);以及住院的持续时间。

[0185] 基于临床活性参数,可以计算另外的得分,如临床反应、呼吸窘迫评估仪器(RDAI)得分和呼吸评估变化得分(RACS)。

[0186] 本发明的多肽抑制病毒生命周期中的早期活动，通过抑制病毒体融合至目标细胞来防止细胞外病毒感染无病毒的细胞。本发明的方法和给药方案用于抑制病毒生命周期中的这些早期活动，并通过抑制病毒体融合至目标细胞来防止细胞外病毒感染无病毒的细胞。

[0187] 在中和测定中(在Hep-2细胞培养物中，如下文进一步描述的)，90 ng/mL的体外浓度被确定为本发明的多肽达到90%的其最大抑制性抗病毒效应的浓度(IC_{90})。随后，体外确定的IC_{90}乘以100，来虑及未知的且难以评估的变量，因为(i) RSV在Hep-2细胞培养物中的复制率可能未完全反应体内的状况，(ii) 广泛的临床菌株的感染性和复制率可以有可观的变化，以及(iii) 虽然已经评估了一定数目的(n=6)临床病毒株对本发明多肽的抑制作用的敏感性，但是它们不能代表临床毒株的整个谱系。

[0188] 认为所得的值(9 微克/mL或更高)是在下呼吸道中导致临床上有意义的RSV感染性减少所需的目标浓度。此浓度计算为足以完全渗透在RSV-感染的婴儿中峰值病毒滴度时存在的所有靶标，并且还得到了在RSV-感染的新生羔羊和棉鼠的非临床研究中显示出功效的局部目标浓度的支持。因此，本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用本发明的多肽，其中所述多肽以9微克/mL(其中此值理解为任选涵盖±0.5微克/mL的范围)或更高的目标浓度，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的本发明的多肽，其中所述多肽以9微克/mL (其中此值理解为任选涵盖±0.5微克/mL的范围)或更高的目标浓度，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0189] 在本发明中，开发了儿科模型(参见图1)以提供适当给药方案的指引，以及预计本发明多肽的局部和全身的PK指数，以及其相关的可变性。主要目标是确保浓度值($C_{低谷}$)在估计的下呼吸道中目标浓度(9 μg/mL)之上，考虑到生长和发育过程如器官成熟、血流中的变化、机体组成、以及消除机制的个体发生学。所述儿科模型是经多步骤的拓展而开发的，初始使用非临床数据、继而使用预测的和测量的本发明多肽在成人中的临床PK参数，以及随后通过拓展(i) 解剖学和生理学参数、(ii) 清除过程、和(iii) 吸收过程而外推至儿童。

[0190] 所开发的儿科模型用于评估在整个治疗期间95%的个体中达到并保持等于或高于估计的目标浓度的局部浓度所需的剂量。基于用此儿科模型进行的模拟，一次施用之后下呼吸道中需要存在的沉积剂量为每kg体重0.024 mg本发明的多肽。因此，本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用本发明的多肽，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量、更具体地以每天0.020-0.035 mg/kg的沉积剂量、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.002 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的本发明的多肽，其中所述多肽以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量、更具体地以每天0.020-0.035 mg/kg的沉积剂量、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.002 mg/kg的范围)，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0191] 进一步的模拟显示出代表RSV-感染的婴儿和幼童的呼吸模式，导致本发明多肽吸入量的~10%沉积在下呼吸道(7-13%，取决于年龄和颗粒大小)。相应地，将需要吸入0.24 mg/kg的剂量(吸入剂量)以在一次施用后于下呼吸道达到0.024 mg/kg的沉积剂量。因此，

本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用本发明的多肽，其中所述多肽以每天0.20-0.40 mg/kg的吸入剂量、更具体地以每天0.20-0.35或0.20-0.45 mg/kg的吸入剂量、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.02 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的本发明的多肽，其中所述多肽以每天0.20-0.40 mg/kg的吸入剂量、更具体地每天0.20-0.45或0.20-0.45 mg/kg的吸入剂量、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.02 mg/kg的范围)，通过吸入施用于感染RSV的儿童。

[0192] 对于气溶胶沉积的研究用Sophia解剖学婴儿鼻喉(SAINT)模型完成，其中使用振动筛式雾化器，更具体地使用具有2 L/min另外的空气或O_2恒定流的振动筛式雾化器，如例如FOX雾化器(Janssens等人2001，Journal of aerosol medicine :the official journal of the International Society for Aerosols in Medicine 14:433-41)施用所述多肽。结果显示出，从填充至雾化器的总剂量中，预期有大约20%被吸入。为确保0.24 mg/kg吸入剂量，填充至雾化器的标称剂量因此将是1.2 mg/kg。因此，本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用本发明的多肽，其中所述多肽以每天1.00-2.00 mg/kg的标称剂量、更具体地以每天1.00-1.75 mg/kg的标称剂量、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的本发明的多肽，其中所述多肽以每天1.00-2.00 mg/kg的标称剂量、更具体地以每天1.00-1.75 mg/kg的标称剂量、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0193] 在一方面，连续2至5天或更多天，每天施用所述多肽，如连续2天、连续3天、连续4天、连续5天或更多天，优选连续3天，每天施用。

[0194] 上述剂量方案在本文也称作“经选择的给药方案”或“经选择的剂量”。

[0195] 在优选的方面，用于本发明上述方法的本发明的多肽是SEQ ID NO: 71。

[0196] 因此，本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以9 微克/mL (其中此值理解为任选涵盖±0.5微克/mL的范围)或更多的目标浓度，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以9微克/mL(其中此值理解为任选涵盖±0.5微克/mL的范围)或更多的目标浓度，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0197] 因此，本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量、更具体地以每天0.020-0.035 mg/kg的沉积剂量、如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.002 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天0.020-0.040 mg/kg的沉积剂量、更具体地以每天0.020-0.035 mg/kg的沉积剂量，如例如每天0.024 mg/kg的沉积剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.002 mg/kg的范围)，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0198] 因此，本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天0.20-0.40 mg/kg的吸入剂量、更具体地以每天0.20-0.35或0.20-0.45 mg/kg的吸入剂量、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.02 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天0.20-0.40 mg/kg的吸入剂量、更具体地以每天0.20-0.35或0.20-0.45 mg/kg的吸入剂量、如例如每天0.24 mg/kg的吸入剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.02 mg/kg的范围)，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0199] 因此，本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天1.00-2.00 mg/kg的标称剂量、更具体地以每天1.00-1.75 mg/kg的标称剂量、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)，通过吸入施用于儿童。本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染，如下呼吸道RSV感染的SEQ ID NO: 71，其中SEQ ID NO: 71以每天1.00-2.00 mg/kg的标称剂量、更具体地以每天1.00-1.75 mg/kg的标称剂量、如例如每天1.20 mg/kg的标称剂量(其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)，通过吸入施用于患有RSV感染的儿童。

[0200] 在一方面，连续2至5天或更多天，每天施用具有SEQ ID NO: 71的多肽，如连续2天、连续3天、连续4天、连续5天或更多天，如例如连续3天，每天施用。

[0201] 药物组合物和制剂

本发明还涉及组合物(在本文也是指“本发明的组合物”或“本发明的制剂”)，其以某种浓度包含本发明的多肽、以及任选存在的本身已知的此类组合物的一或多种其它成分。一般来说，对于药物用途，本发明的多肽可以可以配制为制剂或组合物(也称作“本发明的药物组合物”或“本发明的药物制剂”)其以某种浓度包含本发明的多肽和至少一种药物可接受的载体、稀释剂或赋形剂和/或佐剂，以及任选存在的一或多种其它药物学活性组分。

[0202] 本发明的多肽可以本身已知的任何适宜的方式进行配制和施用，其中可以参考例如标准手册，如Remington's Pharmaceutical Sciences 1990 (18th Ed.,Mack Publishing Company,USA),Remington 2005 (the Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed.,Lippincott Williams and Wilkins);或者治疗性抗体的手册(S. Dubel, Ed.), Wiley,Weinheim,2007 (参见例如252-255页)。

[0203] 由于本发明的多肽和/或包含其的组合物是通过吸入施用的(也即施用至呼吸道)，因此所述制剂优选是适宜于通过吸入施用的形式。就此而言，所述药物组合物将包含本发明的多肽和适宜于通过吸入施用至对象的至少一种载体、稀释剂或赋形剂，以及任选存在的一或多种其它活性组分。

[0204] 术语“赋形剂”如本文所用是指惰性物质，其通常作为用于药物稀释剂、载剂、防腐剂、粘合剂或稳定剂，其给予制剂有益的物理性质，如提高的蛋白稳定性、提高的蛋白溶解度、和/或减低的粘度。赋形剂的实例包括但不限于，蛋白(例如，血清白蛋白)，氨基酸(例如，天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、甘氨酸)，表面活性剂(例如，十二烷基硫酸钠(SDS)，聚山梨醇酯如Tween 20和Tween 80，泊洛沙姆如Pluronics，和其它非离子表面活性剂如聚(乙二醇)(PEG))，糖(例如，葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和海藻糖)，多元醇(例如，甘露醇和山梨

醇)，脂肪酸和磷脂(例如，烷基磺酸酯和辛酸酯)。关于赋形剂的另外的信息，参见Remington's Pharmaceutical Sciences (Joseph P. Remington, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton,PA)，其以整体通过引用并入本文。

[0205] 短语"适宜通过吸入施用的载体"如本文所用是指药物可接受的材料、组合物或载剂，如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、或溶剂，其参与例如在呼吸道中物质(例如预防或治疗剂)的携带或传送道。每种载体必须在与制剂的其它组分相容且对患者无毒害的意义上是"可接受的"。

[0206] 本发明组合物中包含的载体优选是水成载体，如例如蒸馏水、MilliQ®水或注射用水(WFI)。所述组合物可以用任何药物可接受的缓冲剂来进行缓冲。用于本发明组合物的优选的缓冲剂包括(而并不限于) PBS、磷酸盐缓冲剂、TrisHCl、组氨酸缓冲剂和柠檬酸盐缓冲剂，如例如组氨酸pH 6.0-6.5、磷酸盐缓冲剂pH 7.0、TrisHCl pH 7.5和柠檬酸盐缓冲剂/磷酸盐缓冲剂pH 6.5，特别是磷酸盐(NaH_2PO_4/Na_2HPO_4)缓冲剂pH 7.0。其它药物可接受的载体也可以可用于本申请的制剂。可用作药物可接受载体的材料的一些实例包括：糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；甘醇，如丙二醇；多元醇，如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；酯，如油酸乙酯和十二酸乙酯；缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；无至热原水；等渗盐水；Ringer溶液；乙醇；磷酸盐缓冲剂溶液；和其它用于药物制剂的非毒性相容性物质。

[0207] 如实施例中所演示的，已使用50 mg/mL的浓度用于本发明多肽的肺部施用。因此预期也可以使用具有这些浓度周围的值的其它浓度(也即还有在这些值之外的，也即，高于或低于这些值)。例如，可以使用25、30、35、40、45、55、60、65、70、75 mg/mL的浓度。技术人员将清楚，考虑到本发明中确定的具体标称剂量(mg/kg)，填充至雾化器中的药物组合物的体积(填充体积)将取决于所述药物组合物中本发明多肽的浓度。

[0208] 在本发明的方法中，要填充至雾化器以确保临床上有意义的RSV感染性减少的标称剂量确定为每天1.00-2.00 mg/kg、更具体地为每天1.00-1.75 mg/kg、如例如每天1.20 mg/kg (其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)。取决于所述幼儿的重量，应载入至雾化器中的药物组合物(以特定的浓度，如例如50 mg/mL的本发明的多肽)的体积(也称作"填充体积")将会改变。依照其它吸入产品，本发明多肽的施用剂量(以及由此的填充体积的药物组合物(以特定浓度包含本发明的多肽))可以针对(精准的)体重类别进行标准化(对于50 mg/mL的药物组合物参见例如表B-2和表B-6)。

[0209] 吸入装置 - 雾化器

本发明还涉及药物装置，其适宜用于通过吸入递送本发明的多肽以及适宜用于包含本发明多肽的组合物。因此，本发明涉及以选定的剂量包含本发明多肽的此类装置。

[0210] 各种吸入系统例如在综述("Pulmonary Drug Delivery"，Bechtold-Peters and Luessen，eds.，supra)的129-148页中有描述。在本发明的方法中，所述装置是用于液体(例如细固体颗粒或小滴的悬液)的包含本发明多肽的吸入器。优选此装置是气溶胶递送系统或者包含本发明多肽的雾化器。

[0211] 用于本发明方法的气溶胶递送系统可可以包含容纳本发明组合物的容器以及与其连接的气溶胶发生器。所述气溶胶发生器经构建和安置以产生本发明组合物的气溶胶。

[0212] 在优选的方面，所述气溶胶递送系统是雾化器。雾化器产生含有药物的液体小滴的薄雾以用于吸入。"雾化"，如本发明所用，是指将液体转化成细雾。雾化器将药品与压缩

的空气混合以建立细薄雾(患者通过面罩或吸嘴来将其吸入)。

[0213] 优选使用振动筛式雾化器。振动筛式雾化器分为被动和主动振动筛式装置(Newman 2005,J. Appl. her. Res.5:29-33)。被动振动筛式装置(例如Omron MICROAIR® NE-U22 雾化器)利用具有6000微米大小的孔的穿孔盘。附着至换能器变幅杆(transducer horn)的振动压电晶体在位于其之前的穿孔盘中诱导“被动的”振动,导致液体从孔基础以及气溶胶的生成。主动振动筛式装置(例如AERONEB® Pro雾化器)可以利用包含气溶胶发生器的“微泵”系统,所述气溶胶发生器由具有达1000个圆顶状缝隙的盘和振动元件(其在应用电流时收缩和扩张)组成。这导致筛网上移或下移几微米,挤出液体并生成气溶胶。振动筛式雾化器的其它实例包括Akita2 Apixneb (Activaero,现在为德国Vectura)、EFLOW® (德国PARI GmbH,Gräfelingen;也参见US 5,586,550)、AERONEB® (Aerogen, Inc., Sunnyvale, California;也参见US 5,586,550; US 5,938,117; US 6,014,970; US 6,085,740; US 6,205,999)、或FOX雾化器(Activaero,现在为德国Vectura),全都适于儿科用途。

[0214] 在优选的方面,施用连续流雾化器。考虑到患有细支气管炎的年幼婴儿可能需要额外的氧气或空气供应,推荐通过递送系统保持2 L/min的连续氧气或空气供应。

[0215] 因此,可以在有或者无额外空气或O_2流的情况下使用所述雾化器。优选地,在有额外空气或O_2流的情况下使用所述雾化器,如2 L/min的额外空气或O_2流。

[0216] 用于将本发明多肽递送至患者的示例性的吸入装置可以包含(a) 具有振动筛的气溶胶发生器;(b) 用于要雾化的液体的储库,所述储库与振动筛有流体连接;(c) 气体入口开口;(d) 面罩,其具有壳体、气溶胶入口开口、患者接触面、和壳体中的单向呼出阀或双向吸入/呼出阀(具有在0.5-5 mbar的范围内选择的呼出阻力);和(e)从气体入口开口延伸至面罩的气溶胶入口开口的流动通道,所述流动通道具有侧向开口,通过该侧向开口气溶胶发生器至少部分地插入至流动通道内,以及以1至20 L/分钟的流速在气体入口开口和面罩的气溶胶入口开口之间的恒定流动阻力。

[0217] 此种吸入装置一个示例性实施方案的横截面侧视图可见图33。图33显示了吸入装置 (100);具有振动筛(102)的气溶胶发生器(101);与所述振动筛(102)有流体联通的储库(103);气体入口开口(104);面罩(105),其具有壳体(106)、气溶胶入口开口(107)、患者接触面(108)、和单向呼出阀或双向吸入/呼出阀 (109);和流动通道(110),其从气体入口开口(104)导向面罩(105)的气溶胶入口开口(107)。所述流动通道(110)具有侧向开口(111),通过该侧向开口气溶胶发生器(101)至少部分地插入至其下游末端。在所示的实施方案中,储库覆盖有旋盖(114)以及气体入口开口(104)形状为(或装配有)管接头(113)。

[0218] 图33的示例性的吸入装置分别在图34的透视侧视图中、图35-37的侧视图和底视图中进进一步展示。此示例性吸入装置的前视图和后视图分别在图38和39中提供。

[0219] 在一方面,本发明方法中使用的吸入装置的振动筛(102)可以包含1,000至4,000个开口,其最小直径主要是在1.5至3.0 μm的范围。

[0220] 在一方面,本发明方法中使用的吸入装置的储库(103)可以具有0.1至10 mL、或0.5至5 mL的体积,来容纳液体(其通常是包含活性组分的药物组合物)。优选地,储库(103)位于相对于气溶胶发生器(101)主体的高位。其可以通过旋盖或者卡扣盖来关闭;参见例如图33中所示的旋盖(114)。

[0221] 由于至18个月大的婴儿基本上都是强制鼻呼吸者，因此不适合通过吸嘴来进行受控的吸入，并且界面在面罩类型和用于不同年龄的适宜大小方面需要特别的关注。

[0222] 本发明方法中使用的吸入装置的面罩(105)可以配置为允许换种通过面罩进行呼出。这是通过阀(展现出相当小的呼出阻力)来实现的。所述阀、或所述阀的呼出阻力，可以在上文明确的范围内并虑及患者来进行选择。

[0223] 优选地，面罩的标称内部体积为不超过大约120 mL。如本文所用，标称内部体积理解为是由壳体从气溶胶入口开口到患者接触面所封闭的内部体积(当患者接触面置于平表面上时)。此体积稍微大于有效内部体积(或所谓的死腔(dead space))，其是当面罩置于患者面部时所封闭的体积，并且其因此取决于患者面部的大小和形状。如果患者是在校儿童，标称内部体积优选分别为不超过大约90 mL、或者甚至是不超过大约80 mL、或者不超过大约70 mL、或者不超过大约60 mL、或者不超过大约50 mL、或者不超过大约40 mL，取决于患者面部的大小。如果患者是新生儿，则目前优选选择具有不超过大约40或50 mL的标称内部体积的面罩。

[0224] 还优选根据患者的平均潮气量(tidal volume)来选择面罩的标称内部体积。有利的是，标称内部面罩体积小于潮气量。例如，如果患者是在正常呼吸期间具有大约80 mL平均潮气量的儿科患者，所述标称内部面罩体积应当小于此。特别是，各自的体积可以在平均潮气量的大约10%至大约80%的范围内。在另外的实施方案中，所述标称内部面罩体积不超过患者平均潮气量的大约60%、或者甚至不超过大约50%。

[0225] 在一个实施方案中，所述面罩可以具有双向吸入-和呼出阀，其在任一方向具有不超过3 mbar的阻力，并且其中面罩的标称内部体积不超过大约50 mL。此实施方案特别适宜于小的儿科患者如新生儿、婴儿、和幼童。在另一实施方案中，所述面罩可以具有一或多个吸入阀以及一或多个呼出阀，其中所述呼出阀具有不超过3 mbar的阻力，并且其中面罩的标称内部体积不超过大约70 mL。此实施方案特别适宜于幼童和儿童。

[0226] 任选地，所述面罩还可以包含另外的吸入和/或呼出阀。若如此，则组合阀的有效呼出压力应当在指定的范围内，也即在大约0.5至5 mbar之间。任选地，所述呼出压力可以分别选自大约0.5 mbar至大约3 mbar、如大约1 mbar或大约2 mbar。面罩中所提供的阀可以具有任何适宜于提供此呼出阻力的结构；例如狭缝阀，鸭嘴阀或隔膜阀(仅列举几个)。例如，所述阀可以是具有交叉狭缝和重叠隔膜的单向阀，如硅酮隔膜。在一个方向，从交叉狭缝到隔膜，所述阀开放，而在相反方向，隔膜将被压紧在交叉上并因而封闭所述阀。取决于所述阀以何种方向插入面罩，其可以用作吸入或呼出阀。

[0227] 本发明方法中使用的吸入装置可以连接至以恒定流速(在1-5 L/min的范围内)提供气体的气体源；所述气体源连接至少是吸入装置，从而使气体通过气体入口开口进入流动通道。由所述气体源提供的气体可以选自氧气、空气、氧气富集的空气、氧气和氮气的混合物、以及氦和氧气的混合物。

[0228] 气体入口开口(104)优选可连接至外部气体源(直接地或者经管子或其它导管间接地)。所述气体入口开口(104)形状可以是(或装配有)管接头(113)，以便辅助对气体源的附着，如例如图33和34中可见的。所述气体入口开口(104)可以位于吸入装置(100)后部的位置，如图33-37和图39所示的示例性的实施方案。

[0229] 在优选的实施方案中，所述气体入口开口(104)是允许气体流入流动通道(110)的

仅有入口，除了气溶胶发生器(或与气溶胶发生器的储库)是例外，很小量的气体(通常是空气)可以通过其进入装置来置换雾化的液体。

[0230] 在一个本发明未示出的实施方案中，所述装置可以在侧向开口上游的流动通道中包含流限制器，其经调试来将流动通道中的气体流限制成恒定的流速(选自1-5 L/min的范围)。

[0231] 在一方面，本发明方法中使用的吸入装置可以具有流动通道(110)，其从气体入口开口(104)延伸至面罩(105)的气溶胶入口开口(107)。所述流动通道可具有侧向开口(111)，如图34中所示的装置中所示例的，气溶胶发生器通过该侧向开口至少部分地插入至流动通道内。另外，所述流动通道可在气体入口开口和面罩的气溶胶入口开口之间，以1-20 L/min的流速、以及特别是以大约1 L/min至大约5 L/min范围内的流速展现出恒定的流动阻力。

[0232] 所述流动通道可以配置为通过气体入口开口(形成流动通道的上游末端)从外部气体源接收气体。流动通道的上游部分，也即从(且包括)气体入口开口(104)到侧向开口(111)的区段(气溶胶发生器(101)通过其而至少部分插入)，优选经大小调节和形状调节，以实现气体的层流，其以恒定的流速(选自1-20 L/min的范围内、且特别是以大约1 L/min至大约5 L/min的恒定流速)传导穿过流动通道。

[0233] 所述流动通道还可以在气体入口开口与面罩的气溶胶入口开口之间具有恒定的流动阻力。

[0234] 接收气溶胶发生器 (101)的侧向开口(111)可优选位于流动通道(110)的上部(相对于所使用装置的正常取向)，如例如图33和34中所示。该开口优选经大小调节以匹配气溶胶发生器的尺寸，从而当接收气溶胶发生器时该开口完全且紧密地闭合。优选地，所述气溶胶发生器在使用期间处于部分插入的位置，并且气溶胶发生器的下游末端朝着流动通道的纵向中轴突出(甚至是突出至流动通道的纵向中轴)。

[0235] 在一个实施方案中，所述气溶胶发生器可以取向为例如以与流动通道的纵轴呈大约90°的角度将雾化的气溶胶发射至流动通道内。在此情形中，所述气溶胶发生器安置为大约垂直的取向而振动筛为大约水平的。

[0236] 任选地，对气溶胶发生器进行选择和操作，如具有至少约0.1 mL/min、或至少0.2 mL/min的气溶胶生成速率(或雾化速率)。在一些实施方案中，所述气溶胶发生器具有至少0.3 mL/min、0.4 mL/min、0.5 mL/min、0.6 mL/min、或者甚至至少0.7 mL/min的雾化速率。

[0237] 所述流动通道尺寸可以是使得侧向开口与面罩的气溶胶入口开口之间通道的总内部体积不超过大约30 mL。任选地，其分别不超过大约25 mL、或者不超过大约20 mL。在一些情形中，流动通道的内部体积可以小于大约18 mL、或者甚至小于大约15 mL。

[0238] 在具体的实施方案中，所述流动通道可以在侧向开口的紧上游的位置具有大约10 mm至大约13 mm的内部直径；任选与具有6 mm至大约8 mm总直径的振动筛组合。注意到具有开口、或缝隙的网孔区域的直径可以小于总直径，例如小大约1至3 mm。

[0239] 在具体的实施方案中，紧接着侧向开口上游的流通通道的内部直径与振动筛直径的比例可以分别是是从大约1至大约2.5、或从大约1.2至大约2。另外，紧接着侧向开口上游的流通通道的内部直径与振动筛的缝隙区域直径的比例可以是从大约1.2至大约4，如从大约1.6至大约3。

[0240] 本发明方法中使用的吸入装置还可以包含用于启动和停止气溶胶发生器(101)的操作的开关(112)，如例如在图34中所示。在此背景下，气溶胶发生器的操作包括振动筛的连续振动。

[0241] 在一方面，本发明方法中使用的吸入装置可以包含a) 基部单元(118)，其包含用于控制气溶胶发生器(101)的电子控制器，以及包括气体入口开口(104)的流动通道的上游部分；和b)混合通道单元(119)，其包含包括侧向开口(111)的流动通道的下游部分，其中所述下游部分包含其中流动通道在下游变宽得区段，所述区段位于侧向开口的下游。

[0242] 任选地，具有电子控制器的基部单元还可以包含或者容纳，电池(例如可充电电池)、数据存储设施和/或用于充电和数据读取的USB-端口(116)，如图39中所示。

[0243] 还任选地，可任选提供小孔(117)，例如在图34和39所示吸入装置的后部，和/或在图37所示吸入装置的底部；以便使得可以对例如可发热的电子控制器以及基部单元(118)的任何其它部分进行空气冷却。然而，这些小孔(117)与流动通道(110)没有流体连接。

[0244] 对于用于本发明方法的吸入装置的实例，可以参考有Ablynx N.V.和Vectura GmbH与本申请同一申请日提交的共同在审国际专利申请，题目为“*用于呼吸系统疾病的气溶胶疗法的吸入装置*”。

[0245] 所述吸入装置或雾化器装载有本发明的药物组合物。因此，本发明还涉及吸入装置或雾化器，其含有包含本发明多肽的药物组合物。在优选的方面，所述吸入装置或雾化器含有包含SEQ ID NO: 71的药物组合物。如上文所述，本发明的多肽可以任何适宜的浓度存在于雾化器中，如25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75 mg/mL，优选50 mg/mL的浓度。

[0246] 为了确保如本文所述的临床上有意义的RSV的减少，本发明的多肽以每天1.00-2.00 mg/kg、优选每天1.00-1.75 mg/kg、如例如每天1.20 mg/kg (其中此值理解为任选涵盖±0.06 mg/kg的范围)的标称剂量进行施用。取决于幼儿的重量，要载入至雾化器中的药物组合物的体积(也称作“填充体积”)(以50 mg/mL浓度的本发明的多肽)将如下(也参见表B-2)：

重量类别	填充体积	填充剂量	标称剂量(mg/kg)
5.0 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	1.50-1.25
6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	1.64[c] -1.25
8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	1.54-1.25
10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	1.49-1.25
12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	1.45-1.25
14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	1.42-1.25

或者如下(也参见表B-6)：

重量类别	填充体积	填充剂量	标称剂量(mg/kg)
3.5 - 3.9 kg	0.100 mL	5.0 mg	1.43-1.28
4.0 - 5.0 kg	0.130 mL	6.5 mg	1.63-1.30
5.1 - 6.0 kg	0.150 mL	7.5 mg	1.47-1.25
6.1 - 8.0 kg	0.200 mL	10.0 mg	1.64-1.25
8.1 - 10.0 kg	0.250 mL	12.5 mg	1.54-1.25
10.1 - 12.0 kg	0.300 mL	15.0 mg	1.49-1.25

12.1 - 14.0 kg	0.350 mL	17.5 mg	1.45-1.25
14.1 - 16.0 kg	0.400 mL	20.0 mg	1.42-1.25
16.1 - 19.0 kg	0.500 mL	25.0 mg	1.32-1.55

[0247] 上述剂量在本文也称作“经选择的剂量方案”。

[0248] 因此，本发明涉及吸入装置或雾化器，其包含0.150-0.400 mL或0.100-0.500 mL(如0.100 mL、0.130 mL、0.150 mL、0.200 mL、0.250 mL、0.300 mL、0.350 mL、0.400 mL、0.500 mL)的本发明多肽50 mg/mL的组合物、优选 SEQ ID NO: 71。更具体地，本发明涉及用于治疗幼儿中的RSV感染(如例如下呼吸道RSV感染)的吸入装置或雾化器，其包含0.150-0.400 mL或0.100-0.500 mL (如0.100 mL、0.130 mL、0.150 mL、0.200 mL、0.250 mL、0.300 mL、0.350 mL、0.400 mL)的本发明多肽50 mg/mL的组合物、优选 SEQ ID NO: 71。

[0249] 在一方面，所述幼儿的年龄小于24个月。

[0250] 在一方面，所述幼儿的年龄小于36个月(3岁)。

[0251] 在一方面，所述幼儿年龄为1个月至小于24个月。

[0252] 在一方面，所述幼儿年龄为1个月至小于36个月(3岁)。

[0253] 在一方面，所述幼儿年龄为5个月至小于24个月。

[0254] 在一方面，所述幼儿年龄为5个月至小于36个月(3岁)。

[0255] 在一方面，所述幼儿是婴儿。

[0256] 在一方面，所述幼儿是幼童。

[0257] 在一方面，所述幼儿经诊断患有下呼吸道RSV感染但在其它方面是健康的。

[0258] 在一方面，所述幼儿由于下呼吸道RSV感染而住院。

[0259] 另外的治疗剂

本发明的多肽可以作为单一疗法施用或者与其它要用于或可用于RSV感染治疗的药物活性化合物或成分组合进行施用，其结果是可以或者不会获得协同效应。医师会清楚此类化合物和成分的实例，以及用于施用它们的途径、方法和药物制剂或组合物。

[0260] 当两种或更多种物质或成分要用作组合治疗方案的一部分时，它们可以经相同的使用途径或者经不同的施用途径、在基本相同的时间或在不同的时间(例如基本上同时地、连续地、或依照交替的方案)来进行施用。当时是物质或成分要以相同施用路线同时施用时，它们可以作为不同的药物制剂或组合物或者组合的药物制剂或组合物的一部分来进行施用，如技术人员所清楚的那样。

[0261] 另外，当两种或更多种活性物质或有效成分要用作组合治疗方案的一部分时，每种所述物质或成分可以相同的量施用并且依照当该化合物或成分自己单独使用时所用的相同方案，并且此种组合使用可以或者不会导致协同效应。然而，两种或更多种活性物质或有效成分的组合使用导致协同效应时，也可以减少要施用的一种、多种或所有物质或成分的量，而又依然实现期望的治疗作用。这可以用于避免、限制或减少任何不期望的副作用(与所述一或多种物质或成分以其常规量使用时相关联的)，而又依然获得期望的药物或治疗效果。

[0262] 由此，本发明还提供了用于对结合并中和hRSV本发明多肽进行肺部施用的方法和剂量方案，其中所述多肽与至少一种另外的治疗剂组合施用。

[0263] 非限制性地，另外的治疗剂可以选自由于RSV感染(如RSV下呼吸道感染)而住院期

间的护理标准，包括(但不限于)支气管扩张剂、抗生素(例如在住院期间次生细菌感染[二重感染]的情形)、肾上腺素、抗胆碱剂、退烧药和/或非类固醇抗炎性药物。

[0264] 在一方面，本发明的多肽于支气管扩张剂组合进行施用。因此，本发明还涉及用于治疗幼儿中的RSV感染的方法，所述方法包括向患有RSV感染的儿童施用本发明的多肽，其中所述多肽与支气管扩张剂组合通过以经选择的剂量方案吸入来施用于儿童。在本发明的方法中，本发明的多肽和支气管扩张剂作为组合疗法(试剂盒)施用于呼吸道(也即通过吸入)。在此方法中，本发明的多肽和支气管扩张剂用作组合治疗方案的一部分。更具体地，此组合疗法的两个部分都同时、分别或依次施用于呼吸道(也即通过吸入)。

[0265] 有两种主要类型的支气管扩张剂，也即拟交感神经剂，包括短效的和长效的β2-模拟物，以及抗胆碱剂。短效的模拟物包括(但不限于)沙丁胺醇、特布他林、非诺特罗、吡布特罗和妥布特罗。它们可以用作基底(base)或用作可接受的药物盐。长效的β2-模拟物包括(但不限于)福莫特罗和沙美特罗。它们也可以用作基底或用作可接受的药物盐。抗胆碱药物包括(但不限于)异丙托铵，氧托铵和噻托溴铵。

[0266] 非限制性地，用于本发明方法的另外的支气管扩张剂包括阿库吸入剂(AccuHale)、沙丁胺醇(albuterol)、比托特罗、麻黄碱、肾上腺素、异他林、异丙肾上腺素、间羟异丙肾上腺素、吡布特罗、消旋肾上腺素、羟苄羟麻黄碱、特布他林、左旋沙丁胺醇、左旋沙丁胺醇(levabuterol)、克仑特罗、安非他明、甲基苯丙胺、可卡因、茶碱、咖啡因、可可碱、THC、和MDPV。

[0267] 具有很长效用期的支气管扩张剂分子类别将必须每天仅施用一次(例如噻托溴铵)。长效的β2-模拟物通常每天施用两次如福莫特罗和沙美特罗。最终，有短效的支气管扩张剂如沙丁胺醇、特布他林、异丙托铵或氧托铵，其必须每天施用4-6次。基于此信息，可以对治疗方案进行设计以便最佳利用所述组合疗法。所述治疗方案可涵盖本发明的多肽和支气管扩张剂的同时、分别或依次施用。用于施用所述组合疗法(试剂盒)的最常用装置是雾化器、计量剂量吸入器(MDI)、以及这些的组合。

[0268] 在一方面，本发明的多肽和支气管扩张剂同时施用。在此实施方案中，本发明的多肽和支气管扩张剂以可吸入形式的混合物进行施用。非限制性地，本发明多肽和支气管扩张剂的可吸入形式可以是同时将本发明的多肽和支气管扩张剂雾化(例如用雾化器)而获得的气溶胶，其中二者都优选存在于同一(本发明的)组合物中。

[0269] 在另一方面，本发明的多肽和支气管扩张剂分别施用。在此实施方案中，本发明的多肽和支气管扩张剂以分别的可吸入形式施用。非限制性地，本发明的多肽和/或支气管扩张剂分别的可吸入形式，可以是将本发明的多肽或支气管扩张剂雾化(例如用雾化器)而获得的气溶胶，其中二者分别存在于(本发明的)组合物中。或者，本发明的多肽和/或支气管扩张剂分别的可吸入形式可以是将本发明的多肽雾化(例如用雾化器)而获得的气溶胶，和将溶解于或悬浮于挥发性推进剂中的支气管扩张剂分解成小滴(例如用计量剂量吸入器(MDI))随后再快速蒸发这些小滴而获得的分别的气溶胶。由此，本发明的多肽和支气管扩张剂用两种不同(类型的)吸入器来进行施用，其中每种产生分别的可吸入形式。非限制性地，可以提议一下的组合：

- 用MDI吸入支气管扩张剂和用雾化器吸入本发明的多肽；
- 用雾化器吸入支气管扩张剂和用另一雾化器吸入本发明的多肽。

[0270] 在另一方面，本发明的多肽和支气管扩张剂依次施用。在此实施方案中，本发明的多肽和支气管扩张剂以可吸入的形式分别和依次施用。非限制性地，本发明的多肽的和/或支气管扩张剂的的可吸入形式可以是通过将本发明的多肽或支气管扩张剂雾化(例如用雾化器)而获得的气溶胶，其中二者分别存在于(本发明的)组合物中。或者，本发明的多肽和/或支气管扩张剂分别的可吸入形式，可以是将本发明的多肽雾化(例如用雾化器)而获得的气溶胶，和将溶解于或悬浮于挥发性推进剂中的支气管扩张剂分解成小滴(例如用计量剂量吸入器(MDI))随后再快速蒸发这些小滴而获得的分别的气溶胶。对于组合疗法的此种依次施用，本发明的多肽和支气管扩张剂应当存在于两种不同的(分别的)本发明组合物中，其分别载入至吸入器装置中，以便生成两种分别的、依次的可吸入形式。在此实施方案中，本发明的多肽和支气管扩张剂可以用两种不同(类型的)吸入器来施用。然而，使用两种不同的吸入器并非是必然需要的，因为在一些装置中(如例如在雾化器中)所述分别的组合物可以依次载入。非限制性地，可以提议以下组合：

- 用MDI吸入支气管扩张剂随后是用雾化器吸入本发明的多肽；
- 用雾化器吸入支气管扩张剂随后是用雾化器(其可以是相同的或不同的)吸入本发明的多肽；
- 用雾化器吸入本发明的多肽随后是用MDI吸入支气管扩张剂；
- 用雾化器吸入本发明的多肽随后是用雾化器(其可以是相同的或不同的)吸入支气管扩张剂。

[0271] 本发明多肽和支气管扩张剂依次施用的优选间隔将取决于所使用的本发明的多肽和支气管扩张剂(如上文所述)，并且可以包括从5分钟至24小时或更长，如例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、1小时、4小时、6小时、8小时、12小时等。

[0272] 在优选的方面，所述支气管扩张剂是短效的β2激动剂，如例如沙丁胺醇。

[0273] 在优选的方面，在用雾化器施用本发明多肽之前，用MDI施用支气管扩张剂，如短效的β2激动剂。例如，可以在施用本发明多肽之前15分钟施用支气管扩张剂(短效的β2激动剂)。例如，可以在施用本发明多肽之前15分钟，以200微克(例如喷两次100微克)的剂量将所述短效的β2激动剂如沙丁胺醇施用于幼儿。

[0274] 在另一优选的方面，在用雾化器施用本发明多肽之前用雾化器施用支气管扩张剂。在此优选的方面，本发明的多肽和支气管扩张剂可以用同一雾化器施用(也即每种本发明的多肽和支气管扩张剂可以存在于依次载入至雾化器的分离的组合物中)或者用两种不同的雾化器施用。

[0275] 在另一优选的方面，本发明的多肽和支气管扩张剂用雾化器同时施用。在此优选的方面，本发明的多肽和支气管扩张剂优选存在于装载入雾化器内的本发明的一个单一组合物中。又或者，本发明的多肽和支气管扩张剂存在于都装载入雾化器内的本发明的两个不同组合物中。

实施例

[0276] 实施例1：用于在儿科群体中的剂量确定的模型的开发

使用临床前以及预测的和测量的临床数据(表B-1)，以多步骤的拓展途径(图3；实施例2-10)，开发用于患病儿童的PBPK模型。

[0277] 基于从典型的体外微中和测定产生的IC_{90}值的倍数进行剂量选择，以实现功效。如在微量中和测定中所测量的，SEQ ID NO: 71对最不敏感的原型RSV B 18537毒株的平均IC_{90}值为~90 ng/mL (n=20)。取高于此IC_{90} 100倍的值(9 μg/ml)作为目标浓度，以将RSV临床分离物敏感性的可能差异计算在内。

[0278] 由于靶标(RSV F蛋白)不在人类中表达，并且不可能将功效从成人向儿童外推，剂量确定只能是基于建模方法。在本方法中，开发了模型，该模型考虑了幼儿的解剖学和生理学，生长和发育过程，如器官成熟、血流中的变化、机体组成、以及消除机制的个体发生学，包括呼吸系统中的变化(参见图1，以及下文进一步更详细的解释)。

[0279] PBPK建模(Barrett等人2012，Clin. Pharmacol. Ther. 92:40-9;Khalil and Läer 2011，J. Biomed. Biotechnol. Epub 2011 Jun 1)用于跨越儿科和成人的药物学。这是通过建立成人的吸入PBPK模型，随后将其拓展至儿童而完成的。使用软件PK-Sim®(Bayer Technology Services，Leverkusen，Germany;www.pk-sim.com，版本5.1.3用于PBPK模型构建，而版本5.2.2和5.3.2用于群体模拟)来构建所述PBPK模型。PK-Sim®是商业可得的工具，其用于在实验室动物和人类中药物的PBPK建模。PK-Sim®包括用于蛋白治疗剂和大分子的通用PBPK模型(图2)。对于PK-Sim®中执行的一般PBPK模型结构的详细描述参见Willmann等人(2007，J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 34:401-431;2005，1:159-168;2003，Biosilico 1:121-124)。使用此模型来构建用于静脉(IV)施用的PBPK模型和用于肺部施用的基础模型。

[0280] 为了描述从肺泡腔的吸收，将代表肺泡衬液(ALF)的另外的室插入由PK-Sim®输出的标准全身PBPK模型的肺部(图2)。所述肺泡衬液含有吸入后沉积在肺泡腔中的剂量的量。从肺泡表面积和肺泡衬液厚度的文献值计算对不同物种的所述ALF室的体积(Tschumperlin和Margulies 1999，J. Appl. Physiol.，86:2026-33;Patton 1996，Advanced Drug Delivery Reviews 19:3-36;Bastacky等人1995，J. Appl. Physiol. 79:1615-28)。假定由于对所吸入的水的快速重吸收，ALF室的体积在气溶胶的吸入之后是恒定的。

[0281] 还将连接肺泡腔与肺组织(间质组织)的扩散交换途径插入至所述模型中。扩散速率通过以下的一阶方程来计算：

$$dN/dt = P_{alv} * A_{alv} * (C_{alf} - C_{int})$$

且 N:药物的量

P_{alv}:肺泡通透性(上皮细胞屏障)。将该参数值与大鼠中吸入后的血浆浓度-时间谱拟合。

A_{alv}:来自文献的肺泡表面积。

C_{alf}:ALF中药物的浓度。

C_{int}:肺间质中的药物的浓度。

[0282] 在吸入后，气溶胶颗粒沉积于呼吸道的各个区域。为了评估在吸入SEQ ID NO: 71后，沉积在下呼吸道中的分数，使用并入PBPK模型的专用工具，多路径粒子剂量测定(MPPD) V2.11 (2002-2009，详细描述可见于http://www.ara.com/products/mppd.htm)，对不同儿科年龄组的气溶胶沉积进行了拓展。所述MPPD模型是由Applied Research Associates，Inc.和美国哈姆纳健康科学研究院(The Hamner Institutes for Health Sciences，

USA)，与荷兰国家公共健康与环境研究院(RIVM)，以及荷兰住宅、空间计划及环境部合作开发的。其允许对于不同的儿科年龄组，以及对于不同大小的颗粒，来描述头部、气管支气管和肺泡区中的平均区域沉积、以及每个气道等级的平均分布。总的来说，区域沉积取决于肺的形态学(其是年龄特异的)、颗粒性质(大小和密度分布)以及呼吸模式(频率，容积)。由此，所述MPPD工具计算对于不同大小的颗粒，气溶胶在成人和儿童(年龄：3、21、23和28个月，3、8、9、14和18岁)的呼吸道中的沉积。使用通过气道或气道分叉内的扩散、沉降和压紧，从理论上衍生的沉积效率，来计算沉积。使用经验效率函数确定头部对气溶胶的过滤。

[0283] 实施例2：PBPK模型评估：PBPK IV模型

使用以下信息建立PBPK IV模型：i) 关于SEQ ID NO: 71的物化特征的化合物特异性的信息，ii) 来自大鼠中的初始PK研究(表B-1：研究1)的数据，iii) 来自大鼠中的毒性研究(表B-1：研究2)的数据，以及iv) IV施用后在狗中的心血管安全性药物学研究(表B-1：研究3)。这个第一水平的模型构建(IV模型)考虑分布和清除过程。

[0284] 通过拟合实验血浆浓度谱评估两个参数：SEQ ID NO: 71的流体动力学半径和肾清除率(CL) (图6A和B)。所获得的SEQ ID NO: 71的流体动力学半径为2 nm，其小于3.5 nm的预期实验值。所述2 nm的半径匹配三价多肽的单价单元的半径。参数鉴别之后所获得的小药物半径因而可以由多肽的弹性来解释。在大鼠中，最好的结果是用58%的肾小球滤过率(GFR)的肾CL获得的。

[0285] 实施例3：PBPK模型评估：在大鼠中的肺部递送

为了解释吸收过程，在第二水平的模型构建中对肺部递送进行了建模。通过添加实施例1中所述的肺室，将使用如实施例2中所述的2 mm的流体动力学药物半径和58%的GFR的肾清除率的IV应用模型，扩展至肺部吸收。此部分是基于来自在大鼠中进行的单一剂量(表B-1：研究1)和重复剂量毒性研究(表B-1：研究4)的实验血浆浓度-时间谱以及肺中局部药物量而建立的。

[0286] 将肺泡通透性与沉积在肺泡吸收腔中的剂量分数拟合以匹配在大鼠中肺部施用后的实验血浆浓度-时间谱(表B-1：研究1) (图7)。所述实验数据与模拟曲线匹配良好，产生了4.58E-9 cm/min的肺泡通透性P_{alv}以及0.37%的沉积在肺泡吸收腔中的剂量分数。

[0287] 使用相同的模型比较SEQ ID NO: 71在ALF吸收室中的模拟量与支气管肺泡灌洗液(BALF)中实验发现的量(图8)。对所有剂量，SEQ ID NO: 71的计算量均匹配实验值，且模拟的半衰期仅比观察到的稍大。

[0288] 对于重复剂量研究的模拟(表B-1：研究4)，所使用的肺泡通透性的值与上述单一剂量研究相同(4.58E-9 cm/min)。在调节沉积于肺泡吸收腔中的剂量分数后，对于每天一次肺部应用进行14天后的SEQ ID NO: 71血浆浓度曲线的模拟，产生了与第1天和第14天的实验数据出色的匹配(图9)。与此前的研究相比，需要假定沉积的剂量分数的不同数值，以获得合理的拟合(对于15 mg/kg是1.8%、对于50 mg/kg是0.93%以及对于150 mg/kg是0.47%)。随着气溶胶颗粒直径的增加而更小的肺泡沉积的趋势可以解释不同剂量组的不同血浆PK曲线。

[0289] 将使用与图9相同模型的ALF吸收室中模拟的量，与支气管肺泡灌洗液(BALF)中实验发现的量进行比较(图10)。模拟的曲线强烈偏离(幅度一个数量级)实验量。此种差异可以由BALF数据中来自气管/支气管的贡献来解释，因为BALF中的实验量含有来自整个呼吸

道的贡献，而模拟量仅涉及肺泡吸收腔中的量。实验和模拟之间的偏差比研究1中大得多。这可以由研究4中较大的药物回收来解释，其可能是由于不同的BALF取样过程(研究4中为整个肺，包括气管，而研究1中为右肺)造成的。实验BALF数据的累积/半衰期得到模拟很好的描述，并且类似于血浆中的累积/半衰期。

[0290] 实施例4：PBPK模型评估：健康成年人中的肺部施用

4.1 第一个临床研究(表B-1：研究5)

首先，在健康男性志愿者中的I期研究(表B-1：研究5)中评估SEQ ID NO: 71吸入的安全性、耐受性和PK。所述I期研究包括在44个对象中的单一递增剂量部分，其中测试范围在2.1 mg至210 mg的6个剂量水平。随后，在16个健康男性中起始多剂量部分，其中对象分别以150 mg和210 mg的每天总剂量，每天两次接受SEQ ID NO: 71，进行5天。

[0291] 4.2 模型评估

通过调适生理学参数，如来自人类PK-Sim®数据库的器官体积、器官中的血液和淋巴流，将大鼠中的PBPK模型拓展至人类。如之前所有在大鼠中的计算，将SEQ ID NO: 71的流体动力学半径和肾脏CL设置为2 nm和58%的GFR。通过与大鼠中相同的机制来描述肺泡吸收。假定ALF的厚度和肺泡通透性与大鼠的相同，而将肺泡表面积拓展至102.2 m^2 (Patton 1996，Advanced Drug Delivery Reviews 19:3-36)。

[0292] 来自这个在人类中的第一个临床研究的人类血浆PK数据(表B-1：研究5)被用于评估所述模型和拓展原理。沉积于肺泡腔中的分数必须与实验数据拟合。然而，此参数的改变(等价于有效剂量的改变)仅仅导致模拟的谱沿浓度轴的移位，而谱的形状得以保留。因而，模拟对于浓度谱(包括通过吸收率确定的末端半衰期)具有预测性。

[0293] 在图11中，将模拟的SEQ ID NO: 71血浆浓度-时间谱与来自单一健康志愿者在肺部施用SEQ ID NO: 71后的实验数据进行比较。对于沉积在肺泡腔中的剂量分数，使用15%的值获得了最佳拟合结果。图11显示从大鼠模型拓展而来的PBPK模型非常好地预测了在健康人类志愿者中的吸收率，并且因此可以假定在人类中用于肺泡通透性的值与大鼠中相同。

[0294] 实施例5：PBPK模型评估：健康成年人类中的IV和肺部施用

5.1 第二个临床研究(表B-1：研究6)

进行另一个I期研究，以评估通过吸入施用至健康成年男性志愿者的单一和重复剂量的SEQ ID NO: 71的PK。SEQ ID NO: 71的单一i.v.施用也包括在该研究中，以提供用于随后的PK建模和模拟的额外的信息。对44个对象进行随机化和治疗：23个对象接受SEQ ID NO: 71单一剂量吸入，15个对象接受SEQ ID NO: 71多剂量吸入，以及6个对象接受SEQ ID NO:71 i.v. 输注。该研究调查了当经口吸入或静脉施用时，局部SEQ ID NO: 71的浓度(在支气管和肺泡腔中)和/或全身SEQ ID NO: 71的浓度。

[0295] 5.2 模型评估

使用来自IV和肺部施用后的第二个临床试验的尿液和肺泡衬液(ALF)数据，对该模型进行进一步的验证和优化(表B-1：研究6)。

[0296] 将使用第一次临床来评估的相同的人类模型(表B-1：研究5)，与第二个临床研究的IV施用后的血浆浓度-时间曲线和尿液排出数据进行了比较(表B-1：研究6)。

[0297] 对于施用后的前12小时，用拓展自大鼠的人类模型进行的模拟与实验IV数据匹配

很好。然而，模拟低估了施用后24 h的实验数据点，并且此后的时间点看起来也低估(图12)。

[0298] 经实验发现的尿液中的药物量(6-23%)比模拟中少得多(91%) (图13)。因而，模型的肾清除率(58%的GFR)似乎过大。经过考虑在此第二个临床研究中可得的尿液数据(表B-1:研究6)，必须降低模型的肾清除率。为了仍然描述血浆浓度时间曲线，必须要将另外的清除方法引入至所述模型中。

[0299] 还使用来自第二个临床研究的吸入数据(表B-1:研究6)评估原始开发的平均人类模型(图14)。使用未经任何变化(包括沉积在肺泡腔中的15%的剂量分数)的原始模型。用尿素稀释方法校正用于比较的实验ALF浓度(Conte等人1995，Antimicrob. Agents Chemother. 39:334-8)。

[0300] 吸入后模拟的血浆浓度-时间曲线良好匹配实验数据。在初始阶段，实验血浆浓度稍微被低估。在初始阶段，来自第一个临床研究的实验血浆浓度(表B-1:研究5)也稍微低于来自第二个临床研究的那些(表B-1:研究6)。模拟ALF浓度也与实验数据相符，虽然实验数据稍微被高估，也即平均模型匹配较高的个体ALF浓度。

[0301] 实施例6:PBPK模型优化

6.1 模型优化

在模型评估之后对以下模型特征进行了优化：

1. 对流体动力学半径进行了调适，以便更好地描述晚于IV施用后24 h的时间点的血浆浓度时间谱。

[0302] 2. 降低了肾清除率，以匹配尿液中实验观测的剂量分数。对于具有大约40 kDa大小的蛋白，文献中报道肾清除率 < 10% (Galaske等人1979，Kidney Int. 16:394-403; Maack等人1979，Kidney Int. 16:251-70)，证明了肾清除率的降低。为了能够在IV施用后依然描述观测的血浆浓度，将所有血浆室内的另外的第一级清除率方法添加至少是模型中。所述另外的清除率方法可归因于血浆蛋白酶。将第一级速率常数与IV施用后的血浆浓度谱拟合。

[0303] 3. 对于吸入模型，肺泡厚度的另一文献被用于更好地描述吸入后的ALF浓度。在原始建立的模型中，使用了如Patton 1996 (Advanced Drug Delivery Reviews 19:3-36)的综述中所引用的0.068 μm的肺泡厚度。0.2 μm的值被用于优化的模型。这另外的值同样由Patton所引用。同样的值经独立地报道为大鼠肺泡厚度的面积加权的平均值(Dall'Acqua等人J. Biol. Chem. 281:23514-24)。使用较大的0.2 μm的厚度，导致增加的肺泡体积以及因此降低的肺泡浓度。如果肺泡通透性相应地提高了，整体吸收率以及因此的全身浓度并未改变。因而，在优化的模型中使用了以下经拓展的肺泡通透性:4.58E-9 cm/min x 0.2/0.068 = 1.35E-8 cm/min。

[0304] 用优化的模型进行的模拟产生了与第二个临床研究(表B-1:研究6)由很好匹配的平均血浆和尿液浓度-时间谱(图15和16)。对于拟合的流体动力学半径，获得了2.46 nm的值，对于肾清除率5%的GFR的值以及对于另外的血浆清除率常数0.0142 min^{-1}。

[0305] 使用肺泡厚度的另一文献值，对实验ALF浓度进行了很好的描述(图17)。对于用优化的模型的模拟，肺泡腔中沉积的剂量分数还另外经稍微调适(10.6%)，以便获得对血浆浓度更好的描述。

[0306] 6.2 用优化的模型群体模拟

为了评估优化的成人模型的群体模拟，将群体模拟结果与来自第二个临床研究的(表B-1：研究6)以及第一临床研究的(表B-1：研究5) PK数据进行了比较。生成了包含1000个欧洲ICRP2002种群男性个体的群体，其具有在所述两个研究的范围内均匀分布的人口统计学参数。

[0307] SEQ ID NO: 71个体实验的血浆浓度-时间谱与累积尿液排出的比较(表B-1：研究6)对比来自IV应用后群体模拟的结果在图18中显示。

[0308] 群体模拟与实验血浆和ALF浓度(来自第二个人类研究(表B-1：研究6)单一吸入和多次吸入后)的比较分别在图19和图20中显示。

[0309] 使用优化模型的群体模拟也通过与来自第一个人类研究的数据(表B-1：研究5)比较而重新进行了评估(图21)。

[0310] 对于两个研究，群体模拟都与实验数据有相当好的一致。

[0311] 实施例7：将成人PBPK模型拓展至健康儿童

随后将优化的成人PBPK模型外推至儿童，其中是通过拓展(i) 解剖学和生理学参数，(ii) 清除过程，和(iii)吸收过程，大多是基于可得自文献的已有参数和方程 (Edginton等人2006，Clin. Pharmacokinet. 45：1013-1034；Rhodin等人2009，Pediatr. Nephrol. 24：67-76；Hislop等人1986，Early Hum. Dev. 13：1-11)。

[0312] 为了评估肺泡吸收腔中沉积的吸入剂量分数，使用了MPPD工具。年龄3个月、21个月、23个月和28个月在MPPD工具中是可用的。所使用的颗粒大小分布是2.63 μm MAD (质量中值直径)和1.46的几何标准差。静息鼻吸入用于呼吸参数。对于其它参数，使用了MPPD默认设置。肺泡腔中的吸入剂量分数经计算为大约20% (图4)。

[0313] 使用了具有人体测量学和生理学参数(例如器官体积、血流、GFR)的标准变异性的儿科 PK-Sim群体。生成了8个年龄组(每个具有1000个体以及两种性别的等比例)的虚拟高加索人群体，以用于评估群体药代动力学。所述年龄组为：0-1周、1-2周、2-4周、1-3个月、3-6个月、6-9个月、9-12个月、12-24个月、2-3岁、3-4岁、4-5岁和5-6岁 (排除早产儿)。

[0314] 三个另外的参数在群体模拟中有变化：肺泡通透性、肺泡腔中沉积的剂量分数和另外的血浆清除过程。对于所有三个参数，假定了对数分布。对于肺泡通透性(几何平均：1.35E-8 cm/min)使用了1.4的几何标准差，其是从对第一个人类成人临床研究(表B-1：研究5)的拟合评估的。对肺泡腔中的剂量进行选择以达到肺泡目标浓度。2的几何标准差用于所有年龄组肺泡腔中的剂量分数。使用了每天一次吸入达5天作为用于模拟的应用方案(吸入时间：每次吸入3 min)。对于多剂量方案的每次施用，肺泡腔中的剂量分数的值取自从其它施用的值的独立分布。对于另外的血浆清除，使用1.1的几何标准差来用于成人群体(几何平均：0.0142 min^{-1})。

[0315] 根据建模目标，对剂量进行了选择，以便在整个给药间隔95%的个体会达到至少9 μg/mL (100*IC90)。对于剂量，在PBPK模型中推动全身以及局部PK的首要参数看起来是肺泡吸收腔中药物的量。基于PBPK模拟，对于所有年龄组在肺泡腔使用0.024 mg/kg体重的量(沉积剂量)达到了9 μg/ml的目标浓度。由于肺泡表面积(以及与其相关的肺泡体积)，随着体重而拓展，因而肺泡浓度对于体重归一化的剂量基本上是不依赖于年龄的。肺泡吸收腔0.024 mg/kg体重的沉积剂量因而用于血浆浓度的所有模拟(图22)。

[0316] 实施例8:将成人PBPK模型拓展至患病儿童

继而将成人PBPK模型拓展至患病儿童,应用于解释与疾病相关的潜在生理学差异。由于将RSV-感染的儿童与健康儿童进行直接比较的文献数据是稀少的,进行了敏感性分析以用于在模型开发过程中对关键参数进行调适/拟合(肺泡腔中沉积的部分、清除率、肺泡通透性、肺泡腔的厚度、和流体动力学药物半径)。基于可用的非临床结果、可用的文献(Kilani等人2004, Chest 126:186-91;Singh等人2007, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 293:L436-45;Domachowske and Rosenberg 1999, Clin. Microbiol. Rev. 12:298-309;Johnson等人2007, Mod. Pathol. 20:108-19),并考虑已经并入模型中的PK指数的变异性,不需要对清除率和/或从肺泡腔的吸收进行具体的改变来解释RSV感染。

[0317] 对于肺泡腔中沉积的部分,考虑可变呼吸模式反应RSV感染的MPPD计算,被用于评估感染RSV的儿童肺泡腔中沉积的吸入剂量分数。在第一种情形中,使用了由Totapally等人2002 (Crit. Care 6:160-5)观测的小于1岁儿童的呼吸频率和潮气量。在第二种情形中,使用了Mundt等人2012 (ISRN Pediatr. 2012 p. 721295)等人用来模拟细支气管炎的作用时所利用的呼吸频率和潮气量相同的相对变化(采用各自的MPPD默认值)。MPPD工具以受迫呼吸模式而预测的在肺泡腔中沉积的部分与正常呼吸的结果相比较低,尤其是对于使用Mundt等人2012所采用的呼吸模式的情形(图5)。

[0318] 该模拟显示出代表RSV-感染的婴儿和幼童(5-24个月的年龄范围)的呼吸模式导致了在下呼吸道中SEQ ID NO: 71的吸入量的~10%沉积(7-13%,取决于年龄和颗粒大小)。相应地,将会需要吸入0.24 mg/kg的剂量(吸入剂量),来在一次施用后再下呼吸道达到0.024 mg/kg的沉积剂量。

[0319] 实施例9:用于治疗幼儿中的下呼吸道RSV感染的剂量确定

认为振动筛式雾化器是用于将免疫球蛋白单可变结构域如SEQ ID NO: 71雾化的最适宜的技术 (WO 2011/098552)。在进一步描述的研究中(参见实施例11),使用调适为儿科用途的FOX雾化器(Activaero,现在是Vectura,Germany)来施用SEQ ID NO: 71。所述雾化器总是以2 L/min的额外空气或O_2流来使用,并且装配有儿科面罩(2种大小)。

[0320] 使用Sophia解剖学婴儿鼻喉(SAINT)模型来产生特异地用于以上述雾化器来施用SEQ ID NO: 71的数据(Janssens等人2001)。The SAINT模型是9个月大儿童上气道的解剖学正确的铸型/代表,使用光固化立体成型技术构建并且用于在幼儿中研究气溶胶沉积。可以对要用于临床设定的施用条件进行接近地模拟,包括代表健康和RSV-感染的婴儿和幼童的呼吸模式。结果显示出,从填充至雾化器的总剂量中,预期有大约20%被吸入。为确保0.24 mg/kg吸入剂量,填充至雾化器的剂量因此将会是1.2 mg/kg(标称剂量)。

[0321] 依照其它吸入产品,将SEQ ID NO: 71的施用剂量对于(进准的)体重类别(6个剂量组,以1或2 kg的增量步骤,参见表B-2和表B-6)进行标准化。这达到安全边际的支持,并且也考虑了准确测量并将适宜的量填充(用(0.01 mL)的带刻度1 mL注射器)至雾化器中的可行性。体重类别的适宜性也经过了另外的PBPK模拟的确认。

[0322] 考虑到装置的规格,对应于基于重量类别的施用时间在45秒 (5.0-6.0 kg对象)至120秒 (14.1-16.0 kg对象)之间变化。~7 μL的残余体积(不取决于填充体积)残留在雾化器的储库中,并且已经考虑到表B-2中所列填充体积之内。

[0323] 考虑到装置的规格，对应于基于重量类别的施用时间在30秒(3.5-3.9 kg对象)至150秒(16.1-19.0 kg对象)之间变化。~7 μL的残余体积(不取决于填充体积)残留在雾化器的储库中，并且已经考虑到表B-6中所列填充体积之内。

[0324] 实施例10：群体模拟

在如实施例9所述的六个剂量组中进行了群体模拟，在幼儿(年龄5-24个月)中评估血浆和ALF浓度。

[0325] 对表不同的施用方案进行了模拟：

- 三次施用每天一次(0、24、48h)；
- 两次施用每天一次(0和24h)；
- 单次施用(0 h)；

对于0、24、48h施用计划的血浆和ALF浓度时间谱分别在图23和图24中给出。在72 h(3x24 h)期间，第一次吸入后，对于95%的个体肺泡浓度大于14 μg/ml。这大于此前的模拟(9 μg/ml)，这是由于沉积部分缩小的几何标准差以及六个剂量组的给药(由于组内的体重范围，肺泡腔中的剂量可稍微大于0.024 mg/kg)。在最后一次施用后仅34 h，第5浓度百分位降低至低于9 μg/ml的目标浓度。

[0326] 对于0-24h施用计划的血浆和ALF浓度时间谱分别在图25和图26中给出。对于0-24h施用计划，总群体的第5百分位肺泡浓度在57小时后降低至低于9 μg/ml的目标浓度。在第一次施用后的72小时期间，其在20%的时间里低于9 μg/ml的目标浓度。总群体的中值肺泡浓度在91小时后降低至低于9 μg/ml的目标浓度。

[0327] 对于单一剂量施用计划的血浆和ALF浓度时间谱分别在图27和图28中给出。对于单一剂量，总群体的第5百分位肺泡浓度在31小时后降低至低于9 μg/ml的目标浓度。在第一次施用后的72小时期间，其在57%的时间里低于9 μg/ml的目标浓度。总群体的中值肺泡浓度在59小时后降低至低于9 μg/ml的目标浓度。在第一次施用后的72小时期间，其在18%的时间里低于9 μg/ml的目标浓度。

[0328] 实施例11：在婴儿和幼童中的RSV感染治疗

如上文所述，在儿童中，预计SEQ ID NO: 71在肺泡吸收腔中的量(0.024 mg/kg体重)会在肺泡目标腔中达到预先确定的SEQ ID NO: 71浓度(9 μg/ml)。这些预测是使用PBPK建模方法以经验证的模型(掺入了来自若干研究和来自若干物种的观测数据)来进行的。

[0329] 进行了研究以评估SEQ ID NO: 71肺部施用于住院且诊断有下呼吸道RSV感染的婴儿和幼童的此剂量方案的安全性和耐受性。另外，还评估了SEQ ID NO: 71的此剂量方案对于临床效果、药代动力学(PK)、药物动力学(PD)、和SEQ ID NO: 71的免疫原性的影响。

[0330] 11.1 研究设计

在住院且诊断有呼吸道合胞病毒下呼吸道感染(其它方面健康)的婴儿和幼童(年龄5个月至小于24个月或者年龄3个月至小于24个月)中进行了多中心研究，来评估(在标准护理之外)经吸入施用的SEQ ID NO: 71的安全性、耐受性和临床活性。

[0331] 该研究由2部分组成：开放式标记导入部分，随后是双盲安慰剂对照部分。依照可应用的Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)的指引，任命了独立数据监测委员会(DMC)。

[0332] • 所述研究的开放式标记导入部分(组I，N=5)：

初始5个对象纳入了开放式标记导入部分，并仅接受活性的研究药物(SEQ ID NO: 71)。在起始研究的双盲安慰剂对照部分之前，将可从研究的此部分得到的数据由DMC审阅。

[0333] • 所述研究的双盲安慰剂对照部分(组II，N=30)：

在得到DMC的正面推荐之后，将30个对象纳入随后的研究的双盲安慰剂对照部分。对象随机分配以2:1的比例接受SEQ ID NO: 71或安慰剂(N=20接受SEQ ID NO: 71，N=10接受安慰剂)。

[0334] 在施用研究药物之前大约15分钟，施用了短效的β_2-激动剂沙丁胺醇的吸入剂量。经剂量计量的吸入器(有间隔区)给予了两喷(2 x 100 μg)。

[0335] 在标准护理之外，SEQ ID NO: 71经吸入来施用，每天一次达连续3天。使用专门的振动筛式雾化器(调适为儿科用途的FOX装置)来施用SEQ ID NO: 71或匹配的安慰剂。要填充至雾化器中适宜体积的总结(每个体重类别)以及适宜的雾化时间在表B-2中示出。SEQ ID NO: 71以配制缓冲剂(NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 10 mM，NaCl 130 mM，pH 7.0)中50 mg/mL SEQ ID NO: 71的浓度存在。

[0336] 以固定的2-L/min空气(若需要时，O_2，由研究者基于对象对O_2的需求来决定)流来使用雾化器。

[0337] 对每个对象的计划研究期间为大约15天(包括筛选)，聚焦于准确的感染期(并考虑了研究药物的暴露和SEQ ID NO: 71的半衰期)。对每个对象的最大研究药物治疗期间为3天。

[0338] 在施用研究药物之前的24小时内，对于对象的资格进行筛选。对象连续3天每天接受一次研究药物的剂量。对于研究药物治疗期之后仍未出院的对象，预先安排额外的给药后随诊。在离开医院前安排出院随诊(如果可行的话)。安排一次院外随诊(第14天)。

[0339] 11.2 主要安全性评估

通过治疗突发不良事件(TEAE)、临床实验室测试结果(临床化学和血液学)、体检结果(包括肺部听诊)以及心率继而外周毛细血管O_2饱和(SpO_2)等来对安全性进行评估。

[0340] 11.3 主要临床活性评估

通过进食、呼吸率(超过1-分钟间隔)、哮鸣(在呼气/吸气期间)、湿罗音/捻发音(肺部听诊勤俭)、白天咳嗽、夜间咳嗽(引起的睡眠障碍)、呼吸肌收缩(锁骨上、肋间、和肋下)、和整体表现(活动性、刺激、对环境的兴趣、和反应性)等来对临床活性进行评估。基于研究期间所测量的临床活性参数，计算了另外的得分如临床反应、呼吸窘迫评估仪器(RDAI)得分和呼吸评估变化得分(RACS)。

[0341] 11.3 探查性药代动力学

在血清中评估了SEQ ID NO: 71的全身浓度，作为用于评估局部(肺部)浓度的替代。

[0342] 11.4 探查性药物动力学

在经鼻拭子获得的样品中评估病毒负载，作为探查性PD参数。其它探查性生物标志物(血清)包括白细胞介素-8 (IL-8)和Krebs von den Lungen (KL-6)。

[0343] 11.5 探查性免疫原性

对于潜在的免疫原性(ADA)也进行了全身评估(血清)。

[0344] 实施例12：SEQ ID NO: 71纳米抗体在新生羔羊RSV-感染模型中的体内功效

使用新生羔羊RSV-感染模型来评估SEQ ID NO: 71 (通过吸入递送之后)的体内功效。

总共进行了三个独立的功效研究。简言之，用PARI LC SPRINT™雾化器(PARI Respiratory Equipment, Inc.,Lancaster,PA,USA)，通过雾化在第0天以RSV感染2-5日龄的初乳剥离(colostrum-deprived)的羔羊。以16 PSI (Philips Respironics Air Compressor, Andover, MA, USA)，将三份2-mL的含病毒介质(或对照介质)的等分试样在23分钟的时间段以4L/min施用于每个动物，导致每只羔羊总共吸入大约6 mL。对每只羔羊使用相等的病毒接种剂量(在具有20% w/v蔗糖的介质中，1.27 x 10^7 FFU/mL的hRSV Memphis 37毒株)。SEQ ID NO: 71治疗在感染后第1天(在1个研究中)或第3天(在2个研究中)开始，并每天重复直至感染后第5天。使用基于AERONEB® Solo System (Aerogen Ltd,Galway,Ireland)的振动筛式，通过雾化进行施用。总共测试了3个剂量水平，并对应于11 mg (低剂量)、36 mg (中剂量)和110 mg (高剂量)递送的SEQ ID NO: 71剂量。

[0345] 每天监测羔羊的整体健康并记录呼吸速率、心率、体温、血氧饱和、体重、哮鸣和呼气尝试。在接种后第6天收集了呼吸道组织和支气管肺泡灌洗(BAL)液用于对病毒病变、肺部病毒滴度、病毒抗原和肺部组织病理学的定量。所有的评估如表B-3和B-4中所述进行。

[0346] 在经RSV-感染的溶媒-治疗的羔羊中，对于所进行的所有研究，在第6天，病毒RNA和可培养的病毒都一直存在于所有肺叶中(表B-5)。另外，裸眼肺检查揭示涉及所有肺叶的~12-40%的广泛病毒病变，其与支气管/肺泡中病毒抗原的表达以及组织学实变并发(图29和30)。在感染后第3-4天，检测到第一个感染的临床迹象，其包括呼吸速率和呼气尝试、哮鸣和不适的增加，但是这些症状在研究之间是可改变的。

[0347] 在用SEQ ID NO: 71治疗的组中，向羔羊施用三种不同的剂量。无关于治疗的起始日期，每种剂量水平都强烈降低病毒滴度(表B-5)、病毒抗原表达(图29)、裸眼可见病毒病变和组织病理学得分(图30)。另外，虽然临床迹象以不同的方式发作，对于所有测试的剂量都观测到对综合临床得分的积极效果(图31)。

[0348] 对于所有的剂量，来自组合的所有动物的肺上皮细胞衬液中的平均SEQ ID NO: 71浓度接近或高于9 μg/mL (图32)。此9 μg/mL定义为来自使用RSV-B原型毒株(18537)的体外中和测定的IC_{90} x 100。所述Memphis 37毒株的数据显示出，其比RSV-B 18537敏感~6倍。

[0349] 作为结论，当每天递送于新生羔羊，进行3天或5天时，SEQ ID NO: 71治疗对RSV感染-诱导的改变发挥了有益的作用。并未显现出预期中的剂量依赖性，因为在所有剂量下，在目标组织(ELF)中达到的浓度都达到或高于预期给予完全功效的目标浓度。

表

表A-1:抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸序列(其中FR和CDR序列示出)

Nanobody	SEQ ID	FR1	SEQ ID	CDR 1	SEQ ID	FR2	SEQ ID	CDR 2	SEQ ID	FR3	SEQ ID	CDR 3	SEQ ID	FR4	SEQ ID
NC41	1	[illegible]	33	[illegible]	46	[illegible]	47	[illegible]	49	[illegible]	51	[illegible]	61	[illegible]	62
NC41 E1D	2	[illegible]	35	[illegible]	46	[illegible]	47	[illegible]	49	[illegible]	51	[illegible]	61	[illegible]	62
NC41v01	3	[illegible]	37	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	52	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v02	4	[illegible]	36	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	52	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v03	5	[illegible]	38	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	54	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v03 E1D	6	[illegible]	39	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	50	[illegible]	54	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v04	7	[illegible]	40	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	50	[illegible]	55	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v05	8	[illegible]	40	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	53	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v06	9	[illegible]	37	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	50	[illegible]	56	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v06 E1D	10	[illegible]	41	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	50	[illegible]	56	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v07	11	[illegible]	42	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	57	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v08	12	[illegible]	39	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	58	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v09	13	[illegible]	41	[illegible]	46	[illegible]	49	[illegible]	49	[illegible]	55	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v10	14	[illegible]	40	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	53	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v11	15	[illegible]	42	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	53	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v12	16	[illegible]	40	[illegible]	46	[illegible]	47	[illegible]	49	[illegible]	51	[illegible]	61	[illegible]	63
NC41v13	17	[illegible]	37	[illegible]	46	[illegible]	48	[illegible]	49	[illegible]	58	[illegible]	61	[illegible]	63

表A-1:续

Nanobody®	SEQ ID	FR1	SEQ ID	CDR 1	SEQ ID	FR2	SEQ ID	CDR 2	SEQ ID	FR3	SEQ ID	CDR 3	SEQ ID	FR4	SEQ ID
NC41v14	18	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	37	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	48	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	53	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v15	19	EVQLLESGGGLVQAGG SLRLSCAASGGSLS	43	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	48	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	50	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v17	20	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	37	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	46	AISWRGDITY SPSMVEG	48	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	54	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v17 K1D	21	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	41	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	48	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	54	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v18	22	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	37	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	48	AISWRGDITY SPSMVEG	50	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	54	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v18 K1D	23	EVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	41	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	48	AISWRGDITY SPSMVEG	50	RFTISRDNAKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	54	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v19	24	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	51	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v20	25	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	59	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v21	26	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	58	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v21 K1D	27	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	45	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	58	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v22	28	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	60	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v22 K1D	29	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	45	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	60	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	63
NC41v23	30	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	51	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	64
NC41v24	31	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	59	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	64
NC41v25	32	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	58	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	64
NC41v26	33	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	44	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	60	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	64
NC41v26 K1D	34	DVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGGSLS	45	NYVLG	46	WFRQAPG KEREFVA	47	AISWRGDITY SPSMVEG	49	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCAA	60	GTPLNPGAYI YDWSYDY	61	WGQGTLVTVSS	64

表A-2: 抗-hRSV免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸序列

Nanobody®	SEQ ID NO:	序列
NC41	1	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
NC41 EID	2	DVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
NC41v01	3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v02	4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v03	5	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v03 EID	6	DVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGNGREFVAA INWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGT PLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v04	7	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v05	8	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGNGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v06	9	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWPDDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v06 EID	10	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAI NWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTP LNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v07	11	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGNGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v08	12	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v09	13	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGNGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v10	14	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v11	15	EVQLLESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGNGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v12	16	EVQLLESGGGLVQPGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v13	17	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS

表A-2：续

Nanobody®	SEQ ID NO:	序列
NC41v14	18	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v15	19	EVQLLESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v17	20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v17 EID	21	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v18	22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVA AINWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v18 EID	23	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAA INWRDDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGT PLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v19	24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v20	25	EVQLVEGGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v21	26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v21 EID	27	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEDEFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v22	28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v22 EID	29	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
NC41v23	30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v24	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v25	32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v26	33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
NC41v26 EID	34	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGEREFVA AINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGA GTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS

表A-3: 本发明优选多肽的氨基酸序列

Nanobody®	SEQ ID NO:	序列
RSV407	65	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV408	66	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSAAAEVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS AAAEVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFV AAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAG TPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV409	67	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSL SISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFT ISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGT QVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGW FRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLA PDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV410	68	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDIT IGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIY DWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQA GGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVE GRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYW GRGTQVTVSS
RSV411	69	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGLTLDYYALGWFRQAPGKEREGVSCISSSDNSTTYTDSVKGRFTISWDNA KNTLYLQMNSLKPGDTAVYYCAADPALGCYSGSYYPRYDYWGQGTQVTVSS
RSV413	70	EVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGLTLDYYALGWFRQAPGKEREGVSCISSSDNSTTYTDS VKGRFTISWDNAKNTLYLQMNSLKPGDTAVYYCAADPALGCYSGSYYPRYD YWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLSISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPDDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS

表A-3:续

RSV434	71	EVQLLESGGGLVQAGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLAPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTQVTVSS
RSV414 V03	72	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV443 V3D	73	EVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRISCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV426 V06	74	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV444 V6D	75	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV442 V17	76	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS

表A-3:续

RSV435 V17D	77	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV427 V18	78	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV445 V18D	79	DVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKGREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV436 V20	80	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV437 V20D	81	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS
RSV438 V22	82	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS

表A-3:续

PSV439 V26	83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
PSV440 V26D	84	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS
PSV441 V23D	85	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAI NWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPL NPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPN VEGRFTISRDNAKNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDNA KNTGYLQMNSLRPEDTAVYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGQGTLVTVSS

表A-4:接头的氨基酸序列

接头	SEQ ID NO:	序列
5GS	86	GGGGS
7GS	87	GGGAGGS
GGS	88	GGGGSGGGS
9GS	89	GGGGSGGGS
10GS	90	GGGGSGGGGS
15GS	91	GGGGSGGGGSGGGGS
18GS	92	GGGGSGGGGSGGGGGGS
20GS	93	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
25GS	94	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
30GS	95	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
35GS	96	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
G1 铰链	97	EPKSCDKTHTCPPCP
9GS-G1 铰链	98	GGGGSGGGSEPKSCDKTHTCPPCP
美洲驼上部长铰链区	99	EPKTPKPQPAAA
G3 铰链	100	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPC PRCPEPKSCDTPPPCPRCP
Ala	101	AAA

表 B-1：PBPK 建模中使用的临床前和临床研究

研究类型	物种	施用	剂量
研究 1：初始 PK 研究	大鼠	IV	5 mg/kg 单一剂量
		肺部 鼻吸入 可变的吸入时间、固定的气溶胶浓度和颗粒大小分布	10-250 mg/kg 单一剂量
研究 2：毒性研究	大鼠	IV	5-50 mg/kg 每天一次进行 14 天
研究 3：心血管安全性药物学研究	比格犬	IV	3 mg/kg、10 mg/kg 和 30 mg/kg 的增量剂量
研究 4：毒性研究	大鼠	肺部 鼻吸入 固定的吸入时间，可变的气溶胶浓度和颗粒大小分布	15 mg/kg、50 mg/kg、150 mg/kg 多次给药
研究 5：临床研究	人类	肺部 团吸入(bolus inhalation) (在整个吸入期间气溶胶都不存在) 向后呼吸(经口吸入和经鼻呼出)	7、21、70、140、210 mg 的单次给药以及 70 mg 和 105 mg 的 B.I.D.
研究 6：临床研究	人类	IV 经口吸入	0.3 mg/kg 单次给药，5 min 输注 200 mg 单次和多次给药

表 B-2：用于本发明多肽(如 SEQ ID NO: 71)肺部施用剂量选择的体重类别

	重量类别	填充体积	填充剂量	雾化时间[a]	标称剂量 (mg/kg)	吸入剂量 (mg/kg)	沉积剂量[b] (mg/kg)
1 kg 增量步骤	5.0 - 6.0 kg	**0.150 mL**	7.5 mg	~45 秒	1.50-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	6.1 - 8.0 kg	**0.200 mL**	10.0 mg	~60 秒	1.64[c]-1.25	0.33-0.25	0.033-0.025
	8.1 - 10.0 kg	**0.250 mL**	12.5 mg	~75 秒	1.54-1.25	0.31-0.25	0.031-0.025
2 kg 增量步骤	10.1 - 12.0 kg	**0.300 mL**	15.0 mg	~90 秒	1.49-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	12.1 - 14.0 kg	**0.350 mL**	17.5 mg	~105 秒	1.45-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
	14.1 - 16.0 kg	**0.400 mL**	20.0 mg	~120 秒	1.42-1.25	0.28-0.25	0.028-0.025

[a] 基于~200 μL/min 的装置输出速率。
[b] 达到目标浓度(9 μg/mL)所需的沉积剂量为 0.024 mg/kg。
[c] 安全边际计算是基于最高的标称剂量(1.64 mg/kg)

表 B-3：新生羔羊研究中测量的终末点

终末点	方法
体重	每天使用电子秤(DP-6200，Yamato Corp.)测量每只动物的体重，并记录在个体羊的数据表中
心跳和呼吸速率	每天用听诊器听诊和用手指在胸腔上触诊以及对胸腔移动的目测检查来测量心跳和呼吸速率。
体温	每天用电子温度计测量直肠温度
哮鸣、呼气尝试和不适	每天通过听诊或通过目测检查对每只羊的呼吸窘迫或不适进行评估
血液氧合	每天用脉搏血氧计(PalmSAT 2500A VET，Nonin Medical，Inc Plymouth，MN，USA)评估动脉血的氧气水平。血氧计的探针经人工固定在最接近肛门的尾巴根部(天然无毛的部位)。继而对股动脉进行触诊来测量脉搏速率并与血氧计上显示的脉搏速率进行比较，仅在两种脉搏速率在彼此 20%之内时记录 Sp02 值。
裸眼可见病毒病变	对每个个体肺叶的百分比实质累及度(裸眼可见病变)进行打分。受影响具体肺叶组织相对于经打分的整个肺叶组织的百分比基于研究者的判断来进行评估。
实变组织学得分	通过评估百分比肺累及确定了组织学得分。肺泡累及定义为由于中性白血球、淋巴细胞、血浆细胞的肺泡隔膜渗滤以及伴随中性白血球，巨噬细胞，和小量细胞碎片的腔内累积的 II 型细胞肥大而减少的肺泡腔膨胀。基于综合病变规模通过将观测的百分比范围转化为简单的整数来定义得分：0%累及=0，1-9%累及=1，10-39%累及=2，40-69%累及=3，70-100%累及=4。
免疫组织化学	用于对肺中 hRSV 抗原进行检测、定位、和定量的免疫组织化学在来自 4 个肺叶(2 个肺片/非-BALF 洗涤的肺叶用于免疫组织化学和组织病理学)的石蜡包埋的组织上进行，其中使用与此前描述的方法[1，2]类似的方法，但具有以下改变：在 TRIS-EDTA-0.05% Tween 20，pH 9.0 中进行加热缓冲剂抗原修复，而不是 Pronase E 抗原修复。继而用 TBS-0.05% Tween 20 中的 3% BSA，pH 7.4 将切片封闭 15 分钟，随后是用 TBS-tween 的 20%的正常猪血清在另外封闭 15 分钟。将初级多克隆山羊抗-hRSV 抗体(EMD/Millipore/Chemicon，Billerica，MA)以 1:500 在 22°C 应用 1.5 小时。用生物素化的兔抗-山羊次级抗体(Kirkegaard-Perry Labs，Gaithersburg，MD)来进行 45 分钟的次级检测，随后是用链霉亲和素缀合的 HRP 进行 30 分钟。使用 Nova Red (Vector，Burlingame，CA)进行显色 90 秒。对载玻片(两个肺样品)进行了评估并得分如下：对每个载玻片上 20 个独特的 10X 视野进行抗原染色评估，并对每个视野中受影响的支气管/细支气管和肺泡的

	数目进行计数。
斑点形成单位测定	将系列稀释的 BALF 样品应用于 12-孔培养平板(Fisher Scientific，Hanover，IL)中在补充 10%热失活的胎牛血清(FBS) (Atlanta Biologicals，Atlanta，GA)和 50 μg/mL 硫酸卡那霉素(Invitrogen)的 DMEM 培养基中(Mediatech，Inc.，Manassas，VA)生长至 70%汇合的 HEp-2 细胞。每个样品不经稀释并且以四个另外的系列稀释(1:10、1:100、1:1,000 和 1:10,000)一式双份来进行分析。在 37℃，5% CO2 温育 48 小时后，用冷的 60%丙酮/40%甲醇溶液将细胞固定一分钟。过夜初级抗体(针对 hRSV[所有抗原]的山羊多克隆 Ab，Millipore，Billerica，MA)温育之后是洗涤和次级抗体(缀合至 AlexaFluor 488 的兔抗-山羊 Fab'，Invitrogen)温育 30 分钟。将平板进行清洗并使用 FITC/GFP 滤镜在倒置荧光显微镜(Olympus CKX41，Center Valley，PA)上探查感染的荧光斑点的存在。五个或更多个荧光细胞计为单一斑点事件。
qPCR	对所有动物，使用逆转录定量聚合酶链反应 (RT-qPCR)，在鼻腔(鼻洗涤液)和肺(来自右下叶的 BALF 以及来自汇集的组织样品的肺匀浆)中进行了病毒 RNA 的定量。根据厂商(Invitrogen)的指引，进行从 BALF，鼻洗涤和肺匀浆的 RNA 分离，随后用 DNase 处理(Ambion，TURBO DNase，Austin，TX)。测量了在 260 和 280 nm 的光吸收读数，以确定 RNA 浓度和纯度。使用 One-Step Fast qRT-PCR Kit 预混液(Quanta，BioScience，Gaithersburg，MD)在 GeneAmp 5700 Sequence Detection System (Applied Biosystems，Carlsbad，CA)中进行了 RT-qPCR，其中利用 PREXCEL-Q 来进行所有的设定计算。用于 hRSV M37 核蛋白的引物和探针用 ABI Primer Express 2.0 基于 hRSV 登录号 M74568 来进行设计。
上皮细胞衬液中的 SEQ ID NO: 71	定性的 ELISA 方法用于羊 BALF 中 SEQ ID NO: 71 的定量。基于 BALF 中测量的 SEQ ID NO: 71 浓度以及随后通过尿素方法归一化，计算了尸体解剖时的上皮细胞衬液中的 SEQ ID NO: 71 浓度[3]

[1] Olivier, A., et al., Human respiratory syncytial virus A2 strain replicates and induces innate immune responses by respiratory epithelia of neonatal lambs. International journal of experimental pathology, 2009. 90(4): p. 431-8.
[2] Olivier, A.K., et al., Exogenous administration of vascular endothelial growth factor prior to human respiratory syncytial virus a2 infection reduces pulmonary pathology in neonatal lambs and alters epithelial innate immune responses. Experimental lung research, 2011. 37(3): p. 131-43.
[3] Rennard, S.I., et al., Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. Journal of applied physiology, 1986. 60(2): p. 532-8.

表 B-4：临床组合的得分标准

参数	得分	
	0	1
体重	第 6 天%增加> 第 0 天的 20%	第 6 天%增加≤ 第 0 天的 20%
血液氧合	第一次剂量之后所有天的%减少 ≤ 第 0 天的 10%	第一次剂量之后任一天的%减少 > 第 0 天的 10%
体温	第一次剂量之后所有天的%增加 ≤ 第 0 天的 10%	第一次剂量之后任一天的%增加 >第 0 天的 10%
呼吸速率	第一次剂量之后所有天的%增加 ≤ 第 0 天的 10%	第一次剂量之后任一天的%增加 > 第 0 天的 10%
呼气尝试	第一次剂量之后所有天都缺失	第一次剂量之后任一天都出现
哮鸣	第一次剂量之后所有天都缺失	第一次剂量之后任一天都出现
不适	第一次剂量之后所有天都缺失	第一次剂量之后任一天都出现
最小-最大总得分/羊	0	7

表 B-5. 用 SEQ ID NO: 71 或溶媒治疗的新生羔羊中的病毒负载

研究	SEQ ID NO: 71 递送剂量[a]	治疗方案	可培养的病毒		病毒转录物		
			病毒负载降低对比溶媒 (log_{10} FFU/mL 的 BALF 或鼻洗涤液)		病毒 RNA 的减少对比溶媒 (Log_{10} 病毒 RNA 拷贝数/mL 鼻洗涤液和 BALF 或者 Log_{10} 病毒 RNA 拷贝数/mg 肺)		
			鼻洗涤液	BALF	鼻洗涤液	BALF	肺组织
1	溶媒 11 mg 36 mg 110 mg	day 1，2，3，4，5	ND	[4.49 ± 0.43] ND ND ND	ND	[6.39 ± 0.1] 1.82 1.44 1.79	[6.02 ± 0.13] 1.21 0.83 1.88
2	溶媒 11 mg 110 mg	day 3，4，5	[0.99 ± 0.3] 0.29 0.29	[4.83 ± 0.04] 4.13 4.13	[2.89 ± 0.34] 2.59 -0.92	[7.15 ± 0.2] 1.25 0.14	[7.63 ± 0.07] 1.84 0.54
3	溶媒 11 mg	day 3，4，5	ND	[4.98 ± 0.41] 4.11	ND	[7.26 ± 0.3] 0.35	[5.47 ± 0.21] 0.47

从 hRSV 感染的新生羔羊获得的对于独立进行的研究的病毒学结果列表。

[a]递送剂量定义为总的雾化药物(即 SEQ ID NO: 71 的雾化体积 x 浓度)

ND：未进行

注：对于对可培养病毒，统计学分析 0 观点计为 0.7 log_{10} FFU/mL 的 BALF 或鼻洗涤液，并且低于检测限的病毒 RNA 拷贝数计为 0.3 log_{10} 病毒 RNA 拷贝数/mL 的鼻洗涤液。

在剂量中对可培养病毒和病毒转录物的评估的均值在括列标注为[均值 ± 标准差]。

表B-6：用于本发明多肽肺部施用剂量选择的体重类别(如SEQ ID NO: 71)

	重量类别	填充体积	填充剂量	雾化时间[a]	标称剂量 (mg/kg)	吸入剂量 (mg/kg)	沉积剂量[b] (mg/kg)
0.5 kg增量步骤	3.5 ~ 3.9 kg	**0.100 mL**	5.0 mg	~ 30 秒	1.43-1.28	0.39-0.26	0.029-0.026
1 kg增量步骤	4.0 - 5.0 kg	**0.130 mL**	6.5 mg	~ 40 秒	1.63-1.30	0.33-0.26	0.033-0.026
	5.1 - 6.0 kg	**0.150 mL**	7.5 mg	~ 45 秒	1.47-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
2 kg增量步骤	6.1 - 8.0 kg	**0.200 mL**	10.0 mg	~ 60 秒	1.64[c] -1.25	0.33-0.25	0.033-0.025
	8.1 - 10.0 kg	**0.250 mL**	12.5 mg	~ 75 秒	1.54-1.25	0.31-0.25	0.031-0.025
	10.1 - 12.0 kg	**0.300 mL**	15.0 mg	~ 90 秒	1.49-1.25	0.30-0.25	0.030-0.025
	12.1 - 14.0 kg	**0.350 mL**	17.5 mg	~ 105 秒	1.45-1.25	0.29-0.25	0.029-0.025
	14.1 - 16.0 kg	**0.400 mL**	20.0 mg	~ 120 秒	1.42-1.25	0.28-0.25	0.028-0.025
3 kg增量步骤	16.1 ~ 19.0 kg	**0.500 mL**	25.0 mg	~ 150 秒	1.32-1.55	0.31-0.26	0.031-0.026

[a] 基于~200 μL/min的装置输出速率。
[b] 实现目标浓度 (9 μg/mL)所需的沉积剂量为0.024 mg/kg。
[c] 安全边际计算是基于最高的标称剂量(1.64 mg/kg)

序列 LISTING

<110> Ablynx NV
Ablynx NV
<120> RSV感染的治疗
<130> P8374PC00/34074.1
<150> US 62/062,469
<151> 2014-10-10
<150> EP 14193094.1
<151> 2014-11-13
<150> US 62/074,842
<151> 2014-11-04
<150> US 62/067,096
<151> 2014-10-22
<160> 101
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 1

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
    50                  55                  60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
            100                 105                 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 2
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 2
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 3
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 3
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 4
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 4
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 5
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 5
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 6
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 6

Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 7
<211> 126

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 7
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 8
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 8
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 9
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 9
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 10
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 10
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 11
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 11
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 12
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 12
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 13
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 13
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser

100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 14
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 14
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 15
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 15
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 16
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 16
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 17
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列

<400> 17

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 18

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 18

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 19

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 19

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 20

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 20

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 21
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 21
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 22
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 22
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 23
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 23
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 24

<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 25
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 25
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 26
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 26
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 27
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 27
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr

20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 28
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 28
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 29
<211> 126
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 29
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 30
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 30
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 31
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 31
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 32
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 32
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 33

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 33

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 34

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列
<400> 34
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 35
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 35
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 36
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 36
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser

20 25 30

<210> 37

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 37

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser

20 25 30

<210> 38

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 38

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser

20 25 30

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 39

Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser

20 25 30

<210> 40

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列
<400> 40
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 41
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 41
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 42
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 42
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 43
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 43
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30

<210> 44
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 44
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 45
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 45
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
20 25 30
<210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR序列
<400> 46
Asn Tyr Val Leu Gly
1 5
<210> 47
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 47
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala

1 5 10

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 48

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala

1 5 10

<210> 49

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR序列

<400> 49

Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR序列

<400> 50

Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 51

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30

<210> 52
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 52
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30

<210> 53
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 53
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30

<210> 54
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 54
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30

<210> 55
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 框架序列
<400> 55
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30
<210> 56
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 56
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30
<210> 57
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 57
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
20 25 30
<210> 58
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 58
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala

20 25 30

<210> 59

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 59

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala

20 25 30

<210> 60

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala

20 25 30

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR序列

<400> 61

Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 框架序列

<400> 62
Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 63
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 框架序列
<400> 64
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 65
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 65
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser
145 150 155 160
Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg
385 390 395 400

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 66
<211> 384
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ala
115 120 125
Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe
165 170 175
Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn
180 185 190
Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp
225 230 235 240

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala
245 250 255
Ala Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
260 265 270
Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
275 280 285
Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300
Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro
305 310 315 320
Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
325 330 335
Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350
Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp
355 360 365
Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
370 375 380
<210> 67
<211> 396
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 67
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser
145 150 155 160
Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
165 170 175
Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile
180 185 190
Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205
Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp
210 215 220
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly
225 230 235 240
Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln
245 250 255
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
260 265 270
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
275 280 285
Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu
290 295 300
Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala
305 310 315 320
Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly
325 330 335
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln
340 345 350
Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala
355 360 365
Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp
370 375 380
Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
385 390 395

<210> 68
<211> 418
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 68
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
145 150 155 160
Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser
165 170 175
Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
180 185 190
Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro
195 200 205
Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
210 215 220
Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr
225 230 235 240
Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp
245 250 255
Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

275 280 285
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
290 295 300
Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser
305 310 315 320
Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
325 330 335
Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly
340 345 350
Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
355 360 365
Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala
370 375 380
Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile
385 390 395 400
Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val
405 410 415
Ser Ser
<210> 69
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 69
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser
145 150 155 160
Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Leu Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser
325 330 335
Asp His Ser Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Trp Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Lys Pro Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Pro Ala Leu
370 375 380
Gly Cys Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Pro Arg Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 70

<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile
180 185 190
Ser Ser Ser Asp His Ser Thr Thr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Trp Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Lys Pro Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp
225 230 235 240
Pro Ala Leu Gly Cys Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Pro Arg Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys

290 295 300

Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg

305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg

325 330 335

Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile

340 345 350

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu

355 360 365

Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu

370 375 380

Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg

385 390 395 400

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

405

<210> 71

<211> 408

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 71

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr

20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser

100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln

130 135 140

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser

145 150 155 160

Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly

165 170 175

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile

180 185 190

Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg

195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met

210 215 220

Asn Ser Leu Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly

225 230 235 240

Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr

245 250 255

Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ile Ser Cys

290 295 300

Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg

305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg

325 330 335

Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile

340 345 350

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu

355 360 365

Ala Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu

370 375 380

Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg

385 390 395 400

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

405

<210> 72
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 72

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Ile Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 73
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 73
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Ile Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

405

<210> 74

<211> 408

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 纳米抗体序列

<400> 74

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140

Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190

Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240

Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr

245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 75
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 75
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140

Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190

Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240

Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335

Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380

Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 76
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 76

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240

Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 77
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 77
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln

385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 78
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 78

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly

225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 79
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 79
Asp Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Asp Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380

Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 80
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220

Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 81
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 81
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu

370 375 380

Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 82
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190

Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met

210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 83
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 83
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190

Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240

Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300

Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335

Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 84
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 84

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405

<210> 85
<211> 408
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 纳米抗体序列
<400> 85
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Ala Gly Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
130 135 140
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
145 150 155 160
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly
165 170 175
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
180 185 190
Asn Trp Arg Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly
225 230 235 240
Thr Pro Leu Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
275 280 285
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
290 295 300
Ala Ala Ser Gly Gly Ser Leu Ser Asn Tyr Val Leu Gly Trp Phe Arg
305 310 315 320
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Asn Trp Arg
325 330 335
Gly Asp Ile Thr Ile Gly Pro Pro Asn Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile
340 345 350
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu

355 360 365
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Ala Gly Thr Pro Leu
370 375 380
Asn Pro Gly Ala Tyr Ile Tyr Asp Trp Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
405
<210> 86
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 86
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 87
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5
<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 88
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 接头序列
<400> 89
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 90
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10
<210> 91
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 91
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15
<210> 92
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 92
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Ser
<210> 93
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 93

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser
20
<210> 94
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 94
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25
<210> 95
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 95
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30
<210> 96
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 96
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Ser
35

<210> 97
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 97
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15
<210> 98
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 98
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
1 5 10 15
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20
<210> 99
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 99
Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Ala Ala Ala
1 5 10
<210> 100
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头序列
<400> 100
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

50 55 60

<210> 101

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头序列

<400> 101

Ala Ala Ala

1

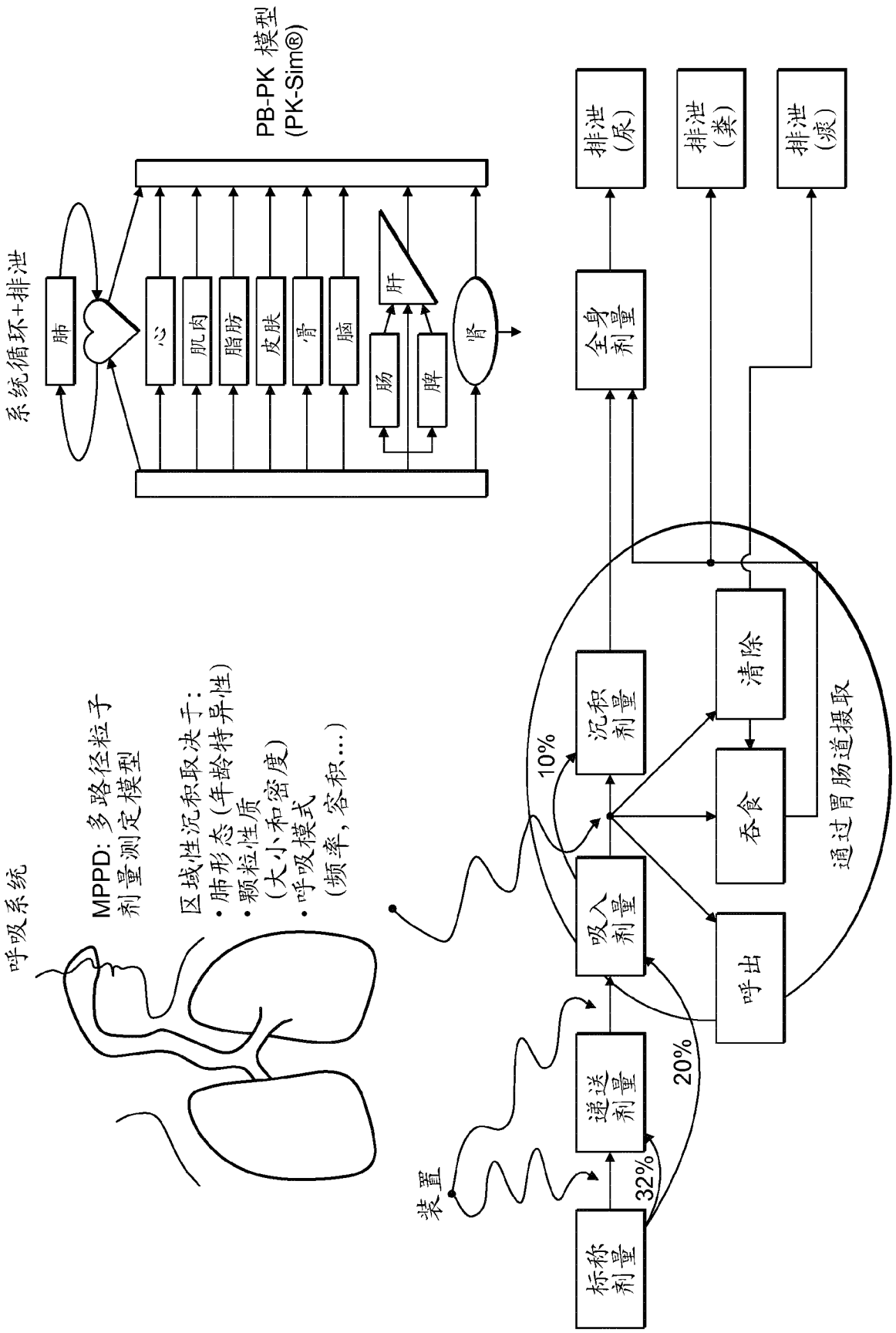

PB-PK 模型
(PK-Sim®)
系统循环+排泄
肺
心
肌肉
脂肪
皮肤
骨
脑
肝
肠
脾
肾
排泄
(尿)
排泄
(粪)
排泄
(痰)
全身
剂量
呼吸系统
MPPD: 多路径粒子
剂量测定模型
区域性沉积取决于:
• 肺形态(年龄特异性)
• 颗粒性质
(大小和密度)
• 呼吸模式
(频率,容积...)
沉积
剂量
10%
清除
吞食
呼出
通过胃肠道摄取
吸入
剂量
递送
剂量
20%
装置
32%
标称
剂量

图 1

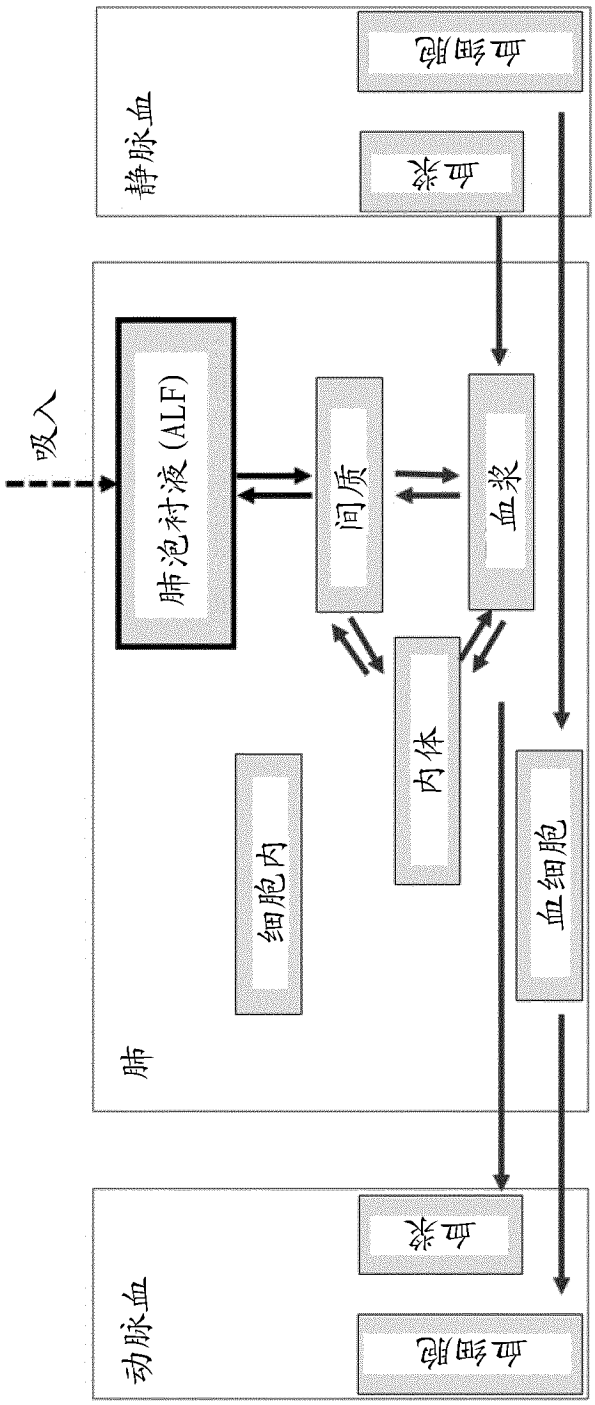


图 2

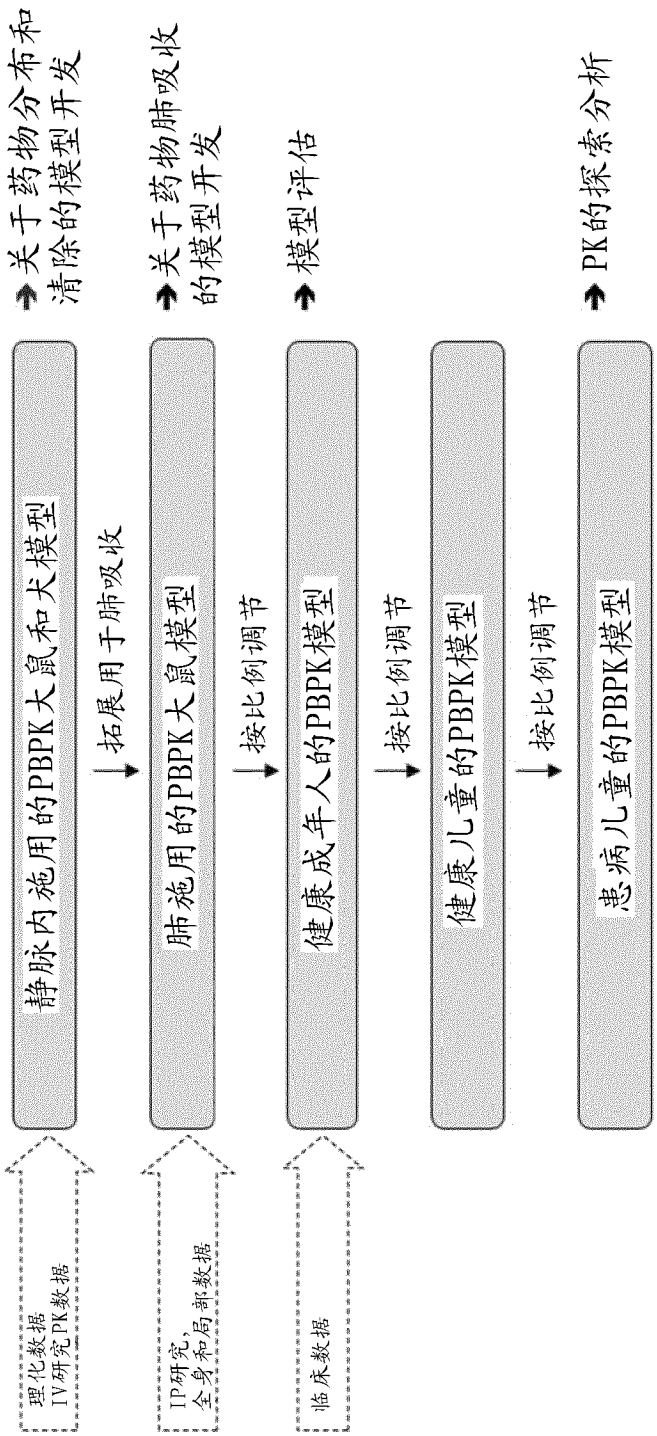

理化数据
IV研究PK数据
静脉内施用的PBPK大鼠和犬模型
关于药物分布和清除的模型开发
拓展用于肺吸收
IP研究，
全身和局部数据
肺施用的PBPK大鼠模型
关于药物肺吸收的模型开发
按比例调节
临床数据
健康成年人的PBPK模型
模型评估
按比例调节
健康儿童的PBPK模型
按比例调节
患病儿童的PBPK模型
PK的探索分析

图 3

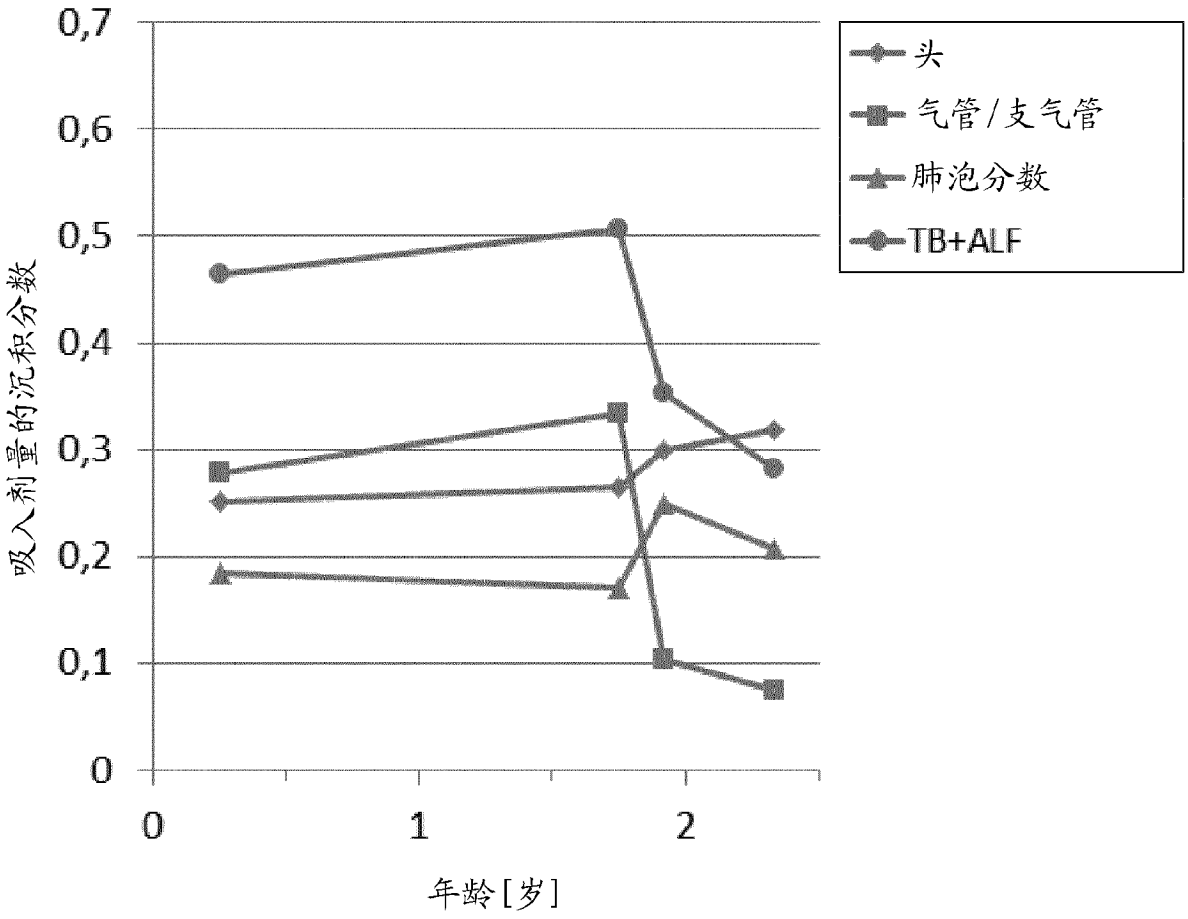


图 4

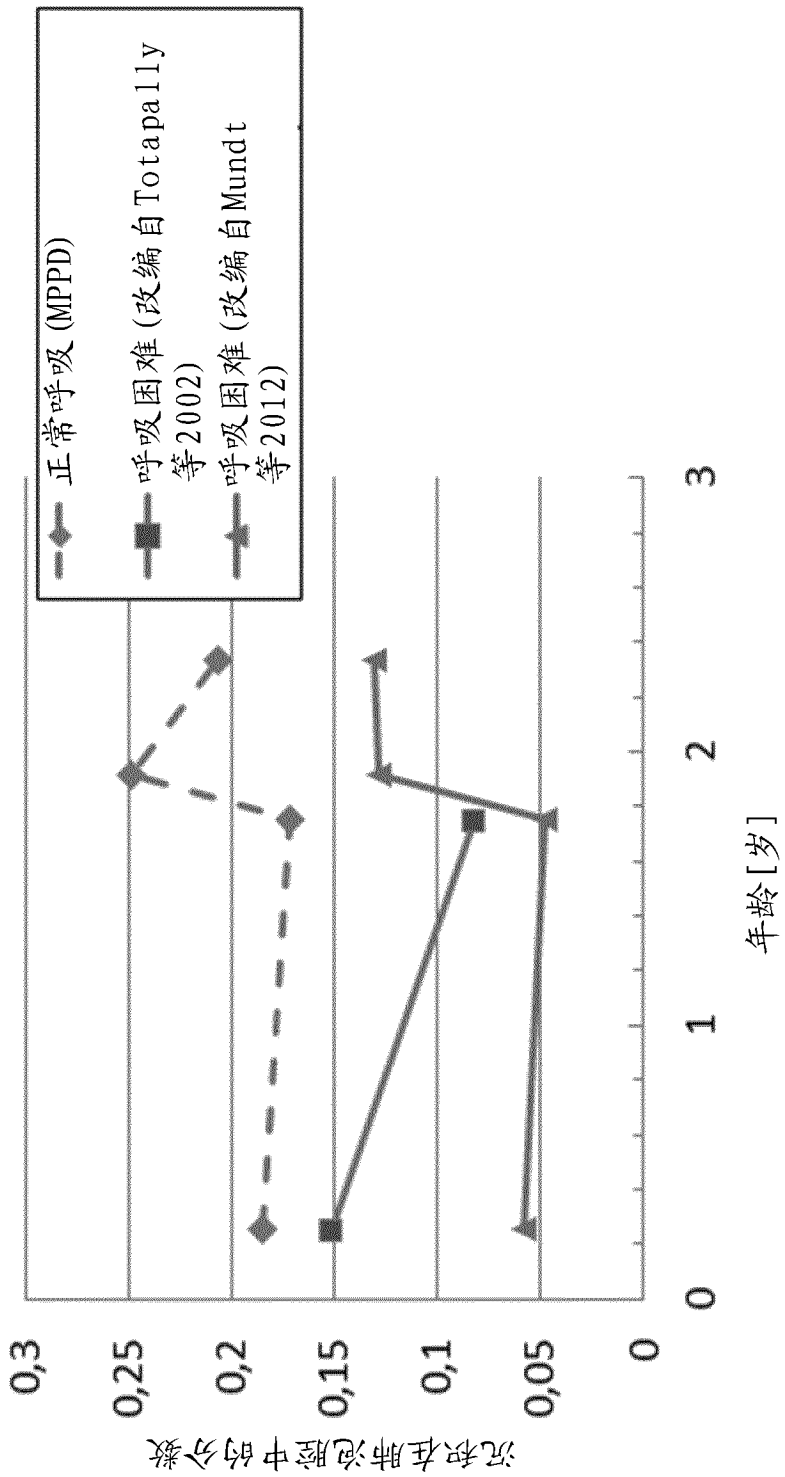

沉积在肺泡腔中的分数
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
1
2
3
年龄[岁]
正常呼吸 (MPPD)
呼吸困难 (改编自Totapally等2002)
呼吸困难 (改编自Mundt等2012)

图 5

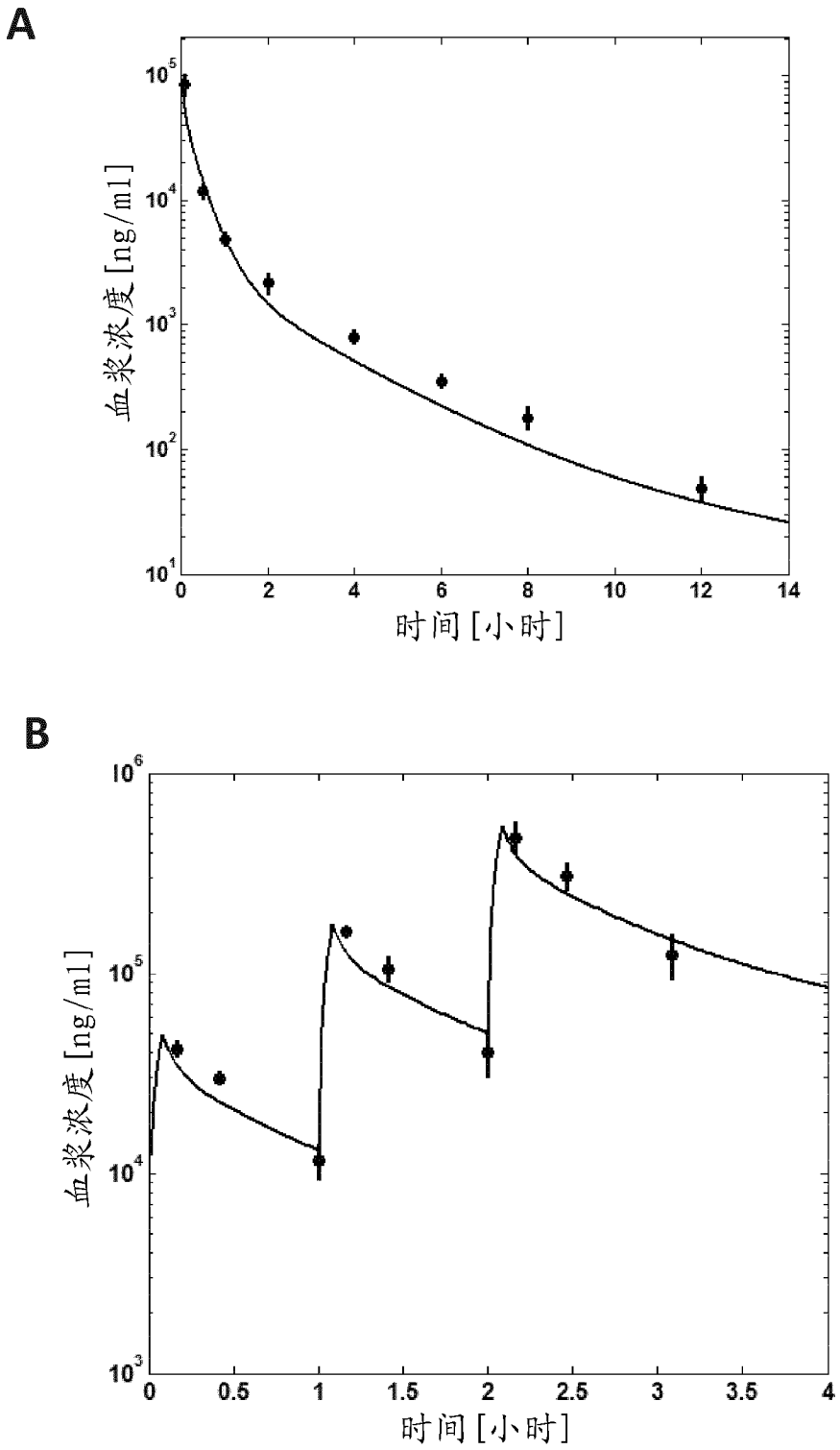


图 6

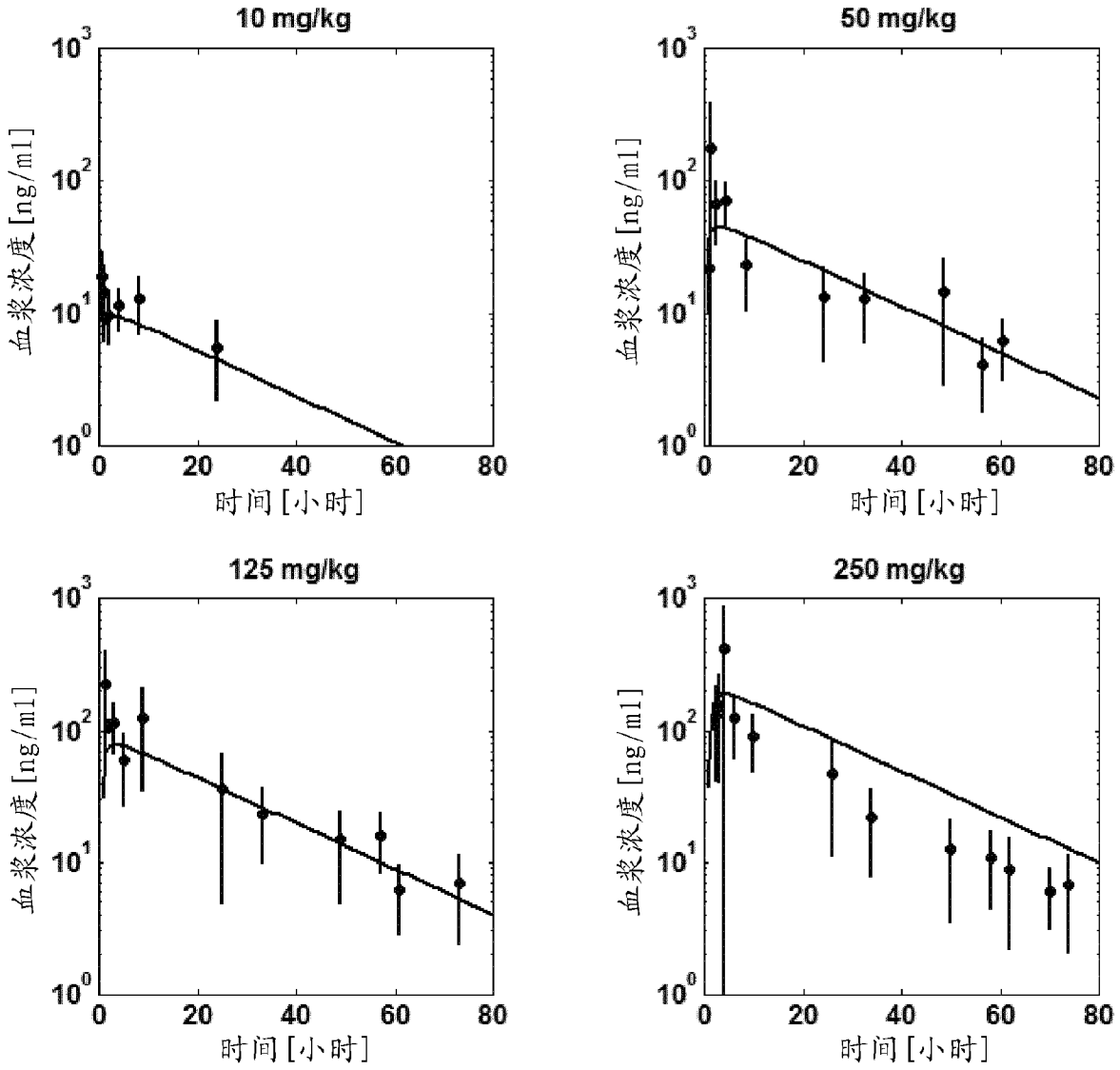

10 mg/kg
50 mg/kg
125 mg/kg
250 mg/kg
血浆浓度 [ng/ml]
时间 [小时]
10^0
10^1
10^2
10^3
0
20
40
60
80

图 7

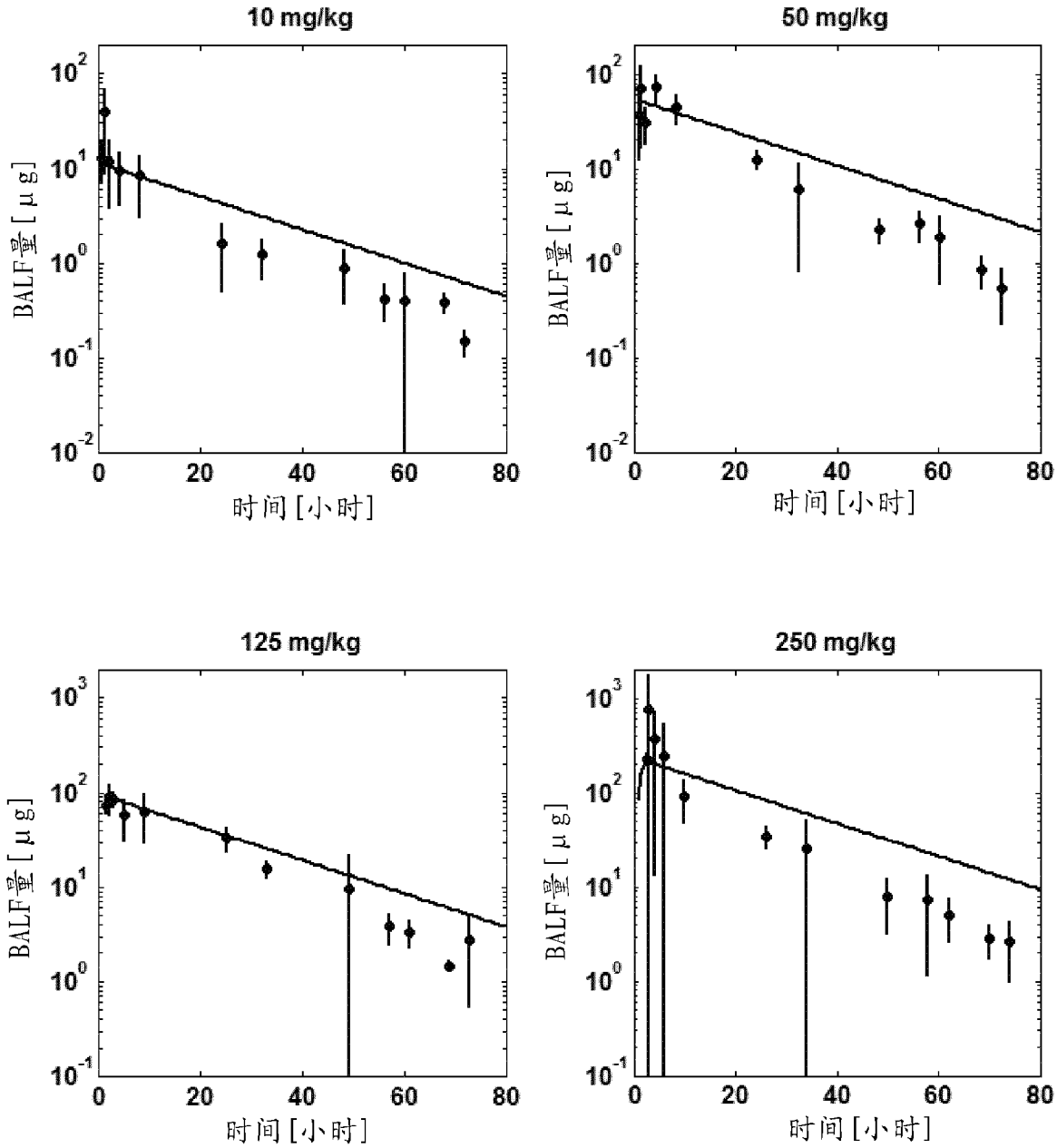

10 mg/kg
50 mg/kg
125 mg/kg
250 mg/kg
BALF量[μg]
时间[小时]
0
20
40
60
80
10^{3}
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}

图 8

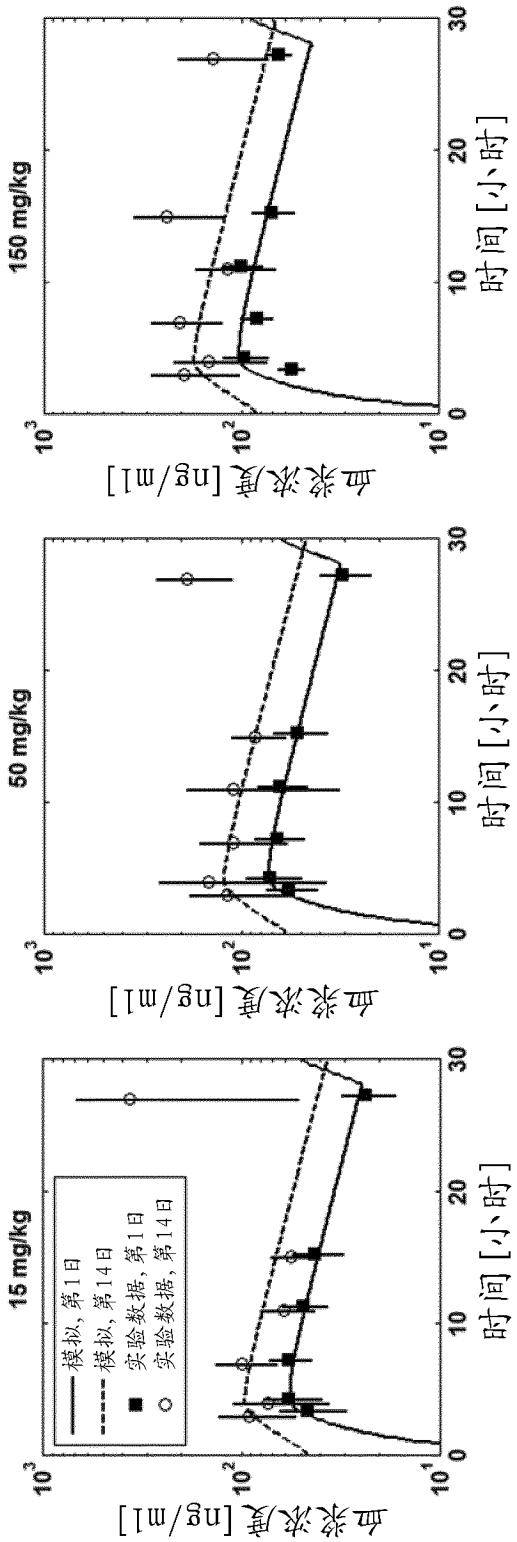

15 mg/kg
50 mg/kg
150 mg/kg
模拟，第1日
模拟，第14日
实验数据，第1日
实验数据，第14日
血浆浓度 [ng/ml]
时间 [小时]
10^3
10^2
10^1
0
10
20
30

图 9

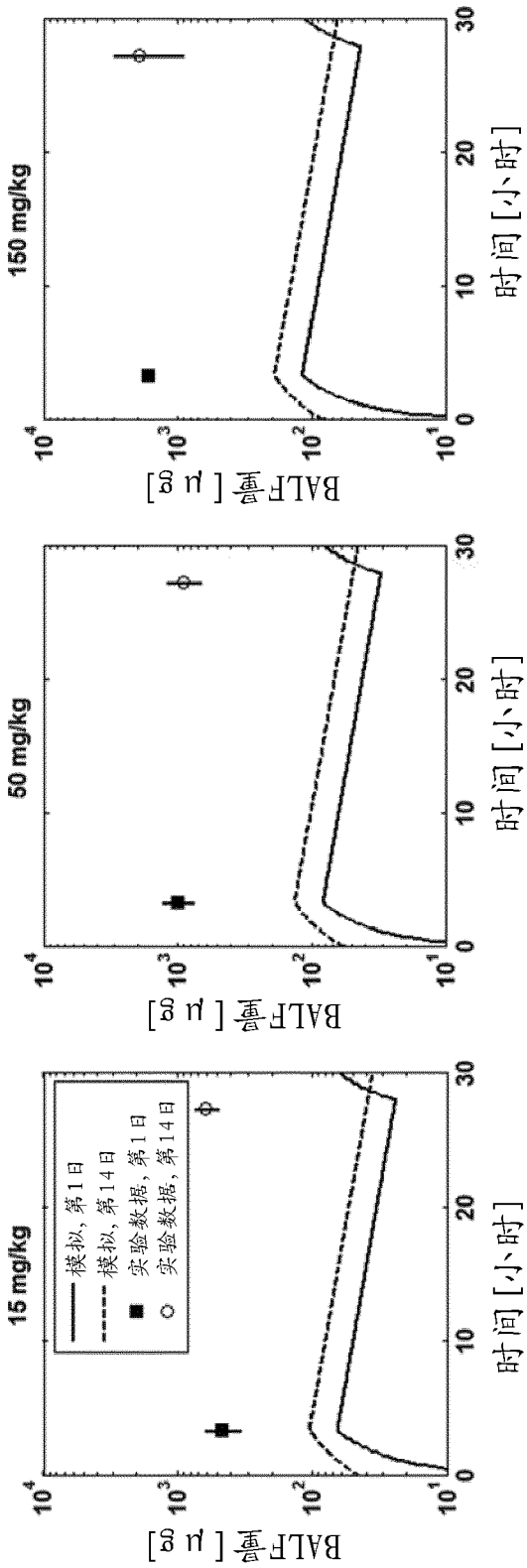
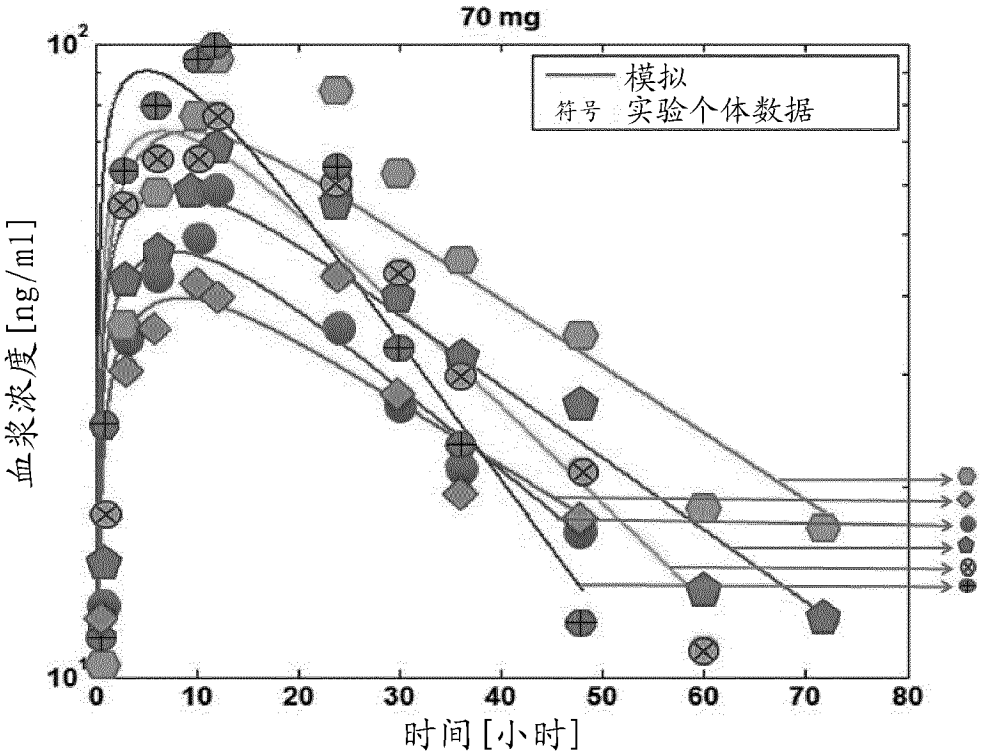
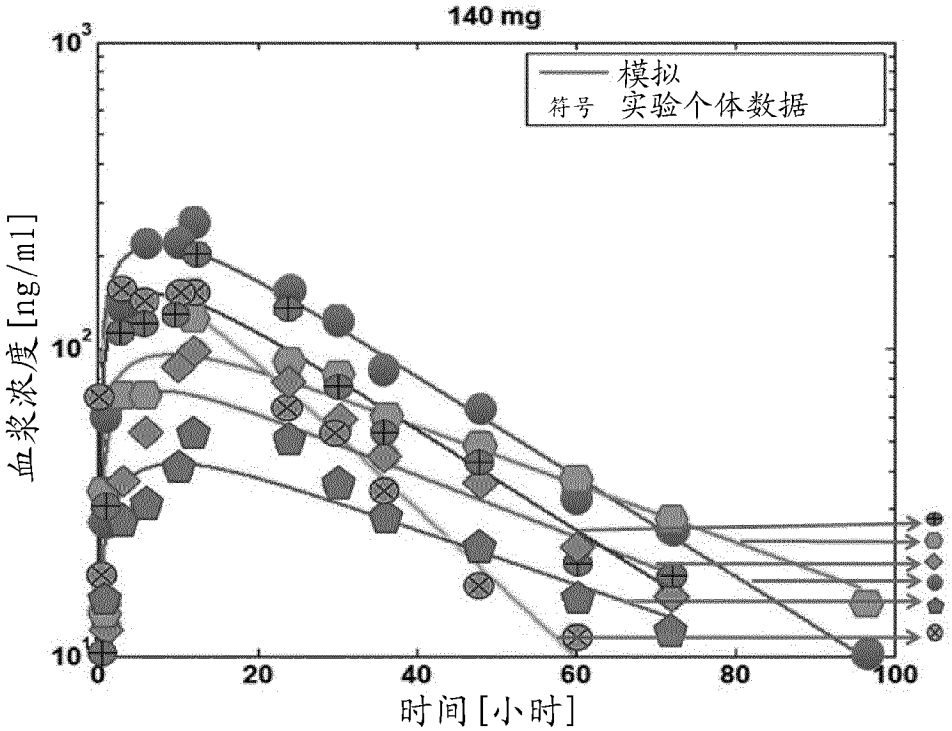

15 mg/kg
50 mg/kg
150 mg/kg
模拟, 第1日
模拟, 第14日
实验数据, 第1日
实验数据, 第14日
BALF量 [μg]
时间 [小时]
10^4
10^3
10^2
10^1
0
10
20
30

图 10

A


70 mg
模拟
符号 实验个体数据
血浆浓度 [ng/ml]
时间 [小时]
10^2
10^1
0
10
20
30
40
50
60
70
80

B


140 mg
模拟
符号 实验个体数据
血浆浓度 [ng/ml]
时间 [小时]
10^3
10^2
10^1
0
20
40
60
80
100

C

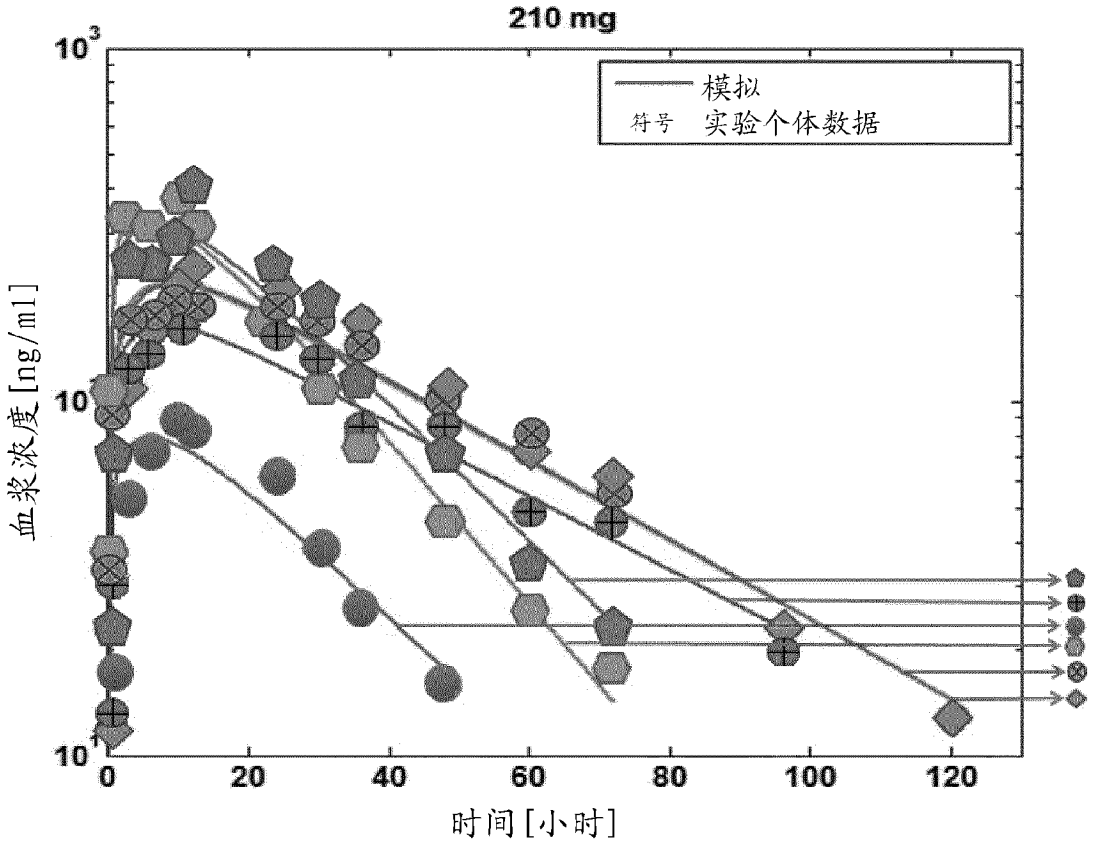

210 mg
模拟
符号 实验个体数据
血浆浓度[ng/ml]
时间[小时]
10^3
10
10^1
0
20
40
60
80
100
120

图 11

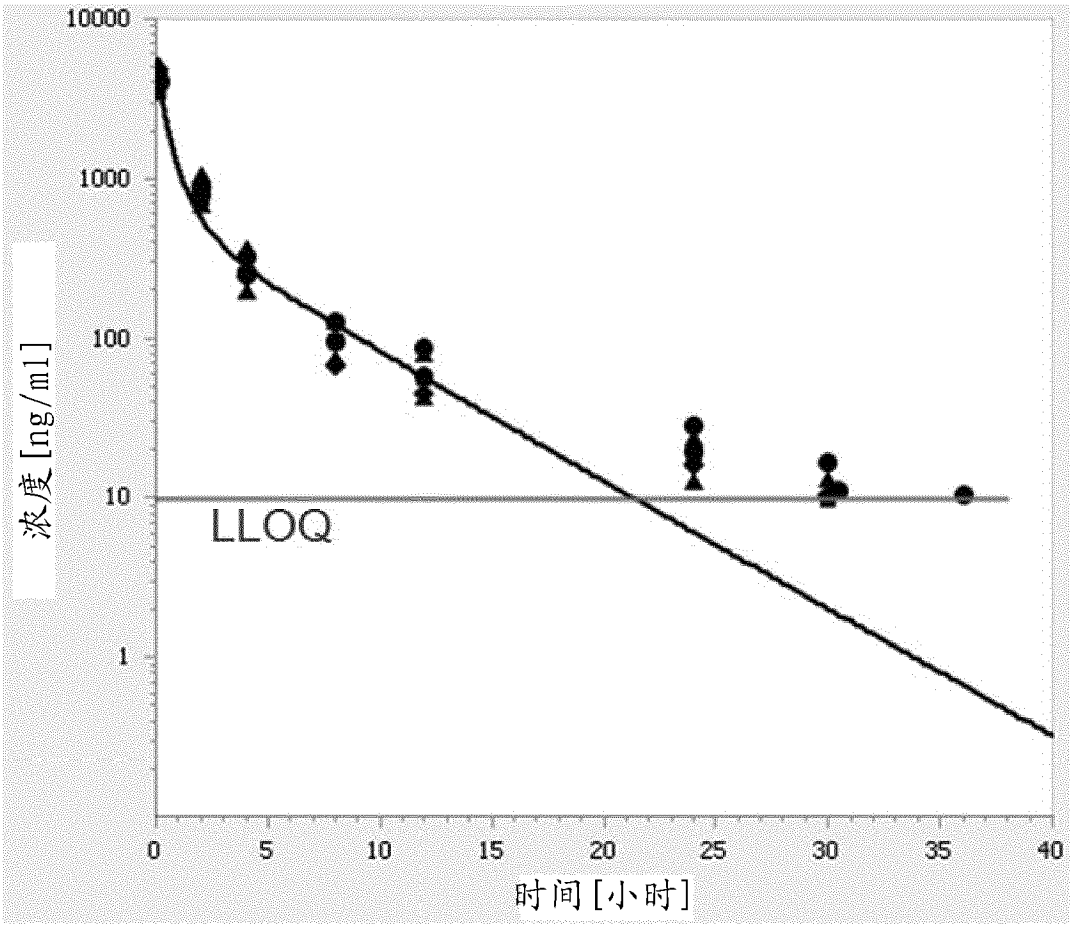


图 12

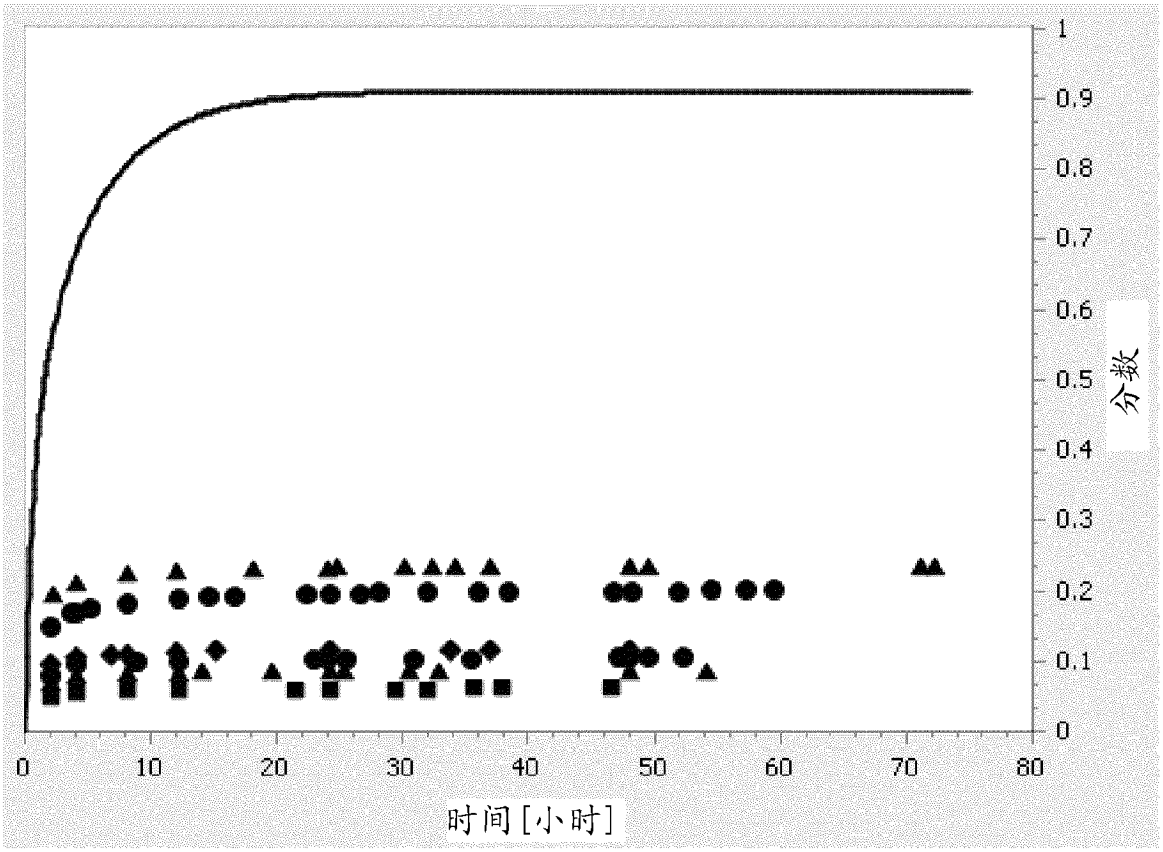
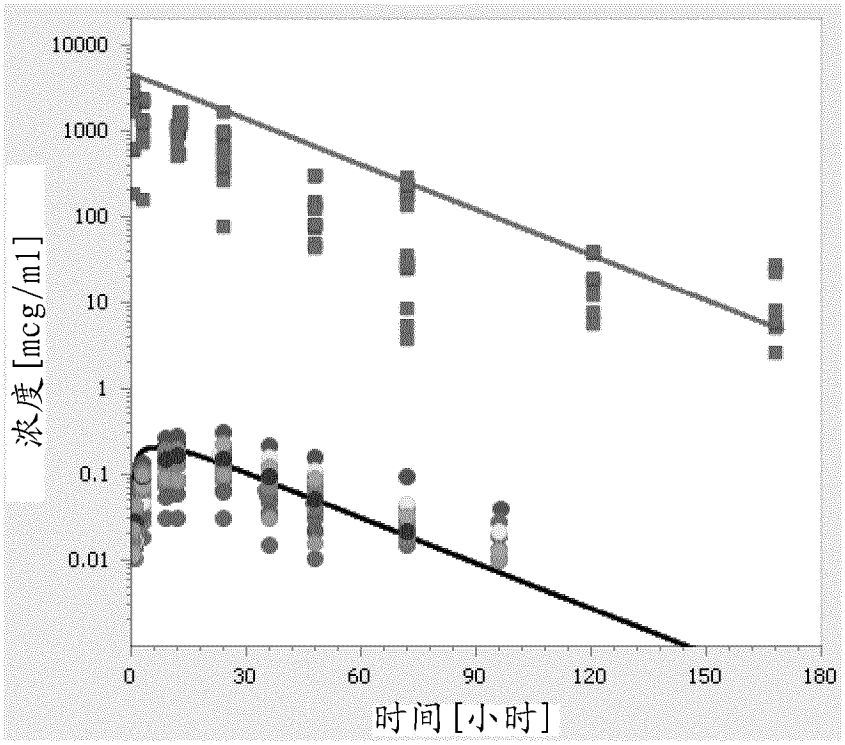


图 13

A


10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
浓度[mcg/ml]
0
30
60
90
120
150
180
时间[小时]

B

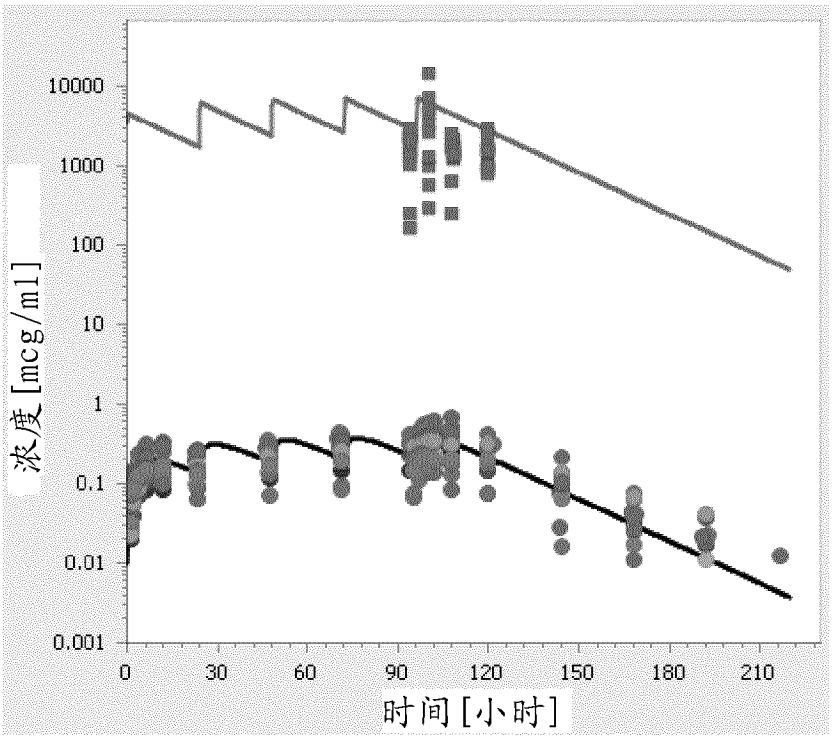

10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
浓度[mcg/ml]
0
30
60
90
120
150
180
210
时间[小时]

图 14

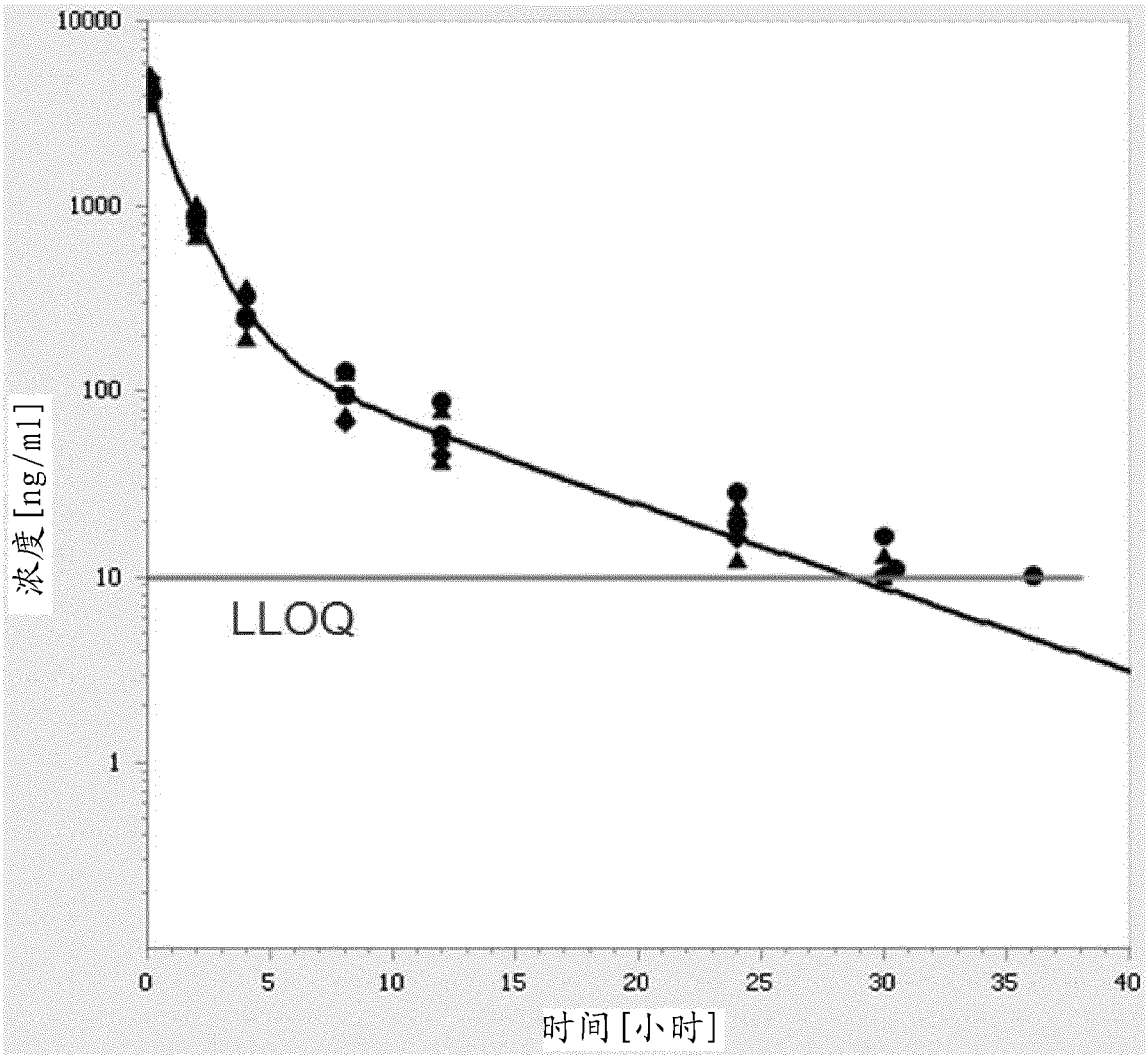


图 15

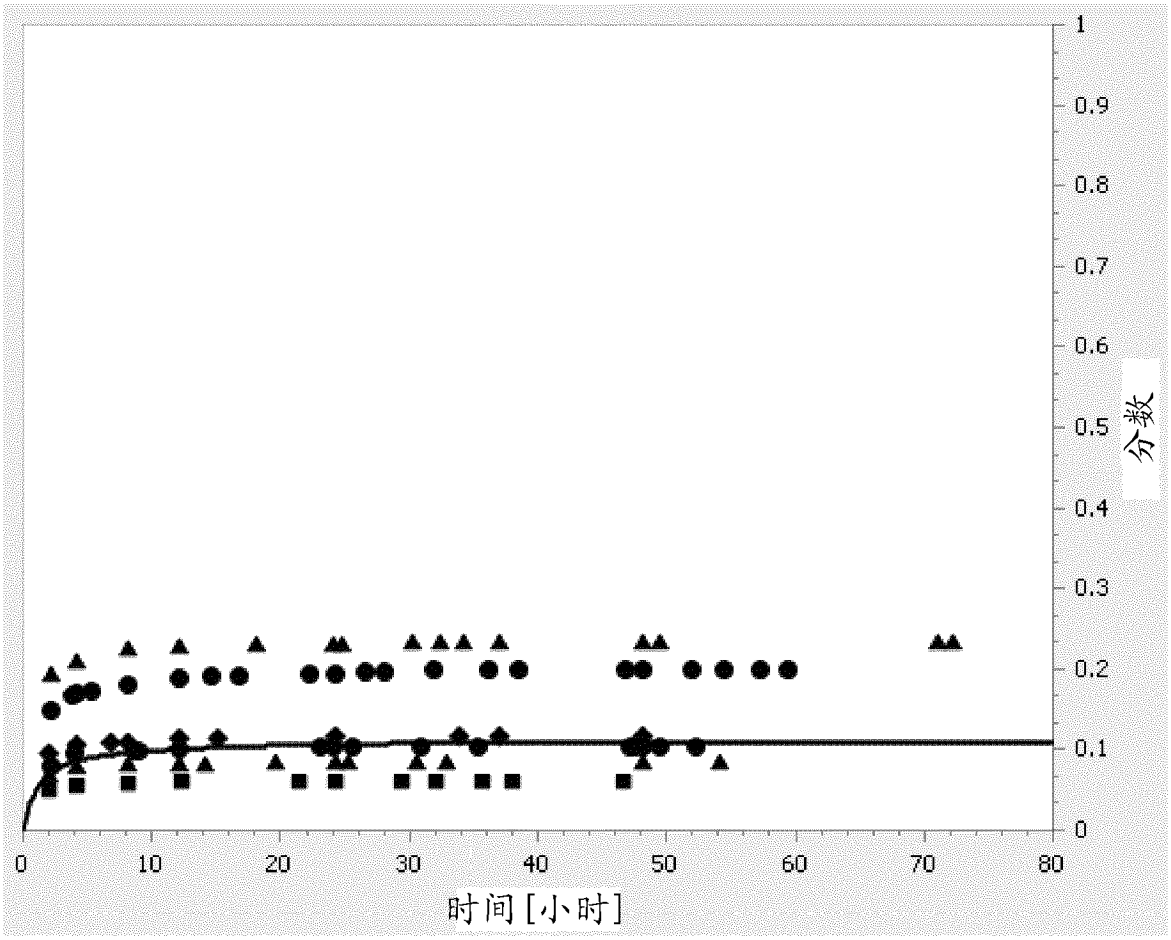
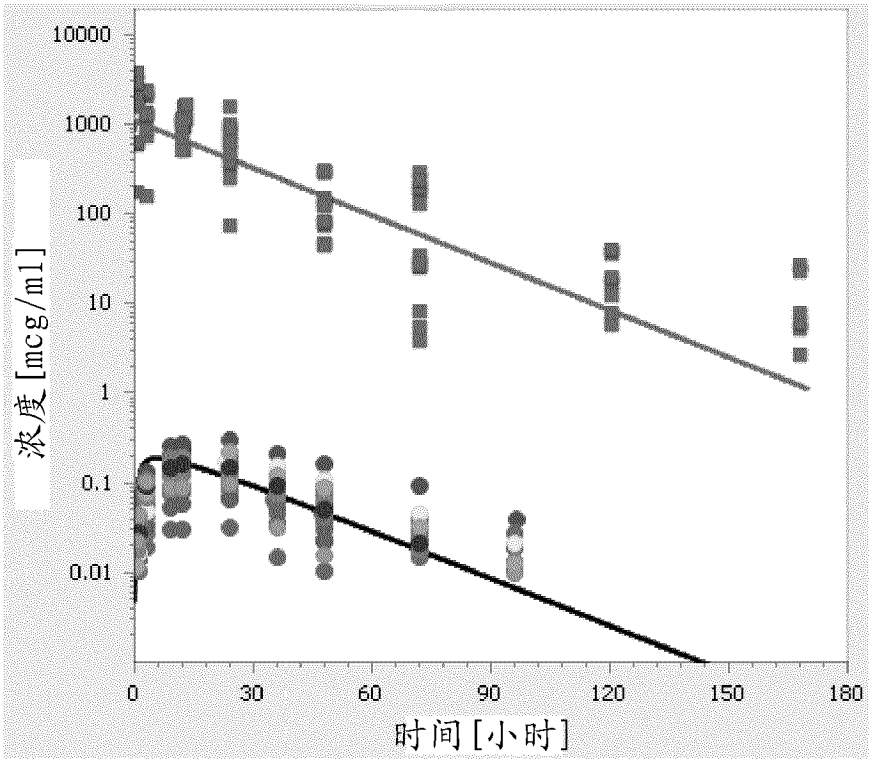


图 16

A


10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
浓度 [mcg/ml]
0
30
60
90
120
150
180
时间 [小时]

B

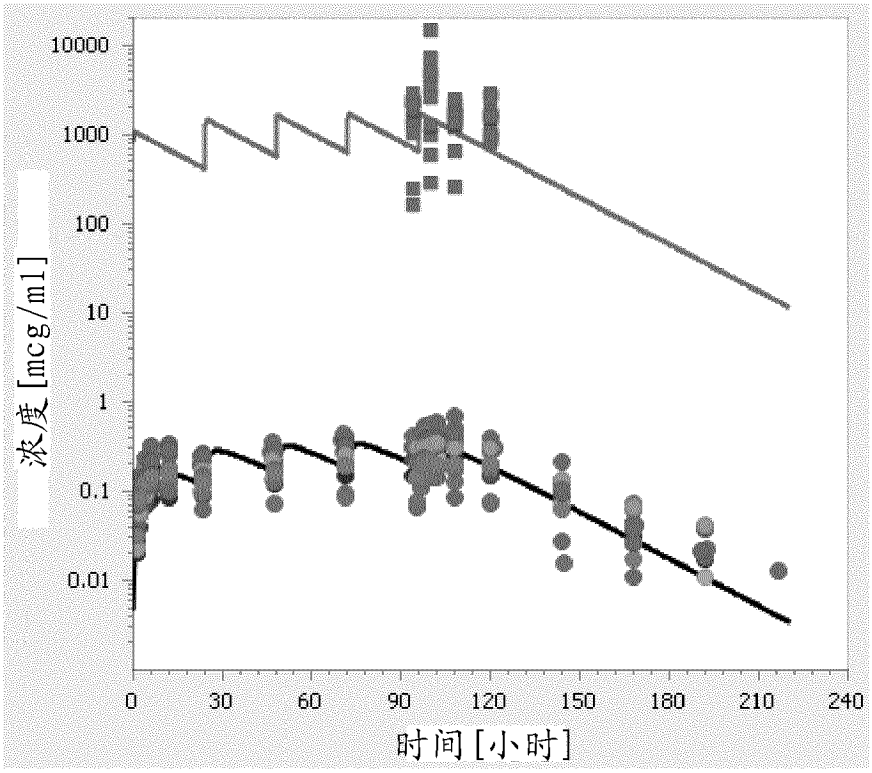

10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
浓度 [mcg/ml]
0
30
60
90
120
150
180
210
240
时间 [小时]

图 17

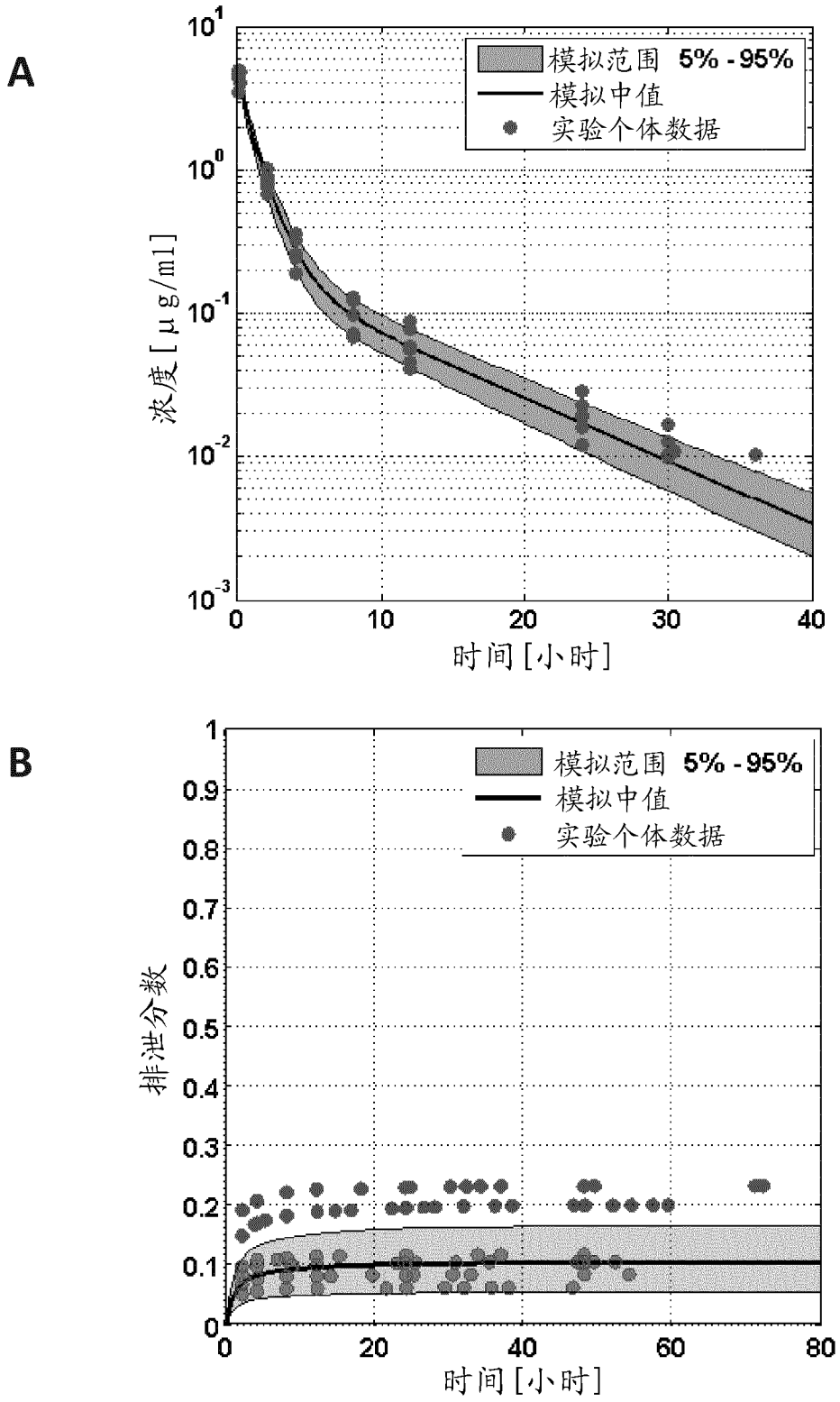

A
模拟范围 5% - 95%
模拟中值
实验个体数据
浓度 [μg/ml]
时间 [小时]
B
模拟范围 5% - 95%
模拟中值
实验个体数据
排泄分数
时间 [小时]

图 18

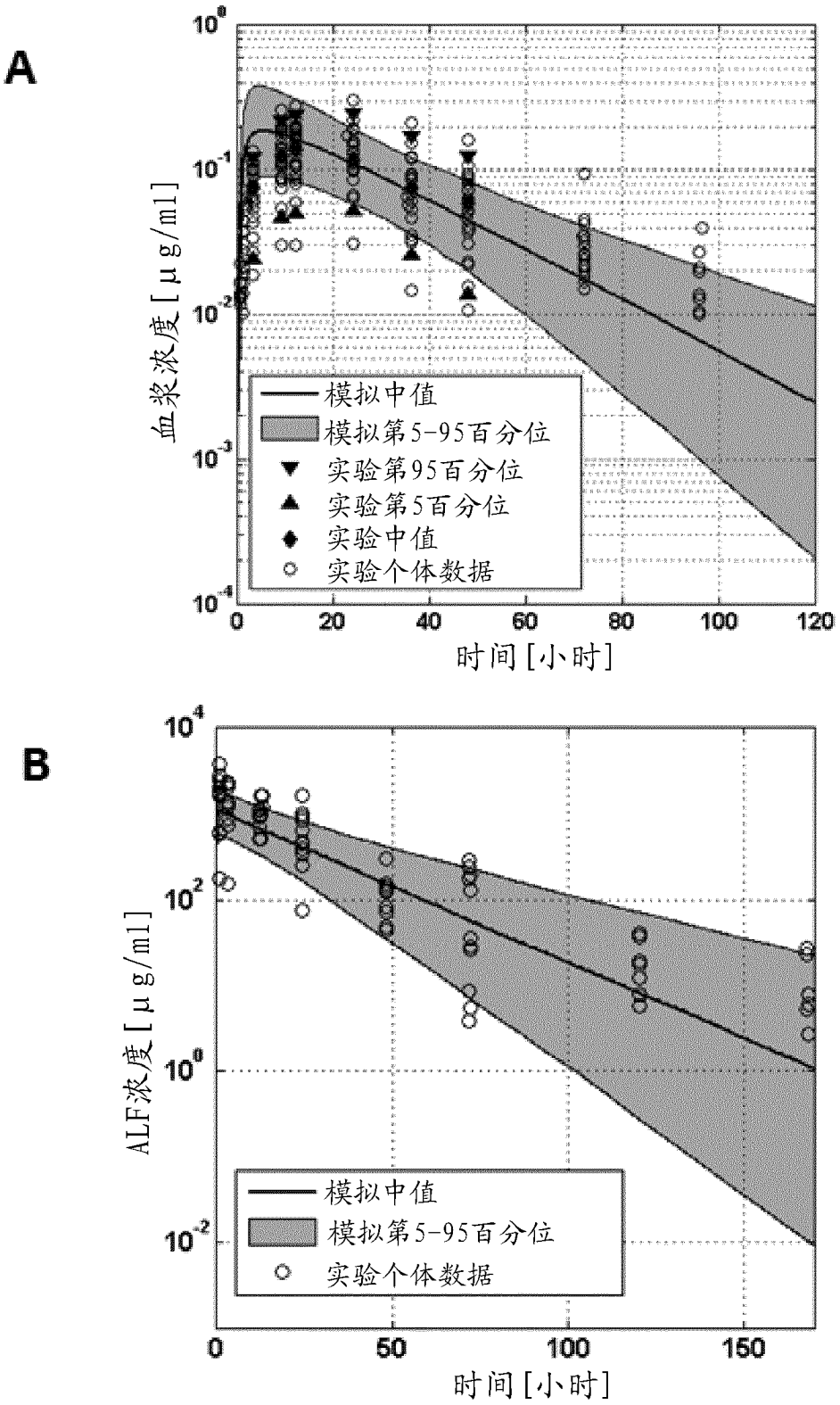
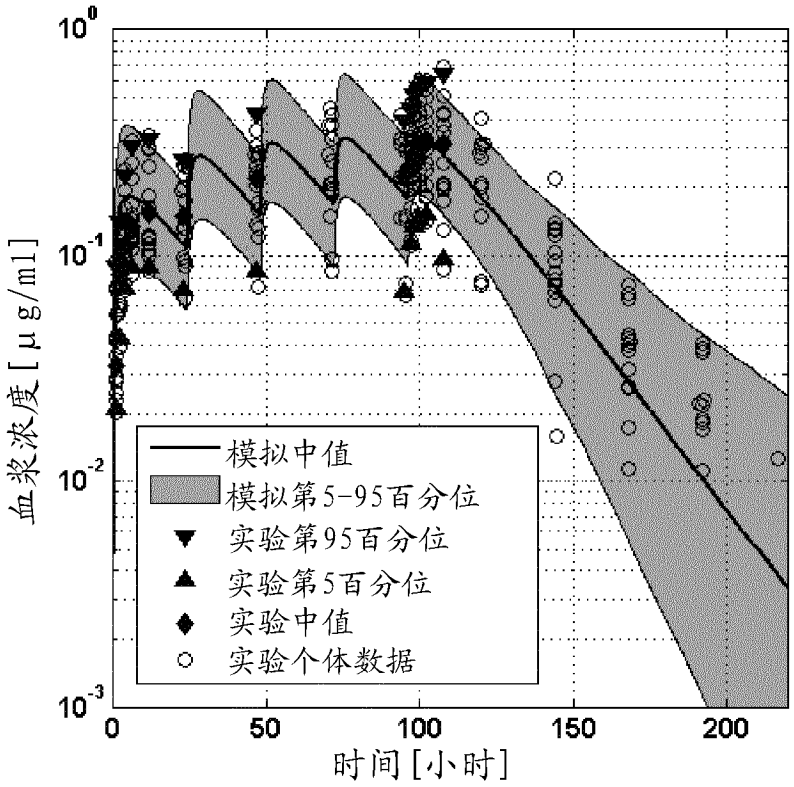

A
血浆浓度[μg/ml]
时间[小时]
模拟中值
模拟第5-95百分位
实验第95百分位
实验第5百分位
实验中值
实验个体数据
B
ALF浓度[μg/ml]
时间[小时]
模拟中值
模拟第5-95百分位
实验个体数据

图 19

A


血浆浓度[μg/ml]
时间[小时]
模拟中值
模拟第5-95百分位
实验第95百分位
实验第5百分位
实验中值
实验个体数据

B

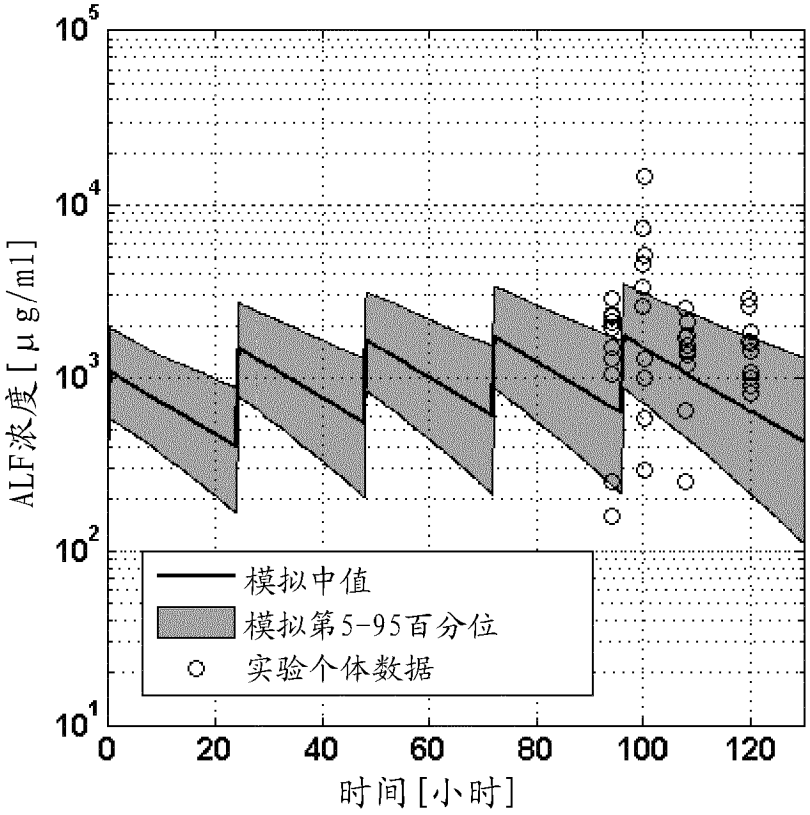

ALF浓度[μg/ml]
时间[小时]
模拟中值
模拟第5-95百分位
实验个体数据

图 20

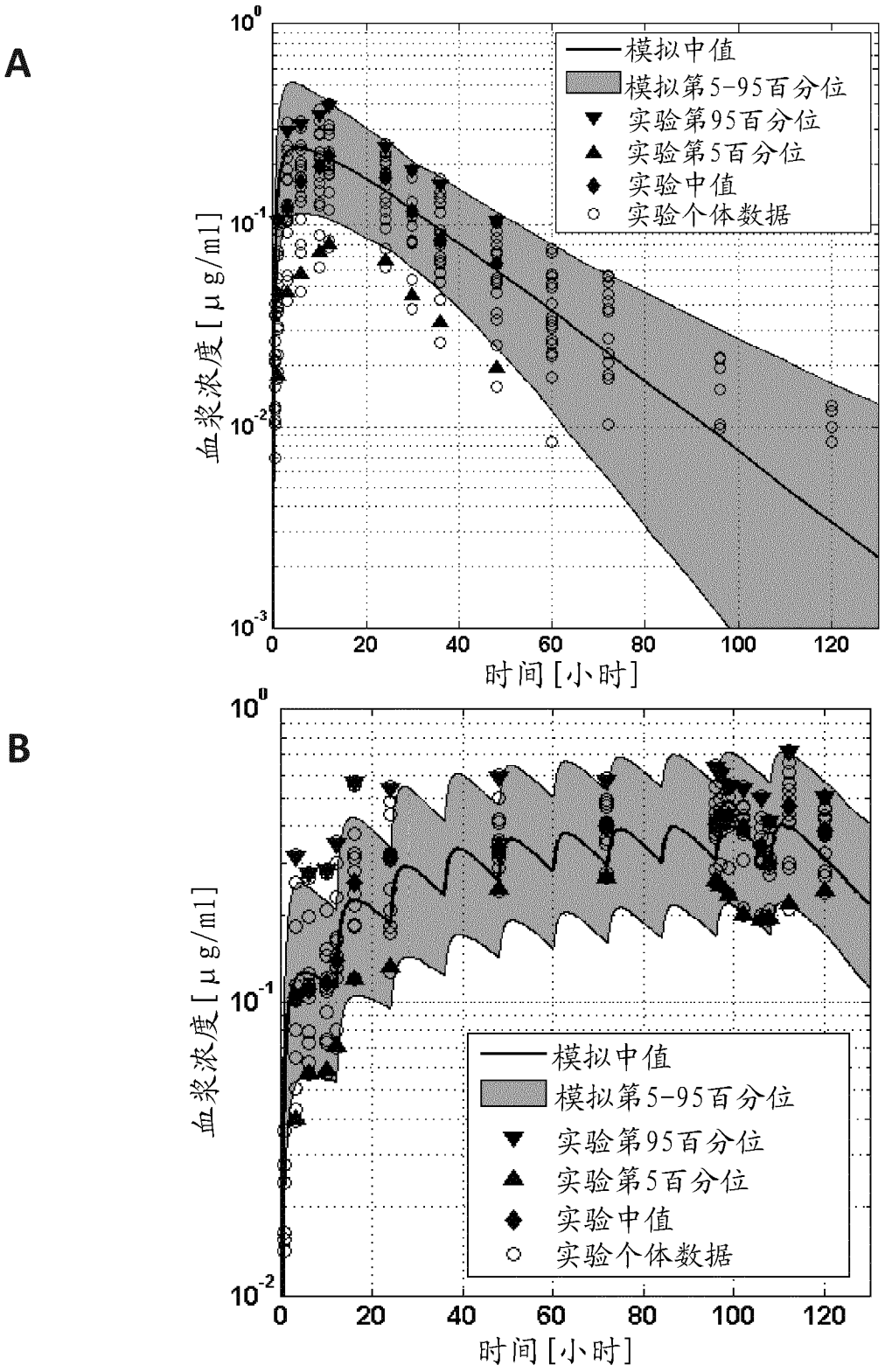

A
B
模拟中值
模拟第5-95百分位
实验第95百分位
实验第5百分位
实验中值
实验个体数据
血浆浓度[μg/ml]
时间[小时]
10^0
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
0
20
40
60
80
100
120

图 21

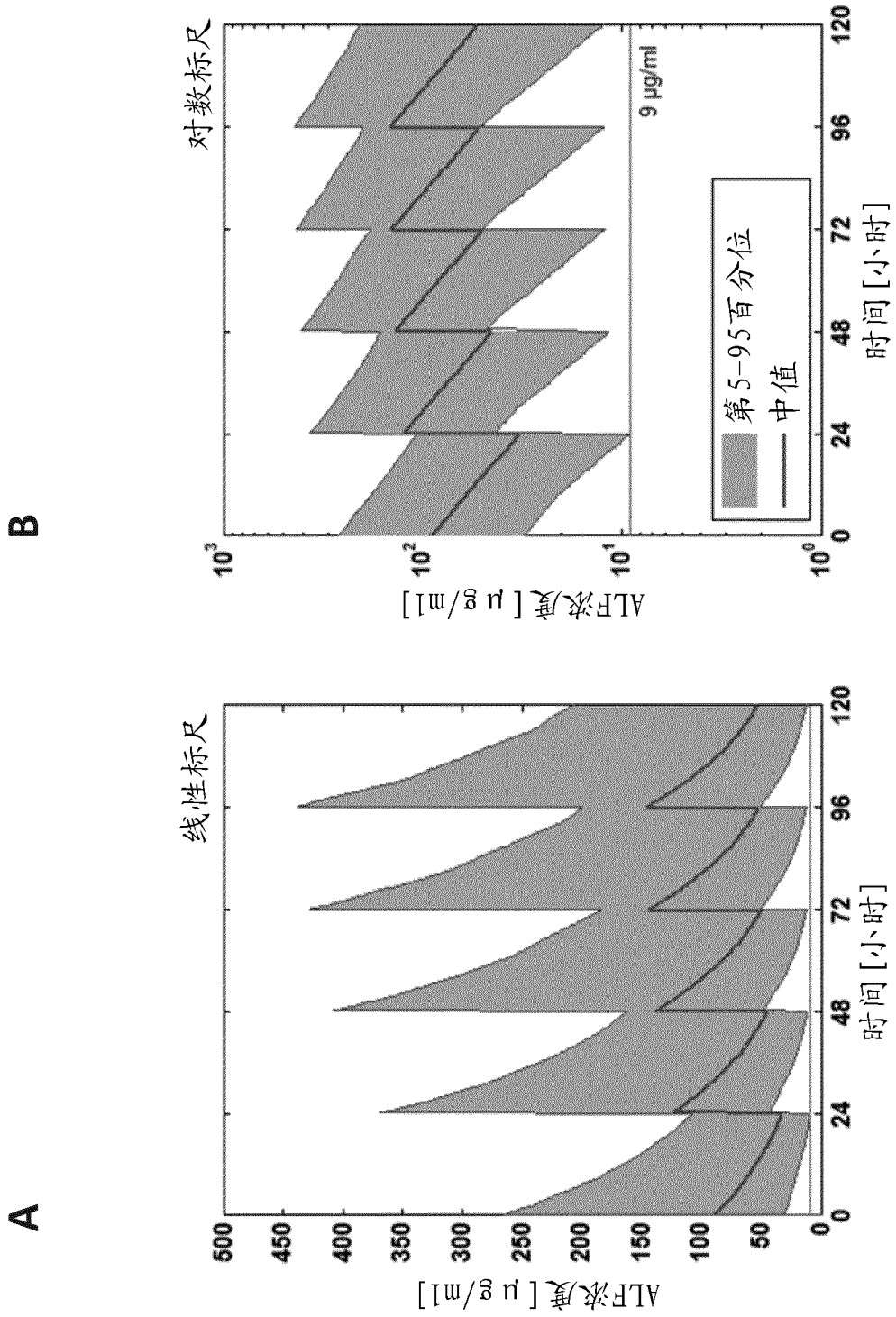

A
线性标尺
ALF浓度 [μg/ml]
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
24
48
72
96
120
时间 [小时]
B
对数标尺
ALF浓度 [μg/ml]
10^3
10^2
10^1
10^0
9 μg/ml
第5-95百分位
中值
0
24
48
72
96
120
时间 [小时]

图 22

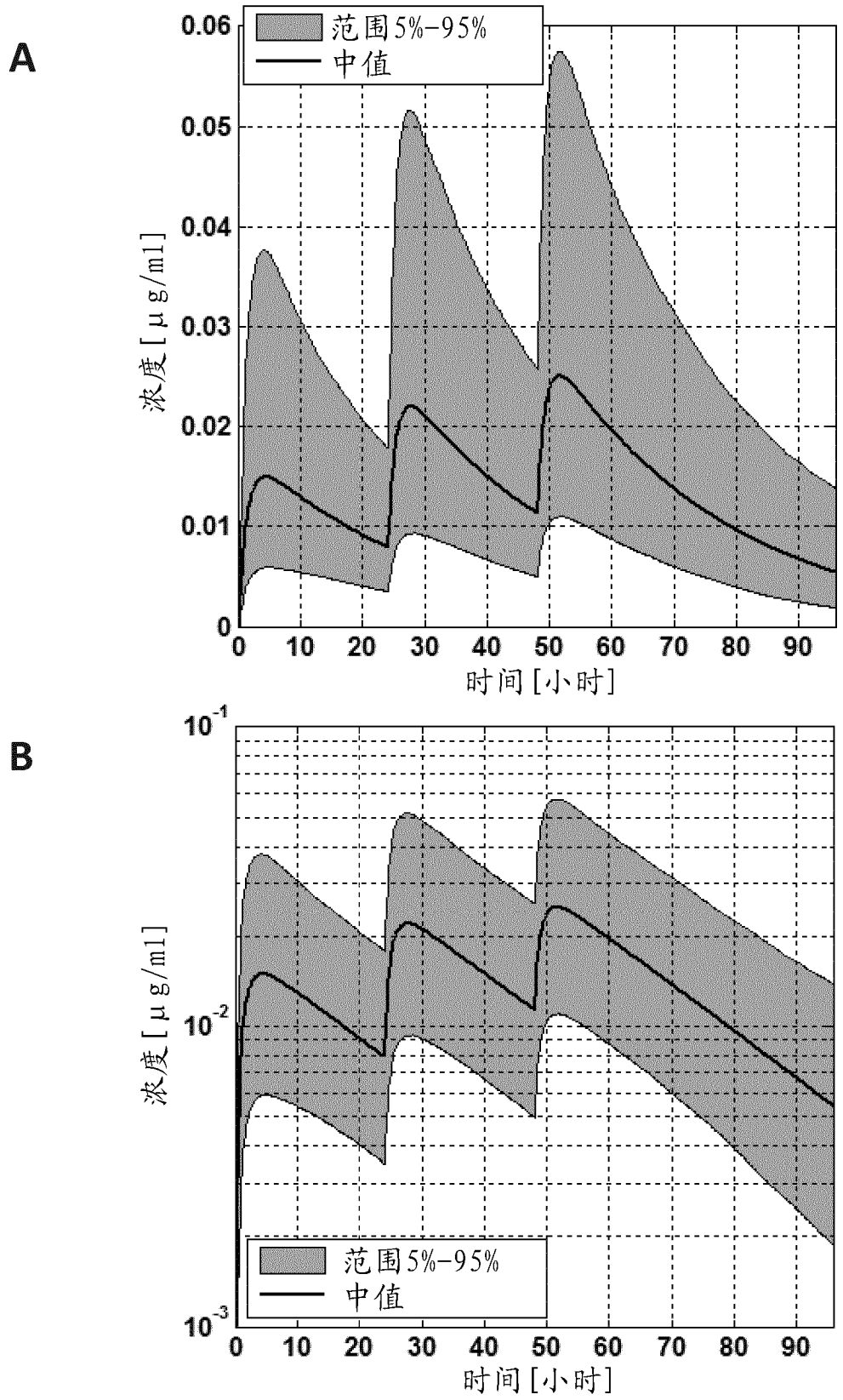
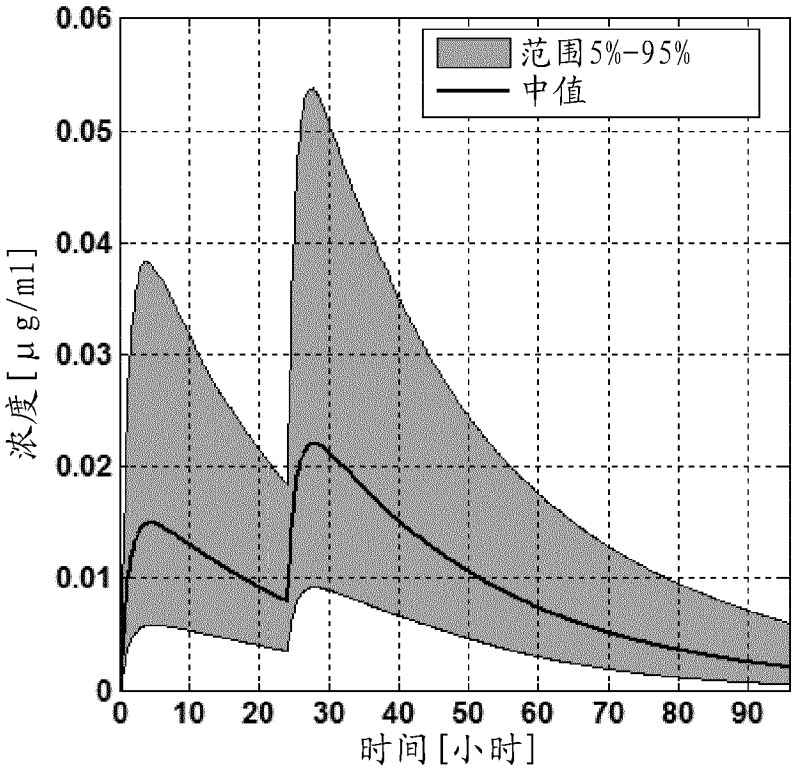

A
范围5%-95%
中值
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
浓度[μg/ml]
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]
B
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
浓度[μg/ml]
范围5%-95%
中值
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]

图 23

A


范围5%-95%
中值
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
浓度[μg/ml]
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]

B

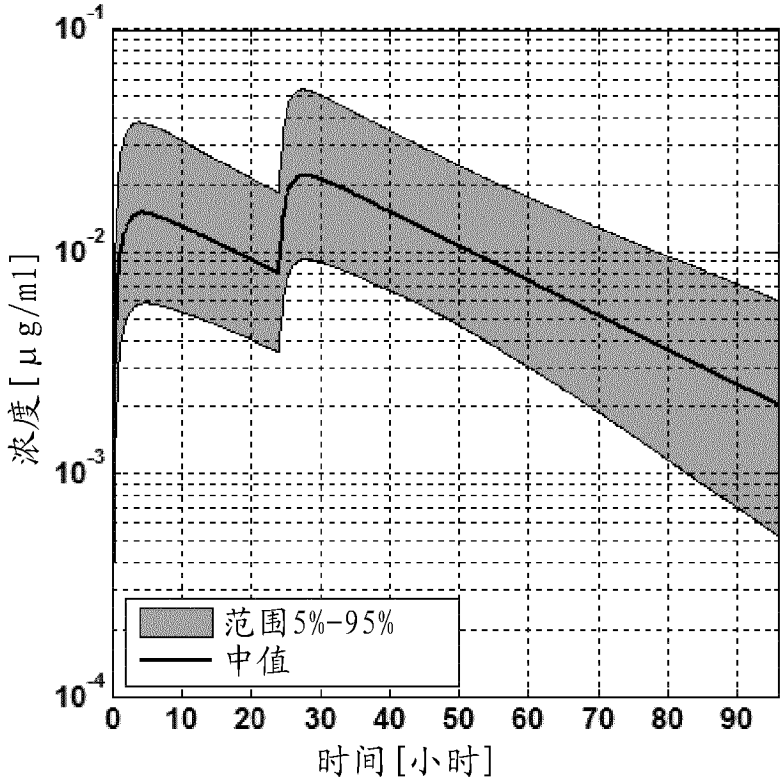
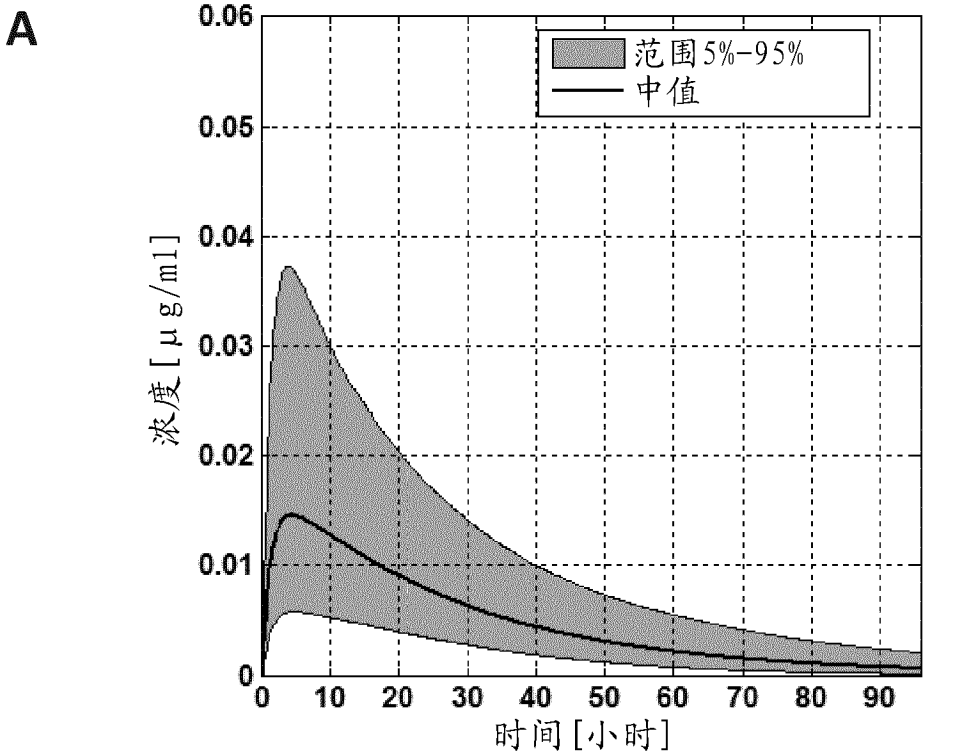

10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
浓度[μg/ml]
范围5%-95%
中值
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]

图 25


A
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
浓度[μg/ml]
范围5%-95%
中值
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]

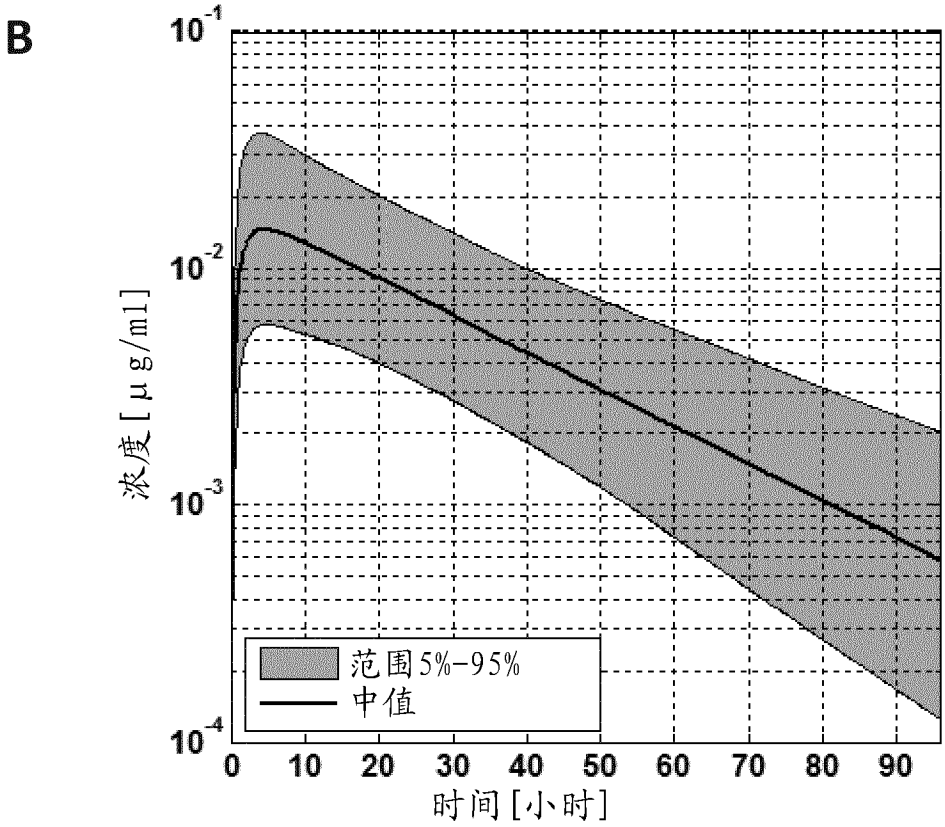

B
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
浓度[μg/ml]
范围5%-95%
中值
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90
时间[小时]

图 27

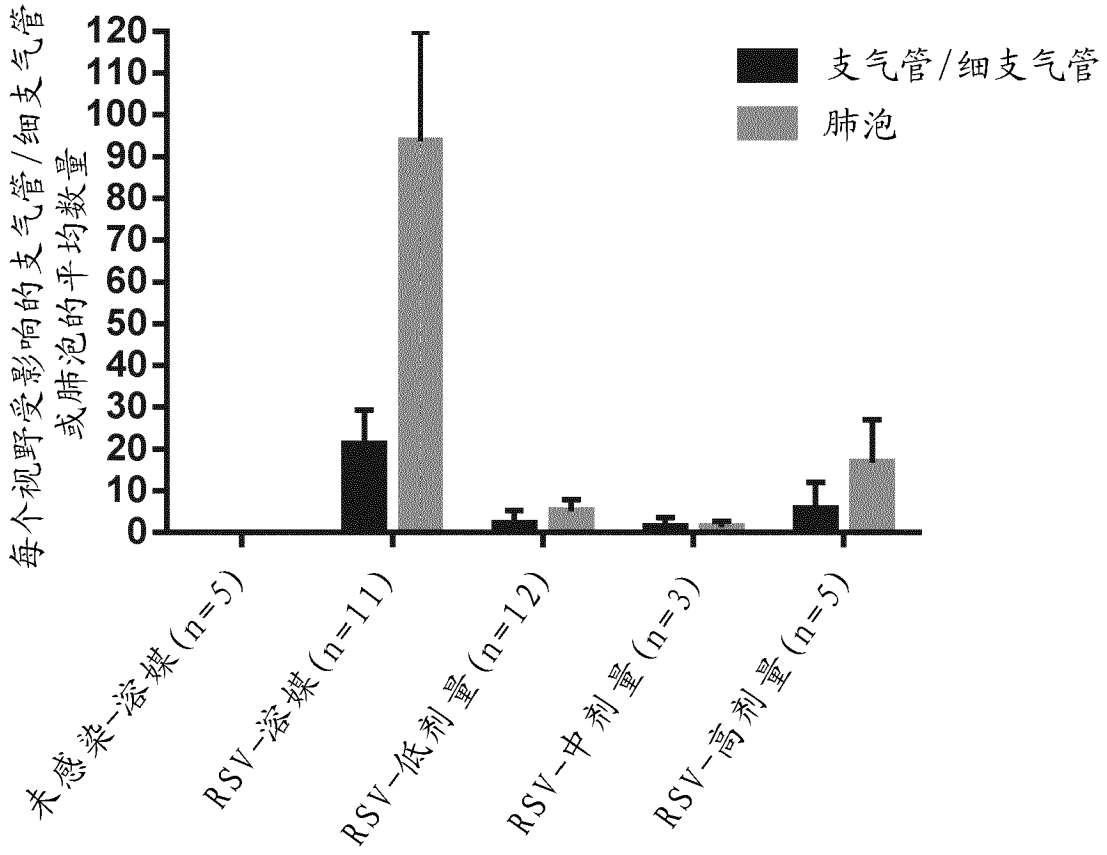
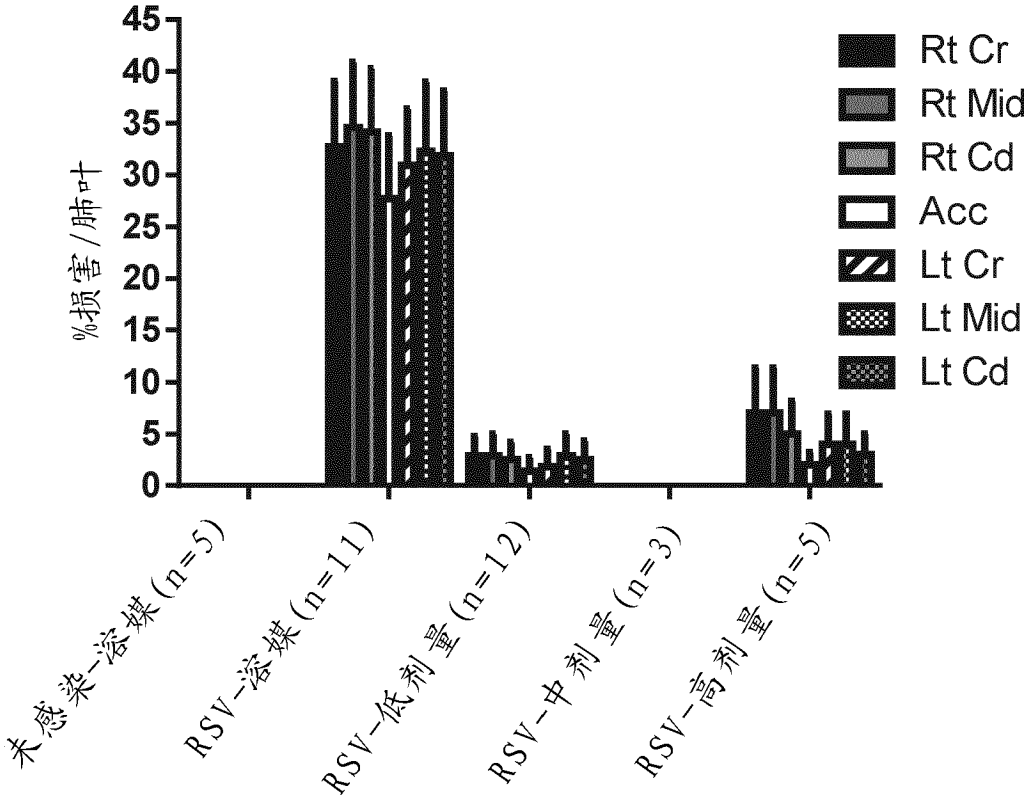

每个视野受影响的支气管/细支气管
或肺泡的平均数量
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
支气管/细支气管
肺泡
未感染-溶媒(n=5)
RSV-溶媒(n=11)
RSV-低剂量(n=12)
RSV-中剂量(n=3)
RSV-高剂量(n=5)

图 29

A.


45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
%损害/肺叶
Rt Cr
Rt Mid
Rt Cd
Acc
Lt Cr
Lt Mid
Lt Cd
未感染-溶媒(n=5)
RSV-溶媒(n=11)
RSV-低剂量(n=12)
RSV-中剂量(n=3)
RSV-高剂量(n=5)

B.

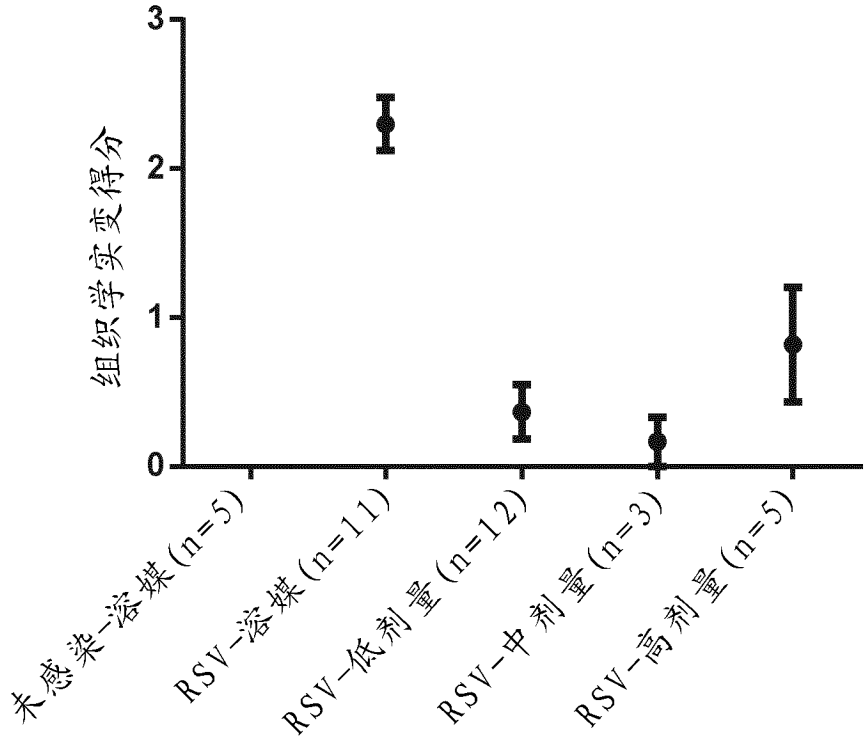

3
2
1
0
组织学实变得分
未感染-溶媒(n=5)
RSV-溶媒(n=11)
RSV-低剂量(n=12)
RSV-中剂量(n=3)
RSV-高剂量(n=5)

图 30

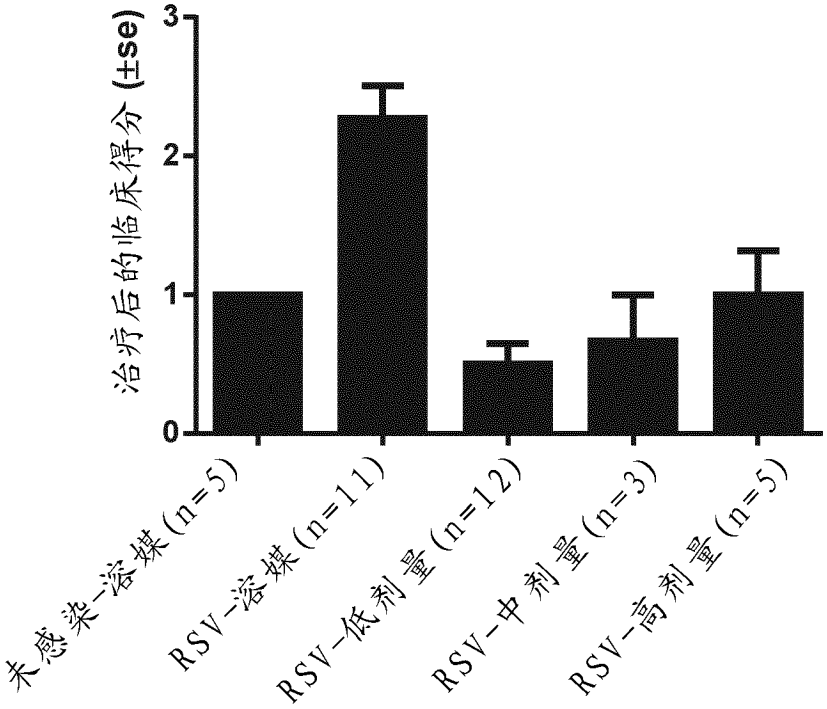

治疗后的临床得分 (±se)
3
2
1
0
未感染-溶媒(n=5)
RSV-溶媒(n=11)
RSV-低剂量(n=12)
RSV-中剂量(n=3)
RSV-高剂量(n=5)

图 31

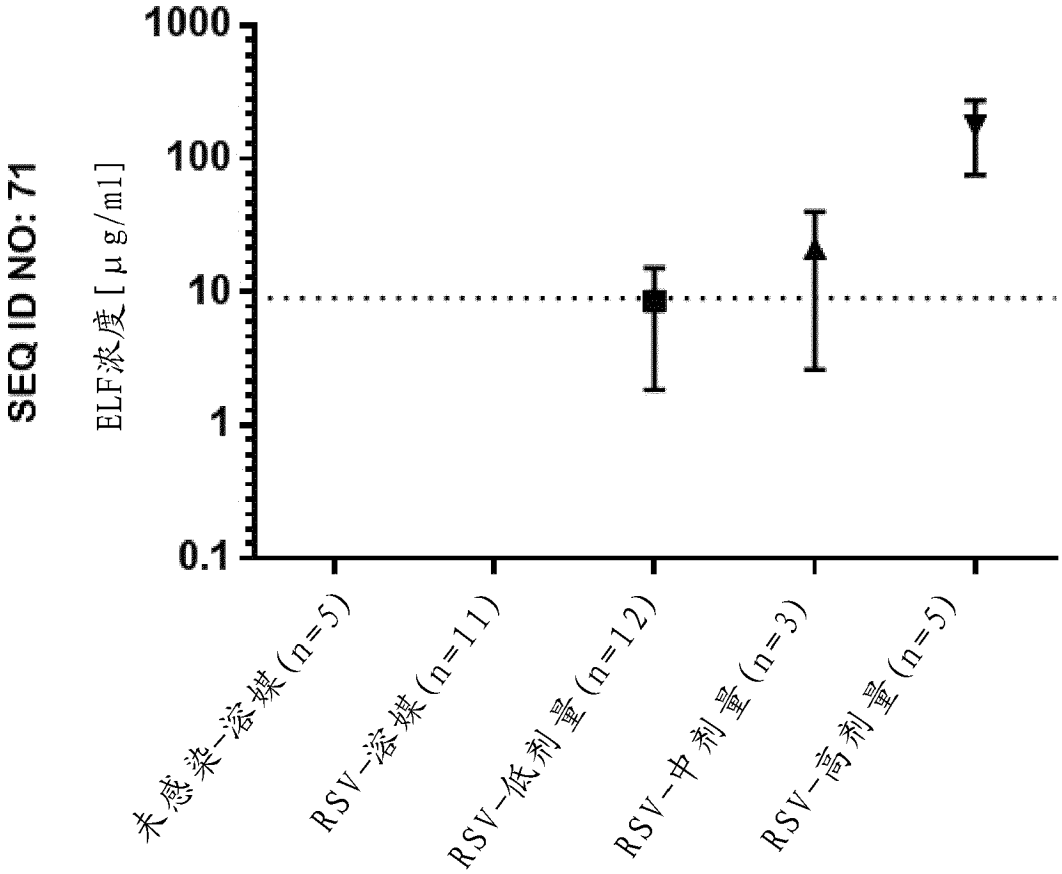

SEQ ID NO: 71
ELF浓度[μg/ml]
1000
100
10
1
0.1
未感染-溶媒(n=5)
RSV-溶媒(n=11)
RSV-低剂量(n=12)
RSV-中剂量(n=3)
RSV-高剂量(n=5)

图 32

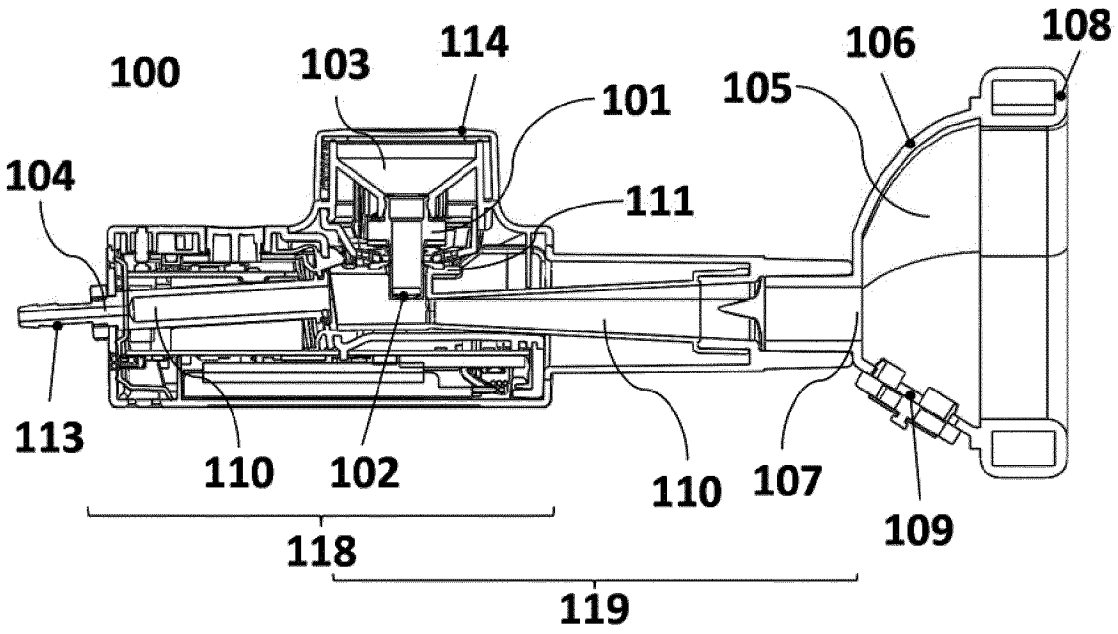

100
103
114
101
106
108
105
104
111
113
110
102
110
107
109
118
119

图 33

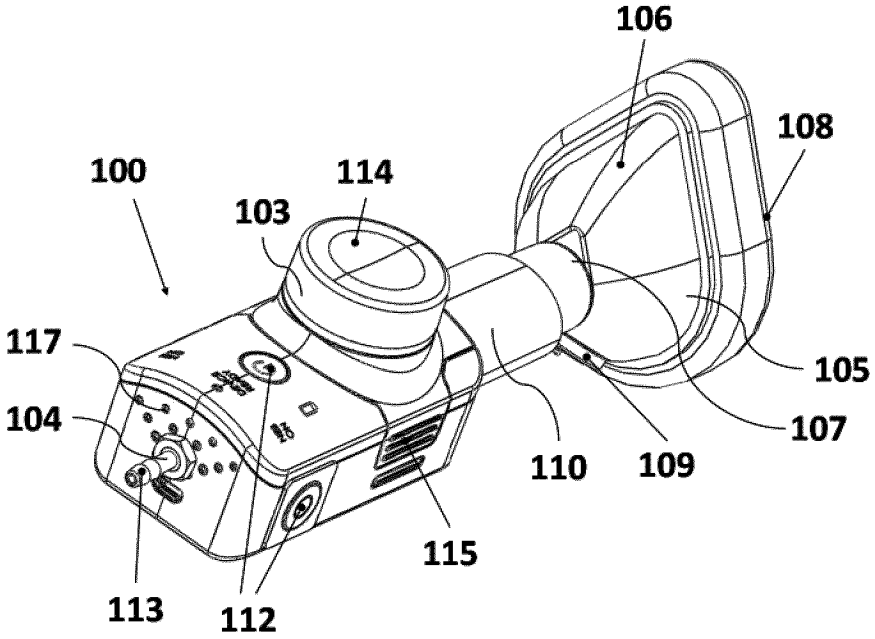

106
108
100
114
103
117
105
104
107
110
109
115
113
112

图 34

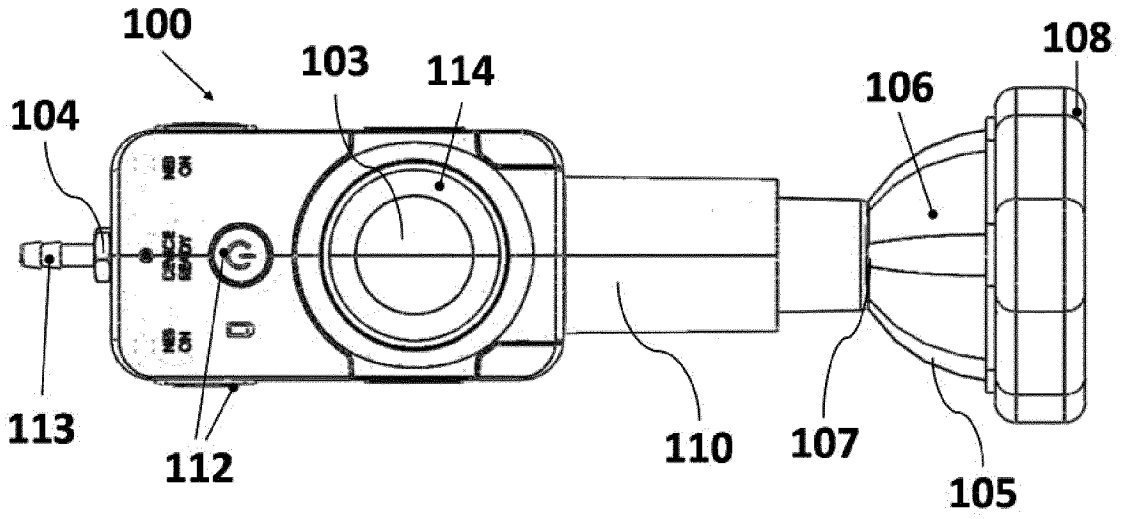

100
103
114
108
106
104
113
112
110
107
105

图 35

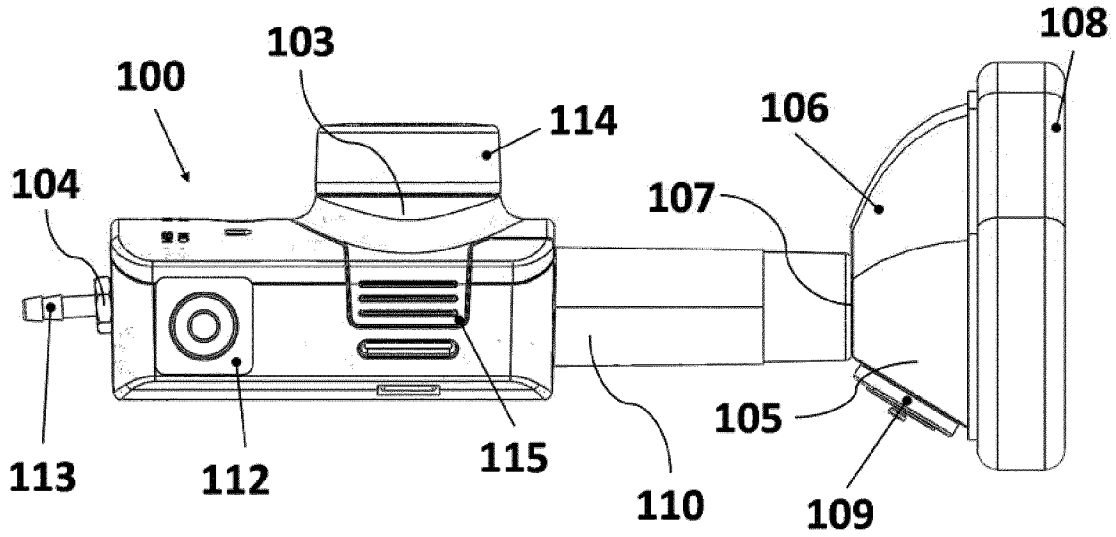

103
108
100
114
106
104
107
105
113
112
115
110
109

图 36

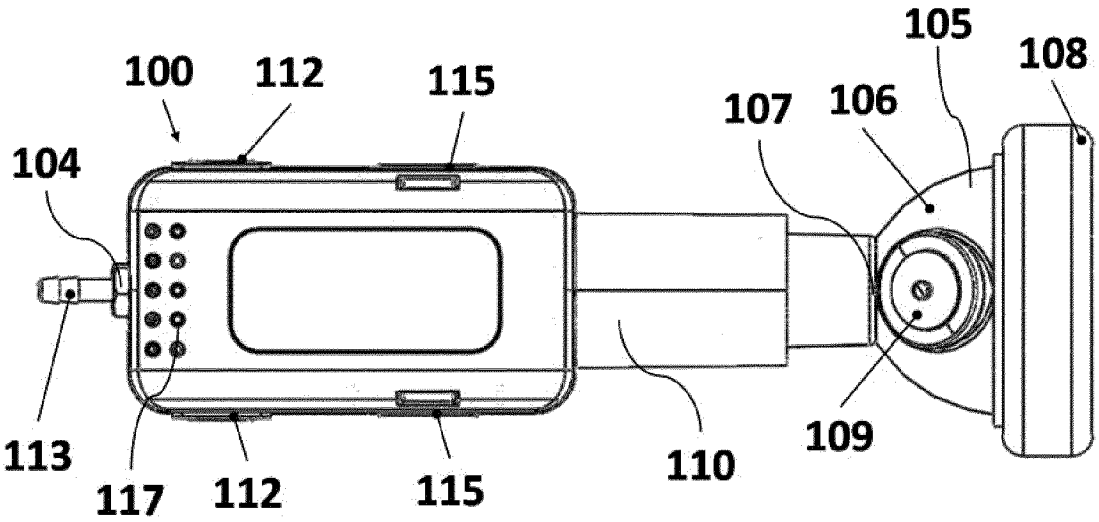

100
112
115
105
108
107
106
104
113
117
112
115
110
109

图 37

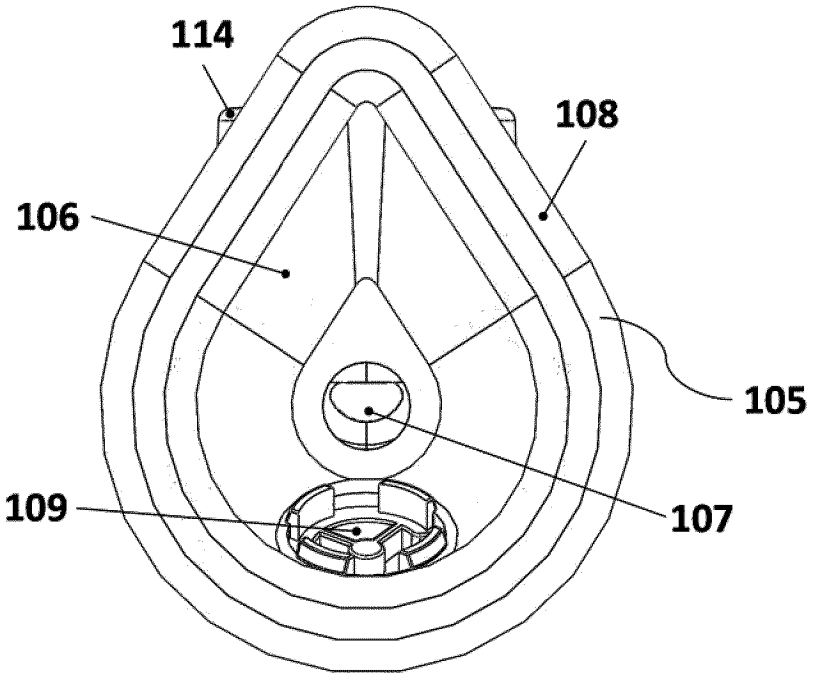

114
108
106
105
109
107

图 38

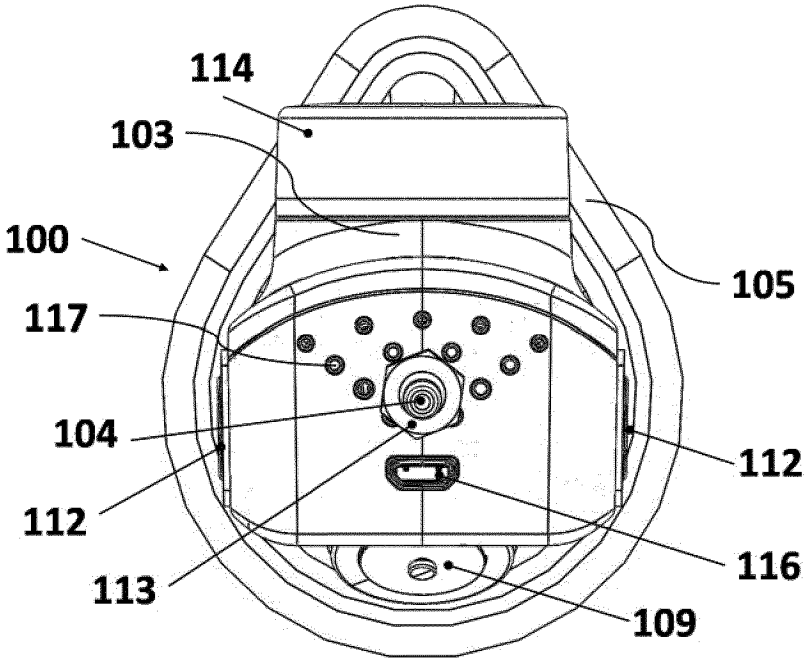


图 39