(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119907679 A
(43)申请公布日 2025.04.29

(21)申请号 202380053083.8

(22)申请日 2023.05.22

(30)优先权数据
63/345,016 2022.05.23 US
63/427,799 2022.11.23 US
63/430,319 2022.12.05 US
63/481,977 2023.01.27 US
63/488,433 2023.03.03 US
63/493,057 2023.03.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.01.10

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/067312 2023.05.22

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/230445 EN 2023.11.30

(71)申请人 胡默波斯生物医学公司
地址 瑞士贝林佐纳
申请人 维尔生物科技公司

(72)发明人 E·卡梅罗尼 D·科蒂
K·E·豪泽 C·莫蒙特
M·S·皮祖托 G·斯内尔

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 罗琪

(51)Int.Cl.
A61K 39/00(2006.01)
C07K 16/10(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)

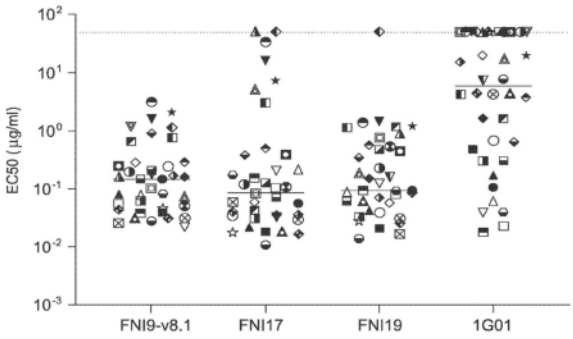
权利要求书25页 说明书164页
序列表（电子公布） 附图339页

(54)发明名称

针对流感神经氨酸苷酶的广谱中和抗体

(57)摘要

本公开提供了可与流感病毒神经氨酸苷酶(NA)结合并且可中和流感病毒感染的抗体及其抗原结合片段。还提供了编码抗体的多核苷酸、包含此类多核苷酸的载体、可表达该抗体的宿主细胞、相关组合物以及使用本文公开的组合物来例如治疗或预防流感感染的方法。



CN 119907679 A

1.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:

(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:

(a)所述CDRH1包含SEQ ID NO.:55、SEQ ID NO.:3、SEQ ID NO.:47或SEQ ID NO.:49中列出的氨基酸序列或由其组成;

并且/或者

(b)所述CDRH2包含SEQ ID NO.:4、SEQ ID NO.:57或SEQ ID NO.:61中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者

(c)所述CDRH3包含SEQ ID NO.:5、SEQ ID NO.:15、SEQ ID NO.:51或SEQ ID NO.:53中列出的氨基酸序列或由其组成,

(d)所述CDRL1包含SEQ ID NO.:9或SEQ ID NO.:32中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者

(e)所述CDRL2包含SEQ ID NO.:10中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者

(f)所述CDRL3包含SEQ ID NO.:11、18、21、24、33或67中列出的氨基酸序列或由其组成,

任选地前提条件是所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3不包含如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为3-5和9-11;(ii)分别为3、4、15和9-11;(iii)分别为3-5、9、10和18;(iv)分别为3-5、9、10和21;(v)分别为3-5、9-10和24;或(vi)分别为3-5、32、96和33。

2.根据权利要求1所述的抗体或抗原结合片段,其中所述CDRH3和所述CDRL3包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为5和11;(ii)分别为5和18;(iii)分别为5和21;(iv)分别为5和24;(v)分别为5和33;(vi)分别为5和67;(vii)分别为15和11;(viii)分别为15和18;(ix)分别为15和21;(x)分别为15和24;(xi)分别为15和33;(xii)分别为15和67;(xiii)分别为51和11;(xiv)分别为51和18;(xv)分别为51和21;(xvi)分别为51和24;(xvii)分别为51和33;(xviii)分别为51和67;(xix)分别为53和11;(xx)分别为53和18;(xxi)分别为53和21;(xxii)分别为53和24;(xxiii)分别为53和33;或(xxiv)分别为53和67。

3.根据权利要求1或2所述的抗体或抗原结合片段,其中所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为55、4、5和9-11;(ii)分别为47、4、5和9-11;(iii)分别为47、4、5、9、10和67;(iv)分别为49、4、5和9-11;(v)分别为47、4、5、9、10和67;(vi)分别为3-5、9、10和67;(vii)分别为55、4、5、9、10和67;(viii)分别为3、4、51和9-11;(ix)分别为3、4、51、9、10和67;(x)分别为55、4、5和9-11;(xi)分别为55、4、5、9、10和67;(xii)分别为3、61、5和9-11;(xiii)分别为3、61、5、9、10和67;(xiv)分别为3-5和9-11;或

(xv)分别为3、57、5和9-10。

4.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含(i)重链可变结构域(VH)以及(ii)轻链可变结构域(VL),其中:

(i)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(ii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(iii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(iv)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(v)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(vi)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(vii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(viii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(ix)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(x)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xi)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xiii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xiv)所述VH包含SEQ ID NO.:2中列出的所述VH氨基酸序列的所述互补决定区(CDR)

H1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xvi)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xvii)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xviii)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xix)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xx)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxi)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxii)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxvi)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxvii)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxviii)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxix)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxx)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxi)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxv)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxvi)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxvii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxviii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxix)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxx)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxxi)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述

CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxxii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(xxxxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:2中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3,或者(xxxxv)所述VH包含SEQ ID NO.:65中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:68中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3,

其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3任选地根据IMGT编号系统来定义。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中:

(i)所述VH包含与SEQ ID NO.:54、2、14、45、46、48、50、

52、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:54、2、14、45、46、48、50、52、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成;并且

(ii)所述VL包含与SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列或由其组成,

或包含SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成,

任选地前提条件是所述VH和所述VL不包含如下列出的氨基酸序列或由其组成:(a)分别为2和8;(b)分别为14和8;(c)分别为2和17;(d)分别为2和20;(e)分别为2和23;或(f)分别为2和31。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL与如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和8;(iii)分别为46和17;(iv)分别为46和20;(v)分别为46和23;(vi)分别为46和31;(vii)分别为46和66;(viii)分别为48和8;(ix)分别为48和17;(x)分别为48和20;(xi)分别为48和23;(xii)分别为48和31;(xiii)分别为48和66;(xiv)分别为2和66;(xv)分别为54和17;(xvi)分别为54和20;(xvii)分别为54和23;(xviii)54和31;(xix)分别为54和66;(xx)分别为56和8;(xxi)分别为56和17;(xxii)分别为56和20;(xxiii)分别为56和23;(xxiv)分别为54和31;(xxv)分别为54和66;

(xxvi)分别为60和8;(xxvii)分别为60和17;(xxviii)分别为60和20;(xxix)分别为60和23;(xxx)分别为60和31;(xxxi)分别为60和66;(xxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxiii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;(xxxxiv)分别为2和37;或(xxxxv)分别为65和68。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;

(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;(xxxxiv)分别为2和37;(xxxxv)分别为45和37;(xxxxvi)分别为46和8;或(xxxxvii)分别为56和8。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的氨基酸序列或由其组成。

9.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:

(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:

(a)CDRH2如SEQ ID NO.:4中所列出并包含在SEQ ID NO.:59中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQID NO.:5中所列出;

(b)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:62中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQID NO.:5中所列出;或者

(c)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:64中,CDRH1如SEQ ID NO.:

3中所列出,并且CDRH3如SEQID NO.:5中所列出。

10.根据权利要求9所述的抗体或抗原结合片段,其中CDRL1如SEQID NO.:9中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。

11.根据权利要求10所述的抗体或抗原结合片段,其中CDRL1如SEQ ID NO.:32中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10或96中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。

12.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL),其中所述VH和所述VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和8;(iii)分别为48和8;(iv)分别为50和8;(v)分别为52和8;(vi)分别为65和68;(vii)分别为56和8;(viii)分别为58和8;(ix)分别为60和8;(x)分别为63和8;(xi)分别为46和66;(xii)分别为48和66;(xiii)分别为50和66;(xiv)分别为52和66;(xv)分别为54和66;(xvi)分别为56和66;(xvii)分别为58和66;(xviii)分别为60和66;(xix)分别为63和66;或(xx)分别为2和37。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述流感包括甲型流感病毒、乙型流感病毒或两者。

14.根据权利要求1至13中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或所述抗原结合片段包括人抗体、单克隆抗体、经纯化的抗体、单链抗体、Fab、Fab'、F(ab')2或Fv。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段是多特异性抗体或抗原结合片段,其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是双特异性抗体或抗原结合片段。

16.根据权利要求1至15中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段包括(例如,IgG1)Fc多肽或其片段。

17.根据权利要求1至16中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG、IgA、IgM、IgE或IgD同种型。

18.根据权利要求1至17中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的IgG同种型,任选地去除C-末端赖氨酸或去除C-末端甘氨酸-赖氨酸。

19.根据权利要求1至18中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1同种型。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

21.根据权利要求16至20所述的抗体或抗原结合片段,其中所述Fc多肽或其片段包含:

(i)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方案));和/或

(ii)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人Fcγ R的结合亲和力的所述突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方

案,和/或如使用mesoscalediscovery(MSD)所测量的))。

22.根据权利要求21所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括:M428L;N434S;N434H;N434A;N434S;M252Y;S254T;T256E;T250Q;P257I;Q311I;

D376V;T307A;E380A;或它们的任何组合。

23.根据权利要求21或22所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括:(i)M428L/N434S;(ii)M252Y/S254T/T256E;(iii)T250Q/M428L;(iv)P257I/Q311I;(v)P257I/N434H;(vi)D376V/N434H;(vii)T307A/E380A/N434A;(viii)M428L/N434A;或(ix)(i)-(viii)的任何组合。

24.根据权利要求21至23中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括M428L/N434S或M428L/N434A。

25.根据权利要求21至24中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增强与Fcγ R的结合的所述突变包括S239D;I332E;A330L;

G236A;或它们的任何组合。

26.根据权利要求21至25中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增强与Fcγ R的结合的所述突变包括:(i)S239D/I332E;(ii)S239D/A330L/I332E;(iii)G236A/S239D/I332E;或(iv)G236A/A330L/I332E,其中所述Fc多肽或其片段任选地在位置239处包含Ser。

27.根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包含改变糖基化的突变,其中改变糖基化的所述突变包括N297A、N297Q或N297G,并且/或者其是去糖基化的,并且/或者其是去岩藻糖基化的。

28.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:

(i)在重链中,

(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:55、4和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列组成,以及

(i)(b)突变M428L和N434S;以及

(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成。

29.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:

(I)(i)在重链中,

(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:47、4和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:46中

列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:46中列出的氨基酸序列组成,以及

(i)(b)所述突变M428L和N434S;以及

(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成,

(2)(i)在重链中,

(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:65中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:65中列出的氨基酸序列组成,以及

(i)(b)所述突变M428L和N434S;以及

(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-10中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:68中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:68中列出的氨基酸序列组成;或者

(3)(i)在重链中,

(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3、57和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:56中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:56中列出的氨基酸序列组成,以及

(i)(b)所述突变M428L和N434S;以及

(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成。

30.根据权利要求28至29中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL与如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列具有至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性,或包含如下SEQID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为2和31;(iii)分别为2和8;(iv)分别为46和8;(v)分别为65和68;或(vi)分别为56和8。

31.根据权利要求28至30中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为2和31;(iii)分别为2和8;(iv)分别为46和8;(v)分别为65和68;或(vi)分别为56和8。

32.根据权利要求28至30中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL与分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列或由其组成。

33.根据权利要求28至32中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH包含在重链中,所述重链还包含SEQ ID NO.:34、SEQID NO.:36或SEQ ID NO.:38中列出的CH1-CH3氨基酸序列,或包含去除了所述C-末端赖氨酸和任选地所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:34、去除了所述C-末端甘氨酸的SEQ ID NO.:36或去除了所述C-末端甘氨酸的SEQ ID NO.:38。

35.根据权利要求1至34中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VL包含在轻链中,所述轻链还包含SEQ ID NO.:35中列出的CL氨基酸序列。

36.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:

(1)(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成;

(2)(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成;

(3)(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成;

(4)(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成;

(5)(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;

以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成;

(6)(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:40或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成;

(7)(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包

含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;

以及(ii)两条轻链,每条链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成;或

(8)(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;

以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

37.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列和SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列。

38.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)VH,所述VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,所述VL包含SEQ ID NO.:8的所述VL氨基酸序列或由其组成。

39.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:

(1)(i)VH,所述VH包含氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)VL,

所述VL包含氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8);

(2)(i)VH,所述VH由氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)组成;以及

(ii)VL,所述VL由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)组成;

(3)(i)重链,所述重链包含所述VH氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)轻链,所述轻链包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8),其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链是IgG1κ轻链;

(4)(i)两条重链,每条重链包含所述VH氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及

(ii)两条轻链,每条轻链包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8),其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链各自是IgG1κ轻链;

(5)(i)VH,所述VH包含所述VH氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)VL,所述VL包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;

(6)(i)重链,所述重链在VH中包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)轻链,所述轻链在VL中包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义,其中进一步任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链是IgG1κ轻链;

(7)(i)两条重链,每条重链在VH中包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)两条轻链,每条轻链在VL中包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义,并且其中进一步任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链各自是IgG1κ轻链;或

(8)(i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列,以及(ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链包含SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列,其中任选地,所述抗体是IgG1同种型,并且其中进一步任选地,所述抗体包含M428L和N434S突变(EU编号)。

40.根据权利要求1至39中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段在其重链中包含(i)至(xviii)中任一项所列出的氨基酸突变:(i)G236A、L328V和Q295E;(ii)G236A、P230A和Q295E;(iii)G236A、R292P和I377N;(iv)G236A、K334A和Q295E;(v)G236S、R292P和Y300L;(vi)G236A和Y300L;(vii)G236A、R292P和Y300L;(viii)G236S、G420V、G446E和L309T;(ix)G236A和R292P;(x)R292P和Y300L;(xi)G236A和R292P;(xii)Y300L;(xiii)E345K、G236S、L235Y和S267E;(xiv)E272R、L309T、S219Y和S267E;(xv)G236Y;(xvi)G236W;(xvii)F243L、G446E、P396L和S267E;(xviii)G236A、S239D和H268E。

41.根据权利要求1至40中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段在其重链中包含氨基酸突变G236A。

42.根据权利要求1至41中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段:是去岩藻糖基化的;已在不能岩藻糖基化或其使多肽岩藻糖基化的能力受到抑制的宿主细胞中产生;已在抑制宿主细胞使其岩藻糖基化的条件下产生;或它们的任何组合。

43.根据权利要求1至42中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段是人的、人源化的或嵌合的。

44.根据权利要求1至43中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够与来自以下的NA结合:

(i)甲型流感病毒(IAV),其中所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者;以及

(ii)乙型流感病毒(IBV)。

45.根据权利要求44所述的抗体或抗原结合片段,其中:

(i)所述第1组IAV NA包括N1、N4、N5和/或N8;并且/或者

(ii)所述第2组IAV NA包括N2、N3、N6、N7和/或N9。

46.根据权利要求45所述的抗体或抗原结合片段,其中:

(i)所述N1是来自以下的任何一种或多种的N1:A/加利福尼亚/07/2009、A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、A/加利福尼亚/07/2009Q250S、A/猪/江苏/J004/2018、A/猪/河北/2017、A/斯德哥尔摩/18/2007、A/布里斯班/02/2018、A/密歇根/45/2015、A/密西西比/3/2001、A/荷兰/603/2009、A/荷兰/602/2009、A/越南/1203/2004、A/越南/1203/2004S247R、A/越南/1203/2004I223R、A/越南/1203/2004R152I、A/越南/1203/2004D199N、A/G4/SW/山东/1207/2016、A/G4/SW/河南/SN13/2018、A/G4/SW/江苏/J004/2018、A/水貂/西班牙/2022和A/新泽西/8/1976;

(ii)所述N4来自A/绿头鸭/荷兰/30/2011;

(iii)所述N5来自A/水鸟/韩国/CN5/2009;

(iv)所述N8来自A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011或A/鸡/俄罗斯/3-29/2020;

(v)所述N2是来自以下的任何一种或多种的N2:A/华盛顿/01/2007、A/华盛顿/01/2007R292K、A/中国香港/68、A/南澳大利亚/34/2019、A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016、A/瑞士/9715293/2013、A/列宁格勒/134/17/57、A/佛罗里达/4/2006、A/荷兰/823/1992、A/挪威/466/2014、A/瑞士/8060/2017、A/德克萨斯/50/2012、A/维多利亚/361/2011、A/中国香港/2671/2019、A/中国香港/2671/2019K431E、A/SW/墨西哥/SG1444/2011、A/坦桑尼亚/205/2010、A/爱知县/2/1968、A/比尔托芬/21793/1972、A/荷兰/233/1982、A/上海/11/1987、A/南昌/933/1995、A/福井/45/2004、A/布里斯班/10/2007、A/塔斯马尼亚/503/2020、A/柬埔寨/2020、A/珀斯/16/2009、A/堪萨斯/14/2017、A/猪/堪萨斯/2021、A/犬/韩国/VC378/2012和A/犬/印第安纳/003018/2016;

(vi)所述N3是来自以下的任何一种或多种的N3:A/加拿大/rv504/2004和A/Ck/Ja/2017;

(v)所述N6是来自以下的任何一种或多种的N6:A/猪/安大略/01911/1/99、A/Ck/苏州/2019和A/杭州/2021;

(vi)所述N7是来自以下的任何一种或多种的N7:A/荷兰/078/03、A/Ck/621572/03;

(vii)所述N8来自以下的任何一种或多种:A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011和A/Ck/俄罗斯/2020;并且/或者

(viii)所述N9是来自以下的任何一种或多种的N9:A/安徽/2013和A/中国香港/56/2015。

47.根据权利要求44至46中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述IBV NA是来自以下的任何一种或多种的NA:B/Lee/10/1940(祖先);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/马来西亚/3120318925/2013(山形县);B/威斯康星/1/2010(山形县);B/山梨县/166/1998(山形县);B/布里斯班/33/2008;B/科罗拉多/06/2017;B/湖北武汉/158/2009;B/马萨诸塞/02/2012;B/荷兰/234/2011;B/珀斯/211/2001;B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/珀斯/211/2011;

B/中国香港/05/1972;B/普吉岛/3073/2013,B/哈尔滨/7/1994(维多利亚),B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/维多利亚/504/2000(山形县);B/维多利亚/2/87;B/维多利亚/2/87谱系;B/山形县/16/88;和B/山形县/16/88谱系。

48.根据权利要求1至47中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够以一定的EC50与以下的每一种结合:

(i)第1组IAV NA;

(ii)第2组IAV NA;以及

(iii)IBV NA,

EC_{50}在约0.1μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.1μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.1μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约1μg/mL的范围内,或为0.4μg/mL或更小,其中任选地,

所述抗体或抗原结合片段能够:

(i)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、约0.4μg/mL至约10μg/mL、约0.4μg/mL至约2μg/mL、约2μg/mL至约50μg/mL、约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与所述第1组IAV NA结合;

(ii)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、或约2μg/mL至约50μg/mL、或约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与所述第2组IAV NA结合;和/或

(iii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与所述IBV NA结合,其中进一步任选地,所述抗体或抗原结合片段能够:

(i)以约0.4μg/mL、或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N1结合;

(ii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约

0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N4结合；

(iii)以在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内的EC_{50}与N5结合；(iv)以约50μg/mL的EC_{50}与N8结合；

(v)以在约0.4μg/mL至约20μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、约1μg/mL至约10μg/mL、或约1μg/mL至约20μg/mL、或约1μg/mL至约5μg/mL的范围内、或约1μg/mL、2μg/mL、3μg/mL、4μg/mL、5μg/mL、6μg/mL、7μg/mL、8μg/mL、9μg/mL、10μg/mL、15μg/mL或20μg/mL的EC_{50}与N2结合；

(vi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N3结合；

(vii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N6结合；

(viii)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7结合；(ix)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N9结合；和/或

(xi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与IBV NA结合。

49.根据权利要求48所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够:

(i)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与以下的一种或多种结合：N1 A/加利福尼亚/07/2009、N1 A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、N1 A/斯德哥尔摩/18/2007、N1 A/猪/江苏/J004/2008、N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011、N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009、N2 A/中国香港/68、N2 A/列宁格勒/134/17/57、N3 A/加拿大/rv504/2004、N6 A/猪/安大略/01911/1/99、N9 A/安徽/1/2013、B/Lee/10/1940(祖先)、B/布里斯班/60/2008(维多利亚)、B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)、B/马来西亚/3120318925/2013(山形县)、B/威斯康星/1/2010(山形县)和B/山梨县/166/1998(山形县)；

(ii)以约2μg/mL或在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009结合；

(iii)以约50μg/mL的EC_{50}与N8 A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011结合；

(iv)以在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/华盛顿/01/2007结合；

(v)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7 A/荷兰/078/03结合；

(vi)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/南澳大利亚/34/2019结合；

(vii)以在约9.5μg/mL至约3.8μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/8060/2017结合；

(viii)以在约18.4μg/mL至约2.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/新加坡/INFIMH-16-

0019/2016结合;

(iv)以在约1.6μg/mL至约1.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/9715293/2013结合;和/或

(v)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或约0.4μg/mL、约2μg/mL、约10μg/mL或约50μg/mL的EC_{50}与N1 A/猪/江苏/J004/2018结合。

50.根据权利要求1至49中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述NA在宿主细胞(例如,CHO细胞)的表面上表达,并且与NA的结合是根据流式细胞术,并且/或者其中所述抗体或抗原结合片段能够以小于1.0E-12M、小于1.0E-11M、小于1.0E-11M的KD、或者1.0E-12M或更小、1.0E-11M或更小、或1.0E-10或更小的KD、或者介于1.0E-10与1.0E-13之间的KD、或者介于1.0E-11与1.0E-13之间的KD与NA结合,其中任选地,所述结合是通过生物层干涉测量法(BLI)评估的。

51.根据权利要求50所述的抗体或抗原结合片段,其中所述NA是N1、N2和/或N9。

52.根据权利要求1至51中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够与以下结合:

(1)(i)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N1 NA编号)的NA表位:R368、R293、E228、E344、S247、D198、D151、R118;和/或(ii)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2 NA编号)的NA表位:R371、R292、E227、E344、S247、D198、D151、R118;

和/或

(2)(i)包含氨基酸R368、R293、E228、D151和R118(N1 NA编号)的NA表位;和/或(ii)包含氨基酸R371、R292、E227、D151和R118(N2 NA编号)的NA表位;

和/或

(3)包含在NA活性位点中或包含NA活性位点的表位,其中任选地,所述NA活性位点包含以下氨基酸(N2编号):R118、D151、R152、R224、E276、R292、R371、Y406、E119、R156、W178、S179、D/N198、I222、E227、H274、E277、D293、E425;

和/或

(4)IBV NA表位,所述IBV NA表位包含:(i)以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸:R116、D149、E226、R292和R374;

或(ii)氨基酸R116、D149、E226、R292和R374,其中任选地,

(a)所述表位还包含以下NA氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2编号):E344、E227、S247和D198;并且/或者

(b)所述抗体或抗原结合片段能够与包含S245N氨基酸突变和/或E221D氨基酸突变的NA结合。

53.根据权利要求1至52中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够与包含S245N氨基酸突变和/或E221D氨基酸突变的NA结合。

54.根据权利要求1至53中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够在体外感染模型、体内感染动物模型和/或人体内抑制以下的唾液酸酶活性:(i)IAV NA,其中所述IAV NA包括第1组IAV NA、第2组IAV NA或两者,和/或(ii)IBV NA,其中任选地:

(1)所述第1组IAV NA包括H1N1和/或H5N1;

(2)所述第2组IAV NA包括H3N2和/或H7N9;并且/或者

(3)所述IBV NA包括以下的一种或多种:B/Lee/10/1940(祖先);B/中国香港/05/1972;B/中国台湾/2/1962(祖先);

B/布里斯班/33/2008(维多利亚);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/纽约/1056/2003(维多利亚);B/佛罗里达/4/2006(山形县);

B/江苏/10/2003(山形县);B/德克萨斯/06/2011(山形县);

B/珀斯/211/2011;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/科罗拉多/06/2017(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);

B/珀斯/211/2001(山形县);B/湖北伍家岗/158/2009(山形县);B/威斯康星/01/2010(山形县);B/马萨诸塞/02/2012(山形县);和B/普吉岛/3073/2013(山形县)。

55.根据权利要求1至54中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制第1组IAVNA、第2组IAV NA和/或IBV NA的唾液酸酶活性,

所述IC50

在约0.0008μg/mL至约4μg/mL、约0.0008μg/mL至约3μg/mL、约0.0008μg/mL至约2μg/mL、约0.0008μg/mL至约1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.9μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.8μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.7μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.6μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.5μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.4μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.3μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.2μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.09μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.08μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.07μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.06μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.05μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.04μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.03μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.02μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.01μg/mL、0.002μg/mL至约4μg/mL、约0.001μg/mL至50μg/mL、约0.1μg/mL至约30μg/mL、约0.1μg/mL至约20μg/mL、约0.1μg/mL至约10μg/mL、约0.1μg/mL至约9μg/mL、约0.1μg/mL至约8μg/mL、约0.1μg/mL至约7μg/mL、约0.1μg/mL至约6μg/mL、约0.1μg/mL至约5μg/mL、约0.1μg/mL至约4μg/mL、约0.1μg/mL至约3μg/mL、约0.1μg/mL至约2μg/mL、约0.1μg/mL至约1μg/mL、约0.1μg/mL至约0.9μg/mL、约0.1μg/mL至约0.8μg/mL、约0.1μg/mL至约0.7μg/mL、约0.1μg/mL至约0.6μg/mL、约0.1μg/mL至约0.5μg/mL、约0.1μg/mL至约0.4μg/mL、约0.1μg/mL至约0.3μg/mL、约0.1μg/mL至约0.2μg/mL、约0.8μg/mL至约30μg/mL、约0.8μg/mL至约20μg/mL、约0.8μg/mL至约10μg/mL、约0.8μg/mL至约9μg/mL、约0.8μg/mL至约8μg/mL、约0.8μg/mL至约7μg/mL、约0.8μg/mL至约6μg/mL、约0.8μg/mL至约5μg/mL、约0.8μg/mL至约4μg/mL、约0.8μg/mL至约3μg/mL、约0.8μg/mL至约2μg/mL、约0.8μg/mL至约1μg/mL的范围内,或为约0.1μg/mL、约0.2μg/mL、约0.3μg/mL、约0.4μg/mL、约0.5μg/mL、约0.6μg/mL、约0.7μg/mL、约0.8μg/mL、约0.9μg/mL、约1.0μg/mL、约1.5μg/mL、约2.0μg/mL、约2.5μg/mL、约3.0μg/mL、约3.5μg/mL、约4.0μg/mL、约4.5μg/mL、约5.0μg/mL、约5.5μg/mL、约6.0μg/mL、约6.5μg/mL、约7.0μg/mL、约7.5μg/mL、约8.0μg/mL、约8.5μg/mL、约9.0μg/mL、约10μg/mL、约11μg/mL、约12μg/mL、约13μg/mL、约14μg/mL、约15μg/mL、约16μg/mL、约17μg/mL、约18μg/mL、约19μg/mL、约20μg/mL、约25μg/mL和/或约30μg/mL,其中任选地,

所述抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制一种或多种第1组和/或第2组IAV和/或一种或多种IBV的NA唾液酸酶活性,所述IC50在约0.00001μg/ml至约25μg/ml、或约

0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/mL至约0.1μg/mL、或约0.0001μg/mL至约0.01μg/mL、或约0.0001μg/ml至约0.001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.0001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约25μg/ml、或约0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.001μg/ml至约25μg/ml、或约0.001μg/ml至约10μg/ml、或约0.001μg/ml至约1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.01μg/ml至约25μg/ml、或约0.01μg/ml至约10μg/ml、或约0.01μg/ml至约1μg/ml、或约0.01μg/ml至约0.1μg/ml、或约1μg/ml至约25μg/ml、或约1μg/ml至约10μg/ml的范围内,或为约1μg/ml、1.5μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml、3μg/ml、3.5μg/ml、4μg/ml、4.5μg/ml、5μg/ml、5.5μg/ml、6μg/ml、6.5μg/ml、7μg/ml、7.5μg/ml、8μg/ml、8.5μg/ml、9μg/ml、9.5μg/ml、10μg/ml、10.5μg/ml、11μg/ml、11.5μg/ml、12μg/ml、12.5μg/ml、13μg/ml、13.5μg/ml、14μg/ml、14.5μg/ml或15μg/ml。

56.根据权利要求1至55中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够激活人Fc γ RIIIa,其中任选地,

激活是使用宿主细胞(任选地,Jurkat细胞)在所述抗体或抗原结合片段与感染了IAV的靶细胞(例如,A549细胞)一起温育(例如,23小时)后确定的,所述宿主细胞包含:(i)所述人Fc γ RIIIa(任选地,F158等位基因);以及(ii)NF AT表达控制序列,所述NF AT表达控制序列可操作地连接至编码报告基因诸如荧光素酶报告基因的序列,其中进一步任选地,

激活是在所述抗体或抗原结合片段与感染了H1N1 IAV的所述靶细胞一起温育(任选地,约23小时)后确定的,其中任选地,所述H1N1 IAV是A/PR8/34,并且/或者其中任选地,所述感染的感染复数(MOI)为6。

57.根据权利要求1至56中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够中和IAV和/或IBV引起的感染,其中任选地,所述IAV和/或所述IBV是耐抗病毒药的,其中任选地,所述抗病毒药是奥司他韦。

58.根据权利要求44至57中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中:(1)所述IAV包含具有以下氨基酸突变的N1 NA:H275Y;

E119D+H275Y;S247N+H275Y;I222V;和/或N294S,其中任选地,所述IAV包括CA09或A/爱知县;并且/或者(2)所述IAV包含具有氨基酸突变E119V、Q136K和/或R292K的N2 NA。

59.根据权利要求1至58中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够:(1)治疗和/或预防受试者的(i)IAV感染和/或(ii)IBV感染;和/或(2)治疗和/或减轻以下引起的感染:(i)H1N1病毒,其中任选地,所述H1N1病毒包括A/PR8/34;和/或(ii)H3N2病毒,其中任选地,所述H3N2病毒任选地包括A/中国香港/68;和/或(3)在施用有效量的所述抗体或抗原结合片段后,预防被所述IAV和/或所述IBV感染的受试者的体重减轻,任选地持续(i)至多15天或(ii)超过15天;和/或(4)预防具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的体重减轻大于10%,如通过参考所述受试者恰好在所述IAV感染和/或所述IBV感染之前的体重所确定的;和/或(5)延长具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的存活期。

60.根据权利要求1至59中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段在小鼠(例如,tg32小鼠)中的体内半衰期:

(i)在约10天至约14天、约10.2天至约13.8天、约10.5天至约13.5天、约11天至约13天、约11.5天至约12.5天的范围内、介于10天与14天之间、或介于10.5天与13.5天之间、或介于

11天与13天之间、或为约10.0天、10.1天、

10.2天、10.3天、10.4天、10.5天、10.6天、10.7天、10.8天、10.9天、11.0天、11.1天、11.2天、11.3天、11.4天、11.5天、11.6天、11.7天、11.8天、11.9天、12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、13.6天、13.7天、13.8天、13.9天或14.0天;

或

(ii)在约12天至约16天、约12.5天至15.5天、约13天至15天、约13.5天至约14.5天的范围内、或介于12天与16天之间、或介于13天与15天之间、或介于13.5天与14.5天之间、或为约12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、1.36天、13.7天、13.8天、13.9天、14.0天、14.1天、14.2天、14.3天、14.4天、14.5天、14.6天、14.7天、14.8天、14.9天、15.0天、15.1天、15.2天、15.3天、15.4天、15.5天、1.56天、15.7天、15.8天、15.9天或16.0天。

61.根据权利要求59或60所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够与来自以下的神经氨酸苷酶(NA)结合:

(i)甲型流感病毒(IAV),其中所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者;和/或(ii)乙型流感病毒(IBV),并且其中任选地,所述抗体或抗原结合片段能够(1)抑制NA唾液酸酶活性和/或(2)中和所述IAV和/或所述IBV引起的感染。

62.一种抗体,所述抗体包含:

(1)(i)重链,所述重链包含氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAIS

WVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDL

GWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL

QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL

MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL

PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR

WQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQID NO.:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

(ii)轻链,所述轻链包含氨基酸序列

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFT

LTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO.:108);

(2)(i)重链,所述重链由氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTA

DESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG

GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK

RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT

KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL

TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK(SEQID NO.:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

(ii)轻链,所述轻链由氨基酸序列

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFT LTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO.:108)组成;

(3)(i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链包含氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTA DESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK(SEQID NO.:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

(ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链包含氨基酸序列

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFT LTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108);或

(4)(i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链由氨基酸序列

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTA DESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK(SEQID NO.:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

(ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链由氨基酸序列

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFT LTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO.:108)组成。

63.一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸编码根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段,或编码所述抗体或所述抗原结合片段的VH、Fd、重链、VL和/或轻链,其中任选地:(1)所述重链包含SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘

氨酸的SEQ ID NO.:107或由其组成;(2)所述轻链包含SEQ ID NO.:108或由其组成;(3)所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:109;(4)所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:110;(5)所述多核苷酸包含脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA),其中所述RNA任选地包含信使RNA(mRNA);并且/或者(6)所述多核苷酸包含经修饰的核苷、cap-1结构、cap-2结构或它们的任何组合,其中进一步任选地,所述多核苷酸包含假尿苷、N6-甲基腺苷、5-甲基胞苷、2-硫代尿苷或它们的任何组合,其中更进一步任选地,所述假尿苷包括N1-甲基假尿苷。

64.根据权利要求63所述的多核苷酸,所述多核苷酸被密码子优化以在宿主细胞中表达,其中任选地,所述宿主细胞包括人细胞。

65.一种重组载体,所述重组载体包含根据权利要求63或64所述的多核苷酸,其中任选地,所述多核苷酸编码:(1)SEQ ID NO.:107,或去除了所述C-末端赖氨酸或所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQID NO.:107;以及(2)SEQ ID NO.:108,其中进一步任选地,所述载体包含SEQ ID NO.:109和SEQ ID NO.:110。

66.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据权利要求63或64所述的多核苷酸和/或根据权利要求65所述的载体,其中所述多核苷酸任选地对于所述宿主细胞是异源的,并且/或者其中所述宿主细胞能够表达所述编码的抗体或抗原结合片段或多肽。

67.一种分离的人B细胞,所述分离的人B细胞包含根据权利要求63或64所述的多核苷酸和/或根据权利要求65所述的载体,其中多核苷酸任选地对于所述人B细胞是异源的,并且/或者其中所述人B细胞是永生化的。

68.一种组合物,所述组合物包含:

(i)根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段;

(ii)根据权利要求63或64所述的多核苷酸;

(iii)根据权利要求65所述的重组载体;

(iv)根据权利要求66所述的宿主细胞;和/或

(v)根据权利要求67所述的人B细胞,

以及药学上可接受的赋形剂、载剂或稀释剂,

其中任选地:

(1)所述组合物包含第一抗体或抗原结合片段和第二抗体或抗原结合片段,其中所述第一抗体或抗原结合片段和所述第二抗体或抗原结合片段各自不同,并且各自根据权利要求1至62中的任一项;

(2)所述多核苷酸编码:(i)SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,以及(ii)SEQ ID NO.:108,并且所述多核苷酸进一步任选地包含SEQ ID NO.:109和SEQ ID NO.:110;

(3)所述组合物包含:(i)编码SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的第一多核苷酸,其中进一步任选地,所述第一多核苷酸包含SEQ ID NO.:109,以及(ii)编码SEQ ID NO.:108的第二多核苷酸,其中进一步任选地,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO.:110;或

(4)所述组合物包含:(1)第一质粒或载体,所述第一质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的多核苷酸,其中进一步任选地,所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:109,以及(2)第二质粒或载体,所述第二

质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:108的多核苷酸,其中进一步任选地,所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:110。

69.一种组合物,所述组合物包含包封在载剂分子中的根据权利要求63或64所述的多核苷酸或根据权利要求65所述的载体,其中所述载剂分子任选地包括脂质、脂质衍生的递送媒介物,诸如脂质体、固体脂质纳米颗粒、油性悬浮液、亚微米脂质乳剂、脂质微泡、反脂质胶束、耳蜗脂质体、脂质微管、脂质微柱体、脂质纳米颗粒(LNP)或纳米级平台。

70.根据权利要求63或64所述的多核苷酸、根据权利要求65所述的载体或根据权利要求68或69所述的组合物,包含:

(1)第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,

mRNA),所述第一多核苷酸编码包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH的抗体重链,所述第二多核苷酸编码包含SEQID NO.:8中列出的所述VL的抗体轻链;或

(2)第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,

mRNA),所述第一多核苷酸编码包含如分别在SEQ ID NO.:

(i)55、4和5中列出的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列的抗体重链,所述第二多核苷酸编码包含如分别在SEQ IDNO.:9-11中列出的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列的抗体轻链。

71.一种制备根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段的方法,所述方法包括将根据权利要求65所述的宿主细胞或根据权利要求66所述的人B细胞在足以使所述宿主细胞或人B细胞分别表达所述抗体或抗原结合片段的条件下培养一段时间,其中任选地,所述方法还包括分离所述抗体或抗原结合片段。

72.一种治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的:

(i)根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段;

(ii)根据权利要求63、64和70中任一项所述的多核苷酸;

(iii)根据权利要求65或70所述的重组载体;

(iv)根据权利要求66所述的宿主细胞;

(v)根据权利要求67所述的人B细胞;和/或

(vi)根据权利要求68至70中任一项所述的组合物。

73.根据权利要求72所述的方法,其中:(1)所述抗体或抗原结合片段以约3mg/kg、约0.9mg/kg或约0.3mg/kg的剂量施用给所述受试者;并且/或者(2)所述IAV感染是H5N1和/或H7N9感染。

74.一种治疗或预防人受试者的流感感染的方法,所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求63、64或70所述的多核苷酸、根据权利要求65或70所述的重组载体或根据权利要求68至70中任一项所述的组合物,其中所述多核苷酸包含mRNA,其中任选地,所述流感感染包括IAV感染和/或IBV感染。

75.根据权利要求72至74中任一项所述的方法,所述方法包括:(1)向所述受试者施用单剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物;或(2)向所述受试者施用两个或更多个剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

76.根据权利要求72至75中任一项所述的方法,所述方法包括:(1)任选地在流感季节

之前或期间每年一次向所述受试者施用一定剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物;或(2)每年两次或更多次向所述受试者施用一定剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物;例如,约每6个月一次。

77.根据权利要求72至76中任一项所述的方法,所述方法包括肌内、皮下或静脉内施用所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

78.根据权利要求72至77中任一项所述的方法,其中:

(1)所述治疗和/或预防包括暴露后防治;并且/或者

(2)所述受试者已接受、正在接受或将接受抗病毒药,其中任选地,所述抗病毒药包括神经氨酸苷酶抑制剂、流感聚合酶抑制剂或两者,其中进一步任选地,所述抗病毒药包括奥司他韦、扎那米韦、巴洛沙韦、帕拉米韦、拉尼米韦或它们的任何组合。

79.根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段、根据权利要求63、64和70所述的多核苷酸、根据权利要求65或70所述的重组载体、根据权利要求66所述的宿主细胞、根据权利要求67所述的人B细胞和/或根据权利要求68至70中任一项所述的组合物,它们用于治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的方法。

80.根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段、根据权利要求63、64和70所述的多核苷酸、根据权利要求65或70所述的重组载体、根据权利要求66所述的宿主细胞、根据权利要求67所述的人B细胞和/或根据权利要求68至70中任一项所述的组合物,它们用于制备用于治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的药物。

81.一种用于IAV感染和/或IBV感染的体外诊断的方法,所述方法包括:

(i)使来自受试者的样品与根据权利要求1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段接触;以及

(ii)检测包含抗原和所述抗体、或包含抗原和所述抗原结合片段的复合物。

82.根据权利要求72至78和81中任一项所述的方法,或用于根据权利要求79和80中任一项的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞、所述人B细胞和/或所述组合物,其中:

(i)所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者,其中任选地,所述第1组IAV NA包括N1、N4、N5和/或N8;并且/或者所述第2组IAV NA包括N2、N3、N6、N7和/或N9,

其中进一步任选地,所述N1来自A/加利福尼亚/07/2009,来自A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y,来自A/加利福尼亚/07/2009Q250S,来自A/猪/江苏/J004/2018,来自A/猪/河北/2017,来自A/斯德哥尔摩/18/2007,来自A/布里斯班/02/2018,来自A/密歇根/45/2015,来自A/密西西比/3/2001,来自A/荷兰/603/2009,来自A/荷兰/602/2009,来自A/越南/1203/2004,来自A/越南/1203/2004S247R,来自A/越南/1203/2004I223R,来自A/越南/1203/2004R152I,来自A/越南/1203/2004D199N,来自A/G4/SW/山东/1207/2016,来自A/G4/SW/河南/SN13/2018,来自A/G4/SW/江苏/J004/2018,来自A/水貂/西班牙/2022,和/或来自A/新泽西/8/1976;所述N4来自A/绿头鸭/荷兰/30/2011;所述N5来自A/水鸟/韩国/CN5/2009;所述N8来自A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011和/或来自A/鸡/俄罗斯/3-29/2020;所述N2来自A/华盛顿/01/2007,来自A/中国香港/68,来自A/中国香港/2671/2019,来自A/

中国香港/2671/2019K431E,来自A/南澳大利亚/34/2019,来自A/瑞士/8060/2017,来自A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016,来自A/瑞士/9715293/2013,来自A/列宁格勒/134/17/57,来自A/佛罗里达/4/2006,来自A/荷兰/823/1992,来自A/挪威/466/2014,来自A/德克萨斯/50/2012,来自A/维多利亚/361/2011,来自A/SW/墨西哥/SG1444/2011,来自A/爱知县/2/1968,来自A/比尔托芬/21793/1972,来自A/荷兰/233/1982,来自A/上海/11/1987,来自A/南昌/933/1995,来自A/福井/45/2004、A/布里斯班/10/2007,来自A/坦桑尼亚/205/2010,来自A/柬埔寨/2020,来自A/珀斯/16/2009,来自A/堪萨斯/14/2017,来自A/猪/堪萨斯/2021,来自A/犬/韩国/VC378/2012,和/或来自A/犬/印第安纳/003018/2016;所述N3来自A/加拿大/rv504/2004和/或来自A/鸡/哈利斯科/PAVX17170/2017;所述N6来自A/猪/安大略/01911/1/99,来自A/Ck/苏州/j6/2019,和/或来自A/杭州/01/2021;所述N7来自A/荷兰/078/03和/或来自A/Ck/621572/03;和/或所述N9来自A/安徽/2013,来自A/中国香港/56/2015;并且/或者

(ii)所述IBV NA来自:B/Lee/10/1940(祖先);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);

B/马来西亚/3120318925/2013(山形县);B/威斯康星/1/2010(山形县);B/山梨县/166/1998(山形县);B/布里斯班/33/2008(维多利亚);B/科罗拉多/06/2017(维多利亚);

B/湖北武汉/158/2009(山形县);B/马萨诸塞/02/2012(山形县);B/荷兰/234/2011;B/珀斯/211/2001(山形县);B/普吉岛/3073/2013(山形县);B/德克萨斯/06/2011(山形县);

B/中国香港/05/1972;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/珀斯/211/2011;B/维多利亚/2/87;B/维多利亚/2/87谱系;B/山形县/16/88;B/山形县/16/88谱系或它们的任何组合。

83.一种治疗或预防受试者的流感感染的方法,所述方法包括以约3mg/kg、约0.9mg/kg或约0.3mg/kg的剂量向所述受试者施用抗体或抗原结合片段,或以约3mg/kg、约0.9mg/kg或约0.3mg/kg的剂量向所述受试者施用包含所述抗体或抗原结合片段的组合物,其中:

(i)所述抗体或抗原结合片段的所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列如分别在SEQ ID NO.:55、4、5和9-11中列出;

(ii)所述抗体或抗原结合片段的VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述抗体或抗原结合片段的VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;

(iii)所述抗体或抗原结合片段的VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者

(iv)所述抗体或抗原结合片段的重链和轻链包含分别在SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107)和108中列出的氨基酸序列或由其组成,其中任选地,

(1)所述流感感染包括H5N1 IAV、H7N9 IAV或两者;并且/或者

(2)所述方法包括向所述受试者施用单剂量的所述抗体或抗原结合片段;并且/或者

(3)所述方法包括向所述受试者施用3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段,或所述方法包括向所述受试者施用0.9mg/kg的所述抗体或抗原结合片段,或所述方法包括向所述受试者施用0.3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

84.根据权利要求83中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含人IgG1

同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在所述Fc中包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成,并且/或者其中所述方法包括通过静脉内施用来向所述受试者施用所述抗体、所述抗原结合片段或所述组合物,并且/或者包含所述抗体或抗原结合片段的所述组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;

没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;

并且包含通过亲和色谱法纯化的所述抗体或抗原结合片段,并且/或者所述受试者:已感染H5N1流感;有感染H5N1流感的风险;已暴露于H5N1流感;已感染H7N9流感;有感染H7N9流感的风险;和/或已暴露于H7N9流感。

85.根据权利要求83或84所述的方法,其中所述治疗或预防包括防治。

86.根据权利要求83或84所述的方法,其中所述治疗或预防包括暴露后防治。

87.一种组合物,所述组合物包含抗NA抗体或抗原结合片段以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂,其中:

(i)所述抗体或抗原结合片段包含如分别在SEQ ID NO.:55、4、5、9、10和11中列出的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列;并且/或者

(ii)所述抗体或抗原结合片段包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的所述VH和所述VL氨基酸序列,其中任选地,

所述抗体或抗原结合片段包含人IgG1同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在所述Fc中包含M428L和N434S突变,并且/或者

所述抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的所述重链氨基酸序列和SEQ ID NO.:108中列出的所述轻链氨基酸序列,并且/或者组合物的所述抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成,并且/或者

所述组合物包含相对于需要所述组合物的受试者的体重(kg)而言浓度为3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

88.根据权利要求87所述的组合物,其中所述组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;并且包含通过亲和色谱法纯化的所述抗体或抗原结合片段。

针对流感神经氨酸苷酶的广谱中和抗体

[0001] 对电子序列表的引用

[0002] 电子序列表(930585_439WO_SEQUENCE_LISTING.xml;大小:136949字节;以及创建日期:2023年5月17日)的内容全文以引用方式并入本文。

背景技术

[0003] 流感是一种传染病,其每年爆发波及到世界各地,每年造成约三百万至约五百万例严重疾病和约290,000至650,000例呼吸系统疾病死亡(WHO,Influenza(Seasonal)Fact sheet,2018年11月6日)。最常见的症状包括:突然发烧、咳嗽(通常是干咳)、头痛、肌肉和关节痛、严重不适(感觉不舒服)、喉咙痛和流鼻涕。潜伏期在一天至四天之间变化,但通常在暴露于病毒后约两天开始出现症状。流感的并发症可包括肺炎、鼻窦感染和既往健康问题(诸如哮喘或心力衰竭)恶化、败血症或慢性基础疾病加重。

[0004] 流感是由流感病毒引起的,流感病毒是一组具有抗原多样性和遗传多样性的病毒,属于正粘病毒科(Orthomyxoviridae),含有负义单链分段的RNA基因组。在四种类型的流感病毒(A、B、C和D)中,已知三种类型(A、B和C)会影响人类。可基于存在的主要表面蛋白的不同亚型来对流感病毒进行分类:血凝素(HA)和神经氨酸苷酶(NA)。至少有18种由其血凝素(“HA”)蛋白定义的甲型流感亚型。HA可被分类为两组。第1组包括H1、H2、H5、H6、H8、H9、H11、H12、H13、H16和H17亚型,并且第2组包括H3、H4、H7、H10、H14和H15亚型。至少有11种不同的神经氨酸苷酶亚型(分别为N1至N11(cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm))。神经氨酸苷酶通过催化从受感染的宿主细胞释放前病毒粒子上和靶细胞表面糖蛋白上的唾液酸残基的水解而在病毒移动和播散中发挥作用。已经开发出了被设计成抑制神经氨酸苷酶的药物(NAI)(例如,奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦、拉尼米韦),但IAV亚型的自然获得突变降低了对当前NAI的易感性(Hussain等人,Infection and Drug Resistance 10:121-134(2017))。

[0005] 需要用于治疗流感病毒感染的新方法。

附图说明

[0006] 图1示出了用于抗“NA”(神经氨酸苷酶)单克隆抗体发现的工作流程。通过筛选来自(人)扁桃体供体样品(n=50)的血清对神经氨酸苷酶亚型N1和N2抗原的反应性,以及来自PBMC(外周血单核细胞)供体样品(n=124)的血清对神经氨酸苷酶亚型N4、N3和N9的反应性来选择供体。在哺乳动物细胞中表达用于筛选的神经氨酸苷酶抗原,并通过流式细胞术评估结合。通过流式细胞术分选来自五个供体的B记忆细胞以输入到发现工作流程中。将单一分选的B细胞(n=39,350)与间充质基质细胞(MSC)在50μl培养物中共培养以刺激抗体分泌。通过结合和NA抑制测定法来评估分泌的抗体。使用ELLA(酶联凝集素测定法)评估N1唾液酸酶活性的抑制,并使用基于荧光的测定法测量N1、N2和N9唾液酸酶活性的抑制,该基于荧光的测定法测量2’-(4-甲基伞形酮)-α-D-N-乙酰神经氨酸(MUNANA)的裂解。“N1活性”是指神经氨酸苷酶抑制活性。通过ELISA评估与来自第1组IAV N1 A/越南/1203/2004和第2组

IAV N2 A/坦桑尼亚/205/2010和N9 A/中国香港/56/2015的NA的结合,以确定广度(breadth)。将来自所选B细胞的抗体序列克隆为cDNA并进行测序。

[0007] 图2A示出了从人供体PBMC中分离的针对甲型流感病毒(“IAV”)的单克隆抗体(前缀为“FNI”)的VH结构域序列比对。图2B示出了“FNI3”和“FNI9”(FNI9包含以下VH和VL氨基酸序列:VH:SEQ ID NO.:2;VL:SEQ ID NO.:8)与未突变的共同祖先“UCA”(VH:SEQ ID NO.:98;VL:SEQ ID NO.:100)的VH结构域序列比对。

[0008] 图3A至图3C示出了通过酶联免疫吸附测定法(ELISA)测量的FNI3和FNI9与N1(图3A)、N2(图3B)和N9(图3C)NA的结合,该结合被报告为OD对浓度(单位为ng/ml)。还测量了比较物抗体1G01-LS和针对无关抗原的阴性对照抗体“K-”的结合。

[0009] 图4A至图4C示出了通过生物层干涉测量法(BLI)测量的携带M428L/N434S Fc突变的FNI3(图中的“FNI3-LS”)和携带M428L/N434SFc突变的FNI9(图中的“FNI9-LS”)与N1(图4A)、N2(图4B)和N9(图4C)NA的结合动力学。解离被报告为kdis(1/s),缔合被报告为kon(1/Ms),并且KD根据kdis/kon的比率计算。还测量了比较物抗体1G01-LS的结合。

[0010] 图5总结了流式细胞术测定法测试FNI3和FNI9以及比较物抗体1G01对一组第I组IAV、第II组IAV和乙型流感病毒(IBV)NA结合的结果。粗体指示来自从人类分离的流感病毒的NA。右侧标度上的值示出了计算的EC50的范围。基于观察到结合的最低浓度来选择值。

[0011] 图6A至图6C涉及FNI3和FNI9对携带糖基化位点的NA的活性。图6A示出了在A/南澳大利亚/34/2019、A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016和A/瑞士/9715293/2013中第2组IAV N2亚型NA在位置245(245Gly+)和247(247Gly+)处的糖基化位点。图6B总结了A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016和A/瑞士/9715293/2013活病毒原液中的唾液酸酶活性抑制(NAI),该抑制被报告为EC50,单位为μg/ml。图6C示出了通过流式细胞术测量的FNI3和FNI9与感染了A/南澳大利亚/34/2019(245Gly+)的哺乳动物细胞中的NA的结合。模拟染色作为阴性对照示出。

[0012] 图7示出了通过流式细胞术测量的FNI3和FNI9与感染了H1N1猪欧亚类禽(EA)毒株A/猪/江苏/J004/2018的哺乳动物细胞上表达的NA的结合。模拟染色作为阴性对照示出。

[0013] 另一实验(数据未示出)示出了FNI3和FNI9对人上皮2型(HEP-2)细胞结合的多反应性的缺乏。使用抗HA抗体FI6v3作为阳性对照,并且包括抗副粘病毒抗体MPE8作为阴性对照。

[0014] 图8总结了通过MUNANA测定法测量的FNI3和FNI9对一组第I组IAV、第II组IAV和乙型流感病毒(IBV)NA的唾液酸酶活性抑制(“NAI”)。

[0015] 图9示出了FNI3和FNI9对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。

[0016] 图10A至图10B示出了FNI3和FNI9对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。图10A在同一图表中描绘了对第I组IAV、第II组IAV和IBV的抑制活性,并且图10B在单独的图表中描绘了对这些IAV的抑制活性。

[0017] 图11A示出了在唾液酸酶活性体外抑制测定法中测试的一组IAV和IBV毒株。图11B示出了FNI3、FNI9、FNI14、FNI17和FNI19的测定结果(被报告为IC50,单位为μg/ml)。图例中的星号指示位置245中存在糖基化位点。

[0018] 图12A至图12D示出了抗体FNI1、FNI3、FNI9、FNI14、FNI17和FNI19对H1N1 A/加利福尼亚/07/2009(图12A)、H3N2 A/中国香港/8/68(图12B)、B/马来西亚/2506/2004(图12C)和B/江苏/10/2003(图12D)NA的中和(被报告为IC50,单位为μg/ml)。

[0019] 图13A和图13B示出了Fcγ RIIIa(图13A;F158等位基因)和Fcγ RIIa(图13B;H131等位基因)的抗体激活。使用工程化的Jurkat细胞中的NF AT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。测试FNI3和FNI9,以及比较物抗体FM08(图中的"FM08_LS";VH:SEQ ID NO.:25;VL:SEQ ID NO.:26)和阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0020] 图14A和图14B示出了(图14A)N1(H1N1、猪H1N1和禽H5N1)和(图14B)N2(H3N2、H2N2)亚型中NA耐抗病毒药突变的按年计的频率。

[0021] 图15A至图15E示出了抗流感抗体或奥司他韦对用反向遗传学工程化以携带耐奥司他韦(OSE)突变(H275Y、E119D和H275Y,或S247N和H275Y)的H1N1 A/加利福尼亚/07/2009病毒的中和。测量了FNI3(图15A)、FNI9(图15B)和奥司他韦(图15C)以及比较物抗体FM08(图15D)和1G01(图15E)的中和活性。

[0022] 图16A和图16B示出了抗NA抗体对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV、IBV病毒以及用反向遗传学工程化以携带耐OSE突变(H275Y、E119D/H275Y、H275Y/S247N、I222V或N294S)的IAV和IBV病毒的中和(被报告为IC50,单位为μg/ml)。图16A(x轴)中的星号指示携带耐OSE突变的病毒。测量FNI3、FNI9和比较物抗体1G01的中和活性。图16A描绘了单独的病毒株的中和,并且图16B描绘了按中和抗NA抗体分组的病毒株的中和。

[0023] 图17示出了来自晶体结构研究的数据,其示出了FNI3抗体的抗原结合片段(Fab)结构域与NA的对接。

[0024] 图18A和图18B示出了从FNI3重链的重链互补决定区3(H-CDR3)在其与N2 NA未结合(图18A)或结合(图18B)时的晶体结构研究构建的示意图。未结合的FNI3 H-CDR3晶体结构(图18A)示出了β折叠构象以及残基E111(CO)-D102(NH)、E111(NH)-D102(CO)、G109(CO)-F104(NH)、G109(NH)-N105(CO)和L108(NH)-N105(CO)的羧酸基(CO)与氨基(NH)之间的完整主链氢键。FNI3-N2晶体结构(图18B)示出了H-CDR3β折叠构象的破坏和G109(CO)-F104(NH)之间的一个完整主链氢键。

[0025] 图19A和图19B示出了从晶体结构研究生成的示意图,其示出了与NA亚型复合的FNI3的抗原结合片段(Fab)结构域和比较物抗体1G01、1G04和1E01的对接角度。线条指示所有小图中的对接角度,并示出了比较物抗体1G01、1G04和1E01的蛋白质数据库(PDB)识别码。图19A示出了1G01与N1 NA的复合物(上图)和1G04与N9 NA的复合物(下图)。图19B示出了FNI3与N2 NA的复合物(上图)和1E01与N2 NA的复合物(下图)。

[0026] 图20示出了FNI3 CDR的构象和相互作用:H-CDR3、H-CDR2和L-CDR。为了生成这些数据,使用MOE(分子操作环境)"快速制备"蛋白质。

[0027] 图21示出了FNI3与N2 NA的复合物的晶体结构,包括轻链CDR(L-1、L-2、L-3)和重链CDR(H-1、H-2、H-3)的残基。H-CDR3与N2 NA的相互作用以增强的分辨率示出在右图中。负数是以kcal/mol为单位的相互作用能。使用MOE(分子操作环境)软件"快速制备"蛋白质。

[0028] 图22示出了FNI3与奥司他韦结合的N2 NA的复合物的晶体结构表示。奥司他韦被示出为与N2 NA的R292、R371和R118相互作用。

[0029] 图23示出了晶体结构的替代视图,其示出了FNI3与奥司他韦结合的N2 NA的复合

物。

[0030] 图24A和图24B示出了来自2000年至2020年之间分离的H3N2(n＝60,597)的N2 NA序列中FNI3表位保守性的分析。图24A中的表示出了在分析的N2 NA序列中特定位置处的氨基酸的频率。圈出的值指示以最低三个频率出现的氨基酸Glu221(E221,17.41％)、Ser245(S245,33.69％)和Ser247(S247,36.16％)。酸性氨基酸包括:天冬氨酸、谷氨酸;碱性氨基酸包括:精氨酸、组氨酸、赖氨酸;疏水性氨基酸包括:异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、丙氨酸、脯氨酸;中性氨基酸包括:天冬酰胺、谷氨酰胺;并且极性氨基酸包括:丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、酪氨酸。图24B示出了来自FNI3的VH Y60和Y94与N2 NA的E221、S245和S247的相互作用。

[0031] 图25示出了N2 NA FNI3表位保守性(顶部;如图24A和图24B所示)与2000年至2020年之间分离的H1N1(n＝57,597)的N1 NA序列中FNI3表位保守性(底部)的比较。酸性氨基酸包括:天冬氨酸、谷氨酸;碱性氨基酸包括:精氨酸、组氨酸、赖氨酸;疏水性氨基酸包括:异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、丙氨酸、脯氨酸;中性氨基酸包括:天冬酰胺、谷氨酰胺;并且极性氨基酸包括:丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、酪氨酸。

[0032] 图26A和图26B示出了体内研究的设计,该体内研究用于评估FNI3(图26A中的“mAb-03”)和FNI9(图26A中的“mAb-09”)在感染了IAV A/波多黎各/8/34或A/中国香港/8/68的BALB/c小鼠中的防治活性。图26A示出了研究中使用的剂量和病毒株。图26B示出了研究的时间线和终点。

[0033] 图27A至图27D示出了在用FNI9预处理之后感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的BALB/c小鼠的体重在十五天内的测量结果。在感染LD90(90％致死剂量)的A/波多黎各/8/34前一天,以6mg/kg(图27A)、2mg/kg(图27B)、0.6mg/kg(图27C)或0.2mg/kg(图27D)施用抗体。还测量了被施用媒介物对照的小鼠的体重(每个图中的左坐标图)。

[0034] 图28A至图28D示出了在用FNI9预处理之后感染了H3N2 A/中国香港/8/68的BALB/c小鼠的体重在十五天内的测量结果。在感染LD90(90％致死剂量)的A/中国香港/8/68前一天,以6mg/kg(图28A)、2mg/kg(图28B)、0.6mg/kg(图28C)或0.2mg/kg(图28D)施用抗体。还测量了接受媒介物对照的小鼠的体重(每个图中的左坐标图)。

[0035] 图29A和图29B示出了在用FNI3或FNI9处理之后感染了A/波多黎各/8/34(图29A)或A/中国香港/8/68(图29B)的BALB/c小鼠在十五天内的存活率。还测量了用媒介物对照预处理的小鼠的存活率。

[0036] 图30A和图30B示出了在用FNI3或FNI9预处理后感染了A/波多黎各/8/34(图30A)或A/中国香港/8/68(图30B)的BALB/c小鼠在感染后第4天至第14天的体重减轻(被报告为曲线下面积)。还测量了用媒介物对照预处理的小鼠的体重减轻。

[0037] 图31A和图31B示出了在用FNI3或FNI9处理之后感染了A/波多黎各/8/34(图31A)或A/中国香港/8/68(图31B)的BALB/c小鼠的体重减轻的曲线下面积分析中的负曲线下面积峰值与血清中的IgG的比较。

[0038] 图32示出了FNI3(“FNI3-LS”)、FNI9(“FNI9-LS”)和比较物抗体FM08和1G01(“1G01-LS”)在tg32小鼠中的体内药代动力学,所有这些抗体都携带M428L/N434S突变。计算的半衰期由矩形突出显示。

[0039] 图33总结了流式细胞术测定法测试FNI3、FNI9、FNI17和FNI19在指示浓度(μg/mL)

下对哺乳动物细胞上瞬时表达的一组第I组IAV-、第II组IAV-和乙型流感病毒(IBV)NA结合的结果。粗体指示来自从人类分离的流感病毒的NA。右侧标度上的值示出了计算的EC50的范围。基于观察到结合的最低浓度来选择值。

[0040] 图34示出了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19对来自在人体内循环的IAV的第I组(H1N1)和第II组(H3N2)NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。矩形指示在位置245处具有糖基化的第II组(H3N2)NA和对应的唾液酸酶抑制值(被报告为IC50,单位为μg/ml)。

[0041] 图35示出了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19对一组人祖先、维多利亚谱系和山形县谱系IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。

[0042] 图36示出了通过核蛋白(NP)染色测量的FNI3、FNI9、FNI17和FNI19对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外中和活性。还测量了比较物抗HA抗体“FM08_LS”和“FHF11v9”的中和活性。

[0043] 图37示出了通过核蛋白(NP)染色测量的FNI3、FNI9、FNI17、FNI19和奥司他韦(OSE)对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外中和活性。1nM＝150μl。

[0044] 图38A和图38B示出了通过MUNANA测定法测量的FNI3和FNI9对来自耐OSE的流感病毒的NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。用反向遗传学对耐OSE的IAV进行工程化,使之携带耐奥司他韦(OSE)突变。图38A示出了对Cal/09N1和Cal/09N1耐OSE(H1N1)的唾液酸酶活性抑制。图38B示出了对爱知县/68N2和爱知县/68N2耐OSE NA(H3N2)的唾液酸酶活性抑制。

[0045] 图39示出了FcγRIIIa(F158等位基因)和FcγRIIa(H131等位基因)的抗体激活。使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。在与以6的感染复数(MOI)感染H1N1流感毒株A/波多黎各/8/34的A549细胞一起温育后评估激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及携带M428L/N434S突变的比较物抗体“FM08_MLNS”和阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0046] 图40A和图40B示出了在与IAV(图40A)和IBV(图40B)NA一起温育后FcγRIIIa(V158等位基因)的抗体激活。在与用编码不同IAV和IBV NA的质粒瞬时转染的Expi-CHO细胞一起温育后,使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0047] 图41A和图41B示出了在与IAV(图41A)和IBV(图41B)NA一起温育后FcγRIIa(H131等位基因)的抗体激活。在与用编码不同IAV和IBV NA的质粒瞬时转染的Expi-CHO细胞一起温育后,使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0048] 图42示出了在用FNI3、FNI9或FM08_LS处理之后感染了A/波多黎各/8/34(H1N1)或A/中国香港/8/68(H3N2)的BALB/c小鼠的体重减轻的曲线下面积分析中的负曲线下面积峰值(被报告为EC50,单位为μg/ml)与血清中的IgG的比较。出于拟合目的,在10^{-1}μg/ml的IgG浓度下计算了来自媒介物组的负峰面积。

[0049] 图43A和图43B示出了体内研究的设计,该体内研究用于评估FNI3_MLNS(图43A中的“mAb-03”)和FNI9_MLNS(图43A中的“mAb-09”)在感染了IBV B/维多利亚/504/2000(山形县)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)的DBA/2J小鼠中的防治活性。图43A示出了研究中使

用的剂量和病毒株。图43B示出了研究的时间线和终点。

[0050] 图44A至图44D示出了在用FNI3或FNI9预处理后感染了IBV B/维多利亚/504/2000(山形县)的DBA/2小鼠的体重在十五天内的测量结果。在感染LD90(90％致死剂量)的IBV B/维多利亚/504/2000(山形县)前一天,以6mg/kg(图44A)、2mg/kg(图44B)、0.6mg/kg(图44C)或0.2mg/kg(图44D)施用抗体。还测量了被施用媒介物对照的小鼠的体重(每个图中的左坐标图)。

[0051] 图45A至图45D示出了在用FNI3或FNI9预处理后感染了IBV B/布里斯班/60/2008(维多利亚)的DBA/2小鼠的体重在十五天内的测量结果。在感染LD90(90％致死剂量)的IBV B/布里斯班/60/2008(维多利亚)前一天,以6mg/kg(图45A)、2mg/kg(图45B)、0.6mg/kg(图45C)或0.2mg/kg(图45D)施用抗体。还测量了被施用媒介物对照的小鼠的体重(每个图中的左坐标图)。

[0052] 图46A和图46B示出了在用FNI3或FNI9预处理后感染了B/维多利亚/504/2000(山形县)(图46A)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)(图46B)的DBA/2小鼠在感染后第4天至第14天的体重减轻(被报告为体重变化曲线下面积)。还测量了用媒介物对照预处理的小鼠的体重减轻。

[0053] 图47A和图47B示出了在用FNI3或FNI9处理之后感染了B/维多利亚/504/2000(山形县)(图47A)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)(图47B)的DBA/2小鼠在十五天内的存活率。还测量了用媒介物对照预处理的小鼠的存活率。

[0054] 图48A和图48B示出了IAV和IBV NA中的FNI3表位保守性。图48A示出了来自H1N2、H2N2、H3N2和H5N2 IAV的N2 NA序列(n＝65,5262)(顶部)与来自H1N1和H5N1的N1 NA序列(N＝58,954)(底部)的分析。所有序列都是在2000年至2020年之间分离的。酸性氨基酸包括:天冬氨酸、谷氨酸;碱性氨基酸包括:精氨酸、组氨酸、赖氨酸;疏水性氨基酸包括:异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、丙氨酸、脯氨酸;中性氨基酸包括:天冬酰胺、谷氨酰胺;并且极性氨基酸包括:丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、酪氨酸。图48A中被方框包围的残基指示图48B的下图中描述的某些氨基酸。图48B中的表示出了N2 NA中重要的FNI3相互作用残基和对应的FNI3 CDRH3残基。

[0055] 图49示出了IBV NA中的FNI3表位保守性。分析了来自B/布里斯班/60/2008的IBV NA序列(图中的“FluB维多利亚”;N＝7,814;顶部)与来自B/维多利亚/504/2000的IBV NA序列(图中的“FluB山形县”;N＝13,243;底部)。酸性氨基酸包括:天冬氨酸、谷氨酸;碱性氨基酸包括:精氨酸、组氨酸、赖氨酸;疏水性氨基酸包括:异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、丙氨酸、脯氨酸;中性氨基酸包括:天冬酰胺、谷氨酰胺;并且极性氨基酸包括:丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、酪氨酸。被方框包围的残基指示与FNI3 HCDR3相互作用的初级NA残基,这些初级NA残基在IAV N1/N2和IBV中是100％保守的。

[0056] 图50A和图50B示出了在施用后30天内,携带MLNS Fc突变的FNI抗体(FNI3(“FNI3-LS”)、FNI9(“FNI9-LS”)、FNI17(“FNI17-LS”)、FNI19(“FNI19-LS”))和比较物抗体FM08_MLNS在SCID tg32小鼠中的体内药代动力学。随时间变化的浓度(以μg/ml形式报告)在图50A中示出。图50B中的表示出了半衰期(以天为单位报告)、AUC(以天*μg/ml为单位报告)、清除率(以μg/ml为单位报告)和体积(以ml为单位报告)。

[0057] 图51示出了2009年至2019年第I组IAV、第II组IAV和IBV中FNI NA表位内前五个相

互作用残基的保守性。

[0058] 图52示出了通过核蛋白(NP)染色测量的FNI9、奥司他韦(OSE)和比较物抗体“FM08”对H3N2 A/中国香港/8/68病毒的体外中和活性。计算的IC50(以nM为单位)、IC80(以nM为单位)和最大抑制(以百分比形式报告)示出在该坐标图下方。

[0059] 图53示出了“GAALIE”Fc变体抗体(包含Fc中的G236A/A330L/I332E突变)对Fcγ RIIIa(F158等位基因)和Fcγ RIIa(H131等位基因)的抗体激活。使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。在与以6的感染复数(MOI)感染H1N1流感毒株A/波多黎各/8/34的A549细胞一起温育后评估激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及携带GAALIE突变(后缀“-GAALIE”)的FNI3、FNI9、FNI17和FNI19抗体。还测试了比较物抗体“FM08_LS”和阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0060] 图54示出了实验间体内研究的设计,该实验间体内研究用于比较FM08_LS与FNI3_LS和FNI9_LS在感染了IAV A/波多黎各/8/34或A/中国香港/8/68的BALB/c小鼠中的防治活性。该表示出了研究中使用的剂量和病毒株。研究的时间线和终点与图26B所示的时间线和终点相同。来自实验A(“Exp-A”)的体重数据在图27A至图27D(FNI9-LS,A/波多黎各/8/34)和图28A至图28D(FNI9-LS,A/中国香港/8/68)中示出。

[0061] 图55示出了体内研究的设计,该体内研究用于评估奥司他韦(OSE)在感染了IAV A/波多黎各/8/34的雌性BALB/c小鼠中的生物效力。时间线示出了感染时间、OSE给药和研究终点。在第0天,从感染10倍LD50(50%致死剂量)的A/波多黎各/8/34前两小时开始,通过经口灌胃施用10mg/kg OSE。在感染后6小时以相同剂量施用OSE,然后每天两次,直到感染后第6天。

[0062] 图56示出了在用奥司他韦(OSE)预处理之后感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的BALB/c小鼠的体重在十四天内的测量结果。还测量了用媒介物对照(H2O)预处理的小鼠的体重减轻。

[0063] 图57示出了在用奥司他韦(OSE)处理后感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的BALB/c小鼠在十四天内的存活率。还测量了用媒介物对照(H2O)预处理的小鼠的存活率。

[0064] 图58示出了来自用OSE处理并感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的BALB/c小鼠的肺匀浆中的病毒滴度。在感染后两天和四天收集肺组织。滴度被报告为每克组织的50%组织培养感染剂量(TCID50/g)。

[0065] 图59A至图59E示出了FNI9和某些FNI9变体对IAV NA和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。FNI9和FNI9变体的中和活性是针对来自H5N1 A/越南/1203/2004的第I组(H1N1)IAV NA1(图59A)、来自H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010的NA2(图59B)和来自H7N9 A/中国香港/56/2015的NA9(图59C)示出的。FNI9和变体的中和活性是针对来自B/马来西亚/2506/2004的BNA2(图59D)和来自B/珀斯/211/2011的BNA7(图59E)示出的。在这些图中,“FNI9-v6”、“FNI9-v7”、“FNI9-v8”和“FNI9-v9”如图67所示,并且与例如图70至图72所示的FNI9变体序列“-VH.6”、“-VH.7”、“-VH.8”和“-VH.9”不同。

[0066] 图60示出了FNI9 VH的附加特性。使用PyMOL生成了FNI9的总表面电荷图,以及pK值和分辨率(以Å为单位报告)。

[0067] 图61示出了FNI抗体FNI3、FNI9、FNI17和FNI19与NA上涉及与唾液酸相互作用的高度保守的残基之间的结合能。

[0068] 图62示出了通过流式细胞术测量的FNI3、FNI9、FNI 17和FNI 19与感染了H1N1猪欧亚类禽(EA)毒株A/猪/江苏/J004/2018的哺乳动物细胞上表达的NA的结合。模拟抗体染色作为阴性对照示出。

[0069] 图63示出了如通过生物层干涉测量法(BLI)测量的FNI3、FNI9和FNI17与N9 NA的结合动力学。KD根据kdis/kon的比率计算,其中kdis是计算为(1/s)的解离,并且kon是计算为(1/Ms)的缔合。

[0070] 图64示出了FNI3、FNI9、FNI17、FNI17-V19、FNI19和FNI19-v3对第II组H7N9 A/安徽/1/2013IAV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(以ng/ml为单位报告)。

[0071] 图65示出了在与第II组H7N9 A/安徽/1/2013IAV一起温育后Fc γ RIIIa(V158等位基因)的抗体激活。在与用编码来自A/安徽/1/2013IAV的N9的质粒瞬时转染的Expi-CHO细胞一起温育后,使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0072] 图66A至图66C示出了“GAALIE”Fc变体抗体(包含Fc中的G236A/A330L/I332E突变)对Fc γ RIIa(H131等位基因)的抗体激活。在与用编码不同IAV(图66A中的H1N1 A/加利福尼亚/07/2009;图66B中的H3N2 A/中国香港/8/68)和IBV(图66C中的B/马来西亚/2506/2004)NA的质粒瞬时转染的Expi-CHO细胞一起温育后,使用工程化的Jurkat细胞中的NFAT介导的荧光素酶报告基因来测量激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及携带GAALIE突变(图中的后缀“-GAALIE”)的FNI3、FNI9、FNI17和FNI19抗体。还测试了比较物抗体“FM08_LS”和阴性对照抗体(FY1-GRLR)。FM08_LS和FY1-GRLR的测量值在图66A至图66C中最低。

[0073] 图67示出了某些FNI3、FNI9、FNI17或FNI19 mAb的抗体滴度,包括与野生型相比变体的增加/减少。

[0074] 图68示出了如通过流式细胞术测量的FNI9和某些FNI9变体(FNI9变体(VH SEQ ID NO.:2,VL SEQ ID NO.:37)至FNI9-v9)与第I组IAV、第II组IAV和IBV NA的结合(被报告为MFI)。将变体的MFI值相对于野生型FNI9的MFI值归一化。图68所示的FNI9变体与例如图70至图72所示的FNI9变体序列“-VH.6”、“-VH.7”、“-VH.8”和“-VH.9”不同。

[0075] 图69A至图69D示出了如通过生物层干涉测量法(BLI)测量的FNI3-LS、FNI9-LS、FNI17-LS和FNI19-LS以及携带GAALIE突变(图中的后缀“-GAALIE”)的FNI3-LS、FNI9-LS、FNI17-LS和FNI19-LS抗体与不同Fc γ R的结合动力学。箭头指示FNI17-LS和FNI17-LS-GAALIE的曲线。图69A示出了与Fc γ RIIA(H)的结合,图69B示出了与Fc γ RIIA(R)的结合,图69C示出了与Fc γ RIIIA(F)的结合,并且图69D示出了与Fc γ RIIIA(V)的结合。

[0076] 图70示出了引入野生型FNI9 VH或VL中以生成附加变体抗体的突变。

[0077] 图71示出了FNI9野生型(“WT”)可变结构域氨基酸序列和包含如图70所示的一个或多个突变的FNI9抗体可变结构域。

[0078] 图72总结了包含如图70所示的一个或多个突变的本公开的某些FNI9变体抗体(FNI9-v13.8-FNI9-v12.7)。

[0079] 图73示出了某些IgG1 Fc变体抗体的Fc γ R和C1q结合亲和力(通过基于meso scalediscovery的测定法(MSD;采用电化学发光))及其他特性。从第三行开始示出的Fc变体(“G236A_E272Y_S298N”及以下)是使用迭代发现工作流程鉴定的。G236A_A330L_I332E变体用作比较物。测试了Fc变体抗体与Fc γ RIIA-H(高亲和力H158等位基因)、Fc γ RIIB、Fc γ

RIIA-R(低亲和力R131等位基因)、Fc γ RIIIA-V(高亲和力VI 58等位基因)、Fc γ RIIIA-F(低亲和力F158等位基因)、Fc γ RIIIB和FcRn的结合。数据被报告为与野生型IgG1相比结合的倍数变化。还示出了相对于野生型IgG1的Fc γ RIIA/Fc γ RIIB结合比率以及生产滴度(mg/mL)和Tm(℃)。

[0080] 图74A至图74C示出了岩藻糖基化对二十种Fc变体抗体的生产和纯化的影响。在不存在(“无2FF”)或存在(“+2FF”)2-脱氧-2-氟-L-岩藻糖(2FF)的情况下表达变体;2FF减少岩藻糖基化。图74A示出了如使用蛋白A柱确定的抗体滴度。图74B示出了由两次重复纯化产生的产率。图74C中的表总结了均以μg为单位测量的理论最大产率和平均产率,以及计算的平均回收率和第二次洗脱的蛋白浓度(以μg/ml为单位测量)。使用两次洗脱纯化Fc变体,并在确定产率之前合并Fc变体。

[0081] 图75A至图75B总结了相对于野生型Fc而言Fc变体的Fc γ R结合和其他特性。条形和值指示与野生型Fc相比结合的倍数变化。所示的Fc变体未用2FF处理。图75A示出了与Fc γ RIIA-H(高亲和力)、Fc γ RIIA-R(低亲和力)、Fc γ RIIB、Fc γ RIIIA-V(高亲和力)、Fc γ RIIIA-F(低亲和力)和FcRn(在pH 6)的结合。图75B进一步示出了Fc γ RIIA-H/Fc γ RIIB结合比率,以及C1q结合和补体依赖性细胞毒作用(CDC),其中WT“基线”值由红色垂直虚线指示。通过基于meso scale discovery的测定法(MSD;采用电化学发光))来测量结合。

[0082] 图76示出了某些Fc变体与Fc γ RIIA-H(高亲和力)和Fc γ RIIB的结合。用线连接的图表表示同一变体。所示的变体未用2FF处理。

[0083] 图77A至图77B示出了通过不同Fc γ R的Fc γ R信号传导,如使用报告细胞测定法测量的(Promega;所测试的细胞表达一种类型/等位基因Fc γ R,如所指示)。所示的Fc变体是岩藻糖基化的(“fuc”;124A/124B)或去岩藻糖基化的(“afuc”;124B),如图中所指示。由三次实验的平均值来计算值,并且这些值指示与野生型Fc相比,曲线下面积(以对数绘制)的倍数变化(以线性表示)。

[0084] 图78总结了某些变体Fc的特性。包含所指示的Fc的抗体被表达为重组人IgG1。通过基于meso scalediscovery的测定法(MSD;采用电化学发光))来测量结合。值表示与包含野生型岩藻糖基化人IgG1 Fc的抗体相比的倍数变化。还示出了Fc γ R信号传导的倍数变化,如使用报告细胞测定法测量的。

[0085] 图79示出了测量以下各项的实验的结果:某些Fc变体抗体的Fc γ R结合;Fc γ RIIA等位基因与Fc γ RIIB的结合比率;C1q结合;解链温度;和FcRn结合。抗甲型流感抗体FY1(Kallewaard等人,Cell.2016年7月28日;166(3):596-608)被表达为重组IgG1m3,其在CH3中具有M428L和N434S突变,并且在Fc的其他地方具有所指示的组合突变。通过基于meso scalediscovery的测定法(MSD;采用电化学发光))来测量结合(一项研究)。结合数据被示出为相对于没有其他Fc突变的FY1rIgG1m3-MLNS的倍数变化。使用报告细胞测定法(NFAT驱动荧光素酶)(Promega)通过Fc γ R信号传导来确认Fc γ R结合。

[0086] 图80示出了测量如图79中的抗体特征的附加实验的结果。在这些实验中,FY1被表达为没有M428L和N434S突变(即,具有野生型IgG1m3 CH1-CH3或具有表中所指示的突变)的重组IgG1m3。在第一板中独立地生产和测量FY1-rIgG1m3和FY1-rIgG1m3-GAALIE抗体两次;示出了平均数据。在第一板和第二板中独立地生产FY1-rIgG1m3-GA抗体2次。对于其他变体,进行单次测量。通过基于meso scalediscovery的测定法(MSD;采用电化学发光))来测

量结合。结合数据被示出为相对于具有野生型Fc的FY1 rIgG1m3的倍数变化。使用报告细胞测定法(NF AT驱动荧光素酶)(Promega)进行Fc γR结合/激活。

[0087] 图81示出了使用去岩藻糖基化Fc变体抗体测量如图80中的特征的附加实验的结果。在存在2FF的情况下生产抗体以获得去岩藻糖基化聚糖。在这些实验中,FY1被表达为没有M428L和N434S突变(即,具有野生型IgG1m3 CH1-CH3或具有表中所指示的突变)的重组IgG1m3。在第一板中独立地生产和测量FY1-rIgG1m3和FY1-rIgG1m3-GAALIE抗体两次;示出了平均数据。在第一板和第二板中独立地生产FY1-rIgG1m3-GA抗体2次。对于其他变体,进行单次测量。通过基于meso scalediscovery的测定法(MSD;采用电化学发光))来测量结合。

[0088] 图82示出了具有如图例所指示的变体Fc的抗流感FY1抗体对Fc γRIIA的激活/信号传导。靶细胞是表达FluA H1N1 HA的A549细胞,并且报告细胞是在NF AT启动子控制下表达Fc γRIIA(H131等位基因)和荧光素酶的Jurkat细胞。

[0089] 图83A至图83B示出了具有如图例所指示的变体Fc的抗流感FY1抗体对Fc γRIIIA的激活/信号传导。靶细胞是表达FluA H1N1 HA的A549细胞,并且报告细胞是在NF AT启动子控制下表达Fc γRIIIA(F158低亲和力等位基因(A)或V158高亲和力等位基因(B))和荧光素酶的Jurkat细胞。

[0090] 图84A至图84I涉及某些抗-HBV(“HBC34-v40”;参见PCT公开号WO 2021/262840)Fc变体抗体。(A)流式细胞术,示出了在存在所指示的HBC34-v40 Fc变体抗体(50μg/mL)和来自HBV+患者血清的30IU/mL HBsAg的情况下,单核细胞衍生的树突细胞(moDC)(表达所指示的Fc γR)上的CD83表达。(B)流式细胞术,示出了在存在所指示的浓度的HBC34-v40 Fc变体抗体(50μg/mL)和来自HBV+患者血清(BioIVT)的HBsAg的情况下,moDC上的CD83表达。左坐标图来自使用吸取/生成抗体:HBsAg免疫复合物的第一种方法的实验;右坐标图来自使用吸取/生成抗体:HBsAg免疫复合物的第二种方法的实验。(C)在与来自相同供体的moDC一起温育5天的自体CD4+记忆T细胞(来自HBV疫苗接种者)上的CD25表达(激活标记物)和CFSE(增殖);首先用100IU/mL HBsAg(来自两个患者血清)和50μg/mL HBC34-v40 Fc变体抗体将moDC激活过夜。在一个实验中比较LS-GAYL变体。(D)用IL-4和GM-CSF刺激CD14+单核细胞6天。将MoDC用抗原和HBC34-v40 Fc变体抗体(50μg/mL)处理过夜,然后与表达HBsAg特异性人TCR的HLA匹配(HLA-DR限制性)转基因Jurkat细胞共培养。读出的是Jurkat细胞的GFP-NFAT报告基因。(E)在0.125μg/mL抗体下三次独立实验重复的Jurkat TCR报告基因测定法的比较。(F)来自不同测定法的数据总结。(G)示出用于评估来自用HBsAg疫苗免疫和加强的Fc γR表达小鼠的T细胞的离体增殖的实验设置的方案;分选记忆CD44+CD4+T细胞,用CFSE标记,与免疫复合物(抗体:HBsAg抗原)脉冲BMDC共培养,并且在第6天评估增殖。SEB=来自金黄色葡萄球菌(S.Aureus)的葡萄球菌肠毒素B。(H)如(G)中的(500,000)CD4+记忆T细胞上的CD4表达和CFSE染色,其中使用包含所指示HBC34-v40 Fc变体抗体(20μg/mL)和HBsAg(1000IU/mL)的免疫复合物刺激BMDC(50,000)。SEB=1μg/mL;曼-惠特尼检验。(I)(左)与用单独HBsAg、单独抗体或SEB预处理的moDC一起温育后CFSE低CD4+CD44+T细胞的频率;(右)在与用所指示浓度的HBsAg和所指示HBC34-v40 Fc变体抗体预处理的moDC一起温育后CFSE低CD4+CD44+T细胞的频率。moDC来自转基因表达人Fc γR的小鼠,并且T细胞来自HuFc γR小鼠(n=4个独立实验)或C57B1/6小鼠(n=1个实验)。测试了50,000个moDC+500,000个T细

胞。SEB＝1μg/mL;曼-惠特尼检验。

[0091] 图85A至图85B示出了如通过MUNANA测定法测量的FNI9和FNI9-v5对NA的唾液酸酶活性的体外抑制。图85A示出了对来自H5N1A/越南/1203/2004的N1的唾液酸酶活性抑制。图85B示出了对来自H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010的N2的唾液酸酶活性抑制。

[0092] 图86示出了如通过表面等离子体共振(SPR)测量的FNI9和FNI9-v5 Fab片段与在位置245处具有或不具有糖基化位点的N2抗原的结合亲和力。结合亲和力被报告为以nM为单位的平衡常数KD。标签“+glcy245”指示位置245中存在糖基化位点。星号指示生成Fab片段的方法,其中“r”指示通过重组表达来生成,并且“d”指示通过消化来生成。

[0093] 图87A至图87B示出了如通过ELLA(酶联凝集素测定法)测量的FNI9和FNI9-v5对假型病毒颗粒中的N2唾液酸酶活性的体外抑制。图87A示出了对A/瑞士/2017假病毒颗粒的唾液酸酶活性抑制。图87B示出了对A/堪萨斯/14/2017假病毒颗粒的唾液酸酶活性抑制。

[0094] 图88示出了FNI9和FNI9-v5对流感的体外中和(被报告为EC50,单位为μg/ml)。

[0095] 图89总结了FNI9亲本抗体的某些变体的VH和VL(VK)结构域中的突变。“FNI9”和“FNI9-v1.1”抗体具有这些氨基酸序列。FNI9-v1.1与变体同时生产以控制生产条件的任何变化。

[0096] 图90示出了FNI9抗体的生产滴度和尺寸排阻色谱(SEC)特征。“合格”的SEC特征指示通过UHPLC-SEC没有观察到显著的聚集(<3％高分子量种类)或断裂(<3％低分子量种类)。“未评估”的SEC特征指示不能评估SEC特征,因为在瞬时转染中没有以足够的滴度产生抗体。对于生产力,“过低”指示瞬时转染的细胞的上清液中的抗体滴度低于定量方法的检测限(BLI上的蛋白A结合)。“FNI9-v1.1”具有与FNI9相同的序列。

[0097] 图91A至图91B示出了如通过MUNANA测定法测量的FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制。值指示导致唾液酸酶活性50％抑制的抗体浓度(以μg/ml为单位)。图例中指示了用于该测定法的神经氨酸苷酶抗原浓度。“FNI9-v1.1”具有与FNI9相同的序列。

[0098] 图92A至图92B示出了如通过ELLA测量的FNI9变体对所指示的假病毒衍生NA的唾液酸酶活性的体外抑制。值指示导致唾液酸酶活性50％抑制的抗体浓度(以μg/ml为单位)。图例中指示了用于该测定法的神经氨酸苷酶抗原浓度。“FNI9-v1.1”具有与FNI9相同的序列。

[0099] 图93A至图93D示出了如通过流式细胞术测量并以MFI为单位报告的FNI9抗体与哺乳动物细胞中瞬时表达的NA的结合。图93A示出了与来自A/加利福尼亚/07/2009和A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y的N1以及A/华盛顿/01/2007和A/华盛顿/01/2007R292K中的N2的结合。图93B示出了与来自A/瑞士/8060/2017、A/堪萨斯/14/2017、A/柬埔寨/2020和A/南澳大利亚/34/2019的N2的结合。图93C示出了与来自B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)、B/布里斯班/2008(维多利亚)、B/山梨县/166/1998(山形县)和B/普吉岛/3073/2013(山形县)的IBV NA的结合。图93D示出了与来自A/列宁格勒/134/17/57和A/珀斯/16/2009的N2以及来自A/安徽/1/2013的N9的结合。在图93A至图93D中,对于每个测试条件(例如,对于图93A中的“N1_A_Calif_07_2009”),每个坐标图中的条形从左到右对应于如在相应的图例中从上到下和从左到右指示的抗体。例如,图93A中“N1_A_Calif_07_2009”上方的从左侧开始的前三个条形对应于FNI9v-1.1、FNI9-v4.1和FNI9-v4.7。抗体FNI9-v1.1、FNI9-v4.1、

FNI9-v8.1、FNI9-v13.8和FNI9-v9.1由条形中的图案或阴影指示。

[0100] 图94示出了如通过SPR测量的抗体“FNI9-v4.1”、“FNI9-v8.1”、“FNI9-v9.1”和“FNI9-v13.8”(被表达为IgG1)对IAV和IBV NA抗原的亲和力。指示了NA抗原类别,其中“FluB”指示来自IBV的NA,“N1”指示N1 NA,“A/H3N2-gly245”指示来自H3N2毒株的在位置245处没有糖基化的N2 NA,“A/H3N2+gly245”指示来自H3N2毒株的在位置245处具有糖基化的N2 NA,并且“N9”指示N9 NA。值指示与亲本抗体“FNI9-v1.1”(与FNI9相同的序列)相比亲和力的倍数变化。

[0101] 图95A至图95B示出了如通过SPR测量的来自FNI9-v1.1(与FNI9相同的序列)、FNI9-v4.1、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8的Fab片段对N2抗原的亲和力。测量了与在位置245处具有(标记为“+gly245”)或不具有(标记为“-gly245”)糖基化的A/坦桑尼亚/205/2010、A/南澳大利亚/34/2019和A/中国香港/2671/2019的结合。图95A示出了被报告为以nM为单位的平衡常数KD的结合亲和力。图95B示出了被报告为与来自亲本抗体FNI9-v1.1的Fab相比的倍数变化的结合亲和力。

[0102] 图96A至图96C示出了如通过生物层干涉测量法(BLI)测量的FNI9-v1.1(与FNI9相同的序列)(图96A)、FNI9-v8.1(图96B)和FNI9-v9.1(图96C)与N9 NA的结合动力学。解离被报告为kdis(1/s),缔合被报告为ka(1/Ms),并且KD(M)根据kdis/ka的比率计算。

[0103] 图97A示出了FNI9-v1.1(与FNI9相同的序列)、FNI9-v8.1、FNI9-v4.1、FNI9-v9.1和FNI9-v13.8对一组季节性IAV和IBV的体外中和活性(被报告为EC50,以μg/ml为单位)。在位置245处携带糖基化的毒株如图所指示。图97B示出了FNI9-v1.1和FNI9-v8.1对一组季节性第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为ng/ml)。

[0104] 图98A至图98G示出了如通过MUNANA测定法测量的某些FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制。测试了FNI9-v4.1、FNI9-v4.7、FNI9-v5.1、FNI9-v5.7、FNI9-v6.1、FNI9-v6.7、FNI9-v7.1、FNI9-v7.7、FNI9-v8.7、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对A/越南/1203/2004中的N1(图98A)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(图98B)、A/瑞士/8060/2017中的N2(图98C)、A/南澳大利亚/34/2019中的N2(图98D)、A/中国香港/2671/2019中的N2(图98E)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(+Gly245)(图98F)和A/中国香港/56/2015中的N9(图98G)的唾液酸酶活性抑制。

[0105] 图99A至图99G示出了如通过MUNANA测定法测量的某些FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制。测试了FNI9-v6.1、FNI9-v9.1、FNI9-v9.7、FNI9-v11.1、FNI9-v11.7、FNI9-v12.1和FNI9-v12.7抗体。FNI9、FNI9-v1.1(与FNI9相同,与变体一起生产以控制生产条件的任何变化)和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对A/越南/1203/2004中的N1(图99A)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(图99B)、A/瑞士/8060/2017中的N2(图99C)、A/南澳大利亚/34/2019中的N2(图99D)、A/中国香港/2671/2019中的N2(图99E)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(+Gly245)(图99F)和A/中国香港/56/2015中的N9(图99G)的唾液酸酶活性抑制。

[0106] 图100A至图100F示出了如通过ELLA测量的某些FNI9变体对所指示的假病毒衍生NA的唾液酸酶活性的体外抑制。测试了FNI9-v4.1、FNI9-v4.7、FNI9-v5.1、FNI9-v5.7、

FNI9-v6.1、FNI9-v6.7、FNI9-v7.1、FNI9-v7.7、FNI9-v8.7、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对H7N3 A/Ck/Ja/2017(图100A)、H5N6 A/Ck/苏州/2019(图100B)、H5N6 A/杭州/2021(图100C)、H7N7 A/Ck/621572/03(图100D)、H5N8 A/Ck/俄罗斯/2020(图100E)和H7N9 A/安徽/1/2013(图100F)的唾液酸酶活性抑制。

[0107] 图101A至图101F示出了如通过ELLA测量的某些FNI9变体对所指示的假病毒衍生NA的唾液酸酶活性的体外抑制。测试了FNI9-v6.1、FNI9-v9.1、FNI9-v9.7、FNI9-v11.1、FNI9-v11.7、FNI9-v12.1和FNI9-v12.7抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对H7N3 A/Ck/Ja/2017(图101A)、H5N6 A/Ck/苏州/2019(图101B)、H5N6 A/杭州/2021(图101C)、H7N7 A/Ck/621572/03(图101D)、H5N8 A/Ck/俄罗斯/2020(图101E)和H7N9 A/安徽/1/2013(图101F)的唾液酸酶活性抑制。

[0108] 图102A至图102B示出了通过核蛋白(NP)染色测量的FNI9、FNI19-v3、FNI17-v19和FNI17-v19-LS对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外中和活性。矩形指示在位置245处携带糖基化的第II组(H3N2)NA。还测量了比较物抗体1G01的中和活性。

[0109] 图103A至图103B示出了通过非线性回归确定的FNI9-v1.1或FNI9-v8.1对一组第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的中值EC90值(以μg/ml为单位报告)的估计。

[0110] 图104总结了FNI9-v8.1对一组第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV(具有或没有聚糖-245)和IBV NA的中值EC90、25％数据处的组织调整EC90和5％数据处的组织调整EC90。

[0111] 图105示出了FNI9对H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016的体外中和活性(以μg/ml为单位报告)。还测量了抗HA比较物抗体FM08-LS的中和活性。

[0112] 图106示出了FNI9和FNI17-v19对H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016的体外中和活性的剂量反应曲线。

[0113] 图107示出了来自在感染H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016之前用FNI9-v1.1、FNI9-v8.1或FNI17-v19处理的BALB/c小鼠的肺匀浆中的病毒滴度。以3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg、0.1mg/kg或0.03mg/kg施用抗体。还在用OSE(10mg/kg或20mg/kg)或抗HA比较物抗体FM08_LS处理的小鼠中测量了病毒滴度。在感染后四天收集肺组织。滴度被报告为每克组织的50％组织培养感染剂量的对数(Log TCID50/g)。

[0114] 图108A至图108D示出了来自在感染IAV或IBV之前用FNI9-v8.1处理的BALB/c小鼠的肺匀浆中的病毒滴度。在感染H1N1 A/波多黎各/8/34(图108A)、H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016(图108B)、B/维多利亚/504/2000(山形县)(图108C)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)(图108D)之前以3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg或0.1mg/kg施用抗体。还在用OSE(10mg/kg或20mg/kg)或抗HA比较物抗体FM08_LS处理的小鼠中测量了病毒滴度。在感染后四天收集肺组织。滴度被报告为每克组织的50％组织培养感染剂量的对数(Log TCID50/g)。

[0115] 图109A至图109D示出了来自在感染IAV或IBV之前用FNI9-v8.1处理的BALB/c小鼠的肺匀浆中的病毒滴度。在感染H1N1 A/波多黎各/8/34(图109A)、H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016(图109B)、B/维多利亚/504/2000(山形县)(图109C)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)(图109D)之前以3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg或0.1mg/kg施用抗体。滴度被报告为每克组织的空斑形成单位的对数(Log pfu/g)。

[0116] 图110A和图110B示出了FNI9-v8.1对一组H1N1 IAV、H3N2 IAV(在位置245处具有或没有糖基化位点)和IBV的体外中和数据。

[0117] 图111总结了FNI9-v8.1对所有毒株H1N1 IAV、H3N2 IAV、H3N2IAV(在位置245处没有糖基化位点)、H3N2 IAV(在位置245处具有糖基化位点)和IBV的体外中和统计信息。

[0118] 图112A至图112B示出了如通过核蛋白(NP)染色测量的FNI9-v8.1、FNI17和FNI19对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外中和活性。还测量了比较物抗体1G01的中和活性。对于每个毒株,示出了两个独立实验的数据。

[0119] 图113A至图113D示出了报告FM08和FNI9-v8.1对H1N1 A/波多黎各/34(图113A和图113B)和H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020(图113C和图113D)的组合活性的体外中和矩阵(图113A和图113C)和协同图(图113B和图113D)。

[0120] 图114A至图114B示出了在存在豚鼠补体的情况下由FNI9-v8.1-LS(包含Fc中的M428L和N434S突变)介导的对感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的MDCK-LN细胞的补体依赖性细胞毒作用(CDC)。还测量了抗HA比较物抗体FM08_LS和Fc沉默阴性对照FNI9-v8.1-GRLR的CDC。CDC在图114A中被报告为抗体依赖性杀伤%,并且在图114B中被报告为曲线下面积。

[0121] 图115A至图115B示出了在存在人自然杀伤细胞的情况下由FNI9-v8.1-LS介导的对感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的A549细胞的抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)。还测量了抗HA比较物抗体FM08_LS和Fc沉默阴性对照FNI9-v8.1-GRLR的ADCC。ADCC在图115A中被报告为抗体依赖性杀伤%,并且在图115B中被报告为曲线下面积。

[0122] 图116A至图116B示出了使用外周血单核细胞(PBMC)作为单核细胞源并使用表达N2 NA的PKH67标记ExpiCHO细胞作为靶细胞,通过FNI9-v8.1-LS的系列稀释进行的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。y轴指示对CD14和PKH67双阳性的单核细胞的百分比。对于所有测定法,使用FNI9-v8.1-GRLR作为Fc沉默阴性对照,并且结果示出为剂量反应曲线(a、b、c)和表示n=1(d、e)或n=2(f)实验重复(黑点)的曲线下面积(AUC)(d、e、f)。

[0123] 图117A至图117D示出了第0天的抗体浓度和与图108A至图108D相关的体内病毒肺滴度之间的相关性。用H1N1 A/波多黎各/8/34、H3N2A/新加坡/2016、B/维多利亚/504/2000和B/布里斯班/60/2008病毒感染后4天的肺部感染病毒滴度被绘制为感染前(第0天)的血清mAb浓度的函数。

[0124] 图118A至图118F示出了如通过ELLA测量的由抗NA mAb对在哺乳动物细胞中瞬时表达的在位置245处不携带(-)或携带(+)聚糖的NA起到的酶活性抑制。

[0125] 图119A至图119D示出了如通过ELLA测量的由抗NA mAb对代表高致病性甲型禽流感病毒(HPAIV)的、携带N3、N6、N7、N8或N9的仅基于NA的假型起到的酶活性抑制(IC50值),这些病毒先前报道过会感染人(Ke等人,2017;Li等人,2022;WHO,2021)。附加数据在图133A至图133C中示出。

[0126] 图120A至图120D示出了如通过MUNANA测定法测量的抗NA抗体对第1组(N1)和第2组(N2)IAV(A、B)以及山形县和维多利亚谱系IBV(C、D)NA抗原的NA酶活性抑制。

[0127] 图121A至图121H示出了FNI抗体的关键接触残基的保守性分析。从2000年至2022年每年关键NA接触残基(R118、D151、E227、R292和R371)的平均保守性百分比(红线)。指示了每年分析的序列数(黑色条形)。H1N1、H3N2和IBV分离株是人源的,而对于H5N1、H7N9、H5N8和H5N6,包括来自所有动物宿主的病毒。

[0128] 图122A至图122E示出了与NA结合的FNI抗体的详细结构分析。提供的数据:(A)FNI9:NA(坦桑尼亚/2010)的静态表位分析被描绘为热图,其阴影标度是MOE kcal/mol能量,密度图按表位残基并按互补位残基压缩了所有能量。总能量为-230MOE kcal/mol。也按相同方式描绘了FNI17:NA(坦桑尼亚/2010)的静态表位分析。总能量为-240MOE kcal/mol。(B)FNI9:NA(坦桑尼亚/2010)的动态表位-互补位分析,其如(A)中那样进行描绘,不同的是能量为使用与上文针对(A)所述的相同的MOE能量分析的总计11.5μs全原子MD模拟(每10ns一次)的平均值。总能量为-370MOE kcal/mol。(C)表位-互补位相互作用的占有百分比反映了(在5Å内)存在接触的11.5μs MD的分数。总占有率为5600(%)。FNI17:NA的表位-互补位相互作用的总占有率为4700(%)。轮廓框描绘了在FNI9动态互补位分析中存在而在FNI17动态互补位分析中不存在的表位残基-互补位残基接触。(D)FNI9和FNI17表位相互作用能量的比较,其中黑星描绘了存在于FNI9而不是FNI17中的接触,白星描绘了存在于FNI17而不是FNI9中的接触。(E)FNI9和FNI17互补位相互作用能量的比较,其中黑星和白星与(D)中一样。

[0129] 图123示出了流感病毒株和所指示的抗NA抗体的中和EC50的列表。

[0130] 图124示出了来自季节性病毒的NA抗原的列表,这些抗原具有或没有聚糖245并且具有通过SPR测得的与某些FNI抗体Fab和1G01 Fab的对应亲和力(KD)。

[0131] 图125A至图125B示出了FNI9-v5(图125A)和FNI9-v8.1(图125B)在施用后约60天内在SCID tg32小鼠中的浓度随时间变化的体内药代动力学(以μg/ml形式报告)。抗体被表达为在Fc中具有M428L和N434S(“LS”,也称为“MLNS”)突变的重组IgG1m3。

[0132] 图126A至图126E总结了FNI9-v5-LS(“FNI9-v5-rIgG1-LS”)和FNI9-v8.1-LS(“FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS”)在SCID tg32小鼠中的体内药代动力学数据。示出了五只单独动物的数据。

[0133] 图127A至图127C总结了使用FNI9-v8.1(缀合至Alexa Fluor 488)对一组人体组织进行组织交叉反应(TCR)研究的结果,如使用免疫组织化学染色测量的。

[0134] 图128A至图128C示出了如通过ELLA测量的由抗NA mAb FNI9-v8.1、FNI17-v19和FNI19-v3对代表地方性低致病性甲型禽流感病毒(LPAIV)的、携带N3、N4或N5的仅基于NA的假型起到的神经氨酸苷酶酶活性抑制。1G01也作为对照抗体进行测试。

[0135] 图129A至图129F示出了如通过MUNANA测定法测量的由抗NA mAb FNI9-v8.1、FNI17-v19和FNI19-v3对代表在猪、狗和海豹体内循环的地方性低致病性哺乳动物IAV的、携带N1、N2、N6或N8的仅基于NA的假型起到的神经氨酸苷酶酶活性抑制。1G01也作为对照抗体进行测试。

[0136] 图130A至图130G示出了如通过MUNANA测定法测量的对一组携带具有突变的NA的假型的神经氨酸苷酶酶活性抑制,这些突变通过体外耐药性研究被鉴定为能够降低但不消除FNI mAb的结合或活性。

[0137] 图131A至图131B示出了如通过MUNANA测定法测量的对一组携带具有突变的NA的假型的神经氨酸苷酶酶活性抑制,这些突变通过深度突变扫描(DMS)被鉴定为能够降低但不消除FNI mAb的结合或活性。

[0138] 图132A至图132C示出了在用抗NA抗体、抗HA抗体或1.1比率的抗NA抗体和抗HA抗体两者之一预处理后感染了H3N2 A/中国香港/1/68(图132A和图132C)或H1N1 A/波多黎

各/8/34(图132B)的BALB/c小鼠(n＝6)在感染后第0天至第14天的体重减轻(被报告为曲线下面积)。抗体是鼠源化的(在图132A中用“mu”前缀指示)或人的(图132B和图132C)。抗NA抗体包括FNI9-v8.1-LS、FNI17-LS和FNI19-v3-LS,并且所使用的抗HA抗体是FM08。以0.25mg/kg或0.125mg/kg的剂量施用抗体。还测量了用媒介物对照预处理的小鼠的体重减轻。

具体实施方式

[0139] 本文提供了可与诸如甲型流感病毒(IAV)和乙型流感病毒(IBV)等各种流感病毒结合并且有效中和由这些流感病毒引起的感染的抗体和抗原结合片段。还提供了编码抗体和抗原结合片段的多核苷酸、载体、宿主细胞和相关组合物,以及使用抗体、核酸、载体、宿主细胞和相关组合物治疗(例如,减少、延迟、消除或预防)受试者的流感病毒感染和/或制造用于治疗受试者的流感感染的药物的方法。

[0140] 如本发明示例中所教导的,鉴定了许多克隆相关抗体,这些抗体与多种IAV和IBV NA结合,并对IAV和IBV病毒具有中和/抑制功能。某些抗体(包括“FNI9”)与抗体“1G01”相比具有改善的功能(由Stadlbauer等人描述(Science 366(6464):499-504(2019))。所公开的抗体和抗原结合片段包括从抗体FNI9工程化的变体。在一些实施方案中,与FNI9(或其抗原结合片段)相比,抗体或抗原结合片段具有至少基本上等同、等同或改善的结合广度;体外生产滴度;神经氨酸苷酶抑制;和/或中和效力。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段具有通过UHPLC-SEC没有观察到显著的聚集(<3％高分子量种类)或断裂(<3％低分子量种类)的尺寸排阻色谱(SEC)特征。与亲本抗体FNI9相比,本文所公开的某些变体抗体(例如,“FNI9-v8.1”)具有一种或多种改善的功能。

[0141] 生成抗体的序列变体并对这些序列变体进行表征。某些公开的实施方案涉及此类抗体、其抗原结合片段以及相关的组合物和用途。

[0142] 在更详细地阐述本公开之前,提供本文使用的某些术语的定义可能有助于理解本公开。贯穿本公开阐述了附加的定义。

[0143] 在本说明书中,任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应被理解为包括所陈述的范围内的任何整数的值,以及在适当时其分数(诸如整数的十分之一和百分之一),除非另外指明。另外,本文所陈述的与诸如聚合物亚基、大小或厚度等任何物理特征相关的任何数量范围应被理解为包括所陈述的范围内的任何整数,除非另外指明。如本文所用,术语“约”意指所指示的范围、值或结构的±20％,除非另外指明。应当理解,如本文所用,术语“一种”和“一个”是指所列举的组分中的“一种或多种(一个或多个)”。替代方案(例如,“或”)的使用应被理解为意指替代方案中的一个、两个或它们的任何组合。如本文所用,术语“包括”、“具有”和“包含”是同义使用的,这些术语和其变体旨在被解释为非限制性的。

[0144] “任选的”或“任选地”意指随后描述的要素、组分、事件或情形可发生或可不发生,并且该描述包括其中该要素、组分、事件或情形发生的情况以及其中该要素、组分、事件或情形不发生的情况。

[0145] 此外,应当理解,本申请公开了衍生自本文所述的结构和亚基的各种组合的单独构建体或构建体组,其公开程度与每个构建体或构建体组被单独阐述的程度相同。因此,特定结构或特定亚基的选择在本公开的范围内。

[0146] 术语“基本上由…组成”不等同于“包括”,并且是指权利要求的指定材料或步骤,

或指不会实质上影响所要求保护的主题的基本特性的材料或步骤。例如,当结构域、区域、模块或蛋白质的氨基酸序列包括延伸、缺失、突变或它们的组合(例如,在氨基末端或羧基末端或结构域之间的氨基酸)时,蛋白质结构域、区域或模块(例如,结合结构域)或蛋白质"基本上由"特定氨基酸序列组成,这些延伸、缺失、突变或它们的组合总共占结构域、区域、模块或蛋白质的长度的最多20%(例如,最多15%、10%、8%、6%、5%、4%、3%、2%或1%)并且基本上不影响(即,不会使活性降低超过50%,诸如不超过40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或1%)结构域、区域、模块或蛋白质的活性(例如,结合蛋白的靶结合亲和力)。

[0147] 如本文所用,"氨基酸"是指天然存在的或合成的氨基酸,以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如,羟基脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即,与氢、羧基、氨基和R基团结合的α-碳)的化合物,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸甲基锍。此类类似物具有经修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或经修饰的肽骨架,但是保留了与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的通式化学结构不同的结构,但是以与天然存在的氨基酸相似的方式起作用的化学化合物。

[0148] 如本文所用,"突变"是指核酸分子或多肽分子的序列分别与参考或野生型核酸分子或多肽分子相比的变化。突变可引起序列的若干不同类型变化,包括核苷酸或氨基酸的置换、插入或缺失。

[0149] "保守置换"是指不显著影响或改变特定蛋白质的结合特性的氨基酸置换。一般来讲,保守置换是其中被置换的氨基酸残基被替换为具有相似侧链的氨基酸残基的置换。保守置换包括在以下组之一中发现的置换:第1组:丙氨酸(Ala或A)、甘氨酸(Gly或G)、丝氨酸(Ser或S)、苏氨酸(Thr或T);第2组:天冬氨酸(Asp或D)、谷氨酸(Glu或Z);第3组:天冬酰胺(Asn或N)、谷氨酰胺(Gln或Q);第4组:精氨酸(Arg或R)、赖氨酸(Lys或K)、组氨酸(His或H);第5组:异亮氨酸(Ile或I)、亮氨酸(Leu或L)、甲硫氨酸(Met或M)、缬氨酸(Val或V);以及第6组:苯丙氨酸(Phe或F)、酪氨酸(Tyr或Y)、色氨酸(Trp或W)。附加地或另选地,氨基酸可根据相似功能、化学结构或组成(例如,酸性、碱性、脂族、芳族或含硫)被分组成保守置换组。例如,出于置换的目的,脂族分组可包括Gly、Ala、Val、Leu和Ile。其他保守置换组包括:含硫:Met和半胱氨酸(Cys或C);酸性:Asp、Glu、Asn和Gln;小脂族、非极性或略有极性的残基:Ala、Ser、Thr、Pro和Gly;极性、带负电荷的残基和其酰胺:Asp、Asn、Glu和Gln;极性、带正电荷的残基:His、Arg和Lys;大脂族、非极性残基:Met、Leu、Ile、Val和Cys;以及大芳族残基:Phe、Tyr和Trp。附加信息可见于Creighton(1984)Proteins,W.H.Freeman and Company。

[0150] 如本文所用,"蛋白质"或"多肽"是指氨基酸残基的聚合物。蛋白质适用于天然存在的氨基酸聚合物,以及其中一个或多个氨基酸残基是对应的天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,及非天然存在的氨基酸聚合物。还考虑了本公开的蛋白质、肽和多肽的变体。在某些实施方案中,变体蛋白、肽和多肽包含与如本文所述的定义或参考氨基酸序列的氨基酸序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.9%相同的氨基酸序列或由其组成。

[0151] 如由多核苷酸序列编码的,本公开的任何多肽(例如,VH、VL、抗体重链、抗体轻链)

可包含“信号肽”(也称为前导序列、前导肽或转运肽)。信号肽将新合成的多肽靶向其在细胞内部或外部的适当位置。信号肽可在定位或分泌完成期间或完成后从多肽中全部或部分去除。具有信号肽的多肽可被称为“前蛋白”,并且其信号肽被去除的多肽可被称为“成熟”蛋白或多肽。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是成熟蛋白或前蛋白。

[0152] “核酸分子”或“多核苷酸”或“多核酸”是指包含共价连接的核苷酸的聚合物化合物,其可由天然亚基(例如,嘌呤或嘧啶碱基)或非天然亚基(例如,吗啉环)组成。嘌呤碱基包括腺嘌呤、鸟嘌呤、次黄嘌呤和黄嘌呤,并且嘧啶碱基包括尿嘧啶、胸腺嘧啶和胞嘧啶。核酸分子包括:聚核糖核酸(RNA),该RNA包括mRNA、微RNA、siRNA、病毒基因组RNA和合成RNA;以及聚脱氧核糖核酸(DNA,也称为脱氧核糖核酸),该DNA包括cDNA、基因组DNA和合成DNA,其中的任一者可以是单链或双链的。如果是单链的,则核酸分子可以是编码链或非编码(反义)链。编码氨基酸序列的核酸分子包括编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。核苷酸序列的一些型式还可包含内含子,其程度使得内含子将通过共转录或转录后机制被去除。换句话讲,由于遗传密码的冗余或简并,或通过剪接,不同的核苷酸序列可编码相同的氨基酸序列。

[0153] 在一些实施方案中,该多核苷酸包含经修饰的核苷、cap-1结构、cap-2结构或它们的任何组合。在某些实施方案中,该多核苷酸包含假尿苷、N6-甲基腺苷、5-甲基胞苷、2-硫代尿苷或它们的任何组合。在一些实施方案中,该假尿苷包括N1-甲基假尿苷。这些特征是本领域已知的并且在以下文献中有所讨论:例如,Zhang等人,Front.Immunol.,DOI=10.3389/fimmu.2019.00594(2019);Eyler等人,PNAS116(46):23068-23071;DOI:10.1073/pnas.1821754116(2019);Nance和Meier,ACS Cent.Sci.2021,7,5,748-756;doi.org/10.1021/acscentsci.lc00197(2021),以及van Hoecke和Roose,J.Translational Med 17:54(2019);https://doi.org/10.1186/sl2967-019-1804-8,其中经修饰的核苷和mRNA特征以引用方式并入本文。还考虑了本公开的核酸分子的变体。变体核酸分子与如本文所述的定义或参考多核苷酸的核酸分子至少70%、75%、80%、85%、90%,优选地95%、96%、97%、98%、99%或99.9%相同(即,至少70%、至少75%、至少80%或至少90%,优选地至少95%、96%、97%、98%、99%或99.9%相同),或者在约65至68℃下的0.015M氯化钠、0.0015M柠檬酸钠或约42℃下的0.015M氯化钠、0.0015M柠檬酸钠和50%甲酰胺的严格杂交条件下与多核苷酸杂交。核酸分子变体保留编码其结合结构域的能力,该结合结构域具有本文所述的功能,诸如结合靶分子。

[0154] “序列同一性百分比”是指如通过比较序列所确定的两个或多个序列之间的关系。确定序列同一性的优选方法被设计成使所比较的序列之间达到最佳匹配。例如,出于最佳比较目的,将序列进行比对(例如,可在第一氨基酸或核酸序列和第二氨基酸或核酸序列中的一者或两者中引入空位以进行最佳比对)。此外,出于比较目的,可忽略非同源序列。除非另外指明,否则本文提及的序列同一性百分比是在参考序列的长度上计算的。用于确定序列同一性和相似性的方法可见于公开可用的计算机程序。可使用BLAST程序(例如,BLAST 2.0、BLASTP、BLASTN或BLASTX)进行序列比对和同一性百分比计算。BLAST程序中使用的数学算法可见于Altschul等人,Nucleic Acids Res.25:3389-3402,1997。其他示例包括Clustal W、MAFFT、Clustal Omega、AlignMe、Praline、GAP、BESTFIT、Needle(EMBOSS)、Stretcher(EMBOSS)、GGEARCH2SEQ、Water(EMBOSS)、Matcher(EMBOSS)、LALIGN和

SSEARCH2SEQ。全局比对算法(诸如Needleman和Wunsch算法)可用于在其整个长度上比对两个序列,使匹配数最大化并使空位数最小化。可使用默认值。

[0155] 为了生成两个氨基酸序列的相似性得分,可使用打分矩阵,其为一些不相同的氨基酸(例如,保守氨基酸置换、具有相似理化性质的氨基酸和/或在直系同源物、同源物或旁系同源物中表现出频繁置换的氨基酸)分配正分。打分矩阵的非限制性示例包括PAM30、PAM70、PAM250、BLOSUM45、BLOSUM50、BLOUM62、BLOSUM80和BLOSUM90。

[0156] 在本公开的上下文中,应当理解,在使用序列分析软件进行分析的情况下,分析的结果基于所引用的程序的"默认值"。"默认值"意指软件首次初始化时最初加载的值或参数的任何集合。

[0157] 术语"分离的"意指将材料从其原始环境(例如,如果材料是天然存在的话,天然环境)中去除。例如,存在于活动物中的天然存在的核酸或多肽不是分离的,但与天然系统中的一些或全部共存材料分离的相同核酸或多肽是分离的。此类核酸可以是载体的一部分,和/或此类核酸或多肽可以是组合物(例如,细胞裂解物)的一部分,并且仍然是分离的,因为此类载体或组合物不是该核酸或多肽的天然环境的一部分。在一些实施方案中,"分离的"还可描述在人体外的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。在某些实施方案中,提供了一种分离的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。

[0158] 术语"基因"意指参与产生多肽链的DNA或RNA区段;在某些上下文中,基因包含编码区之前和之后的区域(例如,5'非翻译区(UTR)和3'UTR)以及单独编码区段(外显子)之间的间插序列(内含子)。

[0159] "功能变体"是指与本公开的亲本或参考化合物在结构上相似或基本上在结构上相似但在组成上略有不同(例如,一个碱基、原子或官能团不同、被添加或被去除)的多肽或多核苷酸,使得多肽或编码的多肽能够以至少50%的效率,优选地至少55%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%的亲本多肽活性水平执行亲本多肽的至少一种功能。在一些实施方案中,编码的多肽或多肽能够以至少55%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.9%或至少100%的亲本多肽活性水平执行亲本多肽的至少一种功能。换句话讲,当本公开的多肽或编码的多肽的功能变体在所选的测定法(诸如用于测量结合亲和力的测定法(例如,测量缔合(Ka)或解离(K_D)常数的Biacore®或四聚体染色))中与亲本或参考多肽相比显示出不超过50%的性能降低时,该功能变体具有"相似结合"、"相似亲和力"或"相似活性"。

[0160] 如本文所用,"功能部分"或"功能片段"是指仅包含亲本或参考化合物的结构域、部分或片段的多肽或多核苷酸,并且多肽或编码的多肽保留与亲本或参考化合物的结构域、部分或片段相关的至少50%活性,优选地至少55%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%的亲本多肽活性水平,或提供生物学益处(例如,效应子功能)。在一些实施方案中,多肽或编码的多肽保留至少55%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或至少99.9%或至少100%的亲本多肽活性水平。当本公开的多肽或编码的多肽的"功能部分"或"功能片段"在所选的测定法中与亲本或参考多肽相比显示出不超过50%的性能降低(优选地不超过20%或10%,或在亲和力方面与亲本或参考相比不超过对数差

异)时,该功能部分或片段具有“相似结合”或“相似活性”。

[0161] 如本文所用,术语“工程化”、“重组”或“非天然”是指包含至少一种基因改变或已经通过引入外源或异源核酸分子来修饰的生物体、微生物、细胞、核酸分子或载体,其中此类改变或修饰通过基因工程(即,人为干预)引入。基因改变包括例如引入编码功能RNA、蛋白质、融合蛋白或酶的可表达的核酸分子的修饰,或其他核酸分子添加、缺失、置换或细胞的遗传物质的其他功能性破坏。附加修饰包括例如非编码调控区,其中修饰改变多核苷酸、基因或操纵子的表达。

[0162] 如本文所用,“异源”或“非内源”或“外源”是指对宿主细胞或受试者而言不是天然的任何基因、蛋白质、化合物、核酸分子或活性,或对宿主细胞或受试者而言是天然的但已改变的任何基因、蛋白质、化合物、核酸分子或活性。异源、非内源或外源包括已突变或以其他方式改变使得结构、活性或两者在天然的与改变的基因、蛋白质、化合物或核酸分子之间不同的基因、蛋白质、化合物或核酸分子。在某些实施方案中,异源、非内源或外源基因、蛋白质或核酸分子(例如,受体、配体等)对于宿主细胞或受试者而言可能不是内源的,而编码此类基因、蛋白质或核酸分子的核酸可能已经通过缀合、转化、转染、电穿孔等添加到宿主细胞中,其中添加的核酸分子可整合到宿主细胞基因组中或者可作为染色体外遗传物质存在(例如,作为质粒或其他自我复制载体)。术语“同源”或“同源物”是指发现于或源自宿主细胞、物种或品系的基因、蛋白质、化合物、核酸分子或活性。例如,编码多肽的异源或外源多核苷酸或基因可与天然多核苷酸或基因同源并且编码同源多肽或活性,但该多核苷酸或多肽可具有改变的结构、序列、表达水平或它们的任何组合。非内源多核苷酸或基因以及编码的多肽或活性可来自相同物种、不同物种或它们的组合。

[0163] 在某些实施方案中,如果对宿主细胞而言天然的核酸分子或其部分已经改变或突变,则其将被视为对宿主细胞而言是异源的,或者如果对宿主细胞而言天然的核酸分子已经用异源表达控制序列改变或已经用通常不与对宿主细胞而言天然的核酸分子相关的内源表达控制序列改变,则其可被视为是异源的。此外,术语“异源”可指对宿主细胞而言不同、改变或并非内源的生物活性。如本文所述,多于一种异源核酸分子可作为单独的核酸分子、作为多个单独控制的基因、作为多顺反子核酸分子、作为编码融合蛋白的单个核酸分子或它们的任何组合引入到宿主细胞中。

[0164] 如本文所用,术语“内源”或“天然”是指通常存在于宿主细胞或受试者中的多核苷酸、基因、蛋白质、化合物、分子或活性。

[0165] 如本文所用,术语“表达”是指基于核酸分子(诸如基因)的编码序列产生多肽的过程。该过程可包括转录、转录后控制、转录后修饰、翻译、翻译后控制、翻译后修饰或它们的任何组合。表达的核酸分子通常可操作地连接至表达控制序列(例如,启动子)。

[0166] 术语“可操作地连接”是指单个核酸片段上两个或更多个核酸分子的缔合,使得一者的功能受另一者影响。例如,当启动子能够影响编码序列的表达(即,编码序列在启动子的转录控制之下)时,该启动子与该编码序列可操作地连接。“未连接”意指相关遗传元件彼此不紧密相关并且一者的功能不影响另一者。

[0167] 如本文所述,多于一种异源核酸分子可作为单独的核酸分子、作为多个单独控制的基因、作为多顺反子核酸分子、作为编码蛋白质(例如,抗体的重链)的单个核酸分子或它们的任何组合引入到宿主细胞中。当两种或更多种异源核酸分子引入到宿主细胞中时,应

当理解,两种或更多种异源核酸分子可作为单个核酸分子(例如,在单个载体上)引入、在单独的载体上引入、在单个位点或多个位点处整合到宿主染色体中或它们的任何组合。所引用的异源核酸分子或蛋白质活性的数量是指编码核酸分子的数量或蛋白质活性的数量,而非引入到宿主细胞中的单独核酸分子的数量。

[0168] 术语"构建体"是指包含重组核酸分子的任何多核苷酸(或者当上下文清楚地指示时,本公开的融合蛋白)。(多核苷酸)构建体可存在于载体(例如,细菌载体、病毒载体)中或者可整合到基因组中。"载体"是能够运输另一种核酸分子的核酸分子。载体可以是例如质粒、粘粒、病毒、RNA载体或是可包括染色体、非染色体、半合成或合成核酸分子的线性或环状DNA或RNA分子。本公开的载体还包括转座子系统(例如,睡美人(Sleeping Beauty),参见例如Geurts等人,Mol.Ther.8:108,2003:Mátés等人,Nat.Genet.41.753,2009)。示例性载体是能够自主复制的载体(游离型载体)、能够将多核苷酸递送到细胞基因组的载体(例如,病毒载体)或能够表达其所连接的核酸分子的载体(表达载体)。

[0169] 如本文所用,"表达载体"或"载体"是指包含核酸分子的DNA构建体,该核酸分子可操作地连接至能够实现该核酸分子在合适宿主中表达的合适控制序列。此类控制序列包括实现转录的启动子、控制此类转录的任选的操纵子序列、编码合适的mRNA核糖体结合位点的序列以及控制转录和翻译的终止的序列。载体可以是质粒、噬菌体颗粒、病毒或仅仅是潜在基因组插入物。一旦转化到合适的宿主中,载体就可独立于宿主基因组复制并起作用,或者在一些情况下,可整合到基因组自身中或将载体中所包含的多核苷酸在没有载体序列的情况下递送到基因组中。在本说明书中,"质粒"、"表达质粒"、"病毒"和"载体"通常可互换使用。

[0170] 在将核酸分子插入到细胞中的上下文中,术语"引入"意指"转染"、"转化"或"转导"并且包括提及将核酸分子掺入到真核或原核细胞中,其中核酸分子可掺入到细胞的基因组(例如,染色体、质粒、质体或线粒体DNA)中,转化成自主复制子,或瞬时表达(例如,转染的mRNA)。

[0171] 在某些实施方案中,本公开的多核苷酸可操作地连接至载体的某些元件。例如,实现多核苷酸序列所连接的编码序列的表达和加工所需的该多核苷酸序列可操作地连接。表达控制序列可包括适当的转录起始、终止、启动子和增强子序列;有效RNA加工信号,诸如剪接和聚腺苷酸化信号;稳定细胞质mRNA的序列;增强翻译效率的序列(即,Kozak共有序列);增强蛋白质稳定性的序列;以及可能的增强蛋白质分泌的序列。如果表达控制序列与感兴趣的基因和以反式作用或隔一定距离作用以控制感兴趣的基因的表达控制序列邻接,则表达控制序列可操作地连接。

[0172] 在某些实施方案中,载体包括质粒载体或病毒载体(例如,慢病毒载体或γ-逆转录病毒载体)。病毒载体包括逆转录病毒;腺病毒;细小病毒(例如,腺相关病毒);冠状病毒;负链RNA病毒,诸如正粘病毒(例如,流感病毒)、弹状病毒(例如,狂犬病和水疱性口炎病毒)、副粘病毒(例如,麻疹和仙台病毒);正链RNA病毒,诸如小核糖核酸病毒和甲病毒;以及双链DNA病毒,包括腺病毒、疱疹病毒(例如,单纯疱疹病毒1型和2型、爱泼斯坦-巴尔病毒、巨细胞病毒)和痘病毒(例如,牛痘、鸡痘和金丝雀痘)。其他病毒包括例如诺瓦克病毒、披膜病毒、黄病毒、呼肠孤病毒、乳多空病毒、嗜肝DNA病毒和肝炎病毒。逆转录病毒的示例包括禽白血病-肉瘤、哺乳动物C型病毒、B型病毒、D型病毒、HTLV-BLV群、慢病毒、泡沫病毒

(Coffin,J.M.,Retroviridae:The viruses and their replication,载于Fundamental Virology,第三版,B.N.Fields等人编辑,Lippincott-Raven Publishers,Philadelphia,1996)。

[0173] “逆转录病毒”是具有RNA基因组的病毒,该RNA基因组使用逆转录酶逆转录成DNA,随后逆转录的DNA掺入到宿主细胞基因组中。“γ逆转录病毒”是指逆转录病毒科的一个属。γ逆转录病毒的示例包括小鼠干细胞病毒、鼠白血病病毒、猫白血病病毒、猫肉瘤病毒和禽网状内皮组织增生病毒。

[0174] “慢病毒载体”包括用于基因递送的基于HIV的慢病毒载体,其可以是整合或非整合的,具有相对较大的包装容量,并且可转导一系列不同细胞类型。慢病毒载体通常是在将三种(包装、包膜和转移)或更多种质粒瞬时转染到生产细胞中之后生成的。类似于HIV,慢病毒载体通过病毒表面糖蛋白与细胞表面上受体的相互作用进入靶细胞。在进入时,病毒RNA经历逆转录,其由病毒逆转录酶复合物介导。逆转录的产物是双链线性病毒DNA,其是病毒整合到受感染细胞DNA中的底物。

[0175] 在某些实施方案中,病毒载体可以是γ逆转录病毒,例如,莫洛尼鼠白血病病毒(MLV)衍生载体。在其他实施方案中,病毒载体可以是更复杂的逆转录病毒衍生的载体,例如,慢病毒衍生的载体。HIV-1衍生的载体属于该类别。其他示例包括衍生自HIV-2、FIV、马传染性贫血病毒、SIV和梅迪-维斯纳病毒(绵羊慢病毒)的慢病毒载体。使用逆转录病毒和慢病毒载体以及包装细胞来用包含转基因的病毒颗粒转导哺乳动物宿主细胞的方法是本领域已知的并且先前已经在例如以下文献中描述:美国专利8,119,772;Walchli等人,PLoS One 6.327930,2011;Zhao等人,J.Immunol.174:4415,2005;Engels等人,Hum.Gene Ther.14:1155,2003;Frecha等人,Mol.Ther.18:1748,2010;以及Verhoeyen等人,Methods Mol.Biol.506.97,2009。逆转录病毒和慢病毒载体构建体和表达系统也是可商购获得的。其他病毒载体也可用于多核苷酸递送,包括DNA病毒载体,包括例如基于腺病毒的载体和基于腺相关病毒(AAV)的载体;衍生自单纯疱疹病毒(HSV)的载体,包括扩增子载体、复制缺陷型HSV和减毒HSV(Krisky等人,Gene Ther.5:1517,1998)。

[0176] 可与本公开的组合物和方法一起使用的其他载体包括衍生自杆状病毒和甲病毒的载体(Jolly,D J.1999.Emerging Viral Vectors,第209-40页,载于Friedmann T.编辑,The Development of Human Gene Therapy.New York:Cold Spring Harbor Lab),或质粒载体(诸如睡美人或其他转座子载体)。

[0177] 当病毒载体基因组包含要在宿主细胞中作为单独的转录物表达的多种多核苷酸时,病毒载体还可包含两种(或更多种)转录物之间的附加序列,从而允许双顺反子或多顺反子表达。用于病毒载体的此类序列的示例包括内部核糖体进入位点(IRES)、弗林蛋白酶裂解位点、病毒2A肽或它们的任何组合。

[0178] 本文进一步描述了质粒载体,包括用于直接向受试者施用的基于DNA的抗体或抗原结合片段编码质粒载体。

[0179] 如本文所用,术语“宿主”是指用异源核酸分子进行遗传修饰以产生感兴趣的多肽(例如,本公开的抗体)的目标细胞或微生物。

[0180] 宿主细胞可包括可接受载体或掺入核酸或表达蛋白质的任何单独细胞或细胞培养物。该术语还涵盖宿主细胞的后代,无论在遗传或表型上相同还是不同。合适的宿主细胞

可取决于载体并且可包括哺乳动物细胞、动物细胞、人细胞、猴细胞、昆虫细胞、酵母细胞和细菌细胞。这些细胞可通过使用病毒载体、经由磷酸钙沉淀的转化、DEAE-葡聚糖、电穿孔、显微注射或其他方法诱导以掺入载体或其他材料。参见例如Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版(Cold Spring Harbor Laboratory,1989)。

[0181] 在流感感染的情况下,“宿主”是指感染了流感的细胞或受试者。

[0182] 如本文所用,“抗原”或“Ag”是指引起免疫应答的免疫原性分子。这种免疫应答可涉及抗体产生、特定免疫活性细胞的激活、补体的激活、抗体依赖性细胞毒作用或它们的任何组合。抗原(免疫原性分子)可以是例如肽、糖肽、多肽、糖聚肽、多核苷酸、多糖、脂质等。显而易见,抗原可被合成、重组产生或衍生自生物样品。可包含一种或多种抗原的示例性生物样品包括组织样品、粪便样品、细胞、生物流体或它们的组合。抗原可由已经修饰或基因工程化以表达抗原的细胞产生。抗原还可存在于流感NA抗原中,诸如存在于病毒粒子中,或在受流感感染的细胞表面上表达或呈现。

[0183] 术语“表位”或“抗原表位”包括由同源结合分子(诸如免疫球蛋白)或其他结合分子、结构域或蛋白质识别且特异性结合的任何分子、结构、氨基酸序列或蛋白质决定簇。表位决定簇通常包含诸如氨基酸或糖侧链等分子的化学活性表面分组,并且可具有特定的三维结构特性以及特定的电荷特性。在抗原是或包含肽或蛋白质的情况下,表位可由连续氨基酸构成(例如,线性表位),或者可由来自因蛋白质折叠而靠近的蛋白质的不同部分或区域的氨基酸构成(例如,不连续或构象表位),或者由不论蛋白质折叠如何均紧密接近的非连续氨基酸构成。

[0184] 抗体、抗原结合片段和组合物

[0185] 在一个方面,本公开提供了一种分离的抗流感神经氨酸苷酶(NA)抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与来自以下的神经氨酸苷酶(NA)结合:(i)甲型流感病毒(IAV),其中该IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者;以及(ii)乙型流感病毒(IBV)。

[0186] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段与NA缔合或联合,而不与样品中的任何其他分子或组分显著缔合或联合。

[0187] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段与IAV NA特异性结合。如本文所用,“特异性结合”是指抗体或抗原结合片段与抗原缔合或联合,其中亲和力或K_a(即,特定结合相互作用的平衡缔合常数,单位为1/M)等于或大于10^5M^{-1}(其等于该缔合反应的缔合速率[K_{on}]与解离速率[K_{off}]的比率),而不与样品中的任何其他分子或组分显著缔合或联合。另选地,亲和力可被定义为特定结合相互作用的平衡解离常数(K_d),单位为M(例如,10^{-5}M至10^{-13}M)。抗体可被分类为“高亲和力”抗体或“低亲和力”抗体。“高亲和力”抗体是指那些K_a为至少10^7M^{-1}、至少10^8M^{-1}、至少10^9M^{-1}、至少$10^{10}M^{-1}$、至少$10^{11}M^{-1}$、至少$10^{12}M^{-1}$或至少$10^{13}M^{-1}$的抗体。“低亲和力”抗体是指那些K_a为至多10^7M^{-1}、至多10^6M^{-1}、至多10^5M^{-1}的抗体。另选地,亲和力可被定义为特定结合相互作用的平衡解离常数(K_d),单位为M(例如,10^{-5}M至10^{-13}M)。

[0188] 已知多种测定法用于鉴定结合特定靶标的本公开的抗体,以及确定结合结构域或结合蛋白亲和力,诸如蛋白质印迹、ELISA(例如,直接、间接或夹心)、分析超速离心、光谱法、生物层干涉测量法和表面等离子体共振(Biacore®)分析(参见例如Scatchard等人,

Ann.N.Y.Acad.Sci.51:660,1949;Wilson,Science 295:2103,2002;Wolff等人,Cancer Res.53:2560,1993;以及美国专利号5,283,173、5,468,614或等同物)。还已知用于评估亲和力或表观亲和力或相对亲和力的测定法。

[0189] 在某些示例中,可通过在宿主细胞中重组表达流感NA抗原(例如,通过转染)并用抗体对(例如,固定的或固定且透化的)宿主细胞进行免疫染色并通过流式细胞术(例如,使用ZE5细胞分析仪(BioRad®)和FlowJo软件(TreeStar))分析结合来确定结合。在一些实施方案中,可通过表达流感NA的细胞与对照(例如,模拟)细胞的差异性抗体染色来定义阳性结合。

[0190] 在一些实施方案中,如使用生物层干涉测量法或通过表面等离子体共振所测量的,本公开的抗体或抗原结合片段与流感NA蛋白结合。

[0191] 可使用IC50或EC50值来描述当前公开的抗体或抗原结合片段的某些特性。在某些实施方案中,IC50是引起所指示的生物或生化功能、活性或应答的半数最大抑制的组合物(例如,抗体)的浓度。在某些实施方案中,EC50是在测定法中提供半数最大应答的组合物的浓度。在一些实施方案中,例如,为了描述当前公开的抗体或抗原结合片段中和流感引起的感染的能力,IC50和EC50可互换使用。

[0192] 在某些实施方案中,本公开的抗体能够中和流感引起的感染。如本文所用,"中和抗体"是可中和,即预防、抑制、减少、阻碍或干扰病原体在宿主中引发和/或延续感染的能力的抗体。术语"中和抗体"和"起中和作用的抗体"在本文中可互换使用。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段能够在体外感染模型和/或体内感染动物模型和/或人体内预防和/或中和流感感染。

[0193] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段是人的、人源化的或嵌合的。

[0194] 在某些实施方案中,(i)第1组IAV NA包括N1、N4、N5和/或N8;并且/或者(ii)第2组IAV NA包括N2、N3、N6、N7和/或N9。在一些实施方案中:(i)N1是来自以下的任何一种或多种的N1:A/加利福尼亚/07/2009、A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、A/加利福尼亚/07/2009Q250S、A/猪/江苏/J004/2018、A/猪/河北/2017、A/斯德哥尔摩/18/2007、A/布里斯班/02/2018、A/密歇根/45/2015、A/密西西比/3/2001、A/荷兰/603/2009、A/荷兰/602/2009、A/越南/1203/2004、A/越南/1203/2004S247R、A/越南/1203/2004I223R、A/越南/1203/2004R152I、A/越南/1203/2004D199N、A/G4/SW/山东/1207/2016、A/G4/SW/河南/SN13/2018、A/水貂/西班牙/2022和A/新泽西/8/1976;(ii)N4来自A/绿头鸭/荷兰/30/2011;(iii)N5来自A/水鸟/韩国/CN5/2009;(iv)N8来自A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011A/鸡/俄罗斯/3-29/2020;(v)N2是来自以下的任何一种或多种的N2:A/华盛顿/01/2007、A/中国香港/68、A/南澳大利亚/34/2019、A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016、A/瑞士/9715293/2013、A/列宁格勒/134/17/57、A/佛罗里达/4/2006、A/荷兰/823/1992、A/挪威/466/2014、A/瑞士/8060/2017、A/德克萨斯/50/2012、A/维多利亚/361/2011、A/中国香港/2671/2019、A/中国香港/2671/2019K431E、A/SW/墨西哥/SG1444/2011、A/坦桑尼亚/205/2010、A/爱知县/2/1968、A/比尔托芬/21793/1972、A/荷兰/233/1982、A/上海/11/1987、A/南昌/933/1995、A/福井/45/2004、A/布里斯班/10/2007、A/塔斯马尼亚/503/2020、A/柬埔寨/2020、A/珀斯/16/2009、A/堪萨斯/14/2017、A/猪/堪萨斯/2021、A/犬/韩国/VC378/2012和A/犬/印第安纳/003018/2016;(vi)N3来自A/加拿大/rv504/2004和A/鸡/哈

利斯科/PAVX17170/2017;(v)N6来自A/猪/安大略/01911/1/99、A/Ck/苏州/j6/2019和A/杭州/01/2021;(vi)N7来自A/荷兰/078/03和A/Ck/621572/03;并且/或者(vii)N9是来自以下的任何一种或多种的N9:A/安徽/2013和A/中国香港/56/2015。在某些实施方案中,IBV NA是来自以下的任何一种或多种的NA:B/Lee/10/1940(祖先);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/马来西亚/3120318925/2013(山形县);B/威斯康星/1/2010(山形县);B/山梨县/166/1998(山形县);B/布里斯班/33/2008;B/科罗拉多/06/2017;B/湖北武汉/158/2009;B/马萨诸塞/02/2012;B/荷兰/234/2011;B/珀斯/211/2001;B/普吉岛/3073/2013;B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/珀斯/211/2011;B/中国香港/05/1972;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/维多利亚/504/2000(山形县);B/维多利亚/2/87;B/维多利亚/2/87谱系;B/山形县/16/88;和B/山形县/16/88谱系。

[0195] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够以一定的EC50与以下的每一种结合:(i)第1组IAV NA;(ii)第2组IAV NA;以及(iii)IBV NA,该EC_{50}在约0.1μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.1μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.1μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约1μg/mL的范围内,或为0.4μg/mL或更小。

[0196] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够:(i)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、约0.4μg/mL至约10μg/mL、约0.4μg/mL至约2μg/mL、约2μg/mL至约50μg/mL、约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与第1组IAV NA结合;(ii)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、或约2μg/mL至约50μg/mL、或约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与第2组IAV NA结合;和/或(iii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与IBV NA结合。在另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段能够:(i)以约0.4μg/mL、或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N1结合;(ii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N4结合;(iii)以在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内的EC_{50}与N5结合;(iv)以约50μg/mL的EC_{50}与N8结合;(v)以在约0.4μg/mL至约20μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、约1μg/mL至约10μg/mL、或约1μg/mL至约20μg/mL、或约1μg/mL至约5μg/mL的范围内、或约1μg/mL、2μg/mL、3μg/mL、4μg/mL、5μg/mL、6μg/mL、7μg/mL、8μg/mL、9μg/mL、10μg/mL、15μg/mL或20μg/mL的EC_{50}与N2结合;(vi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N3结合;(vii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μ

g/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N6结合;(viii)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7结合;(ix)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N9结合;和/或(xi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与IBV NA结合。

[0197] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够:(i)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与以下的一种或多种结合:N1 A/加利福尼亚/07/2009、N1 A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、N1 A/猪/江苏/J004/2008、N1 A/斯德哥尔摩/18/2007、N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011、N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009、N2 A/中国香港/68、N2 A/列宁格勒/134/17/57、N3 A/加拿大/rv504/2004、N6 A/猪/安大略/01911/1/99、N9 A/安徽/1/2013、B/Lee/10/1940(祖先)、B/布里斯班/60/2008(维多利亚)、B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)、B/马来西亚/3120318925/2013(山形县)、B/威斯康星/1/2010(山形县)和B/山梨县/166/1998(山形县);(ii)以约2μg/mL或在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009结合;(iii)以约50μg/mL的EC_{50}与N8 A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011结合;(iv)以在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/华盛顿/01/2007结合;(v)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7 A/荷兰/078/03结合;(vi)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/南澳大利亚/34/2019结合;(vii)以在约9.5μg/mL至约3.8μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/8060/2017结合;(viii)以在约18.4μg/mL至约2.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016结合;(iv)以在约1.6μg/mL至约1.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/9715293/2013结合;和/或(v)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或约0.4μg/mL、约2μg/mL、约10μg/mL或约50μg/mL的EC_{50}与N1 A/猪/江苏/J004/2018结合。在某些实施方案中,NA在宿主细胞(例如,CHO细胞)的表面上表达,并且与NA的结合是根据流式细胞术。

[0198] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够以小于1.0E-12M、小于1.0E-11M、小于1.0E-11M的KD、或者1.0E-12M或更小、1.0E-11M或更小、或1.0E-10或更小的KD、或者介于1.0E-10与1.0E-13之间的KD、或者介于1.0E-11与1.0E-13之间的KD与NA结合,其中任选地,该结合是通过生物层干涉测量法(BLI)评估的。

[0199] 在某些实施方案中,NA是N1、N2和/或N9。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与以下结合:(1)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N1 NA编号)的NA表位:R368、R293、E228、E344、S247、D198、D151、R118;和/或(2)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2 NA编号)的NA表位:R371、R292、E227、E344、S247、D198、D151、R118。应当理解,抗体和抗原结合片段也可与可不遵循N1或N2氨基酸编号惯例的流感神经氨酸苷酶结合;这些表位的氨基酸可对应于本文所指示的N1或N2氨基酸残基,诸如通过在NA中的等效

(例如,通过排列、3-D结构、保守性或这些的组合)但编号不同的位置处为相同的氨基酸残基。因此,提及N1或N2编号将被理解为与列举的氨基酸相对应的氨基酸。表3中提供了示出N1与N2位置编号的示例(使用H1N1_加利福尼亚.07.2009和H3N2_纽约.392.2004)。

[0200] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与以下结合:(1)包含氨基酸R368、R293、E228、D151和R118(N1NA编号)的NA表位;和/或(2)包含氨基酸R371、R292、E227、D151和R118(N2 NA编号)的NA表位。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与包含在NA活性位点中或包含NA活性位点的表位结合(如本文所述,NA活性位点包含形成催化核心并直接接触唾液酸的功能性氨基酸,以及形成活性位点框架的结构性氨基酸),其中任选地,NA活性位点包含以下氨基酸(N2编号):R118、D151、R152、R224、E276、R292、R371、Y406、E119、R156、W178、S179、D/N198、I222、E227、H274、E277、D293、E425。在某些实施方案中,R118、D151、R152、R224、E276、R292、R371和Y406形成催化核心并直接接触唾液酸。在某些实施方案中,E119、R156、W178、S179、D/N198、I222、E227、H274、E277、D293和E425形成活性位点框架。

[0201] 在某些实施方案中,表位包含或还包含以下NA氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2编号):E344、E227、S247和D198。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与包含S245N氨基酸突变和/或E221D氨基酸突变(N2编号)的NA结合。

[0202] 在某些实施方案中,NA包括IBV NA。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与IBV NA表位结合,该IBV NA表位包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(IBV编号;例如,对于FluB维多利亚和FluB山形县):R116、D149、E226、R292和R374。在一些实施方案中,表位包含氨基酸R116、D149、E226、R292和R374。

[0203] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够在体外感染模型、体内感染动物模型和/或人体内抑制以下的唾液酸酶活性:(i)IAV NA,其中IAV NA包括第1组IAV NA、第2组IAV NA或两者,和/或(ii)IBV NA。在另外的实施方案中:(i)第1组IAV NA包括H1N1和/或H5N1;(ii)第2组IAV NA包括H3N2和/或H7N9;并且/或者(iii)IBV NA包括以下的一种或多种:B/Lee/10/1940(祖先);B/中国香港/05/1972;B/中国台湾/2/1962(祖先);B/布里斯班/33/2008(维多利亚);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/纽约/1056/2003(维多利亚);B/佛罗里达/4/2006(山形县);B/江苏/10/2003(山形县);B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/珀斯/211/2011;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/科罗拉多/06/2017(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/珀斯/211/2001(山形县);B/湖北伍家岗/158/2009(山形县);B/威斯康星/01/2010(山形县);B/马萨诸塞/02/2012(山形县);B/普吉岛/3073/2013(山形县);和B/维多利亚/504/2000(山形县)。

[0204] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制第1组IAV NA、第2组IAV NA和/或IBV NA的唾液酸酶活性,该IC50在约0.0008μg/mL至约4μg/mL、约0.0008μg/mL至约3μg/mL、约0.0008μg/mL至约2μg/mL、约0.0008μg/mL至约1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.9μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.8μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.7μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.6μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.5μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.4μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.3μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.2μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.09μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.08μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.07μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.06μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.05μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.04μg/

mL、约0.0008μg/mL至约0.03μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.02μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.01μg/mL、0.002μg/mL至约4μg/mL、约0.001μg/mL至50μg/mL、约0.1μg/mL至约30μg/mL、约0.1μg/mL至约20μg/mL、约0.1μg/mL至约10μg/mL、约0.1μg/mL至约9μg/mL、约0.1μg/mL至约8μg/mL、约0.1μg/mL至约7μg/mL、约0.1μg/mL至约6μg/mL、约0.1μg/mL至约5μg/mL、约0.1μg/mL至约4μg/mL、约0.1μg/mL至约3μg/mL、约0.1μg/mL至约2μg/mL、约0.1μg/mL至约1μg/mL、约0.1μg/mL至约0.9μg/mL、约0.1μg/mL至约0.8μg/mL、约0.1μg/mL至约0.7μg/mL、约0.1μg/mL至约0.6μg/mL、约0.1μg/mL至约0.5μg/mL、约0.1μg/mL至约0.4μg/mL、约0.1μg/mL至约0.3μg/mL、约0.1μg/mL至约0.2μg/mL、约0.8μg/mL至约30μg/mL、约0.8μg/mL至约20μg/mL、约0.8μg/mL至约10μg/mL、约0.8μg/mL至约9μg/mL、约0.8μg/mL至约8μg/mL、约0.8μg/mL至约7μg/mL、约0.8μg/mL至约6μg/mL、约0.8μg/mL至约5μg/mL、约0.8μg/mL至约4μg/mL、约0.8μg/mL至约3μg/mL、约0.8μg/mL至约2μg/mL、约0.8μg/mL至约1μg/mL的范围内,或为约0.1μg/mL、约0.2μg/mL、约0.3μg/mL、约0.4μg/mL、约0.5μg/mL、约0.6μg/mL、约0.7μg/mL、约0.8μg/mL、约0.9μg/mL、约1.0μg/mL、约1.5μg/mL、约2.0μg/mL、约2.5μg/mL、约3.0μg/mL、约3.5μg/mL、约4.0μg/mL、约4.5μg/mL、约5.0μg/mL、约5.5μg/mL、约6.0μg/mL、约6.5μg/mL、约7.0μg/mL、约7.5μg/mL、约8.0μg/mL、约8.5μg/mL、约9.0μg/mL、约10μg/mL、约11μg/mL、约12μg/mL、约13μg/mL、约14μg/mL、约15μg/mL、约16μg/mL、约17μg/mL、约18μg/mL、约19μg/mL、约20μg/mL、约25μg/mL和/或约30μg/mL。在另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制一种或多种第1组和/或第2组IAV和/或一种或多种IBV的NA唾液酸酶活性,该IC50在约0.00001μg/ml至约25μg/ml、或约0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.0001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约25μg/ml、或约0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.001μg/ml至约25μg/ml、或约0.001μg/ml至约10μg/ml、或约0.001μg/ml至约1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.01μg/ml至约25μg/ml、或约0.01μg/ml至约10μg/ml、或约0.01μg/ml至约1μg/ml、或约0.01μg/ml至约0.1μg/ml、或约1μg/ml至约25μg/ml、或约1μg/ml至约10μg/ml的范围内,或为约1μg/ml、1.5μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml、3μg/ml、3.5μg/ml、4μg/ml、4.5μg/ml、5μg/ml、5.5μg/ml、6μg/ml、6.5μg/ml、7μg/ml、7.5μg/ml、8μg/ml、8.5μg/ml、9μg/ml、9.5μg/ml、10μg/ml、10.5μg/ml、11μg/ml、11.5μg/ml、12μg/ml、12.5μg/ml、13μg/ml、13.5μg/ml、14μg/ml、14.5μg/ml或15μg/ml。

[0205] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够激活人FcγRIIIa。在另外的实施方案中,激活是使用宿主细胞(任选地,Jurkat细胞)在抗体或抗原结合片段与感染了IAV的靶细胞(例如,A549细胞)一起温育(例如,23小时)后确定的,该宿主细胞包含:(i)人FcγRIIIa(任选地,F158等位基因);以及(ii)NFAT表达控制序列,该NFAT表达控制序列可操作地连接至编码报告基因诸如荧光素酶报告基因的序列。在还另外的实施方案中,激活是在抗体或抗原结合片段与感染了H1N1IAV的靶细胞一起温育(任选地,约23小时)后确定的,其中任选地,H1N1 IAV是A/PR8/34,并且/或者其中任选地,该感染的感染复数(MOI)为6。

[0206] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够中和IAV和/或IBV引起的感染。在某些实施方案中,IAV和/或IBV是耐抗病毒药的,其中任选地,抗病毒药是奥司他韦。在某些实

施方案中,IAV包含具有以下氨基酸突变的N1 NA:H275Y;E119D+H275Y;S247N+H275Y;I222V;和/或N294S,其中任选地,IAV包括CA09或A/爱知县。在某些实施方案中,IAV包含具有氨基酸突变E119V、Q136K和/或R292K的N2NA。在某些实施方案中,IAV包含具有以下氨基酸突变的N1 NA:S247R、I223R、R152I、D199N和/或Q250S,其中任选地,IAV包括A/越南/1203/2004或A/加利福尼亚/7/2009。在某些实施方案中,IAV包含具有氨基酸突变K431E的N2 NA,其中任选地,IAV包括A/中国香港/2671/2019。

[0207] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够治疗和/或预防受试者的(i)IAV感染和/或(ii)IBV感染。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够治疗和/或减轻以下引起的感染:(i)H1N1病毒,其中任选地,H1N1病毒包括A/PR8/34;和/或(ii)H3N2病毒,其中任选地,H3N2病毒任选地包括A/中国香港/68。在某些实施方案中,在施用有效量的抗体或抗原结合片段后,抗体或抗原结合片段能够预防被IAV和/或IBV感染的受试者的体重减轻,任选地持续(i)至多15天或(ii)超过15天。

[0208] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够预防具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的体重减轻大于10%,如通过参考受试者恰好在IAV感染和/或IBV感染之前的体重所确定的。

[0209] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够延长具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的存活期。

[0210] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段在小鼠(例如,tg32小鼠)中的体内半衰期:(i)在约10天至约14天、约10.2天至约13.8天、约10.5天至约13.5天、约11天至约13天、约11.5天至约12.5天的范围内、介于10天与14天之间、或介于10.5天与13.5天之间、或介于11天与13天之间、或为约10.0天、10.1天、10.2天、10.3天、10.4天、10.5天、10.6天、10.7天、10.8天、10.9天、11.0天、11.1天、11.2天、11.3天、11.4天、11.5天、11.6天、11.7天、11.8天、11.9天、12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、13.6天、13.7天、13.8天、13.9天或14.0天;或者(ii)在约12天至约16天、约12.5天至15.5天、约13天至15天、约13.5天至约14.5天的范围内、或介于12天与16天之间、或介于13天与15天之间、或介于13.5天与14.5天之间、或为约12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、1.36天、13.7天、13.8天、13.9天、14.0天、14.1天、14.2天、14.3天、14.4天、14.5天、14.6天、14.7天、14.8天、14.9天、15.0天、15.1天、15.2天、15.3天、15.4天、15.5天、1.56天、15.7天、15.8天、15.9天或16.0天。

[0211] 除非在本文中明确地以不同方式定义,否则抗体技术领域的技术人员所理解的术语各自被赋予本领域中的既得含义。例如,术语“抗体”是指包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的完整抗体,以及完整抗体的任何抗原结合部分或片段,该抗原结合部分或片段具有或保留与完整抗体所识别的抗原靶分子结合的能力,诸如scFv、Fab或Fab'2片段。因此,术语“抗体”在本文中以最广泛的意义使用并且包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗体和其功能(抗原结合)抗体片段,包括片段抗原结合(Fab)片段、F(ab')2片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段,包括单链可变片段(scFv)和单域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。该术语涵盖基因工程化和/或其他方式修饰的免疫球蛋白形式,诸如胞内抗体、肽体、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合

抗体、多特异性(例如,双特异性)抗体、双抗体、三抗体、四抗体、串联双scFv和串联三scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应被理解为涵盖其功能抗体片段。该术语还涵盖完整或全长抗体,包括任何类别或亚类的抗体,包括IgG和其亚类(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgM、IgE、IgA和IgD。

[0212] 术语“V_L”或“VL”和“V_H”或“VH”是指分别来自抗体轻链和抗体重链的可变结合区。在某些实施方案中,VL是kappa(κ)类(在本文中也称为“VK”)。在某些实施方案中,VL是lambda(λ)类。可变结合区包括被称为“互补决定区”(CDR)和“框架区”(FR)的离散、明确定义的亚区。术语“互补决定区”和“CDR”与“高变区”或“HVR”同义,并且是指抗体可变区内的氨基酸序列,一般来讲,其共同赋予抗体的抗原特异性和/或结合亲和力,其中连续CDR(即,CDR1和CDR2、CDR2和CDR3)在一级结构中彼此由框架区分隔。每个可变区有三个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3;LCDR1、LCDR2、LCDR3;也分别被称为CDRH和CDRL)。在某些实施方案中,抗体VH包含如下四个FR和三个CDR:FR1-HCDR1-FR2-HCDR2-FR3-HCDR3-FR4;并且抗体VL包含如下四个FR和三个CDR:FR1-LCDR1-FR2-LCDR2-FR3-LCDR3-FR4。一般来讲,VH和VL通过其相应的CDR共同形成抗原结合位点。在某些实施方案中,一个或多个CDR不接触抗原和/或在能量上对抗原结合没有贡献。

[0213] 如本文所用,CDR的“变体”是指CDR序列的具有至多1至3个氨基酸置换(例如,保守或非保守置换)、缺失或它们的组合的功能变体。

[0214] CDR和框架区的编号可根据任何已知的方法或方案,诸如Kabat、Chothia、EU、IMGT、Contact、North、Martin和Aho编号方案(参见例如,Kabat等人,“Sequences of Proteins of Immunological Interest,US Dept.Health and Human Services,Public Health Service National Institutes of Health,1991,第5版;Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));Lefranc等人,Dev.Comp.Immunol.27:55,2003;Honegger和Plückthun,J.Mol.Bio.309:657-670(2001);North等人,J Mol Biol.(2011)706:228-56;doi:10.1016/j.jmb.2010.10.030;Abhinandan和Martin,Mol Immunol.(2008)45:3832-9。10.1016/j.molimm.2008.05.022)。这些参考文献的抗体和CDR编号系统以引用方式并入本文。可使用抗原受体编号和受体分类(ANARCI)软件工具(2016,Bioinformatics 15:298-300)注释等效残基位置并且比较不同分子的等效残基位置。因此,根据一种编号方案鉴定如本文所提供的示例性可变结构域(VH或VL)序列的CDR不排除包含如使用不同编号方案确定的相同可变结构域的CDR的抗体。为了根据IMGT分析序列,可使用imgt.org/IMGTindex/V-QUEST.php和imgt.org/IMGT_vquest/input。

[0215] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中每个CDR独立地选自如表1和/或表2提供的NA特异性抗体的对应CDR。也就是说,考虑了来自表1和/或表2中提供的NA特异性抗体的CDR的所有组合。

[0216] 在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号方法。

[0217] 术语“CL”是指“免疫球蛋白轻链恒定区”或“轻链恒定区”,即来自抗体轻链的恒定区。术语“CH”是指“免疫球蛋白重链恒定区”或“重链恒定区”,根据抗体同种型,其可进一步分为CH1、CH2和CH3(IgA、IgD、IgG)或CH1、CH2、CH3和CH4结构域(IgE、IgM)。本文进一步描述了抗体重链的Fc区。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含CL、CH1、CH2和CH3中的任何一者或多者。在当前公开的实施方案中的任何实施

方案中,本公开的抗体或抗原结合片段可包含CL、CH1、CH2和CH3中的任何一者或多者。在某些实施方案中,CL包含与SEQ ID NO.:35的氨基酸序列具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性(或相似性)的氨基酸序列。在某些实施方案中,CH1-CH2-CH3包含与SEQ ID NO.:34、35、38、70和74至95中任一者的氨基酸序列具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性(或相似性)的氨基酸序列。应当理解,例如,在哺乳动物细胞系中的产生可去除抗体重链的一个或多个C-末端赖氨酸(参见例如Liu等人,mAbs 6(5):1145-1154(2014))。因此,本公开的抗体或抗原结合片段可包含重链、CH1-CH3、CH3或Fc多肽,其中存在或不存在C-末端赖氨酸残基;换句话讲,涵盖重链、CH1-CH3或Fc多肽的C-末端残基不是赖氨酸的实施方案,以及赖氨酸是C-末端残基的实施方案。在某些实施方案中,组合物包含本公开的多种抗体和/或抗原结合片段,其中一种或多种抗体或抗原结合片段在重链、CH1-CH3或Fc多肽的C-末端不包含赖氨酸残基,并且其中一种或多种抗体或抗原结合片段在重链、CH1-CH3或Fc多肽的C-末端包含赖氨酸残基。

[0218] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段可包含重链、CH1-CH3、CH3或Fc多肽,其中存在或不存在C-末端甘氨酸-赖氨酸序列(例如,对应于SEQ ID NO.:95的最后两个氨基酸)。

[0219] “Fab”(抗原结合片段)是抗体的与抗原结合的一部分并且包含通过链间二硫键与轻链连接的重链的可变区和CH1。每个Fab片段关于抗原结合是单价的,即,其具有单个抗原结合位点。抗体的胃蛋白酶处理产生单个大F(ab')2片段,其大致对应于具有二价抗原结合活性的两个二硫键连接的Fab片段并且仍然能够交联抗原。Fab和F(ab')2均为“抗原结合片段”的示例。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在CH1结构域的羧基末端具有额外几个残基,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH在本文中是恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离巯基的Fab'的名称。F(ab')2抗体片段最初是作为其间具有铰链半胱氨酸的Fab'片段对产生的。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0220] Fab片段可例如通过肽接头连接以形成单链Fab,在本文中也称为“scFab”。在这些实施方案中,天然Fab中存在的链间二硫键可能不存在,并且接头完全或部分用于在单个多肽链中连结或连接Fab片段。重链衍生的Fab片段(例如,包含VH+CH1或“Fd”、由其组成或基本上由其组成)和轻链衍生的Fab片段(例如,包含VL+CL、由其组成或基本上由其组成)可以以任何排列连接以形成scFab。例如,可在N-末端至C-末端方向上根据(重链Fab片段-接头-轻链Fab片段)或(轻链Fab片段-接头-重链Fab片段)排列scFab。本文中进一步详细讨论了用于scFab的肽接头和示例性接头序列。

[0221] “Fv”是含有完整抗原识别和抗原结合位点的小抗体片段。该片段一般由紧密非共价缔合的一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。然而,即使单个可变结构域(或包含仅三个对抗原具有特异性的CDR的Fv的一半)也具有识别并结合抗原的能力,但通常亲和力低于完整结合位点。

[0222] “单链Fv”也缩写为“sFv”或“scFv”,是包含连接成单个多肽链的V_H和V_L抗体结构域的抗体片段。在一些实施方案中,scFv多肽包含设置在V_H与V_L结构域之间并且连接这些结构域的多肽接头,该多肽接头使scFv能够保留或形成抗原结合的期望结构。这种肽接头可使用本领域众所周知的标准技术掺入到融合多肽中。关于scFv的综述,参见Pluckthun,The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编辑,Springer-

Verlag,New York,第269-315页(1994);Borrebaeck1995,见下文。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括scFv,其包含VH结构域、VL结构域和将VH结构域连接到VL结构域的肽接头。在特定实施方案中,scFv包含通过肽接头连接到VL结构域的VH结构域,其可处于VH-接头-VL取向或处于VL-接头-VH取向。本公开的任何scFv可被工程化,使得VL结构域的C-末端通过短肽序列连接到VH结构域的N-末端,或反之亦然(即,(N)VL(C)-接头-(N)VH(C)或(N)VH(C)-接头-(N)VL(C))。另选地,在一些实施方案中,接头可连接到VH结构域、VL结构域或两者的N-末端部分或N端。

[0223] 可例如基于以下来选择肽接头序列:(1)其能够采取柔性的伸展构象;(2)其无法或不能采取可与第一多肽和第二多肽上和/或靶分子上的功能性表位相互作用的次级结构;和/或(3)缺乏或相对缺乏可能与多肽和/或靶分子反应的疏水残基或带电残基。关于接头设计(例如,长度)的其他考虑因素可包括VH和VL可形成功能性抗原结合位点的构象或构象范围。在某些实施方案中,肽接头序列含有例如Gly、Asn和Ser残基。其他接近中性的氨基酸(诸如Thr和Ala)也可包含于接头序列中。可有效地用作接头的其他氨基酸序列包括以下文献中公开的氨基酸序列:Maratea等人,Gene 40:39 46(1985);Murphy等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 83:8258 8262(1986);美国专利号4,935,233和美国专利号4,751,180。当以单次迭代存在或重复1至5次或更多次时,接头的其他例示性和非限制性示例可包括例如Glu-Gly-Lys-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Glu-Ser-Lys-Val-Asp(Chaudhary等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:1066-1070(1990))和Lys-Glu-Ser-Gly-Ser-Val-Ser-Ser-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Phe-Arg-Ser-Leu-Asp(Bird等人,Science 242:423-426(1988))以及五聚体Gly-Gly-Gly-Gly-Ser。可使用任何合适的接头,并且一般来讲,其长度可为约3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、15 23、24、25、26、27、28、29、30、40、50、60、70、80、90、100个氨基酸,或长度小于约200个氨基酸,并且将优选地具有柔性结构(可为通过接头连接的两个区、结构域、基序、片段或模块之间的构象移动提供柔性和空间),并且将优选地为生物惰性的和/或在人体内具有低免疫原性风险。可使用本文所公开的VH和VL序列的任何组合或者CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3序列的任何组合来构建scFv。在一些实施方案中,不需要接头序列;例如,当第一多肽和第二多肽具有可用于将功能性结构域分开并防止立体干扰的非必需N-末端氨基酸区时。

[0224] 在抗体开发期间,种系可变区(V)、连接区(J)和多样区(D)基因座中的DNA可重排并且可发生编码序列中核苷酸的插入和/或缺失。体细胞突变可由所得序列编码,并且可通过参考对应的已知种系序列来鉴定。在一些上下文中,对抗体的期望性质(例如,与流感NA抗原结合)不重要的体细胞突变或将非期望性质赋予抗体(例如,施用了抗体的受试者中免疫原性的风险增加)的体细胞突变或两者可由对应的种系编码氨基酸或不同氨基酸来替换,使得抗体的期望性质得到改良或维持并且抗体的非期望性质被减少或消除。因此,在一些实施方案中,与亲本抗体或抗原结合片段相比,本公开的抗体或抗原结合片段在可变区中包含至少一种以上种系编码氨基酸,前提条件是亲本抗体或抗原结合片段包含一种或多种体细胞突变。本文的表1中提供了本公开的示例性抗NA抗体的可变区和CDR氨基酸序列。

[0225] 这些和相关人IG等位基因的多核苷酸序列和其他信息可在例如IMGT.org上获得(参见例如)。

[0226] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含氨基酸修饰(例如,置换突变)以去

除非期望的氧化、脱酰胺和/或异构化风险。

[0227] 本文还提供了变体抗体,与当前公开的(“亲本”)抗体相比,这些变体抗体在可变区(例如,VH、VL、框架或CDR)中包含一个或多个氨基酸改变,其中变体抗体能够与NA抗原结合。

[0228] 在某些实施方案中,VH包含表1和/或表2中列出的任何VH氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,并且VL包含表1和/或表2中列出的任何VL氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成。

[0229] 参考图71,在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含图71所示的FNI9抗体的VH和图71所示的FNI9抗体的VL,前提条件是抗体或抗原结合片段不包含FNI9-VH-WT的VH和FNI9-VK-WT的VL。

[0230] 参考图71,在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含FNI9-VH-WT、FNI9-VH-FR124GL、FNI9-VH.4、FNI9-VH.5、FNI9-VH.6、FNI9-VH.7、FNI9-VH.8、FNI9-VH.9、FNI9-VH.10、FNI9-VH.11、FNI9-VH.12或FNI9-VH.13的VH氨基酸序列;以及(ii)VL,该VL包含FNI9-VK.7的VL氨基酸序列。

[0231] 参考图71,在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含FNI9-VH-WT、FNI9-VH-FR124GL、FNI9-VH.4、FNI9-VH.5、FNI9-VH.6、FNI9-VH.7、FNI9-VH.8、FNI9-VH.9、FNI9-VH.10、FNI9-VH.11、FNI9-VH.12或FNI9-VH.13的VH氨基酸序列;以及(ii)VL,该VL包含FNI9-VK.8的VL氨基酸序列。

[0232] 参考图71,在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含FNI9-VH-FR124GL、FNI9-VH.4、FNI9-VH.5、FNI9-VH.6、FNI9-VH.7、FNI9-VH.8、FNI9-VH.9、FNI9-VH.10、FNI9-VH.11、FNI9-VH.12或FNI9-VH.13的VH氨基酸序列;以及(ii)VL,该VL包含FNI9-VK-WT的VL氨基酸序列。

[0233] 参考图72,在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含图72所示的FNI9变体抗体的VH和VL。

[0234] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含抗体“FNI9-v8.1”的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3,以及任选地VH和VL,该抗体“FNI9-v8.1”与抗体FNI9的不同之处在于VH中的S28T突变。与FNI9相比,当通过瞬时转染的宿主细胞表达为重组IgG1时,FNI9-v8.1具有改善的生产滴度。在MUNANA测定法中,与FNI9相比,FNI9-v8.1抑制某些N1和N2神经氨酸苷酶的唾液酸酶活性的IC50也更低。在ELLA测定法中,与FNI9相比,FNI9-v8.1抑制假病毒衍生的神经氨酸苷酶的唾液酸酶活性的IC50也更低。通过流式细胞术评估得出,与FNI9相比,FNI9-v8.1也更强地与N9_A_安徽_2013结合。通过表面等离子体共振评估得出,与FNI9相比,FNI9-v8.1对某些IAV和IBV NA抗原(包括携带聚糖的抗原和不携带聚糖的抗原)具有更高的亲和力。与FNI9相比,FNI9-v8.1对某些IAV和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为ng/ml)有所提高。

[0235] FNI9-v8.1分别包含SEQ ID NO.:55(GGTFNNQA)、4(IFPISGTP)、5(ARAGSDYFNRDLGWENYYFAS)、9(RSVSSN)、10(DAS)和11(QQYNNWPPWT)的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列,以及分别包含SEQ ID NO.:54和8的VH和VL氨基酸序列。应当理解,“-v8.1”是指包含“v8”VH(SEQ ID NO.:54)和“v1”VL(SEQ ID NO.:8,与亲本FNI9相同的VL)的FNI9变体。

[0236] 在一些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,该VL包含SEQ ID NO.:8的VL氨基酸序列或由其组成。

[0237] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQRFQGR VTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.: 54);以及(ii)VL,该VL包含氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)。

[0238] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH基本上由氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQR FQGRVTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)组成;以及(ii)VL,该VL基本上由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSS NLAWYQQKPGQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)组成。

[0239] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH由氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVT FTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)组成;以及(ii)VL,该VL由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRL LI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.: 8)组成。

[0240] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链包含VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEμGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAμGQGLE WMGGIFPISGTPTSA QRFQGRVTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)轻链,该轻链包含VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNL AWYQQKμGQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO.:8)。在某些另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,轻链是IgG1κ轻链。

[0241] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)两条重链,每条重链包含VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEμGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAμGQGLE WMGGIFPIS GTPTSAQRFQGRVTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO.:54);以及(ii)两条轻链,每条轻链包含VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERA TLSCRASRSVSSNLAWYQQKμGQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNW PP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)。在某些另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,轻链各自为IgG1κ轻链。在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRF QGRVTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.: 54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义;以及(ii)VL,该VL包含VL氨

基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGS GTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义。

[0242] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链在VH中包含VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEμGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAμGQGLE WMGGIFPIS GTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义;以及(ii)轻链,该轻链在VL中包含VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKμ GQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义。在某些另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,轻链是IgG1κ轻链。

[0243] 在某些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)两条重链,每条重链在VH中包含VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMG GIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义;以及(ii)两条轻链,每条轻链在VL中包含VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSV SSNLAWYQQKPGQAPRLLI YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPP WTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,CDR根据IMGT来定义。在某些另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,轻链各自为IgG1κ轻链。

[0244] 在一些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,该VL包含SEQ ID NO.:37的VL氨基酸序列或由其组成。

[0245] 在一些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,该VL包含SEQ ID NO.:66的VL氨基酸序列或由其组成。

[0246] 在一些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段,其包含:(i)VH,该VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,该VL包含SEQ ID NO.:68的VL氨基酸序列或由其组成。

[0247] 表A提供了本公开的某些FNI9变体抗体的VH和VL氨基酸SEQ ID NO.。

[0248]

变体抗体	VH 氨基酸 SEQ ID NO.:	VL 氨基酸 SEQ ID NO.:

[0249]

变体抗体	VH 氨基酸 SEQ ID NO.:	VL 氨基酸 SEQ ID NO.:
FNI9-v13.8	65	68
FNI9-v4.1	46	8
FNI9-v5.1	48	8
FNI9-v6.1	50	8
FNI9-v7.1	52	8
FNI9-v8.1	54	8
FNI9-v9.1	56	8
FNI9-v10.1	58	8
FNI9-v11.1	60	8
FNI9-v12.1	63	8
FNI9-v4.7	46	66
FNI9-v5.7	48	66
FNI9-v6.7	50	66
FNI9-v7.7	52	66
FNI9-v8.7	54	66
FNI9-v9.7	56	66
FNI9-v10.7	58	66
FNI9-v11.7	60	66
FNI9-v12.7	63	66

[0250] 在一些实施方案中,流感包括甲型流感病毒、乙型流感病毒或两者。

[0251] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段是单特异性的(例如,与单个表位结合)或多特异性的(例如,与多个表位和/或靶分子结合)。抗体和抗原结合片段可以以各种格式构建。在Spiess等人,Mol.Immunol.67(2):95(2015)中以及在Brinkmann和Kontermann,mAbs9(2):182-212(2017)中公开了示例性抗体格式,所述格式和其制备方法以引用方式并入本文并且包括例如双特异性T细胞衔接子(BiTE)、DART、杵臼(Knobs-Into-Holes,KIH)组装体、scFv-CH3-KIH组装体、KIH共同轻链抗体、TandAb、三抗体、TriBi微抗体、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')2-scFv2、四价HCab、胞内抗体、CrossMab、双重作用Fab(DAF)(二合一或四合一)、DutaMab、DT-IgG、电荷对(Charge Pairs)、Fab臂交换(Fab-arm Exchange)、SEED体(SEEDbodies)、Triomab、LUZ-Y组装体、Fcab、κλ体、正交Fab、DVD-Ig(例如,美国专利号8,258,268,所述格式以引用方式全部并入本文)、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、Zybody和DVI-IgG(四合一)以及所谓的FIT-Ig(例如,PCT公开号WO 2015/103072,所述格式以引用方式全部并入本文)、所谓的WuxiBody格式(例如,PCT公开号WO 2019/057122,所述格式以引用方式全部并入本文)以及所谓的弯管内插入Ig格式(In-Elbow-Insert Ig format,IEI-Ig;例如,PCT公开号WO 2019/024979和WO 2019/025391,所述格式以引用方式全部并入本文)。

[0252] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含两个或更多个VH结构域、两个或更

多个VL结构域或两者(即,两个或更多个VH结构域和两个或更多个VL结构域)。在特定实施方案中,抗原结合片段具有格式(N-末端到C-末端方向)VH-接头-VL-接头-VH-接头-VL,其中两个VH序列可相同或不同并且两个VL序列可相同或不同。此类连接的scFv可包含被布置成与给定靶标结合的VH和VL结构域的任何组合,并且在包含两个或更多个VH和/或两个或更多个VL的格式中,可结合一种、两种或更多种不同表位或抗原。应当理解,掺入有多个抗原结合结构域的格式可以以任何组合或取向包含VH和/或VL序列。例如,抗原结合片段可具有格式VL-接头-VH-接头-VL-接头-VH、VH-接头-VL-接头-VL-接头-VH或VL-接头-VH-接头-VH-接头-VL。

[0253] 所构建的本公开的单特异性或多特异性抗体或抗原结合片段包含本文所公开的VH和VL序列的任何组合和/或CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3序列的任何组合。在一些实施方案中,双特异性或多特异性抗体或抗原结合片段可包含本公开的一个、两个或更多个抗原结合结构域(例如,VH和VL)。可存在与相同或不同NA表位结合的两个或更多个结合结构域,并且在一些实施方案中,如本文所提供的双特异性或多特异性抗体或抗原结合片段包含另外的NA特异性结合结构域并且/或者可包含完全与不同抗原或病原体结合的结合结构域。

[0254] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段可以是多特异性的;例如,双特异性的、三特异性的等。

[0255] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc多肽或其片段。“Fc”片段或Fc多肽包含通过二硫键保持在一起的两条抗体H链的羧基末端部分(即,IgG的CH2和CH3结构域)。Fc可包含由两种Fc多肽(即,两种CH2-CH3多肽)构成的二聚体。抗体“效应子功能”是指可归因于抗体Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的生物活性,并随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的示例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒作用;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;以及B细胞激活。如本文所讨论,可对Fc结构域进行修饰(例如,氨基酸置换)以便修饰(例如,改良、减少或消除)含Fc的多肽(例如,本公开的抗体)的一种或多种功能。此类功能包括例如Fc受体(FcR)结合、抗体半衰期调节(例如,通过与FcRn结合)、ADCC功能、蛋白A结合、蛋白G结合和补体结合。修饰(例如,改良、减少或消除)Fc功能的氨基酸修饰包括例如T250Q/M428L、M252Y/S254T/T256E、H433K/N434F 、M428L/N434S 、M428L/434A 、E233P/L234V/L235A/G236+A327G/A330S/P331S、E333A、S239D/A330L/I332E、P257VQ311、K326W/E333S、S239D/I332E/G236A、N297Q、K322A、S228P、L235E+E318A/K320A/K322A、L234A/L235A(在本文中也称为“LALA”)和L234A/L235A/P329G突变,这些突变中的某些突变在InvivoGen(2011)出版并可在invivogen.com/PDF/review/review-Engineered-Fc-Regions-invivogen.pdf?utm_source＝review&utm_medium＝pdf&utm_

[0256] campaign＝review&utm_content＝Engineered-Fc-Regions在线获取的“Engineered Fc Regions”中进行了总结和注释,并且以引用并入本文。

[0257] 例如,为了激活补体级联,当免疫球蛋白分子附接到抗原靶标时,C1q蛋白复合物可与至少两个IgG1分子或一个IgM分子结合(Ward,E.S.和Ghetie,V.,Ther.Immunol.2(1995)77-94)。Burton,D.R.(Mol.Immunol.22(1985)161-206)描述了包含氨基酸残基318至337的重链区参与补体固定。Duncan,A.R.和Winter,G.(Nature 332(1988)738-740)使用

定点诱变报道,Glu318、Lys320和Lys322形成与C1q的结合位点。Glu318、Lys320和Lys 322残基在C1q结合中的作用通过含有这些残基的短合成肽抑制补体介导的裂解的能力得到证实。

[0258] 例如,FcR结合可通过(抗体的)Fc部分与Fc受体(FcR)的相互作用介导,FcR是包括造血细胞在内的细胞上的特化细胞表面受体。Fc受体属于免疫球蛋白超家族,并且显示出既介导通过免疫复合物的吞噬作用清除抗体包被的病原体,又介导通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC;Van de Winkel,J.G.和Anderson,C.L.,J.Leukoc.Biol.49(1991)511-524)裂解包被有对应抗体的红细胞和各种其他细胞靶标(例如,肿瘤细胞)。FcR由其对免疫球蛋白类别的特异性定义;IgG抗体的Fc受体被称为Fcγ R,IgE抗体的Fc受体被称为FcεR,IgA抗体的Fc受体被称为FcαR等,并且新生儿Fc受体被称为FcRn。Fc受体结合在例如以下文献中描述:Ravetch,J.V.和Kinet,J.P.,Annu.Rev.Immunol.9(1991)457-492;Capel,P.J.等人,Immunomethods 4(1994)25-34;de Haas,M.等人,J Lab.Clin.Med.126(1995)330-341;以及Gessner,J.E.等人,Ann.Hematol.76(1998)231-248。

[0259] 天然IgG抗体的Fc结构域与受体(Fcγ R)的交联触发了多种效应子功能,包括吞噬作用、抗体依赖性细胞毒作用和炎性介质释放,以及免疫复合物清除和抗体产生调节。本文考虑了提供受体(例如,Fcγ R)交联的Fc部分。在人类中,迄今为止已对以下三类Fcγ R进行表征:(i)Fcγ RI(CD64),其以高亲和力结合单体IgG,并在巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞上表达;(ii)Fcγ RII(CD32),其以中到低亲和力结合复合IgG,广泛表达(特别是在白细胞上),被认为是抗体介导免疫的核心参与者,并且可分为Fcγ RIIA、Fcγ RIIB和Fcγ RIIC,它们在免疫系统中发挥不同的功能,但以相似的低亲和力与IgG-Fc结合,并且这些受体的胞外结构域高度同源;以及(iii)Fcγ RIII(CD16),其以中到低亲和力结合IgG,并且已发现有两种形式:Fcγ RIIIA,该Fcγ RIIIA已在NK细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞以及一些单核细胞和T细胞上发现,并且被认为介导ADCC;以及Fcγ RIIIB,该Fcγ RIIIB在中性粒细胞上高度表达。

[0260] Fcγ RIIA在许多参与杀伤的细胞(例如,巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞)上发现并且似乎能够激活杀伤过程。Fcγ RIIB似乎在抑制过程中发挥作用并在B细胞、巨噬细胞以及肥大细胞和嗜酸性粒细胞上发现。重要的是,已经表明所有Fcγ RIIB的75%在肝脏中发现(Ganesan,L.P.等人,2012:“Fcγ RIIb on liver sinusoidal endothelium clears small immune complexes,”Journal of Immunology 189:4981-4988)。Fcγ RIIB在肝窦内皮(称为LSEC)上和肝脏中的Kupffer细胞中大量表达,并且LSEC是清除小免疫复合物的主要部位(Ganesan,L.P.等人,2012:Fcγ RIIb on liver sinusoidal endothelium clears small immune complexes.Journal of Immunology 189:4981-4988)。

[0261] 在一些实施方案中,本文所公开的抗体和其抗原结合片段包含用于与Fcγ RIIb结合的Fc多肽或其片段,特别是Fc区,诸如例如IgG型抗体。此外,可以通过引入突变S267E和L328F来使Fc部分工程化以增强Fcγ RIIB结合,如Chu,S.Y.等人,2008:Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and Fcγ RIIb with Fc-engineered antibodies.Molecular Immunology45,3926-3933所述。由此,可增强免疫复合物的清除(Chu,S.等人,2014:Accelerated Clearance of IgE In Chimpanzees Is Mediated By Xmab7195,An Fc-Engineered Antibody With

Enhanced Affinity For Inhibitory Receptor Fc γ RIIb.Am J Respir Crit,American Thoracic Society International Conference Abstracts)。在一些实施方案中,本公开的抗体或其抗原结合片段包含具有突变S267E和L328F的工程化Fc部分,具体地如Chu,S.Y.等人,2008:Inhibition of b cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and Fc γ RIIb with Fc-engineered antibodies.Molecular Immunology 45,3926-3933所述。

[0262] 在B细胞上,Fc γ RIIB可能起到抑制免疫球蛋白进一步产生和同种型转换为例如IgE类的作用。在巨噬细胞上,Fc γ RIIB被认为抑制通过Fc γ RIIA介导的吞噬作用。在嗜酸性粒细胞和肥大细胞上,B形式可通过IgE与其单独受体结合来帮助抑制这些细胞的激活。

[0263] 关于Fc γ RI结合,天然IgG中E233-G236、P238、D265、N297、A327和P329中的至少一者的修饰降低了与Fc γ RI的结合。被置换到对应位置IgG1和IgG4中的位置233-236处的IgG2残基将IgG1和IgG4与Fc γ RI的结合降低10^3倍,并消除了人单核细胞对抗体致敏红细胞的应答(Armour,K.L.等人,Eur.J.Immunol.29(1999)2613-2624)。

[0264] 关于Fc γ RII结合,发现对Fc γ RIIA的结合降低,例如对于E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、R292和K414中的至少一者的IgG突变。

[0265] 人Fc γ RIIA的两种等位基因形式是以较高亲和力与IgG1 Fc结合的“H131”变体以及以低亲和力与IgG1 Fc结合的“R131”变体。参见例如Bruhns等人,Blood 113:3716-3725(2009)。

[0266] 关于Fc γ RIII结合,发现与Fc γ RIIIA的结合降低,例如,对于E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、S239、E269、E293、Y296、V303、A327、K338和D376中的至少一者的突变。人IgG1上Fc受体的结合位点的作图、上述突变位点以及用于测量与Fc γ RI和Fc γ RIIA结合的方法在Shields,R.L.等人,J.Biol.Chem.276(2001)6591-6604中描述。

[0267] 人Fc γ RIIIA的两种等位基因形式是以较低亲和力与IgG1 Fc结合的“F158”变体以及以较高亲和力与IgG1 Fc结合的“V158”变体。参见例如Bruhns等人,Blood 113:3716-3125(2009)。

[0268] 关于与Fc γ RII的结合,天然IgG Fc的两个区似乎参与了Fc γ RII与IgG之间的相互作用,即(i)IgG Fc的下铰链位点,特别是氨基酸残基L,L,G,G(234-237,EU编号);以及(ii)IgG Fc的CH2结构域的相邻区,特别是与下铰链区相邻的上CH2结构域中的环和链,例如在P331的区域中(Wines,B.D.等人,J.Immunol.2000;164:5313-5318)。此外,Fc γ RI似乎与IgG Fc上的相同位点结合,而FcRn和蛋白A与IgG Fc上的不同位点结合,该位点似乎位于CH2-CH3界面(Wines,B.D.等人,J.Immunol.2000;164:5313-5318)。

[0269] 还考虑了增加本公开的Fc多肽或其片段与(即,一种或多种)Fc γ 受体的结合亲和力的突变(例如,与参考Fc多肽或其片段或含有不包含该突变的参考Fc多肽或其片段相比)。参见例如Delillo和Ravetch,Cell 161(5):1035-1045(2015)以及Ahmed等人,J.Struc.Biol.194(1):78(2016),其Fc突变和技术以引用方式并入本文。

[0270] 在本文公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段可包括Fc多肽或其片段,该Fc多肽或其片段包含选自以下的突变:G236A;S239D;A330L;和I332E;或包含其任何两种或更多种的组合;例如,S239D/I332E;S239D/A330L/I332E;G236A/S239D/

I332E;G236A/A330L/I332E(在本文中也称为“GAALIE”);或G236A/S239D/A330L/I332E。在一些实施方案中,Fc多肽或其片段不包含S239D。在一些实施方案中,Fc多肽或其片段在位置239(EU编号)处包含S。

[0271] 在某些实施方案中,Fc多肽或其片段可包含参与FcRn结合的Fc多肽或其片段的至少一部分或由其组成。在某些实施方案中,Fc多肽或其片段包含一个或多个氨基酸修饰,该一个或多个氨基酸修饰提高对FcRn的结合亲和力(例如,增强与FcRn的结合)(例如,在约6.0的pH下),并且在一些实施方案中,从而延长包含Fc多肽或其片段的分子的体内半衰期(例如,与在其他方面相同但不包含修饰的参考Fc多肽或其片段或抗体相比)。在某些实施方案中,Fc多肽或其片段包含或衍生自IgG Fc并且半衰期延长突变包括以下的任何一者或多者:M428L;N434S;N434H;N434A;N434S;M252Y;S254T;T256E;T250Q;P257I;Q311I;D376V;T307A;E380A(EU编号)。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括M428L/N434S(在本文中也称为“MLNS”、“LS”、“_LS”和“-LS”)。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括M252Y/S254T/T256E。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括T250Q/M428L。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括P257I/Q311I。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括P257I/N434H。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括D376V/N434H。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括T307A/E380A/N434A。在某些实施方案中,半衰期延长突变包括M428L/N434A。

[0272] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc部分,该Fc部分包含置换突变M428L/N434S。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc部分,该Fc部分包含置换突变M428L/N434A。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc多肽或其片段,该Fc多肽或其片段包含置换突变G236A/A330L/I332E。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括(例如,IgG)Fc部分,该Fc部分包含G236A突变、A330L突变和I332E突变(GAALIE),并且不包含S239D突变(例如,在位置239处包含天然S)。在特定实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc多肽或其片段,该Fc多肽或其片段包含置换突变:M428L/N434S和G236A/A330L/I332E,并且任选地不包含S239D(例如,在239处包含S)。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括Fc多肽或其片段,该Fc多肽或其片段包含置换突变:M428L/N434S和G236A/S239D/A330L/I332E。

[0273] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含改变糖基化的突变,其中改变糖基化的突变包括N297A、N297Q或N297G,并且/或者抗体或抗原结合片段是部分或完全去糖基化的和/或部分或完全去岩藻糖基化的。制备部分或完全去糖基化或部分或完全去岩藻糖基化的抗体和抗原结合片段的宿主细胞系和方法是已知的(参见例如PCT公开号WO2016/181357;Suzuki等人,Clin.Cancer Res.13(6):1875-82(2007);Huang等人,mAbs 6:1-12(2018))。

[0274] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含重链,该重链在铰链、CH2和/或CH3中(或在Fc中)包含一个或多个突变,其中抗体或抗原结合片段相对于例如包含参考野生型Fc多肽和/或包含已知变体Fc多肽的抗体或抗原结合片段具有一种或多种改善的特性。当前公开的Fc变体具有例如:增加的与一种或多种人FcγRA(例如,FcγRIIA和/或FcγRIIIA)的结合;降低/减弱的与人FcγRIIB的结合;相比于与人FcγRIIB的结合,增加的与一种或多种人FcγRA的结合;相比于已知的Fc多肽,增加的热稳定性;增加的与人C1q的结合;在表达FcγRIIIA的宿主细胞中增加的人FcγRIIIA信号传导;在表达FcγRIIA的宿主

细胞中增加的人Fc γ RIIIA信号传导;在表达Fc γ RIIB的宿主细胞中减少的人Fc γ RIIB信号传导;相比于Fc γ RIIB,与Fc γ RA的结合的相对增加;相比于已知的Fc多肽,改善的生产质量;以及此类特征的组合。

[0275] 在某些实施方案中,包含本公开的变体Fc多肽的抗体提供令人惊讶的优点,诸如以下的任何一种或多种:与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,对一种或多种人Fc γ RA的增加的结合亲和力(例如,如通过例如使用Biacore仪器的表面等离子体共振确定的,和/或如通过电化学发光测定法诸如meso scalediscovery(MSD)测定法确定的)和/或诱导一种或多种人Fc γ RA的增加的信号传导(例如,如使用(1)Fc变体抗体、(2)抗原表达靶细胞和(3)表达一种或多种人Fc γ RA、任选地驱动报告基因诸如例如GFP或荧光素酶的表达的报告细胞来确定的);与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,对人Fc γ RIIB的降低的结合亲和力和/或诱导人Fc γ RIIB的降低的信号传导;跨越人Fc γ RIIA-H、人Fc γ RIIA-R、人Fc γ RIIB、人Fc γ RIIIA-F和人Fc γ RIIIA-V的独特且任选改善的结合谱,其中改善的结合包括与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,相对于对抑制性Fc γ R信号传导的结合和/或激活,对Fc γ RA信号传导的结合和/或激活的总体增加;与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,对人C1q的增加的结合亲和力;与不含突变和/或岩藻糖基化状态的变体Fc多肽或其片段相比,对热稳定性没有不利影响或基本上没有不利影响,对热稳定性的降低的负面影响(例如,包含突变G236A、A330L和I332E的人IgG1 Fc(例如,与包含具有突变G236A、A330L和I332E的人IgG1 Fc的抗体相比,对解链温度具有更小的降低作用或没有降低作用,或具有比包含具有突变G236A、A330L和I332E的人IgG1 Fc的抗体更高的解链温度));与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体(例如,包含具有突变G236A、A330L和I332E的人IgG1 Fc的抗体)相比,增加自然杀伤细胞和/或PBMC(例如,表达F158/V158或V158/V158 Fc γ RIIIA)对抗原表达靶细胞的特异性裂解(例如,经由ADCC);与包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,增加单核细胞(例如,CD14+单核细胞,任选地表达F158/V158 Fc γ RIIA和R131/H131 Fc γ RIIA或F158/F158 Fc γ RIIA和R131/H131 Fc γ RIIA)对抗原表达靶细胞的ADCP;与当与该抗原组合提供时包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,当与该抗原组合提供时,增加样品中的CD83+细胞(例如,moDC)的百分比和/或增加moDC对CD83的表达;与当与该抗原组合提供时包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,当与该抗原组合提供时,增加样品中的moDC产生一种或多种细胞因子(任选地选自由IL-1β、IFN- γ 、IL-6和TNF-α组成的组);并且/或者与当与该抗原组合提供给moDC时包含不含突变和/或岩藻糖基化状态的参考Fc多肽的抗体相比,当与该抗原组合提供给moDC时,增加moDC刺激抗原特异性CD4+T细胞的能力,其中任选地,(1)moDC和CD4+T细胞来自相同的(任选地经抗原接种的)受试者,并且/或者(2)通过抗原特异性CD4+T细胞的CD25表达的增加和/或增殖的增加(例如,如通过CFSE染色随时间的减弱所确定的)和/或CD69表达的增加和/或NF AT表达的增加和/或CD44表达的增加来确定对抗原特异性CD4+T细胞的刺激。

[0276] 在一些实施方案中,与参考野生型Fc或Fc片段相比,本公开的工程化Fc或Fc片段(或包含其的多肽)包含两个或更多个置换突变,并且两个或更多个置换的组合效应不同于并且任选地大于基于单独组分置换突变的效应和/或基于两个或更多个置换突变的子集的

效应所预期的。换句话讲,在一些实施方案中,以单独组分突变和/或其子集为参考,组合突变具有非加性或协同效应。

[0277] 在一些实施方案中,当前公开的包含Fc变体的抗体或抗原结合片段具有诸如效应子功能、结合人C1q的能力、诱导Fc γ RA介导的细胞信号传导的能力、与人FcRn结合的能力、促进ADCP的能力、促进ADCC的能力、促进CD4+T细胞激活的能力等特性。

[0278] 当前公开的多肽包括那些包含以下的变体的多肽:IgG Fc多肽或其片段,其中与IgG Fc多肽或其片段相比,该变体包含一个或多个修饰。应当理解,除非另有说明,否则"参考"多肽或抗体(例如,参考IgG Fc多肽或其片段、参考抗体、参考CH2多肽、参考IgG铰链-CH2、参考IgG铰链-Fc多肽、参考CH3多肽)优选地除了所陈述的一个或多个差异之外,与所陈述的分子(例如,Fc多肽或其片段的变体;包含这种变体的多肽;包含Fc多肽变体的抗体)相同。

[0279] 例如,应当理解,对于在EU位置236处包含丙氨酸(A)氨基酸的变体IgG1 Fc多肽,参考Fc多肽包括除了在EU位置236处发现天然甘氨酸(G)氨基酸之外与变体在其他方面相同的IgG1 Fc多肽。作为另一个示例,对于Fc多肽片段的变体(例如,含有CH2及CH3的一部分),参考Fc多肽片段优选地与变体具有相同的长度并且优选地与变体仅在所陈述的特征(例如,存在于变体中的一个或多个氨基酸突变)上不同。在一些实施方案中,参考Fc多肽、Fc多肽片段或抗体包含野生型氨基酸序列(例如,野生型人IgG1)。除了存在于变体中的所陈述的差异之外,参考Fc多肽、Fc多肽片段或抗体将与变体具有相同的同种型,并且优选地具有相同的同种异型。在参考抗体的情况下,Fab或其他抗原结合结构域将优选地与包含变体Fc多肽或其片段的指定抗体中存在的那些相同。

[0280] 在一些实施方案中,与参考(例如,野生型)IgG Fc多肽或其片段相比,IgG Fc多肽或其片段的变体包含一个或多个氨基酸置换。在本文中,变体IgG Fc多肽或片段中氨基酸的位置可通过参考"EU位置"来描述。应当理解,"EU位置"遵循如Kabat中所列出的EU编号系统。作为说明,应当理解,在下面提供的人IgG1 CH1-CH3氨基酸序列的示例中,第一个氨基酸(A)对应于EU位置118,并且最后一个氨基酸(K)对应于EU位置447:

[0281] ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS

[0282] WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT

[0283] YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG

[0284] PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW

[0285] YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVS VLT VLHQDWLNGK

[0286] EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE

[0287] LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV

[0288] LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT

[0289] QKSLSLSPGK

[0290] 因此,应当理解,除非另外指明,否则所陈述的氨基酸的位置遵循人IgG1的EU编号,即使完整抗体重链、完整CH1-CH3、完整CH2-CH3等不存在或没有明确陈述。换句话讲,例如,如果仅描述铰链-CH2并且CH3和/或CH1可不存在,则参考EU编号来描述铰链-CH2中氨基酸的位置,除非另有说明。免疫球蛋白G重链恒定结构域的EU编号、Kabat编号、IMGT外显子编号和IMGT独特编号之间的对应关系是本领域已知的,并且示于例如IMGT科学图表中

(www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html;2001年5月17日创建,2021年5月23日访问,最后更新于2020年1月20日)。

[0291] 本公开的Fc变体(岩藻糖基化的,除非另外指明)的某些实施方案及其非限制性性质总结于表B中。

[0292] 表B.某些Fc变体及其性质

[0293]

变体（相对于野生型人 IgG1 Fc 的置换突变）	与岩藻糖基化野生型人 IgG1 相比，所指示的变体的某些性质
G236A_L328V_Q295E	增加的与人 FcγRIIa（H131 等位基因和 R131 等位基因）的结合；可比或降低的与人 FcγRIIb 的结合（例如，通过 MSD 测定法和/或表面等离子体共振）；增加的如下两者的比率：与人 FcγRIIa（H131 等位基因或 R131 等位基因）的结合相对于与人 FcγRIIb 的结合;可比的与人 FcRn 的结合；可比的生产滴度；宿主细胞中增加的经由 FcγRIIa 的信号传导和/或宿主细胞中减少的经由 FcγRIIb 的信号传导；与野生型的偏差在 12°C或更小以内的 Tm; G236S_R292P_Y300L 具有改善的与 C1q 的结合
G236A_P230A_Q295E	
G236A_R292P_I377N	
G236A_K334A_Q295E	
G236S_R292P_Y300L	
G236A_Y300L	增加的与人 FcγRIIa（H131（超过 18 倍）和 R131（超过 4 倍））的结合；类似的与人 FcγRIIb 的结合或降低的与人 FcγRIIb 的结合（例如，如通过表面等离子体共振测量的）；增加的如下两者的比率：与人 FcγRIIa（H131 或 R131）的结合相对于与人 FcγRIIb 的结合；可比的与人 FcRn 的结合；可比的生产滴度；宿主细胞中增加的经由 FcγRIIa 的信号传导和/或宿主细胞中减少的经由 FcγRIIb 的信号传导；与野生型的偏差在 4.5°C以内的

[0294]

变体（相对于野生型人 IgG1 Fc 的置换突变）	与岩藻糖基化野生型人 IgG1 相比，所指示的变体的某些性质
	Tm
G236A_R292P_Y300L	增加的与人 FcγRIIa（H131（超过 14 倍）和 R131（超过 2.7 倍））的结合；类似的与人 FcγRIIb 的结合；增加的如下两者的比率：与人 FcγRIIa（H131 或 R131）的结合相对于与人 FcγRIIb 的结合；增加的与人 FcγRIIIa（V158 等位基因和 F158 等位基因）的结合；可比的与人 FcRn 的结合；可比的生产滴度；宿主细胞中增加的经由 FcγRIIa 和/或 FcγRIIIa 的信号传导和/或宿主细胞中减少的经由 FcγRIIb 的信号传导；宿主细胞中增加的经由 FcγRIIa 的信号传导和/或宿主细胞中减少的经由 FcγRIIb 的信号传导；与野生型的偏差在 4℃以内的 Tm；可比的与人 C1q 的结合
G236S_G420V_G446E_L309T	增加的与人 FcγRIIa 的结合，降低的与人 FcγRIIb 的结合（小于 0.5 倍）；增加的如下两者的比率：与人 FcγRIIa（H131 或 R131）的结合相对于与人 FcγRIIb 的结合；可比的与人 FcRn 的结合；可比的生产滴度；宿主细胞中增加的经由 FcγRIIa 和/或 FcγRIIIa 的信号传导和/或宿主细胞中减少的经由 FcγRIIb 的信号传导；与野生型的偏差在 4℃或更小以内的 Tm
G236A_R292P	
R292P_Y300L	增加的与人 FcγRIIIa（V158 和 F158）的

[0295]

变体（相对于野生型人 IgG1 Fc 的置换突变）	与岩藻糖基化野生型人 IgG1 相比，所指示的变体的某些性质
	结合；增加的与人 C1q 的结合；与野生型的偏差在 4℃以内的 Tm
Y300L	增加的与人 C1q 的结合
E345K_G236S_L235Y_S267E	
E272R_L309T_S219Y_S267E	
G236Y	
G236W	
F243L_G446E_P396L_S267E	
G236A（去岩藻糖基化）	增加的与人 FcγRIIa（H131）和小鼠 FcγRIIa（R131）的结合，降低的与人 FcγRIIb 的结合，增加的与人 FcγRIIIa（V158）和小鼠 FcγRIIIa（F158）的结合，增加的与人 FcγRIIIb 的结合，稍微降低的与人 FcRn 的结合，与野生型的偏差在 0.15℃以内或与野生型的偏差在 0.9℃以内或与野生型的偏差在 0.8℃以内或与野生型的偏差在 0.7℃以内的 Tm
S239D_H268E_G236A	增加的与所测试的所有人 FcγR 的结合和经由所测试的所有人 FcγR 的信号传导：FcγRIIA（H131）；FcγRIIA（R131）；FcγRIIB；FcγRIIIA（V158）；FcγRIIIA（F158）；FcγRIIIB；另外，当携带 S239D_H268E_G236A_M428L_N434S 的抗 HBV 抗体与 hBsAg 组合时，将由此形成的免疫复合物与 MoDC 一起温育；与仅携带 M428L_N434S 的抗体相比，

[0296]

变体（相对于野生型人 IgG1 Fc 的置换突变）	与岩藻糖基化野生型人 IgG1 相比，所指示的变体的某些性质
	MoDC 与供体 CD4+ T 细胞的后续温育导致 NFAT+CD69+CD3+CD4+ T 细胞的百分比增加。

[0297] 所公开的含Fc变体的抗体的附加特征在本发明实施例和附图中示出,并且在本文中描述。

[0298] 应当理解,存在于变体中的两个或更多个氨基酸置换可以以多种方式表达,例如作为G236A_Y300L或作为G236A/Y300L表达。此外,可使用包括原始氨基酸和由置换产生的氨基酸的简短形式来提及突变或组合突变。例如,G236A可被描述为“GA”或“236A”;G236A_Y300L可被描述为“GAYL”;G236A_L328V_Q295E可被描述为“GALVQE”;G236A_R292P_Y300L可被描述为“GARPYL”,G236A_R292P_I377N可被描述为“GARPIN”等。

[0299] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,Fc多肽或其片段的变体可衍生自或包含人Fc多肽或其片段,并且/或者可衍生自或包含人IgG1、人IgG2、人IgG3或人IgG4同种型。在该上下文中,表述“衍生自”是指除了指定修饰(例如,氨基酸置换)之外,变体与所提及的多肽或同种型相同。举例来说,包含野生型人IgG1 Fc氨基酸序列但氨基酸置换突变G236A_L328V_Q295E(以及任选地,其他氨基酸置换)除外的变体Fc多肽可称作“衍生自”野生型人IgG1 Fc。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,多肽、CH2、Fc、Fc片段或抗体可包含人Ig序列,诸如人IgG1序列。在一些实施方案中,多肽、CH2、Fc、Fc片段或抗体可包含天然或野生型人Ig序列但所述突变除外,或可包含含有一个或多个附加突变的人Ig(例如,IgG)序列。

[0300] 抗体或抗原结合片段可以是任何同种异型或同种异型的组合。“同种异型”是指在IgG亚类中发现的等位基因变异。例如,同种异型可包括G1m1(或G1m(a))、G1m2(或G1m(x))、G1m3(或G1m(f))、G1m17(或Gm(z))m)、G1m27和/或G1m28(G1m27和G1m28已被描述为“异形同种异型(alloallotype)”)。

[0301] G1m3和G1m17同种异型位于CH1结构域中的相同位置(根据EU编号的位置214)。G1m3包含R214(EU),而G1m17包含K214(EU)。G1m1同种异型位于CH3结构域中(在位置356和358(EU)处)并且是指替换E356D和M358L。G1m2同种异型是指位置431(EU)的丙氨酸被甘氨酸替换。G1m同种异型、异形同种异型及其特征是本领域已知的并且描述于例如www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_allotypes.html以及Lefranc,M.-P.和Lefranc,G.Human Gm,Km and Am allotypes and their molecular characterization:a remarkabledemonstration of polymorphism,载于:B.Tait、F.Christiansen(编辑),Immunogenetics,第34章,Humana Press,Springer,New York,USA.Methods Mol.Biol.2012;882,635-680。PMID:22665258、LIGM:406,该文献的内容及同种异型和同种异型信息以引用方式并入本文。

[0302] G1m1同种异型可例如与G1m3、G1m 17、G1m27、G1m2和/或G1m28同种异型组合。在一些实施方案中,同种异型是G1m3而没有G1m1(G1m3,-1)。在一些实施方案中,同种异型是G1m17,1同种异型。在一些实施方案中,同种异型是G1m3,1。在一些实施方案中,同种异型是G1m17而没有G1m1(G1m17,-1)。任选地,这些同种异型可与G1m2、G1m27或G1m28同种异型组合(或不组合)。例如,同种异型可以是G1m17,1,2。

[0303] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含G1m3同种异型或G1m3,1同种异型。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含G1m3同种异型并且包含M428L和N434S或M428L和N434A突变或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含G1m3,1同种异型并且包含M428L和N434S或M428L和N434A突变或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含G1m17,1同种异型。在一些

实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含G1m17,1同种异型并且包含M428L和N434S或M428L和N434A突变或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,如本文进一步所述。

[0304] 在某些实施方案中,Fc多肽的变体仅包含指定或陈述的氨基酸突变(例如,置换),并且不包含任何进一步的氨基酸置换或突变;例如,相对于参考多肽(例如,野生型Fc多肽或其片段)。例如,在一些实施方案中,包含氨基酸置换G236A_Y300L的变体Fc多肽不包含任何其他氨基酸置换;即,包含除G236A和Y300L之外为野生型的氨基酸序列。

[0305] 在一些实施方案中,Fc多肽的变体可包含一个或多个附加氨基酸突变(例如,置换),其可被指定(例如,M428L_N434S;M428L_N434A)。在一些实施方案中,一个或多个另外的氨基酸突变在三级结构中在物理上远离所陈述的氨基酸位置,并且/或者具有这样的性质(例如,是保守置换),使得所陈述的Fc变体或其片段的一种或多种功能不降低或降低不超过50%、不超过40%、不超过30%、不超过25%、不超过20%、不超过15%、不超过10%或不超过5%,或降低不超过10倍、不超过9倍、不超过8倍、不超过7倍、不超过6倍、不超过5倍、不超过4倍、不超过3倍、不超过2倍或不超过1.5倍。在一些实施方案中,Fc多肽的变体包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,包括本文所述的那些。

[0306] 在一些实施方案中,提供了一种抗体或抗原结合片段(在本文中进一步描述),其在(例如,人)IgG1重链中包含(i)至(xviii)中任一项所列出的氨基酸突变:(i)G236A、L328V和Q295E;(ii)G236A、P230A和Q295E;(iii)G236A、R292P和I377N;(iv)G236A、K334A和Q295E;(v)G236S、R292P和Y300L;(vi)G236A和Y300L;(vii)G236A、R292P和Y300L;(viii)G236S、G420V、G446E和L309T;(ix)G236A和R292P;(x)R292P和Y300L;(xi)G236A和R292P;(xii)Y300L;(xiii)E345K、G236S、L235Y和S267E;(xiv)E272R、L309T、S219Y和S267E;(xv)G236Y;(xvi)G236W;(xvii)F243L、G446E、P396L和S267E;(xviii)G236A、S239D和H268E,其中氨基酸残基的编号是根据Kabat中列出的EU索引。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含增强与人FcRn的结合的一个或多个突变,诸如M428L和N434S突变或M428L和N434A突变(EU编号)或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。在一些实施方案中,IgG1重链包含CH1-CH3或CH2-CH3或铰链-CH2-CH3,其中CH1-CH3或CH2-CH3或铰链-CH2-CH3分别与野生型人IgG1 CH1-CH3或CH2-CH3或铰链-CH2-CH3具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)。在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含Fc变体,该Fc变体包含与SEQ ID NO.:69-95中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列。

[0307] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:69-95中任一项所列出的氨基酸序列或其变体,例如,该变体还包含增强与人FcRn的结合的一个或多个突变,诸如M428L和N434S突变或M428L和N434A突变(EU编号)或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,包括本文所述的那些。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO.:69-95中任一项所列出的氨基酸序列的不同之处仅在于一个或多个IgG1同种异型

特异性突变和/或存在M428L和N434S突变或M428L和N434A突变或增强与人FcRn的结合的其他突变。

[0308] 本公开的抗体或抗原结合片段可以是岩藻糖基化的(例如,包含一个或多个岩藻糖基部分,并且通常包含天然(野生型)岩藻糖基化模式或与天然相比具有一个或多个附加或更少的岩藻糖基部分的岩藻糖基化模式),或可以是去岩藻糖基化的。具体地,天然IgG1抗体在N297处携带聚糖位点,并且这通常是在抗体中可发现核心岩藻糖部分的唯一位点,但一些聚糖位点可在抗体开发期间通过突变(例如,在可变结构域中)产生。可通过引入氨基酸突变以引入或破坏岩藻糖基化位点(例如,在N297处的突变,诸如N297Q或N297A,以破坏可包含核心岩藻糖部分的聚糖的形成)来影响抗体或抗原结合片段的岩藻糖基化,但通常优选维持N297及其聚糖,诸如通过在已经过基因工程化而缺乏使抗体或抗原结合片段岩藻糖基化的能力(或具有被抑制的或受损的能力)的宿主细胞中表达抗体或抗原结合片段;通过在宿主细胞使多肽岩藻糖基化的能力受损的条件下(例如,在存在2-氟-L-岩藻糖(2FF)的情况下)表达抗体或抗原结合片段,等等。去岩藻糖基化抗体或抗原结合片段可不包含岩藻糖部分,或基本上不包含岩藻糖部分,并且/或者可由经过基因工程化而缺乏使抗体或抗原结合片段岩藻糖基化的能力(或具有被抑制的或受损的能力)的宿主细胞表达,并且/或者可在宿主细胞使抗体或抗原结合片段岩藻糖基化的能力受损的条件下(例如,在存在2-氟-L-岩藻糖(2FF)的情况下)表达。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段在Asn297处不包含核心岩藻糖部分。在一些实施方案中,去岩藻糖基化抗体或抗原结合片段具有增加的与Fcγ RIIIA的结合。在一些上下文中,向包含表达抗体的宿主细胞的培养基中添加2FF导致约85%或更多的抗体或抗原结合片段不携带岩藻糖部分。因此,当在存在2FF或类似试剂的情况下产生多种抗体或抗原结合片段时,该多种抗体或抗原结合片段可被描述为“去岩藻糖基化的”。在一些上下文中,多种抗体或抗原结合片段可被描述为例如去岩藻糖基化的,这意味着该多种抗体或抗原结合片段中约85%或更多的单种抗体或抗原结合片段分子不包含岩藻糖部分。在某些优选的实施方案中,去岩藻糖基化抗体或抗原结合片段或其群体或多种去岩藻糖基化抗体或抗原结合片段在EU位置297处包含天冬酰胺(N)。岩藻糖基化或其缺乏可使用例如质谱法(例如,电喷雾质谱法(ESI-MS))来评估。在一些实施方案中,提供包含当前公开的抗体或抗原结合片段中的任何一者或多者的多种的组合物,其中该组合物包含去岩藻糖基化抗体或抗原结合片段。

[0309] 在某些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段的当前公开的变体具有不同于(例如,与之相比改善)包含以下一个或多个突变的参考Fc多肽的对应功能的一种或多种功能:G236A;G236S;G236A_A330L_I332E;G236A_A330L_I332E_M428L_N434S;A330L_I332E;或G236A_S239D_A330L_I332E。例如,在某些实施方案中,与包含以下一个或多个突变的参考Fc多肽相比,IgG Fc多肽或其片段的当前公开的变体具有以下性质中的一种或多种性质:G236A;G236S;G236A_A330L_I332E;G236A_A330L_I332E_M428L_N434S;A330L_I332E;或G236A_S239D_A330L_I332E:增加的与人Fcγ RIIa H131的结合(例如,亲和力)和/或经由人Fcγ RIIa H131的信号传导;增加的与人Fcγ RIIa R131的结合(例如,亲和力)和/或经由人Fcγ RIIa R131的信号传导;降低的与人Fcγ RIIb的结合(例如,亲和力)和/或经由人Fcγ RIIb的信号传导;增加的如下两者的比率:与人Fcγ RIIa(H131、R131或两者)的结合(例如,亲和力)和/或经由人Fcγ RIIa(H131、R131或两者)的信号传导相对于(分别)与人Fcγ RIIb

的结合或经由人Fc γ RIIb的信号传导;增加的与人Fc γ RIIIa(V158、F158或两者)的结合(例如,亲和力)和/或经由人Fc γ RIIIa(V158、F158或两者)的信号传导;增加的与人C1q的结合(例如,亲和力);更高的Tm;改善的生产滴度;宿主细胞中改善的经由Fc γ RIIa(H131、R131或两者)的信号传导;当存在抗原递呈细胞时,增加的由人NK细胞和/或人PBMC对ADCP和/或ADCC的促进作用;以及当与抗原形成免疫复合物时,改善的刺激moDC的能力。

[0310] 在本公开中,变体Fc多肽或片段的结合可被描述为相比于比较物(例如,对于参考野生型IgG1 Fc,或对于除M428L和N434S突变外或除M428L和N434A突变外为野生型的参考IgG1 Fc,或对于包含G236A_A330L_I332E突变的变体IgG1 Fc)与相同结合伴侣的结合有所增加(或"较之更大"等)或有所降低(或"减小"或"较之更小"等)。变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或多肽)与结合伴侣(例如,人Fc γ R、FcRn或C1q)之间的结合相互作用可优选地使用电化学发光测定法来确定,更优选地使用Meso Scale Discovery("MSD";mesoscale.com)平台来确定。MSD结合测定法类似于ELISA,但MSD使用电化学发光而不是比色法作为检测技术。用于测量结合相互作用的其他技术是已知的,并且包括例如ELISA、表面等离子体共振(SPR)、生物层干涉测量法(BLI)等。

[0311] 在一些实施方案中,结合包括亲和力、亲合力或两者。亲和力是指结合分子与其结合伴侣之间的键的强度。在一些上下文中,结合可包括亲和力和/或亲合力。除非另外指明,否则亲合力是指分子与结合伴侣的总结合强度,并反映结合亲和力、结合位点的效价(例如,Fc多肽是否包含一个、两个或更多个结合位点),以及例如是否存在可影响结合的另一种试剂(例如,Fc多肽的非竞争性抑制剂)。

[0312] 本公开的变体分子与结合伴侣之间的结合相互作用可按照相对于参考分子与结合伴侣之间的结合相互作用的倍数变化来表达。例如,当前公开的包含变体Fc的抗体与人Fc γ RIIa的结合可比包含野生型Fc的抗体与人Fc γ RIIa的结合更强,并且变体的相对增加的强度可按照相对于使用相同测定法的参考分子结合的倍数变化(例如,曲线下面积的线性标度)来表达。例如,变体Fc多肽或片段以比参考Fc多肽或片段与Fc γ RIIa结合大2倍、3倍、4倍或5倍的结合强度来与Fc γ RIIa结合。作为另一个示例,与参考Fc或其片段相比,变体Fc多肽或其片段可能以较弱的强度与Fc γ RIIb结合;例如,与参考Fc多肽或其片段相比,可具有0.9倍结合、0.8倍结合、0.7倍结合、0.6倍结合等。应当理解,例如,表述"与参考的结合相比大2倍的结合"是指与参考相比结合增加2倍。

[0313] 此外,本公开的变体Fc分子与两个不同伴侣分子的结合可按照比率来描述,并且该比率可与利用相同测定法用参考分子获得的类似比率进行比较。例如,变体Fc多肽与人Fc γ RIIa H131的结合强度可以是其与人Fc γ RIIb的结合强度的五倍,而参考野生型Fc多肽与Fc γ RIIa H131的结合强度和其与人Fc γ RIIb的结合强度一样。在该示例中,可称变体Fc多肽具有5:1(结合Fc γ RIIIa H131:结合Fc γ RIIb)结合比率,其可与参考野生型Fc多肽的1:1(结合Fc γ RIIIa H131:结合Fc γ RIIb)结合比率进行比较。

[0314] 本公开的变体Fc分子还可按照在宿主细胞中诱导信号传导的能力来描述,其中宿主细胞表达或过表达一种或多种Fc γ R(例如,Fc γ RIIa H131、Fc γ RIIa R131、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa F158或Fc γ RIIIa V158),并且信号传导通过变体分子与Fc γ R的结合来诱导。可用于确定信号传导的报告细胞包括例如其中NF AT驱动荧光素酶报告基因表达的细胞(例如,可从Promega®获得)。

[0315] 除非另有说明,否则如本文所述的Fc γ R、FcRn和C1q是人的。

[0316] 在一些实施方案中,包含变体Fc多肽或片段的抗体或抗原结合片段优选地能够诱导以下的一种或多种:抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP);和补体依赖性细胞毒作用。用于测量这些功能的测定法是已知的。

[0317] 在一些实施方案中,分别与参考Fc多肽、片段、抗体或抗原结合片段相比,变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)优选地具有可比的与人FcRn的结合(例如,在pH 6.0下)和/或在哺乳动物中可比的体内半衰期。

[0318] 在一些实施方案中,分别与参考Fc多肽、片段、抗体或抗原结合片段相比,变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)优选地具有增加的与人FcRn的结合(例如,在pH 6.0下)和/或在哺乳动物中增加的体内半衰期。

[0319] 在一些实施方案中,变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)的解链温度(Tm)优选地比参考Fc多肽(或包含其的抗体或抗原结合片段)的Tm低小于12℃、小于11℃、小于10℃、小于9℃、小于8℃、小于7℃、小于6℃、小于5℃、小于4℃、小于3℃、小于2℃或小于1℃,或Tm高于参考Fc多肽或片段(或包含其的多肽或抗体)的Tm。在一些实施方案中,参考多肽或片段是或包含野生型人Fc多肽(或包含其的抗体)。

[0320] 在一些实施方案中,变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)的解链温度高于包含突变G236A、A330L、I332E以及任选地M428L和N434S的参考Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)的解链温度。

[0321] 在一些实施方案中,与参考Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)相比,变体Fc多肽或片段(或包含其的抗体或抗原结合片段)优选地能够在宿主细胞系(例如,CHO细胞系)中至少约同样有效地产生(例如,产生至少约相同的滴度和/或在少小于0.1倍、小于0.09倍、小于0.08倍、小于0.07倍、小于0.06倍、小于0.05倍、小于0.04倍、小于0.03倍、小于0.02倍或小于0.02倍内)。

[0322] 在某些实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置328处包含缬氨酸(V),并在EU位置295处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GALVQE”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0323] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG铰链-CH2多肽;或(ii)IgG铰链-Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置230处包含丙氨酸(A),并在EU位置295处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GAPAQE”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0324] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置292处包含脯氨酸

(P),并在EU位置377处包含天冬酰胺(N)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GARPIN”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0325] 在某些其他实施方案中,抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置334处包含丙氨酸(A),并在EU位置295处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GAKAQE”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0326] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丝氨酸(S),在EU位置292处包含脯氨酸(P),并在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GSRPYL”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0327] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置292处包含脯氨酸(P),并在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GARPYL”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0328] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),并在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GAYL”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0329] 在某些其他实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽;或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置239处包含天冬氨酸(D),并在EU位置268处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GASDHE”)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段还包含突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0330] 在一些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段分别与人Fc γ RIIa或人Fc γ RIIb

的结合相比,抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γ RIIa的结合和/或具有降低的与人Fc γ RIIb的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。

[0331] 在某些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γ RIIa的结合相比,增加的与人Fc γ RIIa的结合包括大超过1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍的与人Fc γ RIIa的结合。

[0332] 在一些实施方案中,人Fc γ RIIa包含H131,并且任选地,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γ RIIa H131的结合相比,增加的与人Fc γ RIIa H131的结合包括大至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍的与人Fc γ RIIa H131的结合。

[0333] 在一些实施方案中,人Fc γ RIIa包含R131,并且任选地,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γ RIIa R131的结合相比,增加的与人Fc γ RIIa R131的结合包括大超过1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍的与人Fc γ RIIa R131的结合。

[0334] 在一些实施方案中,降低的与人Fc γ RIIb的结合包括小于0.9倍、小于0.8倍、小于0.7倍、小于0.6倍或介于0.5倍与0.9倍之间的参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γ RIIb的结合。

[0335] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,(1)(i)抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相对于(ii)抗体或抗原结合片段分别与人Fc γ RIIb的结合的比率大于(2)(iii)参考多肽与人Fc γ RIIa的结合相对于(iv)参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIb的结合的比率,其中参考抗体或抗原结合片段任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,人Fc γ RIIa包含H131、R131或两者。在一些实施方案中,(1)中的比率比(2)中的比率大超过1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍或至少14倍。

[0336] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),并在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GAYL”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0337] 在一些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相比,抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γ RIIa的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。

[0338] 在一些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γ RIIa的结合相比,增加的与人Fc γ RIIa的结合包括大至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍或至少18倍的与人Fc γ RIIa的结合。

[0339] 在一些实施方案中,人Fc γRIIa包含H131,并且任选地,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γRIIa H131的结合相比,增加的与人Fc γRIIa H131的结合包括大至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、或至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍或至少18倍的与人Fc γRIIa H131的结合。

[0340] 在一些实施方案中,人Fc γRIIa包含R131,并且任选地,与参考抗体或抗原结合片段(任选地包含野生型人IgG(例如,IgG1)Fc多肽或其片段)与人Fc γRIIa R131的结合相比,增加的与人Fc γRIIa R131的结合包括大至少4倍的与人Fc γRIIa R131的结合。

[0341] 在某些实施方案中,(1)(i)抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa的结合相对于(ii)抗体或抗原结合片段分别与人Fc γRIIb的结合的比率大于(2)(iii)参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa的结合相对于(iv)参考多肽与人Fc γRIIb的结合的比率,其中参考抗体或抗原结合片段包含野生型人IgG Fc多肽或其片段。在某些实施方案中,人Fc γRIIa包含H131、R131或两者。在另外的实施方案中,(1)中的比率比(2)中的比率大至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍或至少17倍。

[0342] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置292处包含脯氨酸(P),并在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GARPYL”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0343] 在某些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIIa的结合相比,抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γRIIIa的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。

[0344] 在一些实施方案中,与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa的结合相比,增加的与人Fc γRIIa的结合包括大至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍或至少14倍的与人Fc γRIIa的结合。

[0345] 在一些实施方案中,人Fc γRIIa包含H131,并且任选地,与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa H131的结合相比,增加的与人Fc γRIIa H131的结合包括大至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍或至少14倍的与人Fc γRIIa H131的结合。

[0346] 在一些实施方案中,人Fc γRIIa包含R131,并且任选地,与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa R131的结合相比,增加的与人Fc γRIIa H131的结合包括大至少2倍的与人Fc γRIIa R131的结合。

[0347] 在某些实施方案中,(1)(i)抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa的结合相对于(ii)抗体或抗原结合片段分别与人Fc γRIIb的结合的比率大于(2)(iii)参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIa的结合相对于(iv)参考抗体或抗原结合片段与人Fc γRIIb的结合的比

率,其中参考抗体或抗原结合片段任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,人Fc γ RIIa包含H131、R131或两者。在一些实施方案中,(1)中的比率比(2)中的比率大至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍或至少15倍。

[0348] 在某些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIIa的结合相比,抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γ RIIIa的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,人Fc γ RIII包含V158、F158或两者。在某些另外的实施方案中,与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIIa的结合相比,增加的与人Fc γ RIIIa的结合包括大超过2倍、至少2.1倍、至少2.2倍、至少2.3倍、至少2.4倍、至少2.5倍、至少2.6倍、至少2.7倍、至少2.8倍、至少2.9倍、至少3.0倍、至少3.1倍、至少3.2倍、至少3.3倍、至少3.4倍、至少3.5倍、至少3.6倍或至少3.7倍的与人Fc γ RIIIa的结合。

[0349] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够与人补体成分1q(C1q)结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。

[0350] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含IgG Fc多肽的变体,其中该变体在EU位置236处包含丝氨酸(S),在EU位置420处包含缬氨酸(V),在EU位置446处包含谷氨酸(E),并在EU位置309处包含苏氨酸(T)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GSGVGELT”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0351] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),并在EU位置292处包含脯氨酸(P)。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GARP”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0352] 在某些实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIb的结合相比,抗体或抗原结合片段具有降低的与人Fc γ RIIb的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIb的结合相比,降低的与人Fc γ RIIb的结合包括小于0.9倍、小于0.8倍、小于0.7倍、小于0.6倍、小于0.5倍或小于0.4倍。

[0353] 在另外的实施方案中,与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相比,抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γ RIIa的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。

[0354] 在一些实施方案中,与包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相比,增加的与人Fc γ RIIa的结合包括大超过1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍的与人Fc γ RIIa的结合。

[0355] 在某些实施方案中,人Fc γ RIIa包含H131、R131或两者。

[0356] 在一些实施方案中,(1)(i)抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相对于(ii)抗体或抗原结合片段分别与人Fc γ RIIb的结合的比率大于(2)(iii)抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相对于(iv)参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIb的结合的比率,其中参考抗体或抗原结合片段任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,人Fc γ RIIa包含H131、R131或两者。在某些实施方案中,(1)中的比率比(2)中的比率大至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少10倍、至少11倍或至少12倍。

[0357] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽,其中该变体在EU位置292处包含脯氨酸(P)并在EU位置300处的亮氨酸(L),并且其中与参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIIa的结合相比,任选地变体和进一步任选地抗体或抗原结合片段具有增加的与人Fc γ RIIIa的结合,其中任选地,使用电化学发光测定法,进一步任选地使用Meso Scale Discovery来确定结合。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 CH2多肽或IgG Fc多肽(“RPYL”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0358] 在某些实施方案中,人Fc γ RIIIa包含V158、F158或两者,并且其中与任选地包含野生型人IgG Fc多肽或其片段的参考抗体或抗原结合片段与人Fc γ RIIa的结合相比,增加的与人Fc γ RIIIa的结合包括大至少4倍、至少4.5倍、至少5倍、至少5.1倍或至少5.2倍的结合。

[0359] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置300处包含亮氨酸(L)。在一些实施方案中,IgG CH2多肽或IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“YL”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0360] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置345处包含赖氨酸(K),在EU位置236处包含丝氨酸(S),在EU位置235处包含酪氨酸(Y),并在EU位置267处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段(“GSEKLYSE”)。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0361] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG铰链-CH2多肽或(ii)IgG铰链-Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置272处包含精氨酸(R),在EU位置309处包含苏氨酸(T),在EU位置219处包含酪氨酸(Y),并在EU位置267处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG铰链-CH2多肽或IgG铰链-Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1铰链-CH2多肽或IgG铰链-Fc多肽或其片段(“SYSEERLT”)。在某些另外的实施

方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0362] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含酪氨酸(Y)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段("GY")。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0363] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含色氨酸(W)。在一些实施方案中,IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 CH2多肽或Fc多肽或其片段("GW")。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0364] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),其中IgG Fc多肽或其片段和任选地该多肽是去岩藻糖基化的,并且其中进一步任选地,该变体在EU位置330处包含亮氨酸(L)并在EU位置332处包含谷氨酸(E),其中更进一步任选地,该变体在EU位置239处不包含天冬氨酸(D),并且甚至进一步任选地,在EU位置239处包含丝氨酸(S)。在一些实施方案中,IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 CH2多肽或Fc多肽或其片段(分别为"GA-afuc"或"GAALIE-afuc")。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。

[0365] 还提供了本公开的抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置243处包含亮氨酸(L),在EU位置446处包含谷氨酸(E),在EU位置396处包含亮氨酸(L),并在EU位置267处包含谷氨酸(E)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段("FLSEPLGE")。在某些另外的实施方案中,存在突变M428L和N434S或突变M428L和N434A或增强与人FcRn的结合的任何其他突变,诸如本文所述的那些。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。

[0366] 还提供了一种抗NA抗体或抗原结合片段,其包含以下的变体:(i)IgG CH2多肽或(ii)IgG Fc多肽或其片段,其中该变体在EU位置236处包含丙氨酸(A),在EU位置239处包含天冬氨酸(D),在EU位置332处包含谷氨酸(E),在EU位置428处包含亮氨酸(L),并在EU位置434处包含丝氨酸(S)或丙氨酸(A)。在一些实施方案中,IgG Fc多肽或其片段包含(例如,另外的野生型)IgG1 Fc多肽或其片段("GASDIEMLNS"或"GASDIEMLNA")。

[0367] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含(例如,IgG1)IgG Fc多肽的变体,其中该变体包含根据EU编号的以下突变:(i)M428L、N434S、G236A、L328V和Q295E;(ii)M428L、N434S、G236A、R292P和I377N;(iii)M428L、N434S、G236A和Y300L;(iv)M428L、N434S、G236A、R292P和Y300L;(v)M428L、N434S、G236A、L328V和Q295E,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的;(vi)M428L、N434S、G236A、R292P和I377N,其中抗体或抗原结合片

段是去岩藻糖基化的;(vii)M428L、N434S、G236A和Y300L,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的;或(viii)M428L、N434S、G236A、R292P和Y300L,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。在一些实施方案中,(例如,IgG1)IgG Fc多肽的变体包含基本上由上述(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)、(vii)或(viii)中的置换突变组成的氨基酸置换。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含κ轻链。

[0368] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段包含(例如,IgG1)IgG Fc多肽的变体,其中该变体包含根据EU编号的以下突变:(i)M428L、N434A、G236A、L328V和Q295E;(ii)M428L、N434A、G236A、R292P和I377N;(iii)M428L、N434A、G236A和Y300L;(iv)M428L、N434A、G236A、R292P和Y300L;(v)M428L、N434A、G236A、L328V和Q295E,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的;(vi)M428L、N434A、G236A、R292P和I377N,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的;(vii)M428L、N434A、G236A和Y300L,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的;或(viii)M428L、N434A、G236A、R292P和Y300L,其中抗体或抗原结合片段是去岩藻糖基化的。在一些实施方案中,IgG Fc多肽的变体包含基本上由上述(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)、(vii)或(viii)中的置换突变组成的氨基酸置换。在一些实施方案中,抗体包含κ轻链。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够在受试者体内引发持续的保护,即使在受试者中未发现可检测水平的抗体或抗原结合片段时(即,当抗体或抗原结合片段在施用后已从受试者中清除时)。这种保护在本文中称为疫苗效应。不希望受理论的约束,据信树突细胞可内化抗体和抗原的复合物,然后诱导或促成针对抗原的内源免疫应答。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含一个或多个修饰,诸如例如,Fc中包含G236A、A330L和I332E的突变,其能够激活可诱导例如对抗原的T细胞免疫的树突细胞。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段包含Fc多肽或其片段,包括CH2(或其片段)、CH3(或其片段)、或CH2和CH3,其中CH2、CH3或两者可以是任何同种型,并且与对应的野生型CH2或CH3相比可分别含有氨基酸置换或其他修饰。在某些实施方案中,本公开的Fc包含缔合形成二聚体的两个CH2-CH3多肽。

[0369] 在SEQ ID NO.:69-95中提供了重链或Fc氨基酸序列的非限制性示例-包括包含如本文所公开的氨基酸置换突变的某些序列。在某些实施方案中,本公开的抗NA抗体或抗原结合片段包含重链,该重链包含:与SEQ ID NO.:69-95中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列,或包含SEQ ID NO.:69-95中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成的氨基酸序列。

[0370] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段可以是单克隆的。如本文所用,术语“单克隆抗体”(mAb)是指从基本上均质的抗体群体获得的抗体,即,除了可存在(在一些情况下,少量存在)的可能天然存在的突变之外,构成该群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单个抗原位点。此外,与包含针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,每种单克隆抗体针对抗原的单个表位。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优点还在于它们可在不受其他抗体污染的情况下合成。术语“单克隆”不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,可用于本发明的单克隆抗体可通过首先由Kohler等人,Nature 256:495(1975)描述的杂交瘤方法制备,或可使用重组DNA方法在细菌、真核动物或植物细胞中制备(参见例如,美国专利号4,816,567)。也可使用例如

Clackson等人,Nature,352:624-628(1991)和Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991)中描述的技术从噬菌体抗体文库分离单克隆抗体。也可使用PCT公开号WO 2004/076677A2中公开的方法获得单克隆抗体。

[0371] 本公开的抗体和抗原结合片段包括“嵌合抗体”,其中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的对应序列相同或同源,而该链的其余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的对应序列相同或同源,以及此类抗体的片段,只要它们表现出期望的生物活性即可(参见,美国专利号4,816,567、5,530,101和7,498,415;以及Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。例如,嵌合抗体可包含人和非人残基。此外,嵌合抗体可包含在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。作出这些修饰以进一步改进抗体性能。更多详情,参见Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);以及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。嵌合抗体还包括灵长类动物源化(primatized)和人源化抗体。

[0372] “人源化抗体”通常被认为是具有从非人来源引入其中的一个或多个氨基酸残基的人抗体。这些非人氨基酸残基通常取自可变结构域。人源化可按照Winter及其同事的方法进行(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Reichmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988)),具体方式是用非人可变序列置换人抗体的对应序列。因此,此类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利号4,816,567;5,530,101和7,498,415),其中基本上少于完整的人可变结构域已被来自非人物种的对应序列置换。在一些情况下,“人源化”抗体是由非人细胞或动物产生并包含人序列(例如,He结构域)的抗体。

[0373] “人抗体”是仅含有存在于人产生的抗体中的序列(即,由人抗体编码基因编码的序列)的抗体。然而,如本文所用,人抗体可包含在天然存在的人抗体(例如,从人分离的抗体)中未发现的残基或修饰,包括本文所述的那些修饰和变体序列。通常作出这些以进一步改进或增强抗体性能。在一些情况下,由转基因动物产生人抗体。例如,参见美国专利号5,770,429、6,596,541和7,049,426。

[0374] 在某些实施方案中,本公开的抗体或抗原结合片段是嵌合的、人源化的或人的。

[0375] 在一些实施方案中,药代动力学(“PK”)参数用于描述或表征本文所提供的抗体或抗原结合片段。结合本文的实施例描述了有关为了评估PK参数而收集抗体血清浓度的详情。术语“$t_{1/2}$”或“半衰期”是指向受试者施用的药物组合物中包含的抗体或抗原结合片段的消除半衰期。术语“$C_{最后}$”通常是指最后可测量的血浆浓度(即,在其之后,物质不以可测量的浓度存在于血浆中)。

[0376] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过IMGT编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和

66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。在一些实施方案中,CDRH3和CDRL3根据IMGT定义。在一些实施方案中,CDRH3和CDRL3根据IMGT-连接定义。

[0377] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过Kabat编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0378] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过Chothia编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、

48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0379] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过增强Chothia编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0380] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过AHo编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为

2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0381] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过North编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0382] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过Contact编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0383] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的VH和VL包含如通过Martin编号系统或方法所确定的在如下SEQ ID NO.中列出的VH和VL的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为

50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0384] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:(a)CDRH1包含SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.:47、SEQ ID NO.:49或SEQ ID NO.:55中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(b)CDRH2包含SEQ ID NO.:4、SEQ ID NO.:57或SEQ ID NO.:61中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(c)CDRH3包含SEQ ID NO.:5、SEQ ID NO.:15、SEQ ID NO.:51或SEQ IDNO.:53中列出的氨基酸序列或由其组成,(d)CDRL1包含SEQ ID NO.:9或SEQ ID NO.:32中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(e)CDRL2包含SEQ ID NO.:10中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(f)CDRL3包含SEQ ID NO.:11、18、21、24、33或67中列出的氨基酸序列或由其组成,任选地前提条件是CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3不包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为3-5和9-11;(ii)分别为3、4、15和9-11;(iii)分别为3-5、9、10和18;(iv)分别为3-5、9、10和21;(v)分别为3-5、9-11和24;或(vi)分别为3-5、32、96和33。

[0385] 在某些实施方案中,CDRH3和CDRL3包含如下列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为5和11;(ii)分别为5和18;(iii)分别为5和21;(iv)分别为5和24;(v)分别为5和33;(vi)分别为5和67;(vii)分别为15和11;(viii)分别为15和18;(ix)分别为15和21;(x)分别为15和24;(xi)分别为15和33;(xii)分别为15和67;(xiii)分别为51和11;(xiv)分别为51和18;(xv)分别为51和21;(xvi)分别为51和24;(xvii)分别为51和33;(xviii)分别为51和67;(xix)分别为53和11;(xx)分别为53和18;(xxi)分别为53和21;(xxii)分别为53和24;(xxiii)分别为53和33;或(xxiv)分别为53和67。

[0386] 在某些另外的实施方案中,CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为3-5、9、10和67;(ii)分别为47、4、5和9-11;(iii)分别为47、4、5、9、10和67;(iv)分别为49、4、5和9-11;(v)分别为47、4、5、9、10和67;(vi)分别为55、4、5和9-11;(vii)分别为55、4、5、9、10和67;(viii)分别为3、4、51和9-11;(ix)分别为3、4、51、9、10和67;(x)分别为55、4、5和9-11;(xi)分别为55、4、5、9、10和67;

(xii)分别为3、61、5和9-11;(xiii)分别为3、61、5、9、10和67;或(xiv)分别为3-5和9-11。

[0387] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含(i)重链可变结构域(VH)以及(ii)轻链可变结构域(VL),其中:(i)VH包含SEQ ID NO.:2中列出的VH氨基酸序列的互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(ii)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(iii)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(iv)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(v)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(vi)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(vii)VH包含SEQ ID NO.:46中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(viii)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(ix)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(x)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xi)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xii)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xiii)VH包含SEQ ID NO.:48中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xiv)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xv)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xvi)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xvii)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xviii)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xix)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xx)VH包含SEQ ID NO.:56中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxi)VH包含SEQ ID NO.:56中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxii)VH包含SEQ ID NO.:56中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、

CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxiii)VH包含SEQ ID NO.:56中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxiv)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxv)VH包含SEQ ID NO.:54中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxvi)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxvii)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxviii)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxix)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxx)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxi)VH包含SEQ ID NO.:60中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxii)VH包含SEQ ID NO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxiii)VH包含SEQ ID NO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxiv)VH包含SEQ ID NO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxv)VH包含SEQ ID NO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxvi)VH包含SEQ IDNO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxvii)VH包含SEQ ID NO.:50中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxviii)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxix)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:17中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxx)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:20中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxxi)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:23中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxxii)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:31中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;(xxxxiii)VH包含SEQ ID NO.:52中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:66中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3;或(xxxxiv)VH包含SEQ ID NO.:2中列出的VH氨基酸序列的CDRH1、CDRH2和CDRH3,并且VL包含SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中CDRH1、CDRH2、

CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3任选地根据IMGT编号系统来定义。

[0388] 在某些实施方案中,(i)VH包含与SEQ ID NO.:2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成;并且(ii)VL包含与SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成,任选地前提条件是VH和VL不包含如下列出的氨基酸序列或由其组成:(a)分别为2和8;(b)分别为14和8;(c)分别为2和17;(d)分别为2和20;(e)分别为2和23;或(f)分别为2和31。在一些实施方案中,(i)VH包含与SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列或由其组成,并且(ii)VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0389] 在一些实施方案中,VH和VL与如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性),或包含如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为2和66;(ii)分别为46和8;(iii)分别为46和17;(iv)分别为46和20;(v)分别为46和23;(vi)分别为46和31;(vii)分别为46和66;(viii)分别为48和8;(ix)分别为48和17;(x)分别为48和20;(xi)分别为48和23;(xii)分别为48和31;(xiii)分别为48和66;(xiv)分别为54和8;(xv)分别为54和17;(xvi)分别为54和20;(xvii)分别为54和23;(xviii)54和31;(xix)分别为54和66;(xx)分别为56和8;(xxi)分别为56和17;(xxii)分别为56和20;(xxiii)分别为56和23;(xxiv)分别为54和31;(xxv)分别为54和66;(xxvi)分别为60和8;(xxvii)分别为60和17;(xxviii)分别为60和20;(xxix)分别为60和23;(xxx)分别为60和31;(xxxi)分别为60和66;(xxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxiii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0390] 抗体和抗原结合片段的可变结构域可包含框架区氨基酸序列。可使用例如IMGT、Kabat、Chothia、增强Chothia、Contact、Martin或AHo编号系统或方法鉴定框架区氨基酸序列。在一些实施方案中,VH包含当前公开的VH氨基酸序列的框架区(FR)1、FR2、FR3和/或FR4,或包含所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列的变体,其中与所公开的VH氨基酸序列相比,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,基本上由其组成,或由其组成。在一些实施方案中,所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列的变体分别与所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)。在一些实施方案中,VL包含当前公开的VL氨基酸序列的框架区(FR)1、FR2、FR3和/或FR4,或包含所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列的变体,其中与所公开的VL氨基酸序列相比,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,基本上由其组成,或由其组成。在一些实施方案中,所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列的变体分别与所公开的FR1、FR2、FR3和/或FR4氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)。

[0391] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0392] (1)VH,该VH包含:(i)FR1,该FR1包含如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR1氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,(ii)FR2,该FR2包含如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13中任一项的VH FR2氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,(iii)FR3,该FR3包含如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR3氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,和/或(iv)FR4,该FR4包含如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR4氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失。和/或

[0393] (2)VL,该VL包含(i)FR1,该FR1包含如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR1氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,(ii)FR2,该FR2包含如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR2氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,(iii)FR3,该FR3包含如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-

VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR3氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失,和/或(iv)FR4,该FR4包含如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR4氨基酸序列或其变体、基本上由其组成或由其组成,该变体包含一、二、三、四、五、六、七、八、九或十个氨基酸置换、插入和/或缺失。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据IMGT。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Kabat。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Chothia。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据增强Chothia。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Contact。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Martin。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据North。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据AHo。

[0394] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含:

[0395] (1)VH,该VH包含:(i)FR1,该FR1包含与如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的FR1氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,(ii)FR2,该FR2包含与如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR2氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,(iii)FR3,该FR3包含与如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR3氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,和/或(iv)FR4,该FR4包含与如图71所示的“FNI9-VH-WT”、“FNI9-VH-FR124GL”、“FNI9-VH.4”、“FNI9-VH.5”、“FNI9-VH.6”、“FNI9-VH.7”、“FNI9-VH.8”、“FNI9-VH.9”、“FNI9-VH.10”、“FNI9-VH.11”、“FNI9-VH.12”和“FNI9-VH.13”中任一项的VH FR4氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成;和/或

[0396] (2)VL,该VL包含:(i)FR1,该FR1包含与如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR1氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%

同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,(ii)FR2,该FR2包含与如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR2氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,(iii)FR3,该FR3包含与如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR3氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成,和/或(iv)FR4,该FR4包含与如图71所示的“FNI9-VK-WT”、“FNI9-VK.7”和“FNI9-VK.8”中任一项的VL FR4氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性)的氨基酸序列、基本上由其组成或由其组成。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据IMGT。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Kabat。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Chothia。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据增强Chothia。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Contact。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据Martin。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据North。在一些实施方案中,VH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3和VL FR4根据AHo。

[0397] 在一些实施方案中,VH和VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0398] 在某些实施方案中,VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0399] 在某些实施方案中,提供了一种包含重链和轻链的抗体,其中重链和轻链包含如

下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列:(i)分别为45和37;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;或(xxxxiv)分别为2和37。

[0400] 在某些实施方案中,重链和轻链包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的氨基酸序列。

[0401] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:

[0402] (a)CDRH2如SEQ ID NO.:4中所列出并包含在SEQ ID NO.:59中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出;

[0403] (b)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:62中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出;或者(c)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:64中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,

[0404] 并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出。

[0405] 在另外的实施方案中,CDRL1如SEQ ID NO.:9中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。在其他实施方案中,CDRL1如SEQ ID NO.:32中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。在其他实施方案中,CDRL1如SEQ ID NO.:32中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:96中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:33中所列出。

[0406] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL),其中VH和VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为65和68;(ii)分别为46和8;(iii)分别为48和8;(iv)分别为50和8;(v)分别为52和8;(vi)分别为54和8;(vii)分别为56和8;(viii)分别为58和8;(ix)分别为60和8;(x)分别为63和8;(xi)分别为46和66;(xii)分别为48和66;(xiii)分别为50和66;(xiv)分别为52和66;(xv)分别为54和66;(xvi)分别为56和66;(xvii)分别为58和66;(xviii)分别为60和66;(xix)分别为63和66;或(xx)分别为2和37。

[0407] 在一些实施方案中,流感包括甲型流感病毒、乙型流感病毒或两者。

[0408] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括人抗体、单克隆抗体、经纯化的抗体、单链抗体、Fab、Fab'、F(ab')2或Fv。

[0409] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段是多特异性抗体或抗原结合片段,其中任选地,抗体或抗原结合片段是双特异性抗体或抗原结合片段。

[0410] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括(例如,IgG1)Fc多肽或其片段。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括IgG、IgA、IgM、IgE或IgD同种型。在另外的实施方案中,抗体或抗原结合片段包括选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的IgG同种型。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括IgG1同种型。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

[0411] 在一些实施方案中,Fc多肽或其片段包含:(i)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人FcRn的结合亲和力的突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方案));和/或(ii)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人Fcγ R的结合亲和力的突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方案,和/或如使用mesoscalediscovery(MSD)所测量的))。

[0412] 在一些实施方案中,增加对人FcRn的结合亲和力的突变包括:M428L;N434S;N434H;N434A;N434S;M252Y;S254T;T256E;T250Q;P257I;Q311I;D376V;T307A;E380A;或它们的任何组合。在一些实施方案中,增加对人FcRn的结合亲和力的突变包括:(i)M428L/N434S;(ii)M252Y/S254T/T256E;(iii)T250Q/M428L;(iv)P257I/Q311I;(v)P257I/N434H;(vi)D376V/N434H;(vii)T307A/E380A/N434A;(viii)M428L/N434A;或(ix)(i)-(viii)的任何组合。在一些实施方案中,增加对人FcRn的结合亲和力的突变包括M428L/N434S或M428L/N434A。

[0413] 在一些实施方案中,增强与Fcγ R的结合的突变包括S239D;I332E;A330L;G236A;或它们的任何组合。在一些实施方案中,增强与Fcγ R的结合的突变包括:(i)S239D/I332E;(ii)S239D/A330L/I332E;(iii)G236A/S239D/I332E;或(iv)G236A/A330L/I332E,其中Fc多肽或其片段任选地在位置239处包含Ser。

[0414] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含改变糖基化的突变,其中改变糖基化的突变包括N297A、N297Q或N297G,并且/或者其是去糖基化的,并且/或者其是去岩藻糖基化的。

[0415] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),以及(i)(b)突变M428L和N434A;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。

[0416] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列的轻链

可变结构域(VL)。

[0417] 在某些实施方案中,VH和VL与分别在SEQ ID NO.:2和8中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性),或包含分别在SEQ ID NO.:2和8中列出的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:2和8中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0418] 在某些实施方案中,VH和VL与分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性),或包含分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列或由其组成。在某些实施方案中,VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0419] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

[0420] 在某些实施方案中,VH包含在重链中,该重链还包含SEQ ID NO.:34、SEQ ID NO.:36或SEQ ID NO.:38中列出的CH1-CH3氨基酸序列。在某些实施方案中,VL包含在轻链中,该轻链还包含SEQ ID NO.:35中列出的CL氨基酸序列。

[0421] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;以及(ii)轻链,该轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0422] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链包含SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由其组成;以及(ii)轻链,该轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;以及(ii)轻链,该轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)重链,该重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;以及(ii)轻链,该轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0423] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0424] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片

段,其包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0425] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0426] 在一些实施方案中,提供了一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,其在其重链中包含(i)至(xviii)中任一项所列出的氨基酸突变:(i)G236A、L328V和Q295E;(ii)G236A、P230A和Q295E;(iii)G236A、R292P和I377N;(iv)G236A、K334A和Q295E;(v)G236S、R292P和Y300L;(vi)G236A和Y300L;(vii)G236A、R292P和Y300L;(viii)G236S、G420V、G446E和L309T;(ix)G236A和R292P;(x)R292P和Y300L;(xi)G236A和R292P;(xii)Y300L;(xiii)E345K、G236S、L235Y和S267E;(xiv)E272R、L309T、S219Y和S267E;(xv)G236Y;(xvi)G236W;(xvii)F243L、G446E、P396L和S267E;(xviii)G236A、S239D和H268E。

[0427] 在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段在其重链中包含氨基酸突变G236A。

[0428] 在某些实施方案中,本公开提供了一种抗体,该抗体包含:(i)重链,该重链包含氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

[0429] (ii)轻链,该轻链包含氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)。

[0430] 在某些实施方案中,本公开提供了一种抗体,该抗体包含:(i)重链,该重链由氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

[0431] (ii)轻链,该轻链由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF

IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)组成。

[0432] 在某些实施方案中,本公开提供了一种抗体,该抗体包含:(i)两条重链,其中这两条重链中的每条重链包含氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQG LEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

[0433] (ii)两条轻链,其中这两条轻链中的每条轻链包含氨基酸序列

[0434] EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSG TEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)。

[0435] 在某些实施方案中,本公开提供了一种抗体,该抗体包含:(i)两条重链,其中这两条重链中的每条重链由氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

[0436] (ii)两条轻链,其中这两条轻链中的每条轻链由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGE RATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNN WPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)组成。

[0437] 多核苷酸、载体和宿主细胞

[0438] 在另一个方面,本公开提供了分离的多核苷酸,该分离的多核苷酸编码任何当前公开的抗体或其抗原结合片段或其一部分(例如,CDR、VH、VL、重链或轻链,或重链和轻链),或编码当前公开的多肽。

[0439] 在某些实施方案中,该多核苷酸包含脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA),其中RNA任选地包含信使RNA(mRNA)。

[0440] 在一些实施方案中,该多核苷酸包含经修饰的核苷、cap-1结构、cap-2结构或它们的任何组合。在某些实施方案中,该多核苷酸包含假尿苷、N6-甲基腺苷、5-甲基胞苷、2-硫代尿苷或它们的任何组合。在一些实施方案中,该假尿苷包括N1-甲基假尿苷。

[0441] 在某些实施方案中,该多核苷酸被密码子优化以在宿主细胞(例如,人细胞或CHO

细胞)中表达。一旦已知或鉴定了编码序列,就可使用已知的技术和工具(例如,使用GenScript®OptimiumGene™工具等)进行密码子优化。密码子优化的序列包括部分密码子优化的序列(即,一个或多个密码子被优化以在宿主细胞中表达)和完全密码子优化的序列。

[0442] 还应当理解,由于例如遗传密码的简并性、剪接等,编码本公开的抗体和抗原结合片段的多核苷酸可具有不同的核苷酸序列,同时仍编码相同的抗体或抗原结合片段。

[0443] 在某些实施方案中,多核苷酸包含:(i)与SEQ ID NO.:109中列出的核苷酸序列具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的核苷酸序列,以及(ii)与SEQ ID NO.:110中列出的核苷酸序列具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的核苷酸序列。在某些实施方案中,该多核苷酸编码:SEQ ID NO.:107和SEQ ID NO.:108。

[0444] 在某些实施方案中,第一多核苷酸包含与SEQ ID NO.:109中列出的核苷酸序列具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的核苷酸序列,并且第二多核苷酸包含与SEQ ID NO.:110中列出的核苷酸序列具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的核苷酸序列。在某些实施方案中,第一多核苷酸编码SEQ ID NO.:107并且第二多核苷酸编码SEQ ID NO.:108。

[0445] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,该多核苷酸可包括脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)。在一些实施方案中,该RNA包括信使RNA(mRNA)。

[0446] 还提供了载体,其中该载体包含或含有如本文所公开的多核苷酸(例如,编码与IAV NA、IBV NA或两者结合的抗体或抗原结合片段或多肽的多核苷酸)。载体可包括本文所公开的载体中的任何一者或多者。在特定实施方案中,提供了一种载体,该载体包含编码抗体或抗原结合片段或其一部分的DNA质粒构建体(例如,所谓的"DMAb";参见例如Muthumani等人,J Infect Dis.214(3):369-378(2016);Muthumani等人,Hum Vaccin Immunother 9:2253-2262(2013);Flingai等人,Sci Rep.5:12616(2015);以及Elliott等人,NPJ Vaccines 18(2017),所述抗体编码DNA构建体和相关的使用方法(包括其施用)以引用方式并入本文)。在某些实施方案中,DNA质粒构建体包含编码抗体或抗原结合片段的重链和轻链(或VH和VL)的单一开放阅读框,其中编码重链的序列和编码轻链的序列任选地由编码蛋白酶裂解位点的多核苷酸和/或编码自裂解肽的多核苷酸分开。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段的取代组分由单一质粒中包含的多核苷酸编码。在其他实施方案中,抗体或抗原结合片段的取代组分由两个或更多个质粒中包含的多核苷酸编码(例如,第一质粒包含编码重链、VH或VH+CH1的多核苷酸,并且第二质粒包含编码同源轻链、VL或VL+CL的多核苷酸)。在某些实施方案中,单一质粒包含编码来自本公开的两种或更多种抗体或抗原结合片段的重链和/或轻链的多核苷酸。示例性表达载体是可从Invitrogen®获得的pVax1。本公开的DNA质粒可通过例如电穿孔(例如,肌内电穿孔)或用适当制剂(例如,透明质酸酶)递送到

受试者。

[0447] 在一些实施方案中,提供了一种多核苷酸(例如,mRNA),该多核苷酸包含:(i)编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的核苷酸序列,以及(ii)编码SEQ ID NO.:108的核苷酸序列。该多核苷酸可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0448] 在一些实施方案中,提供了第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的多核苷酸(例如,mRNA),并且提供了第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:108的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0449] 在某些实施方案中,提供了第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:109或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA),并且提供了第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:110或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0450] 在一些实施方案中,提供了一种方法,该方法包括向受试者施用编码抗体重链、VH或Fd(VH+CH1)的第一多核苷酸(例如,mRNA),以及向受试者施用编码同源抗体轻链、VL或VL+CL的第二多核苷酸(例如,mRNA)。

[0451] 在一些实施方案中,提供了一种方法,该方法包括向受试者施用多核苷酸(例如,mRNA),该多核苷酸包含:(i)编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的核苷酸序列,以及(ii)编码SEQ ID NO.:108的核苷酸序列。该多核苷酸可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0452] 在一些实施方案中,提供了一种方法,该方法包括向受试者施用:(i)第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的多核苷酸(例如,mRNA),以及(ii)第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:108的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0453] 在某些实施方案中,提供了一种方法,该方法包括向受试者施用第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:109或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA),并且提供了第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:110或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或赋形剂。在一些实施方案中,提供了编码抗体或其抗原结合片段的重链和轻链的多核苷酸(例如,mRNA)。在一些实施方案中,提供了编码抗体或其抗原结合片段的两条重链和两条轻链的多核苷酸(例如,mRNA)。参见例如Li,JQ.、Zhang,ZR.、Zhang,HQ.等人,Intranasal delivery of replicating mRNA encoding neutralizing antibody against SARS-CoV-2infection in mice.Sig Transduct Target Ther 6,369(2021).https://doi.org/10.1038/s41392-021-00783-1,其抗体编码mRNA构建体、载体和

相关技术以引用方式并入本文。在一些实施方案中,多核苷酸通过甲病毒复制子颗粒(VRP)递送系统递送到受试者。在一些实施方案中,复制子包括包含两个亚基因组启动子的经修饰的VEEV复制子。在一些实施方案中,多核苷酸或复制子可同时翻译抗体或其抗原结合片段的重链(或VH或VH+1)和轻链(或VL或VL+CL)。在一些实施方案中,提供了一种方法,该方法包括向受试者递送这种多核苷酸或复制子。

[0454] 在另外一方面,本公开还提供了一种宿主细胞,该宿主细胞表达根据本公开的抗体或抗原结合片段;或包含或含有根据本公开的载体或多核苷酸。

[0455] 此类细胞的示例包括但不限于真核细胞,例如酵母细胞、动物细胞、昆虫细胞、植物细胞;以及原核细胞,包括大肠杆菌(E.coli)。在一些实施方案中,细胞是哺乳动物细胞,诸如人B细胞。在某些此类实施方案中,细胞是哺乳动物细胞系,诸如CHO细胞(例如,DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,PNAS 77:4216(1980))、人胚肾细胞(例如,HEK293T细胞)、PER.C6细胞、YO细胞、Sp2/O细胞。NSO细胞、人肝细胞,例如Hepa RG细胞、骨髓瘤细胞或杂交瘤细胞。哺乳动物宿主细胞系的其他示例包括:小鼠支持细胞(例如,TM4细胞);SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);幼仓鼠肾细胞(BHK);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);猴肾细胞(CV1);人宫颈癌细胞(HELA);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);犬肾细胞(MDCK;buffalo大鼠肝细胞(BRL 3A);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞;MRC 5细胞;以及FS4细胞。适用于抗体产生的哺乳动物宿主细胞系还包括以下文献中所述的那些:例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编辑,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。

[0456] 在某些实施方案中,宿主细胞是原核细胞,诸如大肠杆菌。肽在诸如大肠杆菌等原核细胞中的表达是公认的(参见例如Pluckthun,A.Bio/Technology 9:545-551(1991))。例如,抗体可在细菌中产生,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利号5,648,237;5,789,199;和5,840,523。

[0457] 在特定实施方案中,可用根据本说明书的载体和表达载体转染细胞。术语“转染”是指将核酸分子诸如DNA或RNA(例如,mRNA)分子引入到细胞中,诸如引入到真核细胞中。在本说明书的上下文中,术语“转染”涵盖技术人员已知的用于将核酸分子引入到细胞中(诸如引入到真核细胞中,包括引入到哺乳动物细胞中)的任何方法。此类方法涵盖例如电穿孔、脂质转染(例如,基于阳离子脂质和/或脂质体)、磷酸钙沉淀、基于纳米颗粒的转染、基于病毒的转染或基于阳离子聚合物(诸如DEAE-葡聚糖或聚乙烯亚胺等)的转染。在某些实施方案中,该引入是非病毒的。

[0458] 此外,可用根据本公开的载体稳定或瞬时转染本公开的宿主细胞,例如以表达根据本公开的抗体或其抗原结合片段。在此类实施方案中,可用如本文所述的载体稳定转染细胞。另选地,可用编码如本文所公开的抗体或抗原结合片段的根据本公开的载体瞬时转染细胞。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,多核苷酸对于宿主细胞可以是异源的。

[0459] 因此,本公开还提供了异源表达本公开的抗体或抗原结合片段的重组宿主细胞。例如,细胞可以是与完全或部分获得抗体的物种不同的物种(例如,表达人抗体或工程化人抗体的CHO细胞)。在一些实施方案中,宿主细胞的细胞类型在自然界中不表达该抗体或抗原结合片段。此外,宿主细胞可对抗体或抗原结合片段赋予翻译后修饰(PTM;例如,糖基化

或岩藻糖基化)或缺乏该翻译后修饰,该翻译后修饰在抗体或抗原结合片段的天然状态中(或在工程化或衍生抗体或抗原结合片段的亲本抗体的天然状态中)不存在。这种PTM或其缺乏可导致功能差异(例如,降低的免疫原性)。因此,由如本文所公开的宿主细胞产生的本公开的抗体或抗原结合片段可包含一种或多种翻译后修饰,该一种或多种翻译后修饰不同于呈其天然状态的抗体(或亲本抗体)(例如,由宿主细胞产生的人抗体可包含一种或多种翻译后修饰,或可包含更少翻译后修饰,使得其不同于从人分离和/或由天然人B细胞或浆细胞产生的抗体)。

[0460] 可用于表达本公开的结合蛋白的昆虫细胞是本领域已知的,并且包括例如草地贪夜蛾(Spodoptera frugipera)Sf9细胞、粉纹夜蛾(Trichoplusia ni)BTI-TN5B1-4细胞和草地贪夜蛾SfSWT01"Mimic™"细胞。参见例如Palmberger等人,J.Biotechnol.153(3-4):160-166(2011)。已鉴定了许多杆状病毒株,其可与昆虫细胞结合使用,特别是用于草地贪夜蛾细胞的转染。

[0461] 真核微生物(诸如丝状真菌或酵母)也是用于克隆或表达蛋白质编码载体的合适宿主,并且包括具有"人源化"糖基化路径的真菌和酵母菌株,从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004);Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0462] 植物细胞也可用作表达本公开的抗体或抗原结合片段的宿主。例如,PLANTIBODIES™技术(在例如美国专利号5,959,177;6,040,498;6,420,548;7,125,978;和6,417,429中描述)采用转基因植物来产生抗体。

[0463] 在某些实施方案中,宿主细胞包括哺乳动物细胞。在特定实施方案中,宿主细胞是CHO细胞、HEK293细胞、PER.C6细胞、YO细胞、Sp2/0细胞、NSO细胞、人肝细胞、骨髓瘤细胞或杂交瘤细胞。

[0464] 在相关方面,本公开提供了用于产生抗体或抗原结合片段的方法,其中该方法包括按足以产生抗体或抗原结合片段的条件和时间培养本公开的宿主细胞。举例来说,可用于分离和纯化重组产生的抗体的方法可包括从将重组抗体分泌到培养基中的合适宿主细胞/载体系统获得上清液,然后使用可商购获得的过滤器浓缩培养基。在浓缩后,可将浓缩物施加到单一合适纯化基质或一系列合适基质,诸如亲和基质或离子交换树脂。可采用一个或多个反相HPLC步骤来进一步纯化重组多肽。当将免疫原从其天然环境中分离时,也可采用这些纯化方法。用于大规模产生本文所述分离/重组抗体中的一者或多者的方法包括分批细胞培养,该分批细胞培养被监测和控制以维持适当培养条件。可溶性抗体的纯化可根据本文所述和本领域中已知并且符合国内外监管机构的法律和规则的方法进行。

[0465] 组合物

[0466] 本文还提供了组合物,该组合物单独地或以任何组合包含当前公开的抗体、抗原结合片段、多肽、多核苷酸、载体或宿主细胞,并且还可包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。本文中进一步详细地讨论了此类组合物以及载剂、赋形剂和稀释剂。

[0467] 在某些实施方案中,组合物包含含有第一质粒的第一载体和含有第二质粒的第二载体,其中第一质粒包含编码重链、VH或VH+CH1的多核苷酸,并且第二质粒包含编码抗体或其抗原结合片段的同源轻链、VL或VL+CL的多核苷酸。在某些实施方案中,组合物包含与合适递送媒介物或载剂偶联的多核苷酸(例如,mRNA)。在某些实施方案中,组合物包含第一多

核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,mRNA),该第一多核苷酸编码抗体重链、VH或Fd(VH+CH1),并且该第二多核苷酸编码同源抗体轻链或VL。在一个示例中,组合物可包含第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,mRNA),该第一多核苷酸编码包含SEQ ID NO.:54中列出的VH的抗体重链,该第二多核苷酸编码包含SEQ ID NO.:8中列出的VL的抗体轻链。在另一个示例中,组合物可包含第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,mRNA),该第一多核苷酸编码包含如分别在SEQ ID NO.:(i)55、4和5中列出的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列的抗体重链,该第二多核苷酸编码包含如分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列的抗体轻链。

[0468] 用于向人受试者施用的示例性媒介物或载剂包括脂质或脂质衍生的递送媒介物,诸如脂质体、固体脂质纳米颗粒、油性悬浮液、亚微米脂质乳剂、脂质微泡、反脂质胶束、耳蜗脂质体、脂质微管、脂质微柱体、或脂质纳米颗粒(LNP)或纳米级平台(参见例如Li等人,Wilery Interdiscip Rev.Nanomed Nanobiotechnol.11(2):e1530(2019))。用于设计适当的mRNA和配制mRNA-LNP并递送其的原理、试剂和技术描述于例如Pardi等人(J Control Release 217345-351(2015));Thess等人(Mol Ther 23:1456-1464(2015));Thran等人(EMBO Mol Med 9(10):1434-1448(2017));Kose等人(Set.Immunol.4eaaw6647(2019));以及Sabnis等人(Mol.Ther.26:1509-1519(2018))中,所述技术包括封端、密码子优化、核苷修饰、mRNA纯化、将mRNA掺入到稳定的脂质纳米颗粒中(例如,可电离的阳离子脂质/磷脂酰胆碱/胆固醇/PEG-脂质;可电离的脂质:二硬脂酰PC:胆固醇:聚乙二醇脂质)以及其皮下、肌内、皮内、静脉内、腹膜内和气管内施用,以引用方式并入本文。

[0469] 在一些实施方案中,提供了一种多核苷酸(例如,mRNA),该多核苷酸包含:(i)编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的核苷酸序列,以及(ii)编码SEQ ID NO.:108的核苷酸序列。该多核苷酸可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0470] 在一些实施方案中,提供了第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的多核苷酸(例如,mRNA),并且提供了第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:108的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0471] 在某些实施方案中,提供了第一质粒或载体,该第一质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:109或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA),并且提供了第二质粒或载体,该第二质粒或载体包含具有SEQ ID NO.:110或由其组成的多核苷酸(例如,mRNA)。第一质粒或载体和/或第二质粒或载体可包含在组合物中,该组合物还包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0472] 在某些实施方案中,组合物包含本公开的第一抗体或抗原结合片段和本公开的第二抗体或抗原结合片段,其中第一抗体或抗原结合片段和第二抗体或抗原结合片段是不同的。

[0473] 方法和用途

[0474] 本文还提供了使用本公开的抗体或抗原结合片段、核酸、载体、细胞或组合物诊断流感感染(例如,在人受试者中,或在获自人受试者的样品中)的方法。

[0475] 诊断(例如,体外、离体)的方法可包括使抗体、抗体片段(例如,抗原结合片段)与样品接触。此类样品可从受试者分离,例如从例如鼻道、窦腔、唾液腺、肺、肝、胰、肾、耳、眼、胎盘、消化道、心脏、卵巢、垂体、肾上腺、甲状腺、脑、皮肤或血液获取的分离组织样品。诊断方法还可包括检测抗原/抗体复合物,特别是在使抗体或抗体片段与样品接触之后。这种检测步骤可在工作台上进行,即不与人体或动物体有任何接触。检测方法的示例是本领域的技术人员众所周知的并且包括例如ELISA(酶联免疫吸附测定法),包括直接、间接和夹心ELISA。

[0476] 本文还提供了使用本公开的抗体或抗原结合片段或包含所述抗体或抗原结合片段的组合物治疗受试者的方法,其中受试者患有、被认为患有流感引起的感染或有患该感染的风险。“治疗”或“改善”是指对受试者(例如,人或非人哺乳动物,诸如灵长类动物、马、猫、狗、山羊、小鼠或大鼠)的疾病、障碍或病症的医学管理。一般来讲,包括本公开的抗体或组合物的适当剂量或治疗方案以足以引发治疗或防治益处的量施用。治疗或防治/预防益处包括改善的临床结局;与疾病相关的症状的减轻或缓解;减少的症状发生;改善的生活质量;更长的无病状态;疾病程度的减轻,疾病状态的稳定;疾病进展的延缓或预防;缓解;存活;延长的存活期;或它们的任何组合。在某些实施方案中,治疗或防治/预防益处包括为治疗流感感染而住院的减少或预防(即,以统计显著方式)。在某些实施方案中,治疗或防治/预防益处包括为治疗流感感染而住院的持续时间的缩短(即,以统计显著方式)。在某些实施方案中,治疗或防治/预防益处包括对呼吸干预诸如插管和/或使用呼吸器装置的需要的减少或消除。在某些实施方案中,治疗或防治/预防益处包括逆转晚期疾病病理和/或降低死亡率。

[0477] 在某些实施方案中,对于单剂量,例如每日、每周或每月剂量,根据本公开的组合物或方法中的抗体或抗原结合片段的量可不超过1g或500mg。在一些实施方案中,对于单剂量,根据本公开的组合物或方法中的抗体或抗原结合片段的量可不超过200mg或100mg。例如,在一些实施方案中,对于单剂量,根据本公开的组合物或方法中的抗体或抗原结合片段的量可不超过50mg。

[0478] 本公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物的“治疗有效量”或“有效量”是指足以产生治疗效果的组合物或分子的量,该治疗效果包括改善的临床结局;与疾病相关的症状的减轻或缓解;减少的症状发生;改善的生活质量;更长的无病状态;疾病程度的减轻,疾病状态的稳定;疾病进展的延缓;缓解;存活;或延长的存活期(以统计显著方式)。当涉及单独施用的单独活性成分时,治疗有效量是指该成分的或表达该成分的细胞的单独效果。当涉及组合时,治疗有效量是指活性成分或组合的辅助活性成分与表达产生治疗效果的活性成分的细胞的组合量,无论连续、相继还是同时施用。

[0479] 因此,在某些实施方案中,提供了用于治疗受试者的流感感染的方法,其中该方法包括向受试者施用有效量的本文所公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。

[0480] 一般来讲,可通过本公开治疗的受试者是人和其他灵长类动物受试者,诸如用于兽医学目的的猴和猿。其他模式生物体诸如小鼠和大鼠也可根据本公开来治疗。在前述实施方案中的任何实施方案中,受试者可以是人受试者。受试者可以是男性或女性,并且可处于任何合适的年龄,包括婴儿、少年、青少年、成人和老年受试者。

[0481] 许多标准被认为促成与流感感染相关的严重症状或死亡的高风险。这些标准包括但不限于年龄、职业、一般健康状况、预先存在的健康状况、地点和生活习惯。在一些实施方案中,根据本公开治疗的受试者具有一种或多种风险因素。

[0482] 在某些实施方案中,根据本公开治疗的人受试者是婴儿、儿童、年轻成人、中年成人或老年人。在某些实施方案中,根据本公开治疗的人受试者小于1岁,或是1岁至5岁,或介于5岁与125岁之间(例如,5岁、10岁、15岁、20岁、25岁、30岁、35岁、40岁、45岁、50岁、55岁、60岁、65岁、70岁、75岁、80岁、85岁、90岁、95岁、100岁、105岁、110岁、115岁或125岁,包括其中或其间的任何和所有年龄)。在某些实施方案中,根据本公开治疗的人受试者是0岁至19岁、20岁至44岁、45岁至54岁、55岁至64岁、65岁至74岁、75岁至84岁或85岁或更年长。中年人、尤其是老年人可能有特定风险。在特定实施方案中,人受试者是45岁至54岁、55岁至64岁、65岁至74岁、75岁至84岁或85岁或更年长。在一些实施方案中,人受试者是男性。在一些实施方案中,人受试者是女性。

[0483] 在某些实施方案中,根据本公开治疗的受试者已接受针对流感的疫苗,并且疫苗被确定为无效,例如通过受试者的疫苗后感染或症状,通过临床诊断或科学或监管共识来确定。

[0484] 感染流感病毒的防治特别是指防治环境,其中受试者未被诊断为感染流感病毒(未进行诊断或诊断结果呈阴性)和/或受试者未显示或经历感染流感病毒的症状。感染流感病毒的防治特别可用于在被感染时有更大风险患有严重疾病或并发症的受试者,诸如孕妇、儿童(诸如在59个月以下的儿童)、老人、患有慢性医学病症(诸如慢性心脏病、肺病、肾病、代谢病、神经发育疾病、肝病或血液病)的个体和患有免疫抑制病症(诸如HIV/AIDS、接受化疗或类固醇、恶性病)的个体。此外,感染流感病毒的防治还特别可用于例如由于暴露增加而有更大风险获得流感病毒感染的受试者,例如在公共区域工作或停留的受试者,特别是卫生保健工作者。

[0485] 在某些实施方案中,治疗以围暴露期或暴露前防治的形式施用。在某些实施方案中,治疗以暴露后防治的形式施用。

[0486] 在一些实施方案中,提供了一种用于降低受试者的流感感染的风险的方法,其中该方法包括向受试者施用有效量的当前公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞、人B细胞或组合物。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段或编码的抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO.:54(以及任选地,Fc中的M428L和N434S突变)的重链和包含SEQ ID NO.:8的轻链。在另外的实施方案中,重链包含SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,并且轻链包含SEQ ID NO.:108。

[0487] 在一些实施方案中,提供了一种用于在受试者中针对流感感染的暴露前防治的方法,其中该方法包括向受试者施用有效量的当前公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞、人B细胞或组合物。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段或编码的抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO.:54(以及任选地,Fc中的M428L和N434S突变)的重链和包含SEQ ID NO.:8的轻链。在另外的实施方案中,重链包含SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,并且轻链包含SEQ ID NO.:108。

[0488] 在一些实施方案中,提供了一种用于在受试者中针对流感感染的围暴露期防治的方法,其中该方法包括向受试者施用有效量的当前公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、

载体、宿主细胞、人B细胞或组合物。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段或编码的抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO.:54(以及任选地,Fc中的M428L和N434S突变)的重链和包含SEQ ID NO.:8的轻链。在另外的实施方案中,重链包含SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,并且轻链包含SEQ ID NO.:108。

[0489] 在一些实施方案中,提供了一种用于在受试者中针对流感感染的围暴露期防治的方法,其中该方法包括向受试者施用有效量的当前公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞、人B细胞或组合物。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段或编码的抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO.:54(以及任选地,Fc中的M428L和N434S突变)的重链和包含SEQ ID NO.:8的轻链。在另外的实施方案中,重链包含SEQ ID NO.:107或去除了C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,并且轻链包含SEQ ID NO.:108。

[0490] 在治疗环境中,相反,受试者通常感染流感病毒、被诊断患有流感病毒感染和/或显示流感病毒感染的症状。值得注意的是,流感病毒感染的术语“治疗”和“疗法”/“治疗药物(therapeutic)”可指(完全)治愈以及减弱/减少流感病毒感染和/或相关症状(例如,减弱/减少感染和/或症状严重程度、症状的数量、感染和/或症状的持续时间或它们的任何组合)。

[0491] 应当理解,本文中对减少的症状数量和/或严重程度的引用描述了与未接受所公开的药物组合物的参考受试者的比较,该减少是由施用当前公开的药物组合物引起的。参考受试者可以是例如(i)在更早时间段期间(例如,先前甲型流感病毒季节)的相同受试者,(ii)在以下方面相同或类似的受试者:年龄或年龄组;性别;妊娠状态;慢性医学病症(诸如慢性心脏病、肺病、肾病、代谢病、神经发育疾病、肝病或血液病)或缺乏慢性医学病症;和/或免疫抑制病症或缺乏免疫抑制病症;或(iii)在流感病毒季节期间群体(例如,本地、区域或全国,包括相同或类似年龄或年龄范围和/或一般疾病状态)内的典型受试者。可例如通过在整个流感季节的一部分期间或在整个流感季节内未能患上确诊的流感感染和/或缺乏与流感感染相关的症状来确定防治。

[0492] 在某些实施方案中,本文所提供的方法包括向面临即时流感感染风险的受试者施用治疗有效量的根据本公开的组合物。即时流感感染风险通常在流感流行期间发生。已知流感病毒传播并引起疾病的季节性流行(WHO,Influenza(Seasonal)Fact sheet,2018年11月6日)。在温带气候地区,季节性流行主要在冬季期间发生,而在热带地区,流感全年都可能发生,从而使爆发更加不规律。例如,在北半球,流感流行的风险在11月、12月、1月、2月和3月期间较高,而在南半球,流感流行的风险在5月、6月、7月、8月和9月期间较高。

[0493] 在一些实施方案中,治疗和/或预防包括暴露后防治。

[0494] 在一些实施方案中,受试者已接受、正在接受或将接受抗病毒剂。在一些实施方案中,抗病毒剂包括神经氨酸苷酶抑制剂、流感聚合酶抑制剂或两者。在某些实施方案中,抗病毒剂包括奥司他韦、拉尼米韦、帕拉米韦、扎那米韦、巴洛沙韦或它们的任何组合。

[0495] 因此,施用当前公开的组合物的典型途径包括但不限于口服、局部、经皮、吸入、肠胃外、舌下、口颊、直肠、阴道以及鼻内。如本文所用,术语“肠胃外”包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。在某些实施方案中,施用包括通过选自以下的途径施用:口服、静脉内、肠胃外、胃内、胸膜内、肺内、直肠内、皮内、腹膜内、瘤内、皮下、局部、经皮、脑池内、鞘内、鼻内和肌内。在特定实施方案中,方法包括向受试者口服施用抗体、抗原结合片

段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。

[0496] 配制根据本发明的某些实施方案的药物组合物,使得在向患者施用该组合物时其中含有的活性成分是生物可利用的。将向受试者或患者施用的组合物可采取一个或多个剂量单位的形式,其中例如,片剂可以是单个剂量单位,并且气雾剂形式的本文所述的抗体或抗原结合片段的容器可容纳多个剂量单位。制备此类剂型的实际方法对于本领域的技术人员来说是已知的或者将是显而易见的;例如,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版(Philadelphia College of Pharmacy and Science,2000)。在任何情况下,待施用的组合物将含有有效量的本公开的抗体或抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物,以便根据本文中的教导内容治疗感兴趣的疾病或病症。

[0497] 组合物可呈固体或液体形式。在一些实施方案中,载剂是颗粒状的,使得组合物例如呈片剂或散剂形式。载剂可以是液体,而组合物是例如口服油、可注射液体或可用于例如吸入施用的气雾剂。当旨在用于口服施用时,药物组合物优选地呈固体或液体形式,其中半固体、半液体、悬浮液和凝胶形式包括在本文视为固体或液体的形式中。

[0498] 作为用于口服施用的固体组合物,药物组合物可被配制成散剂、颗粒、压缩片剂、丸剂、胶囊、咀嚼胶、膜片等。这种固体组合物通常将含有一种或多种惰性稀释剂或可食用载剂。此外,可存在以下的一者或多者:粘合剂,诸如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,诸如淀粉、乳糖或糊精;崩解剂,诸如海藻酸、海藻酸钠、羧甲基淀粉钠(Primogel)、玉米淀粉等;润滑剂,诸如硬脂酸镁或氢化蓖麻油(Sterotex);助流剂,诸如胶体二氧化硅;甜味剂,诸如蔗糖或糖精;调味剂,诸如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味品;以及着色剂。当组合物呈胶囊(例如,明胶胶囊)形式时,除以上类型的材料以外,其还可含有液体载剂,诸如聚乙二醇或油。

[0499] 组合物可呈液体形式,例如,酏剂、糖浆、溶液、乳液或悬浮液。作为两个示例,液体可供口服施用或供注射递送。当旨在用于口服施用时,除本发明化合物以外,优选的组合物还含有甜味剂、防腐剂、染料/着色剂以及风味增强剂中的一种或多种。在旨在通过注射施用的组合物中,可包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等张剂中的一种或多种。

[0500] 液体药物组合物,无论其是溶液、悬浮液还是其他类似形式,都可包括以下助剂中的一种或多种:无菌稀释剂,诸如注射用水、盐水溶液,优选地生理盐水、林格氏溶液、等渗氯化钠;固定油,诸如可用作溶剂或悬浮介质的合成单甘油酯或二甘油酯、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他溶剂;抗菌剂,诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,诸如乙二胺四乙酸;缓冲剂,诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;以及用于张度调节的药剂,诸如氯化钠或右旋糖。肠胃外制剂可包封在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。生理盐水是优选的助剂。可注射药物组合物优选地是无菌的。

[0501] 旨在用于肠胃外或口服施用的液体组合物应含有一定量的如本文所公开的抗体或抗原结合片段,使得将获得合适剂量。通常,该量为组合物中抗体或抗原结合片段的至少0.01%。当旨在用于口服施用时,该量可在组合物重量的0.1%至约70%之间变化。某些口服药物组合物含有约4%至约75%的抗体或抗原结合片段。在某些实施方案中,制备根据本发明的药物组合物和制剂,使得在稀释之前,肠胃外剂量单位含有0.01重量%至10重量%

的抗体或抗原结合片段。

[0502] 组合物可旨在用于局部施用,在这种情况下,载剂可适合地包括溶液、乳液、软膏或凝胶基质。例如,基质可包括以下的一者或多者:凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、诸如水和醇等稀释剂以及乳化剂和稳定剂。增稠剂可存在于用于局部施用的组合物中。如果旨在用于经皮施用,则组合物可包括经皮贴剂或离子电渗疗法装置。药物组合物可旨在以例如栓剂形式用于直肠施用,栓剂将在直肠中融化并且释放药物。用于直肠施用的组合物可含有油性基质作为合适的无刺激性赋形剂。此类基质包括但不限于羊毛脂、可可脂和聚乙二醇。

[0503] 组合物可包含修改固体或液体剂量单位的物理形式的各种材料。例如,组合物可包含在活性成分周围形成包衣壳的材料。形成包衣壳的材料通常是惰性的,并且可选自例如糖、虫胶以及其他肠溶包衣剂。另选地,活性成分可包裹在明胶胶囊中。呈固体或液体形式的组合物可包含与本公开的抗体或抗原结合片段结合并且由此帮助递送化合物的药剂。可发挥这种作用的合适药剂包括单克隆或多克隆抗体、一种或多种蛋白质或脂质体。组合物可基本上由可以气雾剂形式施用的剂量单位组成。术语气雾剂用于表示从胶体性质的系统到由加压包装组成的系统的多种系统。递送可通过液化或压缩气体或通过分配活性成分的合适的泵系统进行。气雾剂可以单相、双相或三相系统递送,以便递送活性成分。气雾剂的递送包括必需容器、活化剂、阀门、子容器等,它们可共同形成试剂盒。本领域的普通技术人员无需过多的实验就可确定优选的气雾剂。

[0504] 应当理解,本公开的组合物还涵盖如本文所述的多核苷酸的载剂分子(例如,脂质纳米颗粒、纳米级递送平台等)。

[0505] 药物组合物可通过制药领域熟知的方法制备。例如,可通过以下方式制备旨在通过注射施用的组合物:将包含如本文所述的抗体、其抗原结合片段或抗体缀合物以及任选地盐、缓冲剂和/或稳定剂中的一者或多者的组合物与无菌蒸馏水组合,从而形成溶液。可添加表面活性剂以促进均匀溶液或悬浮液的形成。表面活性剂是与肽组合物非共价相互作用以便促进抗体或其抗原结合片段在水性递送系统中的溶解或均匀悬浮的化合物。

[0506] 在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,组合物的抗体或抗原结合片段可包含如分别在SEQ ID NO.:55、4、5、9、10和11中列出的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列。在某些实施方案中,组合物的抗体或抗原结合片段包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的VH和VL氨基酸序列。在某些实施方案中,组合物的抗体或抗原结合片段包含人IgG1同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在Fc中包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,组合物的抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:107(或去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的重链氨基酸序列和SEQ ID NO.:108中列出的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,组合物的抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,提供了一种组合物,该组合物包含相对于需要该组合物的受试者的体重(kg)而言浓度为3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的抗体或抗原结合片段。在某些实施方案中,包含抗体或抗原结合片段的组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;

没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;并且包含通过亲和色谱法纯化的抗体或抗原结合片段。

[0507] 一般来讲,适当剂量和治疗方案提供足以提供治疗和/或防治益处(诸如本文所述,包括改善的临床结局(例如,腹泻或相关脱水或炎症的频率降低、持续时间缩短或严重程度降低,或无疾病存活期和/或总存活期更长,或症状严重程度减轻)的量的组合物。对于防治用途,剂量应足以预防与疾病或障碍相关的疾病、延迟其发作或减轻其严重程度。可通过以下方式确定根据本文所述的方法施用的组合物的防治益处:进行临床前(包括体外和体内动物研究)和临床研究,并通过适当的统计学、生物学和临床方法和技术分析从中获得的数据,所有这些都可由本领域技术人员容易地实践。

[0508] 以有效量(例如,治疗流感病毒感染)施用组合物,该有效量将根据多种因素而变化,包括所用特定化合物的活性;化合物的代谢稳定性和作用时长;受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;施用模式和时间;排泄率;药物组合;特定障碍或病症的严重程度;以及经受疗法的受试者。在某些实施方案中,在施用根据本公开的制剂和方法的疗法后,与安慰剂治疗的或其他合适的对照受试者相比,测试受试者将表现出与所治疗的疾病或障碍相关的一种或多种症状减少约10%至约99%。

[0509] 一般来讲,抗体或抗原结合片段的治疗有效剂量(对于70kg哺乳动物)为约0.001mg/kg(即,0.07mg)至约100mg/kg(即,7.0g);优选地,治疗有效剂量(对于70kg哺乳动物)为约0.01mg/kg(即,0.7mg)至约50mg/kg(即,3.5g);更优选地,治疗有效剂量(对于70kg哺乳动物)为约1mg/kg(即,70mg)至约25mg/kg(即,1.75g)。对于本公开的多核苷酸、载体、宿主细胞和相关组合物,治疗有效剂量可能不同于抗体或抗原结合片段的治疗有效剂量。

[0510] 在一些实施方案中,方法或用途包括向有需要的受试者施用一定剂量的抗体或抗原结合片段,其中该剂量包括3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的抗体或其抗原结合片段、基本上由其组成或由其组成。在一些实施方案中,方法或用途包括向有需要的受试者施用一定剂量的包含抗体或抗原结合片段的组合物,其中该剂量包括3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的该组合物、基本上由其组成或由其组成。在一些实施方案中,提供了一种组合物,该组合物包含相对于需要该组合物的受试者的体重(kg)而言浓度为3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的抗体或抗原结合片段。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,抗体或抗原结合片段可包含如分别在SEQ ID NO.:55、4、5、9、10和11中列出的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的VH和VL氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含人IgG1同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在Fc中包含M428L和N434S突变。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:107(或去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的重链氨基酸序列和SEQ ID NO.:108中列出的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,施用包括向受试者静脉内施用。在一些实施方案中,组合物被配制用于向受试者静脉内施用。在一些实施方案中,该方法或用途包括抗体、抗原结合片段或组合物的单次施

用。在一些实施方案中,该方法或用途包括抗体、抗原结合片段或组合物的单剂量。在某些实施方案中,包含抗体或抗原结合片段的组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;并且包含通过亲和色谱法纯化的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,受试者具有约70kg的体重。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,受试者已感染H5N1流感,有感染H5N1流感的风险,或已暴露于H5N1流感。在当前公开的实施方案中的任何实施方案中,受试者已感染H7N9流感,有感染H7N9流感的风险,或已暴露于H7N9流感。在一些实施方案中,方法、用途、剂量或组合物用于防治流感感染,诸如流感H5N1和/或流感H7N9引起的感染。在一些实施方案中,防治包括暴露后防治。

[0511] 在某些实施方案中,方法包括向受试者施用2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。在某些实施方案中,方法包括向受试者施用至少2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物。

[0512] 在某些实施方案中,方法包括多次向受试者施用抗体、抗原结合片段或组合物,其中第二或连续施用分别在第一或前一施用之后约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约24、约48、约74、约96小时或更长时间进行。

[0513] 在某些实施方案中,方法包括在受试者受流感感染之前施用抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物至少一次。

[0514] 包含本公开的抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合物的组合物也可在施用一种或多种其他治疗剂(诸如例如神经氨酸苷酶抑制剂,例如奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦或拉尼米韦)的同时、之前或之后施用。这种组合疗法可包括施用含有本发明的化合物和一种或多种附加活性剂的单一药物剂量制剂,以及施用包含本公开的抗体或抗原结合片段和其自身单独剂量制剂形式的每种活性剂的组合物。例如,如本文所述的抗体或其抗原结合片段和其他活性剂可以以单一口服剂量组合物(诸如片剂或胶囊)形式向患者一起施用,或每种药剂以单独口服剂量制剂形式施用。类似地,如本文所述的抗体或抗原结合片段和其他活性剂可以以单一肠胃外剂量组合物形式(诸如盐水溶液或其他生理学上可接受的溶液形式)向受试者一起施用,或每种药剂以单独肠胃外剂量制剂形式施用。在使用单独剂量制剂的情况下,包含抗体或抗原结合片段和一种或多种附加活性剂的组合物可基本上在同一时间(即,同时)施用或在交错时间(即,相继和以任何次序)分别施用;组合疗法应理解为包括所有这些方案。

[0515] 在一些实施方案中,向先前已接受一种或多种抗炎剂和/或一种或多种抗病毒剂的受试者施用抗体(或一种或多种核酸、宿主细胞、载体或组合物)。在一些实施方案中,抗病毒药是神经酰胺酶抑制剂(NAI),诸如例如奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦或拉尼米韦。在一些实施方案中,向先前已接受抗体(或一种或多种核酸、宿主细胞、载体或组合物)的受试者施用一种或多种抗炎剂和/或一种或多种抗病毒剂。在一些实施方案中,抗病毒药是神经酰胺酶抑制剂(NAI),诸如例如奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦或拉尼米韦。

[0516] 在相关方面,提供了当前公开的抗体、抗原结合片段、载体、宿主细胞和组合物的用途(例如,在流感感染的诊断、防治和/或治疗中的用途,在制造用于预防或治疗流感感染的药物中的用途)。

[0517] 在某些实施方案中,提供了抗体、抗原结合片段、多核苷酸、载体、宿主细胞或组合

物,它们用于治疗或预防受试者的流感感染的方法。

[0518] 在某些实施方案中,提供了抗体、抗原结合片段或组合物,它们用于制造或制备用于治疗或预防受试者的流感感染的药物的方法。

[0519] 本公开还提供了以下非限制性列举的实施方案。

[0520] 实施方案1.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:(a)所述CDRH1包含SEQ ID NO.:55、SEQ ID NO.:3、SEQ ID NO.:47或SEQ ID NO.:49中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(b)所述CDRH2包含SEQ ID NO.:4、SEQ ID NO.:57或SEQ ID NO.:61中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(c)所述CDRH3包含SEQ ID NO.:5、SEQ ID NO.:15、SEQ ID NO.:51或SEQ ID NO.:53中列出的氨基酸序列或由其组成,(d)所述CDRL1包含SEQ ID NO.:9或SEQ ID NO.:32中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(e)所述CDRL2包含SEQ ID NO.:10中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(f)所述CDRL3包含SEQ ID NO.:11、18、21、24、33或67中列出的氨基酸序列或由其组成,任选地前提条件是所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3不包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为3-5和9-11;(ii)分别为3、4、15和9-11;(iii)分别为3-5、9、10和18;(iv)分别为3-5、9、10和21;(v)分别为3-5、9-11和24;或(vi)分别为3-5、32、96和33。

[0521] 实施方案2.根据实施方案1所述的抗体或抗原结合片段,其中所述CDRH3和所述CDRL3包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为5和11;(ii)分别为5和18;(iii)分别为5和21;(iv)分别为5和24;(v)分别为5和33;(vi)分别为5和67;(vii)分别为15和11;(viii)分别为15和18;(ix)分别为15和21;(x)分别为15和24;(xi)分别为15和33;(xii)分别为15和67;(xiii)分别为51和11;(xiv)分别为51和18;(xv)分别为51和21;(xvi)分别为51和24;(xvii)分别为51和33;(xviii)分别为51和67;(xix)分别为53和11;(xx)分别为53和18;(xxi)分别为53和21;(xxii)分别为53和24;(xxiii)分别为53和33;或(xxiv)分别为53和67。

[0522] 实施方案3.根据实施方案1或2所述的抗体或抗原结合片段,其中所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为55、4、5和9-11;(ii)分别为47、4、5和9-11;(iii)分别为47、4、5、9、10和67;(iv)分别为49、4、5和9-11;(v)分别为47、4、5、9、10和67;(vi)分别为3-5、9、10和67;(vii)分别为55、4、5、9、10和67;(viii)分别为3、4、51和9-11;(ix)分别为3、4、51、9、10和67;(x)分别为55、4、5和9-11;(xi)分别为55、4、5、9、10和67;(xii)分别为3、61、5和9-11;(xiii)分别为3、61、5、9、10和67;(xiv)分别为3-5和9-11;或(xv)分别为3、57、5和9-11。

[0523] 实施方案3a.根据实施方案1或2所述的抗体或抗原结合片段,其中所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列如在如下SEQ ID NO.中列出:(i)分别为55、4、5和9-11;(ii)分别为47、4、5和9-11;(iii)分别为47、4、5、9、10和67;(iv)分别为49、4、5和9-11;(v)分别为47、4、5、9、10和67;(vi)分别为3-5、9、10和67;(vii)分别为55、4、5、9、10和67;(viii)分别为3、4、51和9-11;(ix)分别为3、4、51、9、10和

67;(x)分别为55、4、5和9-11;(xi)分别为55、4、5、9、10和67;(xii)分别为3、61、5和9-11;(xiii)分别为3、61、5、9、10和67;(xiv)分别为3-5和9-11;或(xv)分别为3、57、5和9-11。

[0524] 实施方案4.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含(i)重链可变结构域(VH)以及(ii)轻链可变结构域(VL),其中:(i)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(ii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(iii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(iv)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(v)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(vi)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(vii)所述VH包含SEQ ID NO.:46中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(viii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(ix)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(x)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xi)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xiii)所述VH包含SEQ ID NO.:48中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xiv)所述VH包含SEQ ID NO.:2中列出的所述VH氨基酸序列的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xvi)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含

SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xvii)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xviii)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xix)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xx)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxi)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxii)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:56中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxv)所述VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxvi)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxvii)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxviii)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxix)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxx)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxi)所述VH包含SEQ ID NO.:60中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述

CDRL3;(xxxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxv)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxvi)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxvii)所述VH包含SEQ ID NO.:50中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxviii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxix)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:17中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxx)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:20中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxxi)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:23中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxxii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:31中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxxiii)所述VH包含SEQ ID NO.:52中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:66中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(xxxxiv)所述VH包含SEQ ID NO.:2中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3,或者(xxxxv)所述VH包含SEQ ID NO.:65中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述VL包含SEQ ID NO.:68中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3,其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3任选地根据IMGT编号系统来定义。

[0525] 实施方案5.根据实施方案1至4中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中:(i)所述VH包含与SEQ ID NO.:54、2、14、45、46、48、50、52、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:54、2、14、45、46、48、50、52、56、58、60、63和65中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成;并且(ii)所述VL包含与SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由其组成,或包含SEQ ID NO.:8、17、20、23、31、37、66和68中任一项所列出的氨基酸序列或由其组成,任选地前提条件是所述VH和所述VL不包含如下列出的氨基酸序列或由其组成:(a)分别

为2和8;(b)分别为14和8;(c)分别为2和17;(d)分别为2和20;(e)分别为2和23;或(f)分别为2和31。

[0526] 实施方案6.根据实施方案1至5中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL与如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列具有至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性),或包含如下SEQ ID NO中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和8;(iii)分别为46和17;(iv)分别为46和20;(v)分别为46和23;(vi)分别为46和31;(vii)分别为46和66;(viii)分别为48和8;(ix)分别为48和17;(x)分别为48和20;(xi)分别为48和23;(xii)分别为48和31;(xiii)分别为48和66;(xiv)分别为2和66;(xv)分别为54和17;(xvi)分别为54和20;(xvii)分别为54和23;(xviii)54和31;(xix)分别为54和66;(xx)分别为56和8;(xxi)分别为56和17;(xxii)分别为56和20;(xxiii)分别为56和23;(xxiv)分别为54和31;(xxv)分别为54和66;(xxvi)分别为60和8;(xxvii)分别为60和17;(xxviii)分别为60和20;(xxix)分别为60和23;(xxx)分别为60和31;(xxxi)分别为60和66;(xxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxiii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;(xxxxiv)分别为2和37;或(xxxxv)分别为65和68。

[0527] 实施方案7.根据实施方案1至6中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和37;(iii)分别为48和37;(iv)分别为50和37;(v)分别为52和37;(vi)分别为54和37;(vii)分别为56和37;(viii)分别为58和37;(ix)分别为60和37;(x)分别为63和37;(xi)分别为65和37;(xii)分别为45和66;(xiii)分别为46和66;(xiv)分别为48和66;(xv)分别为50和66;(xvi)分别为52和66;(xvii)分别为54和66;(xviii)分别为56和66;(xix)分别为58和66;(xx)分别为60和66;(xxi)分别为63和66;(xxii)分别为65和66;(xxiii)分别为45和68;(xxiv)分别为46和68;(xxv)分别为48和68;(xxvi)分别为50和68;(xxvii)分别为52和68;(xxviii)分别为54和68;(xxix)分别为56和68;(xxx)分别为58和68;(xxxi)分别为60和68;(xxxii)分别为63和68;(xxxiii)分别为65和68;(xxxiv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和8;(xxxv)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和17;(xxxvi)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和20;(xxxvii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和23;(xxxviii)分别为45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和31;(xxxix)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和37;(xxxx)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxi)分别为2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和68;(xxxxii)分别为2、14、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63或65和66;(xxxxiii)分别为2和8;(xxxxiv)分别为2和37;(xxxxv)分别为45和37;(xxxxvi)分别为46和8;或(xxxxvii)

分别为56和8。

[0528] 实施方案7a.根据实施方案1至6中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH和所述VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8。

[0529] 实施方案8.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)包含互补决定区(CDR)H1、CDRH2和CDRH3的重链可变结构域(VH),以及(ii)包含CDRL1、CDRL2和CDRL3的轻链可变结构域(VL),其中:(a)CDRH2如SEQ ID NO.:4中所列出并包含在SEQ ID NO.:59中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出;(b)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:62中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出;或者(c)CDRH2如SEQ ID NO.:61中所列出并包含在SEQ ID NO.:64中,CDRH1如SEQ ID NO.:3中所列出,并且CDRH3如SEQ ID NO.:5中所列出。

[0530] 实施方案9.根据实施方案8所述的抗体或抗原结合片段,其中CDRL1如SEQ ID NO.:9中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。

[0531] 实施方案10.根据实施方案8所述的抗体或抗原结合片段,其中CDRL1如SEQ ID NO.:32中所列出,CDRL2如SEQ ID NO.:10或96中所列出,并且CDRL3如SEQ ID NO.:11、18、21、24、33和67中任一项所列出。

[0532] 实施方案11.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL),其中所述VH和所述VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为46和8;(iii)分别为48和8;(iv)分别为50和8;(v)分别为52和8;(vi)分别为65和68;(vii)分别为56和8;(viii)分别为58和8;(ix)分别为60和8;(x)分别为63和8;(xi)分别为46和66;(xii)分别为48和66;(xiii)分别为50和66;(xiv)分别为52和66;(xv)分别为54和66;(xvi)分别为56和66;(xvii)分别为58和66;(xviii)分别为60和66;(xix)分别为63和66;或(xx)分别为2和37。

[0533] 实施方案12.根据实施方案1至11中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述流感包括甲型流感病毒、乙型流感病毒或两者。

[0534] 实施方案13.根据实施方案1至12中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或所述抗原结合片段包括人抗体、单克隆抗体、经纯化的抗体、单链抗体、Fab、Fab'、F(ab')2或Fv。

[0535] 实施方案14.根据实施方案1至13中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段是多特异性抗体或抗原结合片段,其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是双特异性抗体或抗原结合片段。

[0536] 实施方案15.根据实施方案1至14中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段包括(例如,IgG1)Fc多肽或其片段。

[0537] 实施方案16.根据实施方案1至15中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG、IgA、IgM、IgE或IgD同种型。

[0538] 实施方案17.根据实施方案1至16中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的IgG同种型,任选地去除C-末端赖氨酸

或去除C-末端甘氨酸-赖氨酸。

[0539] 实施方案18.根据实施方案1至17中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1同种型。

[0540] 实施方案19.根据实施方案1至18中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

[0541] 实施方案20.根据实施方案15至19所述的抗体或抗原结合片段,其中所述Fc多肽或其片段包含:(i)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方案));和/或(ii)与不包含突变的参考Fc多肽相比增加对人Fc γ R的结合亲和力的所述突变(例如,如使用表面等离子体共振(SPR)所测量的(例如,Biacore,例如,T200仪器,使用制造商的方案,和/或如使用mesoscalediscovery(MSD)所测量的))。

[0542] 实施方案21.根据实施方案20所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括:M428L;N434S;N434H;N434A;N434S;M252Y;S254T;T256E;T250Q;P257I;Q311I;D376V;T307A;E380A;或它们的任何组合。

[0543] 实施方案22.根据实施方案20或21所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括:(i)M428L/N434S;(ii)M252Y/S254T/T256E;(iii)T250Q/M428L;(iv)P257I/Q311I;(v)P257I/N434H;(vi)D376V/N434H;(vii)T307A/E380A/N434A;(viii)M428L/N434A;或(ix)(i)-(viii)的任何组合。

[0544] 实施方案23.根据实施方案20至22中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增加对人FcRn的结合亲和力的所述突变包括M428L/N434S或M428L/N434A。

[0545] 实施方案24.根据实施方案20至23中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增强与Fc γ R的结合的所述突变包括S239D;I332E;A330L;G236A;或它们的任何组合。

[0546] 实施方案25.根据实施方案20至24中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中增强与Fc γ R的结合的所述突变包括:(i)S239D/I332E;(ii)S239D/A330L/I332E;(iii)G236A/S239D/I332E;或(iv)G236A/A330L/I332E,其中所述Fc多肽或其片段任选地在位置239处包含Ser。

[0547] 实施方案26.根据实施方案1至25中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包含改变糖基化的突变,其中改变糖基化的所述突变包括N297A、N297Q或N297G,并且/或者其是去糖基化的,并且/或者其是去岩藻糖基化的。

[0548] 实施方案27.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),以及(i)(b)突变M428L和N434A;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。

[0549] 实施方案28.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:

9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL)。

[0550] 实施方案29.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:55、4和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:54中列出的氨基酸序列组成,以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成。

[0551] 实施方案30.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:47、4和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:46中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:46中列出的氨基酸序列组成,以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成。

[0552] 实施方案31.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3-5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:65中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:65中列出的氨基酸序列组成,以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:68中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:68中列出的氨基酸序列组成。

[0553] 实施方案32.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或其抗原结合片段包含:(i)在重链中,(i)(a)包含分别在SEQ ID NO.:3、57和5中列出的所述互补决定区(CDR)H1、所述CDRH2和所述CDRH3氨基酸序列的可变结构域(VH),其中任选地,所述VH包含与SEQ ID NO.:56中列出的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%

或至少99％同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:56中列出的氨基酸序列组成,以及(i)(b)突变M428L和N434S;以及(ii)在轻链中,包含分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列的轻链可变结构域(VL),其中任选地,所述VL包含与SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性)的氨基酸序列或由SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列组成。

[0554] 实施方案33.根据实施方案27至32中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL与如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列具有至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性),或包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为2和31;(iii)分别为2和8;(iv)分别为46和8;(v)分别为65和68;或(vi)分别为56和8。

[0555] 实施方案34.根据实施方案27至33中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL包含如下SEQ ID NO.中列出的氨基酸序列或由其组成:(i)分别为54和8;(ii)分别为2和31;(iii)分别为2和8;(iv)分别为46和8;(v)分别为65和68;或(vi)分别为56和8。

[0556] 实施方案35.根据实施方案27至34中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL与分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列具有至少85％、至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性(或相似性),或包含分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0557] 实施方案36.根据实施方案27至33和31中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:2和37中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0558] 实施方案37.根据实施方案27至36中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包括IgG1m3同种异型、IgG1m17同种异型、IgG1m1同种异型或它们的任何组合。

[0559] 实施方案38.根据实施方案1至37中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VH包含在重链中,所述重链还包含SEQ ID NO.:34、SEQ ID NO.:36或SEQ ID NO.:38中列出的CH1-CH3氨基酸序列,或包含去除了所述C-末端赖氨酸和任选地所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:34、去除了所述C-末端甘氨酸的SEQ ID NO.:36或去除了所述C-末端甘氨酸的SEQ ID NO.:38。

[0560] 实施方案39.根据实施方案1至38中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述VL包含在轻链中,所述轻链还包含SEQ ID NO.:35中列出的CL氨基酸序列。

[0561] 实施方案40.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0562] 实施方案41.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由

其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0563] 实施方案42.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0564] 实施方案43.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)重链,所述重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;以及(ii)轻链,所述轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0565] 实施方案44.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:39中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:39或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0566] 实施方案45.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:40或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:40或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:41中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0567] 实施方案46.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:42中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:42或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0568] 实施方案47.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)两条重链,每条重链包含SEQ ID NO.:43中列出的氨基酸序列或由其组成,或包含去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:43或由其组成;以及(ii)两条轻链,每条轻链包含SEQ ID NO.:44中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0569] 实施方案48.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列和SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列。

[0570] 实施方案48a.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)VH,所述VH包含SEQ ID NO.:2、45、46、48、50、52、54、56、58、60、63和65中任一者的氨基酸序列或由其组成;以及(ii)VL,所述VL包含SEQ ID NO.:8的所述VL氨基酸序列或由其组成。

[0571] 实施方案48b.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)VH,所述VH包含氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS

LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)VL,所述VL包含氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)。

[0572] 实施方案48c.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)VH,所述VH由氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)组成;以及(ii)VL,所述VL由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)组成。

[0573] 实施方案48d.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)重链,所述重链包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)轻链,所述轻链包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8),其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链是IgG1κ轻链。

[0574] 实施方案48e.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)两条重链,每条重链包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54);以及(ii)两条轻链,每条轻链包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8),其中任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链各自是IgG1κ轻链。

[0575] 实施方案48f.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)VH,所述VH包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)VL,所述VL包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义。

[0576] 实施方案48g.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)重链,所述重链在VH中包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)轻链,所述轻链在VL中包含所述VL氨基酸序列

[0577] EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI

[0578] YDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义,其中进一步任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链是IgG1κ轻链。

[0579] 实施方案48h.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体或抗原结合片段包含:(i)两条重链,每条重链在VH中包含所述VH氨基酸序列QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLE WMGGIFPISGTPTSAQRFQ GRVTFTADESTTVYMDLSSLRSDDTAV YYCARAGSDYFNRDLGWENYYFAS WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO.:54)的CDRH1、CDRH2和CDRH3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义;以及(ii)两条轻链,每条轻链在VL中包含所述VL氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK(SEQ ID NO.:8)的CDRL1、CDRL2和CDRL3,其中任选地,所述CDR根据IMGT来定义,并且其中进一步任选地,所述抗体或抗原结合片段是(例如,人)IgG1同种型并且任选地包含M428L和N434S突变,并且/或者其中所述轻链各自是IgG1κ轻链。

[0580] 实施方案49.一种抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体,所述抗流感神经氨酸苷酶(抗NA)抗体包含:(i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列,以及(ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链包含SEQ ID NO.:8中列出的氨基酸序列,其中任选地,所述抗体是IgG1同种型,并且其中进一步任选地,所述抗体包含M428L和N434S突变(EU编号)。

[0581] 实施方案50.根据实施方案1至49中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段在其重链中包含(i)至(xviii)中任一项所列出的氨基酸突变:(i)G236A、L328V和Q295E;(ii)G236A、P230A和Q295E;(iii)G236A、R292P和I377N;(iv)G236A、K334A和Q295E;(v)G236S、R292P和Y300L;(vi)G236A和Y300L;(vii)G236A、R292P和Y300L;(viii)G236S、G420V、G446E和L309T;(ix)G236A和R292P;(x)R292P和Y300L;(xi)G236A和R292P;(xii)Y300L;(xiii)E345K、G236S、L235Y和S267E;(xiv)E272R、L309T、S219Y和S267E;(xv)G236Y;(xvi)G236W;(xvii)F243L、G446E、P396L和S267E;(xviii)G236A、S239D和H268E。

[0582] 实施方案51.根据实施方案1至50中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段在其重链中包含氨基酸突变G236A。

[0583] 实施方案52.根据实施方案1至51中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段:是去岩藻糖基化的;已在不能岩藻糖基化或其使多肽岩藻糖基化的能力受到抑制的宿主细胞中产生;已在抑制宿主细胞使其岩藻糖基化的条件下产生;或它们的任何组合。

[0584] 实施方案53.根据实施方案1至52中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段是人的、人源化的或嵌合的。

[0585] 实施方案54.根据实施方案1至53中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够与来自以下的NA结合:(i)甲型流感病毒(IAV),其中所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者;以及(ii)乙型流感病毒(IBV)。

[0586] 实施方案55.根据实施方案54所述的抗体或抗原结合片段,其中:(i)所述第1组

IAV NA包括N1、N4、N5和/或N8;并且/或者(ii)所述第2组IAV NA包括N2、N3、N6、N7和/或N9。

[0587] 实施方案56.根据实施方案55所述的抗体或抗原结合片段,其中:(i)所述N1是来自以下的任何一种或多种的N1:A/加利福尼亚/07/2009、A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、A/加利福尼亚/07/2009Q250S、A/猪/江苏/J004/2018、A/猪/河北/2017、A/斯德哥尔摩/18/2007、A/布里斯班/02/2018、A/密歇根/45/2015、A/密西西比/3/2001、A/荷兰/603/2009、A/荷兰/602/2009、A/越南/1203/2004、A/越南/1203/2004S247R、A/越南/1203/2004I223R、A/越南/1203/2004R152I、A/越南/1203/2004D199N、A/G4/SW/山东/1207/2016、A/G4/SW/河南/SN13/2018、A/G4/SW/江苏/J004/2018、A/水貂/西班牙/2022和A/新泽西/8/1976;(ii)所述N4来自A/绿头鸭/荷兰/30/2011;(iii)所述N5来自A/水鸟/韩国/CN5/2009;(iv)所述N8来自A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011或A/鸡/俄罗斯/3-29/2020;(v)所述N2是来自以下的任何一种或多种的N2:A/华盛顿/01/2007、A/华盛顿/01/2007R292K、A/中国香港/68、A/南澳大利亚/34/2019、A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016、A/瑞士/9715293/2013、A/列宁格勒/134/17/57、A/佛罗里达/4/2006、A/荷兰/823/1992、A/挪威/466/2014、A/瑞士/8060/2017、A/德克萨斯/50/2012、A/维多利亚/361/2011、A/中国香港/2671/2019、A/中国香港/2671/2019K431E、A/SW/墨西哥/SG1444/2011、A/坦桑尼亚/205/2010、A/爱知县/2/1968、A/比尔托芬/21793/1972、A/荷兰/233/1982、A/上海/11/1987、A/南昌/933/1995、A/福井/45/2004、A/布里斯班/10/2007、A/塔斯马尼亚/503/2020、A/柬埔寨/2020、A/珀斯/16/2009、A/堪萨斯/14/2017、A/猪/堪萨斯/2021、A/犬/韩国/VC378/2012和A/犬/印第安纳/003018/2016;(vi)所述N3是来自以下的任何一种或多种的N3:A/加拿大/rv504/2004和A/Ck/Ja/2017;(v)所述N6是来自以下的任何一种或多种的N6:A/猪/安大略/01911/1/99、A/Ck/苏州/2019和A/杭州/2021;(vi)所述N7是来自以下的任何一种或多种的N7:A/荷兰/078/03、A/Ck/621572/03;(vii)所述N8来自以下的任何一种或多种:A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011和A/Ck/俄罗斯/2020;并且/或者(viii)所述N9是来自以下的任何一种或多种的N9:A/安徽/2013和A/中国香港/56/2015。

[0588] 实施方案57.根据实施方案54至56中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述IBV NA是来自以下的任何一种或多种的NA:B/Lee/10/1940(祖先);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/马来西亚/3120318925/2013(山形县);B/威斯康星/1/2010(山形县);B/山梨县/166/1998(山形县);B/布里斯班/33/2008;B/科罗拉多/06/2017;B/湖北武江/158/2009;B/马萨诸塞/02/2012;B/荷兰/234/2011;B/珀斯/211/2001;B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/珀斯/211/2011;B/中国香港/05/1972;B/普吉岛/3073/2013,B/哈尔滨/7/1994(维多利亚),B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/维多利亚/504/2000(山形县);B/维多利亚/2/87;B/维多利亚/2/87谱系;B/山形县/16/88;和B/山形县/16/88谱系。

[0589] 实施方案58.根据实施方案1至57中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够以一定的EC50与以下的每一种结合:(i)第1组IAV NA;(ii)第2组IAV NA;以及(iii)IBV NA,所述EC_{50}在约0.1μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.1μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.1μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内,或在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在2μg/mL至约10μg/mL的范围内,或在0.4μg/mL至约1μ

g/mL的范围内,或为0.4μg/mL或更小。

[0590] 实施方案59.根据实施方案58所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够:(i)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、约0.4μg/mL至约10μg/mL、约0.4μg/mL至约2μg/mL、约2μg/mL至约50μg/mL、约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与所述第1组IAV NA结合;(ii)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、或约2μg/mL至约50μg/mL、或约2μg/mL至约10μg/mL、或约10μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与所述第2组IAV NA结合;和/或(iii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与所述IBV NA结合。

[0591] 实施方案60.根据实施方案59所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够:(i)以约0.4μg/mL、或在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N1结合;(ii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N4结合;(iii)以在约0.4μg/mL至约2μg/mL的范围内的EC_{50}与N5结合;(iv)以约50μg/mL的EC_{50}与N8结合;(v)以在约0.4μg/mL至约20μg/mL、或约0.4μg/mL至约10μg/mL、或约0.4μg/mL至约2μg/mL、约1μg/mL至约10μg/mL、或约1μg/mL至约20μg/mL、或约1μg/mL至约5μg/mL的范围内、或约1μg/mL、2μg/mL、3μg/mL、4μg/mL、5μg/mL、6μg/mL、7μg/mL、8μg/mL、9μg/mL、10μg/mL、15μg/mL或20μg/mL的EC_{50}与N2结合;(vi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N3结合;(vii)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N6结合;(viii)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7结合;(ix)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与N9结合;和/或(xi)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与IBV NA结合。

[0592] 实施方案61.根据实施方案59或60所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够:(i)以约0.4μg/mL、或在约0.1μg/mL至约1.9μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.5μg/mL、或约0.1μg/mL至约1.0μg/mL的范围内、或约0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.3μg/mL、0.4μg/mL、0.5μg/mL、0.6μg/mL、0.7μg/mL、0.8μg/mL、0.9μg/mL或1.0μg/mL的EC_{50}与以下的一种或多种结合:N1 A/加利福尼亚/07/2009、N1 A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y、N1 A/斯

德哥尔摩/18/2007、N1 A/猪/江苏/J004/2008、N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011、N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009、N2A/中国香港/68、N2 A/列宁格勒/134/17/57、N3 A/加拿大/rv504/2004、N6 A/猪/安大略/01911/1/99、N9 A/安徽/1/2013、B/Lee/10/1940(祖先)、B/布里斯班/60/2008(维多利亚)、B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)、B/马来西亚/3120318925/2013(山形县)、B/威斯康星/1/2010(山形县)和B/山梨县/166/1998(山形县);(ii)以约2μg/mL或在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009结合;(iii)以约50μg/mL的EC_{50}与N8 A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011结合;(iv)以在约2μg/mL至约10μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/华盛顿/01/2007结合;(v)以在约2μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N7 A/荷兰/078/03结合;(vi)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内的EC_{50}与N2A/南澳大利亚/34/2019结合;(vii)以在约9.5μg/mL至约3.8μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/8060/2017结合;(viii)以在约18.4μg/mL至约2.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016结合;(iv)以在约1.6μg/mL至约1.2μg/mL的范围内的EC_{50}与N2 A/瑞士/9715293/2013结合;和/或(v)以在约0.4μg/mL至约50μg/mL的范围内、或约0.4μg/mL、约2μg/mL、约10μg/mL或约50μg/mL的EC_{50}与N1 A/猪/江苏/J004/2018结合。

[0593] 实施方案62.根据实施方案1至61中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述NA在宿主细胞(例如,CHO细胞)的表面上表达,并且与NA的结合是根据流式细胞术。

[0594] 实施方案63.根据实施方案1至62中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够以小于1.0E-12M、小于1.0E-11M、小于1.0E-11M的KD、或者1.0E-12M或更小、1.0E-11M或更小、或1.0E-10或更小的KD、或者介于1.0E-10与1.0E-13之间的KD、或者介于1.0E-11与1.0E-13之间的KD与NA结合,其中任选地,所述结合是通过生物层干涉测量法(BLI)评估的。

[0595] 实施方案64.根据实施方案63所述的抗体或抗原结合片段,其中所述NA是N1、N2和/或N9。

[0596] 实施方案65.根据实施方案1至64中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够与以下结合:(1)(i)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N1 NA编号)的NA表位:R368、R293、E228、E344、S247、D198、D151、R118;和/或(ii)包含以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2 NA编号)的NA表位:R371、R292、E227、E344、S247、D198、D151、R118;和/或(2)(i)包含氨基酸R368、R293、E228、D151和R118(N1 NA编号)的NA表位;和/或(ii)包含氨基酸R371、R292、E227、D151和R118(N2 NA编号)的NA表位;和/或(3)包含在NA活性位点中或包含NA活性位点的表位,其中任选地,所述NA活性位点包含以下氨基酸(N2编号):R118、D151、R152、R224、E276、R292、R371、Y406、E119、R156、W178、S179、D/N198、I222、E227、H274、E277、D293、E425;和/或(4)IBV NA表位,所述IBV NA表位包含:(i)以下氨基酸中的任何一个或多个氨基酸:R116、D149、E226、R292和R374;或(ii)氨基酸R116、D149、E226、R292和R374。

[0597] 实施方案66.根据实施方案65所述的抗体或抗原结合片段,其中:(1)所述表位还包含以下NA氨基酸中的任何一个或多个氨基酸(N2编号):E344、E227、S247和D198;并且/或者(2)所述抗体或抗原结合片段能够与包含S245N氨基酸突变和/或E221D氨基酸突变的NA结合。

[0598] 实施方案67.根据实施方案1至66中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体

或抗原结合片段能够与包含S245N氨基酸突变和/或E221D氨基酸突变的NA结合。

[0599] 实施方案68.根据实施方案1至67中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够在体外感染模型、体内感染动物模型和/或人体内抑制以下的唾液酸酶活性:(i)IAV NA,其中所述IAV NA包括第1组IAV NA、第2组IAV NA或两者,和/或(ii)IBV NA。

[0600] 实施方案69.根据实施方案68所述的抗体或抗原结合片段,其中:(i)所述第1组IAV NA包括H1N1和/或H5N1;(ii)所述第2组IAV NA包括H3N2和/或H7N9;并且/或者(iii)所述IBV NA包括以下的一种或多种:B/Lee/10/1940(祖先);B/中国香港/05/1972;B/中国台湾/2/1962(祖先);B/布里斯班/33/2008(维多利亚);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/纽约/1056/2003(维多利亚);B/佛罗里达/4/2006(山形县);B/江苏/10/2003(山形县);B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/珀斯/211/2011;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/科罗拉多/06/2017(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/珀斯/211/2001(山形县);B/湖北伍家岗/158/2009(山形县);B/威斯康星/01/2010(山形县);B/马萨诸塞/02/2012(山形县);和B/普吉岛/3073/2013(山形县)。

[0601] 实施方案70.根据实施方案1至69中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制第1组IAV NA、第2组IAV NA和/或IBV NA的唾液酸酶活性,所述IC50在约0.0008μg/mL至约4μg/mL、约0.0008μg/mL至约3μg/mL、约0.0008μg/mL至约2μg/mL、约0.0008μg/mL至约1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.9μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.8μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.7μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.6μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.5μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.4μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.3μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.2μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.1μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.09μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.08μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.07μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.06μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.05μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.04μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.03μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.02μg/mL、约0.0008μg/mL至约0.01μg/mL、0.002μg/mL至约4μg/mL、约0.001μg/mL至50μg/mL、约0.1μg/mL至约30μg/mL、约0.1μg/mL至约20μg/mL、约0.1μg/mL至约10μg/mL、约0.1μg/mL至约9μg/mL、约0.1μg/mL至约8μg/mL、约0.1μg/mL至约7μg/mL、约0.1μg/mL至约6μg/mL、约0.1μg/mL至约5μg/mL、约0.1μg/mL至约4μg/mL、约0.1μg/mL至约3μg/mL、约0.1μg/mL至约2μg/mL、约0.1μg/mL至约1μg/mL、约0.1μg/mL至约0.9μg/mL、约0.1μg/mL至约0.8μg/mL、约0.1μg/mL至约0.7μg/mL、约0.1μg/mL至约0.6μg/mL、约0.1μg/mL至约0.5μg/mL、约0.1μg/mL至约0.4μg/mL、约0.1μg/mL至约0.3μg/mL、约0.1μg/mL至约0.2μg/mL、约0.8μg/mL至约30μg/mL、约0.8μg/mL至约20μg/mL、约0.8μg/mL至约10μg/mL、约0.8μg/mL至约9μg/mL、约0.8μg/mL至约8μg/mL、约0.8μg/mL至约7μg/mL、约0.8μg/mL至约6μg/mL、约0.8μg/mL至约5μg/mL、约0.8μg/mL至约4μg/mL、约0.8μg/mL至约3μg/mL、约0.8μg/mL至约2μg/mL、约0.8μg/mL至约1μg/mL的范围内,或为约0.1μg/mL、约0.2μg/mL、约0.3μg/mL、约0.4μg/mL、约0.5μg/mL、约0.6μg/mL、约0.7μg/mL、约0.8μg/mL、约0.9μg/mL、约1.0μg/mL、约1.5μg/mL、约2.0μg/mL、约2.5μg/mL、约3.0μg/mL、约3.5μg/mL、约4.0μg/mL、约4.5μg/mL、约5.0μg/mL、约5.5μg/mL、约6.0μg/mL、约6.5μg/mL、约7.0μg/mL、约7.5μg/mL、约8.0μg/mL、约8.5μg/mL、约9.0μg/mL、约10μg/mL、约11μg/mL、约12μg/mL、约13μg/mL、约14μg/mL、约15μg/mL、约16μg/mL、约17μg/mL、约18μg/mL、约19μg/mL、约20μg/mL、约25μg/mL和/或约

30μg/mL。

[0602] 实施方案71.根据实施方案70所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够以一定的IC50抑制一种或多种第1组和/或第2组IAV和/或一种或多种IBV的NA唾液酸酶活性,所述IC50在约0.00001μg/ml至约25μg/ml、或约0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/mL至约0.1μg/mL、或约0.0001μg/mL至约0.01μg/mL、或约0.0001μg/ml至约0.001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.0001μg/ml、或约0.0001μg/ml至约25μg/ml、或约0.0001μg/ml至约10μg/ml、或约0.0001μg/ml至约1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.0001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.001μg/ml至约25μg/ml、或约0.001μg/ml至约10μg/ml、或约0.001μg/ml至约1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.1μg/ml、或约0.001μg/ml至约0.01μg/ml、或约0.01μg/ml至约25μg/ml、或约0.01μg/ml至约10μg/ml、或约0.01μg/ml至约1μg/ml、或约0.01μg/ml至约0.1μg/ml、或约1μg/ml至约25μg/ml、或约1μg/ml至约10μg/ml的范围内,

[0603] 或为约1μg/ml、1.5μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml、3μg/ml、3.5μg/ml、4μg/ml、4.5μg/ml、5μg/ml、5.5μg/ml、6μg/ml、6.5μg/ml、7μg/ml、7.5μg/ml、8μg/ml、8.5μg/ml、9μg/ml、9.5μg/ml、10μg/ml、10.5μg/ml、11μg/ml、11.5μg/ml、12μg/ml、12.5μg/ml、13μg/ml、13.5μg/ml、14μg/ml、14.5μg/ml或15μg/ml。

[0604] 实施方案72.根据实施方案1至71中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够激活人FcγRIIIa。

[0605] 实施方案73.根据实施方案72所述的抗体或抗原结合片段,其中激活是使用宿主细胞(任选地,Jurkat细胞)在所述抗体或抗原结合片段与感染了IAV的靶细胞(例如,A549细胞)一起温育(例如,23小时)后确定的,所述宿主细胞包含:(i)所述人FcγRIIIa(任选地,F158等位基因);以及(ii)NFAT表达控制序列,所述NFAT表达控制序列可操作地连接至编码报告基因诸如荧光素酶报告基因的序列。

[0606] 实施方案74.根据实施方案73所述的抗体或抗原结合片段,其中激活是在所述抗体或抗原结合片段与感染了H1N1 IAV的所述靶细胞一起温育(任选地,约23小时)后确定的,其中任选地,所述H1N1 IAV是A/PR8/34,并且/或者其中任选地,所述感染的感染复数(MOI)为6。

[0607] 实施方案75.根据实施方案1至74中任一项所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段能够中和IAV和/或IBV引起的感染。

[0608] 实施方案76.根据实施方案75所述的抗体或抗原结合片段,其中所述IAV和/或所述IBV是耐抗病毒药的,其中任选地,所述抗病毒药是奥司他韦。

[0609] 实施方案77.根据实施方案54至76中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述IAV包含具有以下氨基酸突变的N1 NA:H275Y;E119D+H275Y;S247N+H275Y;I222V;和/或N294S,其中任选地,所述IAV包括CA09或A/爱知县。

[0610] 实施方案78.根据实施方案54至77中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述IAV包含具有氨基酸突变E119V、Q136K和/或R292K的N2 NA。

[0611] 实施方案79.根据实施方案1至78中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够治疗和/或预防受试者的(i)IAV感染和/或(ii)IBV感染。

[0612] 实施方案80.根据实施方案1至79中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述

抗体或抗原结合片段能够治疗和/或减轻以下引起的感染:(i)H1N1病毒,其中任选地,所述H1N1病毒包括A/PR8/34;和/或(ii)H3N2病毒,其中任选地,所述H3N2病毒任选地包括A/中国香港/68。

[0613] 实施方案81.根据实施方案1至80中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中在施用有效量的所述抗体或抗原结合片段后,所述抗体或抗原结合片段能够预防被所述IAV和/或所述IBV感染的受试者的体重减轻,任选地持续(i)至多15天或(ii)超过15天。

[0614] 实施方案82.根据实施方案1至81中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够预防具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的体重减轻大于10%,如通过参考所述受试者恰好在所述IAV感染和/或所述IBV感染之前的体重所确定的。

[0615] 实施方案83.根据实施方案1至82中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够延长具有IAV感染和/或IBV感染的受试者的存活期。

[0616] 实施方案84.根据实施方案1至83中任一项所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段在小鼠(例如,tg32小鼠)中的体内半衰期:(i)在约10天至约14天、约10.2天至约13.8天、约10.5天至约13.5天、约11天至约13天、约11.5天至约12.5天的范围内、介于10天与14天之间、或介于10.5天与13.5天之间、或介于11天与13天之间、或为约10.0天、10.1天、10.2天、10.3天、10.4天、10.5天、10.6天、10.7天、10.8天、10.9天、11.0天、11.1天、11.2天、11.3天、11.4天、11.5天、11.6天、11.7天、11.8天、11.9天、12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、13.6天、13.7天、13.8天、13.9天或14.0天;或者(ii)在约12天至约16天、约12.5天至15.5天、约13天至15天、约13.5天至约14.5天的范围内、或介于12天与16天之间、或介于13天与15天之间、或介于13.5天与14.5天之间、或为约12.0天、12.1天、12.2天、12.3天、12.4天、12.5天、12.6天、12.7天、12.8天、12.9天、13.0天、13.1天、13.2天、13.3天、13.4天、13.5天、1.36天、13.7天、13.8天、13.9天、14.0天、14.1天、14.2天、14.3天、14.4天、14.5天、14.6天、14.7天、14.8天、14.9天、15.0天、15.1天、15.2天、15.3天、15.4天、15.5天、1.56天、15.7天、15.8天、15.9天或16.0天。

[0617] 实施方案85.根据实施方案83或84所述的抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够与来自以下的神经氨酸苷酶(NA)结合:(i)甲型流感病毒(IAV),其中所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者;和/或(ii)乙型流感病毒(IBV),并且其中任选地,所述抗体或抗原结合片段能够(1)抑制NA唾液酸酶活性和/或(2)中和所述IAV和/或所述IBV引起的感染。

[0618] 实施方案85a.一种抗体,所述抗体包含:

[0619] (i)重链,所述重链包含氨基酸序列

[0620] QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖

氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

[0621] (ii)轻链,所述轻链包含氨基酸序列

[0622] EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSG TEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)。实施方案85b.一种抗体,所述抗体包含:

[0623] (i)重链,所述重链由氨基酸序列

[0624] QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRV TFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

[0625] (ii)轻链,所述轻链由氨基酸序列

[0626] EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSG TEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)组成。

[0627] 实施方案85c.一种抗体,所述抗体包含:

[0628] (i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链包含氨基酸序列

[0629] QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRV TFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYT QKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及

[0630] (ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链包含氨基酸序列

[0631] EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSG TEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)。

[0632] 实施方案85d.一种抗体,所述抗体包含:

[0633] (i)两条重链,其中所述两条重链中的每条重链由氨基酸序列

[0634] QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRV TFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK

STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYT
QKSLSLSPGK(SEQ ID NO:107)或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107组成;以及

[0635] (ii)两条轻链,其中所述两条轻链中的每条轻链由氨基酸序列EIVMTQSPATLSLSS
GERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQY
NNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:108)组成。

[0636] 实施方案86.一种分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸编码根据实施方案1至85d中任一项所述的抗体或抗原结合片段,或编码所述抗体或所述抗原结合片段的VH、Fd、重链、VL和/或轻链,其中任选地:(1)所述重链包含SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸的SEQ ID NO.:107或由其组成;(2)所述轻链包含SEQ ID NO.:108或由其组成;(3)所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:109;并且/或者(4)所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:110。

[0637] 实施方案87.根据实施方案86所述的多核苷酸,其中所述多核苷酸包含脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA),其中所述RNA任选地包含信使RNA(mRNA)。

[0638] 实施方案88.根据实施方案86至87中任一项所述的多核苷酸,所述多核苷酸包含经修饰的核苷、cap-1结构、cap-2结构或它们的任何组合。

[0639] 实施方案89.根据实施方案88所述的多核苷酸,其中所述多核苷酸包含假尿苷、N6-甲基腺苷、5-甲基胞苷、2-硫代尿苷或它们的任何组合。

[0640] 实施方案90.根据实施方案89所述的多核苷酸,其中所述假尿苷包括N1-甲基假尿苷。

[0641] 实施方案91根据实施方案86至90中任一项所述的多核苷酸,所述多核苷酸被密码子优化以在宿主细胞中表达。

[0642] 实施方案92.根据实施方案91所述的多核苷酸,其中所述宿主细胞包括人细胞。

[0643] 实施方案93.一种重组载体,所述重组载体包含根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸,其中任选地,所述多核苷酸编码:(1)SEQ ID NO.:107,或去除了所述C-末端赖氨酸或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107;以及(2)SEQ ID NO.:108,其中进一步任选地,所述载体包含SEQ ID NO.:109和SEQ ID NO.:110。

[0644] 实施方案94.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸和/或根据实施方案93所述的载体,其中所述多核苷酸任选地对于所述宿主细胞是异源的,并且/或者其中所述宿主细胞能够表达所述编码的抗体或抗原结合片段或多肽。

[0645] 实施方案95.一种分离的人B细胞,所述分离的人B细胞包含根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸和/或根据实施方案93所述的载体,其中多核苷酸任选地对于所述人B细胞是异源的,并且/或者其中所述人B细胞是永生化的。

[0646] 实施方案96.一种组合物,所述组合物包含:(i)根据实施方案1至85d中任一项所

述的抗体或抗原结合片段;(ii)根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸;(iii)根据实施方案93所述的重组载体;(iv)根据实施方案94所述的宿主细胞;和/或(v)根据实施方案95所述的人B细胞,

[0647] 以及药学上可接受的赋形剂、载剂或稀释剂。

[0648] 实施方案97.根据实施方案96所述的组合物,所述组合物包含第一抗体或抗原结合片段和第二抗体或抗原结合片段,其中所述第一抗体或抗原结合片段和所述第二抗体或抗原结合片段各自不同,并且各自根据实施方案1至85d中的任一项。

[0649] 实施方案97a.根据实施方案96所述的组合物,所述组合物包含根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码:(i)SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107,以及(ii)SEQ ID NO.:108,并且所述多核苷酸任选地包含SEQ ID NO.:109和SEQ ID NO.:110。

[0650] 实施方案97b.根据实施方案96所述的组合物,所述组合物包含:(i)编码SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的第一多核苷酸,其中任选地,所述第一多核苷酸包含SEQ ID NO.:109,以及(ii)编码SEQ ID NO.:108的第二多核苷酸,其中任选地,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO.:110。

[0651] 实施方案97c.根据实施方案96所述的组合物,所述组合物包含:(1)第一质粒或载体,所述第一质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端赖氨酸或C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107的多核苷酸,其中任选地,所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:109,以及(2)第二质粒或载体,所述第二质粒或载体包含编码SEQ ID NO.:108的多核苷酸,其中任选地,所述多核苷酸包含SEQ ID NO.:110。

[0652] 实施方案98.一种组合物,所述组合物包含包封在载剂分子中的根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸或根据实施方案93所述的载体,其中所述载剂分子任选地包括脂质、脂质衍生的递送媒介物,诸如脂质体、固体脂质纳米颗粒、油性悬浮液、亚微米脂质乳剂、脂质微泡、反脂质胶束、耳蜗脂质体、脂质微管、脂质微柱体、脂质纳米颗粒(LNP)或纳米级平台。

[0653] 实施方案99.根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸、根据实施方案93所述的载体或根据实施方案96或98所述的组合物,包含第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,mRNA),所述第一多核苷酸编码包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH的抗体重链,所述第二多核苷酸编码包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL的抗体轻链。

[0654] 实施方案100.根据实施方案86至92中任一项所述的多核苷酸、根据实施方案93所述的载体或根据实施方案96或98所述的组合物,包含第一多核苷酸(例如,mRNA)和第二多核苷酸(例如,mRNA),所述第一多核苷酸编码包含如分别在SEQ ID NO.:(i)55、4和5中列出的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列的抗体重链,所述第二多核苷酸编码包含如分别在SEQ ID NO.:9-11中列出的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列的抗体轻链。

[0655] 实施方案101.一种制备根据实施方案1至85d中任一项的抗体或抗原结合片段的方法,所述方法包括将根据实施方案94所述的宿主细胞或根据实施方案95所述的人B细胞在足以使所述宿主细胞或人B细胞分别表达所述抗体或抗原结合片段的条件下培养一段时间。

[0656] 实施方案102.根据实施方案101所述的方法,所述方法还包括分离所述抗体或抗

原结合片段。

[0657] 实施方案103.一种治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的:(i)根据实施方案1至85d中任一项所述的抗体或抗原结合片段;(ii)根据实施方案86至92、99和100中任一项所述的多核苷酸;(iii)根据实施方案93、99或100所述的重组载体;(iv)根据实施方案94所述的宿主细胞;(v)根据实施方案95所述的人B细胞;和/或(vi)根据实施方案96至100中任一项所述的组合物。

[0658] 实施方案104.根据实施方案103所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段以约3mg/kg(例如,诸如3mg/kg的剂量)、约0.9mg/kg(例如,诸如0.9mg/kg的剂量)或约0.3mg/kg(例如,诸如0.3mg/kg的剂量)的剂量施用给所述受试者。

[0659] 实施方案105.根据实施方案103或实施方案104所述的方法,其中所述IAV感染是H5N1和/或H7N9感染。

[0660] 实施方案106.一种治疗或预防人受试者的流感感染的方法,所述方法包括向所述受试者施用根据实施方案86至92、99和100中任一项所述的多核苷酸、根据实施方案93、99或100所述的重组载体或根据实施方案96至100中任一项所述的组合物,其中所述多核苷酸包含mRNA。

[0661] 实施方案107.根据实施方案106所述的方法,其中所述流感感染包括IAV感染和/或IBV感染。

[0662] 实施方案108.根据实施方案103至107中任一项所述的方法,所述方法包括向所述受试者施用单剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

[0663] 实施方案109.根据实施方案103至107中任一项所述的方法,所述方法包括向所述受试者施用两个或更多个剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

[0664] 实施方案110.根据实施方案103至109中任一项所述的方法,所述方法包括任选地在流感季节之前或期间每年一次向所述受试者施用一定剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

[0665] 实施方案111.根据实施方案103至109中任一项所述的方法,所述方法包括每年两次或更多次向所述受试者施用一定剂量的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物;例如,约每6个月一次。

[0666] 实施方案112.根据实施方案103至111中任一项所述的方法,所述方法包括肌内、皮下或静脉内施用所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞或所述组合物。

[0667] 实施方案113.根据实施方案103至112中任一项所述的方法,其中所述治疗和/或预防包括暴露后防治。

[0668] 实施方案114.根据实施方案103至113中任一项所述的方法,其中所述受试者已接受、正在接受或将接受抗病毒药。

[0669] 实施方案115.根据实施方案114所述的方法,其中所述抗病毒药包括神经氨酸苷酶抑制剂、流感聚合酶抑制剂或两者。

[0670] 实施方案116.根据实施方案114或115所述的方法,其中所述抗病毒药包括奥司他

韦、扎那米韦、巴洛沙韦、帕拉米韦、拉尼米韦或它们的任何组合。

[0671] 实施方案117.根据实施方案1至85d中任一项所述的抗体或抗原结合片段、根据实施方案86至92、99和100中任一项所述的多核苷酸、根据实施方案93、99或100所述的重组载体、根据实施方案94所述的宿主细胞、根据实施方案95所述的人B细胞和/或根据实施方案96至100中任一项所述的组合物,它们用于治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的方法。

[0672] 实施方案118.根据实施方案1至85d中任一项所述的抗体或抗原结合片段、根据实施方案86至92、99和100中任一项所述的多核苷酸、根据实施方案93、99或100所述的重组载体、根据实施方案94所述的宿主细胞、根据实施方案95所述的人B细胞和/或根据实施方案96至100中任一项所述的组合物,它们用于制备用于治疗或预防受试者的IAV感染和/或IBV感染的药物。

[0673] 实施方案119.一种用于IAV感染和/或IBV感染的体外诊断的方法,所述方法包括:(i)使来自受试者的样品与根据实施方案1至85d中任一项所述的抗体或抗原结合片段接触;以及(ii)检测包含抗原和所述抗体、或包含抗原和所述抗原结合片段的复合物。

[0674] 实施方案120.根据实施方案103、104、106至116和119中任一项所述的方法,或用于根据实施方案117和119中任一项所述的用途的所述抗体或抗原结合片段、所述多肽、所述多核苷酸、所述重组载体、所述宿主细胞、所述人B细胞和/或所述组合物,其中:(i)所述IAV包括第1组IAV、第2组IAV或两者,其中任选地,所述第1组IAV NA包括N1、N4、N5和/或N8;并且/或者所述第2组IAV NA包括N2、N3、N6、N7和/或N9,其中进一步任选地,所述N1来自A/加利福尼亚/07/2009,来自A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y,来自A/加利福尼亚/07/2009Q250S,来自A/猪/江苏/J004/2018,来自A/猪/河北/2017,来自A/斯德哥尔摩/18/2007,来自A/布里斯班/02/2018,来自A/密歇根/45/2015,来自A/密西西比/3/2001,来自A/荷兰/603/2009,来自A/荷兰/602/2009,来自A/越南/1203/2004,来自A/越南/1203/2004S247R,来自A/越南/1203/2004I223R,来自A/越南/1203/2004R152I,来自A/越南/1203/2004D199N,来自A/G4/SW/山东/1207/2016,来自A/G4/SW/河南/SN13/2018,来自A/G4/SW/江苏/J004/2018,来自A/水貂/西班牙/2022,和/或来自A/新泽西/8/1976;所述N4来自A/绿头鸭/荷兰/30/2011;所述N5来自A/水鸟/韩国/CN5/2009;所述N8来自A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011和/或来自A/鸡/俄罗斯/3-29/2020;所述N2来自A/华盛顿/01/2007,来自A/中国香港/68,来自A/中国香港/2671/2019,来自A/中国香港/2671/2019K431E,来自A/南澳大利亚/34/2019,来自A/瑞士/8060/2017,来自A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016,来自A/瑞士/9715293/2013,来自A/列宁格勒/134/17/57,来自A/佛罗里达/4/2006,来自A/荷兰/823/1992,来自A/挪威/466/2014,来自A/德克萨斯/50/2012,来自A/维多利亚/361/2011,来自A/SW/墨西哥/SG1444/2011,来自A/爱知县/2/1968,来自A/比尔托芬/21793/1972,来自A/荷兰/233/1982,来自A/上海/11/1987,来自A/南昌/933/1995,来自A/福井/45/2004、A/布里斯班/10/2007,来自A/坦桑尼亚/205/2010,来自A/柬埔寨/2020,来自A/珀斯/16/2009,来自A/堪萨斯/14/2017,来自A/猪/堪萨斯/2021,来自A/犬/韩国/VC378/2012,和/或来自A/犬/印第安纳/003018/2016;所述N3来自A/加拿大/rv504/2004和/或来自A/鸡/哈利斯科/PAVX17170/2017;所述N6来自A/猪/安大略/01911/1/99,来自A/Ck/苏州/j6/2019,和/或来自A/杭州/01/2021;所述N7来自A/荷兰/078/03和/或来自

A/Ck/621572/03;并且/或者所述N9来自A/安徽/2013,来自A/中国香港/56/2015;并且/或者(ii)所述IBV NA来自:B/Lee/10/1940(祖先);B/布里斯班/60/2008(维多利亚);B/马来西亚/2506/2004(维多利亚);B/马来西亚/3120318925/2013(山形县);B/威斯康星/1/2010(山形县);B/山梨县/166/1998(山形县);B/布里斯班/33/2008(维多利亚);B/科罗拉多/06/2017(维多利亚);B/湖北武江/158/2009(山形县);B/马萨诸塞/02/2012(山形县);B/荷兰/234/2011;B/珀斯/211/2001(山形县);B/普吉岛/3073/2013(山形县);B/德克萨斯/06/2011(山形县);B/中国香港/05/1972;B/哈尔滨/7/1994(维多利亚);B/华盛顿/02/2019(维多利亚);B/珀斯/211/2011;B/维多利亚/2/87;B/维多利亚/2/87谱系;B/山形县/16/88;B/山形县/16/88谱系或它们的任何组合。

[0675] 实施方案121.一种治疗或预防受试者的流感感染的方法,所述方法包括以约3mg/kg(例如,诸如3mg/kg的剂量)、约0.9mg/kg(例如,诸如0.9mg/kg的剂量)或约0.3mg/kg(例如,诸如0.3mg/kg的剂量)的剂量向所述受试者施用抗体或抗原结合片段,或以约3mg/kg(例如,诸如3mg/kg的剂量)、约0.9mg/kg(例如,诸如0.9mg/kg的剂量)或约0.3mg/kg(例如,诸如0.3mg/kg的剂量)的剂量向所述受试者施用包含所述抗体或抗原结合片段的组合物,其中:(i)所述抗体或抗原结合片段的所述CDRH1、所述CDRH2、所述CDRH3、所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3氨基酸序列如分别在SEQ ID NO.:55、4、5和9-11中列出;(ii)所述抗体或抗原结合片段的VH包含SEQ ID NO.:54中列出的所述VH氨基酸序列的所述CDRH1、所述CDRH2和所述CDRH3,并且所述抗体或抗原结合片段的VL包含SEQ ID NO.:8中列出的所述VL氨基酸序列的所述CDRL1、所述CDRL2和所述CDRL3;(iii)所述抗体或抗原结合片段的VH和VL包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的氨基酸序列或由其组成;并且/或者(iv)所述抗体或抗原结合片段的重链和轻链包含分别在SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)和108中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0676] 实施方案122.根据实施方案121所述的方法,其中所述流感感染包括H5N1 IAV、H7N9 IAV或两者。

[0677] 实施方案123.根据实施方案121或122所述的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用单剂量的所述抗体或抗原结合片段。

[0678] 实施方案124.根据实施方案121至123中任一项所述的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

[0679] 实施方案125.根据实施方案121至123中任一项所述的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用0.9mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

[0680] 实施方案126.根据实施方案121至123中任一项所述的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用0.3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

[0681] 实施方案127.根据实施方案121至126中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含人IgG1同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在所述Fc中包含M428L和N434S突变。

[0682] 实施方案128.根据实施方案121至127中任一项所述的方法,其中所述抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出

的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0683] 实施方案129.根据实施方案121至128中任一项所述的方法,所述方法包括通过静脉内施用来向所述受试者施用所述抗体、所述抗原结合片段或所述组合物。

[0684] 实施方案130.根据实施方案121至129中任一项所述的方法,其中包含所述抗体或抗原结合片段的所述组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;并且包含通过亲和色谱法纯化的所述抗体或抗原结合片段。

[0685] 实施方案131.根据实施方案121至130中任一项所述的方法,其中所述受试者:已感染H5N1流感;有感染H5N1流感的风险;已暴露于H5N1流感;已感染H7N9流感;有感染H7N9流感的风险;和/或已暴露于H7N9流感。

[0686] 实施方案132.根据实施方案121至131中任一项所述的方法,其中所述治疗或预防包括防治。

[0687] 实施方案133.根据实施方案121至131中任一项所述的方法,其中所述治疗或预防包括暴露后防治。

[0688] 实施方案134.一种组合物,所述组合物包含抗NA抗体或抗原结合片段以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂,其中:(i)所述抗体或抗原结合片段包含如分别在SEQ ID NO.:55、4、5、9、10和11中列出的CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2和CDRL3氨基酸序列;并且/或者(ii)所述抗体或抗原结合片段包含分别在SEQ ID NO.:54和8中列出的所述VH和所述VL氨基酸序列。

[0689] 实施方案135.根据实施方案134所述的组合物,其中所述抗体或抗原结合片段包含人IgG1同种型(例如,包含同种异型,诸如IgG1m3或IgG1m17,1)并且在所述Fc中包含M428L和N434S突变。

[0690] 实施方案136.根据实施方案134或135所述的组合物,其中所述抗体或抗原结合片段包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的所述重链氨基酸序列和SEQ ID NO.:108中列出的所述轻链氨基酸序列。

[0691] 实施方案137.根据实施方案134至136中任一项所述的组合物,其中组合物的所述抗体或抗原结合片段包含两条重链和两条轻链,每条重链包含SEQ ID NO.:107(或去除了所述C-末端赖氨酸的SEQ ID NO.:107或去除了所述C-末端甘氨酸-赖氨酸的SEQ ID NO.:107)中列出的氨基酸序列或由其组成,每条轻链包含SEQ ID NO.:108中列出的氨基酸序列或由其组成。

[0692] 实施方案138.根据实施方案134至137中任一项所述的组合物,所述组合物包含相对于需要所述组合物的受试者的体重(kg)而言浓度为3mg/kg、0.9mg/kg或0.3mg/kg的所述抗体或抗原结合片段。

[0693] 实施方案139.根据实施方案134至138中任一项所述的组合物,其中所述组合物:具有280至315mOsm/kg的渗透度;没有可检测的内毒素,灵敏度<0.05EU/mg;是无菌的;pH为7.4;并且包含通过亲和色谱法纯化的所述抗体或抗原结合片段。

[0694] 表1.某些序列和SeqID编号的表

[0695]

SEQ ID NO	序列	标识符
1	CAGGTCCACCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGGAGCC TGGGTCCTCGGTGACGGTCTCCTGCAAGGCATCTGGAGGCA GCTTCAACAACCAGGCTATTAGCTGGGTGCGACAGGCCCC AGGACAAGGCCTTGAGTGGATGGGAGGGATCTTCCCTATC TCTGGCACACCGACCAGCGCACAGAGGTTCCAGGGCAGAG TCACATTTACCGCGGACGAGTCCACGACCACAGTCTACATG GATCTGAGCAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTCTACTA CTGTGCGAGAGCGGGTTCGGATTACTTTAATAGAGACCT CGGCTGGGAAAACTACTACTTTGCGTCCTGGGGCCAGGG AACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG	FNI9 VH（wt-nt）
2	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRS DDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9 VH（aa）
3	GGSFNNQA	FNI9 CDRH1（aa）
4	IFPISGTP	FNI9 CDRH2（aa）
5	ARAGSDYFNRDLGWENYYFAS	FNI9 CDRH3（aa）
6	CAGGTGCACCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGGAGCC AGGATCCAGCGTGACAGTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCGGCA GCTTCAACAATCAGGCTATCTCCTGGGTGAGGCAGGCTCCA GGACAGGGACTGGAGTGGATGGGCGGCATCTTTCCCATCTC TGGCACACCTACCTCCGCCCAGAGGTTCCAGGGAAGGGTGA CCTTCACCGCTGACGAGAGCACCACAACCGTGTACATGGAT CTGTCTTCCCTGAGATCTGACGATACCGCCGTGTACTATTGT GCCAGAGCTGGCTCCGACTATTTCAACCGCGATCTGGGCTGG GAGAATTACTATTTTGCTTCCTGGGGCCAGGGCACACTGGTG ACCGTGAGCTCT	FNI9 VH（co-nt）
7	GAAATCGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTCTATCT TCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCGGAG TGTTAGTAGCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCTCCCAGGCTCCTCATTTATGATGCATCCACCAGGGCC ACTGGTTTTTCAGCCAGGTTCGCTGGCAGTGGGTCTGGGACA GAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAGATTCT GCTATTTATTACTGTCAGCAGTATAATAACTGGCCTCCGTG GACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC	FNI9 Vk（wt-nt）
8	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNWPPWTFGQGTKVEIK	FNI9 VK（aa）
9	RSVSSN	FNI9 CDRL1（aa）
10	DAS	FNI9 CDRL2（aa）

[0696]

SEQ ID NO	序列	标识符
11	QQYNNWPPWT	FNI9 CDRL3（aa）
12	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGTC CAGCGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGGGCTTCCCGGA GCGTGTCTTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGC CAGGCTCCCAGACTGCTGATCTATGACGCCTCTACCAGAGCT ACAGGCTTCTCCGCCAGGTTTGCTGGATCTGGATCCGGCACA GAGTTCACCCTGACAATCAGCTCTCTGCAGAGCGAGGATTCT GCTATCTACTATTGTCAGCAGTACAACAATTGGCCCCCTTGG ACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG	FNI9 Vk（co-nt）
13	CAGGTGCACCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGGAGCC AGGATCCAGCGTGACAGTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCGGCA GCTTCAACAATCAGGCTATCTCCTGGGTGAGGCAGGCTCCA GGACAGGGACTGGAGTGGATGGGCGGCATCTTTCCCATCT CTGGCACACCTACCTCCGCCCAGAGGTTCCAGGGAAGGGTGACC TTCACCGCTGACGAGAGCACCACAACCGTGTACATGG ATCTGTCTTCCCTGAGATCTGACGATACCGCCGTGTACTATT GTGCCAGAGCTGGCTCCGACTATTTCAACCGCGATCTGG GCTTCGAGAATTACTATTTTGCTTCCTGGGGCCAGGGCAC ACTGGTGACCGTGAGCTCT	FNI9-VH-W110F（nt）
14	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGFENYYFASWGQGTLVTV SS	FNI9-VH-W110F（aa）
15	ARAGSDYFNRDLGFENYYFAS	FNI9-VH-W110F CDRH3（aa）
16	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGTC CAGCGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGGGCTTCCCGGA GCGTGTCTTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CCAGGCTCCCAGACTGCTGATCTATGACGCCTCTACCAGAG CTACAGGCTTCTCCGCCAGGTTTGCTGGATCTGGATCCGGCA CAGAGTTCACCCTGACAATCAGCTCTCTGCAGAGCGAGGAT TCTGCTATCTACTATTGTCAGCAGTACAACAATTTCCCCCC TTGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG	FNI9-VK-W94F（nt）
17	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNFPPWTFGQGTKVEIK	FNI9-VK-W94F（aa）
18	QQYNNFPPWT	FNI9-VK-W94F CDRL3（aa）
19	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGTC CAGCGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGGGCTTCCCGGA GCGTGTCTTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CCAGGCTCCCAGACTGCTGATCTATGACGCCTCTACCAGAG CTACAGGCTTCTCCGCCAGGTTTGCTGGATCTGGATCCGGCA CAGAGTTCACCCTGACAATCAGCTCTCTGCAGAGCGAGGAT TCTGCTATCTACTATTGTCAGCAGTACAACAATTGGCCCCC TTTCACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG	FNI9-VK-W97F（nt）
20	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNWPPFTFGQGTKVEIK	FNI9-VK-W97F（aa）
21	QQYNNWPPFT	FNI9-VK-W97F CDRL3（aa）

[0697]

SEQ ID NO	序列	标识符
22	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCAGCCACACTGAGCCTGTC CAGCGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGGGCTTCCCGGA GCGTGTCTTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CCAGGCTCCCAGACTGCTGATCTATGACGCCTCTACCAGAG CTACAGGCTTCTCCGCCAGGTTTGCTGGATCTGGATCCGGCA CAGAGTTCACCCTGACAATCAGCTCTCTGCAGAGCGAGGAT TCTGCTATCTACTATTGTCAGCAGTACAACAATTTTCCCCC TTTCACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG	FNI9-VK-W94F-W97F（nt）
23	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNFPPFTFGQGTKVEIK	FNI9-VK-W94F-W97F（aa）
24	QQYNNFPPFT	FNI9-VK-W94F-W97F CDRL3（aa）
25	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSYNAVWNWIRQSP SRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAESVKSRITINPDTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVYYCARSGHITVFGVNVDAFDMWGQGTMVTVSS	FM08 VH
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKAP KLLIYAASSRGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSRTFGQGTKVEIK	FM08 VL
27	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	WT hIgG1 Fc
28	ESKYGPPCPPCPAPPVAGP	嵌合铰链序列
29	CAGGTGCACCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGGAGCC AGGATCCAGCGTGACAGTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCGGCA GCTTCAACAATCAGGCTATCTCCTGGGTGAGGCAGGCTCCA GGACAGGGACTGGAGTGGATGGGCGGCATCTTTCCCATCTC TGGCACACCTACCTCCGCCCAGAGGTTCCAGGGAAGGGTGA CCTTCACCGCTGACGAGAGCACCACAACCGTGTACATGGAT CTGTCTTCCCTGAGATCTGACGATACCGCCGTGTACTATTGT GCCAGAGCTGGCTCCGACTATTTCAACCGCGATCTGGGCTGG GAGAATTACTATTTTGCTTCCTGGGGCCAGGGCACACTGGTG ACCGTGAGCTCT	FNI9-v5-VH（cont）
30	GAGATTGTGATGACCCAGTCCCCTGCTACCCTGAGCGTGTCC CCCGGAGAGAGAGCTACCCTGAGTTGCCGCGCCAGCCGCAG TGTCTCTGACAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGAC AGGCTCCTAGGCTGCTGATCTATGGCGCCTCCACCAGGGCTA CAGGCATCCCAGCTCGGTTCTCTGGATCCGGAAGCGGCACC GAGTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGCAGAGCGAGGATTTC GCCGTGTACTATTGCCAGCATTACAACATCTGGCCTCCTTGG ACATTCGGTCAGGGAACTAAAGTGGAAATTAAG	FNI9-v5-VK（cont）
31	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASRSVSDNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QHYNIWPPWTFGQGTKVEIK	FNI9-v5-VK（aa）
32	RSVSDN	FNI9-v5-VK CDRL1（aa）
33	QHYNIWPPWT	FNI9-v5-VK CDRL3（aa）

[0698]

SEQ ID NO	序列	标识符
34	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	IgHG1*01，具有 M428L 和 N434S 突变及 C-末端赖氨酸的 G1m3 CH1-CH3
35	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	κ 轻链 CL
36	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNIKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG	IgHG1*01，具有 M428L 和 N434S 突变、没有 C-末端赖氨酸的 G1m3 CH1-CH3
37	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYDASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPPWTFGQGTKVEIK	FNI9-变体 VL
38	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHAHYTQKSLSLSPG	IgHG1*01，具有 M428L 和 N434A 突变、没有 C-末端赖氨酸的 G1m3 CH1-CH3
39	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSL RSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有 C-末端赖氨酸的 FNI9_MLNS 重链序列
40	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSL RSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHAHYTQKSLSLSPGK	具有 C-末端赖氨酸的 FNI9_MLNA 重链序列

[0699]

SEQ ID NO	序列	标识符
41	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	FNI9 轻链序列
42	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	具有 C-末端赖氨酸的 FNI9-变体_MLNS 重链序列
43	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVLHEALHAHYTQKSLSLSPGK	具有 C-末端赖氨酸的 FNI9-变体_MLNA 重链序列
44	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYDASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	FNI9-变体轻链序列
45	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH-FR124GL
46	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFSNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.4
47	GGSFSNQA	FNI9-VH.4 CDRH1
48	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNKQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.5
49	GGSFNKQA	FNI9-VH.5 CDRH1
50	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSEYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.6
51	ARAGSEYFNRDLGWENYYFAS	FNI9-VH.6 CDRH3
52	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS	FNI9-VH.7

[0700]

SEQ ID NO	序列	标识符
	LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWEQYYFASWGQGTLVT VSS	
53	ARAGSDYFNRDLGWEQYYFAS	FNI9-VH.7 CDRH3
54	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.8
55	GGTFNNQA	FNI9-VH.8 CDRH1
56	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTATSAQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.9
57	IFPISGTA	FNI9-VH.9 CDRH2
58	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTYAQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH. 10
59	IFPISGTPTY	FNI9-VH.10 CDRH2 和两个 C-末端侧翼氨基酸
60	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTATYAQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.11
61	IFPISGTA	FNI9-VH.11 CDRH2
62	IFPISGTATY	FNI9-VH.11 CDRH2 和两个 C-末端侧翼氨基酸
63	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTANYAQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.12
64	IFPISGTANY	FNI9-VH.12 CDRH2 和两个 C-末端侧翼氨基酸
65	QVQLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSS LRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVT VSS	FNI9-VH.13
66	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNIWPPWTFGQGTKVEIK	FNI9-VK.7
67	QQYNIWPPWT	FNI9-VK.7 CDRL3
68	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYC QQYNNWPPWTFGQGTKVEIK	FNI9-VK.8
69	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP *CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA*	野生型人 IgG1 CH1-CH3（UniProtKB P01857）；铰链带下划线，CH2 为

[0701]

SEQ ID NO	序列	标识符
	*K*GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	斜体
70	EPKSCDKTHTCPPCP*APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK*GQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	野生型人 IgG1 铰链-CH2-CH3；铰链带下划线，*CH2* 为斜体
71	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	野生型人 IgG1 CH2
72	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	野生型人 IgG1 CH3
73	EYKSCDKYHACPYCP*APELLGGPSVFLFPPKPKDTEMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK*	野生型人 IgG1 铰链-CH2；铰链带下划线，*CH2* 为斜体
74	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKAVPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A、L328V 和 Q295E 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
75	EPKSCDKTHTCPPCAAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	具有 G236A、P230A 和 Q295E 突变的人 IgG1 铰链-CH2-CH3 氨基酸序列
76	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDNAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	具有 G236A、R292P 和 I377N 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
77	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEATISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A、K334A 和 Q295E 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
78	APELLSGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K	具有 G236S、R292P 和 Y300L 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
79	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT	具有 G236A 和 Y300L 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨

[0702]

SEQ ID NO	序列	标识符
	KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	基酸序列
80	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A、R292P 和 Y300L 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
81	APELLSGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQVNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPE K	具有 G236S、G420V、G446E 和 L309T 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
82	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A 和 R292P 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
83	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 R292P 和 Y300L 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
84	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A 和 R292P 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
85	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTLRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 Y300L 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
86	APELYSGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRKPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 E345K、G236S、L235Y 和 S267E 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
87	EPKYCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVEHEDPRVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVTHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	具有 E272R、L309T、S219Y 和 S267E 突变的人 IgG1 铰链 -CH2-CH3 氨基酸序列
88	APELLYGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236Y 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
89	APELLWGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN	具有 G236W 突变

[0703]

SEQ ID NO	序列	标识符
	GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
90	APELLGGPSVFLLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP EK	具有 F243L、G446E、P396L 和 S267E 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
91	APELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
92	APELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有 G236A、S239D 和 H268E 突变的人 IgG1 CH2-CH3 氨基酸序列
93	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1m3 CH1-CH3
94	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1m17,1 CH1-CH3
95	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1m3,1 CH1-CH3
96	GAS	FNI9-v5 CDRL2（aa）
97	caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtgaagaagccaggctccagcgtgaaggtgagct gcaaggcttctggcggcaccttctcttcctacgctatctcctgggtgaggcaggctccaggacaggg actggagtggatgggcggcatcatccctatcttcggcacagccaactacgctcagaagtttcagggc agagtgaccatcacagccgacgagtctacctccacagcttatatggagctgagctctctgcgctccg aggataccgccgtgtactattgtgccagggctggcagcgactacttcaaccgggatctgggctggg agaattactattttgactattggggccagggcaccctggtgacagtgtccagc	FNI-UCA-IGH（wt-nt）

[0704]

SEQ ID NO	序列	标识符
98	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQ GLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFDYWGQGTLVTVSS	FNI-UCA VH(aa)
99	gagatcgtgatgacccagtctcctgccacactgagcgtgtctccaggagagagggccaccctgtcc tgcagggcttcccagagcgtgtccagcaacctggcctggtaccagcagaagccaggccaggctcc caggctgctgatctatggcgccagcaccagagctacaggcatcccagctcgcttctctggatccgga agcggcacagagtttaccctgacaatctcttccctgcagtctgaggacttcgccgtgtactattgtcag cagtacaacaattggccccctggacctttggccagggcacaaaggtggagatcaag	FNI-UCA-IGK （wt-nt）
100	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQ QYNNWPPWTFGQGTKVEIK	FNI-UCA VK （aa）
101	GGTFSSYA	FNI-UCA CDRH1
102	IIPIFGTA	FNI-UCA CDRH2
103	ARAGSDYFNRDLGWENYYFDY	FNI-UCA CDRH3
104	QSVSSN	FNI-UCA CDRL1
105	GAS	FNI-UCA CDRL2
106	QQYNNWPPWT	FNI-UCA CDRL3
107	QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPG QGLEWMGGIFPISGTPTSAQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSL RSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	FNI9-v8.1 重链氨基酸（在 CH3 中具有 M428L 和 N434S 突变的 IgG1m3）
108	EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASTRATGFSARFAGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQ QYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	FNI9-v8.1 轻链氨基酸
109	CAGGTGCACCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGGAGCC AGGATCCAGCGTGACAGTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCGGCA CCTTCAACAATCAGGCTATCTCCTGGGTGAGGCAGGCTCCAG GACAGGGACTGGAGTGGATGGGCGGCATCTTTCCCATCTCT GGCACACCTACCTCCGCCCAGAGGTTCCAGGGAAGGGTGAC CTTCACCGCTGACGAGAGCACCACAACCGTGTACATGGATC TGTCTTCCCTGAGATCTGACGATACCGCCGTGTACTATTGTG CCAGAGCTGGCTCCGACTATTTCAACCGCGATCTGGGCTGGG AGAATTACTATTTTGCTTCCTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGAGCTCTGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCC TGGCACCAAGTAGCAAGAGCACATCCGGTGGCACAGCCGCC CTGGGTTGTCTGGTGAAAGATTATTTCCCTGAGCCCGTGACA GTCTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACA TTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACTCCCTGTCTT CCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACCCAGACAT ATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGGTG GACAAGAGGGTGGAGCCAAAGAGCTGTGATAAGACCCATAC ATGCCCACCTTGTCCAGCTCCAGAGCTGCTGGGCGGCCCATC CGTGTTCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT	FNI9-v8.1 重链核苷酸（在 CH3 中具有 M428L 和 N434S 突变的 IgG1m3）

[0705]

SEQ ID NO	序列	标识符
	CTCTAGAACCCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGT CCCACGAGGATCCCGAGGTGAAGTTTAACTGGTACGTGGAT GGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACAAAGCCCAGGGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGGGTGGTGTCTGTGCTGACA GTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTG CAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCTGCTCCAATCGAGAAGA CCATCTCTAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCTCAGGTG TACACACTGCCTCCAAGCCGCGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTGA CATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACA ATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCT TCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGTTCTGTGCTGCACGAAGCCC TGCACTCCCATTATACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCTG GAAAA	
110	GAGATCGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCCCTGTCC AGCGGAGAGAGAGCCACACTGAGCTGCAGGGCTAGCAGGTC CGTGTCCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCC AGGCTCCACGCCTGCTGATCTATGACGCCAGCACAAGAGCT ACCGGCTTCTCTGCCAGGTTTGCTGGATCCGGAAGCGGAACC GAGTTCACCCTGACAATCAGCTCTCTGCAGAGCGAGGACTCT GCTATCTACTATTGCCAGCAGTACAACAATTGGCCCCCTTGG ACATTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA ATTGAAATCTGGAACTGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAACAA TTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACA ACGCTCTGCAGAGCGGCAATTCTCAGGAGTCCGTGACCGAG CAGGACAGCAAGGATTCTACATATTCCCTGTCCAGCACCCTG ACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGC	FNI9-v8.1 轻链核苷酸
	TTGTGAGGTGACCCATCAGGGCCTGTCTTCCCCTGTGACAAA GTCTTTCAACAGGGGAGAGTGT	
111	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSYNAVWNWIRQSP SRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAESVKSRITINPDTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVYYCARSGHITVFGVNVDAFDMWGQGTMVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	FM08_MLNS 重链氨基酸
112	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKAP KLLIYAASSRGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	FM08 轻链氨基酸
113	AGCRAAAGCAGG	引物 Uni 12
114	caattggctctgtctctct	正向引物
115	atgaaattgatgttcgccc	反向引物
116	gaagagccgatactagaa	引物

[0706]

SEQ ID NO	序列	标识符
117	ttctagtatcggctcttc	引物
118	ACGCGTGATCAGCAAAAGCAGG	MBTuni-12 引物
119	ACGCGTGATCAGTAGAAACAAGG	MBTuni-13 引物
120	ATTCTCCTTGGAATTTGCCCTT	正向引物
121	CATAGCGTAAAAGGAGCAACA	反向引物

[0707] 表2.某些FNI9抗体的SEQ ID NO.(氨基酸序列)

[0708]

	CDR H1	CDRH2	*CDRH2* +侧翼	CDR H3	VH	CDR L1	CDR L2	CDR L3	VL
FNI9	3	4	--	5	2	9	10	11	8
FNI9-VH-W110F	3	4	--	15	14				
FNI9-VK-W94F			--			9	10	18	17
FNI9-VK-W97F			--			9	10	21	20
FNI9-VK-W94F-W97F			--			9	10	24	23
FNI9-v5-VK			--			32	96	33	31
FNI9-变体VL						9	10	11	37

[0709]

FNI9-VH-FR124GL	3	4	--	5	45				
FNI9-VH.4	47	4	--	5	46				
FNI9-VH.5	49	4	--	5	48				
FNI9-VH.6	3	4	--	51	50				
FNI9-VH.7	3	4	--	53	52				
FNI9-VH.8	55	4	--	5	54				
FNI9-VH.9	3	57	--	5	56				
FNI9-VH.10	3	4	59	5	58				
FNI9-VH.11	3	61	62	5	60				
FNI9-VH.12	3	61	64	5	63				
FNI9-VH.13	3	4		5	65				
FNI9-VK.7						9	10	67	66
FNI9-VK.8						9	10	11	68

[0710]

FNI9-v13.8	3	4		5	65	9	10	11	68
FNI9-v4.1	47	4	--	5	46	9	10	11	8
FNI9-v5.1	49	4	--	5	48	9	10	11	8
FNI9-v6.1	3	4	--	51	50	9	10	11	8
FNI9-v7.1	3	4	--	53	52	9	10	11	8
FNI9-v8.1	55	4	--	5	54	9	10	11	8
FNI9-v9.1	3	57	--	5	56	9	10	11	8
FNI9-v10.1	3	4	59	5	58	9	10	11	8
FNI9-v11.1	3	61	62	5	60	9	10	11	8
FNI9-v12.1	3	61	64	5	63	9	10	11	8
FNI9-v4.7	47	4	--	5	46	9	10	67	66
FNI9-v5.7	49	4	--	5	48	9	10	67	66
FNI9-v6.7	3	4	--	51	50	9	10	67	66
FNI9-v7.7	3	4	--	53	52	9	10	67	66
FNI9-	55	4	--	5	54	9	10	67	66

[0711]

v8.7									
FNI9-v9.7	3	57	--	5	56	9	10	67	66
FNI9-v10.7	3	4	59	5	58	9	10	67	66
FNI9-v11.7	3	61	62	5	60	9	10	67	66
FNI9-v12.7	3	61	64	5	63	9	10	67	66
FNI9-v1.1	3	4	--	5	2	9	10	11	8

[0712] 表3.神经氨酸苷酶氨基酸位置比较(H1N1加利福尼亚.07.2009与H3N2纽约.392.2004)

[0713]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
M	1	M	1
N	2	N	2
P	3	P	3
N	4	N	4
Q	5	Q	5
K	6	K	6
I	7	I	7
I	8	I	8
T	9	T	9
I	10	I	10
G	11	G	11
S	12	S	12
V	13	V	13

[0714]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
C	14	S	14
M	15	L	15
T	16	T	16
I	17	I	17
G	18	S	18
M	19	T	19
A	20	I	20
N	21	C	21
L	22	F	22
I	23	F	23
L	24	M	24
Q	25	Q	25
I	26	I	26
G	27	A	27
N	28	I	28
I	29	L	29
I	30	I	30
S	31	T	31
I	32	T	32
W	33	V	33
I	34	T	34
S	35	L	35
H	36	H	36
S	37	F	37
I	38	K	38
Q	39	Q	39
L	40	Y	40
G	41	E	41

[0715]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
N	42	F	42
Q	43	N	43
N	44	S	44
Q	45	P	45
I	46	P	46
E	47	N	47
T	48	-	NA
C	49	-	NA
N	50	N	48
Q	51	Q	49
S	52	V	50
V	53	M	51
I	54	L	52
T	55	C	53
Y	56	E	54
E	57	P	55
N	58	T	56
N	59	I	57
T	60	I	58
W	61	E	59
V	62	R	60
N	63	N	61
Q	64	I	62
T	65	T	63
-	NA	E	64
Y	66	I	65
V	67	V	66
N	68	Y	67

[0716]

I	69	L	68
S	70	T	69
N	71	N	70
T	72	T	71
N	73	T	72
F	74	I	73
A	75	E	74
A	76	K	75
G	77	E	76
Q	78	M	77
S	79	C	78
V	80	P	79
V	81	K	80
S	82	L	81
V	83	A	82
K	84	E	83
L	85	Y	84
A	86	R	85
G	87	N	86
N	88	W	87
S	89	S	88
S	90	K	89
-	NA	P	90
L	91	Q	91
C	92	C	92
P	93	D	93
V	94	I	94
S	95	T	95
G	96	G	96

[0717]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
W	97	F	97
A	98	A	98
I	99	P	99
Y	100	F	100
S	101	S	101
K	102	K	102
D	103	D	103
N	104	N	104
S	105	S	105
V	106	I	106
R	107	R	107
I	108	L	108
G	109	S	109
S	110	A	110
K	111	G	111
G	112	G	112
D	113	D	113
V	114	I	114
F	115	W	115
V	116	V	116
I	117	T	117
R	118	R	118
E	119	E	119
P	120	P	120
F	121	Y	121
I	122	V	122
S	123	S	123
C	124	C	124

[0718]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
S	125	D	125
P	126	P	126
L	127	D	127
E	128	K	128
C	129	C	129
R	130	Y	130
T	131	Q	131
F	132	F	132
F	133	A	133
L	134	L	134
T	135	G	135
Q	136	Q	136
G	137	G	137
A	138	T	138
L	139	T	139
L	140	L	140
N	141	N	141
D	142	N	142
K	143	V	143
H	144	H	144
S	145	S	145
N	146	N	146
G	147	D	147
T	148	T	148
I	149	V	149
K	150	H	150
D	151	D	151
R	152	R	152

[0719]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
S	153	T	153
P	154	P	154
Y	155	Y	155
R	156	R	156
T	157	T	157
L	158	L	158
M	159	L	159
S	160	M	160
C	161	N	161
P	162	E	162
I	163	L	163
G	164	G	164
E	165	-	NA
V	166	V	165
P	167	P	166
S	168	F	167
P	169	H	168
Y	170	L	169
N	171	G	170
S	172	T	171
R	173	K	172
F	174	Q	173
E	175	V	174
S	176	C	175
V	177	I	176
A	178	A	177
W	179	W	178
S	180	S	179

[0720]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
A	181	S	180
S	182	S	181
A	183	S	182
C	184	C	183
H	185	H	184
D	186	D	185
G	187	G	186
I	188	K	187
N	189	A	188
W	190	W	189
L	191	L	190
T	192	H	191
I	193	V	192
G	194	C	193
I	195	V	194
S	196	T	195
G	197	G	196
P	198	D	197
D	199	D	198
N	200	K	199
G	201	N	200
A	202	A	201
V	203	T	202
A	204	A	203
V	205	S	204
L	206	F	205
K	207	I	206
Y	208	Y	207

[0721]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
N	209	N	208
G	210	G	209
I	211	R	210
I	212	L	211
T	213	V	212
D	214	D	213
T	215	S	214
I	216	I	215
K	217	V	216
S	218	S	217
W	219	W	218
R	220	S	219
N	221	K	220
N	222	K	221
I	223	I	222
L	224	L	223
R	225	R	224
T	226	T	225
Q	227	Q	226
E	228	E	227
S	229	S	228
E	230	E	229
C	231	C	230
A	232	V	231
C	233	C	232
V	234	I	233
N	235	N	234
G	236	G	235

[0722]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
S	237	T	236
C	238	C	237
F	239	T	238
T	240	V	239
V	241	V	240
M	242	M	241
T	243	T	242
D	244	D	243
G	245	G	244
P	246	S	245
S	247	A	246
N	248	S	247
G	249	G	248
Q	250	K	249
A	251	A	250
S	252	D	251
Y	253	T	252
K	254	K	253
I	255	I	254
F	256	L	255
R	257	F	256
I	258	I	257
E	259	E	258
K	260	E	259
G	261	G	260
K	262	K	261
I	263	I	262
V	264	I	263

[0723]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
K	265	H	264
S	266	T	265
V	267	S	266
E	268	T	267
M	269	L	268
N	270	S	269
A	271	G	270
P	272	S	271
N	273	A	272
Y	274	Q	273
H	275	H	274
Y	276	V	275
E	277	E	276
E	278	E	277
C	279	C	278
S	280	S	279
C	281	C	280
Y	282	Y	281
P	283	P	282
D	284	R	283
S	285	Y	284
S	286	P	285
E	287	G	286
I	288	V	287
T	289	R	288
C	290	C	289
V	291	V	290
C	292	C	291

[0724]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
R	293	R	292
D	294	D	293
N	295	N	294
W	296	W	295
H	297	K	296
G	298	G	297
S	299	S	298
N	300	N	299
R	301	R	300
P	302	P	301
W	303	I	302
V	304	V	303
S	305	D	304
F	306	I	305
N	307	N	306
-	NA	I	307
Q	308	K	308
N	309	D	309
L	310	Y	310
E	311	S	311
Y	312	I	312
Q	313	V	313
I	314	S	314
G	315	S	315
Y	316	Y	316
I	317	V	317
C	318	C	318
S	319	S	319

[0725]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
G	320	G	320
I	321	L	321
F	322	V	322
G	323	G	323
D	324	D	324
N	325	T	325
P	326	P	326
R	327	R	327
P	328	K	328
N	329	N	329
D	330	D	330
K	331	S	331
T	332	S	332
G	333	S	333
S	334	S	334
C	335	S	335
-	NA	H	336
-	NA	C	337
-	NA	L	338
G	336	D	339
P	337	P	340
V	338	N	341
S	339	N	342
S	340	E	343
N	341	E	344
G	342	G	345
A	343	G	346
N	344	H	347

[0726]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
G	345	G	348
V	346	V	349
K	347	K	350
G	348	G	351
F	349	W	352
S	350	A	353
F	351	F	354
K	352	D	355
Y	353	D	356
G	354	G	357
N	355	N	358
G	356	D	359
V	357	V	360
W	358	W	361
I	359	M	362
G	360	G	363
R	361	R	364
T	362	T	365
K	363	I	366
S	364	S	367
I	365	E	368
S	366	K	369
S	367	L	370
R	368	R	371
N	369	S	372
G	370	G	373
F	371	Y	374
E	372	E	375

[0727]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
M	373	T	376
I	374	F	377
W	375	K	378
D	376	V	379
P	377	I	380
N	378	E	381
G	379	G	382
W	380	W	383
T	381	S	384
G	382	K	385
T	383	P	386
D	384	N	387
N	385	S	388
N	386	K	389
F	387	L	390
S	388	Q	391
I	389	I	392
-	NA	N	393
K	390	R	394
Q	391	Q	395
D	392	V	396
I	393	I	397
V	394	V	398
G	395	D	399
I	396	R	400
N	397	G	401
E	398	N	402
W	399	R	403

[0728]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
S	400	S	404
G	401	G	405
Y	402	Y	406
S	403	S	407
G	404	G	408
S	405	I	409
F	406	F	410
V	407	-	NA
Q	408	-	NA
H	409	-	NA
P	410	-	NA
E	411	S	411
L	412	V	412
T	413	E	413
G	414	G	414
L	415	K	415
D	416	S	416
C	417	C	417
I	418	I	418
R	419	N	419
P	420	R	420
C	421	C	421
F	422	F	422
W	423	Y	423
V	424	V	424
E	425	E	425
L	426	L	426
I	427	I	427

[0729]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
R	428	R	428
G	429	G	429
R	430	R	430
P	431	K	431
K	432	E	432
E	433	E	433
N	434	T	434
T	435	E	435
I	436	V	436
-	NA	L	437
W	437	W	438
T	438	T	439
S	439	S	440
G	440	N	441
S	441	S	442
S	442	I	443
I	443	V	444
S	444	V	445
F	445	F	446
C	446	C	447
G	447	G	448
V	448	T	449
N	449	S	450
S	450	G	451
D	451	T	452
T	452	Y	453
V	453	G	454
G	454	T	455

[0730]

残基_N1	位置_N1	残基_N2	位置_N2
W	455	G	456
S	456	S	457
W	457	W	458
P	458	P	459
D	459	D	460
G	460	G	461
A	461	A	462
E	462	D	463
L	463	I	464
P	464	N	465
F	465	L	466
T	466	-	NA
I	467	M	467
D	468	P	468
K	469	I	469

[0731] 实施例

[0732] 实施例1

[0733] 抗NA单克隆抗体的鉴定和测试

[0734] 基于对应血清对N1和N4(G1)以及N2、N3和N9(G2)流感假病毒的结合,选择来自匿名人供体的外周血单核细胞(PBMC)。通过筛选来自扁桃体供体样品(n=50)的血清对神经氨酸苷酶亚型N1和N2抗原的反应性,以及来自PBMC供体样品(n=124)的血清对神经氨酸苷酶亚型N4、N3和N9的反应性来选择供体。在哺乳动物细胞中表达用于筛选的神经氨酸苷酶抗原,并通过流式细胞术评估结合。

[0735] 通过流式细胞术分选来自五个供体的B记忆细胞以输入到发现工作流程中(图1)。将单一分选的B细胞(n=39,350)与间充质基质细胞(MSC)在50μl培养物中共培养以刺激抗体分泌。通过结合和NA抑制测定法来评估分泌的抗体。使用ELLA(酶联凝集素测定法)评估N1唾液酸酶活性的抑制,该ELLA是一种基于吸光度的测定法,其利用大糖蛋白底物胎球蛋白作为NA裂解唾液酸的底物(Lambre等人,JImmunol Methods.1990)。使用基于荧光的测定法测量N1、N2和N9唾液酸酶活性的抑制,该基于荧光的测定法测量NA酶裂解2'-(4-甲基伞形酮)-α-D-N-乙酰神经氨酸(MUNANA)(Potier等人,Anal.Biochem.1979.)。

[0736] 通过ELISA评估与来自第1组IAV N1 A/越南/1203/2004和第2组IAV N2 A/坦桑尼亚/205/2010和N9 A/中国香港/56/2015的NA的结合,以确定广度。将来自所选B细胞的抗体序列克隆为cDNA并进行测序。

[0737] 从发现工作流程得到十四种克隆相关的单克隆抗体(图2A)。选择FNI3和FNI9(FNI9包含以下VH和VL氨基酸序列:VH:SEQ ID NO.:2;VL:SEQ ID NO.:8)用于进一步评估和测试。FNI3和FNI9 VH与未突变的共同祖先"UCA"的VH的比对在图2B中示出。UCA与多种IAV和IBV NA结合(数据未示出)。评估了FNI3和FNI9与NA亚型的结合。使用ELISA(酶联免疫

吸附测定法)测量FNI3和FNI9与N1(图3A)、N2(图3B)和N9(图3C)的结合,并且该结合被报告为光密度(OD)对浓度(单位为ng/ml)。使用生物层干涉测量法(BLI)测量FNI3和FNI9对于N1结合(图4A)、N2(图4B)和N9(图4C)的KD、缔合(kon)和解离(kdis)。比较物抗体1G01-LS的结合(1G01由Stadlbauer等人(Science 366(6464):499-504(2019);参见图1B;抗体1G01以及1E01和1G04的VH和VL氨基酸序列以引用方式并入本文)描述,并且在这些实验中具有M428L和N434S Fc突变)也通过ELISA和BLI测定法进行测量。在ELISA测定法中使用阴性对照抗体K-。

[0738] 图5中总结了FNI3和FNI9与来自第I组IAV、第II组IAV和IBV的NA的结合(使用比较物1G01)。使用基于FACS的测定法对结合进行定量,其中NA在哺乳动物细胞表面上表达。简而言之,用编码不同IAV和IBV NA的质粒瞬时转染Expi-CHO细胞。转染后48小时,将细胞与不同mAb的系列稀释液一起温育。温育60分钟后,将细胞洗涤,然后与抗人IgG-AF647二抗一起温育。然后将细胞洗涤两次,并以FACS评估抗体结合。1G01用作比较物。

[0739] 流感神经氨酸苷酶的糖基化对宿主群体的免疫逃避和病毒适应性有影响。糖基化位点可出现在位置245(245Gly+)和247(247Gly+)(Wan等人,Nat Microbiology.2019)。A/南澳大利亚/34/2019、A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016和A/瑞士/9715293/2013中的示例性245Gly+和247+Gly修饰位点在图6A中示出。图6B示出了对A/瑞士/8060/2017、A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016和A/瑞士/9715293/2013活病毒原液的唾液酸酶活性抑制(NAI),该抑制被报告为EC50,单位为μg/ml。通过流式细胞术测量FNI3和FNI9与感染了A/南澳大利亚/34/2019(245Gly+)的哺乳动物细胞中的NA的结合(图6C)。从猪分离的欧亚类禽流感病毒株具有遗传多样性(Sun等人,Proc Natl Acad Sci USA.2020)。如图7所示,通过流式细胞术测量了FNI3和FNI9与感染了H1N1猪欧亚类禽(EA)毒株A/猪/江苏/J004/2018的哺乳动物细胞中的NA的结合。

[0740] 在人上皮2型(HEP-2)细胞中评估了FNI3和FNI9的多反应性潜力。使用比较物抗HA抗体FI6v3作为阳性对照,并且包括抗副粘病毒抗体“MPE8”(Corti等人,Nature 501(7467):439-43(2013))作为阴性对照。FNI3和FNI9显示出在HEP-2细胞中缺乏多反应性(数据未示出)。

[0741] 使用MUNANA测定法针对第I组IAV、第II组IAV和IBV测量了NA中唾液酸酶活性的抑制,并且结果总结于图8中。图9中总结了抗体对多种第I组IAV、第II组IAV和IBV毒株的唾液酸酶抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。图10A和图10B示出了FNI3或FNI9对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的唾液酸酶活性的体外抑制(被报告为IC50,单位为μg/ml)。图10A在同一图表中描绘了第I组IAV、第II组IAV和IBV,并且图10B在单独的图表中描绘了各组。还评估了FNI3、FNI9、FNI14、FNI17和FNI19抑制来自一组IAV和IBV毒株(图11A)的NA的唾液酸酶活性(图11B)的能力,其中一些NA在位置245处具有糖基化位点,如星号所指示。图12A至图12D示出了FNI1、FNI3、FNI9、FNI14、FNI17和FNI19对H1N1 A/加利福尼亚/07/2009(图12A)、H3N2 A/中国香港/8/68(图12B)、B/马来西亚/2506/2004(图12C)和B/江苏/10/2003(图12D)NA的中和曲线(被报告为IC50(μg/ml))。

[0742] 使用NFAT驱动的荧光素酶报告基因测定法评估FNI3和FNI9对Fcγ RIIIa(图13A)和Fcγ RIIa(图13B)的激活。在与以6的感染复数(MOI)感染H1N1流感毒株A/波多黎各/8/1934的A549细胞一起温育23小时后,评估Jurkat-Fcγ RIIIa(F158等位基因)和Jurkat-Fc

γRIIa(H131等位基因)细胞系的激活。还测试了比较物抗体FY1-GRLR和IgG1抗体FM08_LS,后者具有SEQ ID NO.:25的VH和SEQ ID NO.:26的VL,并包含M428L和N434S(EU编号)Fc突变。

[0743] 实施例2

[0744] 抗NA抗体的结构和功能研究

[0745] 负责对奥司他韦产生流感耐药性的神经氨酸苷酶(NA)突变可能根据NA亚型而异(参见例如Hussain等人,Infection and Drug Resistance10:121-134(2017))。图14A和图14B示出了(图14A)N1(H1N1、猪H1N1和禽H5N1)和(图14B)N2(H3N2、H2N2)中NA耐抗病毒药突变的按年计的频率。使用反向遗传学方法对H1N1 A/加利福尼亚/07/2009进行工程化,以携带耐奥司他韦(OSE)突变(H275Y、E119D和H275Y,S247N和H275Y)。测量了FNI3(图15A)、FNI9(图15B)和奥司他韦(图15C)对经反向工程化的H1N1 A/加利福尼亚/07/2009病毒的中和,以及比较物抗体FM08(图15D)和1G01(图15E)抗体进行的中和,并且被报告为抑制%,单位为nM。这些数据表明了FNI3和FNI9对耐OSE的NA突变缺乏易感性的结构基础。接下来,用反向遗传学对附加病毒(包括第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV病毒)进行工程化,以携带耐OSE突变(H275Y、E119D/H275Y,H275Y/S247N、I222V和N294S)。测量FNI3、FNI9和比较物抗体1G01的中和活性,并将其报告为IC50,单位为μg/ml。图16A描绘了单独的病毒株的中和,并且图16B描绘了按中和抗NA抗体分组的病毒株的中和。

[0746] 确定FNI3(单独或与NA复合)的晶体结构以研究结合功能。FNI3抗原结合片段(Fab)结构域与NA的复合物的相对平坦的对接角度在图17中示出。对FNI3重链的互补决定区3(CDR3)的未结合态(图18A)或N2 NA结合态(图18B)进行晶体结构分析。根据这些研究,未结合的FNI3晶体结构(图18A)示出了β折叠构象以及残基E111(CO)-D102(NH)、E111(NH)-D102(CO)、G109(CO)-F104(NH)、G109(NH)-N105(CO)和L108(NH)-N105(CO)的羧酸基(CO)与氨基(NH)之间的完整主链氢键。未结合的FNI3-N2晶体结构(图18B)示出了β折叠构象的破坏和G109(CO)-F104(NH)之间的一个完整主链氢键。不受理论的约束,FNI3-N2晶体结构中β折叠结构的缺失可能用两种潜在的场景来解释:(1)β折叠的破坏可能是由于与N2NA结合诱导的契合而发生的;(2)β折叠的形成可能是由于单独的Fab结构域的晶体接触诱导的契合而发生的。

[0747] 将FNI3抗体的Fab结构域与NA亚型的复合物的晶体结构和对接角度与其他抗NA抗体的类似性质进行比较,以进一步表征FNI3的对接性质。图19A示出了比较物抗体:1G01与N1 NA的复合物(上图);以及1G04(Stadlbauer等人,同上)与N9 NA的复合物(下图)。图19B示出了FNI3与N2 NA的复合物(上图),其中对接角度与图17所示的相同,但Fab结构域处于不同的取向。图19B还示出了比较物抗体1E01(Stadlbauer等人,同上)与N2 NA的复合物(下图)。线条指示对接角度,并示出了比较物抗体的蛋白质数据库(PDB)识别码。根据这些研究,FNI3与1E01的对接角度相似,但Fab取向不同。

[0748] FNI3互补决定区(CDR)相互作用在图20中示意性地示出,来自使用MOE(Chemical Computing Group的分子操作环境(Molecular Operating Environment);www.chemcomp.com)的“快速制备”蛋白质。根据该分析,CDRH3以几乎90°的角度弯曲以占据NA结合袋,并且CDRH2平放在NA表面上。根据该分析,CDRH2似乎在能量上对结合没有贡献,并且CDRL似乎对结合相互作用没有贡献。根据该研究,在CDRH3内,D107和R106似乎有助于

N2 NA结合(图21)。负数是以kcal/mol为单位的相互作用能。

[0749] FNI3的晶体结构覆盖在奥司他韦结合的N2 NA的结构上(图22、图23),表明奥司他韦与R118、R292和R371相互作用。

[0750] 使用来自2000年至2020年之间分离的H3N2病毒(n＝60,597)的N2 NA序列研究了FNI3表位的保守性。表位区共有氨基酸序列在图24A中示出,表中示出了分析的N2 NA序列组中特定位置处的氨基酸的频率。圈出的值指示以最低三个频率出现的氨基酸Glu221(E221,17.41％)、Ser245(S245,33.69％)和Ser247(S247,36.16％)。图24B(下部部分)示出了来自FNI3的Y60和Y94与N2 NA的残基E221、S245和S247的相互作用。使用简单建模,S245N突变增加了结合,S247T突变减少了结合,并且E221D突变在效果上是中性的(数据未示出)。

[0751] 使用来自2000年至2020年之间分离的H1N1病毒(n＝57,597)的N1 NA序列研究了FNI3表位的保守性。图25示出了N2 NA FNI3表位保守性分析(图24A和图24B中示出)与来自H1N1的N1 NA序列中FNI3表位保守性分析的比较。鉴定了成对的共有残基R118(N2)和R118(N1)、D151(N2)和D151(N1)、E227(N2)和E228(N1)、R292(N2)和R293(N1)以及R371(N2)和R368(N1)。N2 NA内的重要FNI3相互作用残基和对应的FNI3 CDRH3残基在下图中的表中示出。残基R371、R292和R118与FNI3 CDRH3的D107相互作用,并且残基D151和E227与FNI3 CDRH3的R106相互作用。

[0752] 实施例3

[0753] 抗NA单克隆抗体的防治活性

[0754] 在IAV感染的鼠BALB/c模型中评估FNI3和FNI9的防治活性。简而言之,在用H1N1亚型A/波多黎各/8/34或H3N2亚型A/中国香港/1/68(图26A和图26B)以LD90(致死剂量的90％)鼻内感染前一天向7至8周龄的BALB/c小鼠(静脉内)施用FNI3(图26A中的“mAb-03”)、FNI9(图26A中的“mAb-09”)或媒介物对照。以0.2mg/kg、0.6mg/kg、2mg/kg或6mg/kg(静脉内)施用抗体。在感染开始时收集基线血清,并且在感染后2至14天中的每一天评估体重和死亡率两者(图26B)。某些测试条件下十五天内的体重测量结果在图27A至图27D(A/波多黎各/8/34FNI9测试组)和图28A至图28D(A/中国香港/1/68FNI9测试组)中示出。在所有抗体剂量(0.2mg/kg、0.6mg/kg、2mg/kg和6mg/kg)下施用FNI3(数据未示出)或FNI9减少了体重减轻(与媒介物相比)。还测量了总死亡率(图29A,A/波多黎各/8/34感染的小鼠;图29B,A/中国香港/1/68感染的小鼠)。图30A和图30B示出了感染了A/波多黎各/8/34(图30A)或A/中国香港/8/68(图30B)的小鼠的体重减轻(被报告为曲线下面积)。还示出了感染了A/波多黎各/8/34(图31A)或A/中国香港/8/68(图31B)的BALB/c小鼠的体重减轻的曲线下面积分析中的负曲线下面积峰值与血清中的IgG的比较。FNI3(“FNI3-LS”)、FNI9(“FNI9-LS”)及比较物抗体FM08_LS和1G01(“1G01-LS”)在tg32小鼠中的药代动力学在图32中示出。

[0755] 实施例4

[0756] 药代动力学研究

[0757] 在tg32小鼠中评估FNI3(“FNI3-LS”)、FNI9(“FNI9-LS”)及比较物抗体FM08_LS和1G01-LS的Fc变体(M428L/N434S突变)的药代动力学分析,并进行半衰期测定,结果总结于图32中。使用ELISA测定法在体外确定抗体的血浆浓度。将山羊抗人IgG抗体(Southern Biotechnology:2040-01)在PBS中稀释至10μg/ml,并将25μl添加到96孔平底1/2面积ELISA板的孔中,以便在4℃下包被过夜。包被后,使用自动ELISA洗涤器,用补充有0.05％吐温20

的0.5x PBS(洗涤溶液)洗涤板两次。然后,在室温(RT)下用100μl/孔的补充有1% BSA的PBS(封闭溶液)封闭板1小时,然后洗涤两次。随后以1:2一式两份逐步稀释样品,总共稀释8次。类似地通过将抗体稀释到0.5μg/ml,制备要测试的每种抗体的标准品。随后以1:3一式两份逐步在封闭溶液中稀释标准品,总共稀释8次。将25μl的所制备的样品或标准品添加到山羊抗人IgG包被的孔中并且在RT下温育1小时。四次洗涤后,每孔添加25μl以1:500在封闭溶液中稀释的多克隆抗IgG碱性磷酸酶缀合抗体(Southern Biotechnology:2040-04)进行检测并且在RT下温育1小时。四次洗涤后,通过添加80μl/孔的底物溶液(20ml碳酸氢盐缓冲液中的1片对硝基苯磷酸酯(Sigma-Aldrich:N2765-100TAB))来对板进行显影。在RT下温育30分钟后,使用分光光度计在405nm处测量吸光度。

[0758] 为了确定小鼠血浆中的抗体的浓度,在Gen5软件(BioTek)中绘制来自ELISA数据的OD值相对于浓度的变化。使用可变斜率模型、四个参数和以下公式来应用非线性曲线拟合:Y＝(A-D)/(1+(X/C)^B)+D)。对落入标准曲线3/4的可预测测定范围内的样品稀释度的OD值进行内插以定量样品,该可预测测定范围是在设置实验中通过曲线3/4的上限范围、中等范围或下限范围中的质量控制样品确定的。然后,在考虑样品的最终稀释度的情况下,确定抗体的血浆浓度。如果样品稀释度的多于一个值落入标准曲线的线性范围内,则使用这些值的平均值。利用以下设置通过使用WINNONLIN非房室分析程序(8.1.0.3530核心版本,Phoenix软件,Certara)来分析药代动力学(PK)数据:模型:血浆数据,静脉内推注施用;非遗漏观察的数量:8;稳态间隔τ:1.00;剂量时间:0.00;剂量:5.00mg/kg;计算方法:线性梯形与线性内插;λ_z计算的加权:均匀加权;λ_z方法:找到λ_z的最佳拟合,对数回归。使用Prism 7.0软件(GraphPad,La Jolla,CA,USA)进行绘图和统计分析(线性回归或离群分析)。

[0759] 实施例5

[0760] FNI3和FNI9变体抗体的生成

[0761] FNI3和FNI9的变体是通过使可变区中的氨基酸突变而生成的。参见表1和2。

[0762] 实施例6

[0763] 附加研究

[0764] 评估FNI抗体对一组IAV NA和IBV NA的结合和NAI活性(图33)。FNI17和FNI19以低于FNI3和FNI9的浓度结合来自人IAV循环毒株的NA(例如,来自A/加利福尼亚/07/2009的N1或来自A/华盛顿/01/2007的N2)(参见图33中通过矩形突出显示的数据)。FNI3和FNI9对来自人畜共患毒株的NA(例如,来自A/安徽/1/2013的N9,参见图33中通过矩形突出显示的数据)显示出更高的交叉反应性。所有FNI抗体与来自已被表征为具有大流行潜力的A/猪/江苏/J004/2018的N1结合(参见图33中从顶部起第二个,通过矩形突出显示的数据)(Sun等人,Proc Natl Acad Set USA.2020)。分析FNI序列变体的功能。在针对IAV和携带耐OSE突变的病毒的进一步中和和NAI研究中测试了FNI抗体。在与IAV和IBV NA一起温育后,测试FNI抗体对FcγR的激活。进行了表位保守性研究和体外耐药性选择研究。分别在Balb/c和DBA/2小鼠中进行了FNI3和FNI9对IAV以及对B/维多利亚/504/2000和B/布里斯班/60/2008的体内防治研究。在SCID Tg32小鼠中测试了携带MLNS Fc突变的FNI抗体的体内药代动力学。来自上述研究的数据在图33至图50B中示出。FNI9显示出缺乏对HEP-2细胞的多反应性(数据未示出)。

[0765] 使用FNI9、FNI7和FNI19进行进一步的研究(冷冻电镜(cryo-EM),耐药性对H1N1 A/加利福尼亚/07/2009,NHP中的PK,功效)。

[0766] 实施例7

[0767] FNI NA表位内的保守性

[0768] 通过晶体结构研究和对接分析来评估抗NA抗体(FNI3、FNI17和FNI19)和NA之间的结合相互作用。2009年至2019年第I组IAV、第II组IAV和IBV中FNI NA表位内前五个相互作用残基的保守性在图51中示出。

[0769] 实施例8

[0770] 体外效力:FNI抗体与FM08和奥司他韦的比较

[0771] 通过与OSE和FM08的效力进行比较来评估FNI抗体的体外效力。通过核蛋白(NP)染色测量的FNI9、OSE和比较物抗体“FM08”对H3N2A/中国香港/8/68病毒的体外中和活性在图52中示出。

[0772] 实施例9

[0773] 体内效力:FNI抗体与FM08和奥司他韦的比较

[0774] 通过与OSE和FM08的效力进行比较来评估FNI抗体的体内效力。

[0775] 测试了“GAALIE”变体抗体(G236A/A330L/I332E变体)对Fcγ RIIIa和Fcγ RIIa的抗体激活,如图53所示。使用工程化的Jurkat细胞中的NF AT介导的荧光素酶报告基因测量Fcγ RIIIa(F158等位基因)和Fcγ RIIa(H131等位基因)的激活。在与以6的感染复数(MOI)感染H1N1流感毒株A/波多黎各/8/34的A549细胞一起温育后评估激活。测试了FNI3、FNI9、FNI17和FNI19以及携带GAALIE突变(后缀“-GAALIE”)的FNI3、FNI9、FNI17和FNI19抗体。还测试了比较物抗体“FM08_LS”和阴性对照抗体(FY1-GRLR)。

[0776] 设计了实验间体内研究,以比较FM08_LS与FNI3和FNI9在感染了H1N1 IAV A/波多黎各/8/34或H3N2 IAV A/中国香港/8/68的BALB/c小鼠中的防治活性(图54)。在感染LD90(90%致死剂量)的A/波多黎各/8/34或H3N2 IAV A/中国香港/8/68前一天,以6mg/kg、2mg/kg、0.6mg/kg或0.2mg/kg施用抗体。研究的时间线、数据收集和终点与图26B所示的时间线、数据收集和终点相同。在实验A(“Exp-A”)中,BALB/c小鼠在用FNI3(数据未示出)或FNI9(图27A至图27D)预处理后感染A/波多黎各/8/34。在实验A的另一组中,BALB/c小鼠在用FNI3(数据未示出)或FNI9(图28A至图28D)预处理后感染A/中国香港/8/68。在实验B(“Exp-B”)中,BALB/c小鼠在用FM08_LS预处理后感染A/波多黎各/8/34(数据未示出)或A/中国香港/8/68(数据未示出)。

[0777] FNI9测试组在十五天内的体重测量结果在图27A至图27D(A/波多黎各/8/34FNI9测试组)和图28A至图28D(A/中国香港/1/68FNI9测试组)中示出。在用FNI3或FNI9或FM08_LS处理之后感染了A/波多黎各/8/34(H1N1)或A/中国香港/8/68(H3N2)的BALB/c小鼠的体重减轻的曲线下面积分析中的负曲线下面积峰值与血清中的IgG的比较在图42中示出。

[0778] 设计了体内研究,以评估奥司他韦(OSE)在感染了IAV A/波多黎各/8/34的雌性BALB/c小鼠中的生物效力(图55)。在第0天,从感染10倍LD50(50%致死剂量)的A/波多黎各/8/34前两小时开始,通过经口灌胃施用10mg/kg OSE。在感染后6小时以相同剂量施用OSE,然后每天两次,直到感染后第6天。十四天内的体重测量结果在图56中示出,并且十四天内的存活率在图57中示出。从感染后两天和四天获得的样品中测量经OSE处理的小鼠的

肺匀浆中的病毒滴度(图58)。

[0779] 实施例10

[0780] FNI3、FNI9、FNI17和FNI19变体抗体的生成和表征

[0781] 可变结构域序列变体由FNI3、FNI9、FNI17和FNI19生成,并表征其结合和中和。总共生成了三十二(32)种变体抗体,其中二十六(26)种变体包含VH和/或VL框架氨基酸到种系序列的回复,三(3)种FNI17变体包含VH框架区到种系序列的回复及VL中的W97A/L/Y突变,并且三(3)种FNI17变体包含野生型VH及VL中的W97A/L/Y突变。共有11种变体由FNI3生成,5种变体由FNI9生成,11种变体由FNI17生成,并且5种变体由FNI19生成。

[0782] 测量了可开发性变体对IAV NA(来自H5N1 A/越南/1203/2004的NA1;来自H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010的NA2;来自H7N9 A/中国香港/56/2015的NA9)和IBV NA(来自B/马来西亚/2506/2004的BNA7;来自B/珀斯/211/2011的BNA2)的唾液酸酶活性的体外抑制。FNI9和变体“FNI9-varianf’至“FNI9-v9”的抑制活性在图59A至图59E中示出)。在这些图中,“FNI9-v6”、“FNI9-v7”、“FNI9-v8”和“FNI9-v9”如图67所示,并且与例如图70至图72所示的FNI9变体序列“-VH.6”、“-VH.7”、“-VH.8”和“-VH.9”不同。

[0783] 通过FACS评估所有三十二(32)种变体与IAV NA和IBV NA的结合,以排除由于回复到mAb框架区的种系而导致的潜在广度损失。结果包括FNI9和所生成的FNI9变体与以下的阳性结合:来自A/斯德哥尔摩/18/2007、A/加利福尼亚/07/2009和A/加利福尼亚/07/2009I23R/H275Y的N1;来自A/南澳大利亚/34/2019、A/列宁格勒/134/17/57和A/华盛顿/01/2007的N2;来自A/加拿大/rv504/2004的N3;来自A/猪/安大略/01911/1/99的N6;来自A/荷兰/078/03的N7;来自B/山梨县/166/1998(山形县)、B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)和B/Lee/10/1940(祖先)的IBV NA。

[0784] 确定FNI3、FNI9、FNI17和FNI19的表面电荷和药代动力学(pK)值。使用PyMOL(PyMOL分子图形系统,版本1.2r3pre,Schrödinger,LLC)生成总表面电荷图,提供FNI9的数据(图60)以及pK值和分辨率(以Å为单位报告)。不受理论的约束,抗体表面上总正电荷的减少可用于减少细胞表面上的胞饮作用对抗体的螯合。与FNI3、FNI17和FNI19(数据未示出)相比,FNI9表现出更负的表面电荷和对应地提高的pK值。

[0785] 实施例11

[0786] 进一步研究

[0787] 如图61至图69D中所述和所示,进行附加研究。

[0788] 实施例12

[0789] FNI9-V5的测试

[0790] 在体外评估FNI9变体抗体FNI9-v5进行的结合和中和。通过MUNANA测定法在体外测量FNI9和FNI9-v5对NA的唾液酸酶活性抑制。对于MUNANA测定法,将FNI9和FNI9-v5抗体连续稀释并与固定量的纯化神经氨酸苷酶在96孔板中混合,并且在短温育时间后添加底物(MUNANA;2’-(4-甲基伞形酮)-α-D-N-乙酰神经氨酸)。将板在37℃下温育2.5小时,之后停止反应并通过荧光来测量NA活性。测量对来自H5N1 A/越南/1203/2004的N1(图85A)和来自H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010的N2(图85B)的唾液酸酶活性抑制。

[0791] 通过表面等离子体共振(SPR;图86)测量FNI9和FNI9-v5 Fab片段与在位置245处具有或不具有糖基化位点的N2抗原的结合亲和力。

[0792] 通过ELLA(酶联凝集素测定法)在体外测量FNI9和FNI9-v5对假型病毒颗粒中的N2唾液酸酶活性的抑制。使用ELLA通过测量在唾液酸被神经氨酸苷酶(NA)唾液酸酶活性裂解时暴露的半乳糖的量来定量NA活性。将FNI9和FNI9-v5抗体连续稀释,并与固定量的NA病毒样颗粒(仅携带NA的假型颗粒)混合。在短时间温育后,将混合物转移至胎球蛋白包被的板。在37℃下过夜温育后,添加与辣根过氧化物酶(HRP)缀合的花生凝集素(PNA)以进行检测。比色读数与NA活性成比例。测量对A/瑞士/2017(图87A)和A/堪萨斯/14/2017假病毒颗粒(图87B)的唾液酸酶活性抑制。

[0793] 实施例13

[0794] FNI9抗体中的附加工程化

[0795] 观察到FNI17-v19对在NA的位置245处携带聚糖的当代H3N2毒株的活性降低。与FNI17-v19相比,FNI9-v5和FNI9-v13表现出类似的广度和效力,但对携带聚糖的NA具有更高的中和活性。由于对N9糖蛋白的活性更高,选择FNI9-v5而不是FNI19-v13进行进一步研究。然而,FNI9-v5显示出对一些IAV和IBV毒株的中和活性比亲本FNI9更低。FNI9包含SEQ ID NO.:2的VH氨基酸序列和SEQ ID NO.:8的VL氨基酸序列。通过在亲本FNI9的VH和/或VL中引入一个或多个氨基酸突变来生成附加的FNI9变体抗体。参见图70至图72。总结于图72中的变体是:

[0796]

变体抗体	VH 氨基酸 SEQ ID NO.:	VL 氨基酸 SEQ ID NO.:
FNI9-V13.8	65	68
FNI9-v4.1	46	8
FNI9-v5.1	48	8
FNI9-v6.1	50	8
FNI9-v7.1	52	8
FNI9-v8.1	54	8
FNI9-v9.1	56	8
FNI9-V10.1	58	8
FNI9-V11.1	60	8
FNI9-V12.1	63	8

[0797]

FNI9-v4.7	46	66
FNI9-v5.7	48	66
FNI9-v6.7	50	66
FNI9-v7.7	52	66
FNI9-v8.7	54	66
FNI9-v9.7	56	66
FNI9-V10.7	58	66
FNI9-V11.7	60	66
FNI9-V12.7	63	66

[0798] 还生成了包含SEQ ID NO.:2中列出的VH氨基酸序列和SEQ ID NO.:37中列出的VL

氨基酸序列的变体抗体。

[0799] 还生成了包含SEQ ID NO.:45中列出的VH氨基酸序列和SEQ ID NO.:8中列出的VL氨基酸序列的变体抗体。

[0800] SEQ ID NO.:107中提供了FNI9-v8.1全长重链氨基酸序列的示例。SEQ ID NO.:109中提供了编码该全长重链的多核苷酸的示例。SEQ ID NO.:108中提供了FNI9-v8.1全长轻链氨基酸序列的示例。SEQ ID NO.:110中提供了编码该全长轻链的多核苷酸的示例。

[0801] 实施例14

[0802] 新型Fc变体的设计

[0803] 对人IgG1 Fc区进行工程化以改善功能,诸如通过激活某些Fcγ R(例如,Fcγ RIIA、Fcγ RIIIA、Fcγ RIIB)来潜在地促进防治、治疗或疫苗效应。在早期感染中增强Fcγ RIIA的激活可促进抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)和病毒中和。在晚期或确诊的感染中增强Fcγ RIIA和/或Fcγ RIIIA的激活可促进ADCP和/或抗体依赖性细胞毒作用(ADCC),有利于病毒感染细胞的清除,并阻断病毒播散。在感染期间的任何时间增强Fcγ RIIA和/或Fcγ RIIIA的激活可通过促进抗原呈递和适应性免疫来提供疫苗效应。

[0804] 使用迭代发现工作流程评估Fc变体并开发新变体。生成约2500个Fc点突变的初始集合,并收集和分析功能数据。功能数据包括(例如,与Fcγ RI、Fcγ RIIA(R131)、Fcγ RIIB、Fcγ RIIC、Fcγ RIIIA(V158)、FcRn和C1q的)结合相互作用、经由Fcγ R的信号传导、热稳定性、可表达性、多反应性和半衰期延长性。开发基于机器学习和多因素预测的算法以帮助设计另外的变体。Fc变体在CHO细胞中表达为抗甲型流感IgG1抗体(具有FYI Fab;Kallewaard等人,Cell 166(3):596-608(2016)),使用高效液相色谱法(HPLC)滴定,并使用蛋白A柱纯化。第一板(2×96,有或没有抑制岩藻糖基化的2-脱氧-2-氟-L-岩藻糖(2FF))含有用于测量已知突变的效果的孔(作为参考)和用于测量新型突变(单一突变或组合突变)的效果的孔。

[0805] 使用各种测定法分析Fc变体以评估生物物理学、生物化学和生物学性质。这些包括聚集(例如,通过尺寸排阻色谱法)、热稳定性、糖基化、结构、信号传导和结合(例如,使用表面等离子体共振或基于meso scalediscovery的测定法)。还测试了效应子功能,包括抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)和抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。评估了单一Fc突变的结合特性,鉴定了对增加IIA/IIB比率具有最高效果的多达三个突变的组合,并且包括附加的变异。分析所得的另外变体。感兴趣的特性包括增加的对Fcγ RIIa的亲和力和降低的对Fcγ RIIb的亲和力,或反之亦然。通过无偏聚类分析和雷达绘图与人工分析,鉴定了对各种Fcγ R和FcRn的亲和力强烈增加、增加、类似或相同、降低或强烈降低的九个Fc变体聚类。

[0806] 某些Fc变体的结合亲和力(通过MSD测量)、Tm和生产滴度在图73中示出。在最初预测会增加Fcγ RIIA/Fcγ RIIB结合比率的十种变体中,其中五种(IIA/IIB值在图73中以粗体示出)增加了该比率,如通过MSD测量的。

[0807] 实施例15

[0808] Fc变体的进一步测试

[0809] 基于从实施例14中描述的变体的第一板获得的结果,生成变体的第二板(2×20,有和没有2FF)。表达并纯化二十种Fc变体抗体以评估滴度和产率。在没有或有2FF的情况下表达变体以确定岩藻糖基化对滴度和产率的影响(图74A至图74C)。图4A示出了如使用蛋白

A柱确定的抗体滴度。在没有2FF的情况下在细胞中表达的变体的平均滴度更高。图74B示出了由两次重复纯化(900μL的输入体积)产生的产率,每次纯化两次洗脱。图74C总结了理论最大产率、平均产率、平均回收率和第二次洗脱的蛋白浓度(以μg/ml为单位测量)。使用两次洗脱纯化Fc变体,并在确定产率之前合并Fc变体。在没有2FF的情况下表达的纯化Fc变体的平均产率更高。

[0810] 使用尺寸排阻色谱法分析纯化的抗体(+2FF和无2FF)二聚化的潜力并评估Tm。在C220P和R292P_Y300L变体(仅+2FF样品)中观察到低分子量种类。某些Fc变体的Tm值在WT的4.2℃内;通过比较,GAALIE Fc变体的Tm相对于WT低约14℃(在两个板上测试)。除了组合突变体G236A_R292P_I377N外,无法对包括R292P的变体解析CH2解折叠。

[0811] 测试了(无2FF)Fc变体与Fcγ RIIA-H(高亲和力)、Fcγ RIIA-R(低亲和力)、Fcγ RIIB、Fcγ RIIIA-V(高亲和力)、Fcγ RIIIA-F(低亲和力)和FcRn的结合(在pH 6下),并且该结合被表示为相对于野生型Fc的倍数变化(图75A)。Fcγ RIIA-H/Fcγ RIIB结合的比率以及C1q结合和补体依赖性细胞毒作用(CDC)数据也在图75B中示出。图76所示的变体未用2FF处理。通过不同Fcγ R的抗体信号传导使用报告基因测定法来测量(Promega™荧光素酶报告细胞;3次实验的平均值)。测试岩藻糖基化Fc变体通过所示的所有四种Fcγ R受体的信号传导(图77A),而测试去岩藻糖基化变体通过Fcγ RIIIA-V和Fcγ RIIIA-F的信号传导(图77B)。选择许多变体Fc进行进一步表征。

[0812] 这些变体(岩藻糖基化和去岩藻糖基化)以及包含已知突变(例如,G236A_S239D_A330L_I332E(“GASDALIE”);G236A_A330L_I332E(“GAALIE”))的比较物变体Fc的特性的总结在图78中示出。

[0813] 如图82至图84I中所示和所述,进行进一步的研究。图82至图83B示出了抗流感(HA)抗体“FY1”Fc变体对Fcγ R的激活和结合。图84A至图84I涉及抗HBsAg(HBC34-v40)Fc变体抗体并示出:使用抗体和HBsAg对人单核细胞衍生的树突细胞(moDC)的激活和细胞因子产生;人HBsAg特异性CD4+记忆T细胞的激活;HBsAg特异性TCR转基因Jurkat报告基因CD4+T细胞的激活;抗体:HBsAg免疫复合物(IC)对来自接种HBV的huFcγ R小鼠的CD4+记忆T细胞的再刺激;以及HBC34-v40 Fc变体对人Fcγ R的结合动力学(包括相对于对照Fc的倍数变化)。

[0814] 实施例16

[0815] 附加FNI9变体抗体的测试

[0816] 进一步表征如实施例13中所述的FNI9变体抗体。本文所示的“FNI9”和“FNI9-v1.1”抗体(FNI9-v1.1在例如图89至图93D、图95A、图95B、图96A、图97A、图97B和其他图中提及)具有相同的VH和VK氨基酸序列。FNI9-v1.1与FNI9变体同时生产以控制生产条件的任何变化。

[0817] FNI9变体抗体的生产滴度和尺寸排阻色谱(SEC)特征在图90中示出。通过MUNANA测定法测量FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制(图91A至图91B)。通过ELLA测量FNI9变体对假病毒衍生的NA的唾液酸酶活性的体外抑制(图92A至图92B)。

[0818] 通过流式细胞术测量FNI9变体抗体与哺乳动物细胞中瞬时表达的NA的结合(图93A至图93D)。图93A示出了与来自A/加利福尼亚/07/2009和A/加利福尼亚/07/2009I223R/H275Y的N1以及A/华盛顿/01/2007和A/华盛顿/01/2007R292K中的N2的结合。图93B示出了

与来自A/瑞士/8060/2017、A/堪萨斯/14/2017、A/柬埔寨/2020和A/南澳大利亚/34/2019的N2的结合。图93C示出了与来自B/马来西亚/2506/2004(维多利亚)、B/布里斯班/2008(维多利亚)、B/山梨县/166/1998(山形县)和B/普吉岛/3073/2013(山形县)的IBV NA的结合。图93D示出了与来自A/列宁格勒/134/17/57和A/珀斯/16/2009的N2以及来自A/安徽/1/2013的N9的结合。

[0819] 使用Biacore仪器通过SPR(图94)测量某些FNI9变体抗体对IAV和IBV NA抗原的结合亲和力。将NA固定在抗Avi芯片上,并将每种FNI9变体Fab的系列稀释液添加到固定的配体上。实时测量缔合和解离动力学,并使用1:1结合模型来推断动力学参数并计算KD值。亲和力被评估为与亲本抗体“FNI9-v1.1”相比的倍数变化。测试了“FNI9-v4.1”、“FNI9-v8.1”、“FNI9-v9.1”和“FNI9-v13.8”(表示为IgG1)与IBV NA、IAV N1、IAV N2(在位置245处具有和不具有糖基化)和IAV N9的结合。

[0820] 通过SPR测量来自FNI9-v1.1、FNI9-v4.1、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8的Fab片段对N2抗原的结合亲和力(图95A至图95B)。测试了与在位置245处具有(标记为“+gly245”)或不具有(标记为“-gly245”)糖基化的A/坦桑尼亚/205/2010、A/南澳大利亚/34/2019和A/中国香港/2671/2019的结合。图95A示出了被报告为以nM为单位的平衡常数KD的结合亲和力,而图95B示出了被报告为与来自亲本抗体FNI9-v1.1的Fab相比的倍数变化的结合亲和力。

[0821] 通过生物层干涉测量法(BLI;图96A至图96C)来测量FNI9-v1.1(图96A)、FNI9-v8.1(图96B)和FNI9-v9.1(图96C)与N9 NA的结合动力学。

[0822] 在微量中和测定法中测量FNI9-v1.1、FNI9-v8.1、FNI9-v4.1、FNI9-v9.1和FNI9-v13.8对一组季节性IAV(在位置245处具有和不具有糖基化)和IBV的体外中和活性(被报告为EC50,单位为μg/ml)。从国际试剂资源(CDC,Atlanta,Georgia,USA)和生物参考材料中心(NIBSC,Potters Bar,UK)获得病毒。将抗体连续稀释,并添加到先前被限定的病毒输入感染30分钟的MDCK-LN细胞上。24小时后,通过病毒核蛋白染色来测量细胞感染,并通过细胞成像来分析细胞感染。绘制剂量反应曲线以内插抗体的IC50(半数最大抑制浓度)和IC90,它们被报告为两个独立实验的几何平均值(图97A至图97B)。

[0823] 通过MUNANA测定法测量某些FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制(图98A至图98G)。测试了FNI9-v4.1、FNI9-v4.7、FNI9-v5.1、FNI9-v5.7、FNI9-v6.1、FNI9-v6.7、FNI9-v7.1、FNI9-v7.7、FNI9-v8.7、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对A/越南/1203/2004中的N1(图98A)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(图98B)、A/瑞士/8060/2017中的N2(图98C)、A/南澳大利亚/34/2019中的N2(图98D)、A/中国香港/2671/2019中的N2(图98E)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(+Gly245)(图98F)和A/中国香港/56/2015中的N9(图98G)的唾液酸酶活性抑制。

[0824] 通过MUNANA测定法测量某些FNI9变体对N1、N2和N9 NA的唾液酸酶活性的体外抑制(图99A至图99G)。测试了FNI9-v6.1、FNI9-v9.1、FNI9-v9.7、FNI9-V11.1、FNI9-V11.7、FNI9-v12.1和FNI9-v12.7抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对A/越南/1203/2004中的N1(图99A)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(图99B)、A/瑞士/8060/2017中的N2(图99C)、A/南澳大利亚/34/2019中的N2(图99D)、A/中国香港/2671/2019中的N2(图99E)、A/坦桑尼亚/205/2010中的N2(+Gly245)(图99F)和A/中国香港/56/2015中的N9(图99G)的唾液酸酶活性抑制。

[0825] 通过ELLA测量某些FNI9变体对假病毒衍生的NA的唾液酸酶活性的体外抑制(图100A至图100F)。测试了FNI9-v4.1、FNI9-v4.7、FNI9-v5.1、FNI9-v5.7、FNI9-v6.1、FNI9-v6.7、FNI9-v7.1、FNI9-v7.7、FNI9-v8.7、FNI9-v8.1和FNI9-v13.8抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对H7N3 A/Ck/Ja/2017(图100A)、H5N6 A/Ck/苏州/2019(图100B)、H5N6 A/杭州/2021(图100C)、H7N7 A/Ck/621572/03(图100D)、H5N8 A/Ck/俄罗斯/2020(图100E)和H7N9 A/安徽/1/2013(图100F)的唾液酸酶活性抑制。

[0826] 通过ELLA测量某些FNI9变体对所指示的假病毒衍生NA的唾液酸酶活性的体外抑制。测试了FNI9-v6.1、FNI9-v9.1、FNI9-v9.7、FNI9-v11.1、FNI9-v11.7、FNI9-v12.1和FNI9-v12.7抗体。FNI9、FNI9-v1.1和FNI9-v5作为比较物抗体进行测试。示出了对H7N3 A/Ck/Ja/2017(图101A)、H5N6 A/Ck/苏州/2019(图101B)、H5N6 A/杭州/2021(图101C)、H7N7 A/Ck/621572/03(图101D)、H5N8 A/Ck/俄罗斯/2020(图101E)和H7N9 A/安徽/1/2013(图101F)的唾液酸酶活性抑制。

[0827] 实施例17

[0828] 体外效力:FNI9、FNI19-V3、FNI17-V19和FNI17-V19-LS

[0829] 通过核蛋白(NP)染色测量FNI9、FNI19-v3、FNI17-v19和FNI17-v19-LS对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外效力。结果在图102A至图102B中示出,并且矩形指示在位置245处携带糖基化的第II组(H3N2)NA。还测量了比较物抗体1G01的中和活性。

[0830] 实施例18

[0831] 某些FNI抗体的体外效力与体内防治活性

[0832] 测试了FNI9的体外效力。图105示出了FNI9对H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016的体外中和活性。还测量了抗HA比较物抗体FM08-LS的中和活性。

[0833] 在H3N2 IAV感染的鼠BALB/c模型中评估FNI9、FNI9-v8.1和FNI17-v19的防治活性。简而言之,在感染H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016之前,用3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg、0.1mg/kg或0.03mg/kg的FNI9-v8.1、FNI9或FNI17-V19处理BALB/c小鼠。来自感染后四天收集的组织的肺匀浆中的病毒滴度在图107中示出。还在用OSE(10mg/kg或20mg/kg)或抗HA比较物抗体FM08_LS处理的小鼠中测量了病毒滴度。

[0834] 实施例19

[0835] 附加体外效力与体内防治活性研究

[0836] 测试了FNI9和FNI17-v19的体外效力。图106示出了FNI9和FNI17-v19对H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016的体外中和活性的剂量反应曲线。

[0837] 在H3N2 IAV感染的鼠BALB/c模型中评估FNI9、FNI9-v8.1和FNI17-v19的防治活性。简而言之,在感染H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016之前,用3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg、0.1mg/kg或0.03mg/kg的FNI9-v8.1、FNI9或FNI17-V19处理BALB/c小鼠。来自感染后四天收集的组织的肺匀浆中的病毒滴度在图107中示出。还在用OSE(10mg/kg或20mg/kg)或抗HA比较物抗体FM08_LS处理的小鼠中测量了病毒滴度。

[0838] 实施例20

[0839] 防治活性:FNI9-V8.1

[0840] 在IAV和IBV感染的鼠模型中测量FNI9-v8.1的防治活性。简而言之,在感染H1N1 A/波多黎各/8/34(图108A)、H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016(图108B)、B/维多利亚/

504/2000(山形县)(图108C)或B/布里斯班/60/2008(维多利亚)(图108D)之前用3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg或0.1mg/kg的FNI9-v8.1处理BALB/c小鼠。来自感染后四天收集的组织的肺匀浆中的病毒滴度在图108A至图108D中示出。图109A至图109D示出了被报告为每克组织的空斑形成单位的对数(Log pfu/g)的滴度数据。还在用OSE(10mg/kg或20mg/kg)或抗HA比较物抗体FM08_LS处理的小鼠中测量了病毒滴度。

[0841] 实施例21

[0842] 体外效力:FNI9-V8.1

[0843] 测试了FNI9-v8.1对一组H1N1 IAV、H3N2 IAV(在位置245处具有或没有糖基化位点)和IBV的体外中和数据(图110A和图110B)。

[0844] FNI9-v8.1对所有毒株H1N1 IAV、H3N2 IAV、H3N2 IAV(在位置245处没有糖基化位点)、H3N2 IAV(在位置245处具有糖基化位点)和IBV的体外中和统计信息的总结在图111中示出。

[0845] 实施例22

[0846] 体外效力:FNI9-V8.1、FNI17和FNI19

[0847] 通过核蛋白(NP)染色测量FNI9-v8.1、FNI17和FNI19对第I组(H1N1)IAV、第II组(H3N2)IAV和IBV NA的体外效力。结果在图112A至图112B中示出。还测量了比较物抗体1G01的中和活性。

[0848] 实施例23

[0849] 体外效力:FNI9-V8.1和FM08_LS的组合活性

[0850] 测试了FNI9-v8.1(抗NA)和FM08(抗HA)对H1N1 A/波多黎各/8/34(图113A和图113B)和H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020(图113C和图113D)的组合体外中和活性。中和矩阵(以μg/ml为单位报告)在图113A和图113C中示出。协同图在图113B和图113D中示出。

[0851] 实施例24

[0852] 抗体效应子功能:FNI9-V8.1

[0853] 评估抗体效应子功能。测量了在存在豚鼠补体的情况下由FNI9-v8.1-LS介导的对感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的MDCK-LN细胞的补体依赖性细胞毒作用(CDC)(图114A至图114B)。还测量了抗HA比较物抗体FM08_LS和Fc沉默阴性对照FNI9-v8.1-GRLR的CDC。CDC在图114A中被报告为抗体依赖性杀伤%,并且在图114B中被报告为抗体依赖性杀伤的曲线下面积。

[0854] 测量了在存在人自然杀伤细胞的情况下由FNI9-v8.1-LS介导的对感染了H1N1 A/波多黎各/8/34的A549细胞的抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)(图115A至图115B)。还测量了抗HA比较物抗体FM08_LS和Fc沉默阴性对照FNI9-v8.1-GRLR的ADCC。ADCC在图115A中被报告为抗体依赖性杀伤%,并且在图115B中被报告为曲线下面积。

[0855] 实施例25

[0856] 药代动力学研究:FNI9-V5和FNI9-V8.1

[0857] 在SCID tg32小鼠中测试FNI9-v5和FNI9-v8.1的体内药代动力学。抗体被表达为在Fc中具有M428L和N434S突变的重组IgG1m3。施用后约60天内SCID tg32小鼠中FNI9-v5和FNI9-v8.1随时间变化的抗体浓度(以μg/ml形式报告)分别在图125A和图125B中示出。图126A至图126E总结了FNI9-v5-LS(“FNI9-v5-rIgG1-LS”)和FNI9-v8.1-LS(“FNI9-v8.1-

rIgG1m3-LS")在SCID tg32小鼠(n＝每种抗体五只单独动物)中的体内药代动力学数据。

[0858] 实施例26

[0859] 组织交叉反应性(TCR)评估:FNI9-V5和FNI9-V8.1

[0860] 使用免疫组织化学染色在一组人组织中评估FNI9-v5和FNI9-v8.1抗体的组织交叉反应性(TCR)的潜力。

[0861] 为了促进免疫组织化学检测,使用商业Alexa Fluor™488蛋白标记试剂盒将FNI9-v5、FNI9-v8.1(各自表达为在Fc中具有M428L和N434S突变的重组IgG1m3)和同种型对照("ctrl-IgG1",靶向非流感抗原)与Alexa Fluor 488缀合。通过测量280nm处的吸光度来确定缀合蛋白的存在。相应缀合的抗体蛋白浓度为2.17mg/mL(FNI9-v5)、1.49mg/mL(FNI9-v8.1)和1.62mg/mL(ctrl-IgG1)。相应标记程度为1.63(FNI9-v5)、0.86(FNI9-v8.1)和2.56(ctrl-IgG1)。

[0862] 制备来自流感阳性和流感阴性细胞的冷冻切片作为对照,并制备用于检查的一组人组织。该组包括肾上腺、膀胱、血细胞、骨髓、乳腺、小脑、脑皮质、内皮、眼、输卵管、食管、胃窦、胃体、十二指肠、回肠、结肠、心脏、肾、肝、肺、淋巴结、卵巢、胰腺、腮腺、周围神经、垂体、胎盘、前列腺、皮肤、脊髓、脾、横纹肌、睾丸、胸腺、甲状腺、扁桃体、输尿管、子宫颈)和子宫内膜组织。为了评估组织活力,对该组人组织进行免疫组织化学染色以展示波形蛋白、细胞角蛋白和血管性血友病因子。组织活力的评估表明该组人组织有活力。

[0863] 在对照样品(流感阳性和阴性细胞)中滴定FNI9-v5-AF488。在流感阳性细胞(阳性对照)的整个制备过程中观察到单独细胞的阳性膜和细胞质浓度依赖性染色。在流感阴性细胞(阴性对照)中没有观察到FNI9-v5-AF488阳性染色。在具有ctrl-IgG1-AF488的对照样品或抗体稀释液中没有观察到染色。

[0864] 在载玻片评估阳性对照滴定后,选择三个浓度在人组织组中进行测试:1.25μg/mL、0.16μg/mL和0.020μg/mL。为了确认用于FNI9-v5-AF488的染色方法和浓度与FNI9-v8.1-AF488一起使用的适合性,完成方法转移,其中用三个先前使用的浓度1.25μg/mL、0.16μg/mL和0.020μg/mL的FNI9-v8.1-AF488对对照样品进行染色。用FNI9-v8.1-AF488在阳性对照样品中观察到的染色与先前用FNI9-v5-AF488观察到的染色一致,因此认为染色方法和浓度适用于使用FNI9-v8.1-AF488的组织滴定。

[0865] 在该组人组织中进行组织滴定。在阳性对照样品中观察到FNI9-v5-AF488的阳性染色,与在对照滴定中观察到的一致,并且观察到FNI9-v8.1-AF488的可比的染色。在阴性对照样品中没有观察到FNI9-v5-AF488或FNI9-v8.1-AF488的阳性染色。在任何人组织中没有观察到FNI9-v5-AF488(数据未示出)或FNI9-v8.1-AF488(图127A至图127C)的阳性染色。

[0866] 实施例27

[0867] 针对低致病性IAV的FNI抗体的测试

[0868] 使用体外测定法评估FNI抗体对低致病性IAV中神经氨酸苷酶的抑制。

[0869] 通过ELLA评估抗NA mAb FNI9-v8.1、FNI17-v19和FNI19-v3对代表地方性低致病性甲型禽流感病毒(LPAIV)的、携带N3、N4或N5的仅基于NA的假型的抑制活性(图128A至图128C)。通过MUNANA测定法评估相同抗NA mAb对代表在猪、狗和海豹体内循环的地方性低致病性哺乳动物IAV的、携带N1、N2、N6或N8的仅基于NA的假型的抑制活性(图129A至图129F)。1G01也作为对照抗体在ELLA和MUNANA测定法中进行测试。

[0870] 实施例28

[0871] 针对耐药IAV突变体的FNI抗体的测试

[0872] 体外耐药性研究

[0873] 通过大量筛选病毒群体或通过在存在递增剂量的抗体的情况下连续传代病毒来分离耐抗体的突变体。对于前一种方法,将MDCK细胞以30,000个细胞/孔接种到96孔板(Corning CON3596)中的100μl培养基(MEM+GlutaMAX(ThermoFisher 41090-028)+10％FBS Hyclone(VWR SH30070.03)+50U/ml青霉素/50ng/ml链霉素(Bioconcept4-01F00-H)+100μg/ml卡那霉素(Life Technologies 15160047)+1％NEAA(Bioconcept 5-13K00-H)+1％丙酮酸钠(Life Technologies11360039)+0.05mMβ-巯基乙醇(Bioconcept 5-69F00-E))中,并在37℃5％ CO2下培养过夜。第二天,将A/中国香港/1/1968病毒输入与100μg/ml的FNI19抗体在37℃下一起预温育30分钟。然后将病毒/抗体混合物在感染培养基(补充有1μg/ml TCPK-胰蛋白酶(Bioconcept LS003750)和10μg/ml卡那霉素的MEM)中进行有限稀释,以在用200μl/孔的PBS(Sigma-Aldrich D8537-500ML)进行2个洗涤步骤后在100μl中以MOI＝0.001感染MDCK细胞。三小时后,添加100μl/孔含有100μg/ml FNI19的感染培养基,并且将细胞再温育72小时。温育时间后,在MUNANA缓冲液(MES 32.5mM/CaCl2 4mM,pH 6.5)中制备20mM MUNANA底物(Sigma 69587-5MG)溶液,并将50μl/孔分配到96孔板中,与等量的测定培养上清液在37℃下一起温育1小时。添加100μl/孔的停止液(0.2M甘氨酸/50％ Et-OH,pH 10.7)并用Cytation 5(Biotek-Agilent)测量445nm处的荧光。将荧光阈值设定为5x未感染细胞的信号,并且处理高于截断值的上清液以用于NA测序。根据制造商的说明书,使用Qiagen QIAmp病毒RNA试剂盒(Qiagen 52904)从140μl培养上清液中提取病毒基因组RNA。使用SuperScript III RT试剂盒(Life Technologies 18080044)与引物Uni12(5'-AGC RAA AGC AGG-3'(SEQ ID NO.:113))合成cDNA。使用Q5 HotStart DNA聚合酶试剂盒(Bioconcept M0493L)与特异性正向引物:5'-caattggctctgtctctct-3'(SEQ ID NO.:114)和反向引物:5'-atgaaattgatgttcgccc-3'(SEQ ID NO.:115),通过PCR扩增神经氨酸苷酶基因。

[0874] 从1.5％琼脂糖凝胶纯化PCR产物并且用3种不同引物:5'-caattggctctgtctctct-3'(SEQ ID NO.:114)、5'-gaagagccgatactagaa-3'(SEQ ID NO.:116)、5'-ttctagtatcggctcttc-3'(SEQ ID NO.:117)对PCR产物进行测序。用CLC Main Workbench 22软件进行与A/中国香港/1/1968神经氨酸苷酶的序列比对。

[0875] 对于连续传代耐药性实验,将MDCK-LN细胞以120,000个细胞/孔接种在24孔板中,并在生长培养基(DMEM、10％[FBS]、0.01MHEPES、100U/mL青霉素-100μg/mL链霉素)中于37℃下培养过夜。二十四小时后,将H1N1 A/加利福尼亚/07/2009或A/新喀里多尼亚/20/99病毒原液和FNI9稀释,并在含有0.5μg/mL经TPCK处理的胰蛋白酶的感染培养基中以1:1混合,达到1000PFU/孔病毒的终浓度和FNI9的0.5xIC50(47.35ng/mL)。将病毒:抗体混合物置于37℃并预复合30分钟。对于CPE比较物,包括细胞和病毒对照孔。将细胞在DMEM中洗涤两次,然后将100μL病毒:抗体复合混合物、病毒和细胞对照添加到孔中,在37℃下保持1小时。病毒吸附后,将细胞在DMEM中洗涤两次,然后将500μL稀释的抗体或含有0.5μg/mL经TPCK处理的胰蛋白酶的感染培养基加回到它们相应的孔中。将板在37℃下温育,一旦病毒:抗体孔中有超过50％的CPE,便收集病毒。将病毒上清液以120μL等分试样在-80℃下冷冻,一个等分

试样用于下一次耐药性传代,一个等分试样添加到360μL DNA/RNA Shield中用于RNA提取,并且一个等分试样被保存用于额外增殖。对于第2次传代,用初始0.5x和1x IC50浓度的FNI9重复该过程,显示CPE的抗体的最高浓度被选择用于下一次传代。对于每次额外的传代,重复所选孔的浓度以及2x浓度。对于CA09研究,存在8次病毒传代和FNI9的64x IC50的终浓度(3200ng/mL)。

[0876] 为了鉴定基因组突变,根据制造商的说明书使用Zymo QuickRNA病毒试剂盒(R1034)提取病毒基因组RNA,并使用Qubit RNA BR测定试剂盒(Invitrogen,Q10210)测量RNA浓度。使用SuperScript III一步RT-PCR系统与Platinum Taq DNA聚合酶(Invitrogen,12574018)并使用MBTuni-12(5'-ACGCGTGATCAGCAAAAGCAGG-3'(SEQ ID NO.:118))和MBTuni-13(5'-ACGCGTGATCAGTAGAAACAAGG-3'(SEQ ID NO.:119))引物合成cDNA,并且使用AMPure XP磁珠(Beckman Coulter,A63880)纯化PCR片段。接下来,使用适用于Illumina的NEBNext Ultra IIFSDNA文库制备试剂盒(NEB,E6177L)将扩增子片段化,然后使用适用于Illumina的NEBNext多重寡核苷酸(NEB,7335L)添加衔接子和索引。使用NEBNext样品纯化珠纯化DNA样品,然后使用Qubit DNA HS测定试剂盒(Invitrogen,Q32854)定量,并使用D500 tape station(Agilent,G2964AA)验证。最后,将样品稀释并合并,然后使用MiSEQ分析仪与MiSeq试剂盒v3(MS-102-3003)和PhiX Control v3(FC-110-3001)进行测序。NA突变I223R和S247N分别首次出现在第6次和第7次传代中,并且在第8次传代中各自达到总NGS读段的约50%。

[0877] 鉴定了一组NA,它们具有通过体外耐药性研究鉴定为能够降低但不消除FNI mAb的结合或活性的突变。使用携带突变NA的假型,通过MUNANA测定法测量对该组的神经氨酸苷酶酶活性的抑制(图130A至图130G)。

[0878] 深度突变扫描特征

[0879] 使用深度突变扫描方法来确定NA氨基酸突变如何影响mAb结合。生成基于N1 A/加利福尼亚/07/2009的细胞表面展示文库,包括170个选择氨基酸的所有变体。突变的残基包括与从冷冻电镜获得的结合的Fab(FNI17 Fab和FNI19 Fab与N2/A/坦桑尼亚/205/2010的复合物,该研究)和晶体结构(NI3 Fab与N2/A/坦桑尼亚/205/2010(未公开)、1E01 Fab(PDB 6Q20)、Mem5 Fab(PDB 2AEP)和B10 Fab(PDB 6N6B))相距6.0Å距离内的表位残基。此外,包括过去20年中在GISAID中已知序列变异的H1N1和H5N1残基。

[0880] 文库构建、慢病毒生产、下一代测序和数据去卷积通过麻省理工-哈佛博德研究所(Broad Institute of MIT and Harvard)的基因扰动平台(Genetic Perturbation Platform,GPP)进行。对于文库合成,合成了编码通过2xG4S接头添加了C-末端最小HA标签的野生型N1 A/加利福尼亚/07/2009ORF的慢病毒载体pMT025,并且该慢病毒载体用作生成变体文库池的模板。在Twist Biosciences处合成具有分别含有NheI和MluI的5'和3'侧翼衔接子的全长变体池。限制性消化克隆和pDNA扩增后,使用Illumina Nextera XT平台通过NGS评估pDNA文库的变体组成。检测到所有3472种设计的变体,并且变体的分布是近似对数正态的,各变体的读数计数中具有1.3倍标准偏差。根据通过GPP(http://www.broadinstitute.org/rnai/public/resources/protocols)可获得的方案产生慢病毒颗粒。将该文库以约0.3的感染复数转导到FreeStyle™293-F细胞(ThermoFisher Scientific)中,并以每种变体2,000个细胞的平均表示来维持。

[0881] 对于筛选,通过流式细胞术确定mAb与细胞表面展示的NA结合。通过游离胺缀合将mAb直接缀合至Alexa Fluor 647(ThermoFisher Scientific)以使得能够进行基于荧光的检测。在嘌呤霉素选择后5至7天收获含有NA变体文库的293-F细胞,在含有3%牛血清白蛋白的PBS中洗涤,然后与Alexa Fluor 647缀合的mAb在4℃下黑暗中一起温育1小时。洗涤细胞,然后用4%多聚甲醛固定,随后在两个单独的分选器(BD ARIA Fusion或Sony MA900)上进行技术上重复的分选。使用LIVE/DEAD™可固定蓝色死细胞染色试剂盒(ThermoFisher Scientific)将死细胞从分析中排除。每个技术重复最少制备6000万个细胞用于FACS。通过FACS将表达NA变体文库的293-F细胞分选到阴性、低和高mAb结合仓(bin)中,并且如下所述通过NGS确定变体在每个仓中的分布。NA ORF包括最小C-末端HA标签,其也使用Alexa Fluor 488抗HA.11表位标签抗体(BioLegend)进行筛选以确定170个所选残基中每个残基的突变如何影响一般蛋白质表达。对于每次筛选,收集最少500万个未分选的文库细胞作为未分选的对照。

[0882] 分别用QIAamp DNA FFPE组织试剂盒(具有以下修改:将0.3MNaCl添加到裂解缓冲液中并将56℃下的温育延长至4小时)和QIAamp DNA血液试剂盒(Qiagen)从分选的样品和未分选的对照中分离gDNA。如先前所述制备gDNA用于NGS。简而言之,使用以下引物(正向:5'-ATTCTCCTTGGAATTTGCCCTT-3'(SEQ ID NO.:120),反向:5'-CATAGCGTAAAAGGAGCAACA-3'(SEQ ID NO.:121))通过PCR从gDNA扩增ORF,并使用Illumina Nextera XT试剂盒加工ORF以进行NGS。使用Nextseq2000测序平台对样品进行测序以获得配对末端读数,有2×150个循环。如先前所述使用突变体检测软件ASMv1.0进行序列数据处理和变体识别(variant calling)。对每个样品的归一化读数进行log2转换。计算阴性分选仓与未分选池以及各文库变体的低和高结合FACS分选仓相比的Log2倍数变化值,然后对抗HA标签和抗NA抗体两者进行平均。潜在逃逸被定义为具有接近于沉默突变的HA标签信号(与沉默突变的平均值最多相差两个标准偏差)并具有接近于终止密码子突变的抗NA信号(与终止密码子突变的平均值最多相差三个标准偏差)的逃逸。

[0883] 分析了序列保守性。从GISAID(www.gisaid.org)检索H3N2(IAV)、H1N1(IAV)、H5N1(IAV)、H7N9(IAV)、H5N8(IAV)、H5N6(IAV)、维多利亚(IBV)和山形县(IBV)NA蛋白序列。使用MAFFT[PMID:23329690]将蛋白序列与参考NA序列比对,所用序列是在2022年10月检索的,并且用于比对的相应参考对于H1N1序列是A/加利福尼亚/07/2009(NC_026434.1),对于H3N2序列是A/纽约/392/2004(YP_308842.1),对于维多利亚和山形县IBV序列是8B/山形县/16/1988(AAN39803.1)。对于图121A至图121H,所用序列是在2022年7月检索的,并且用于比对的相应参考对于H3N2、H1N1、H5N1、H7N9、H5N8、H5N6序列是A/纽约/392/2004(YP_308842.1),对于维多利亚和山形县IBV序列是B/山形县/16/1988(AAN39803.1)。用R(https://www.R-project.org/)v.4.0.4分析多重序列比对。用R包"ggseqlogo"v.0.1[PMID:29036507]生成标志图,用R包"Biostrings"v.2.58.0(bioconductor.org/packages/Biostrings)计算每个残基的保守性。

[0884] 鉴定了一组NA,它们具有通过深度突变扫描(DMS)鉴定为能够降低但不消除FNI mAb的结合或活性的突变。使用携带突变NA的假型,通过MUNANA测定法测量对该组的神经氨酸苷酶酶活性的抑制(图131A至图131B)。

[0885] 实施例29

[0886] 抗HA茎区抗体的防治活性可受益于与FNI9 NA抑制抗体的缔合

[0887] 为了评估FNI抗体与抗HA抗体组合的防治活性,设计了体内研究。向小鼠(BALB/c小鼠,7至8周龄)防治性地施用无效剂量的抗HA茎区抗体(0.25mg/kg或0.125mg/kg)与抗NA FNI抗体以1:1比率的组合。在感染H3N2 A/中国香港/1/68(图132A和图132C)或H1N1 A/波多黎各/8/34(图132B)之前向小鼠施用抗体。抗体是鼠源化的(在图132A中用“mu”前缀指示)或人的(图132B和图132C)。抗NA抗体包括FNI9-v8.1-LS、FNI17-LS和FNI19-v3-LS,并且所使用的抗HA抗体是FM08。如所指示,以0.25mg/kg或0.125mg/kg的剂量施用抗体。还测量了仅用FNI抗体或用媒介物对照预处理的小鼠的体重减轻。

[0888] 实施例30

[0889] FNI9-V8.1和奥司他韦对H5N1和H7N9高致病性流感病毒的防治活性

[0890] 目的

[0891] 本研究的目的是从第0天至第14天评估FNI9v8.1(在本实施例中也称为“mAb-9v8.1”)和奥司他韦对雌性小鼠(来自用于评估抗流感药物的小鼠模型,并得到用于流感病毒疾病模型的历史数据的支持)中对H5N1和H7N9高致病性禽流感病毒(HPAIV)应答的防治功效。第14天的终点包括临床观察、体重减轻和存活。

[0892] 测试和对照材料

[0893] 在感染前24小时,适当治疗组中的小鼠在第-1天通过静脉内注射接受单剂量的mAb-9v8.1或媒介物对照。奥司他韦治疗组中的小鼠基于第-2天个体体重在第-1至5天每天一次通过经口灌胃接受奥司他韦(共7个剂量)。在第0天用致死性攻击量的高致病性H5N1或H7N9病毒感染所有研究动物。

[0894] 表4.媒介物(无菌磷酸盐缓冲盐水(PBS))

[0895]

标识	无菌 PBS，pH 7，美国药典（USP）级
说明	无菌 PBS
制造商	--

批号	--
稳定性	--
复验日期	--
纯度	--
浓度	10mM $PO4^{3-}$、137mM NaCl 和 2.7mM KCl
制备和操作	施用前在室温（RT）下平衡
储存	2 至 8°C
剂量	N/A
给药途径	静脉内（IV）注射
剂量体积	基于第-2 天个体体重，不超过 250μL
施用	基于第-2 天个体体重，在第-1 天（感染前 24 小时）单次施用
安全性	最低安全要求包括在操作过程中始终穿戴安全眼镜（或同等用品）、手套和实验服。
剂量调整	N/A

[0896]

[0897] 表5.试验品1:FNI9v8.1

说明	工程化的人单克隆抗体，重组，纯化
制造商	Vir Biotechnology
批号	-
复验日期	N/A
化学级	非药品级
稳定性	6 个月
渗透度	280 至 315mOsm/Kg
热原性	没有可检测的内毒素，灵敏度<0.05EU/mg
无菌性	无菌
pH	7.4
纯度	通过亲和色谱法纯化

[0898]

[0899]

浓度	-
制备和操作	在无菌环境中操作
储存	≤-70℃直至使用，然后 4℃
剂量	3mg/kg、0.9mg/kg、0.3mg/kg
给药途径	静脉内（IV）注射
剂量体积	10mL/kg
施用	基于第-2 天个体体重，在第-1 天（流感感染前 24 小时）单次施用
安全性	无危险，标准 PPE 即可-不供人类使用
剂量调整	基于先前的体内研究

[0900] 本研究中使用的FNI9v8.1抗体包含:分别为SEQ ID NO.:55、4和5的CDRH1-3序列以及分别为SEQ ID NO.:9、10和11的LCDR1-3序列;SEQ ID NO.:54的VH序列和SEQ ID NO.:8的VL序列;以及SEQ ID NO.:107的重链序列和SEQ ID NO.:108的轻链序列。

[0901] 表6.试验品2:奥司他韦(也称为TAMIFLU™)

[0902]

说明	神经氨酸苷酶抑制剂（粉末）
制造商	MedChemExpress
批号	HY-17016-500MG
复验日期	--
化学级	药品级
稳定性	在 4℃下长达 7 天（研究第-1 至 5 天）（在无菌注射用水中重构后）
渗透度	--
无菌性	无菌
pH	--
浓度	1.0mg/mL（在无菌注射用水中重构后）
制备和操作	在无菌环境中操作

[0903]

储存	4℃（重悬后）
剂量	10mg/kg
给药途径	经口灌胃
剂量体积	基于第-2 天个体体重，根据关于小鼠经口灌胃的可接受体积的 BRT 策略，不超过 20μL/kg。
施用	基于第-2 天个体体重,在第-1 至 5 天每天一次(共 7 个剂量）。
安全性	安全-无危险
剂量调整	基于体内研究

[0904] 表7.流感H5N1病毒(HPAIV毒株)

[0905]

标识	流感
供应商	--
目录号	--
批号	--
滴度	--
操作	在使用前将病毒等分试样在室温下解冻。冻融会降低病毒滴度，因此每个等分试样是一次性使用的等分试样。
储存	≤-70℃
感染剂量	-
剂量体积	50μL/小鼠
途径	鼻内（i.n.）
施用	在第 0 天单次施用
剂量调整	选择该感染剂量是为了评估试验品在甲型流感模型中的防治效果，使用的感染水平在未处理动物中导致 90%死亡率。

[0906] 表8.流感H7N9病毒(HPAIV毒株)

[0907]

标识	流感
供应商	--
目录号	--
批号	--
滴度	--
操作	在使用前将病毒等分试样在室温下解冻。冻融会降低病毒滴度，因此每个等分试样是一次性使用的等分试样。
储存	≤-70℃
感染剂量	-
剂量体积	50μL/小鼠
途径	鼻内（i.n.）
施用	在第 0 天单次施用
剂量调整	选择该感染剂量是为了评估试验品在甲型流感模型中的防治效果，使用的感染水平在未处理动物中导致 90%死亡率。

[0908] 测试系统

[0909] 动物

[0910] 小鼠已经用于评估抗流感药物,并且有历史数据支持它们在流感病毒疾病模型中的使用。

[0911] 方法

[0912] 研究概述

[0913] 该研究从第0天至第14天检查了mAb-9v8.1和奥司他韦对鼠宿主模型中对高致病性禽流感H5N1和H7N9病毒感染应答的防治功效。

[0914] 主要研究设计使用60只雌性小鼠(10个测试组各有6只小鼠)。备有额外的小鼠,可用作在实验开始日之前不健康或体重异常的小鼠的替代者。

[0915] 在第-1天,感染前24小时,通过静脉内注射,让小鼠接受媒介物或试验品(3、0.9或0.3mg/kg剂量)治疗。在第0天,用致死性攻击量(LD90)的高致病性禽流感病毒H5N1或H7N9鼻内感染所有主要研究动物(和用作替代者的任何适用额外动物)。体重、临床观察和存活一直记录到第14天。

[0916] 表9:实验组,H5N1

[0917]

组	小鼠数量	试验品	治疗组	鼻内感染	终点
1	6	-	媒介物	流感H5N1(LD90)	直到第14天的存活、体重减轻、临床观察
3	6	mAb-9v8.1	3mg/kg		
4	6	mAb-9v8.1	0.9mg/kg		
5	6	mAb-9v8.1	0.3mg/kg		
6	6	奥司他韦	10mg/kg		
合计	30				

[0918] 表10:实验组,H7N9

[0919]

组	小鼠数量	试验品	治疗组	鼻内感染	终点
1	6	-	媒介物	流感H7N9(LD90)	直到第14天的存活、体重减轻、临床观察
3	6	mAb-9v8.1	3mg/kg		
4	6	mAb-9v8.1	0.9mg/kg		
5	6	mAb-9v8.1	0.3mg/kg		
6	6	奥司他韦	10mg/kg		
合计	30				

[0920] 基于单独动物第-2天体重,在第-1天以单次IV注射施用mAb-9v8.1治疗。基于第-2天个体体重,在第-1至5天每天一次通过经口灌胃施用奥司他韦治疗(共7个剂量)。

[0921] 研究程序

[0922] 给药

[0923] 在第-1天(感染前24小时)通过IV注射为动物给予试验品或媒介物(无菌PBS)。抗体试验品以3、0.9、0.3mg/kg的剂量施用,不超过250μL(小鼠可接受的IV注射体积)。

[0924] 基于第-2天个体体重在第-1至5天每天一次通过经口灌胃以10mg/kg的剂量向奥司他韦治疗组中的动物施用奥司他韦(共7个剂量)。

[0925] 每日观察

[0926] 从第-2至14天每天一次监测所有小鼠。

[0927] 体重测量

[0928] 小鼠在第-2天称重,从第4至14天每天称重。如果小鼠达到30%的体重减轻并且观

察到任何以下变化,则由兽医评估该状况以确定是否需要立即实施安乐死。

[0929] (a)蜷缩姿势:(i)当被触摸或被鼓励移动时,动物会蜷缩不动,(ii)当被触摸或被鼓励移动时,动物会移动,但会停下来恢复蜷缩姿势。

[0930] (b)当被触摸或被鼓励移动时,动物会跌倒而不能自我扶正。

[0931] (c)当被触摸或被鼓励移动时,动物表现出呼吸困难。

[0932] (d)体重减轻在接下来的48小时内不稳定或增加。

[0933] 用于PK分析的血清收集(第0天)

[0934] 在第0天(感染前),通过隐静脉收集血液(60μL),置于不含抗凝剂的采血管中,并让奥司他韦剂量组以外的所有动物的血液凝结30至60分钟。然后在设定为室温的仪器中以2500×g离心5分钟后将样品处理成血清。在每个收集日,将每个血清样品等分到新的、标记的收集管中并在收集后立即用干冰速冻。标记样品管并储存在≤-70℃下。

[0935] 终末程序

[0936] 在第14天,对动物实施安乐死并记录最终体重。

[0937] 可组合上述各种实施方案以提供另外的实施方案。在本说明书中提及和/或在申请数据表中列出的所有美国专利、美国专利申请公开、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和非专利公开全文以引用方式并入本文,包括2022年5月23日提交的美国临时专利申请号63/345,016;2022年11月23日提交的美国临时专利申请号63/427,799;2022年12月5日提交的美国临时专利申请号63/430,319;2023年1月27日提交的美国临时专利申请号63/481,977;2023年3月3日提交的美国临时专利申请号63/488,433;以及2023年3月30日提交的美国63/493,057。如果需要,可修改实施方案的各方面以采用各种专利、申请和公开的概念来提供更进一步的实施方案。

[0938] 可根据以上详细描述对实施方案作出这些和其他改变。一般来讲,在以下权利要求书中,所用术语不应被解释为将权利要求书限于本说明书和权利要求书中所公开的特定实施方案,而应被解释为包括所有可能的实施方案以及这些权利要求所享有的等效物的全部范围。因此,权利要求书并不受本公开的限制。

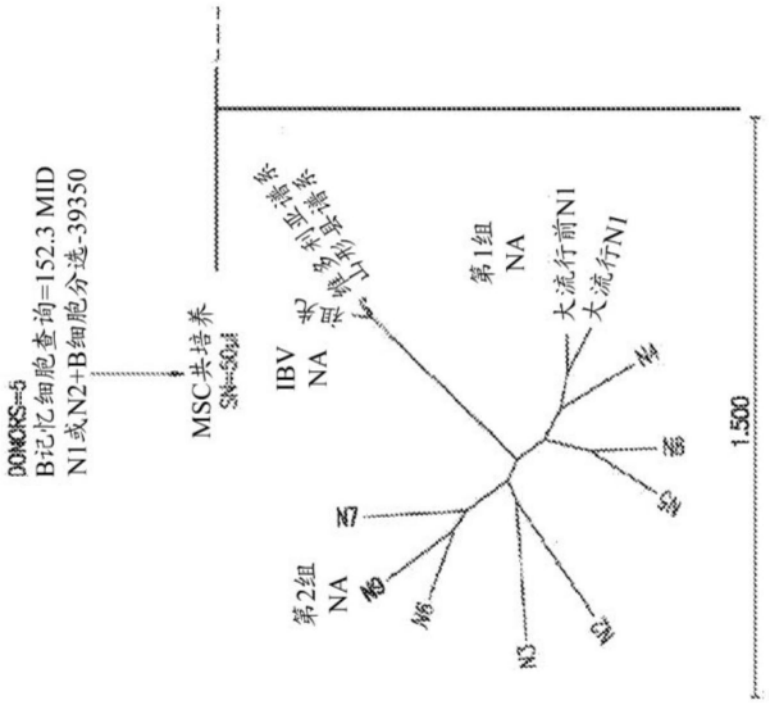

DONORS=5
B记忆细胞查询=152.3 MID
N1或N2+B细胞分选-39350
MSC共培养
IBV
NA
第1组
NA
大流行前N1
大流行N1
第2组
NA
N3
1.500

图1

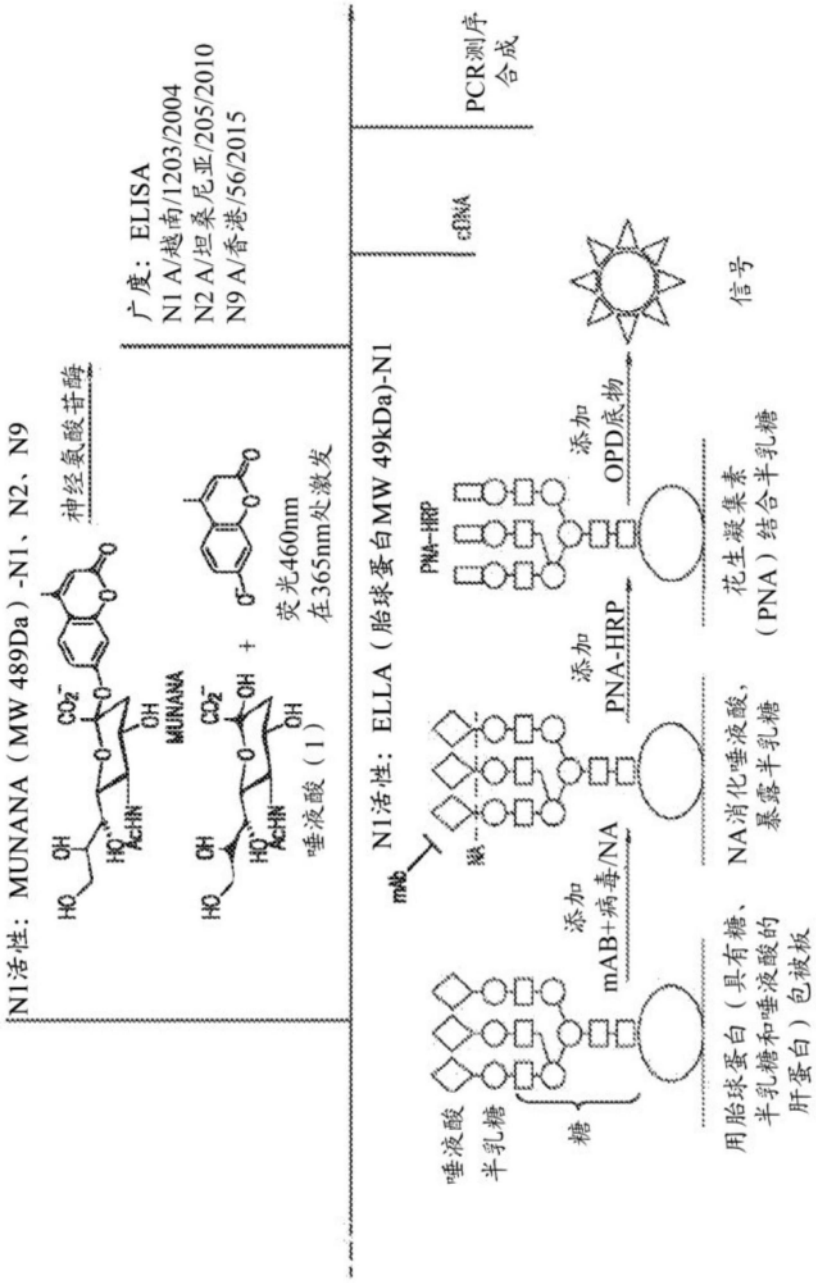

N1活性：MUNANA（MW 489Da）-N1、N2、N9
神经氨酸苷酶
MUNANA
唾液酸（1）
荧光460nm
在365nm处激发
广度：ELISA
N1 A/越南/1203/2004
N2 A/坦桑尼亚/205/2010
N9 A/香港/56/2015
cDNA
PCR测序
合成
N1活性：ELLA（胎球蛋白MW 49kDa)-N1
PNA-HRP
添加
OPD底物
信号
唾液酸
半乳糖
糖
添加
mAB+病毒/NA
添加
PNA-HRP
用胎球蛋白（具有糖、
半乳糖和唾液酸的
肝蛋白）包被板
NA消化唾液酸，
暴露半乳糖
花生凝集素
（PNA）结合半乳糖

图1(续)

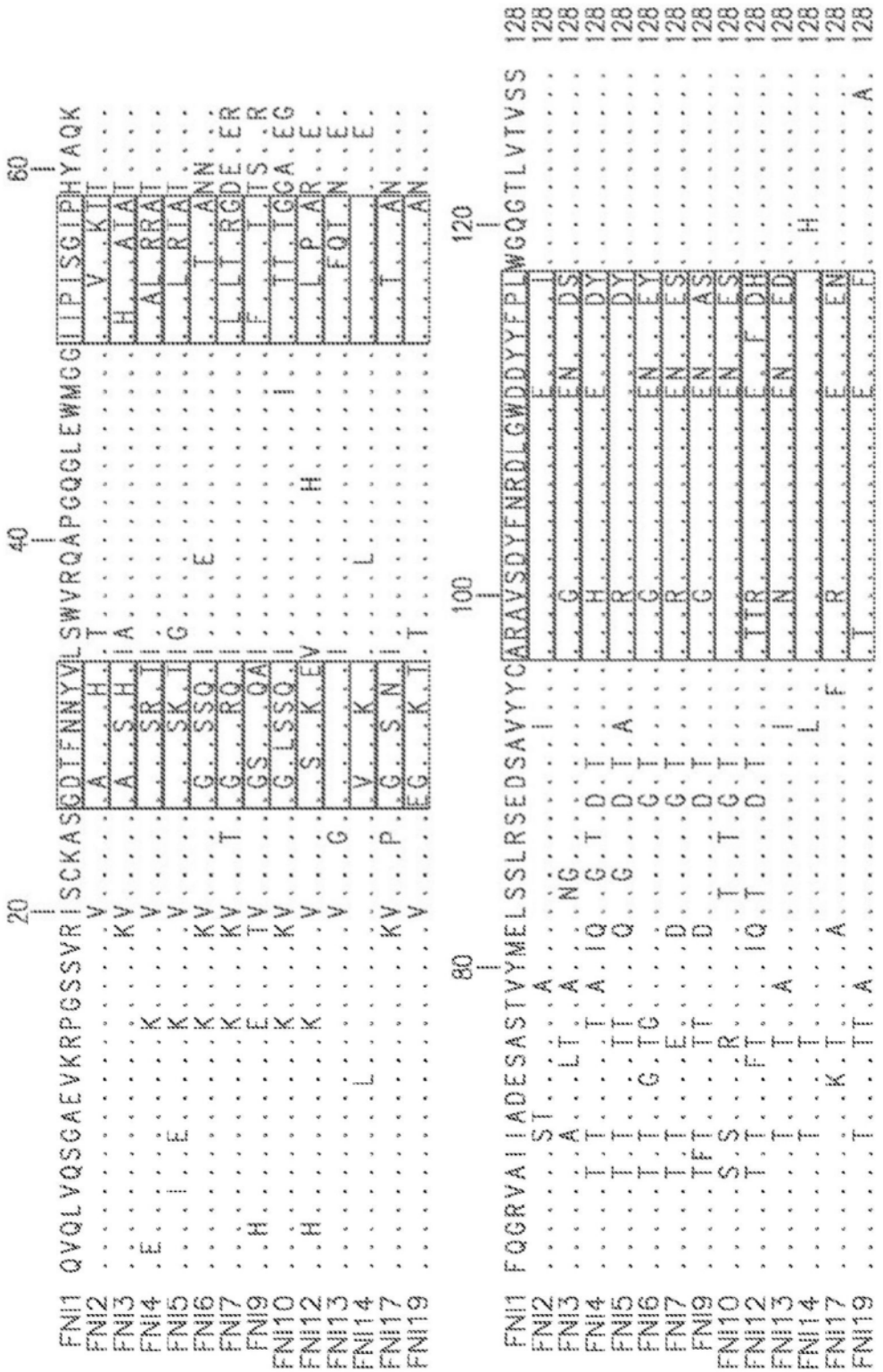


图2A

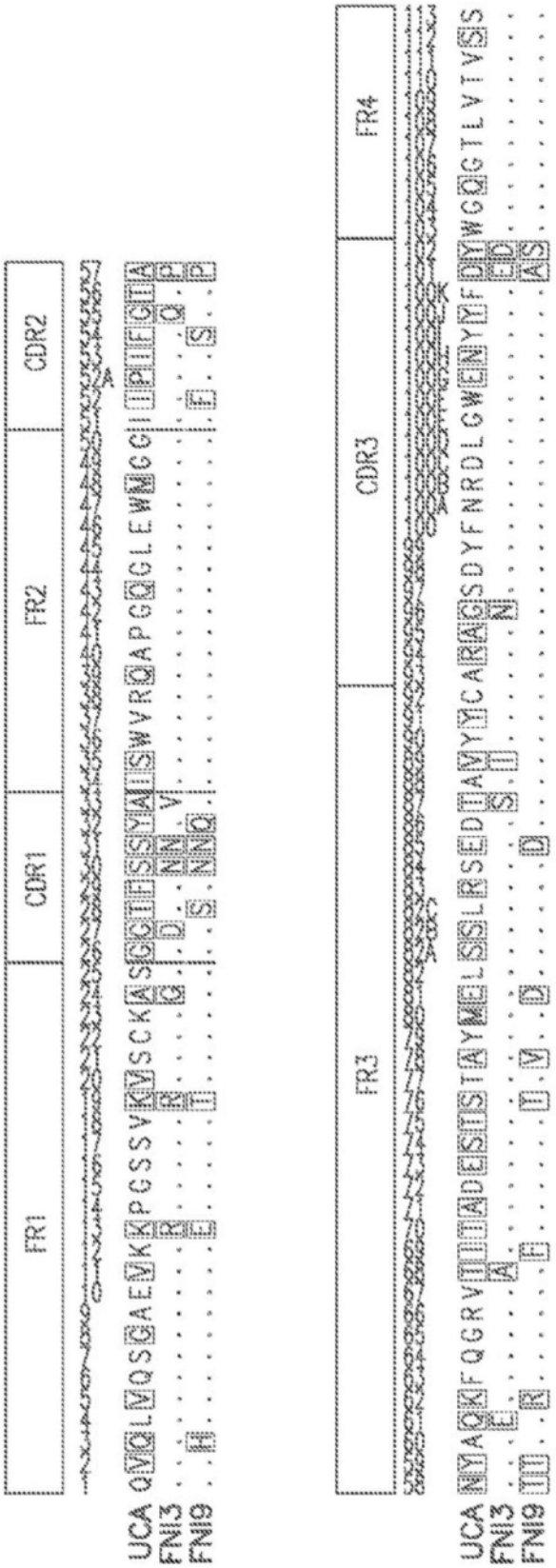


图2B

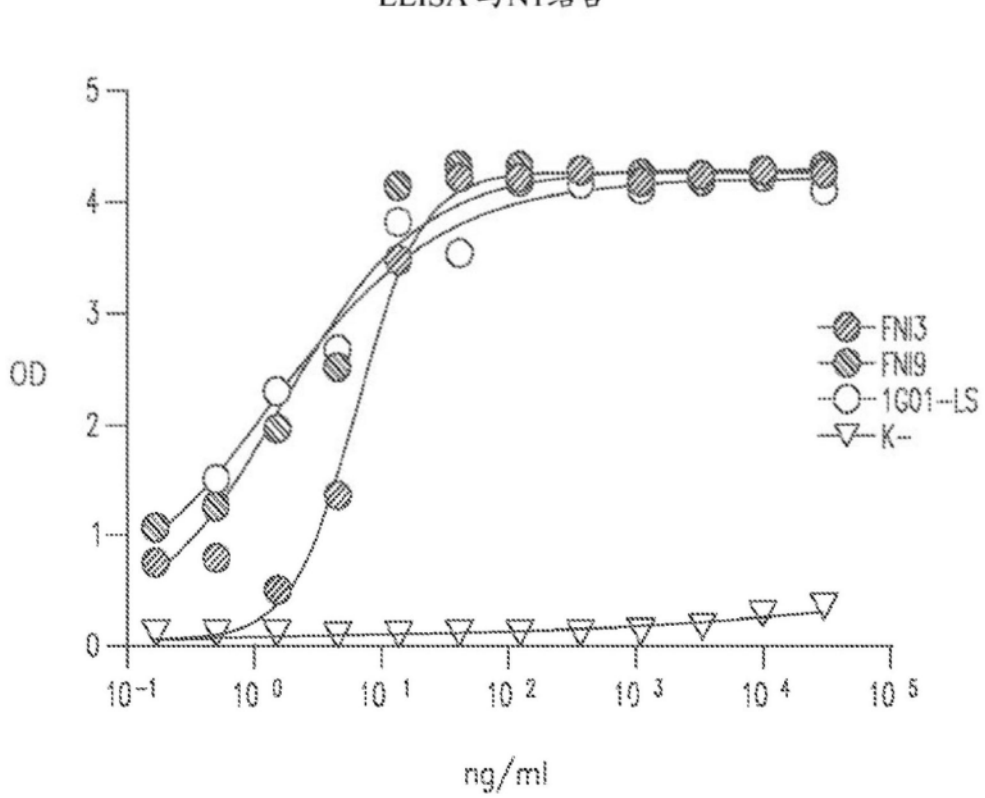

ELISA 与N1结合
OD
5
4
3
2
1
0
10-1
10 0
10 1
10 2
10 3
10 4
10 5
ng/ml
FNI3
FNI9
1G01-LS
K--

图3A

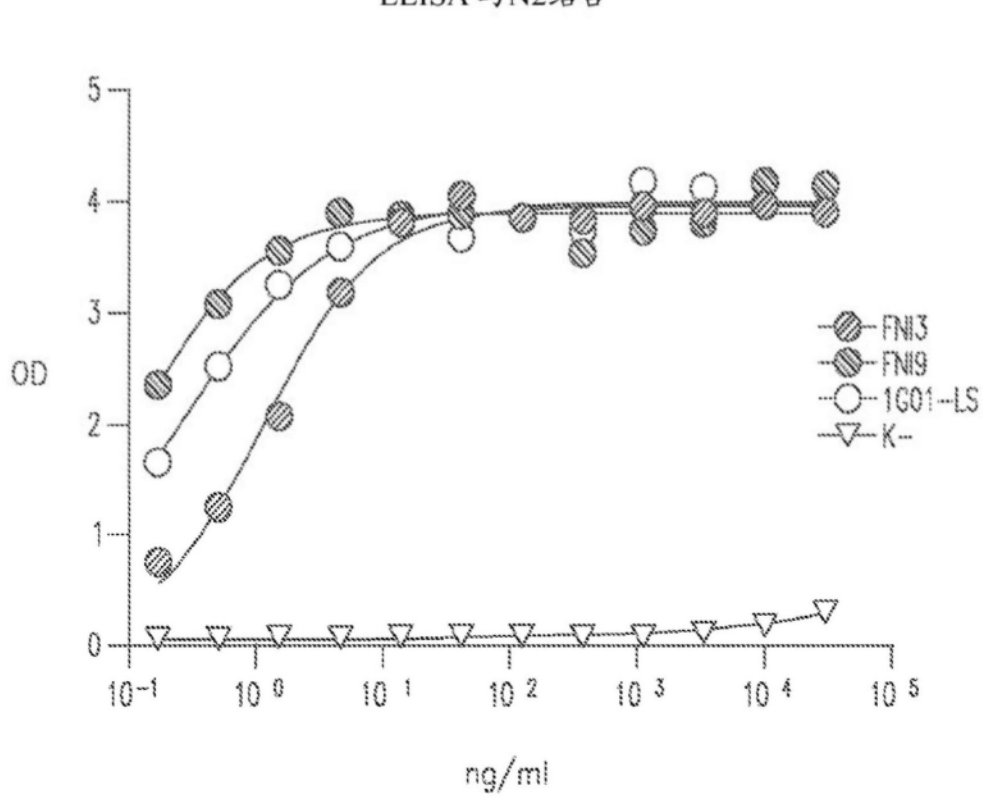

ELISA 与N2结合
OD
5
4
3
2
1
0
10-1
10 0
10 1
10 2
10 3
10 4
10 5
ng/ml
FN13
FN19
1G01-LS
K--

图3B

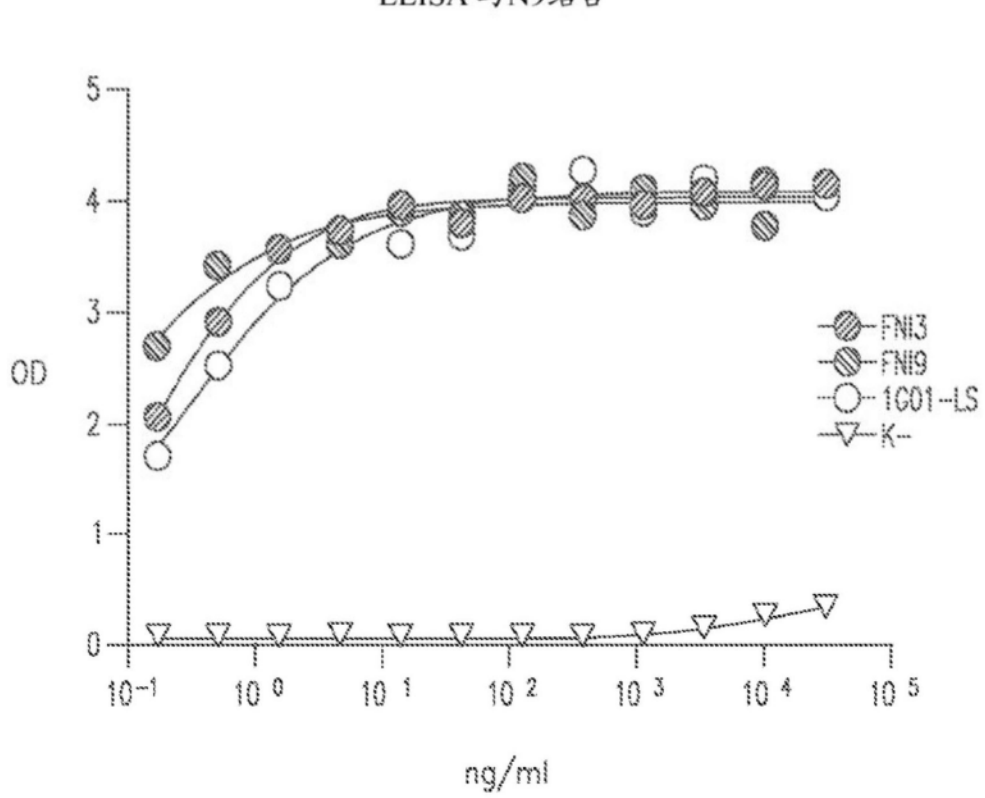
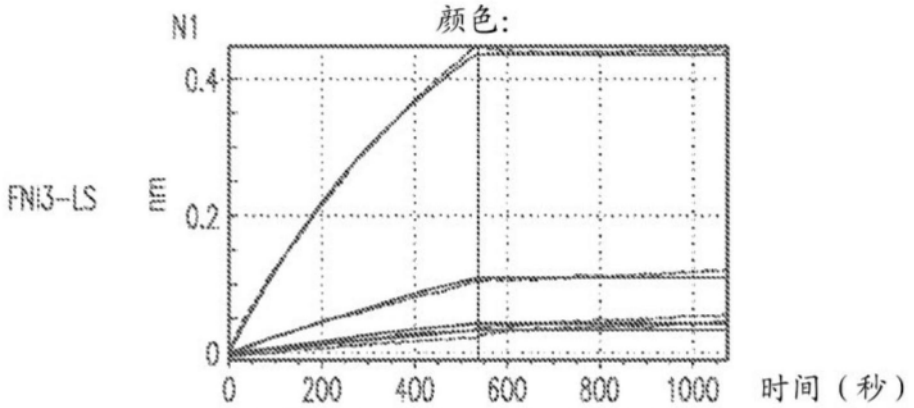
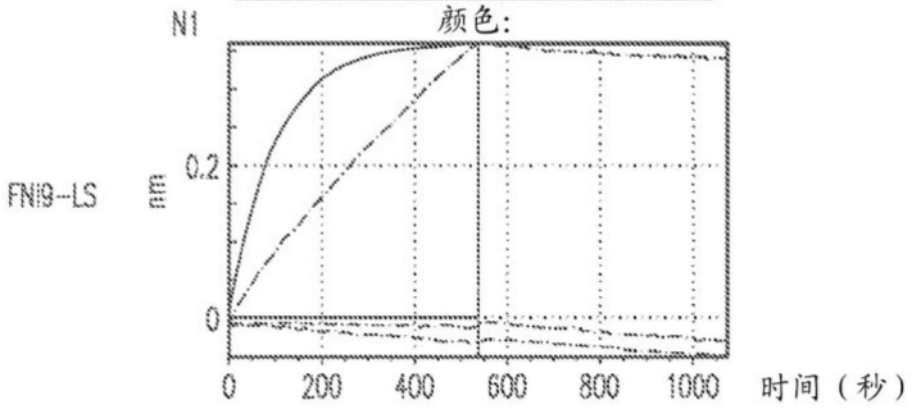

ELISA 与N9结合
OD
5
4
3
2
1
0
10−1
10 0
10 1
10 2
10 3
10 4
10 5
ng/ml
FNI3
FNI9
1C01-LS
K--

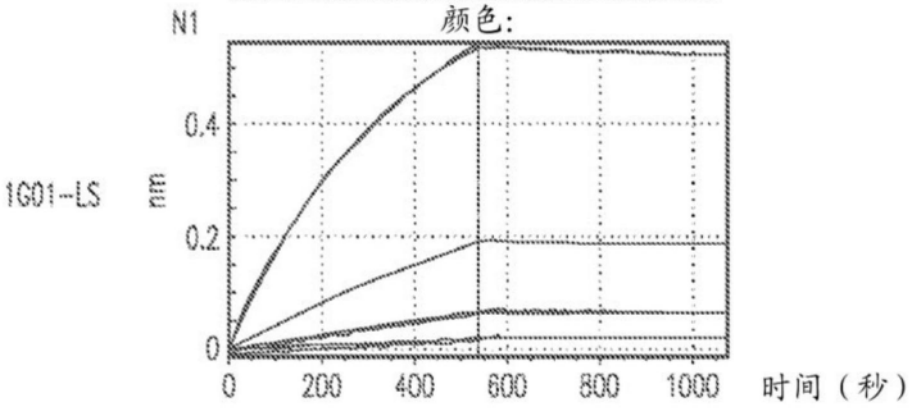
图3C



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
<1.0E-12	3.95E+04	<1.0E-07



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
1.64E-11	2.05E+05	3.36E-06



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
8.68E-10	5.51E+04	4.79E-05

图4A

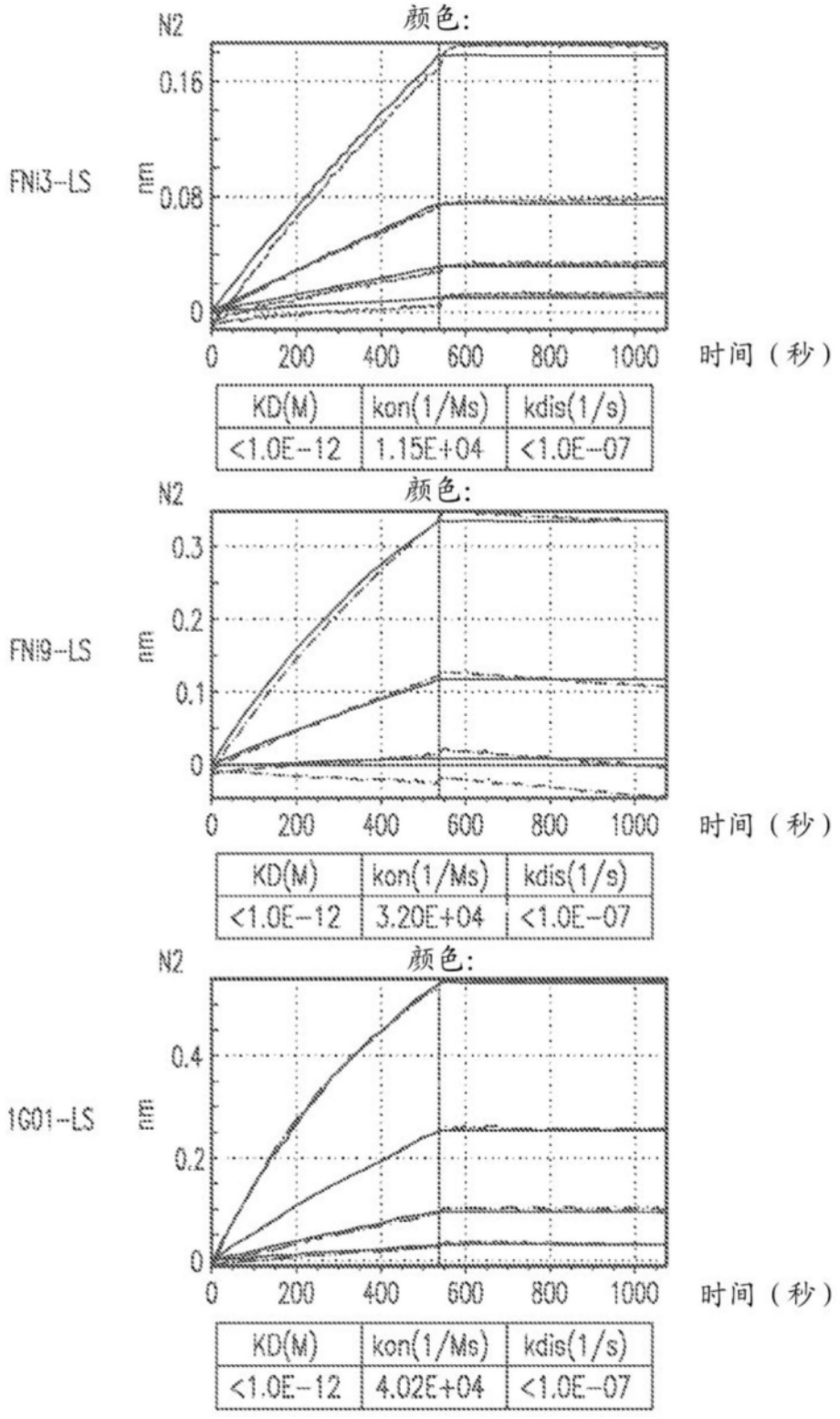
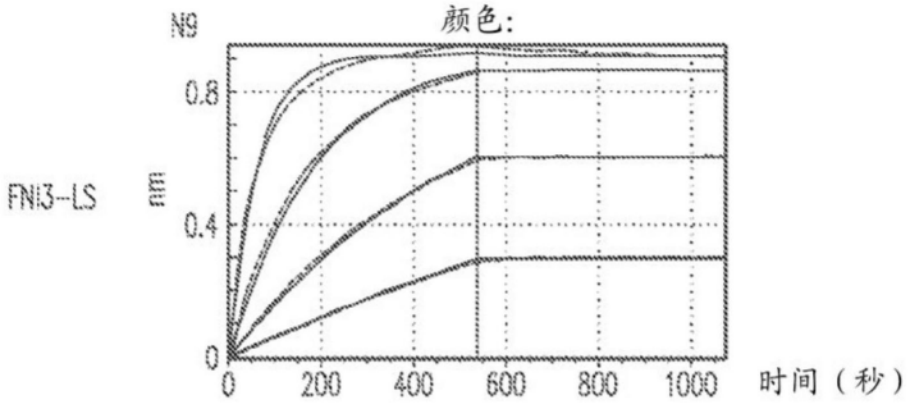
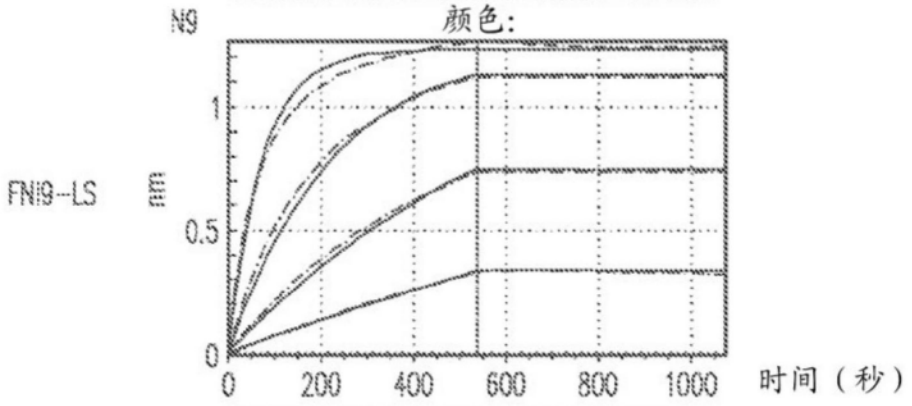

FN13-LS
N2
颜色:
nm
0.16
0.08
0
0
200
400
600
800
1000
时间（秒）
KD(M) | kon(1/Ms) | kdis(1/s)
<1.0E-12 | 1.15E+04 | <1.0E-07
FN19-LS
N2
颜色:
nm
0.3
0.2
0.1
0
0
200
400
600
800
1000
时间（秒）
KD(M) | kon(1/Ms) | kdis(1/s)
<1.0E-12 | 3.20E+04 | <1.0E-07
1G01-LS
N2
颜色:
nm
0.4
0.2
0
0
200
400
600
800
1000
时间（秒）
KD(M) | kon(1/Ms) | kdis(1/s)
<1.0E-12 | 4.02E+04 | <1.0E-07

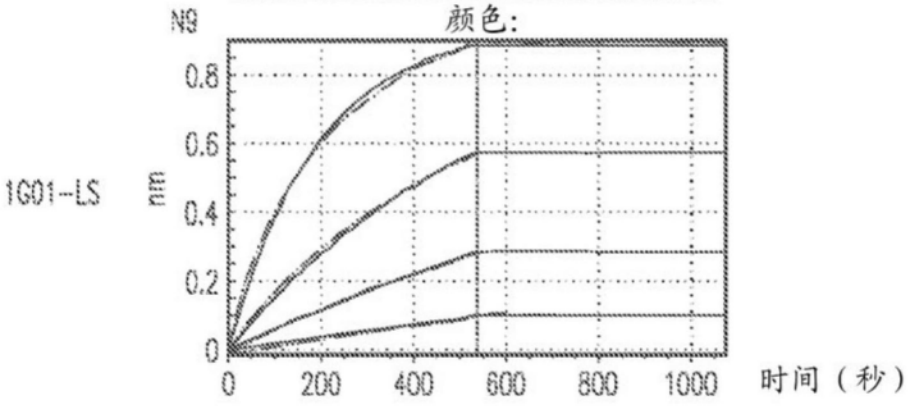
图4B



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
2.86E-12	3.30E+05	9.45E-07



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
<1.0E-12	2.78E+05	<1.0E-07



KD(M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
<1.0E-12	1.06E+05	<1.0E-07

图4C

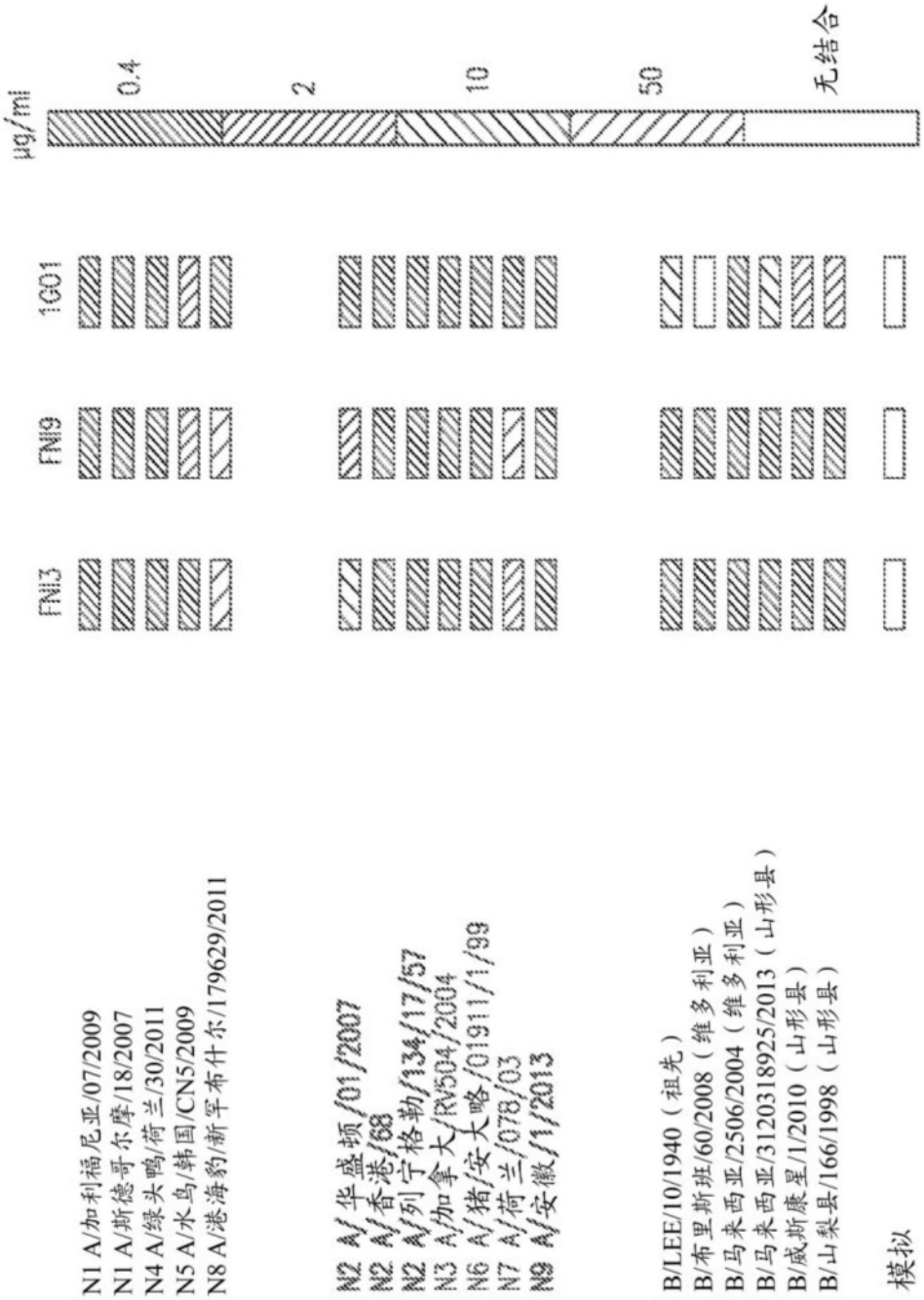

μg/ml
0.4
2
10
50
无结合
1G01
FN19
FN13
第1组
N1 A/加利福尼亚/07/2009
N1 A/斯德哥尔摩/18/2007
N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011
N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009
N8 A/港海豹/新罕布什尔/179629/2011
第2组
N2 A/华盛顿/01/2007
N2 A/香港/68
N2 A/列宁格勒/134/17/57
N3 A/加拿大/RV504/2004
N6 A/猪/安大略/01911/1/99
N7 A/荷兰/078/03
N9 A/安徽/1/2013
IBV NA
B/LEE/10/1940（祖先）
B/布里斯班/60/2008（维多利亚）
B/马来西亚/2506/2004（维多利亚）
B/马来西亚/3120318925/2013（山形县）
B/威斯康星/1/2010（山形县）
B/山梨县/166/1998（山形县）
模拟

图5

	245		247		
A/南澳大利亚/34/2019	G	N	A	T	G
A/瑞士/8060/2017	G	N	A	T	G
A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016	G	N	A	T	G
A/瑞士/9715293/2013	G	S	A	S	G

图6A

		FNI3 NAI (μg/ml)	FNI9 NAI (μg/ml)
H3N2	A/瑞士/8060/2017	9.49	3.84
	A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016	18.39	2.21
	A/瑞士/9715293/2013	1.63	1.21

图6B

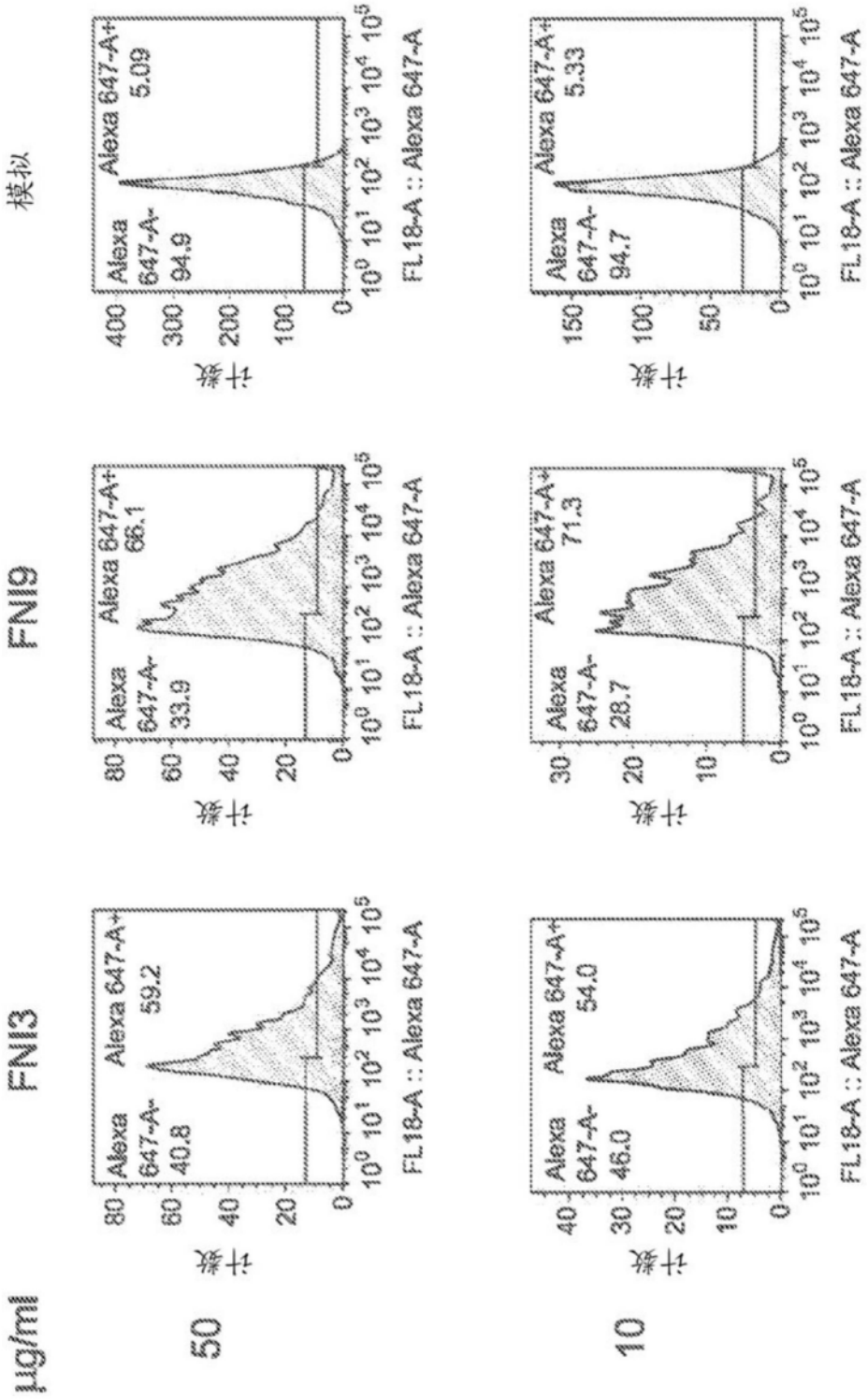

μg/ml
FNI3
FNI9
模拟
50
10
计数
FL18-A :: Alexa 647-A
Alexa 647-A+
Alexa 647-A-
59.2
40.8
66.1
33.9
5.09
94.9
54.0
46.0
71.3
28.7
5.33
94.7
N2 A/南澳大利亚/34/2019 (245Gly+)

图6C

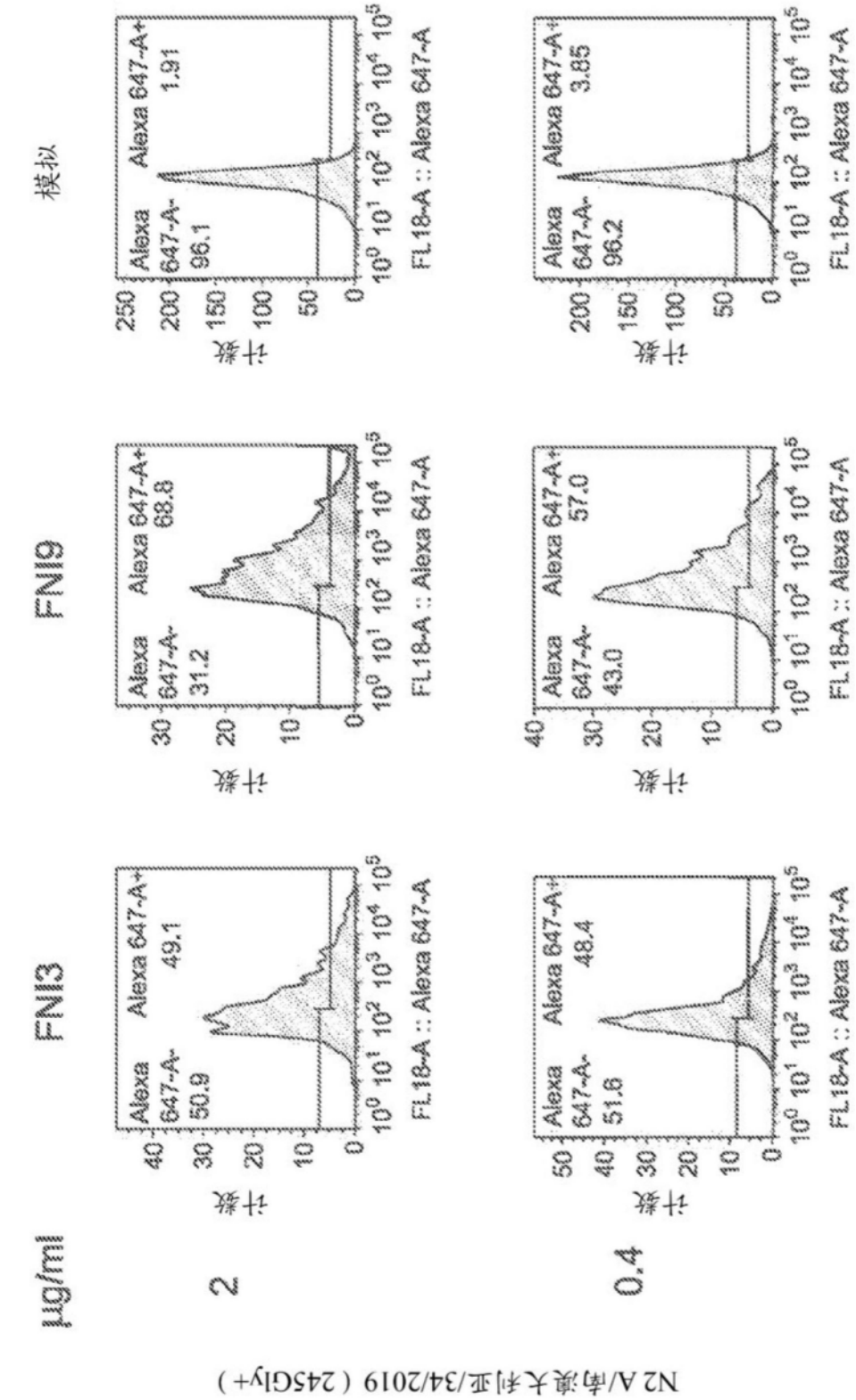

μg/ml
FNI3
FNI9
模拟
2
0.4
计数
FL18-A :: Alexa 647-A
Alexa 647-A+
Alexa 647-A-
49.1
50.9
68.8
31.2
57.0
43.0
48.4
51.6
1.91
96.1
3.85
96.2
N2 A/南澳大利亚/34/2019 (245Gly+)

图6C(续)

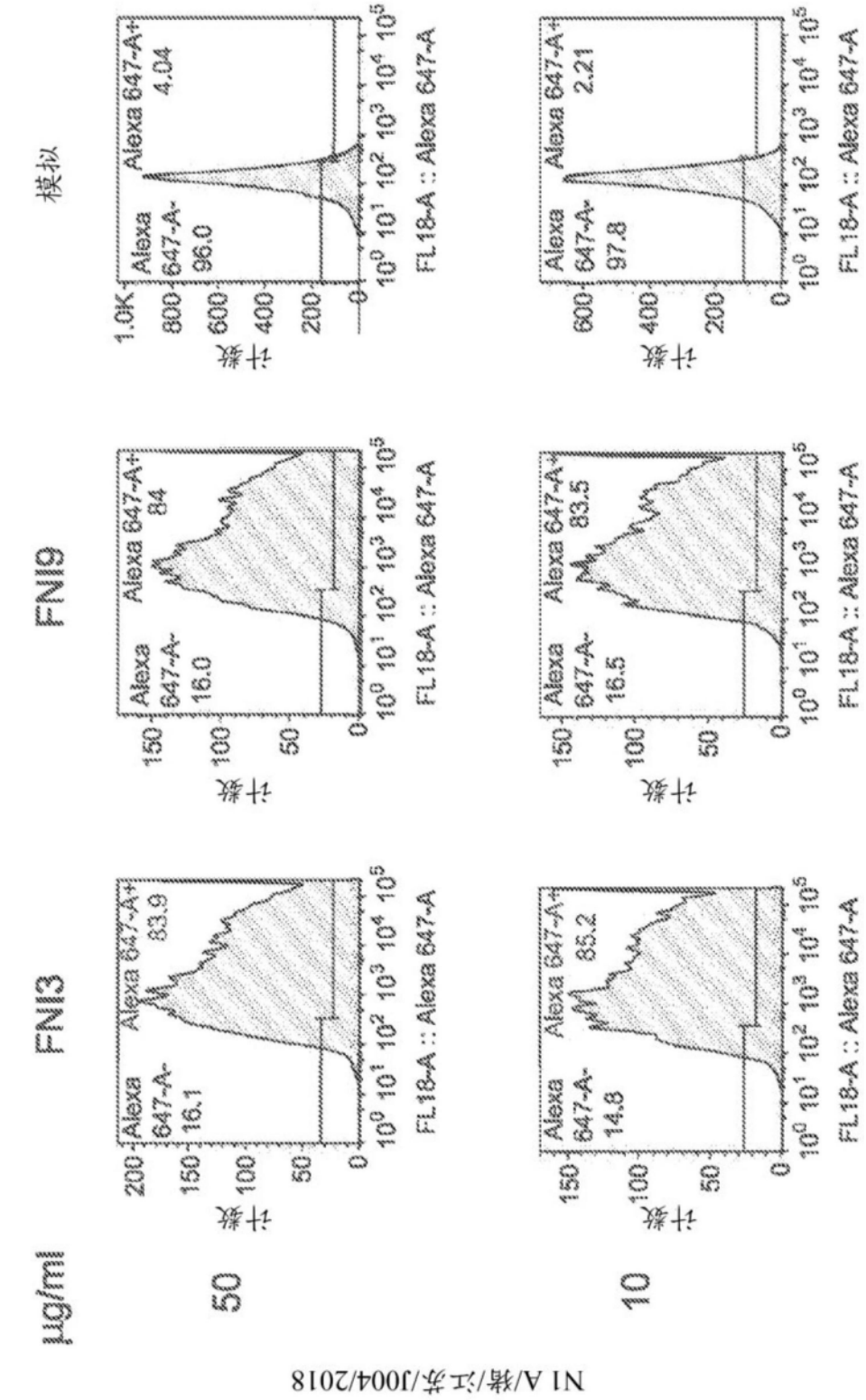

模拟
FNI9
FNI3
μg/ml
50
10
计数
Alexa 647-A+
Alexa 647-A-
FL18-A :: Alexa 647-A
4.04
96.0
2.21
97.8
84
16.0
83.5
16.5
83.9
16.1
85.2
14.8
N1 A/猪/江苏/J004/2018

图7

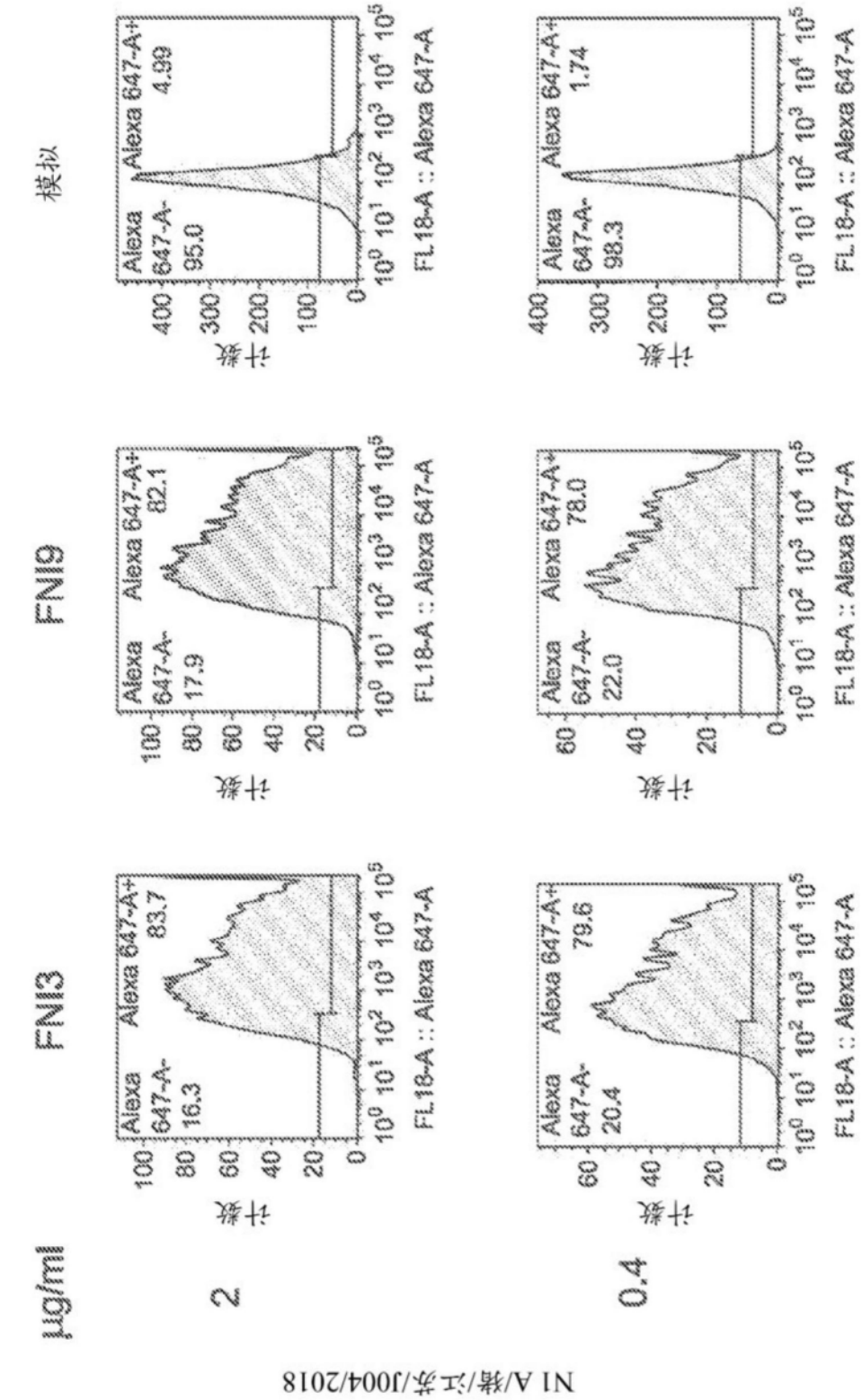

μg/ml
FNI3
FNI9
模拟
2
0.4
计数
FL18-A :: Alexa 647-A
Alexa 647-A+
Alexa 647-A-
83.7
16.3
82.1
17.9
78.0
22.0
79.6
20.4
4.99
95.0
1.74
98.3
N1 A/猪/江苏/J004/2018

图7(续)

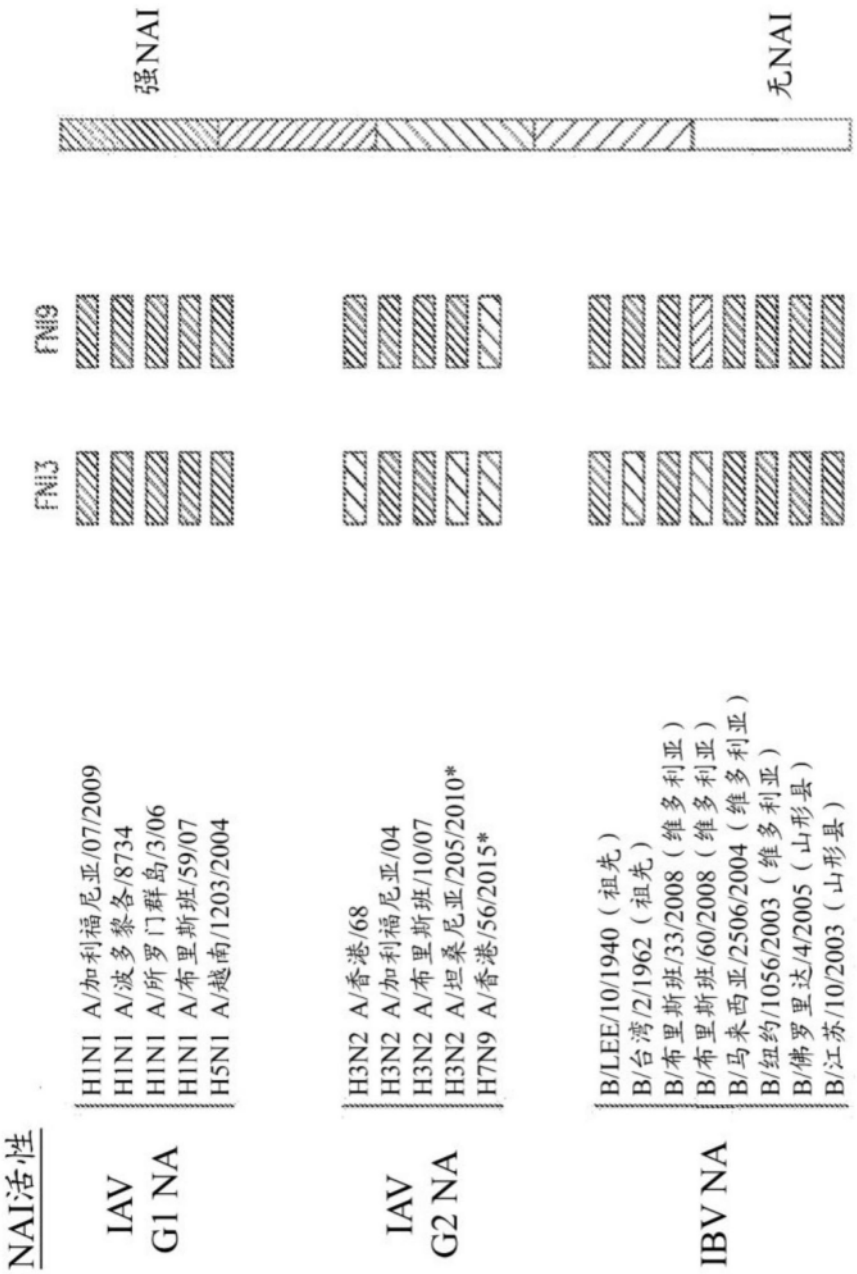

强NAI
无NAI
FN8
FN3
NAI活性
IAV G1 NA
H1N1 A/加利福尼亚/07/2009
H1N1 A/波多黎各/8734
H1N1 A/所罗门群岛/3/06
H1N1 A/布里斯班/59/07
H5N1 A/越南/1203/2004
IAV G2 NA
H3N2 A/香港/68
H3N2 A/加利福尼亚/04
H3N2 A/布里斯班/10/07
H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010*
H7N9 A/香港/56/2015*
IBV NA
B/LEE/10/1940（祖先）
B/台湾/2/1962（祖先）
B/布里斯班/33/2008（维多利亚）
B/布里斯班/60/2008（维多利亚）
B/马来西亚/2506/2004（维多利亚）
B/纽约/1056/2003（维多利亚）
B/佛罗里达/4/2005（山形县）
B/江苏/10/2003（山形县）

图8

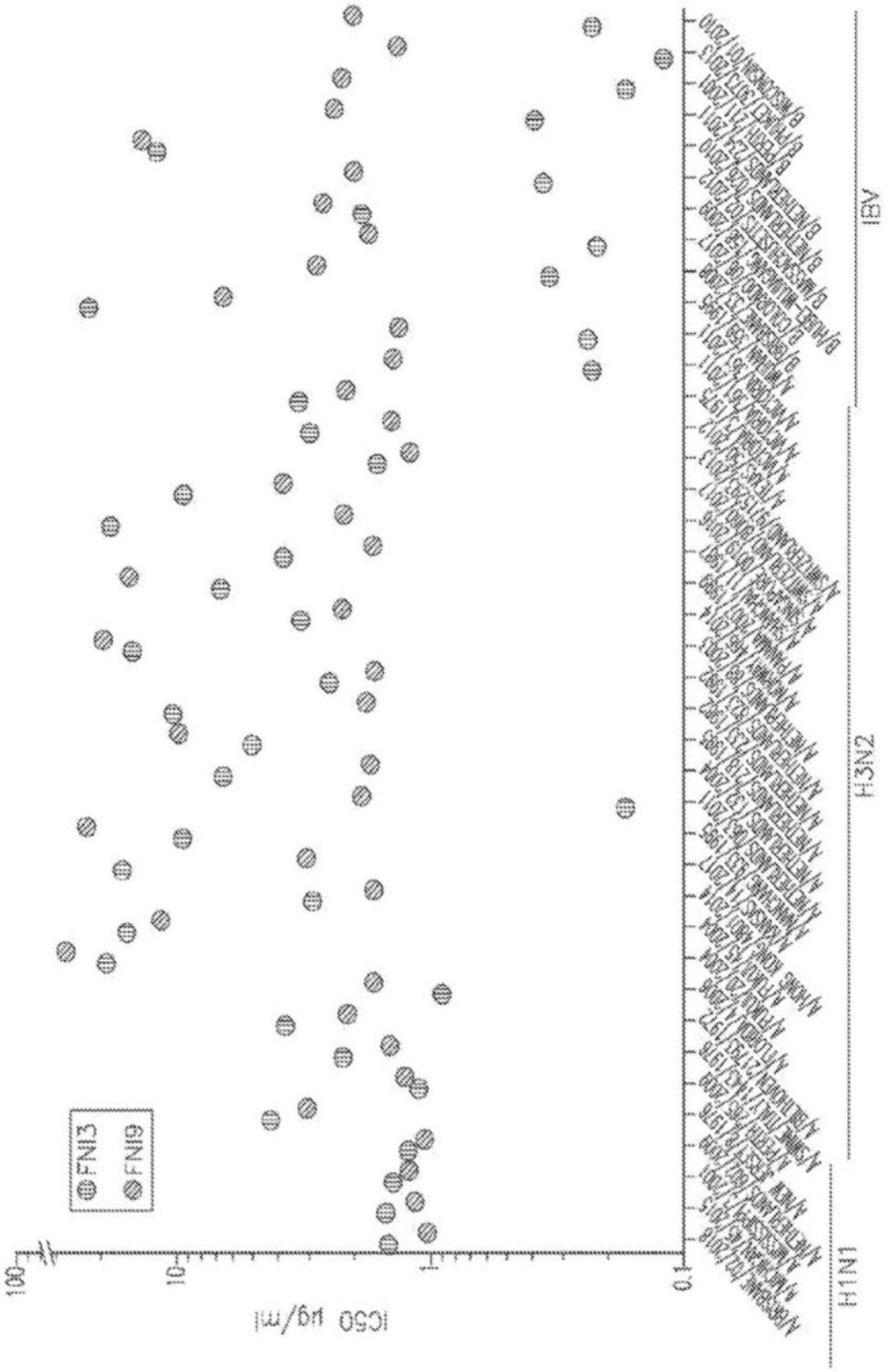


图9

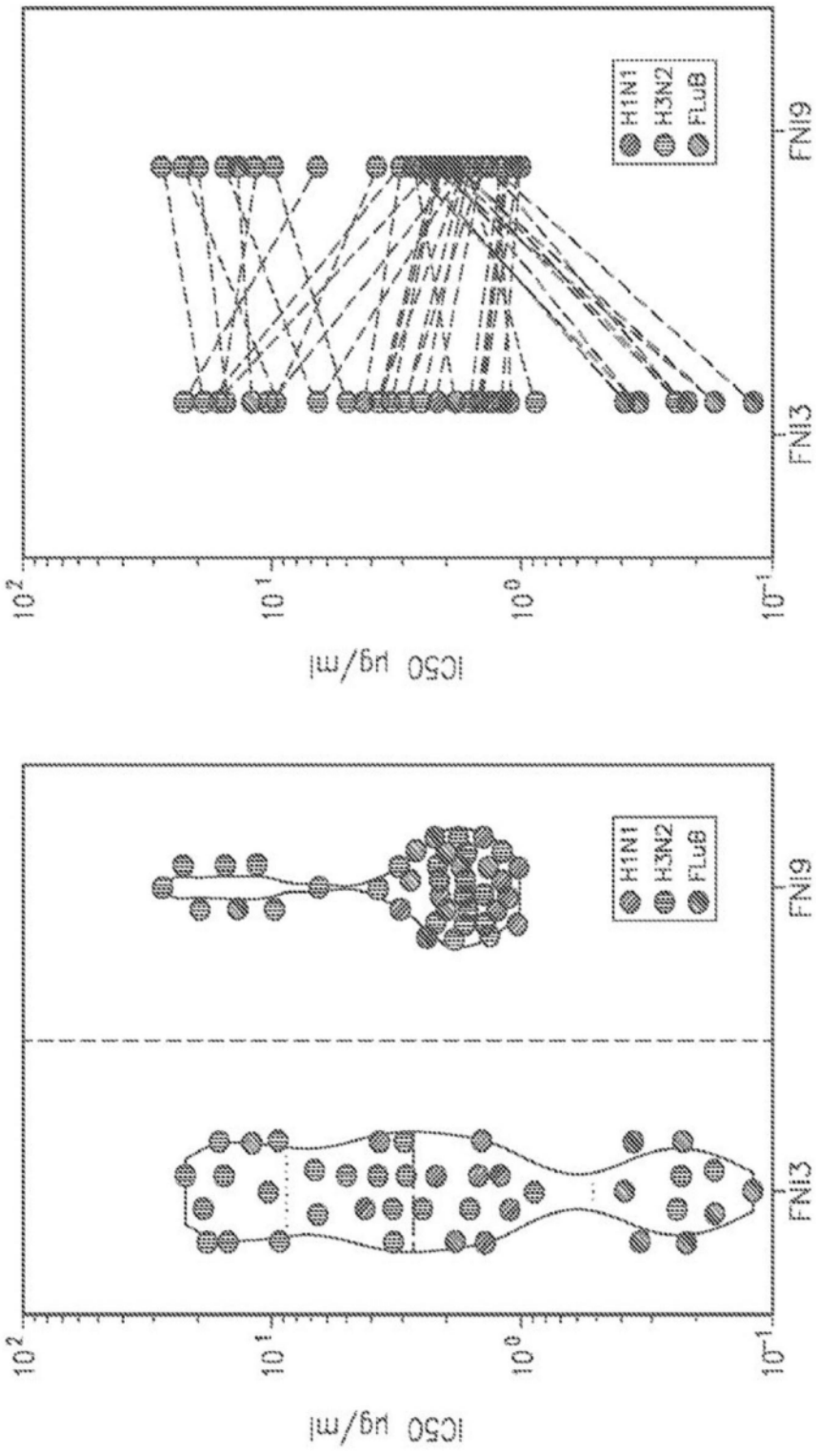

H1N1
H3N2
FLuB
FN9
FN3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
IC50 μg/ml
H1N1
H3N2
FLuB
FN9
FN3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
IC50 μg/ml

图10A

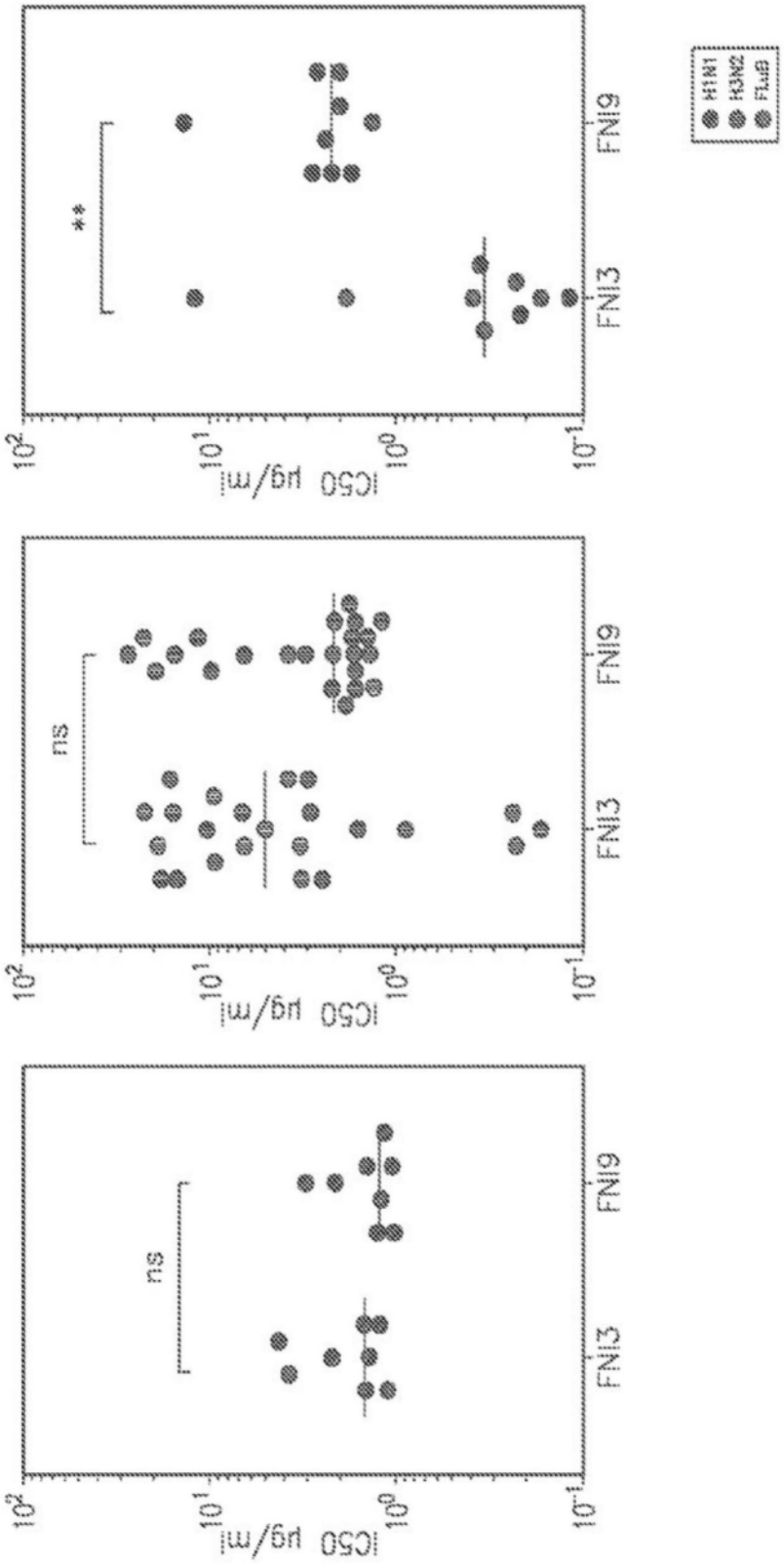


图10B

A, H1N1	A/布里斯班/02/2018
A, H1N1	A/密歇根/45/2015
A, H1N1	A/密西西比/3/2001
A, H1N1	A/荷兰/602/2009
A, H1N1	A/新泽西/8/1976
A, H3N2	A/佛罗里达/4/2006
A, H3N2	A/荷兰/823/1992
A, H3N2	A/挪威/466/2014
A, H3N2	A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016
A, H3N2	A/瑞士/8060/2017
A, H3N2	A/德克萨斯/50/2012
A, H3N2	A/维多利亚/361/2011
B	B/布里斯班/33/2008
B	B/科罗拉多/06/2017
B	B/湖北伍家岗/158/2009
B	B/马萨诸塞/02/2012
B	B/荷兰/234/2011
B	B/帕斯/211/2001
B	B/普吉岛/3073/2013
B	B/威斯康星/01/2010

*A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016和
A/瑞士/8060/2017在位置245中存在GLY位点

图11A

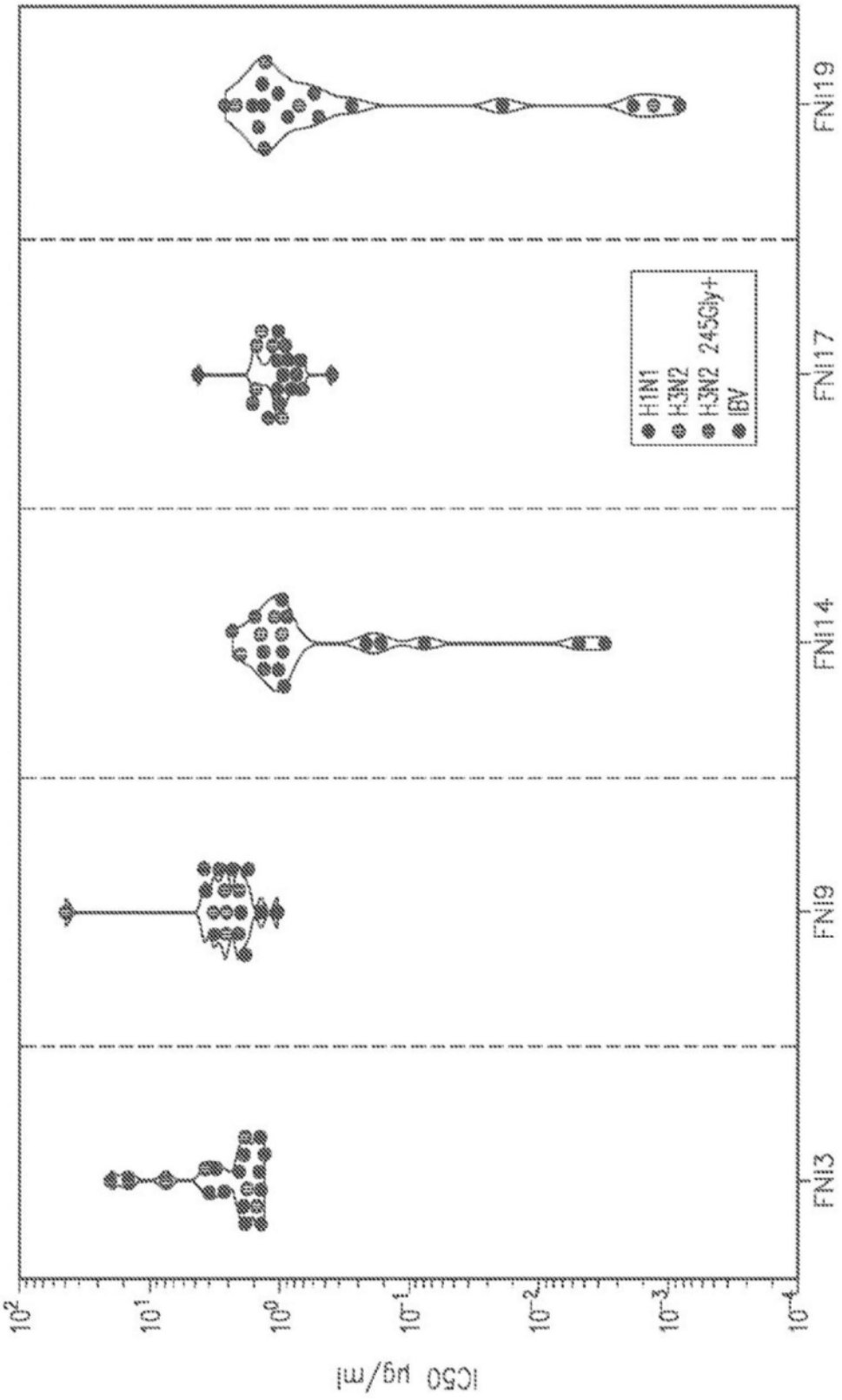

FNI19
FNI17
FNI14
FNI9
FNI3
H1N1
H3N2
H3N2 245Gly+
IBV
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
IC50 μg/ml

图11B

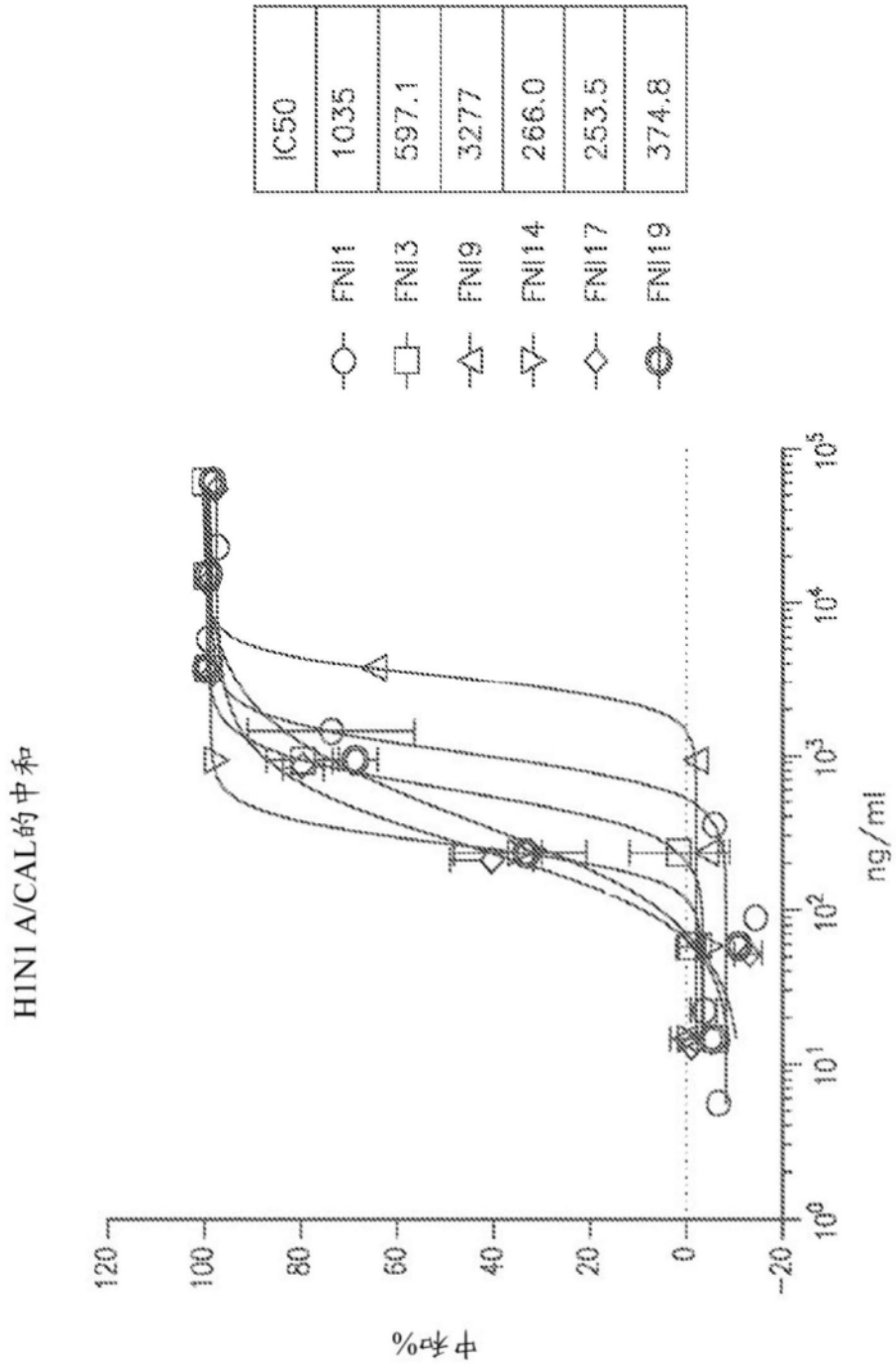

IC50
1035
597.1
3277
266.0
253.5
374.8
FN1
FN3
FN9
FN14
FN17
FN19
H1N1 A/CAL的中和
%中和
ng/ml
120
100
80
60
40
20
0
-20
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5

图12A

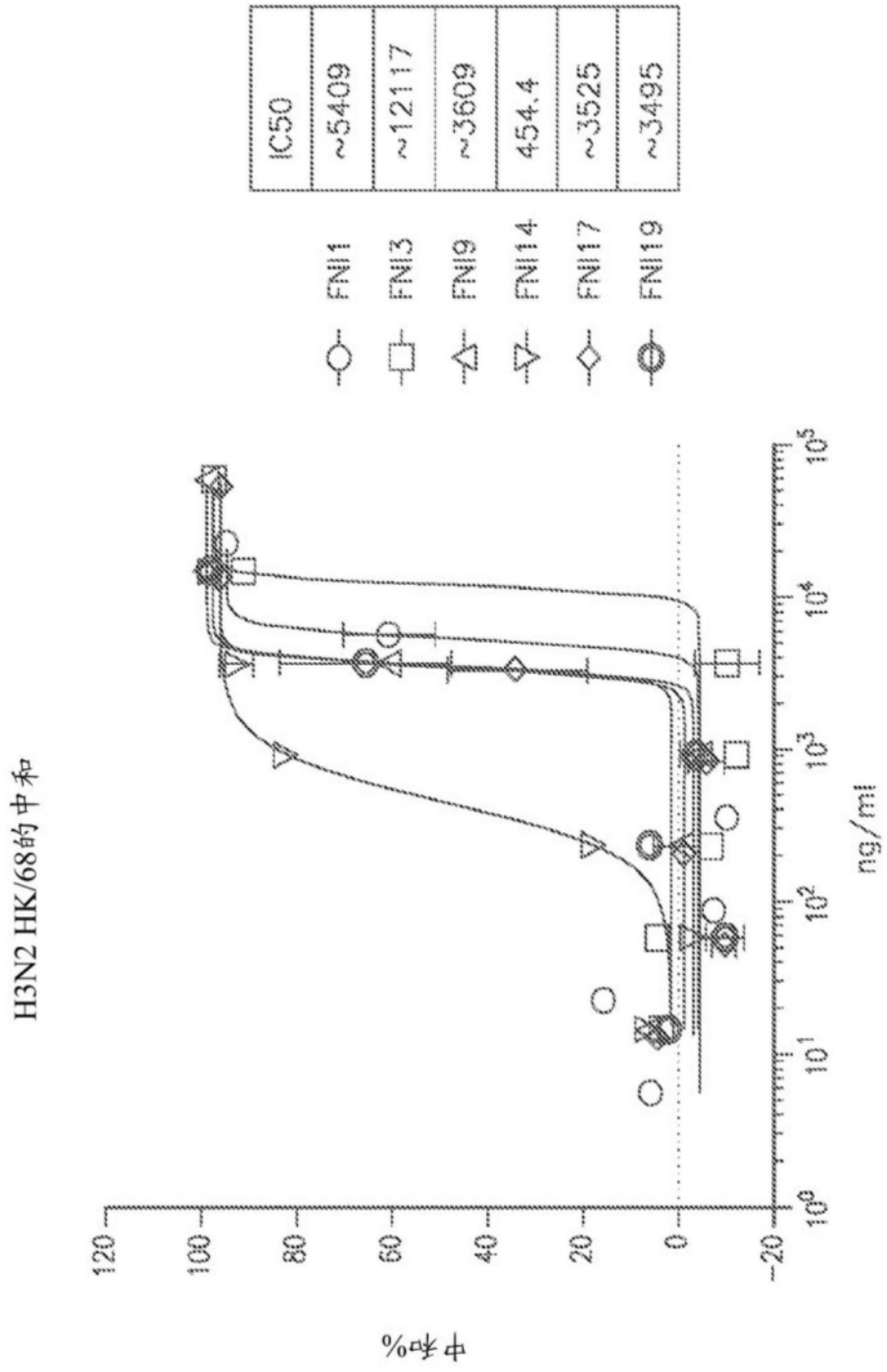

IC50
~5409
~12117
~3609
454.4
~3525
~3495
FN1
FN3
FN9
FN14
FN17
FN19
H3N2 HK/68的中和
中和%
ng/ml
120
100
80
60
40
20
0
-20
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5

图12B

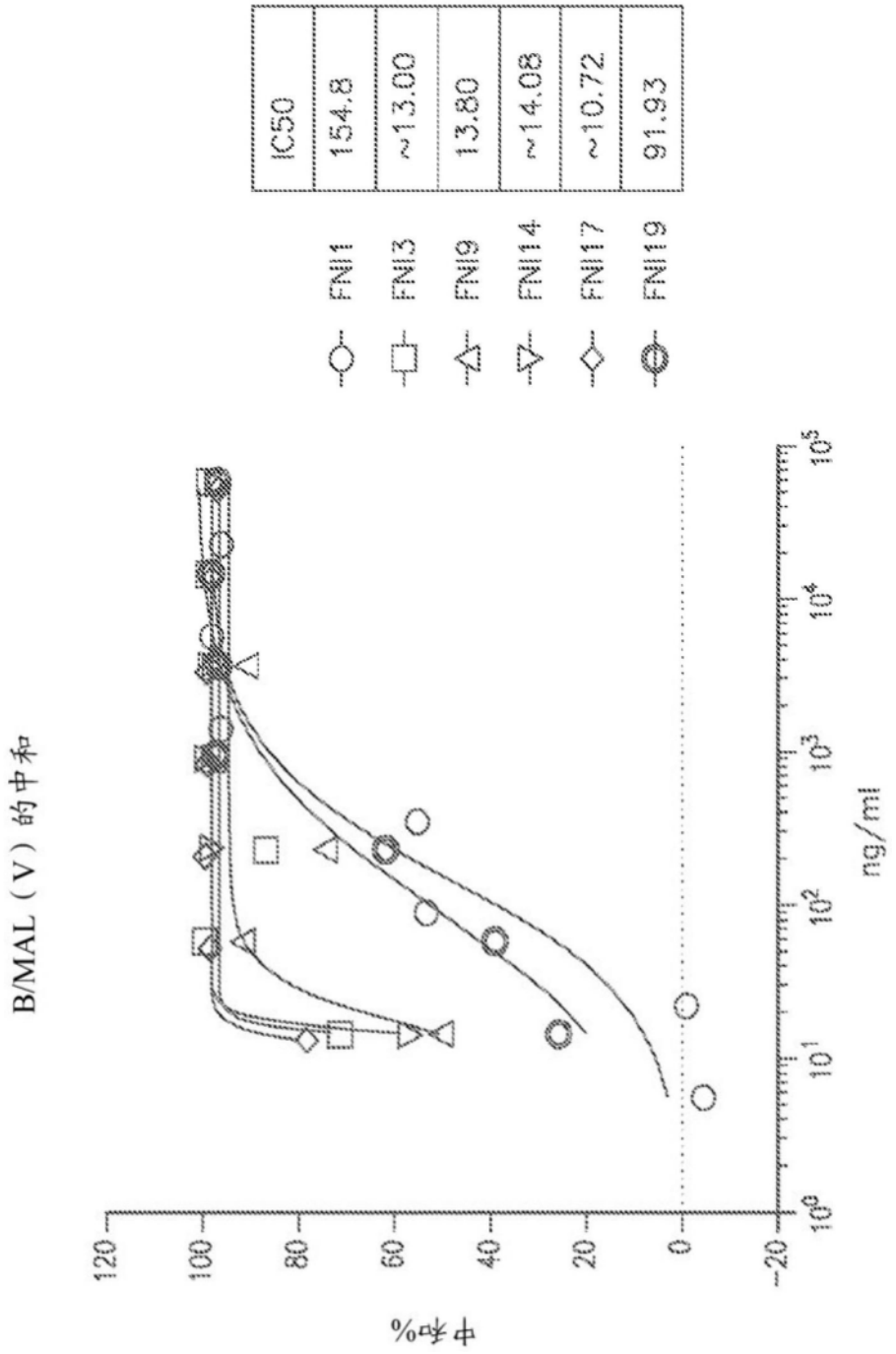

IC50
154.8
~13.00
13.80
~14.08
~10.72
91.93
FN1
FN3
FN9
FN14
FN17
FN19
B/MAL（V）的中和
中和%
ng/ml

图12C

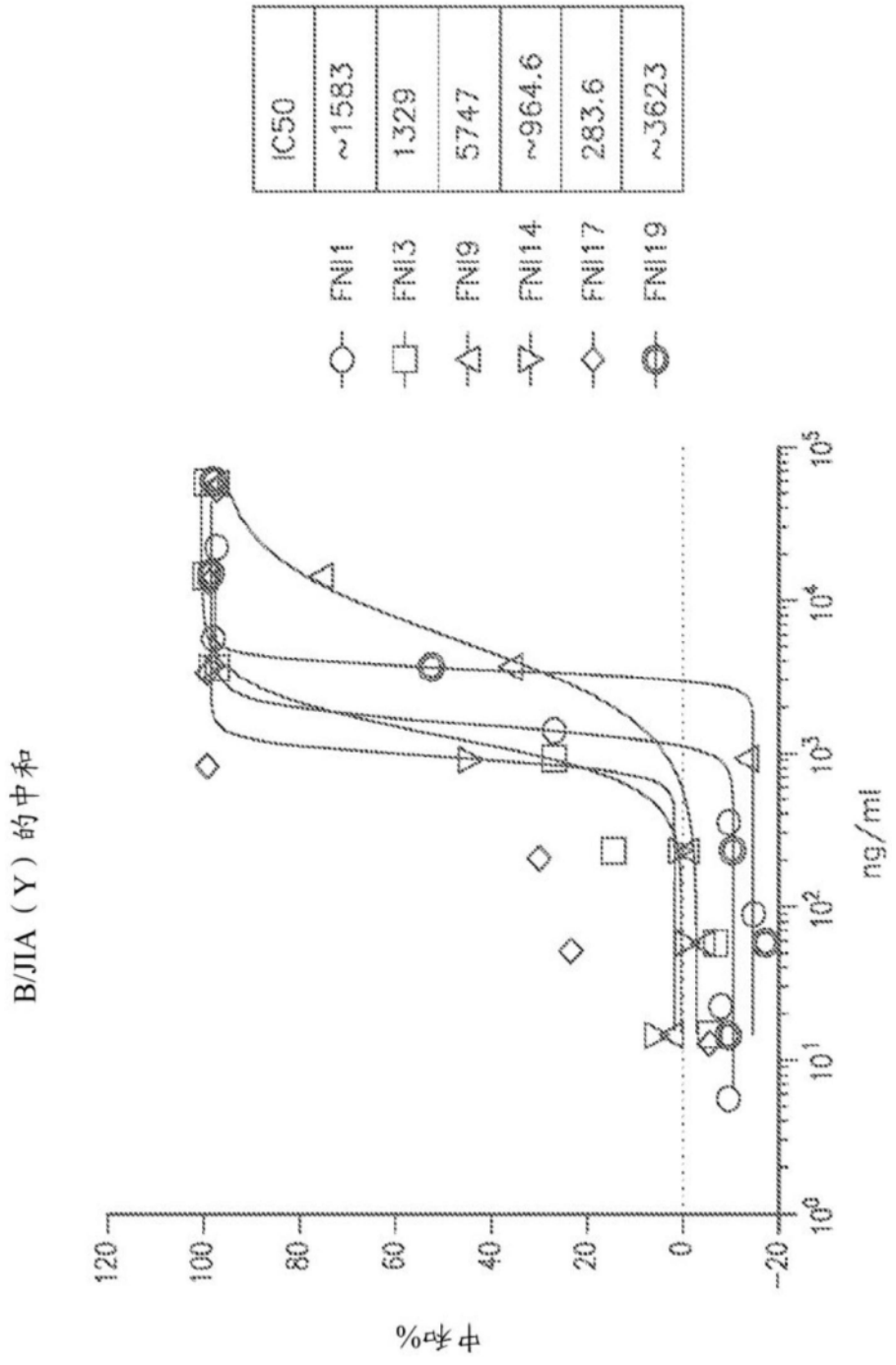

IC50
~1583
1329
5747
~964.6
283.6
~3623
FN1
FN3
FN9
FN14
FN17
FN19
B/JIA（Y）的中和
中和%
ng/ml
120
100
80
60
40
20
0
-20
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5

图12D

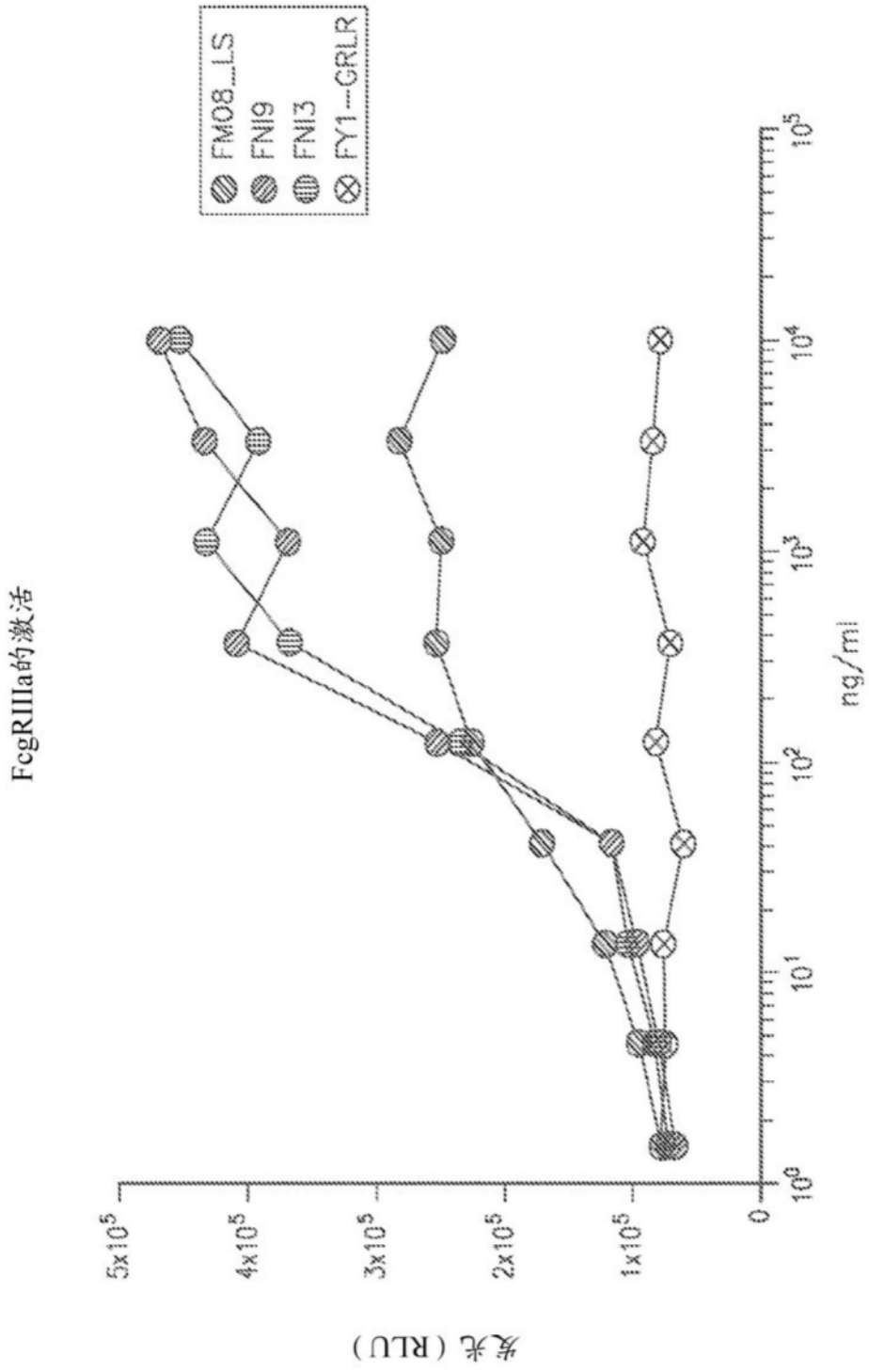

FM08_LS
FN19
FN13
FY1--GRLR
FcgRIIIa的激活
发光（RLU）
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
ng/ml

图13A

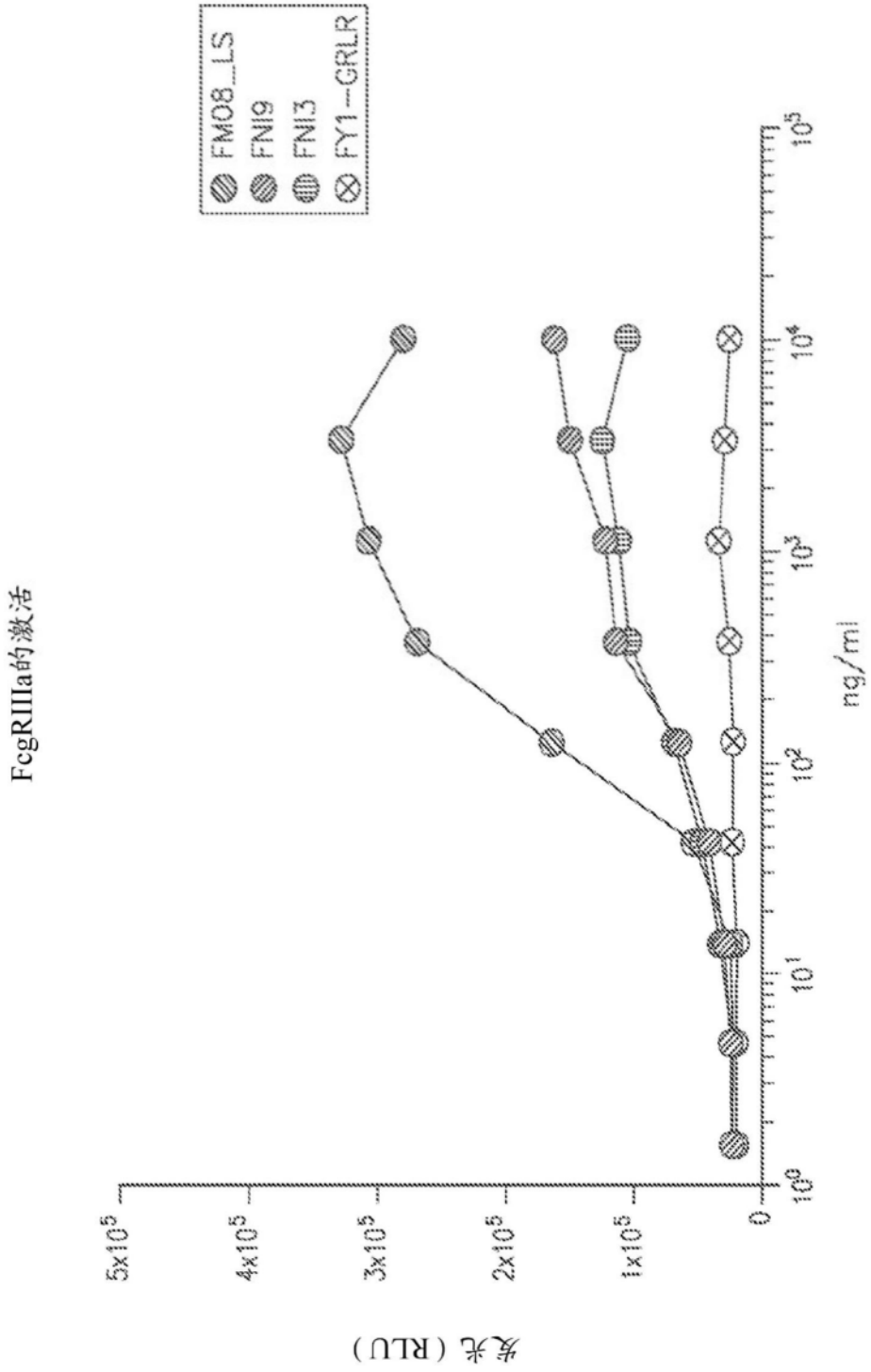

FM08_LS
FN19
FN13
FY1-GRLR
FcgRIIIa的激活
发光（RLU）
5x10⁵
4x10⁵
3x10⁵
2x10⁵
1x10⁵
0
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
ng/ml

图13B

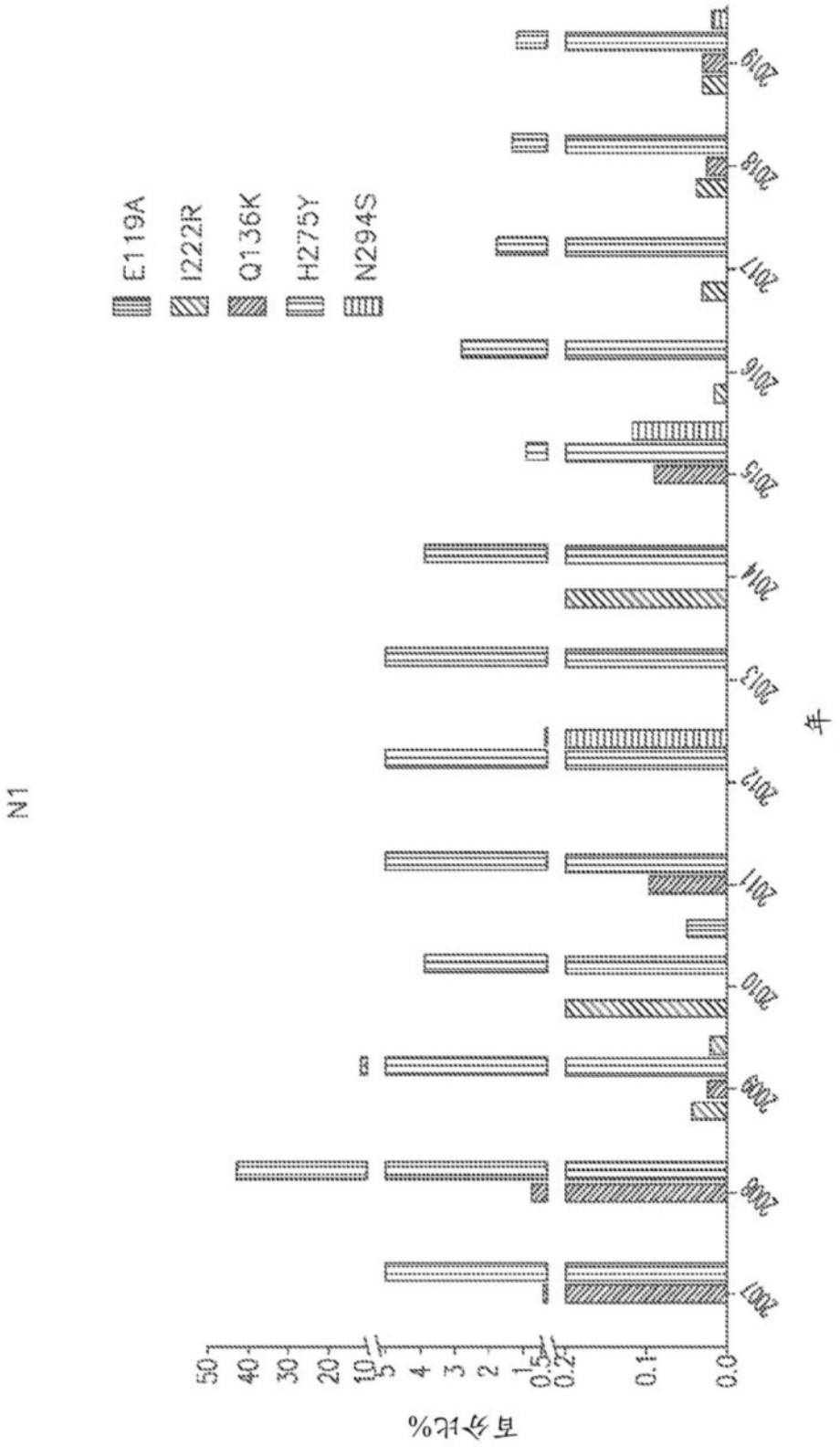

N1
E119A
I222R
Q136K
H275Y
N294S
2019
2018
2017
2016
2015
2014
2013
2012
2011
2010
2009
2008
2007
50
40
30
20
10
5
4
3
2
1.5
0.2
0.1
0.0
百分比%
年

图14A

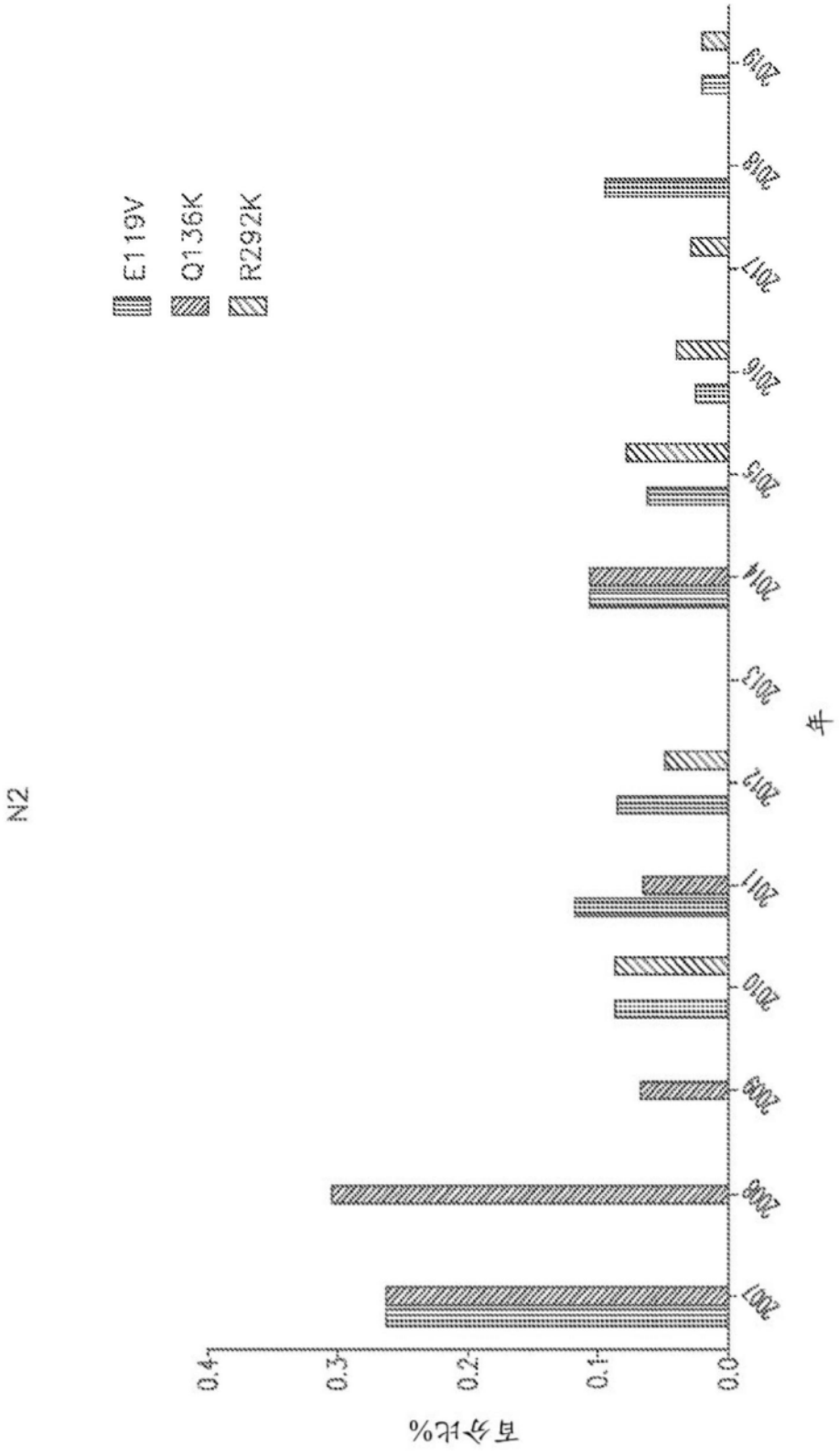

E119V
Q136K
R292K
N2
年
百分比%
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
2001
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019

图14B

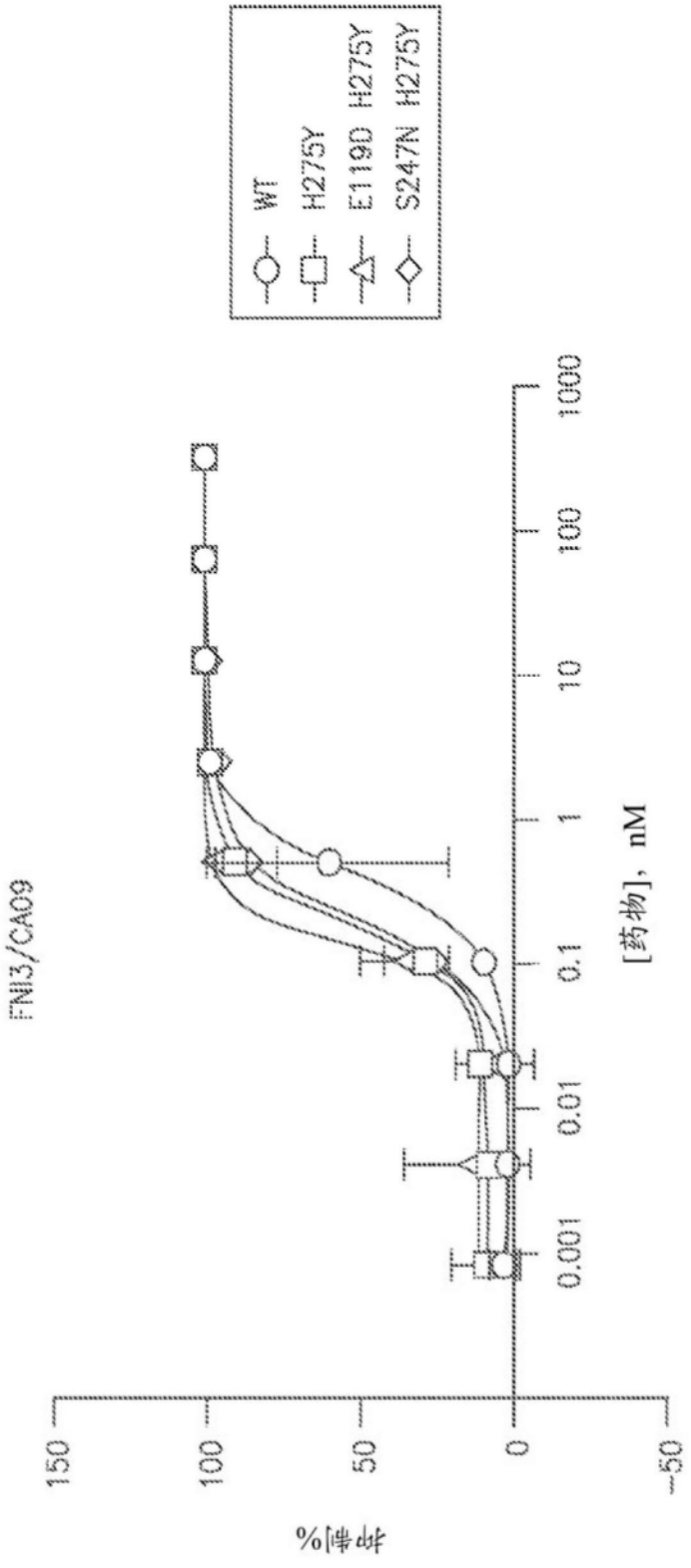

WT
H275Y
E119D H275Y
S247N H275Y
FNI3/CA09
[药物], nM
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
150
100
50
0
-50
抑制%

图15A

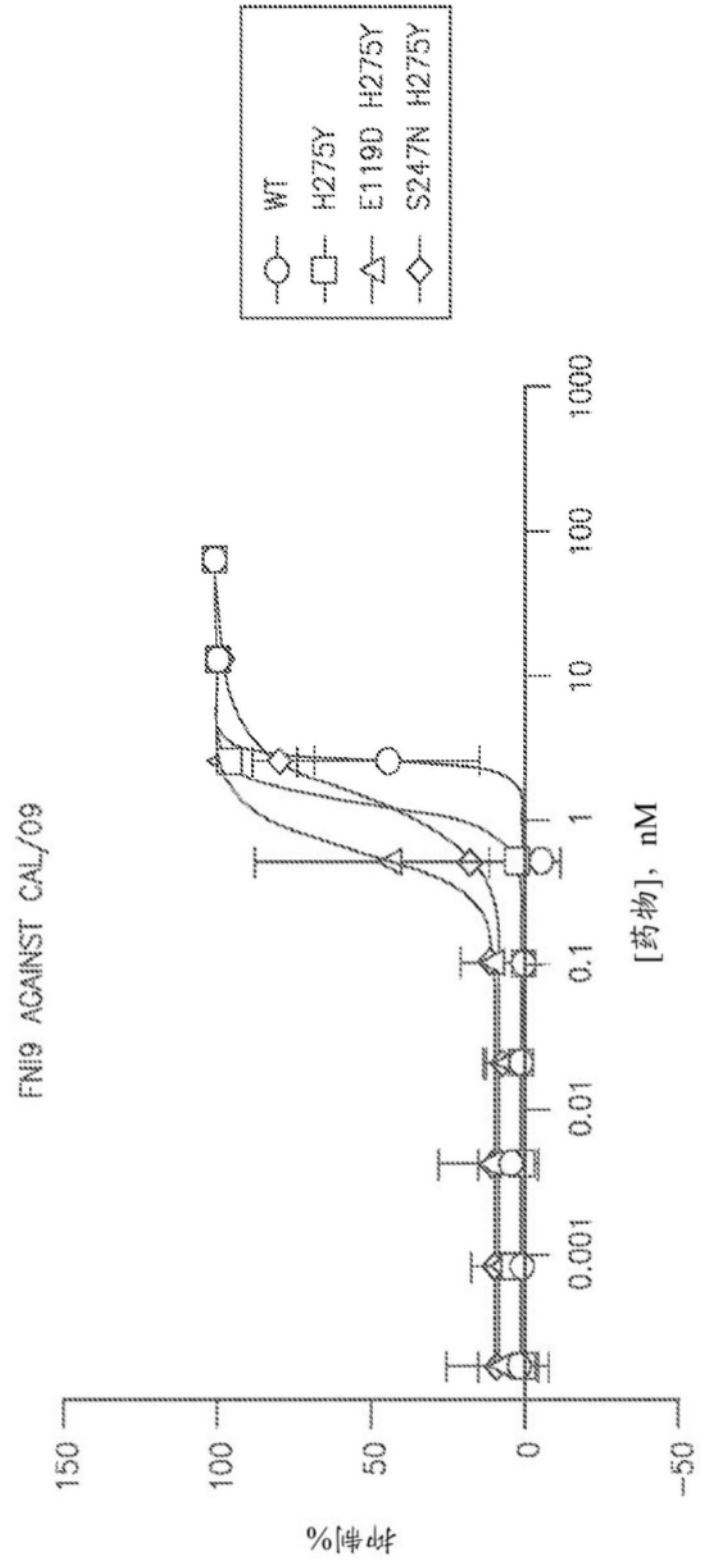

WT
H275Y
E119D H275Y
S247N H275Y
FN19 AGAINST CAL/09
[药物], nM
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
150
100
50
0
-50
抑制%

图15B

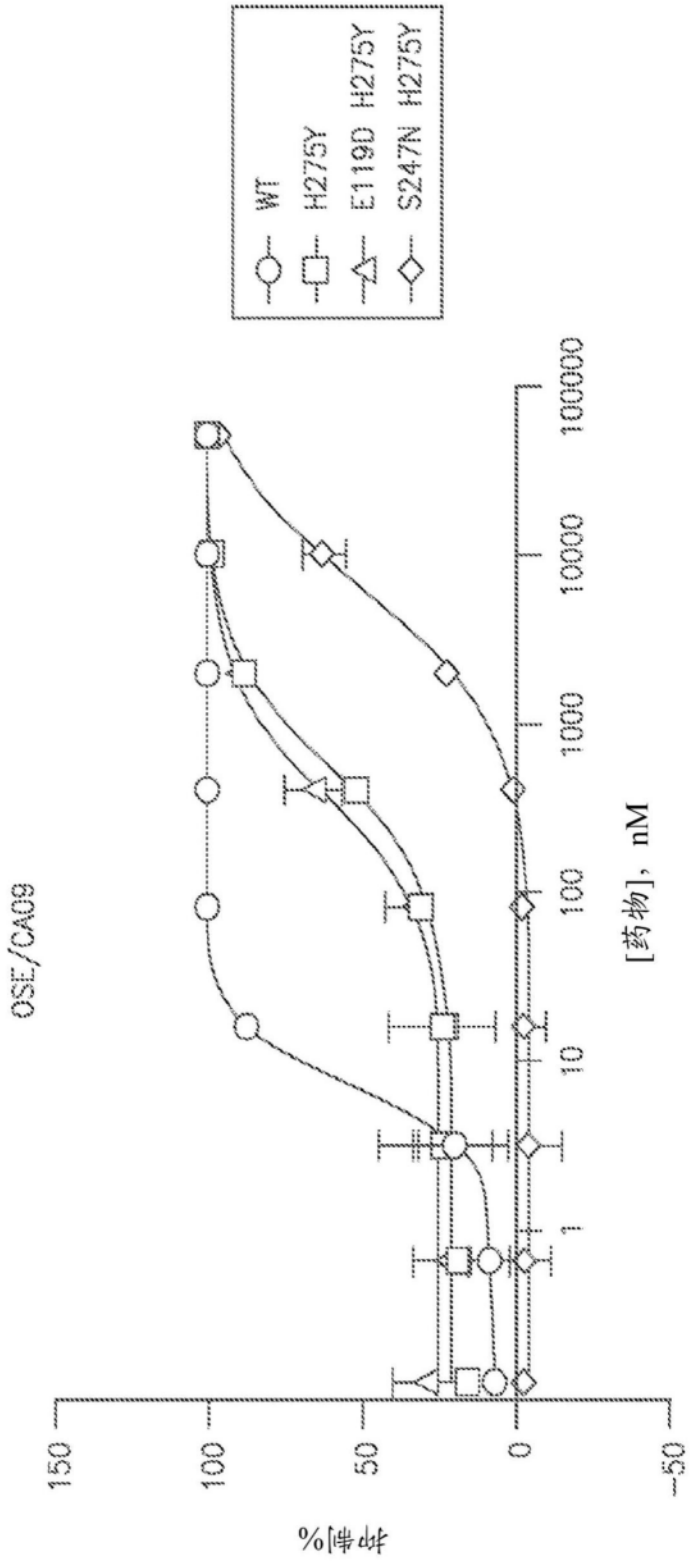

WT
H275Y
E119D H275Y
S247N H275Y
OSE/CA09
[药物]，nM
100000
10000
1000
100
10
1
150
100
50
0
-50
抑制%

图15C

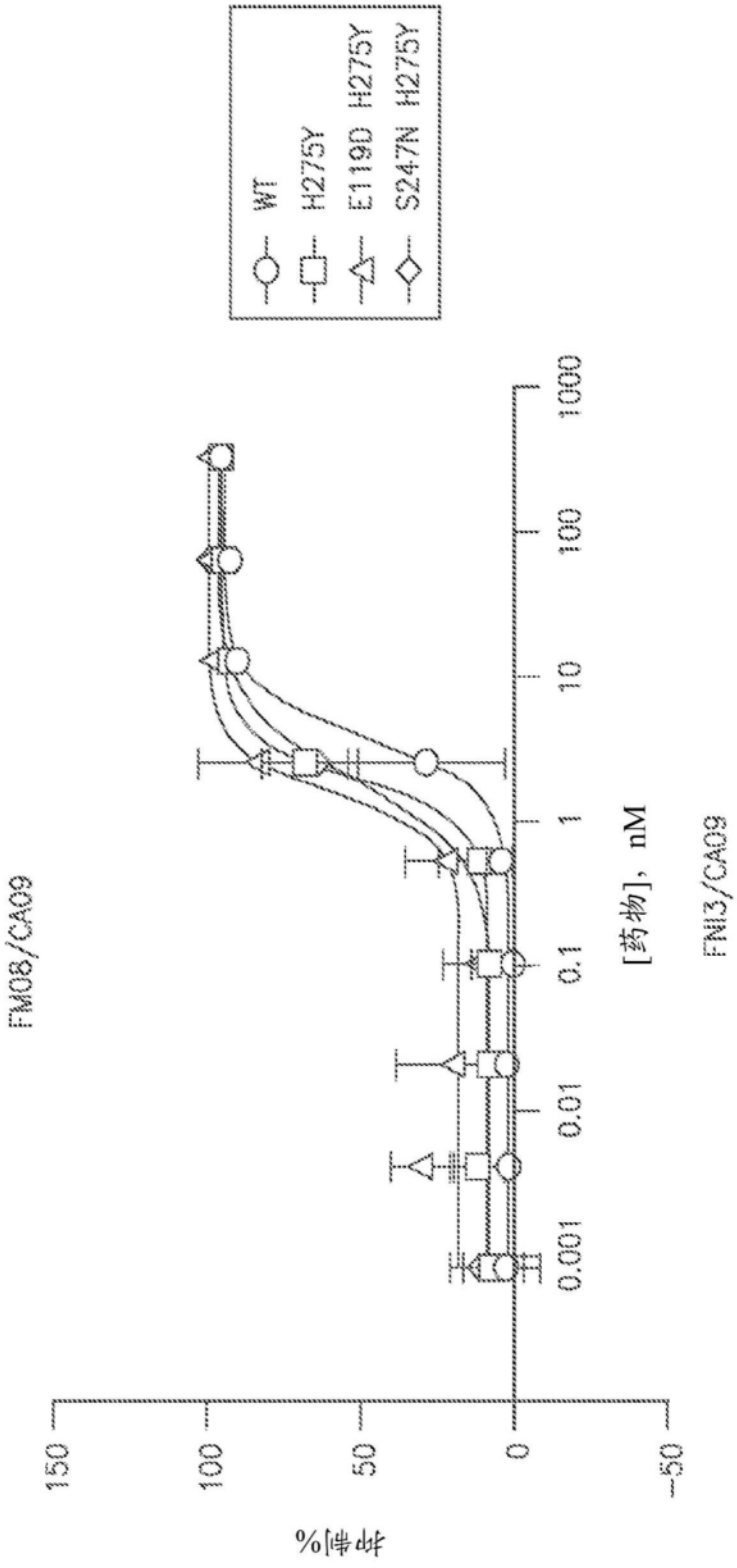

WT
H275Y
E119D H275Y
S247N H275Y
FM08/CA09
FN13/CA09
[药物]，nM
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
150
100
50
0
-50
抑制%

图15D

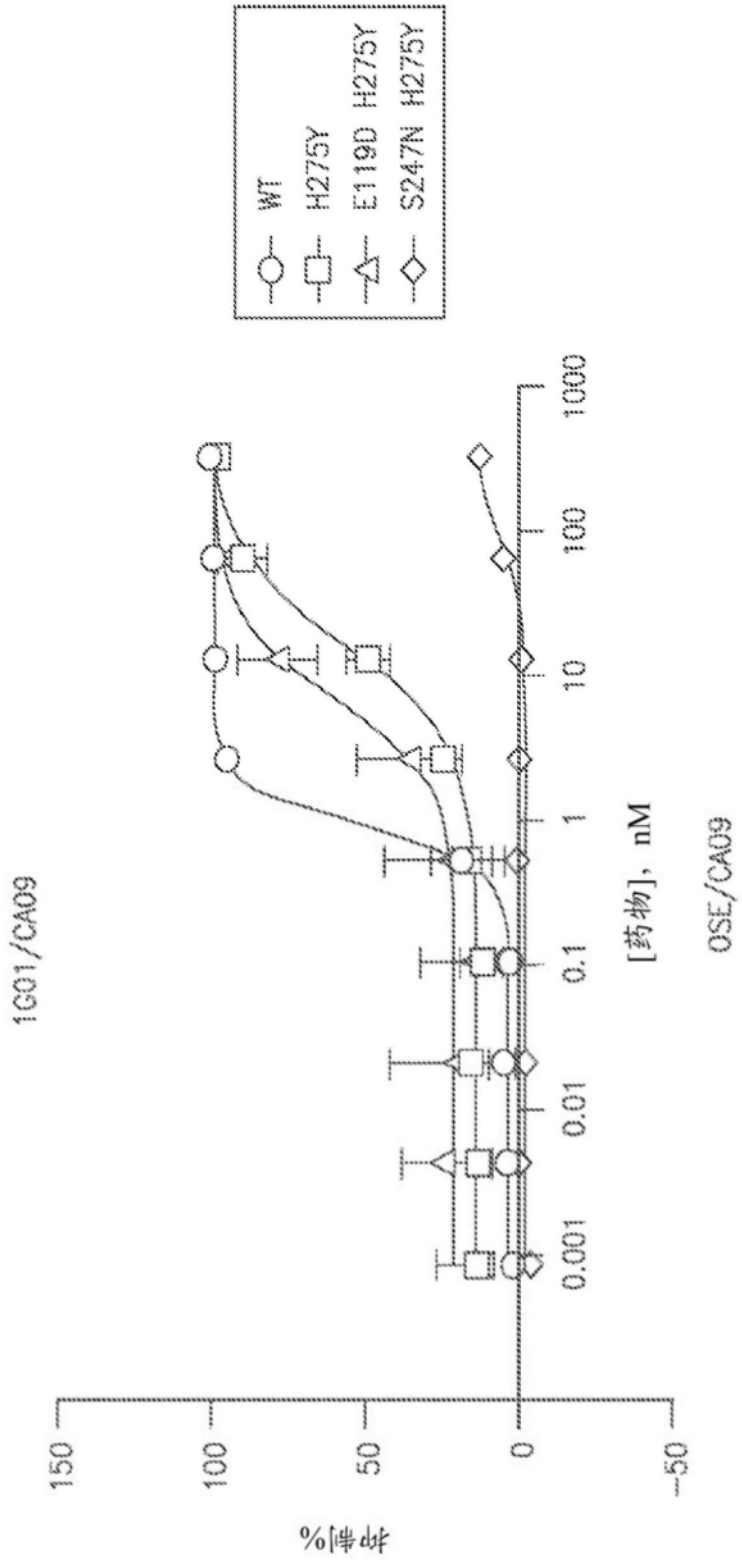

WT
H275Y
E119D H275Y
S247N H275Y
1G01/CA09
OSE/CA09
[药物]，nM
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抑制%
150
100
50
0
-50

图15E

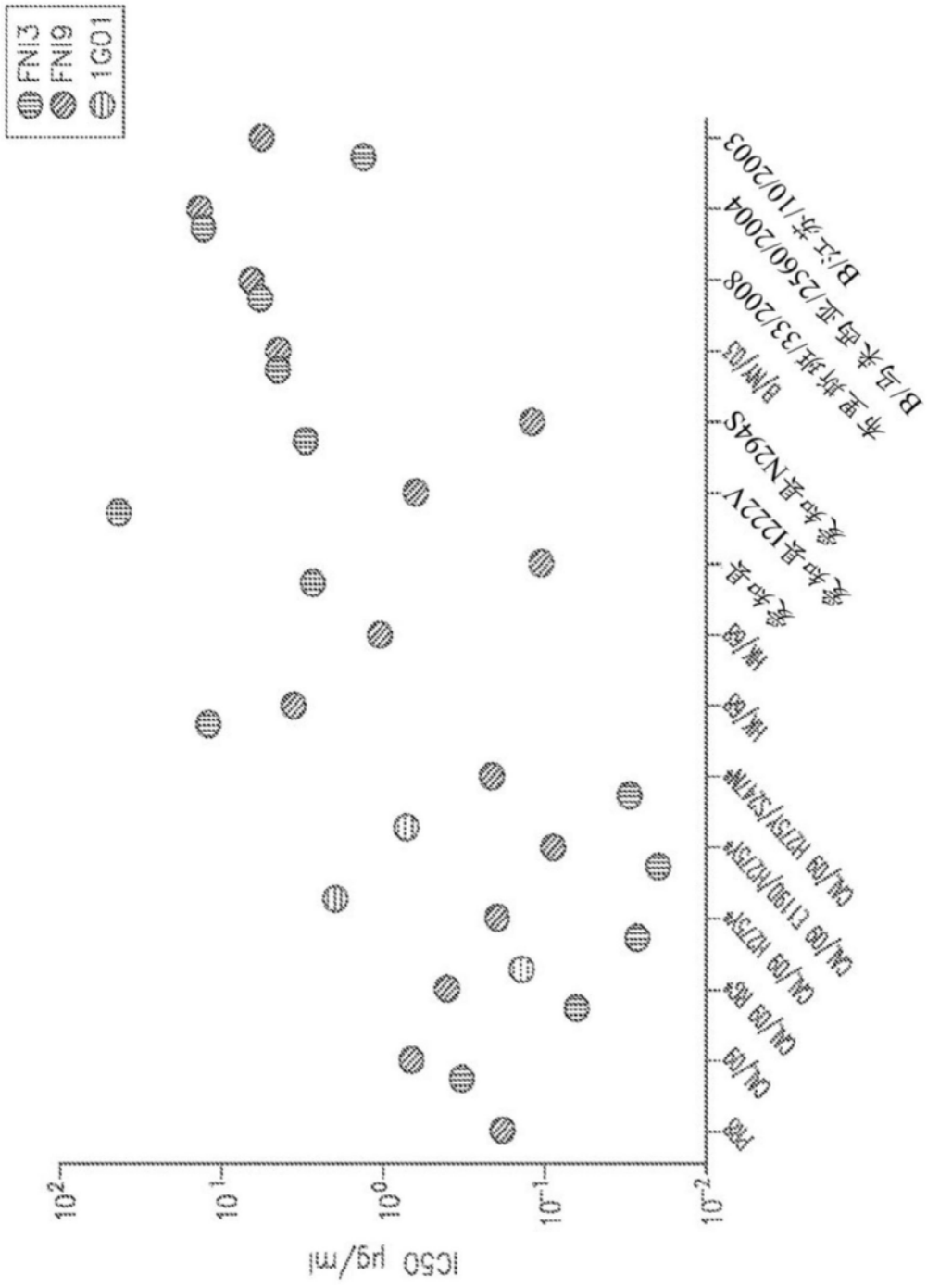

FN13
FN19
1G01
IC50 μg/ml
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
WA1
CAL/09
CAL/09 R5*
CAL/09 H275Y
CAL/09 E119D/H275Y*
CAL/09 H275Y/S247N*
IRK/63
IRK/63
聚加昔
聚加昔I222V
聚加昔N294S
B/Mal/03
布里斯班/33/2008
B/马来西亚/2560/2004
B/江苏/10/2003

图16A

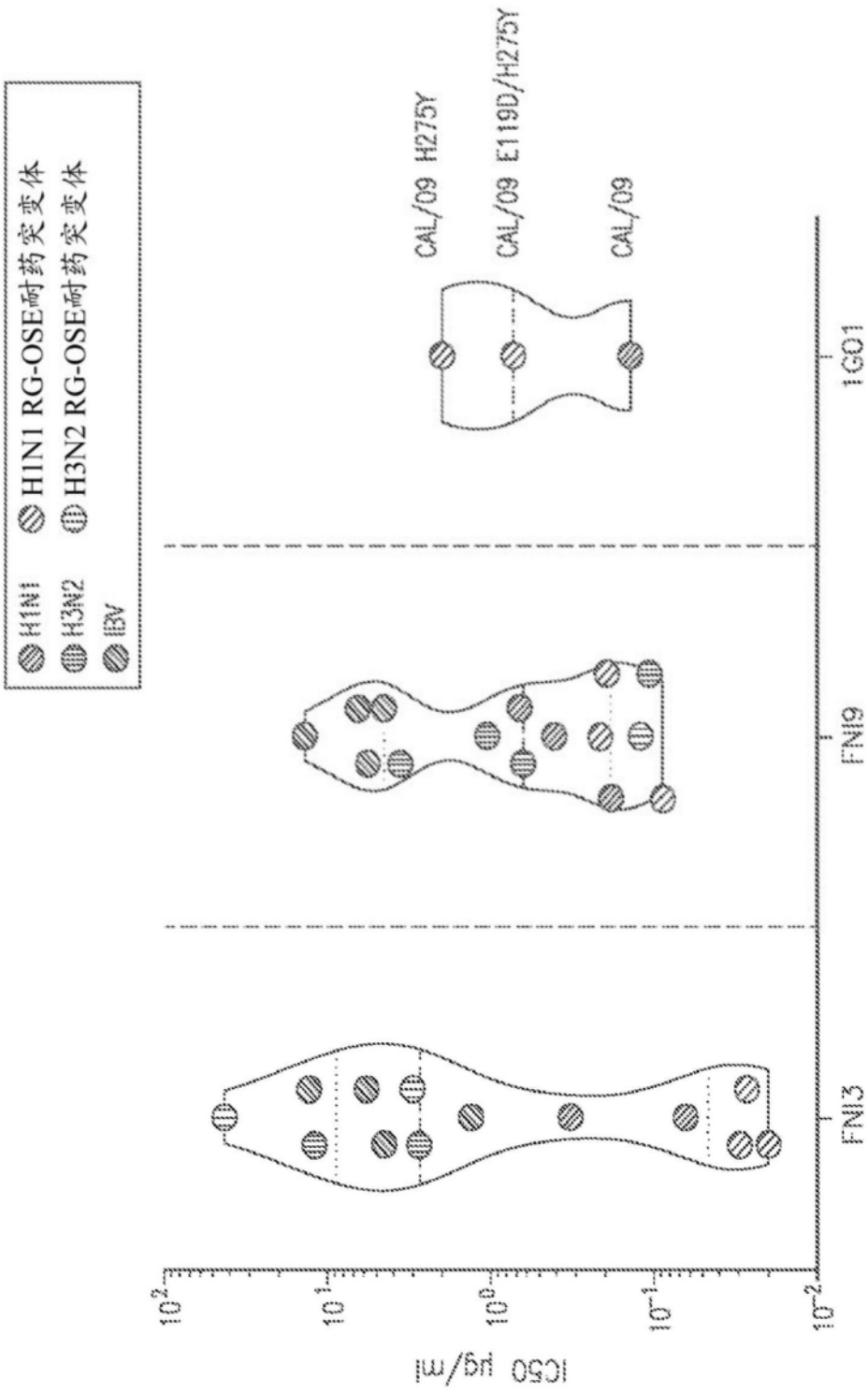

H1N1
H3N2
IBV
H1N1 RG-OSE耐药突变体
H3N2 RG-OSE耐药突变体
CAL/09 H275Y
CAL/09 E119D/H275Y
CAL/09
1G01
FN19
FN13
IC50 μg/ml
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}

图16B

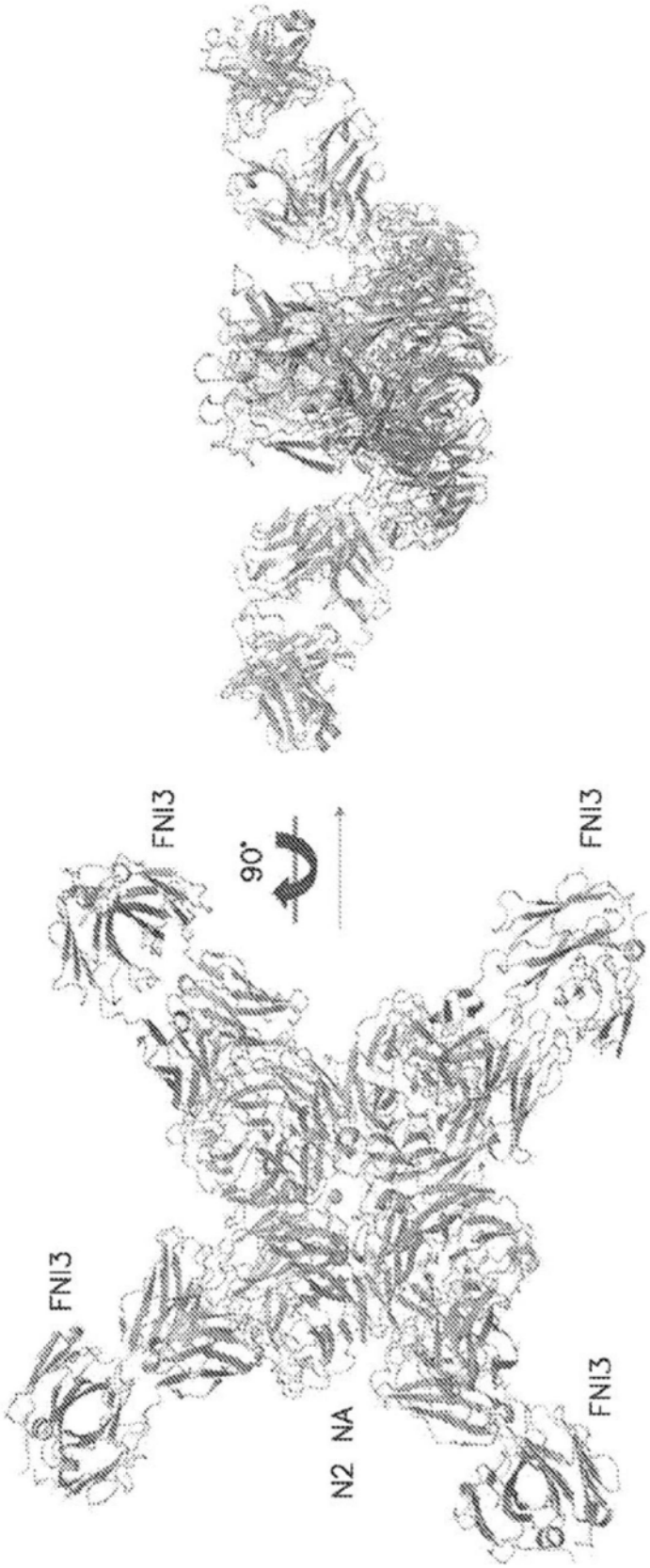


图17

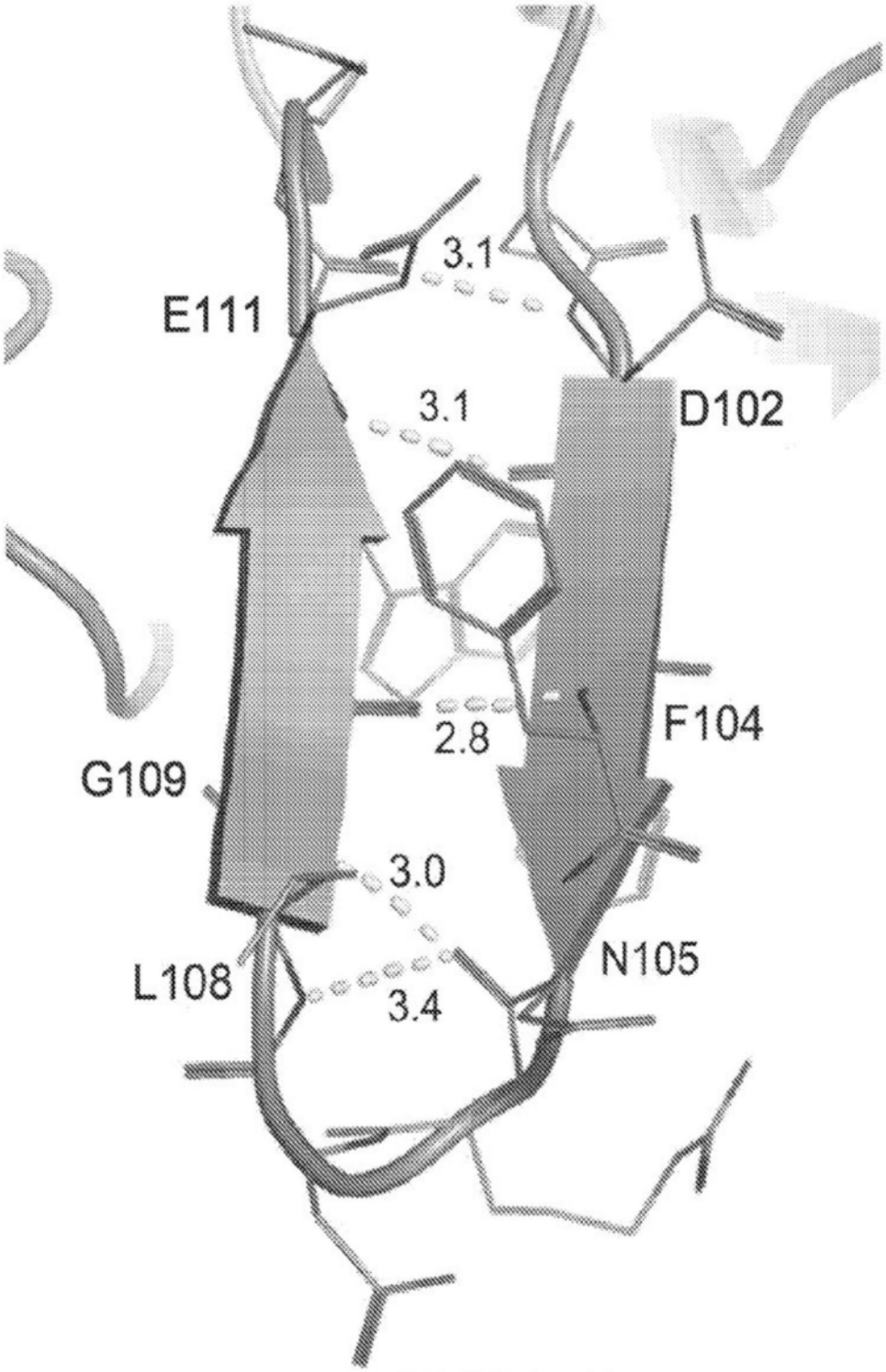
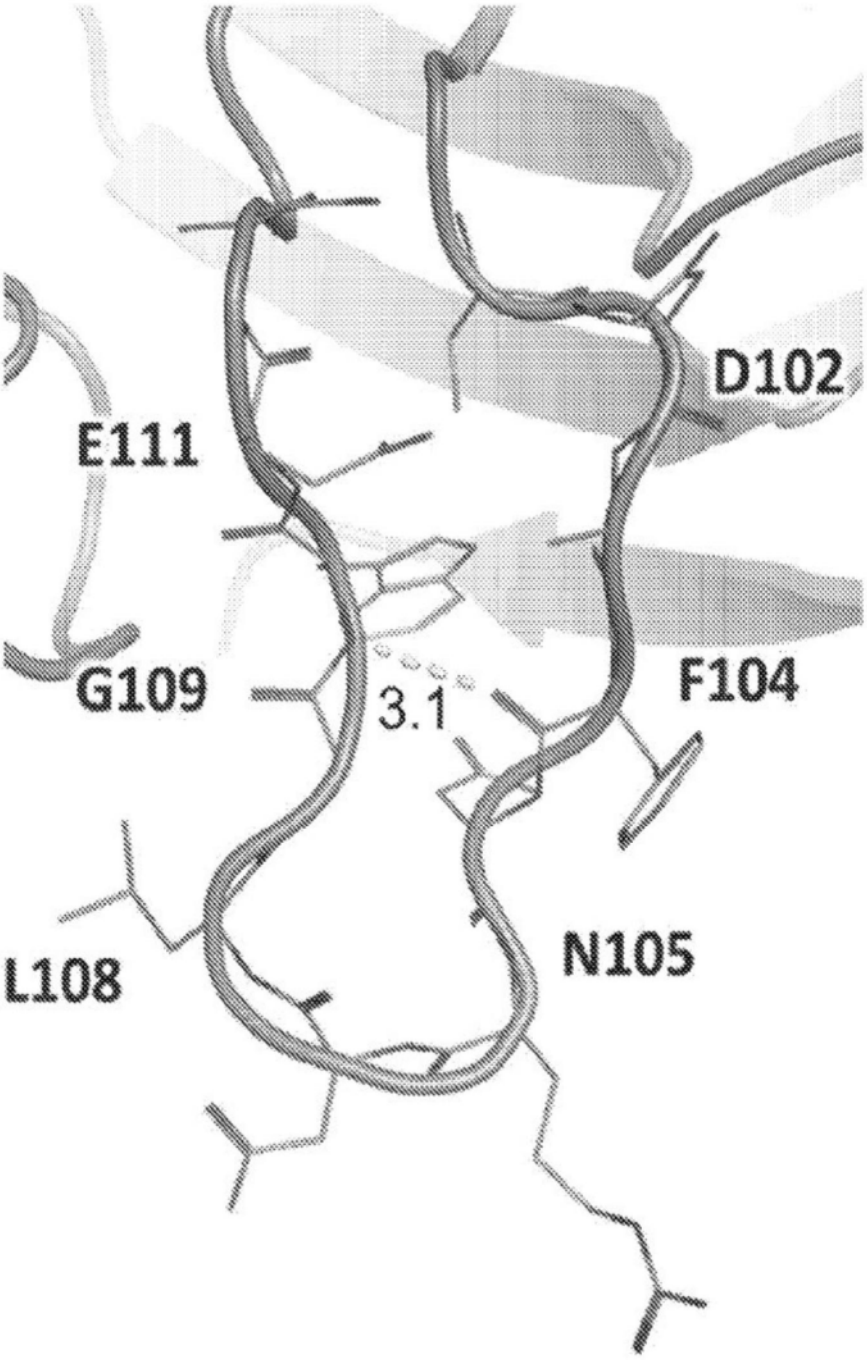


图18A



FNI3-N2晶体结构（3.7Å）

图18B

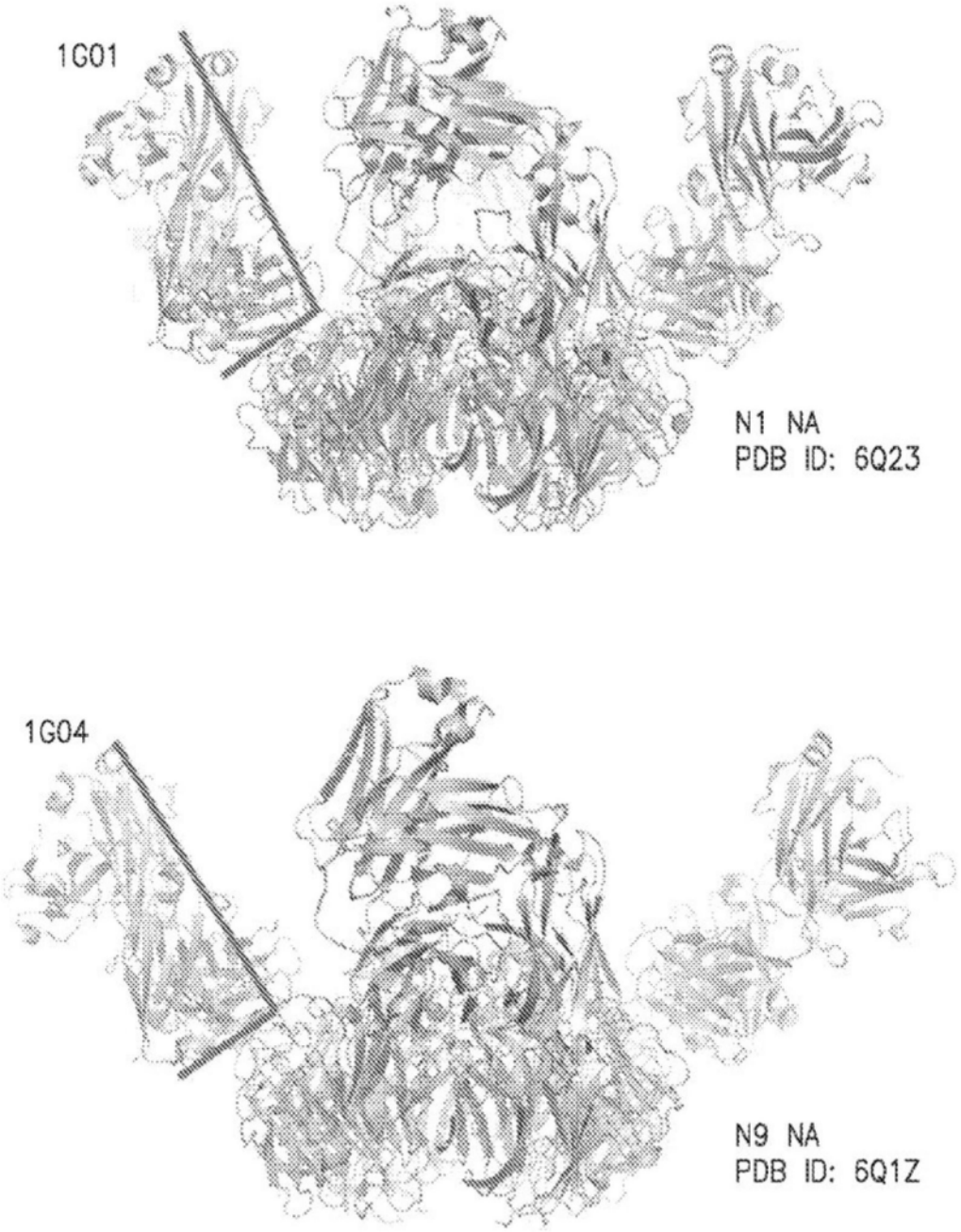


图19A

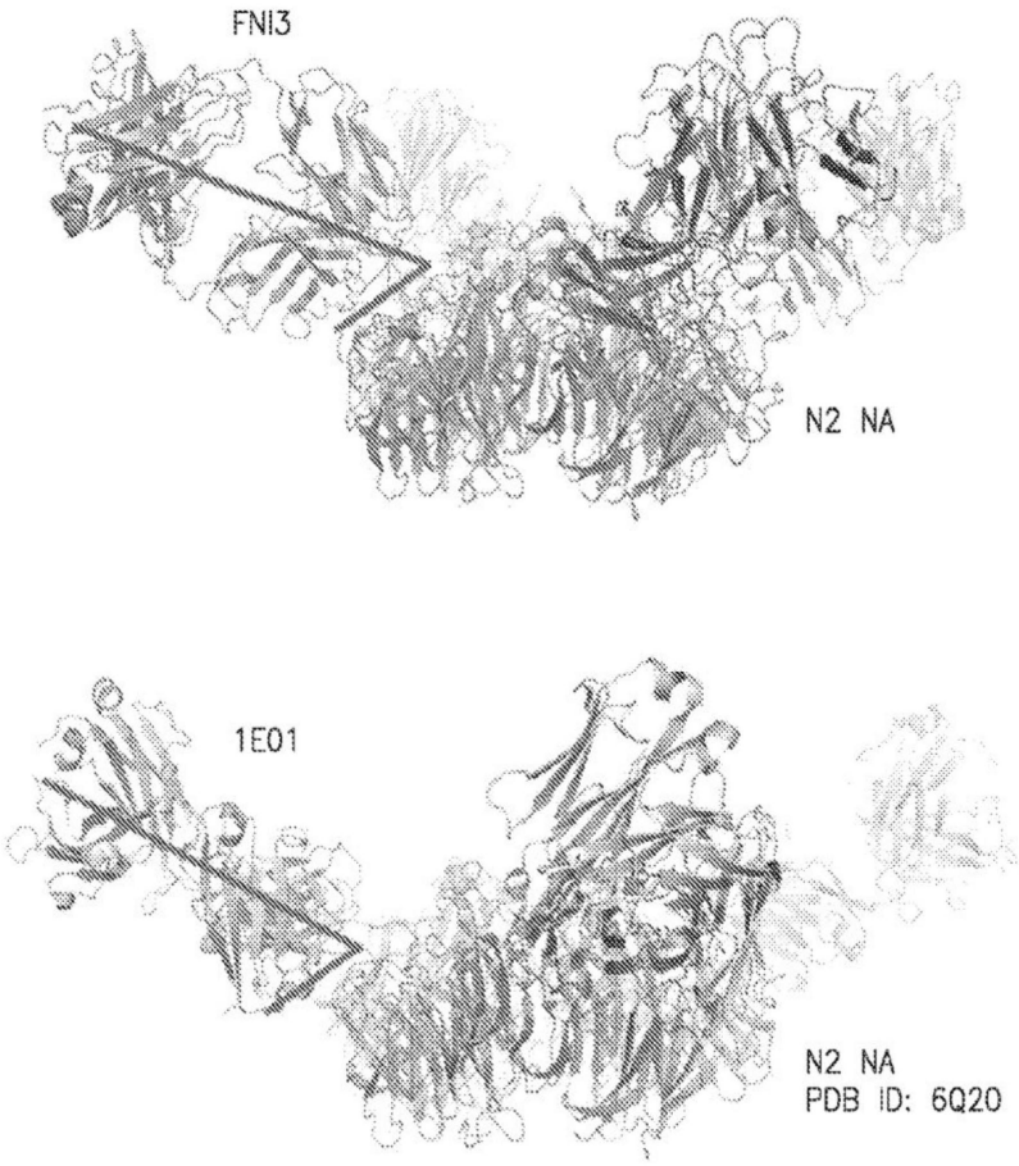


图19B

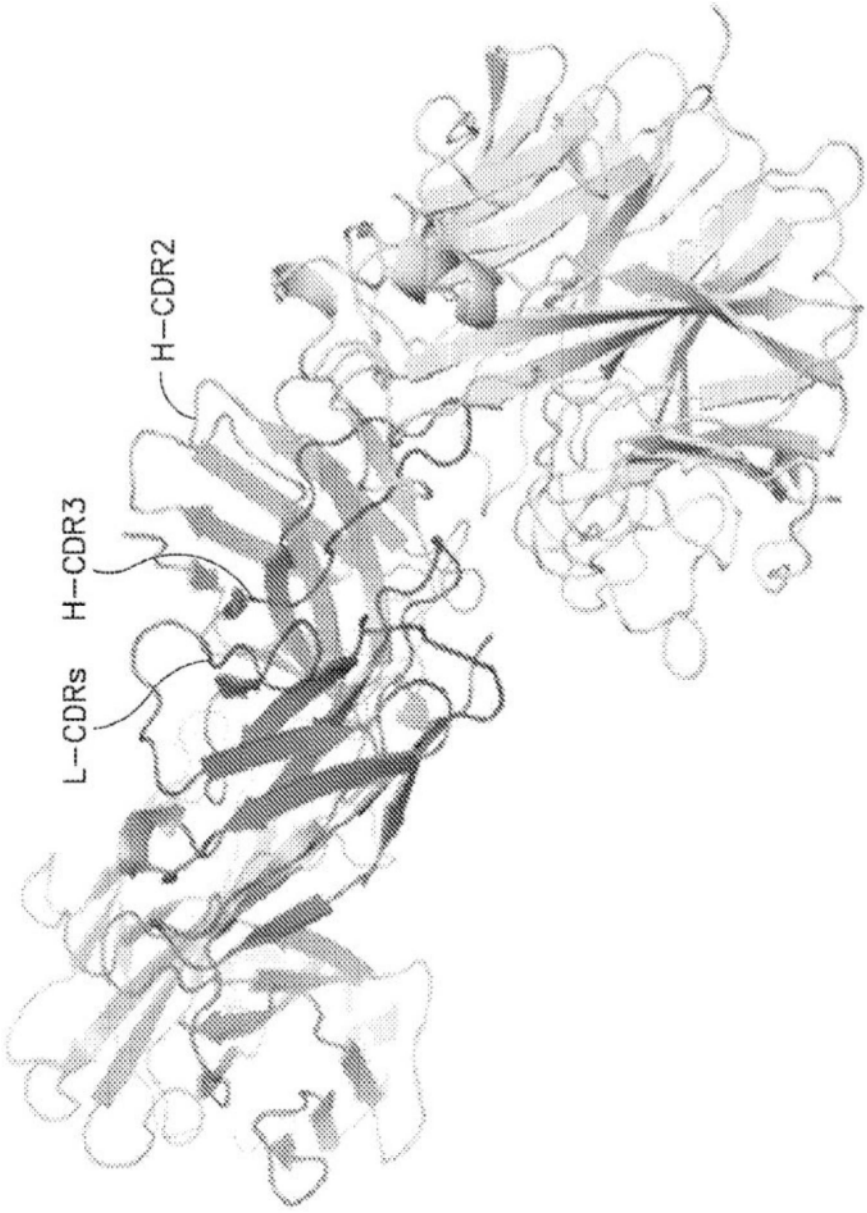


图20

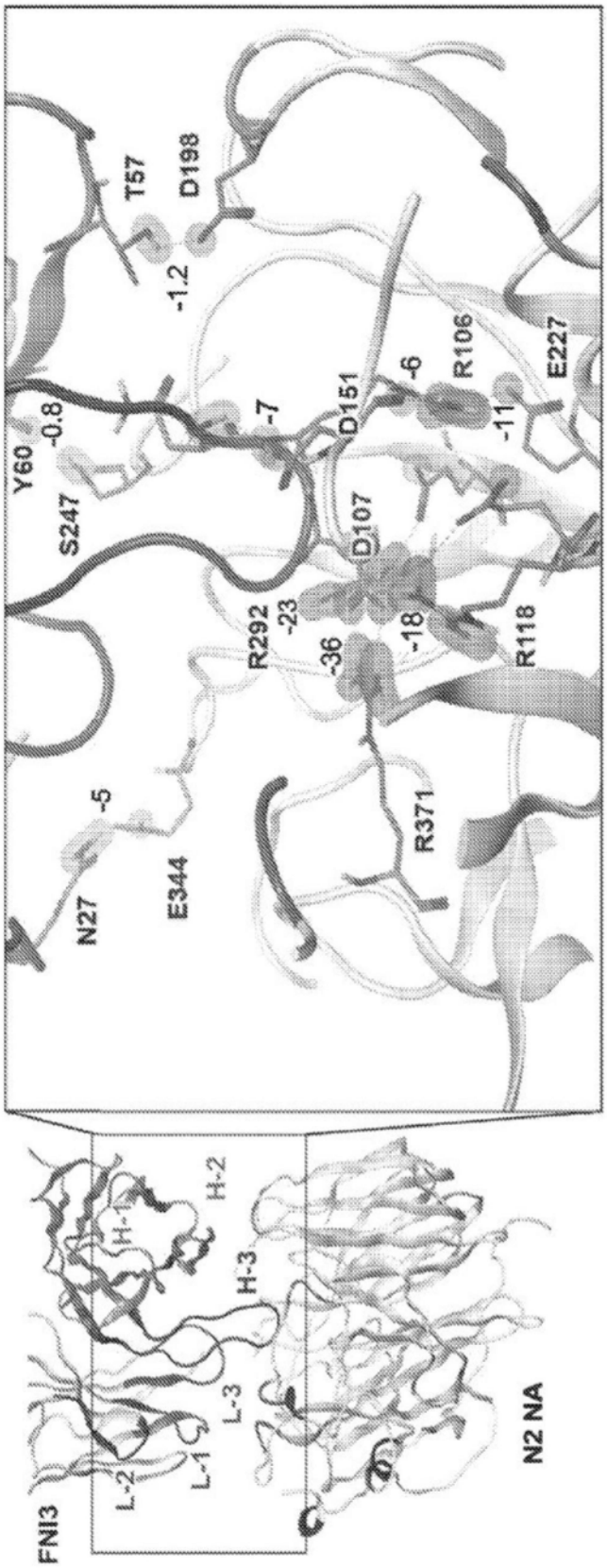

T57
D198
-1.2
R106
E227
-6
-11
D151
-7
Y60
-0.8
S247
D107
R292
-23
-36
-18
R118
-5
E344
N27
R371
H-1
H-2
H-3
L-1
L-2
L-3
FN3
N2 NA

图21

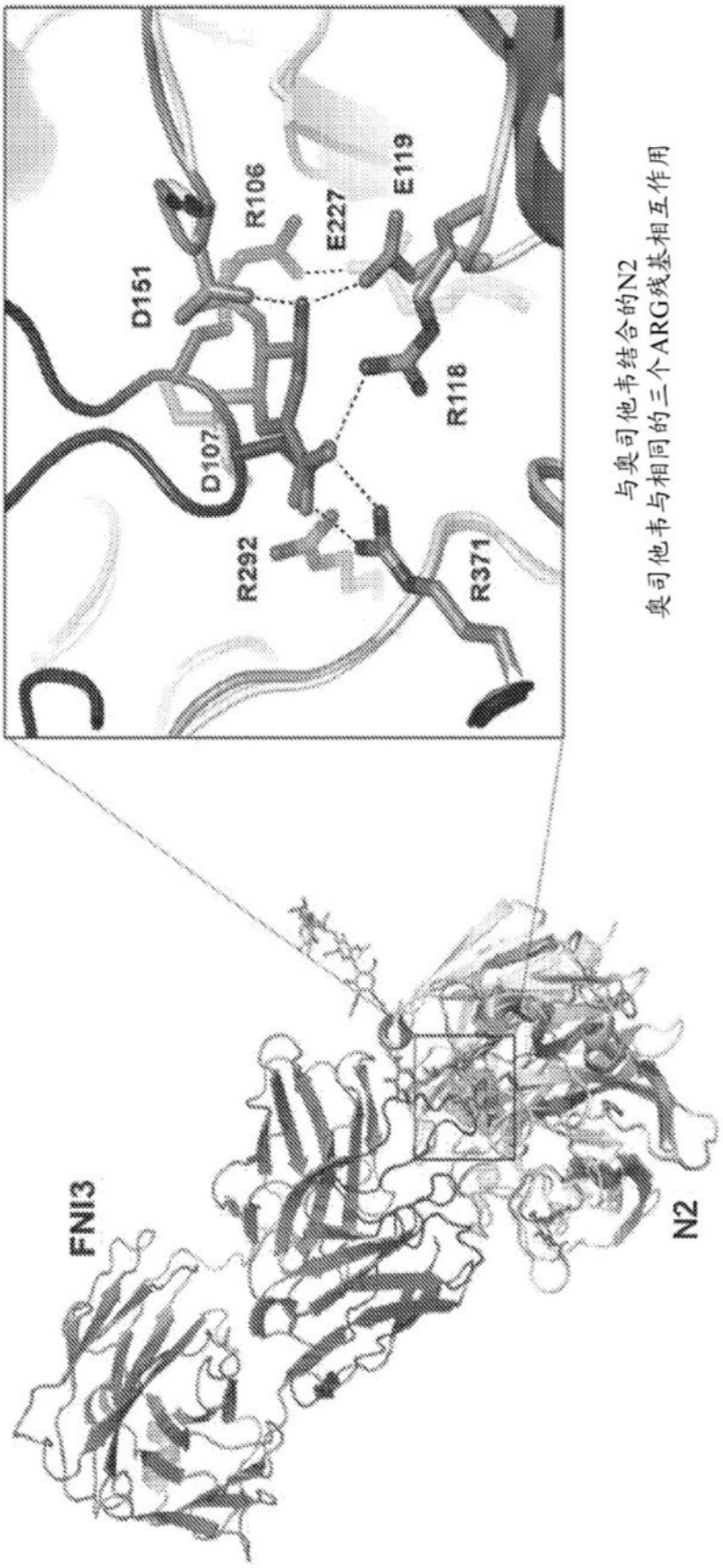

D151
R106
E227
E119
R118
D107
R292
R371
FN3
N2
与奥司他韦结合的N2
奥司他韦与相同的三个ARG残基相互作用

图22

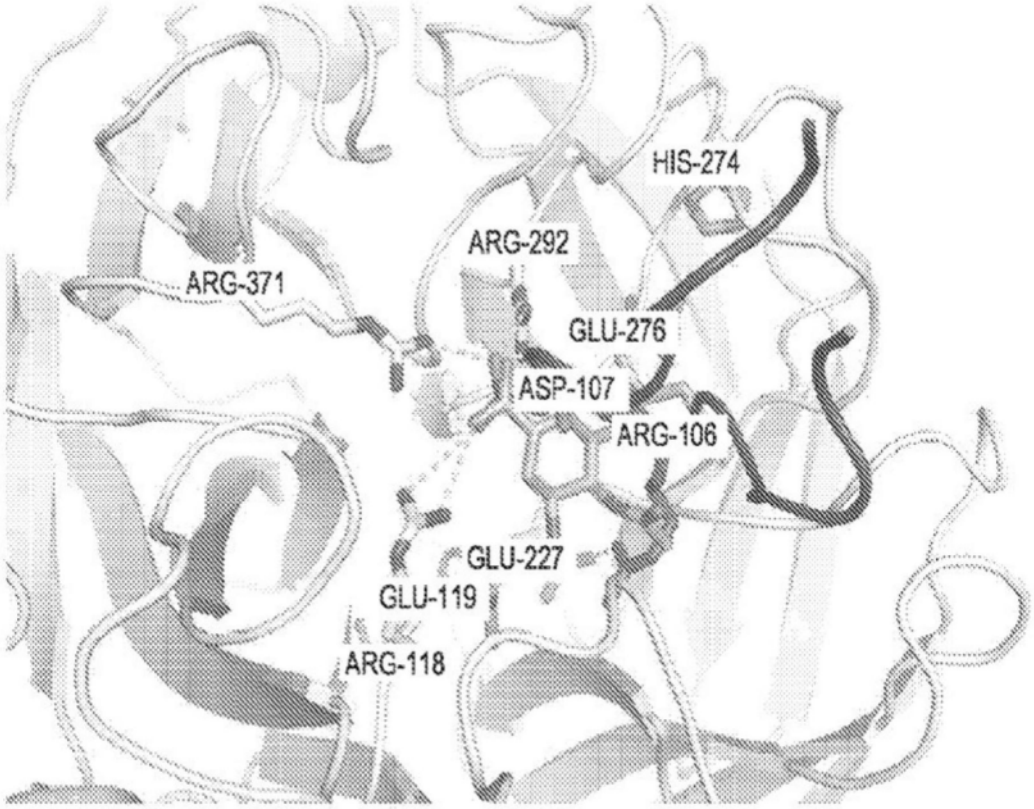

HIS-274
ARG-292
ARG-371
GLU-276
ASP-107
ARG-106
GLU-227
GLU-119
ARG-118

图23

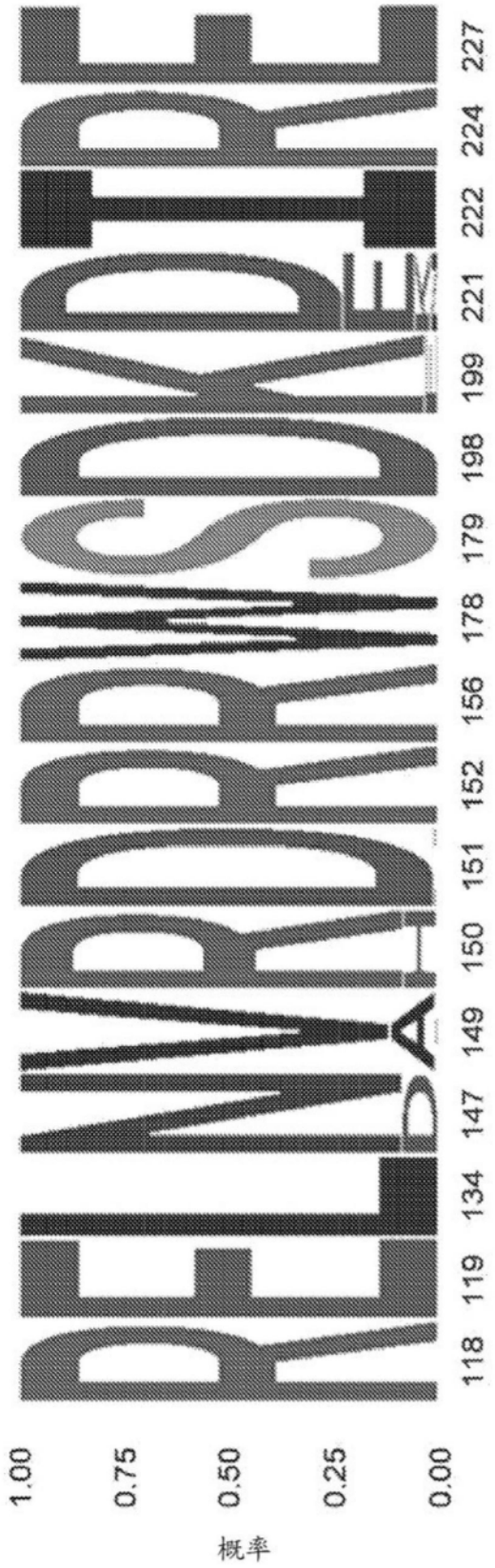

118
119
134
147
149
150
151
152
156
178
179
198
199
221
222
224
227
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
概率

图24A

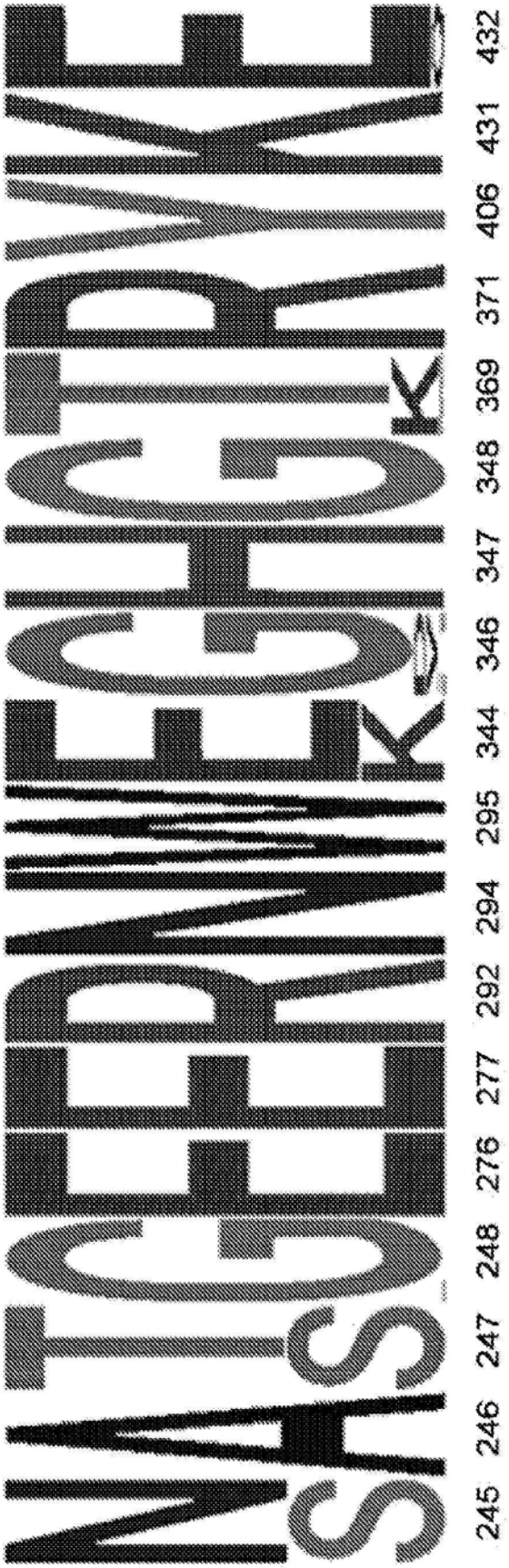

245 246 247 248 276 277 292 294 295 344 346 347 348 369 371 406 431 432

图24A(续)

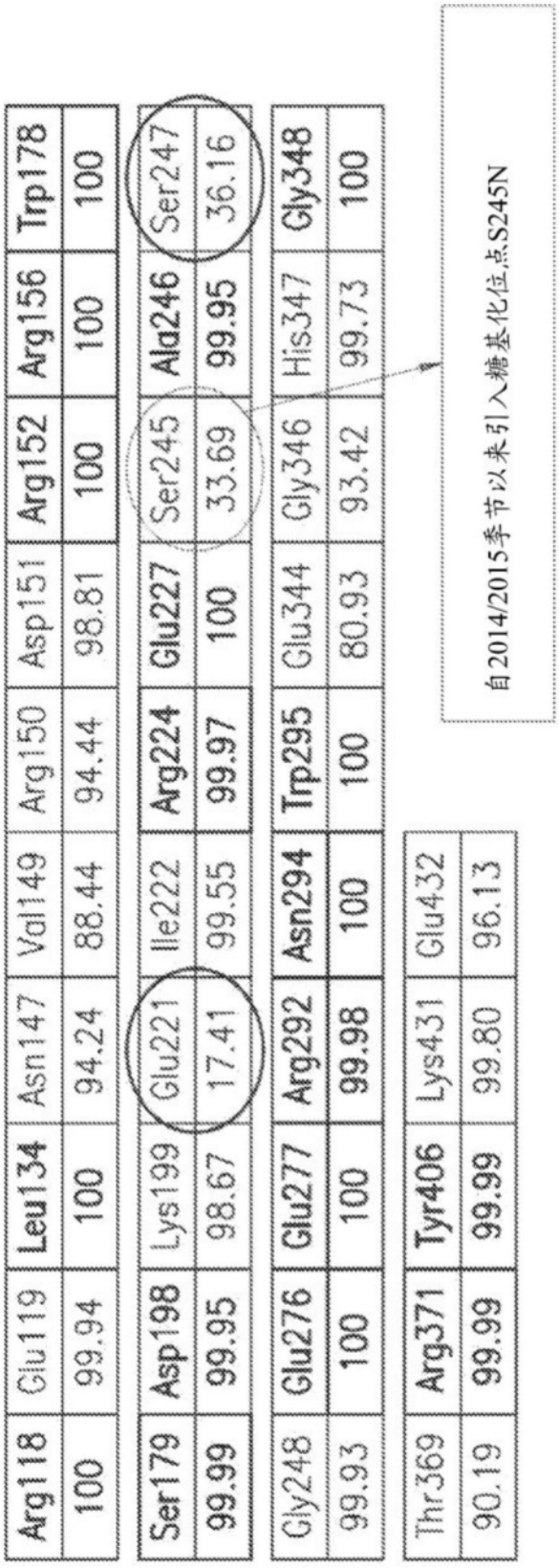

Arg118 Glu119 Leu134 Asn147 Val149 Arg150 Asp151 Arg152 Arg156 Trp178
100 99.94 100 94.24 88.44 94.44 98.81 100 100 100
Ser179 Asp198 Lys199 Glu221 Ile222 Arg224 Glu227 Ser245 Ala246 Ser247
99.99 99.95 98.67 17.41 99.55 99.97 100 33.69 99.95 36.16
Gly248 Glu276 Glu277 Arg292 Asn294 Trp295 Glu344 Gly346 His347 Gly348
99.93 100 100 99.98 100 100 80.93 93.42 99.73 100
Thr369 Arg371 Tyr406 Lys431 Glu432
90.19 99.99 99.99 99.80 96.13
自2014/2015季节以来引入糖基化位点S245N

图24A(续)

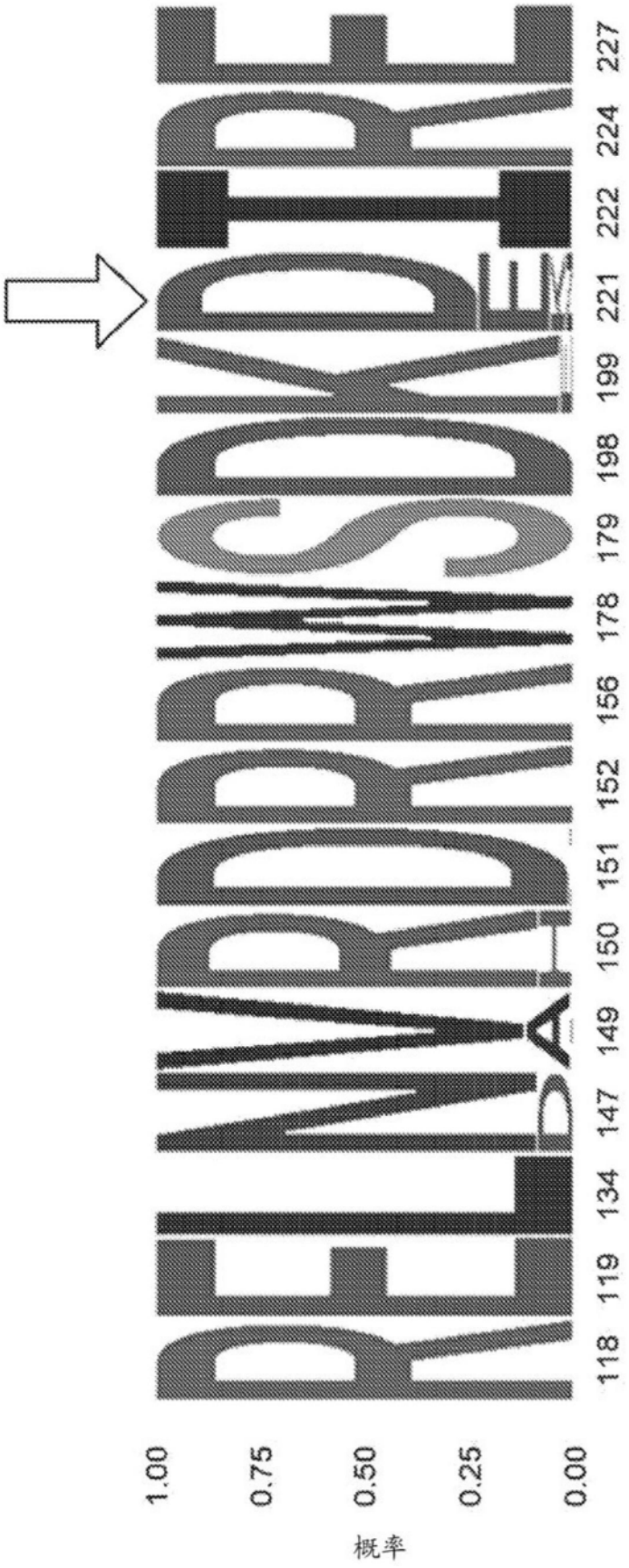

118
119
134
147
149
150
151
152
156
178
179
198
199
221
222
224
227
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
概率

图24B

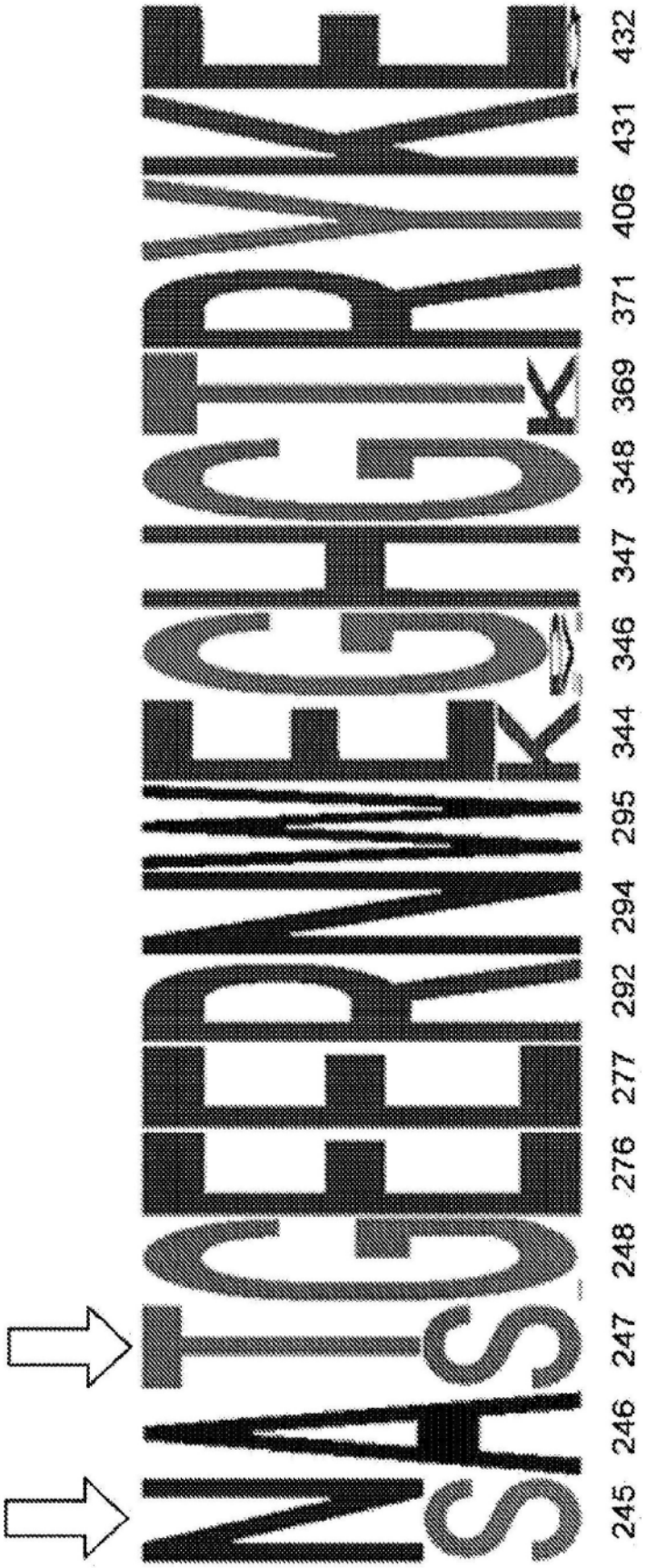

245
246
247
248
276
277
292
294
295
344
346
347
348
369
371
406
431
432

图24B(续)

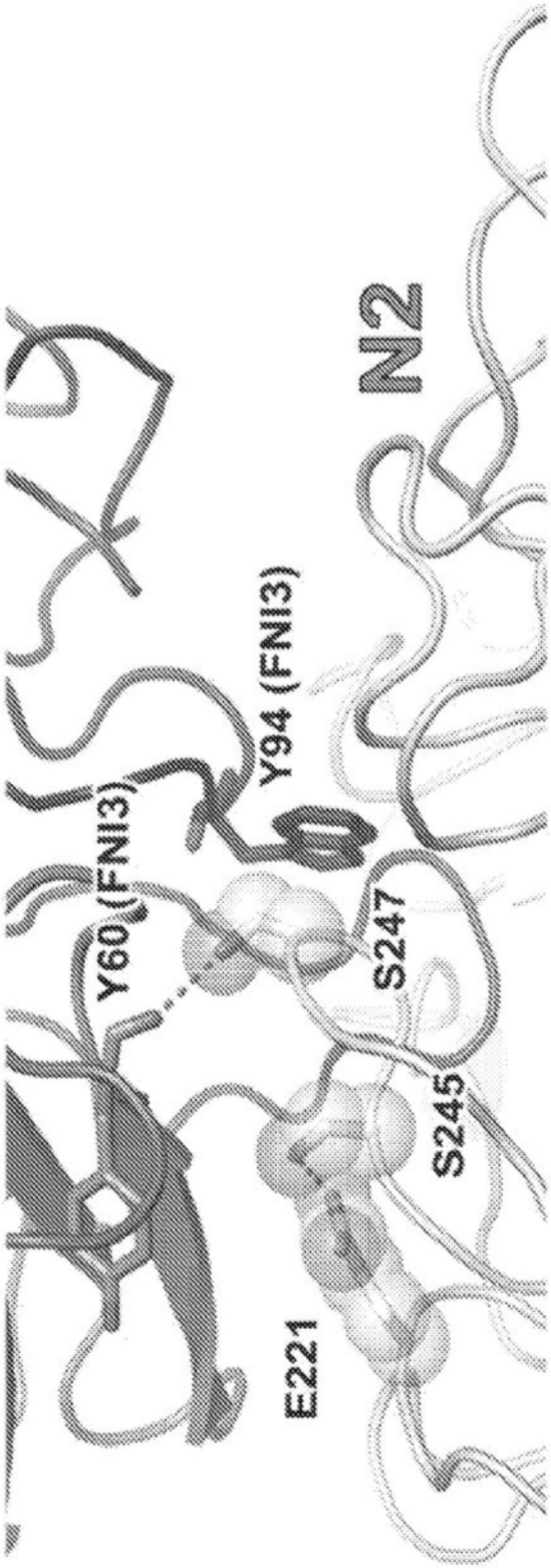


图24B(续)

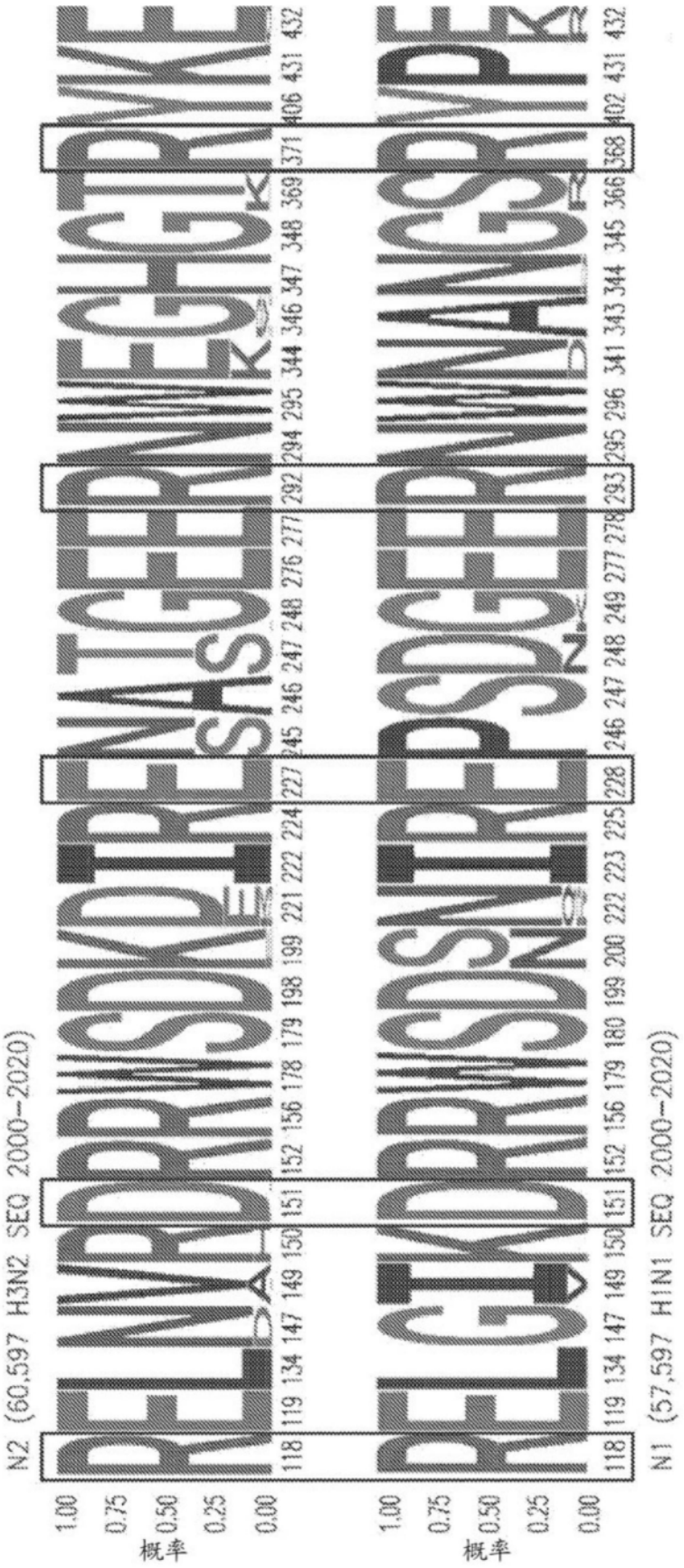
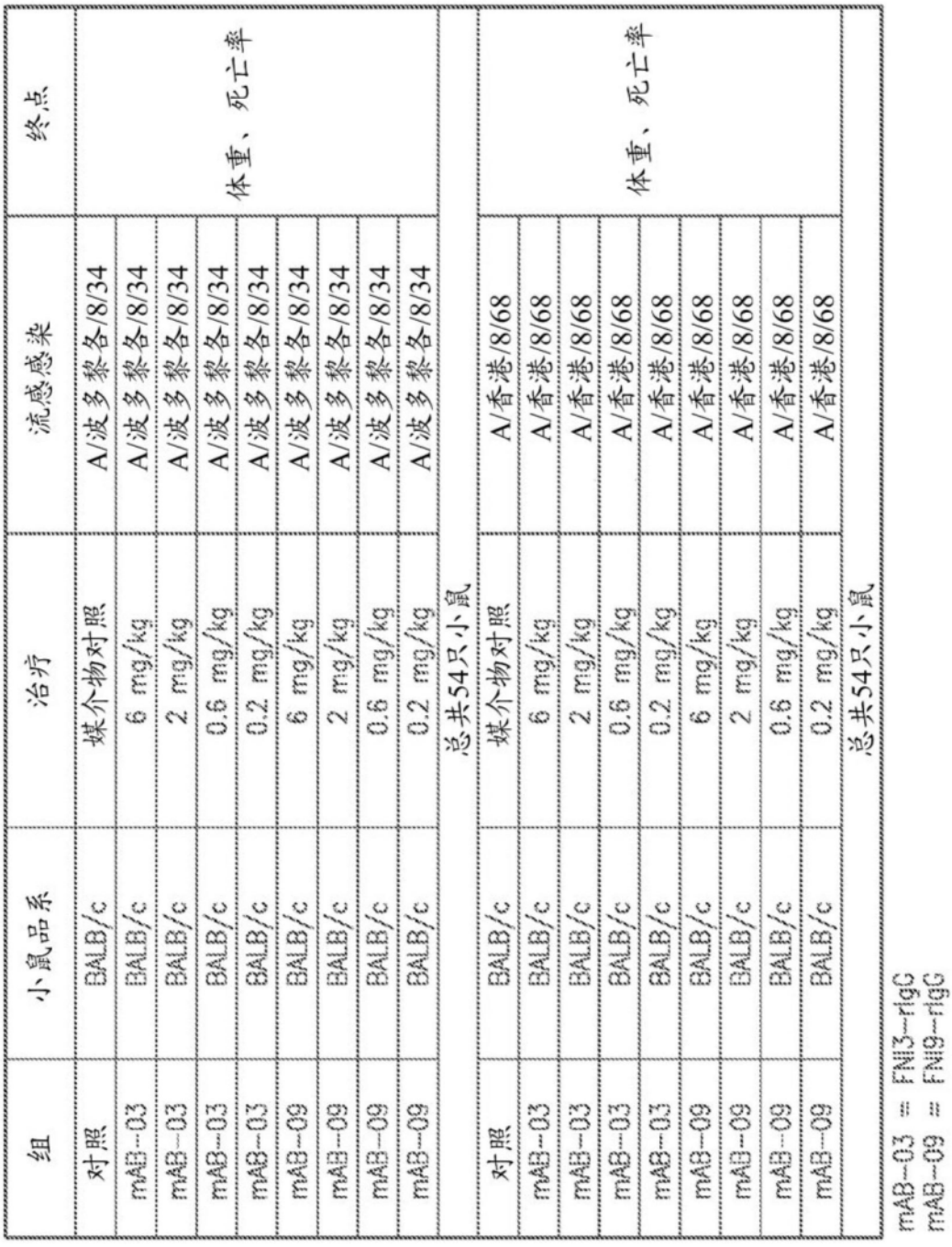

N2 (60,597 H3N2 SEQ 2000-2020)
N1 (57,597 H1N1 SEQ 2000-2020)
概率
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00

图25



NA上的主要相互作用残基	FNI3 HCDR3内的对应相互作用残基
R371	D107
R292	D107
R118	D107
D151	R106
E227	R106

图25(续)



组	小鼠品系	治疗	流感感染	终点
对照	BALB/c	媒介物对照	A/波多黎各/8/34	体重、死亡率
mAB-03	BALB/c	6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-03	BALB/c	2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-03	BALB/c	0.6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-03	BALB/c	0.2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-09	BALB/c	6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-09	BALB/c	2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-09	BALB/c	0.6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
mAB-09	BALB/c	0.2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
总共54只小鼠				
对照	BALB/c	媒介物对照	A/香港/8/68	体重、死亡率
mAB-03	BALB/c	6 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-03	BALB/c	2 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-03	BALB/c	0.6 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-03	BALB/c	0.2 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-09	BALB/c	6 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-09	BALB/c	2 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-09	BALB/c	0.6 mg/kg	A/香港/8/68	
mAB-09	BALB/c	0.2 mg/kg	A/香港/8/68	
总共54只小鼠				

mAB-03 = FN13-rIgG
mAB-09 = FN19-rIgG

图26A

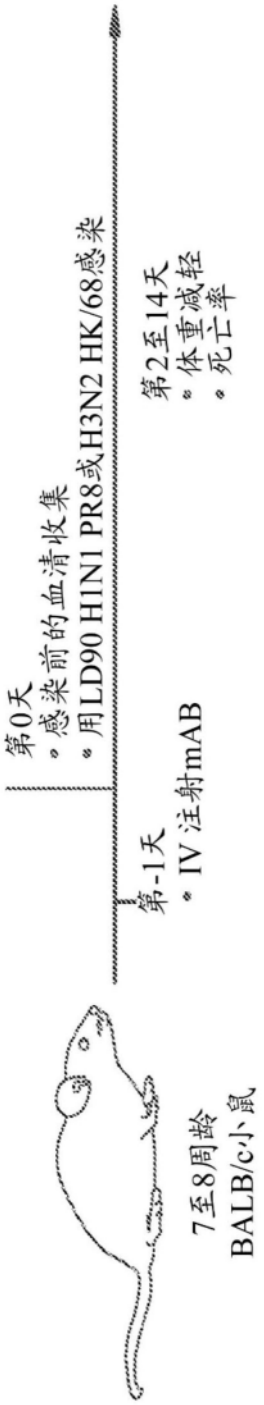

第0天
。感染前的血清收集
。用LD90 H1N1 PR8或H3N2 HK/68感染
第-1天
。IV 注射mAB
第2至14天
。体重减轻
。死亡率
7至8周龄
BALB/c小鼠

图26B

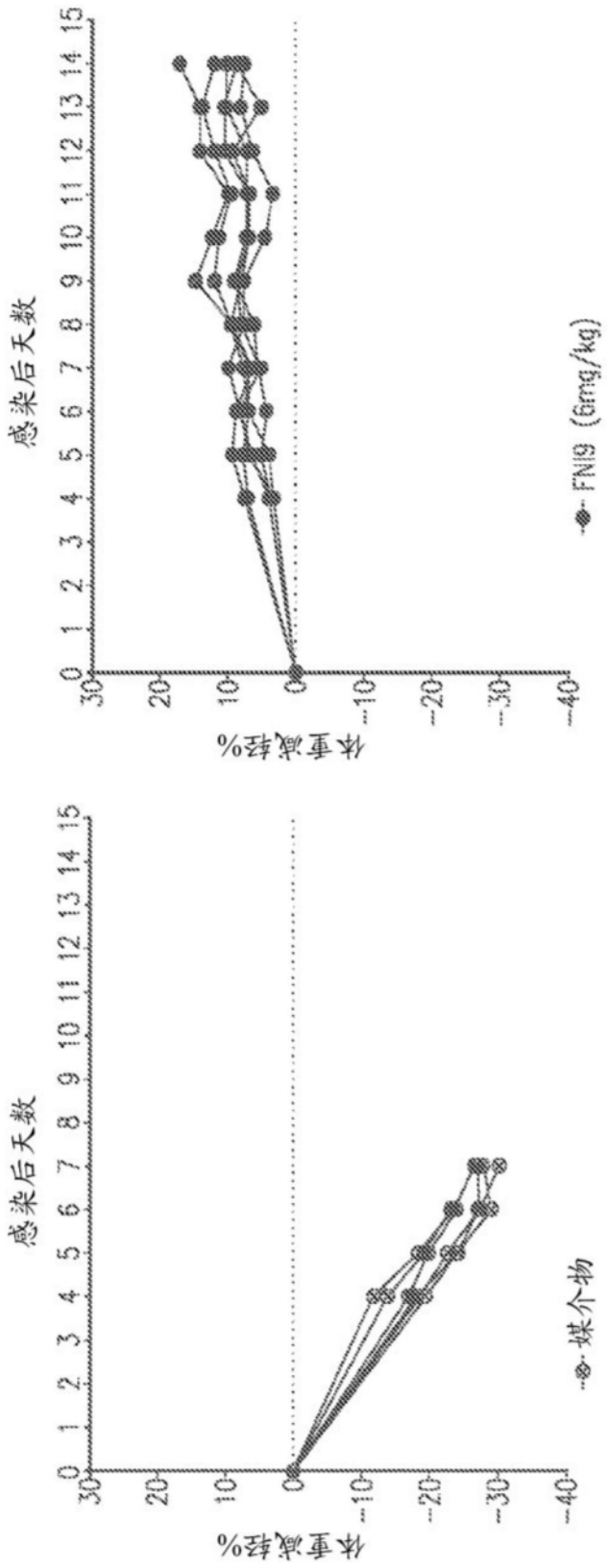


图27A

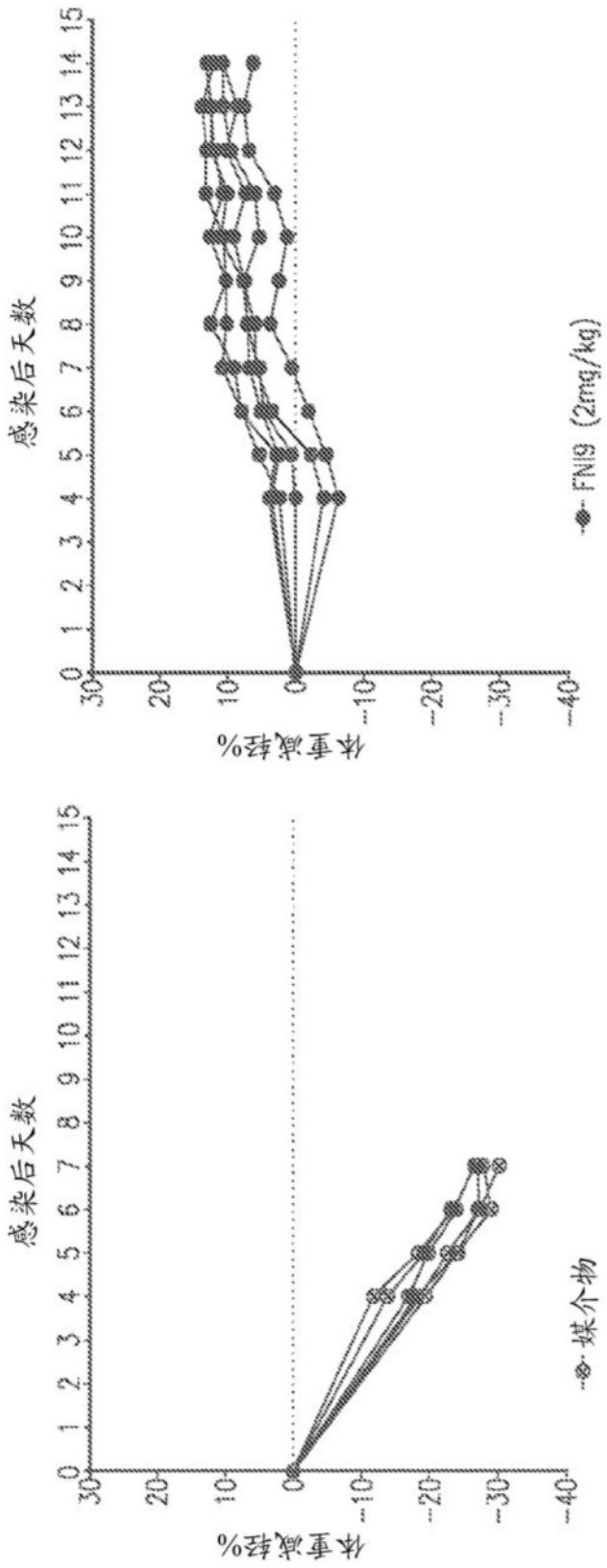

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (2mg/kg)
媒介物

图27B

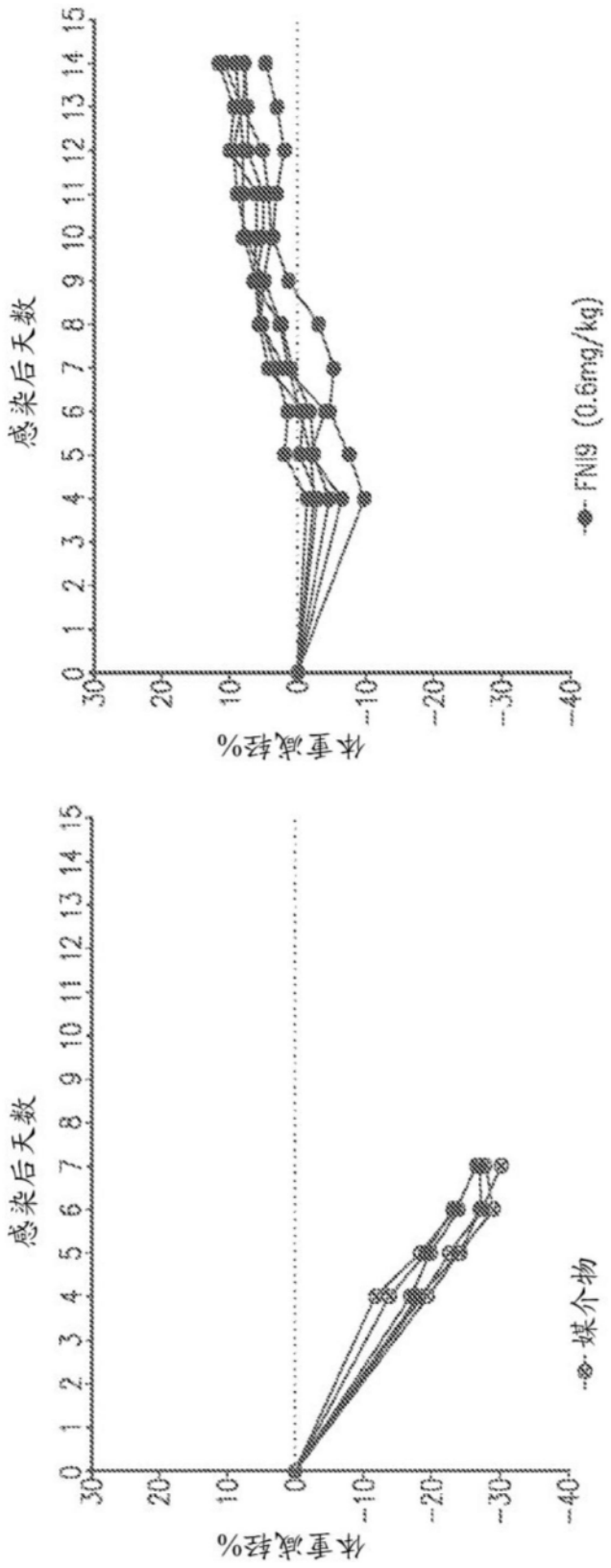


图27C

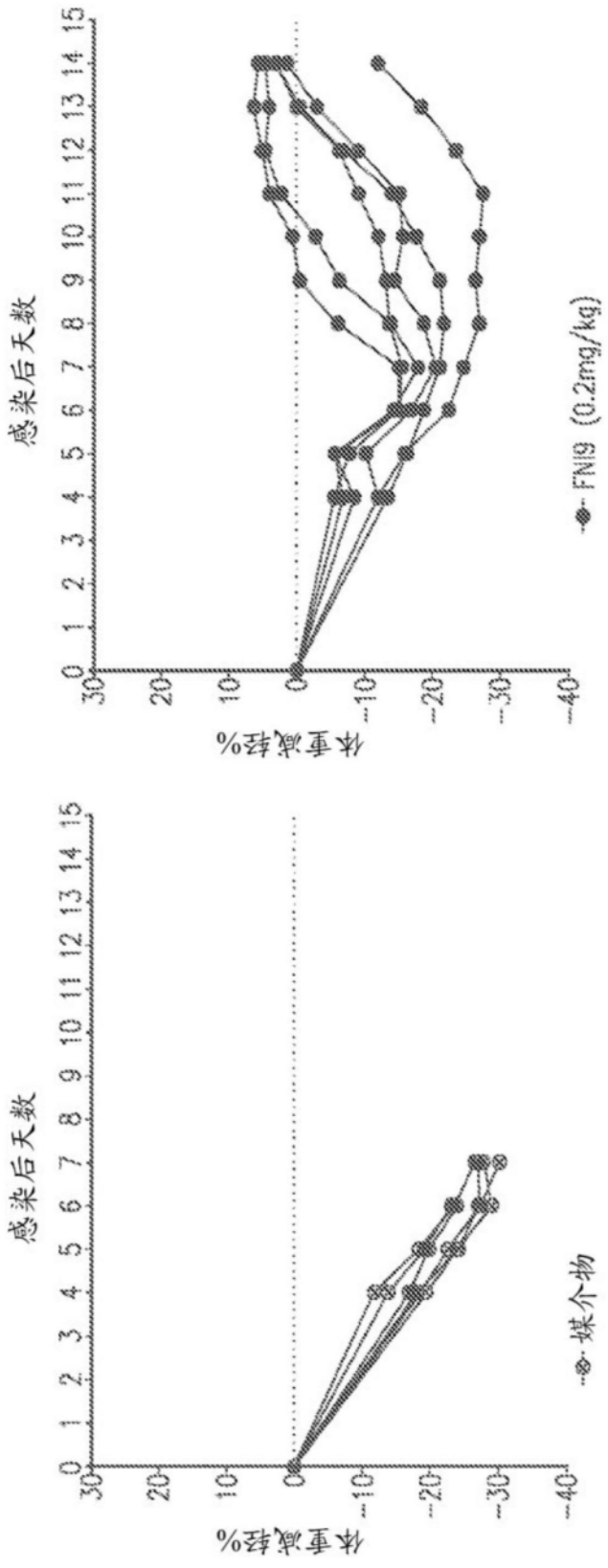


图27D

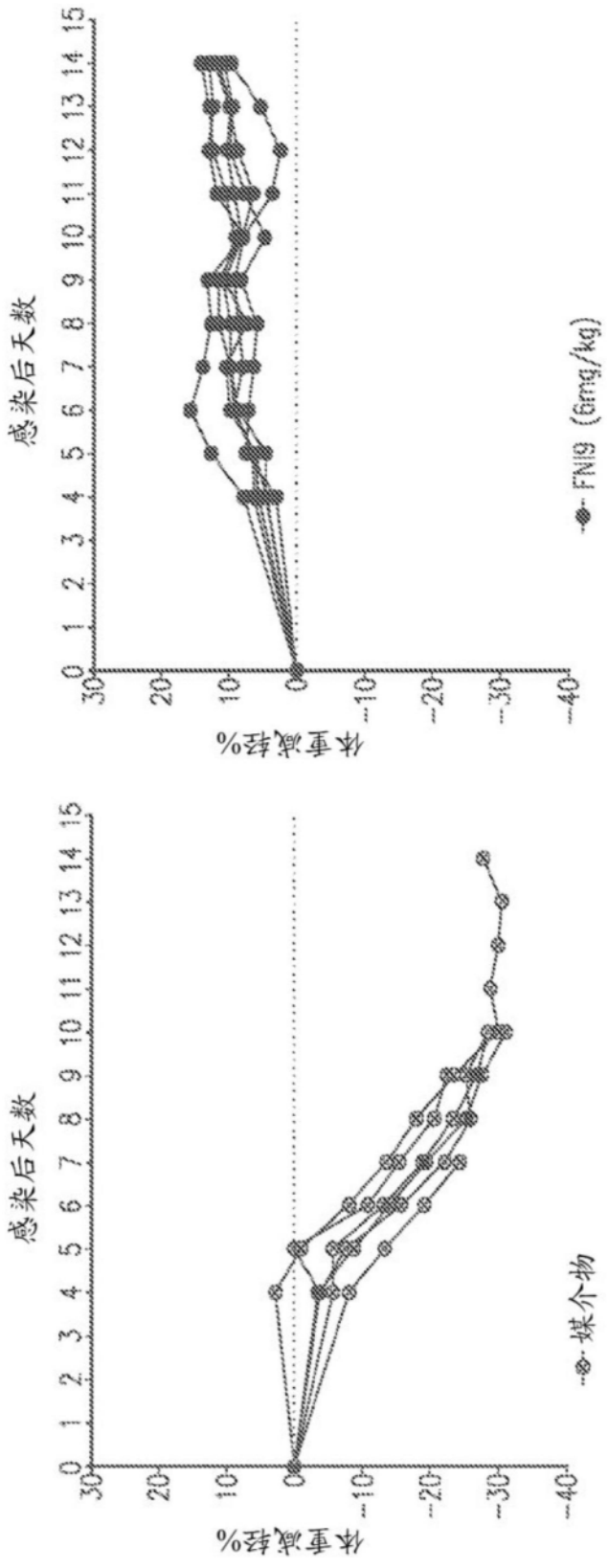


图28A

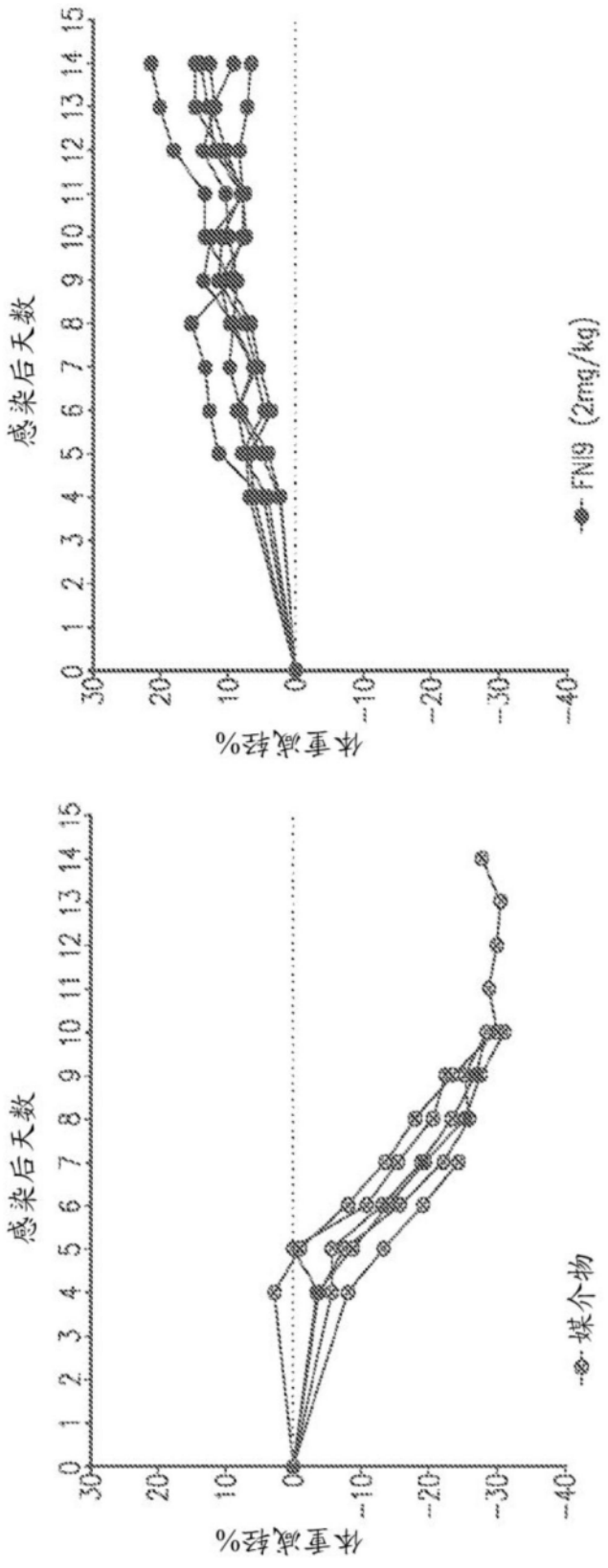


图28B

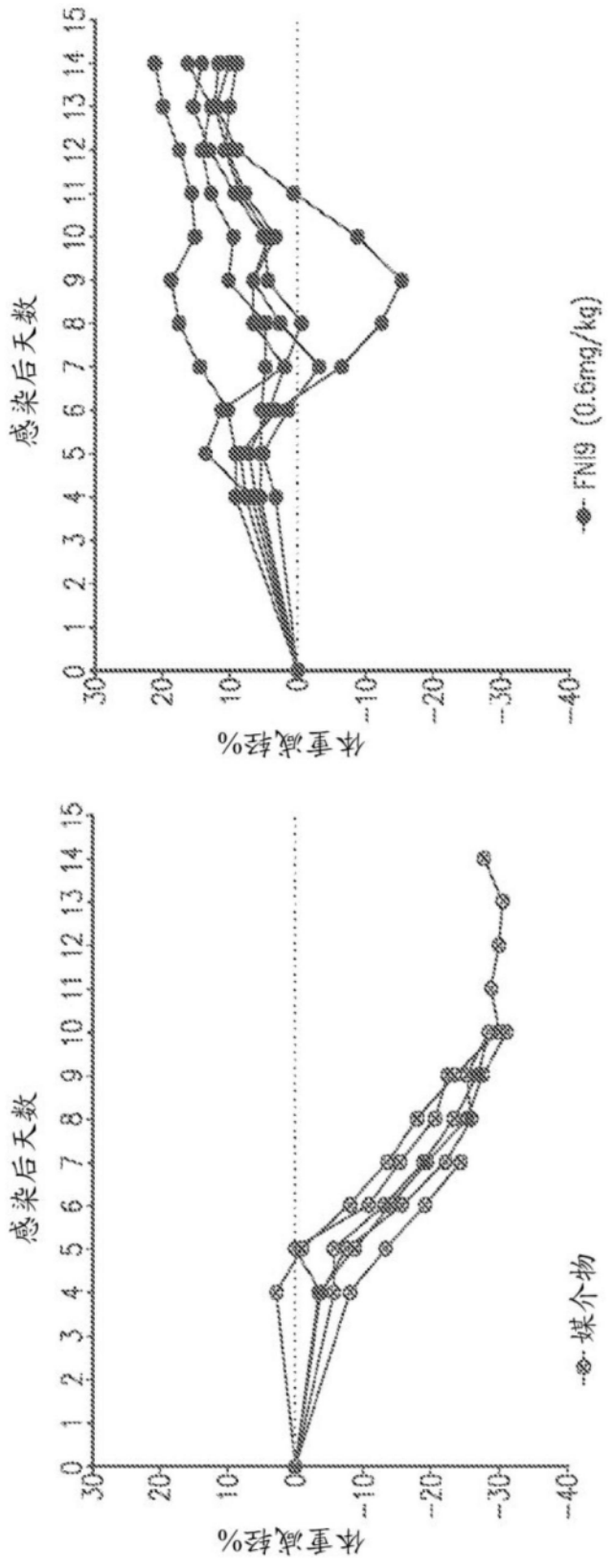


图28C

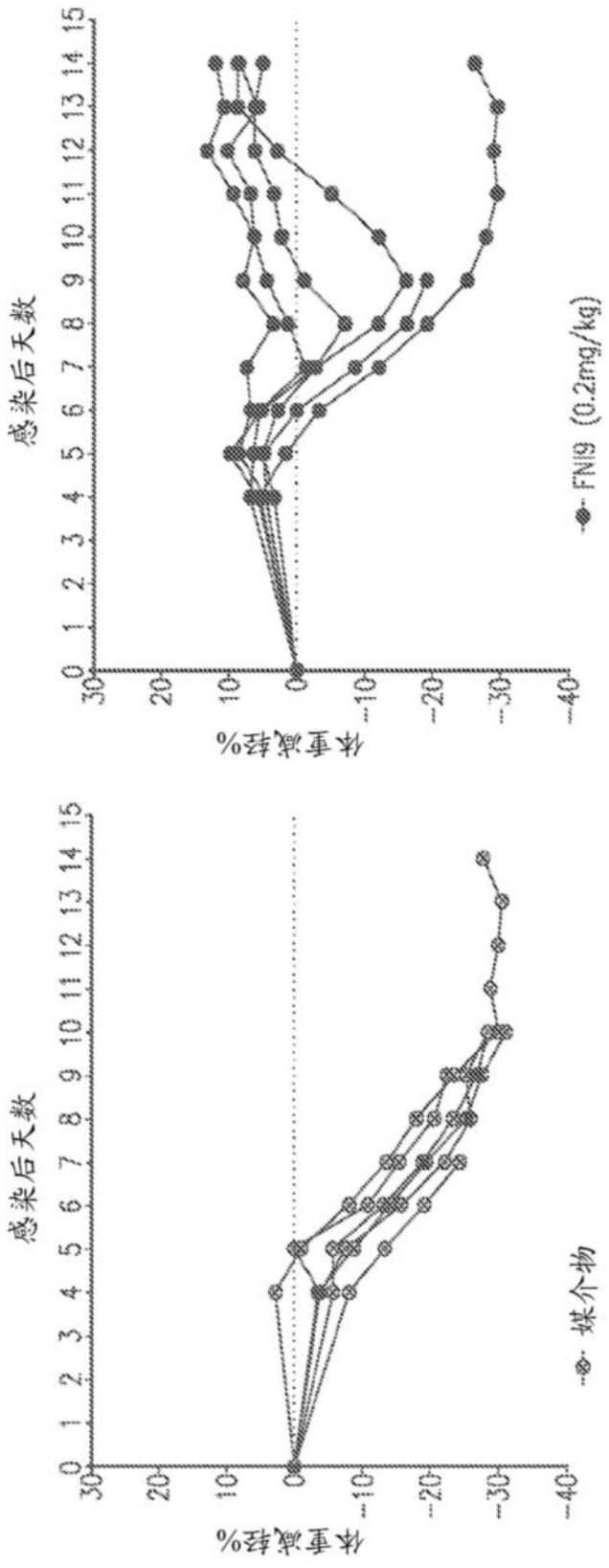


图28D

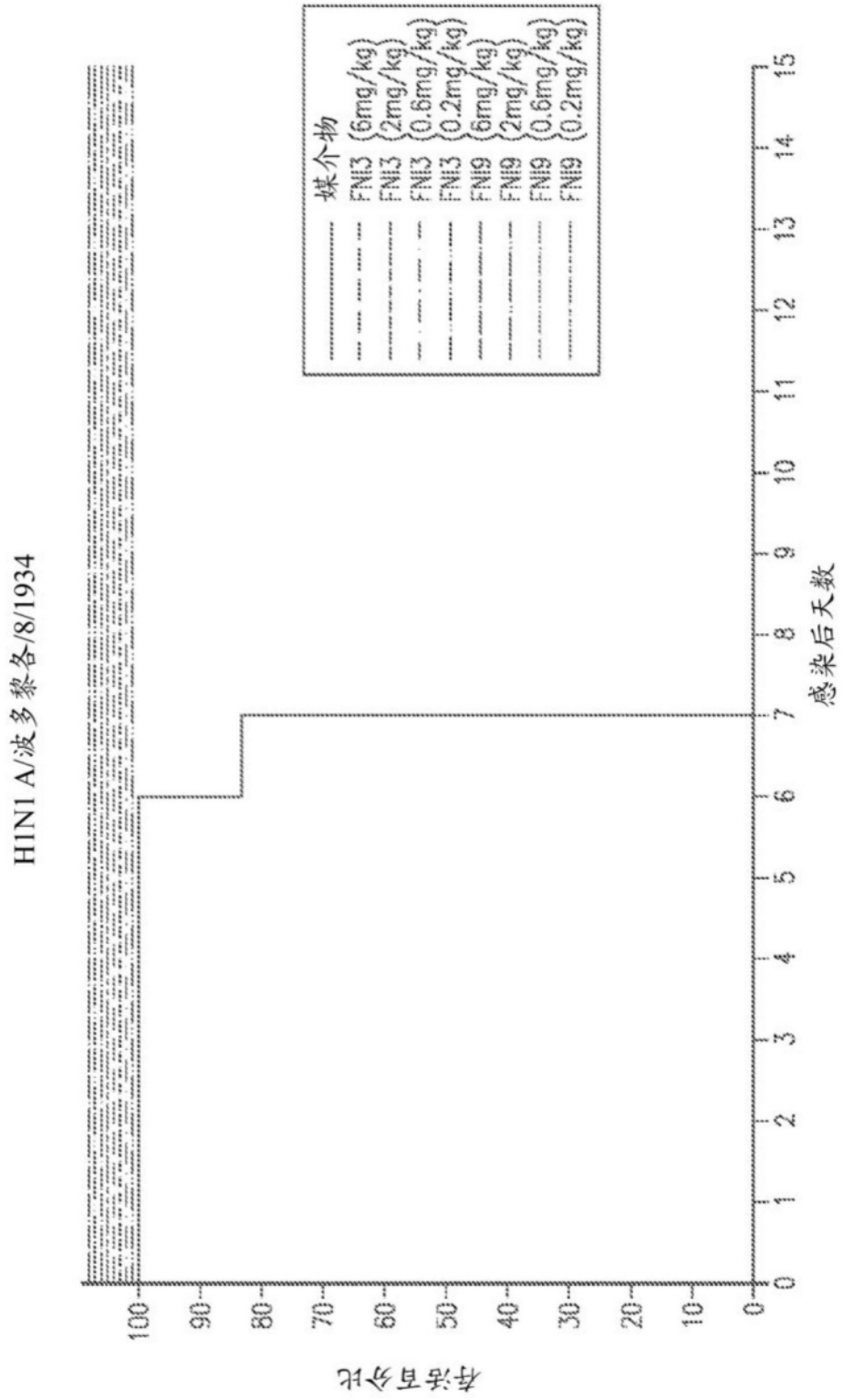

H1N1 A/波多黎各/8/1934
存活百分比
感染后天数
媒介物
FNI3 (6mg/kg)
FNI3 (2mg/kg)
FNI3 (0.6mg/kg)
FNI3 (0.2mg/kg)
FNI9 (6mg/kg)
FNI9 (2mg/kg)
FNI9 (0.6mg/kg)
FNI9 (0.2mg/kg)

图29A

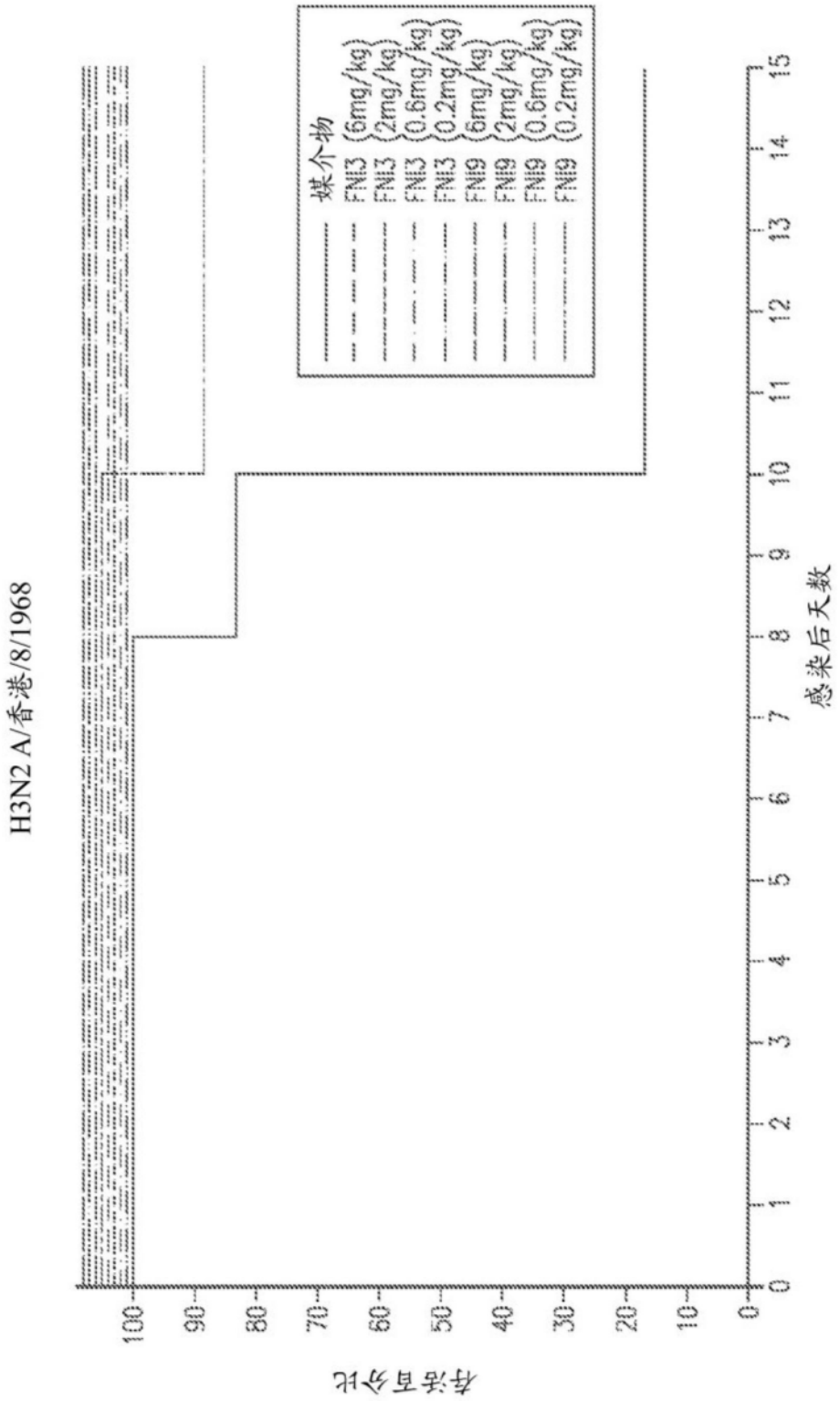

H3N2 A/香港/8/1968
存活百分比
感染后天数
媒介物
FNI3 (6mg/kg)
FNI3 (2mg/kg)
FNI3 (0.6mg/kg)
FNI3 (0.2mg/kg)
FNI9 (6mg/kg)
FNI9 (2mg/kg)
FNI9 (0.6mg/kg)
FNI9 (0.2mg/kg)

图29B

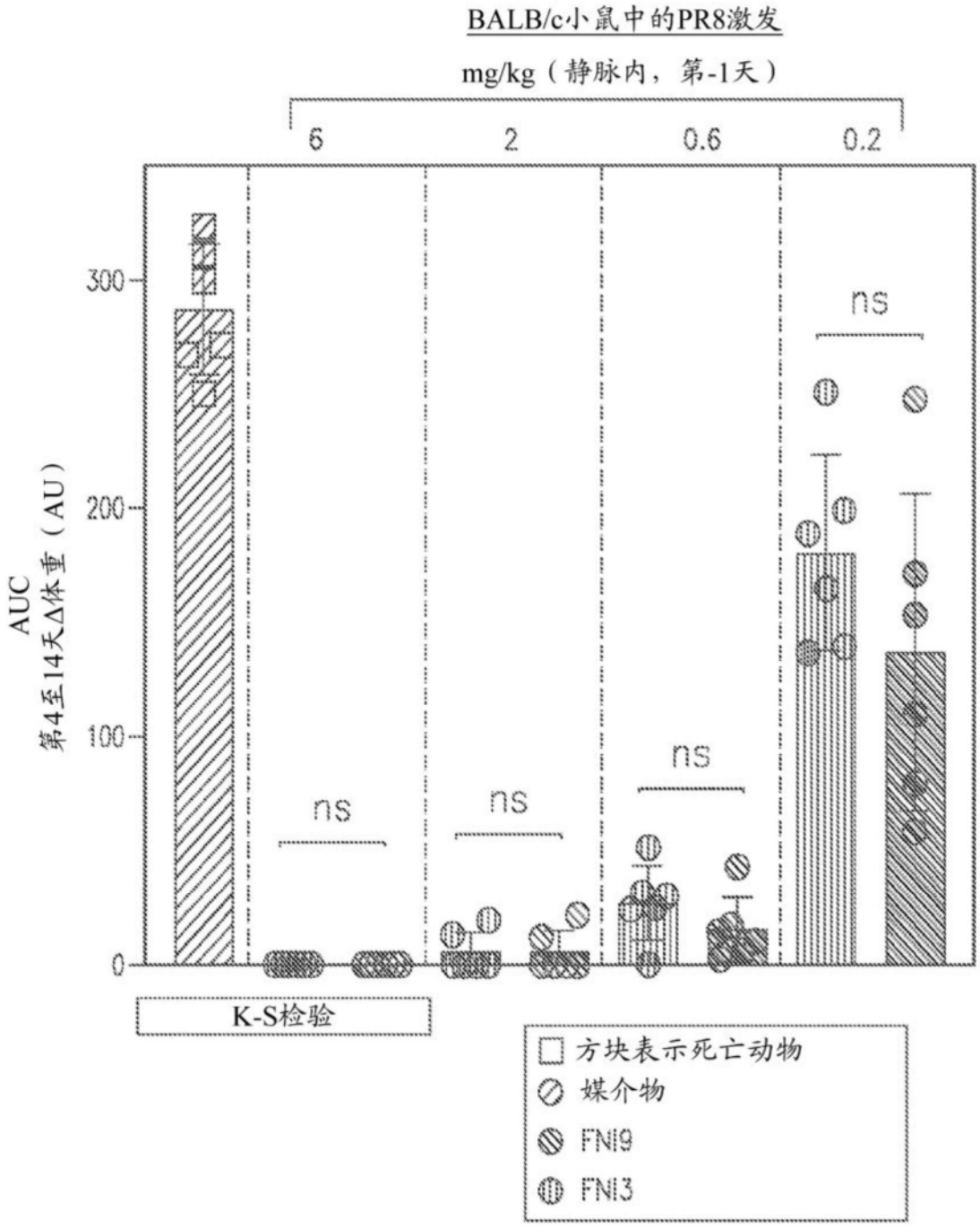

BALB/c小鼠中的PR8激发
mg/kg（静脉内，第-1天）
6
2
0.6
0.2
AUC
第4至14天Δ体重（AU）
300
200
100
0
ns
ns
ns
ns
K-S检验
方块表示死亡动物
媒介物
FN19
FN13

图30A

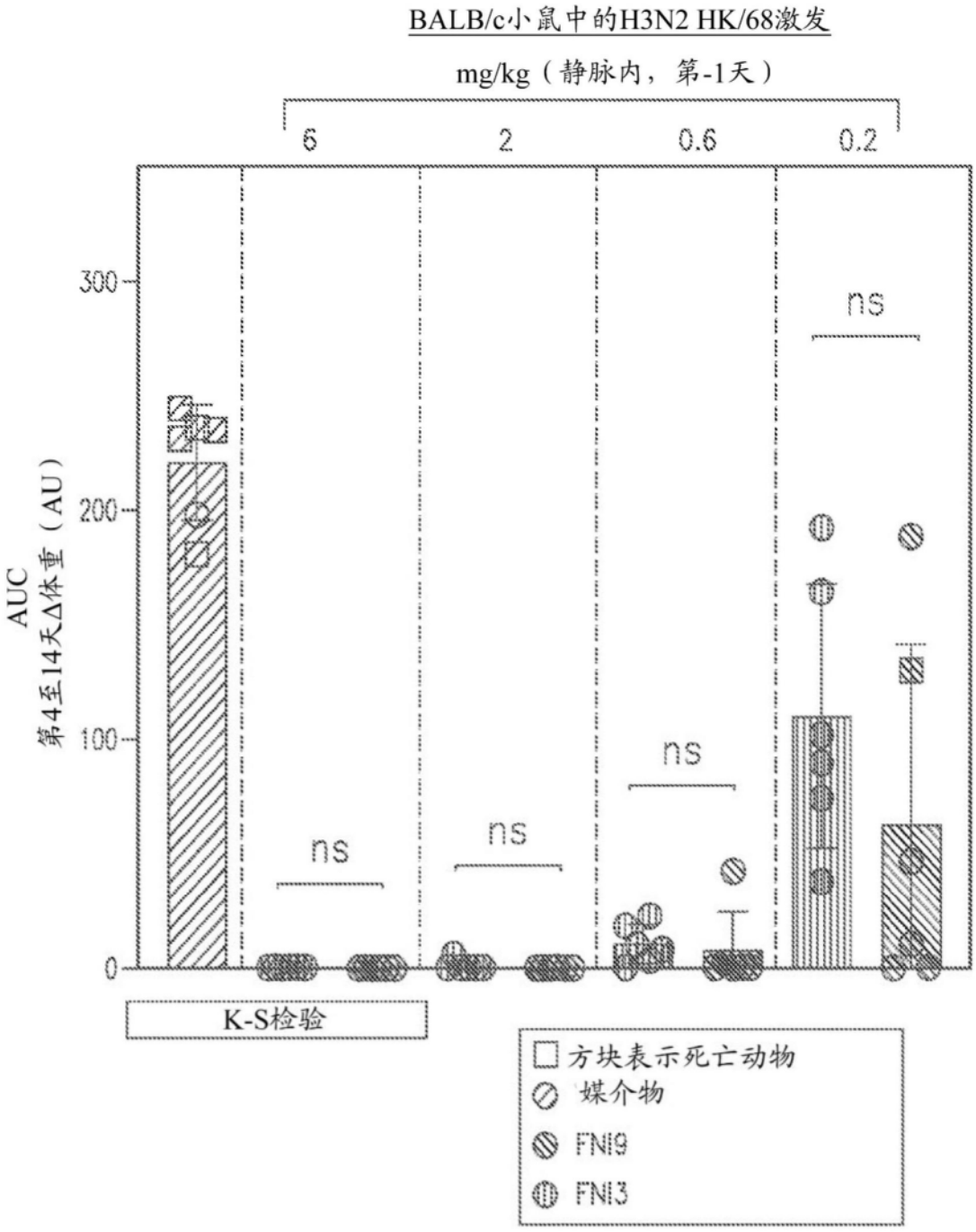

BALB/c小鼠中的H3N2 HK/68激发
mg/kg（静脉内，第-1天）
6
2
0.6
0.2
AUC
第4至14天Δ体重（AU）
300
200
100
0
ns
ns
ns
ns
K-S检验
方块表示死亡动物
媒介物
FN19
FN13

图30B

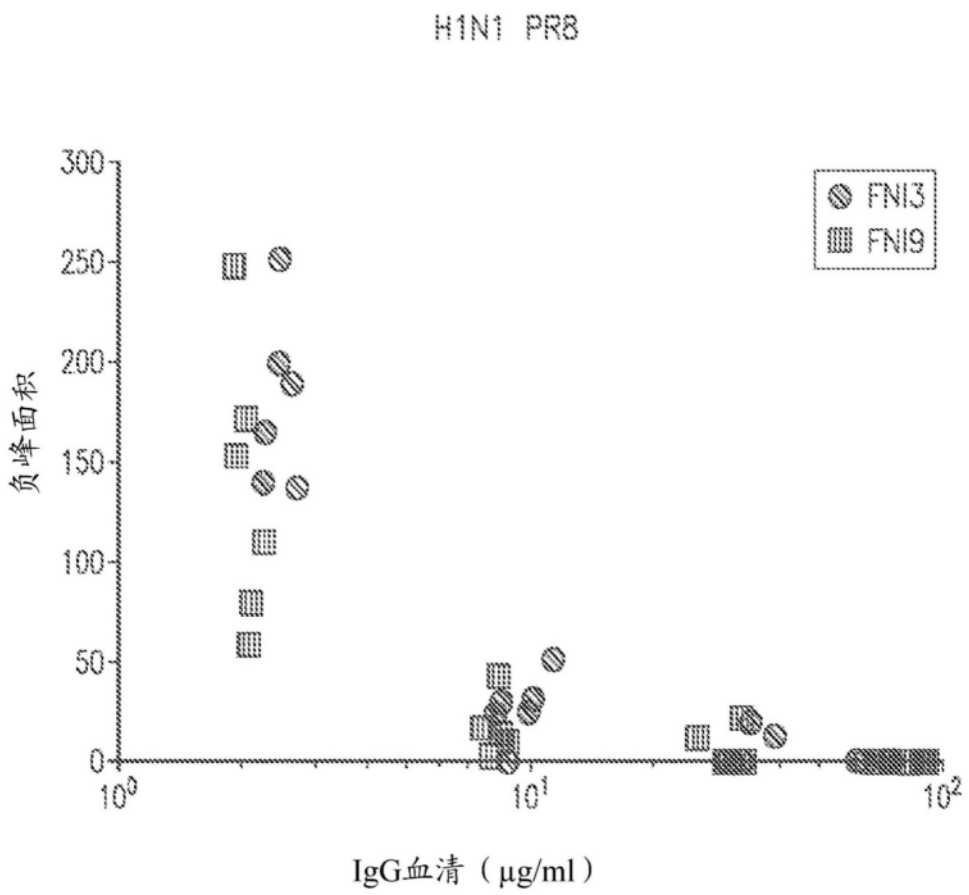

H1N1 PR8
300
250
200
150
100
50
0
负峰面积
FNI3
FNI9
10^0
10^1
10^2
IgG血清（μg/ml）

图31A

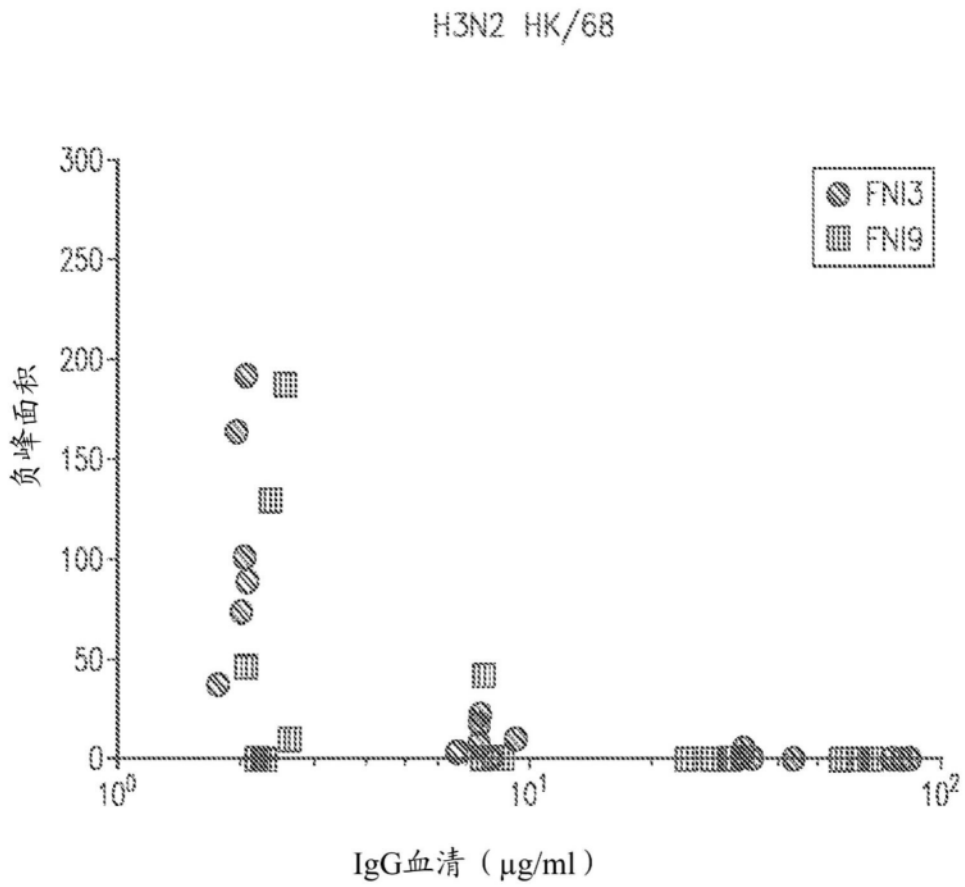

H3N2 HK/68
FNI3
FNI9
负峰面积
300
250
200
150
100
50
0
10^0
10^1
10^2
IgG血清（μg/ml）

图31B

组	剂量（μg）	R平方	拟合点	λ_Z（1/天）	半衰期（天）	AUCLAST（天*μg/mL）	Vz (mL)	CLss（mL/天）
	60.3	0.88	5	0.05	15.1	337.88	30.22	1.39
	61	0.93	5	0.06	11.49	191.19	46.84	2.83
FNI3-LS	60.3	0.84	5	0.06	11.4	237.19	26.22	1.6
	70.8	0.96	5	0.06	11.73	291.55	29.39	1.74
	47.5	0.95	5	0.07	10.46	174.68	29.67	1.97
平均值	59.98	0.911	5	0.058	12.034	253.697	32.47	1.902
标准偏差	8.277	0.052	0	0.008	1.781	69.01	8.183	0.558
	54.8	0.92	5	0.05	14.23	242.18	38.36	1.87
	52.3	0.95	5	0.06	11.04	249.53	23.68	1.49
FNI9-LS	56	0.85	4	0.04	16.64	299.93	45.24	1.88
	53.3	0.84	5	0.05	14.65	233.35	53.54	2.53
	53.3	0.79	5	0.05	14.42	247.92	40.58	1.95
平均值	53.94	0.87	4.8	0.05	14.198	254.583	40.281	1.944
标准偏差	1.457	0.062	0.447	0.008	2.014	26.131	10.952	0.376
	53.5	0.87	4	0.07	10.29	204.54	17.44	1.17
	52.8	0.93	5	0.08	8.58	275.51	12.72	1.03
FM08_LS	54.5	0.87	5	0.09	8	275.84	12.57	1.09
	51.3	0.97	5	0.12	6	173.86	12.02	1.39
	51.3	0.91	5	0.09	7.49	204.07	17.16	1.59
平均值	52.68	0.91	4.8	0.089	8.072	226.764	14.381	1.253
标准偏差	1.397	0.043	0.447	0.018	1.567	46.348	2.677	0.231

图32

组	ID	剂量 (μg)	调整后的R平方	拟合点	λ_Z (1/天)	AU CLAST (天*μg/mL)	AUCINF_obs (天*μg/mL)	CLAST (μg/mL)	MRTINF_obs (天)	Vz (mL)	CLss (mL/天)	半衰期 (天)
1C01-LS		165	0.89	5	0.04	417.16	746.65	14.14	14.45	77.3	3.32	16.15
		145	0.99	5	0.06	421.18	618.57	12.66	8.17	31.91	2.05	10.8
		160	0.93	5	0.05	429.26	685.83	13.16	9.94	47.82	2.45	13.52
		115	0.93	5	0.06	453.66	725.08	16.88	12.9	34.37	2.14	11.15
		136	0.87	5	0.06	454.1	706.12	15.11	11.55	39	2.34	11.56
	平均值	144.2	0.923	5	0.056	435.073	696.451	14.39	11.401	46.079	2.458	12.636
	标准偏差	20.017	0.047	0	0.009	17.714	49.02	1.679	2.456	18.479	0.506	2.23

图32(续)

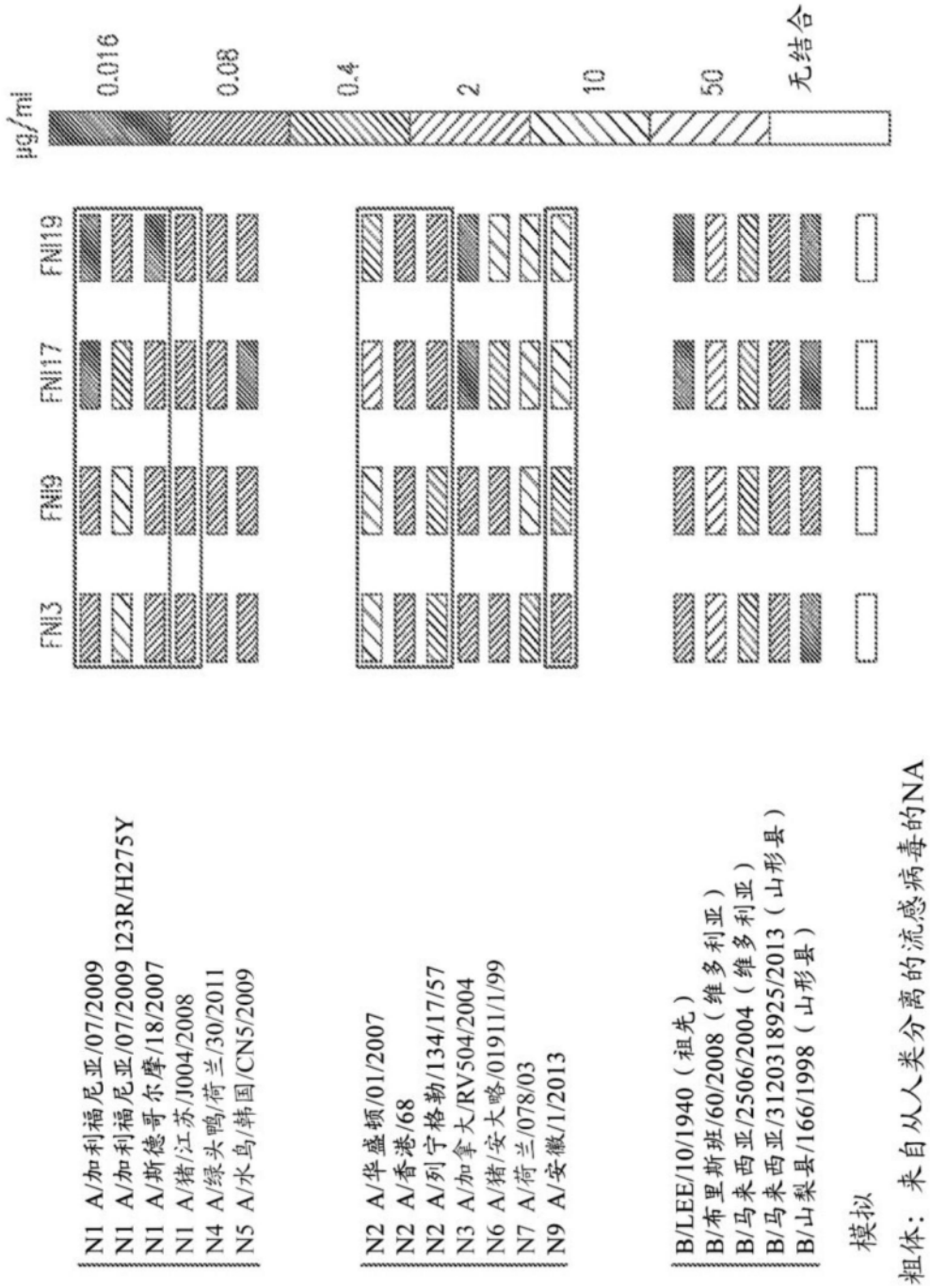

μg/ml
0.016
0.08
0.4
2
10
50
无结合
FN13
FN19
FN9
FN17
第1组
N1 A/加利福尼亚/07/2009
N1 A/加利福尼亚/07/2009 I23R/H275Y
N1 A/斯德哥尔摩/18/2007
N1 A/猪/江苏/J004/2008
N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011
N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009
第2组
N2 A/华盛顿/01/2007
N2 A/香港/68
N2 A/列宁格勒/134/17/57
N3 A/加拿大/RV504/2004
N6 A/猪/安大略/01911/1/99
N7 A/荷兰/078/03
N9 A/安徽/1/2013
IBV NA
B/LEE/10/1940（祖先）
B/布里斯班/60/2008（维多利亚）
B/马来西亚/2506/2004（维多利亚）
B/马来西亚/3120318925/2013（山形县）
B/山梨县/166/1998（山形县）
模拟
粗体：来自从人类分离的流感病毒的NA

图33

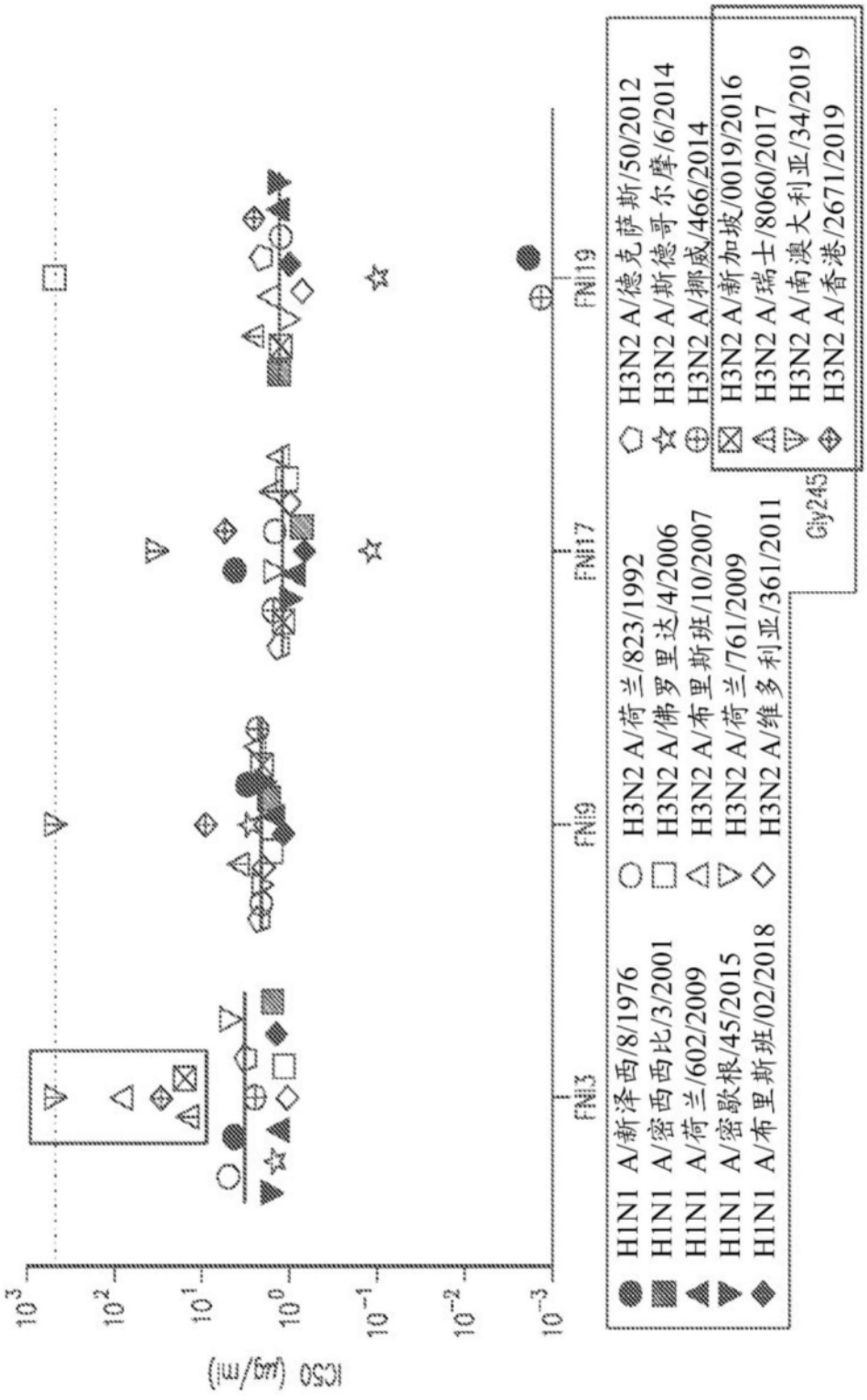

IC50 (ng/ml)
10^{3}
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
FN13
FN15
FN17
FN19
H1N1 A/新泽西/8/1976
H1N1 A/密西西比/3/2001
H1N1 A/荷兰/602/2009
H1N1 A/密歇根/45/2015
H1N1 A/布里斯班/02/2018
H3N2 A/荷兰/823/1992
H3N2 A/佛罗里达/4/2006
H3N2 A/布里斯班/10/2007
H3N2 A/荷兰/761/2009
H3N2 A/维多利亚/361/2011
H3N2 A/德克萨斯/50/2012
H3N2 A/斯德哥尔摩/6/2014
H3N2 A/挪威/466/2014
H3N2 A/新加坡/0019/2016
H3N2 A/瑞士/8060/2017
H3N2 A/南澳大利亚/34/2019
H3N2 A/香港/2671/2019
Gly245
对一组H1N1、H3N2人甲型流感病毒的体外神经氨酸酶抑制（NAI）活性

图34

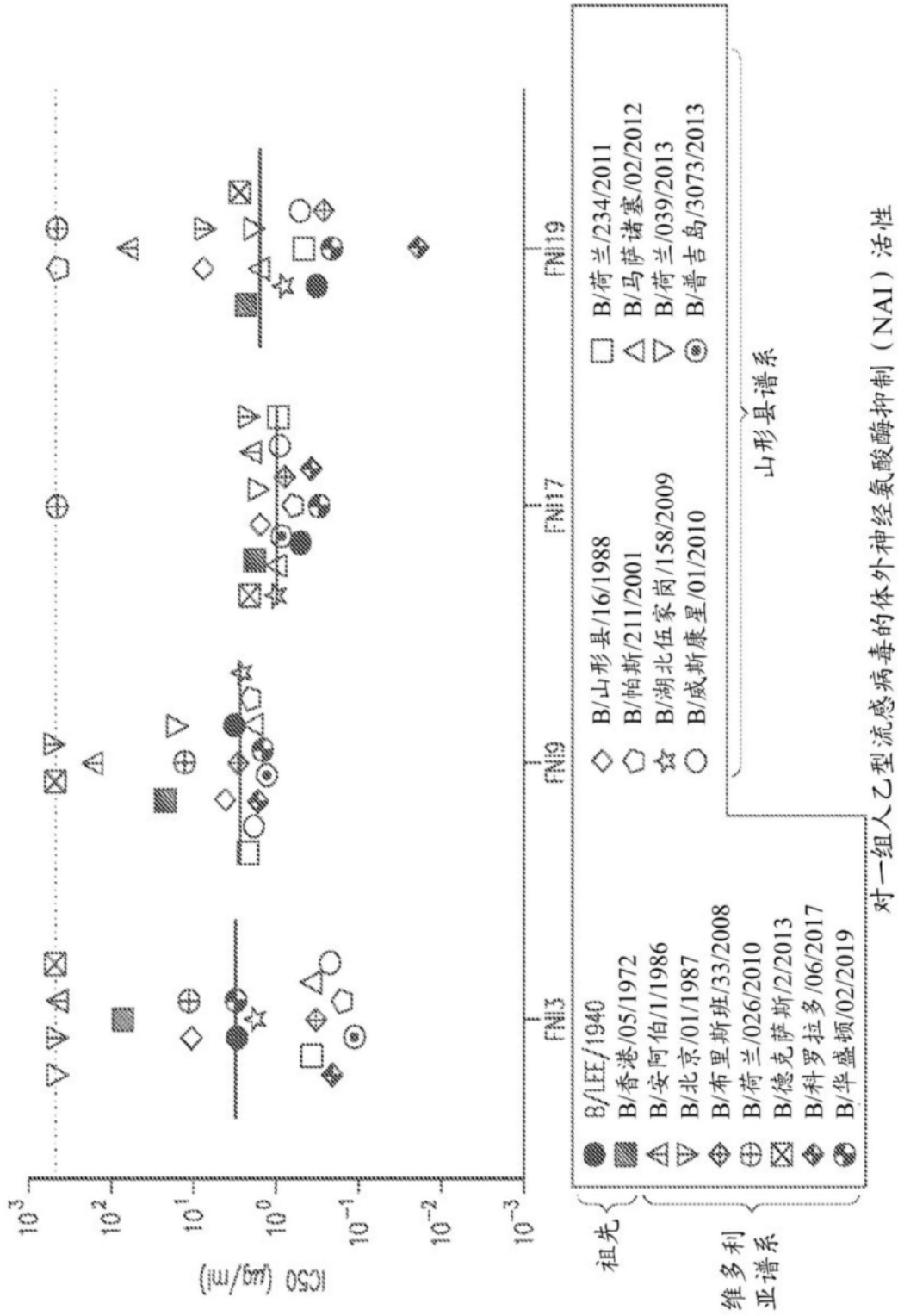

IC50 (μg/ml)
10^{3}
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
FN13
FN9
FN17
FN19
祖先
维多利亚谱系
B/LEE/1940
B/香港/05/1972
B/安阿伯/1/1986
B/北京/01/1987
B/布里斯班/33/2008
B/荷兰/026/2010
B/德克萨斯/2/2013
B/科罗拉多/06/2017
B/华盛顿/02/2019
B/山形县/16/1988
B/帕斯/211/2001
B/湖北伍家岗/158/2009
B/威斯康星/01/2010
山形县谱系
B/荷兰/234/2011
B/马萨诸塞/02/2012
B/荷兰/039/2013
B/普吉岛/3073/2013
对一组人乙型流感病毒的体外神经氨酸酶抑制（NAI）活性

图35

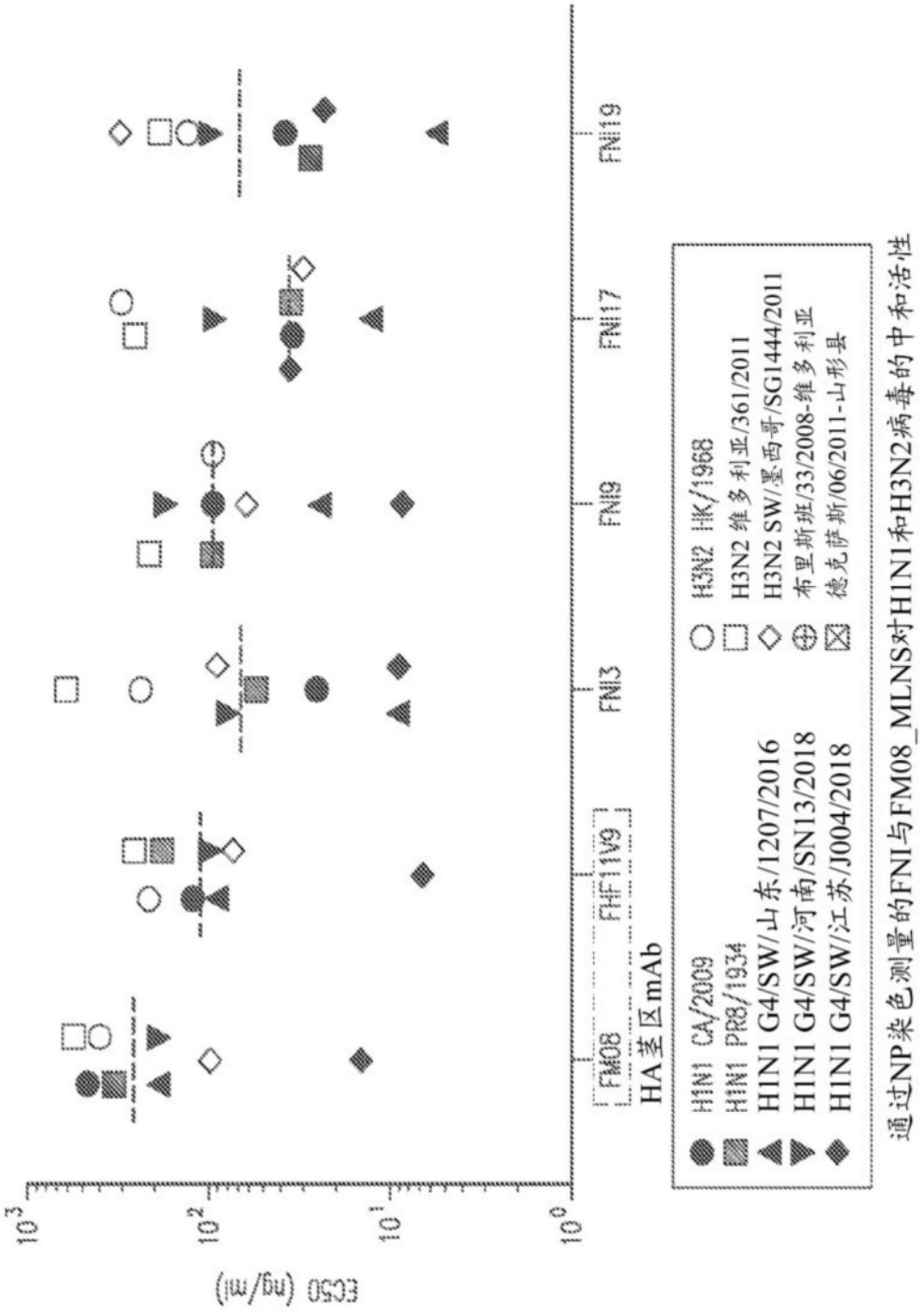

通过NP染色测量的FNI与FM08_MLNS对H1N1和H3N2病毒的中和活性
EC50 (ng/ml)
10^3
10^2
10^1
10^0
FM08
FHF11V9
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
HA茎区mAb
H1N1 CA/2009
H1N1 PR8/1934
H1N1 G4/SW/山东/1207/2016
H1N1 G4/SW/河南/SN13/2018
H1N1 G4/SW/江苏/J004/2018
H3N2 HK/1968
H3N2 维多利亚/361/2011
H3N2 SW/墨西哥/SG1444/2011
布里斯班/33/2008-维多利亚
德克萨斯/06/2011-山形县

图36

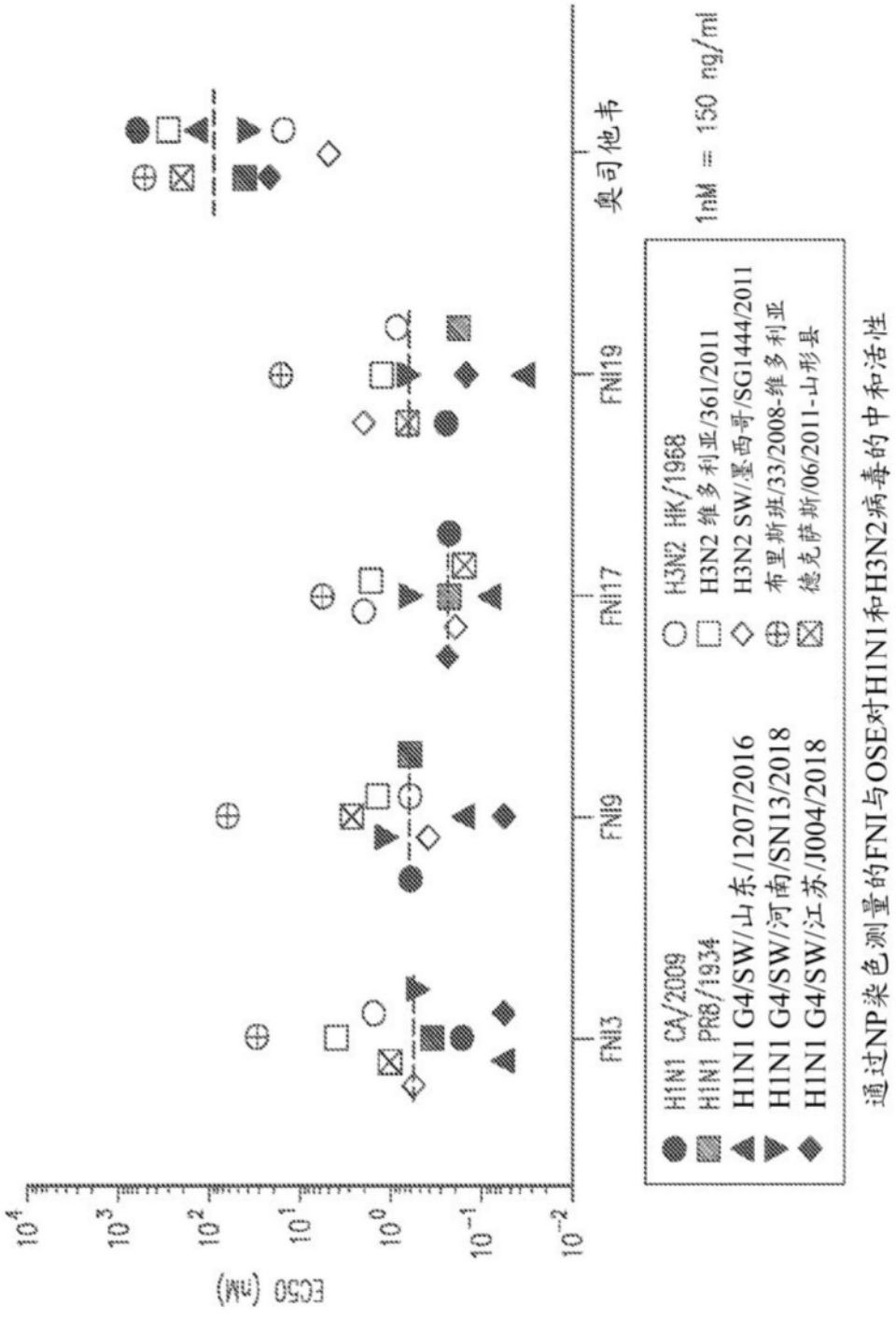

EC50 (nM)
10^{4}
10^{3}
10^{2}
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
奥司他韦
1nM = 150 ng/ml
H1N1 CA/2009
H1N1 PR8/1934
H1N1 G4/SW/山东/1207/2016
H1N1 G4/SW/河南/SN13/2018
H1N1 G4/SW/江苏/J004/2018
H3N2 HK/1968
H3N2 维多利亚/361/2011
H3N2 SW/墨西哥/SG1444/2011
布里斯班/33/2008-维多利亚
德克萨斯/06/2011-山形县
通过NP染色测量的FNI与OSE对H1N1和H3N2病毒的中和活性

图37

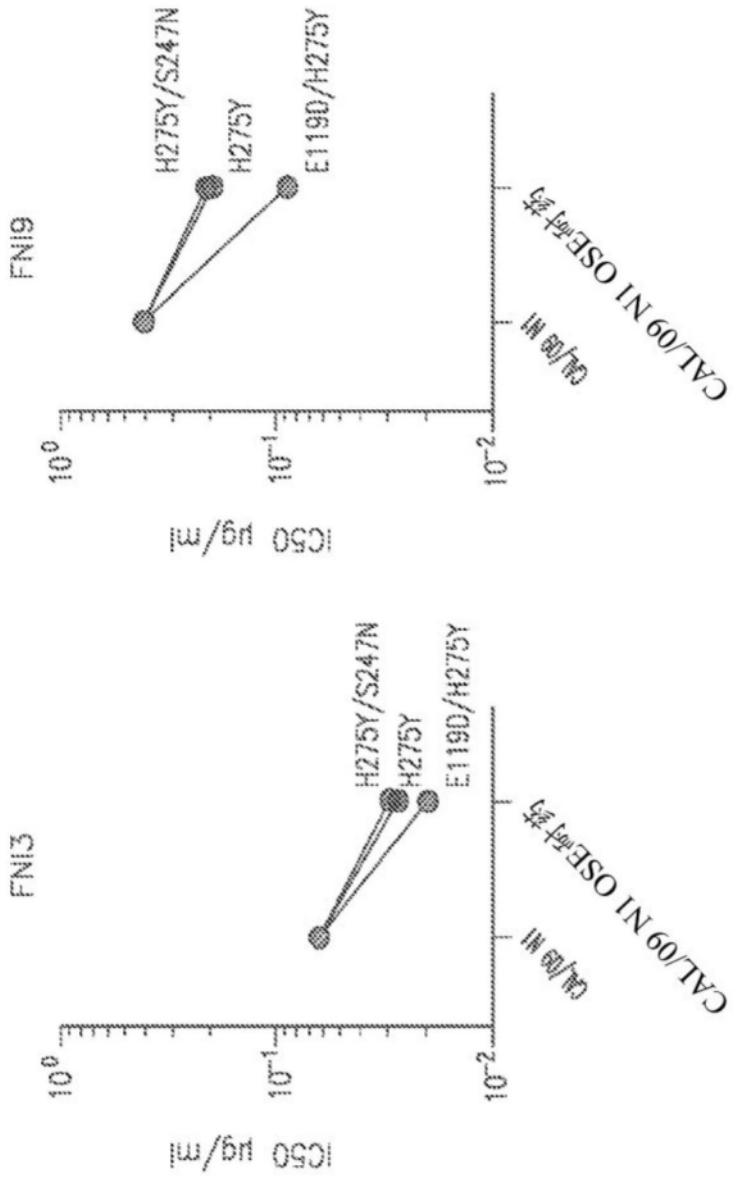

FN19
H275Y/S247N
H275Y
E119D/H275Y
CAL/09 NI OSEmut 的
Cal/09 NI
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
IC50 μg/ml
FN13
H275Y/S247N
H275Y
E119D/H275Y
CAL/09 NI OSEmut 的
Cal/09 NI
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
IC50 μg/ml

图38A

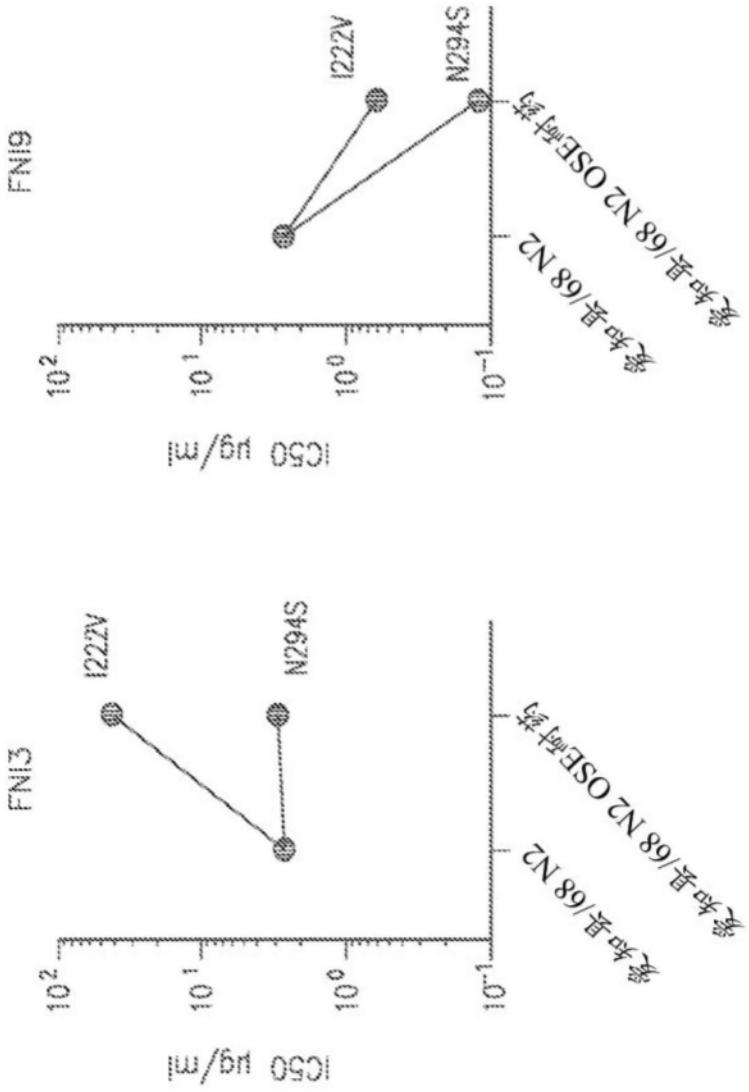

FN19
I222V
N294S
聚加-普/68 N2 OSE耐热
聚加-普/68 N2
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
IC50 μg/ml
FN13
I222V
N294S
聚加-普/68 N2 OSE耐热
聚加-普/68 N2
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
IC50 μg/ml

图38B

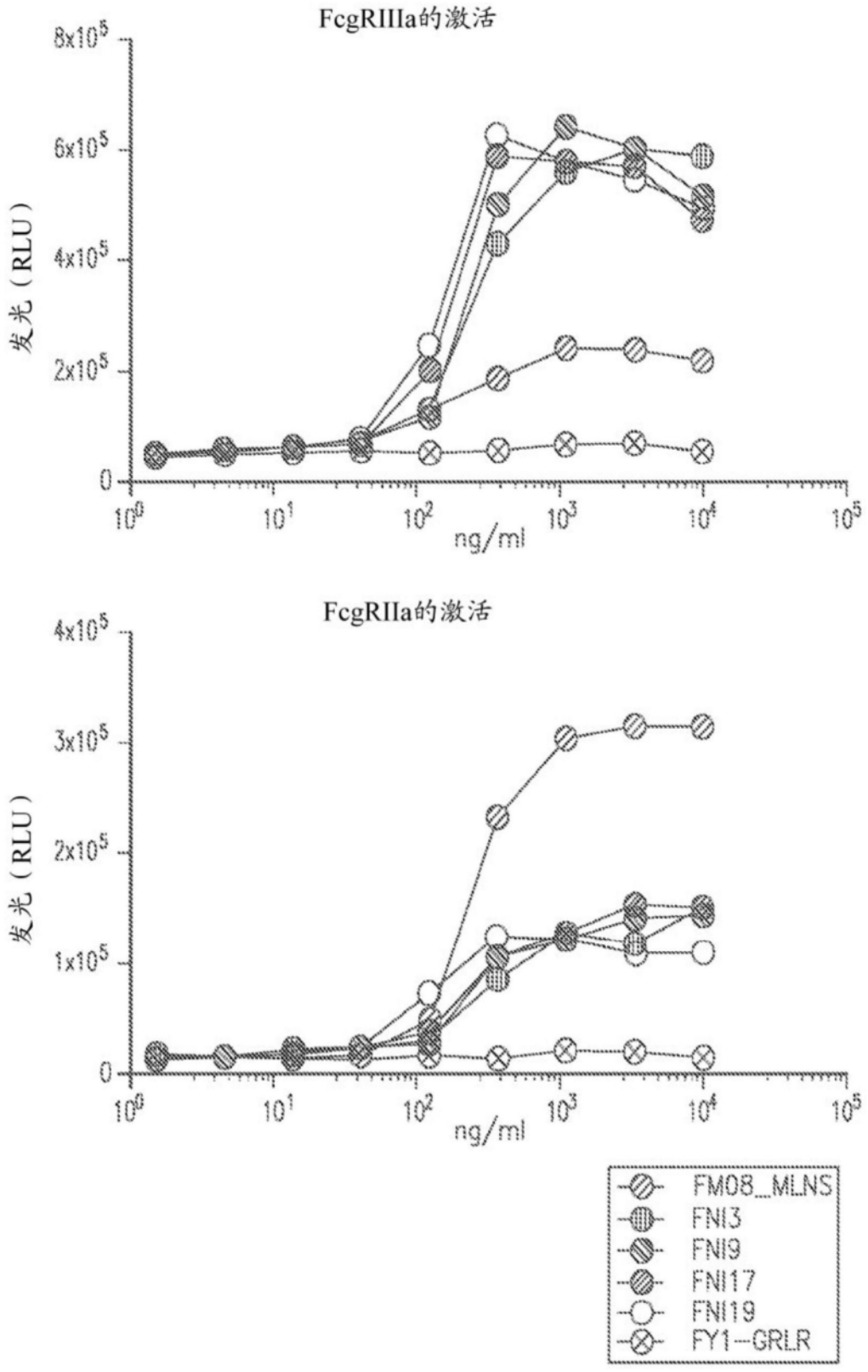

FcgRIIIa的激活
发光（RLU）
8x10^5
6x10^5
4x10^5
2x10^5
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
ng/ml
FcgRIIa的激活
发光（RLU）
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
ng/ml
FM08_MLNS
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图39

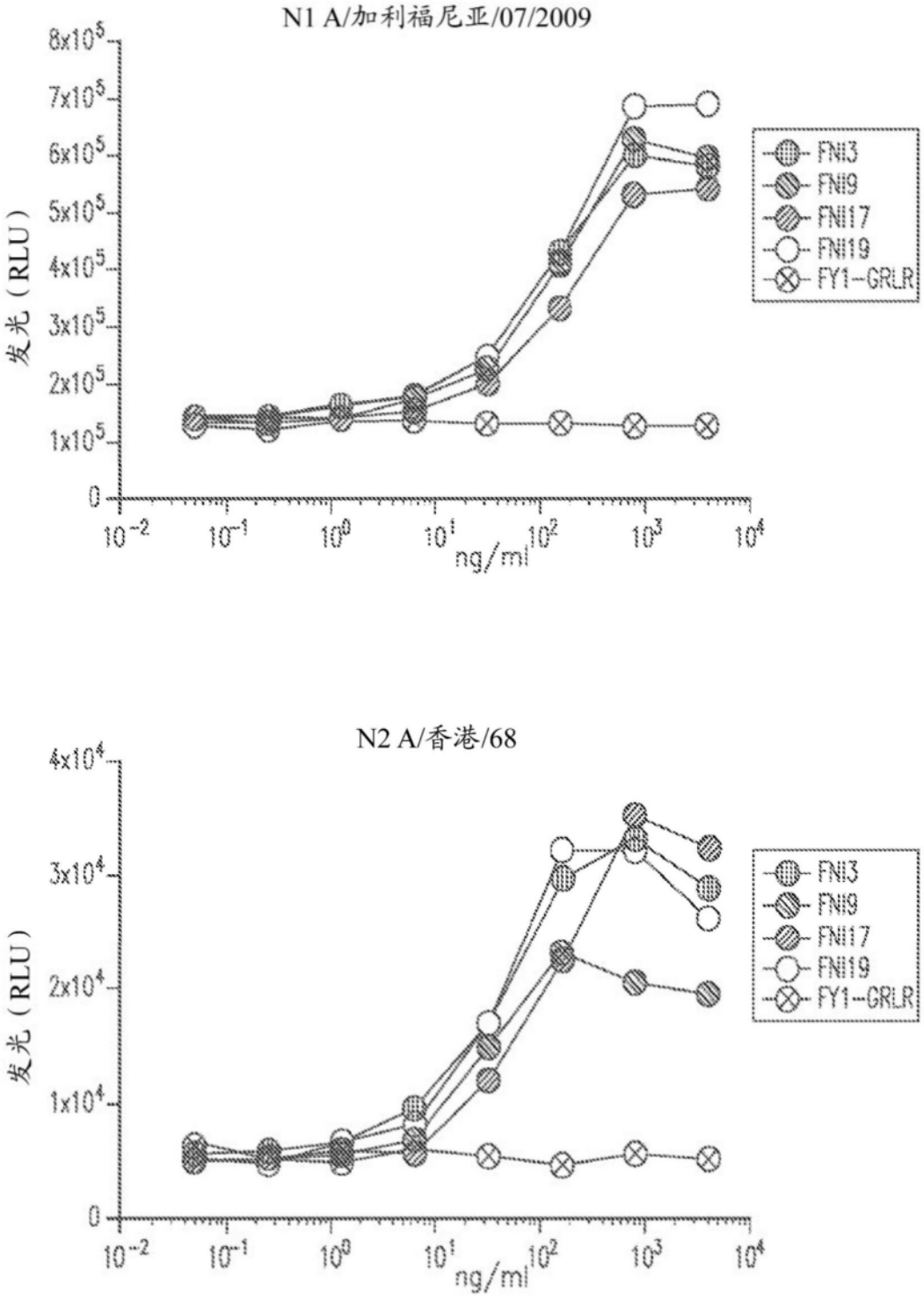

N1 A/加利福尼亚/07/2009
发光（RLU）
8x10^5
7x10^5
6x10^5
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
N2 A/香港/68
发光（RLU）
4x10^4
3x10^4
2x10^4
1x10^4
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图40A

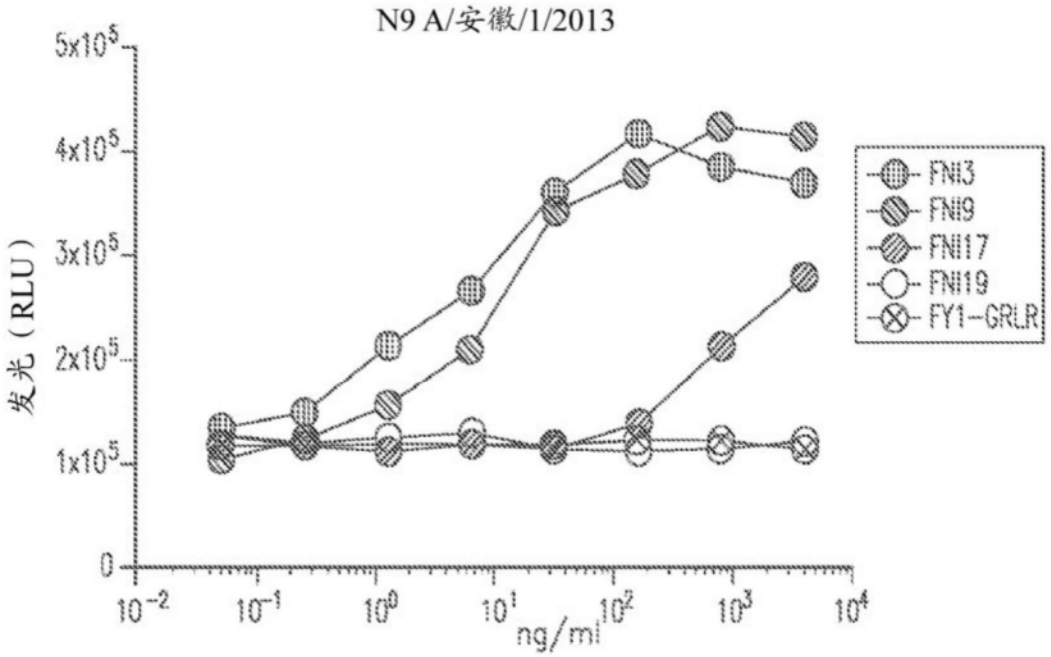

N9 A/安徽/1/2013
发光（RLU）
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图40A(续)

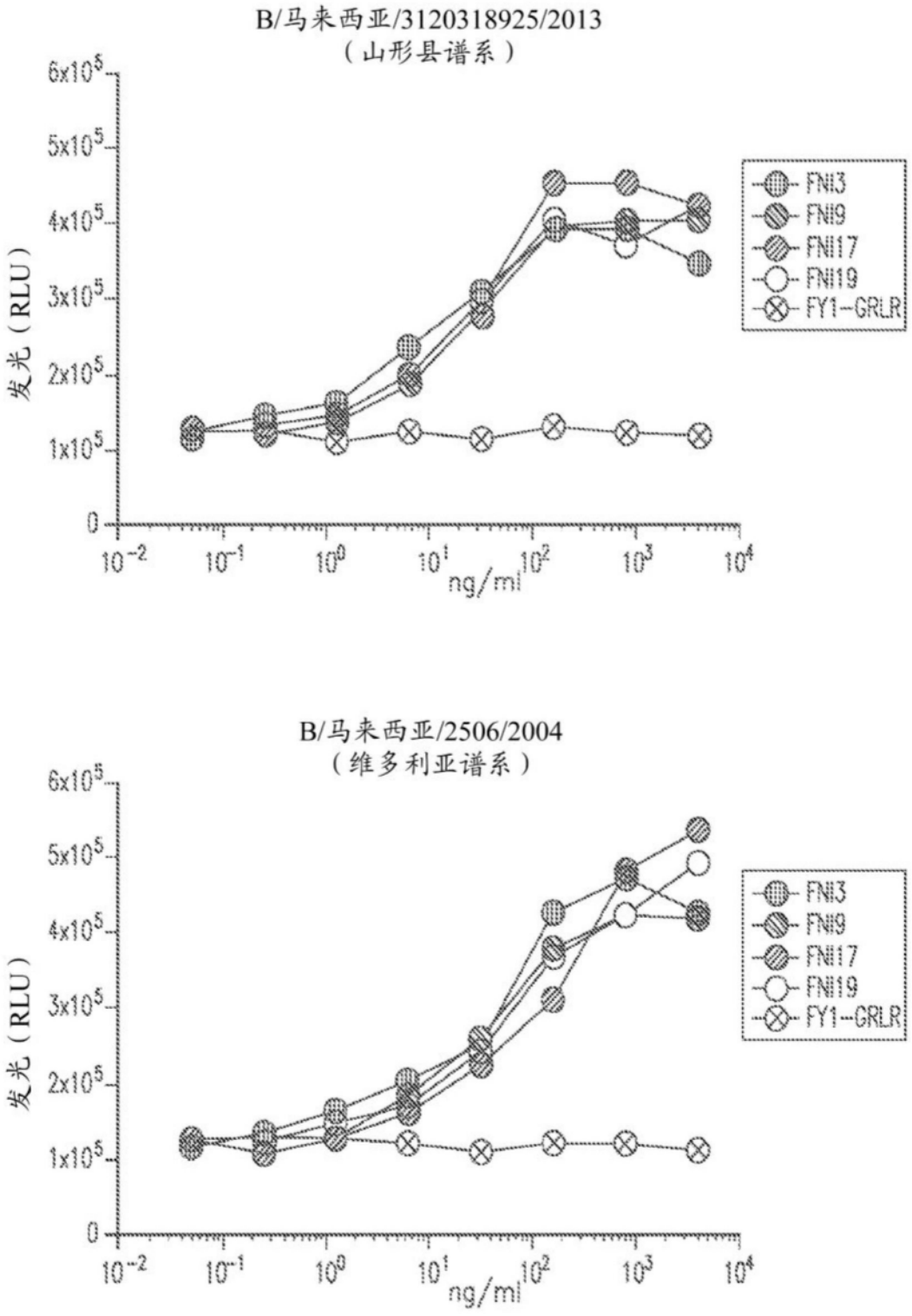

B/马来西亚/3120318925/2013
（山形县谱系）
发光（RLU）
6x10^5
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
B/马来西亚/2506/2004
（维多利亚谱系）
发光（RLU）
6x10^5
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图40B

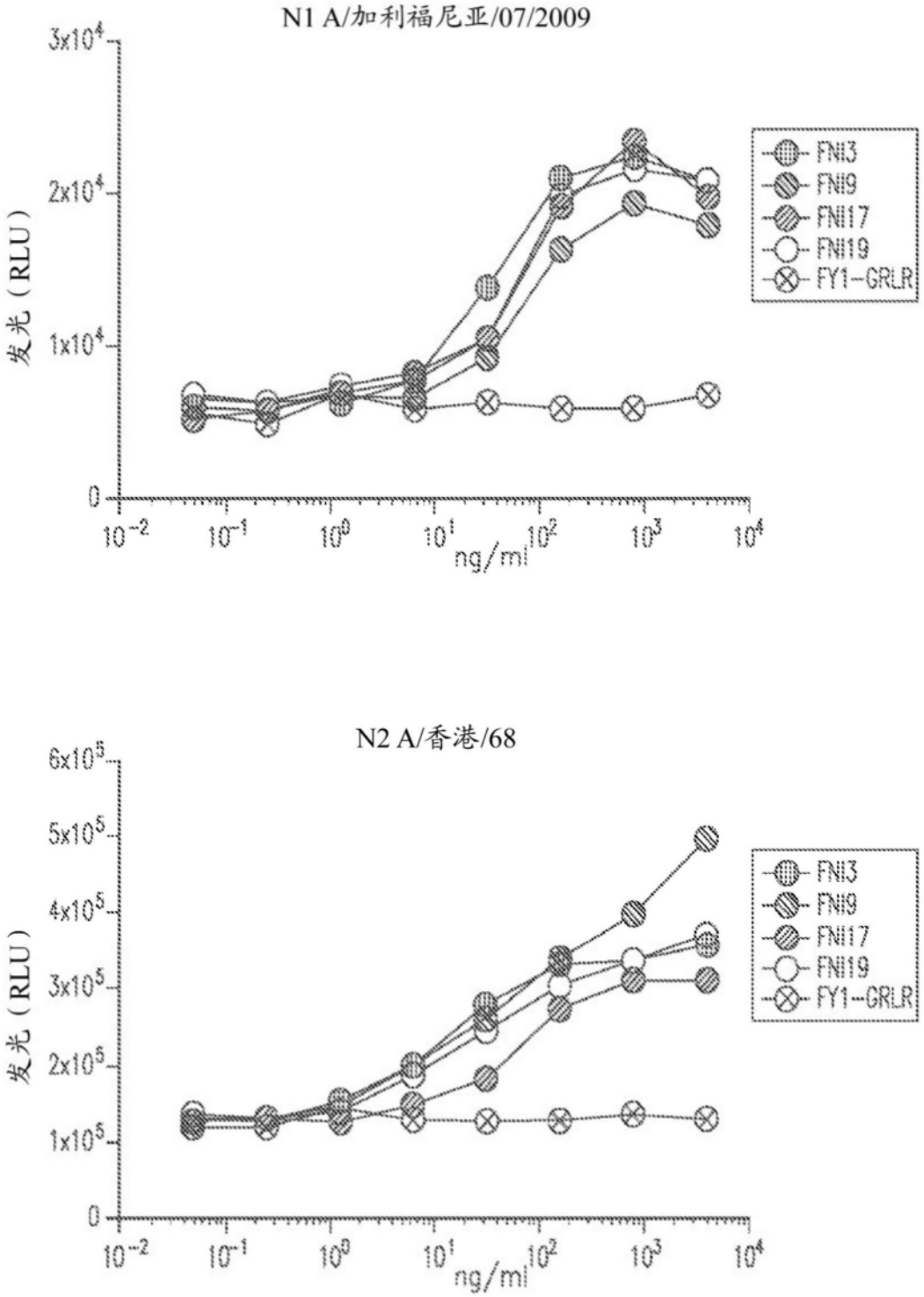

N1 A/加利福尼亚/07/2009
发光（RLU）
3x10^4
2x10^4
1x10^4
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
N2 A/香港/68
发光（RLU）
6x10^5
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图41A

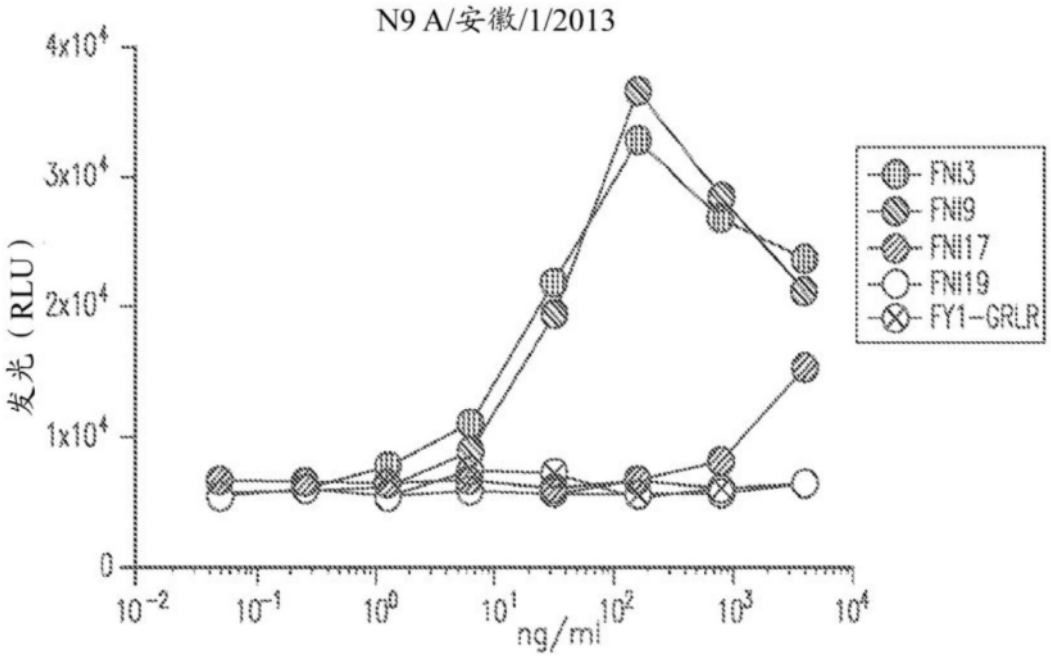

N9 A/安徽/1/2013
4x10⁴
3x10⁴
2x10⁴
1x10⁴
0
发光（RLU）
10⁻²
10⁻¹
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图41A(续)

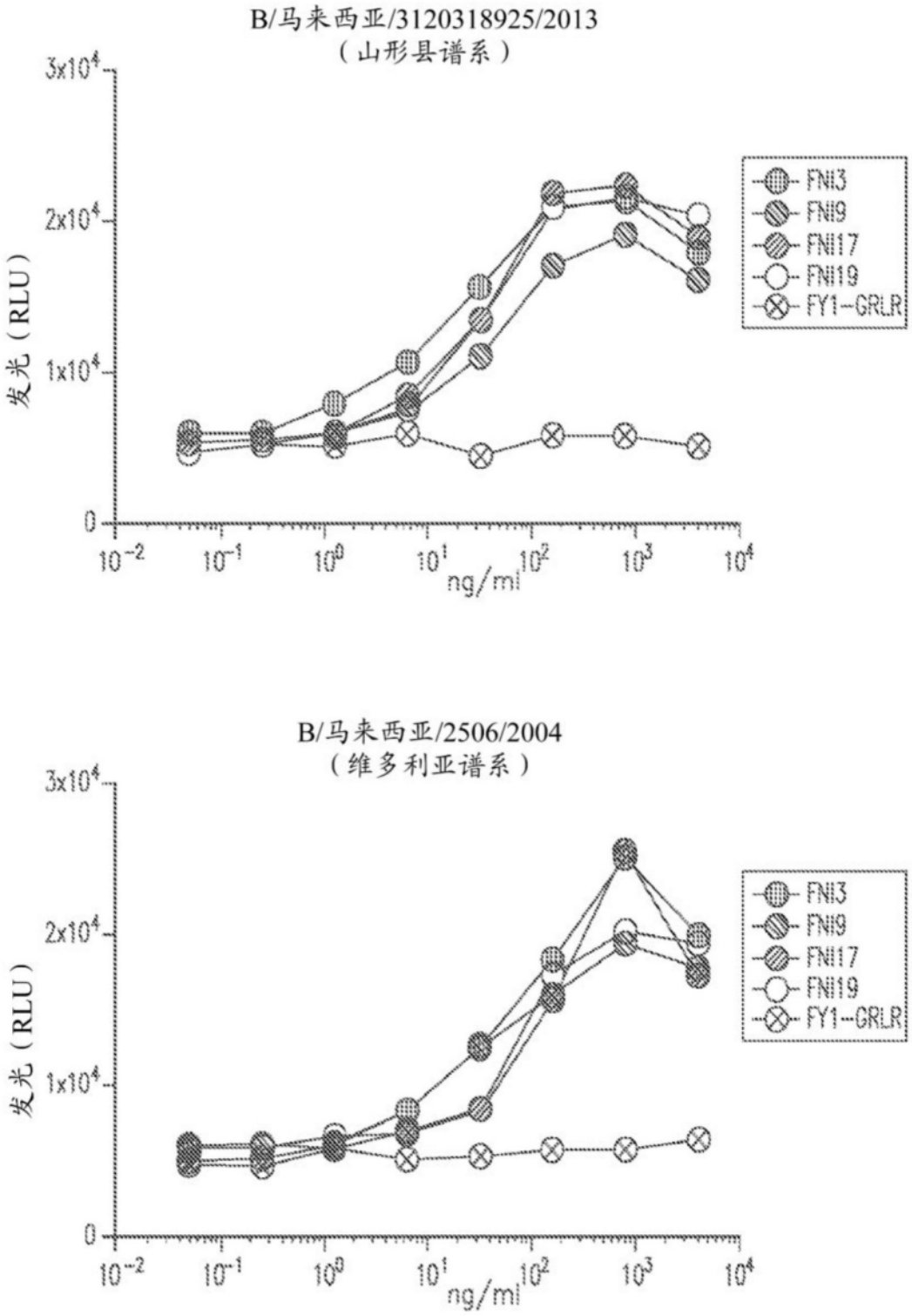

B/马来西亚/3120318925/2013
（山形县谱系）
发光（RLU）
3x10⁴
2x10⁴
1x10⁴
0
10⁻²
10⁻¹
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
B/马来西亚/2506/2004
（维多利亚谱系）
发光（RLU）
3x10⁴
2x10⁴
1x10⁴
0
10⁻²
10⁻¹
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
ng/ml
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR

图41B

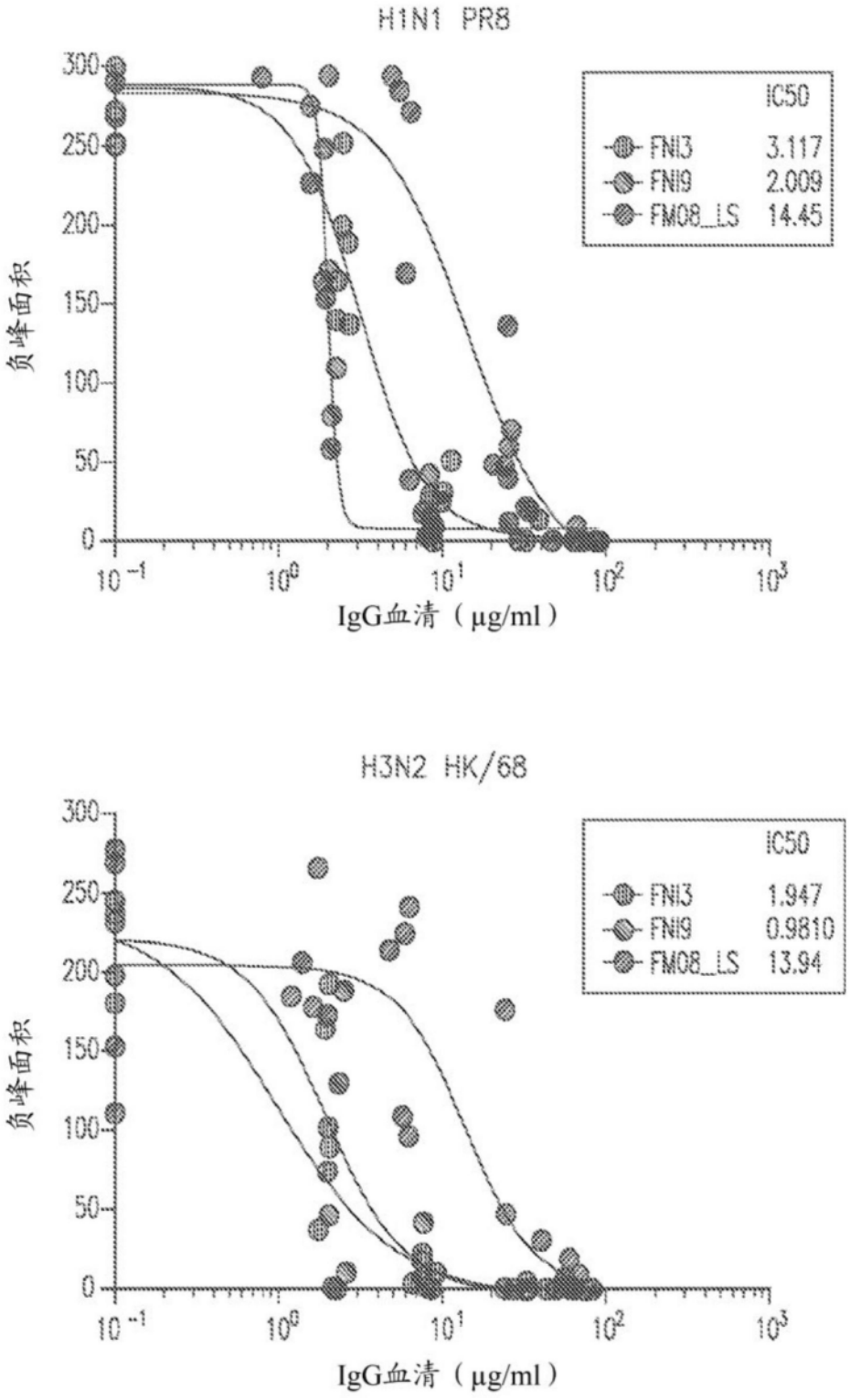
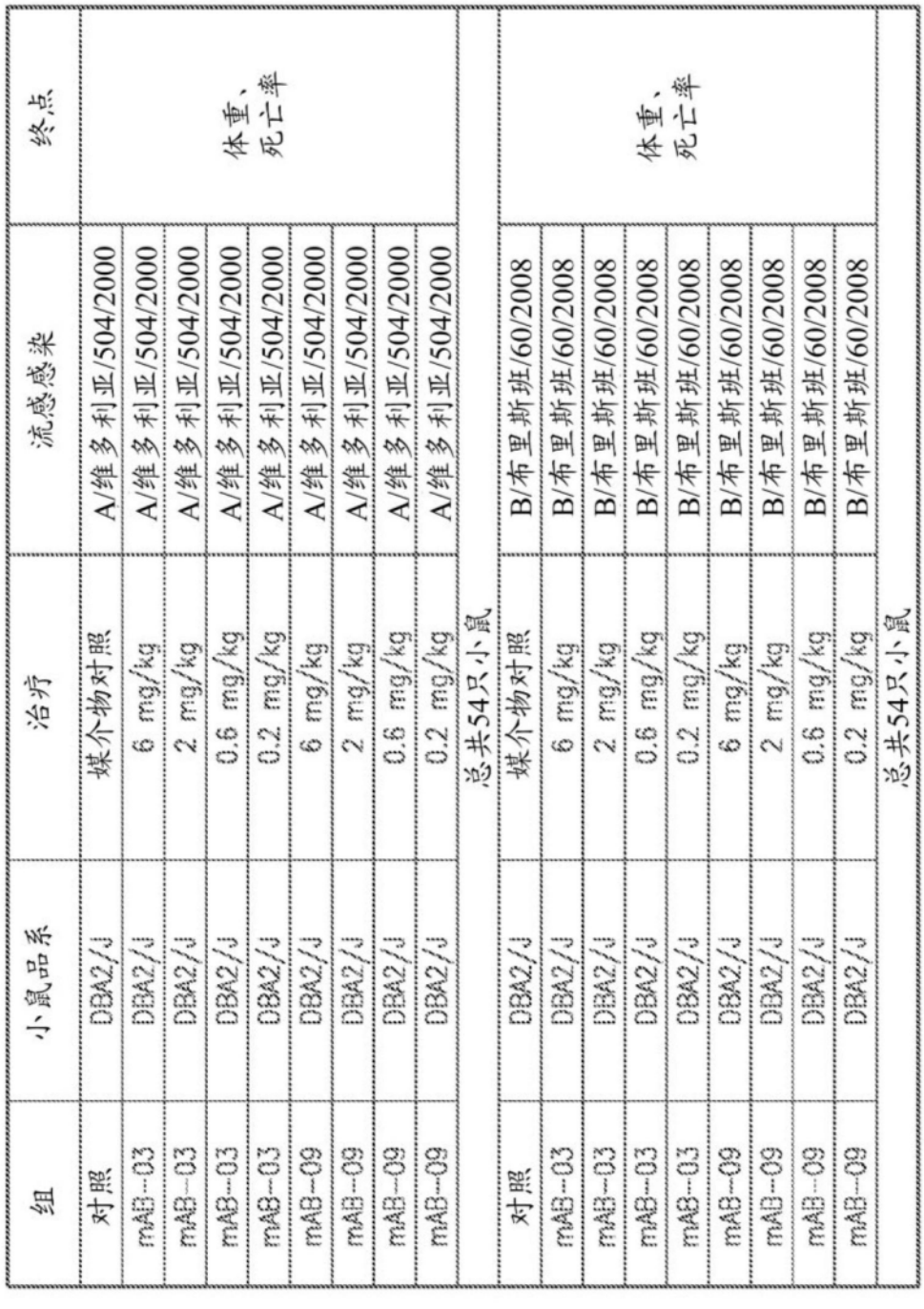

H1N1 PR8
IC50
FNI3 3.117
FNI9 2.009
FM08_LS 14.45
负峰面积
IgG血清（μg/ml）
H3N2 HK/68
IC50
FNI3 1.947
FNI9 0.9810
FM08_LS 13.94
负峰面积
IgG血清（μg/ml）

图42



组	小鼠品系	治疗	流感感染	终点
对照	DBA2/J	媒介物对照	A/维多利亚/504/2000	体重、死亡率
mAB--03	DBA2/J	6 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--03	DBA2/J	2 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--03	DBA2/J	0.6 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--03	DBA2/J	0.2 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--09	DBA2/J	6 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--09	DBA2/J	2 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--09	DBA2/J	0.6 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
mAB--09	DBA2/J	0.2 mg/kg	A/维多利亚/504/2000	
总共54只小鼠				
对照	DBA2/J	媒介物对照	B/布里斯班/60/2008	体重、死亡率
mAB--03	DBA2/J	6 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--03	DBA2/J	2 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--03	DBA2/J	0.6 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--03	DBA2/J	0.2 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--09	DBA2/J	6 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--09	DBA2/J	2 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--09	DBA2/J	0.6 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
mAB--09	DBA2/J	0.2 mg/kg	B/布里斯班/60/2008	
总共54只小鼠				

mAB--03 = FN13--rIgG--LG
mAB--09 = FN19--rIgG--LG

图43A

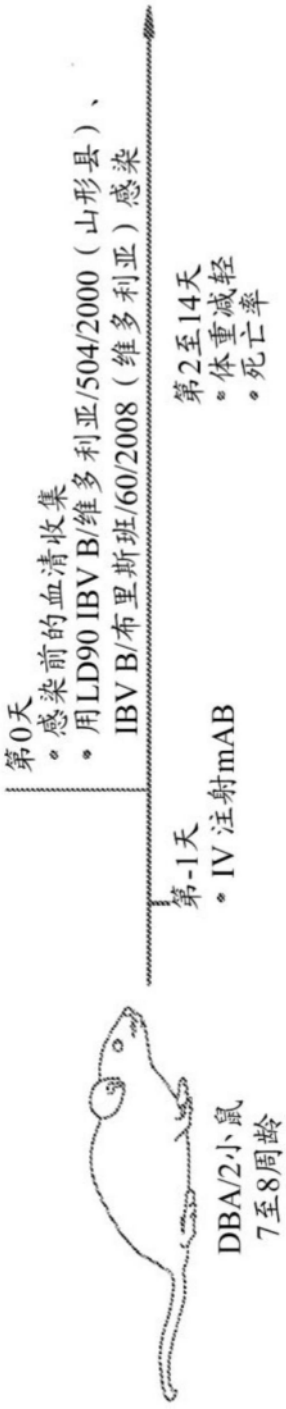

第0天
。感染前的血清收集
。用LD90 IBV B/维多利亚/504/2000（山形县）、
IBV B/布里斯班/60/2008（维多利亚）感染
第-1天
。IV注射mAB
第2至14天
。体重减轻
。死亡率
DBA/2小鼠
7至8周龄

图43B

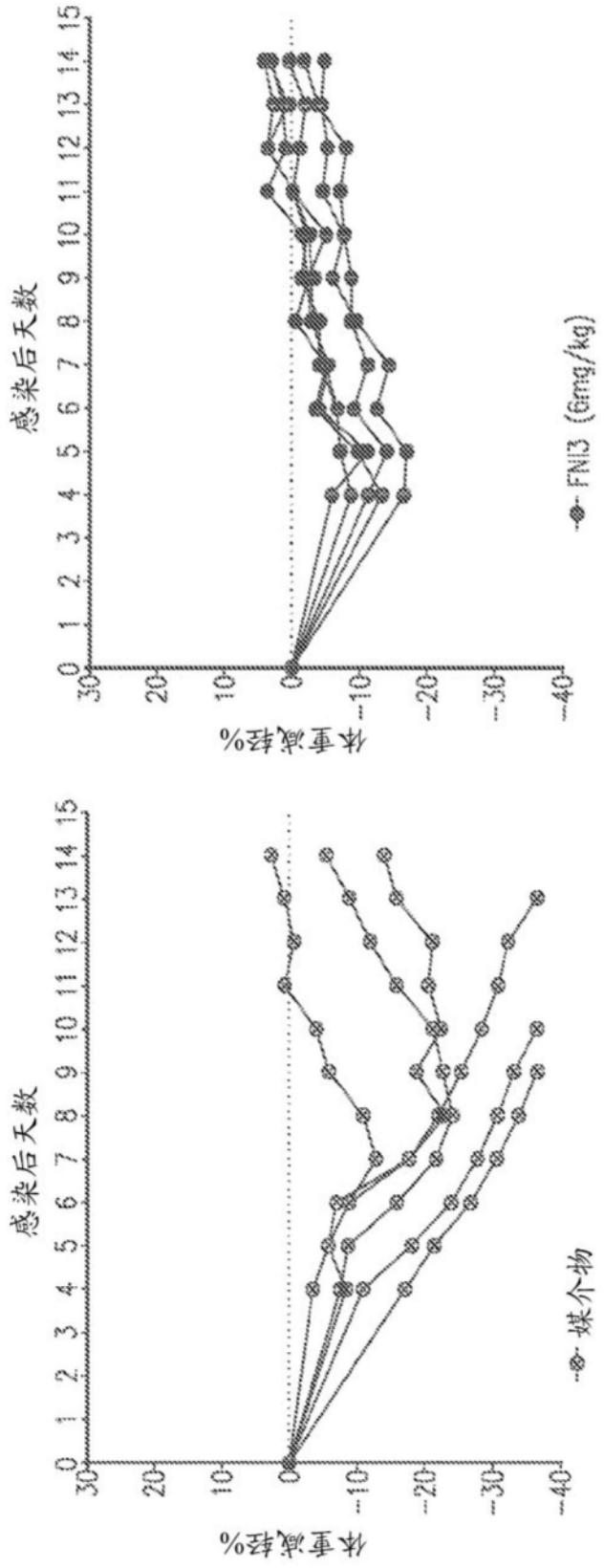

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FNI3 (6mg/kg)
媒介物

图44A

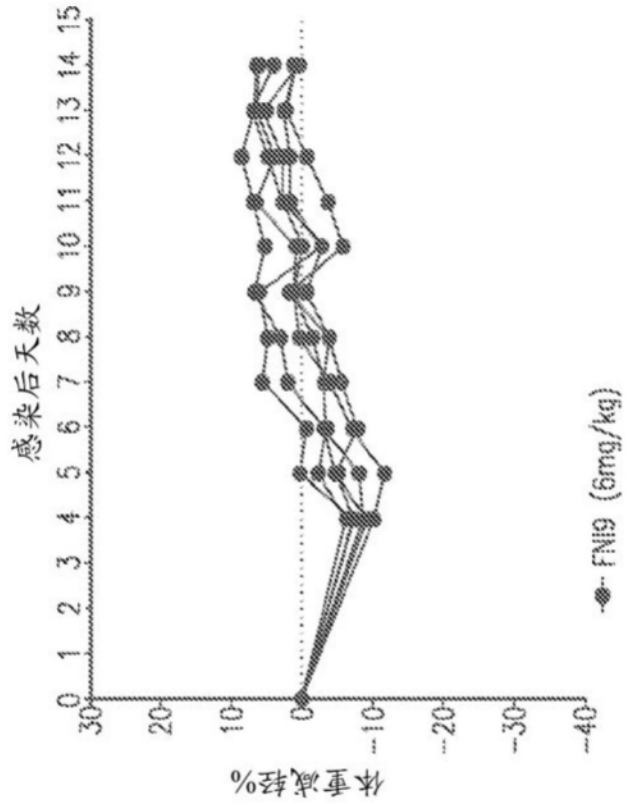

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (6mg/kg)

图44A(续)

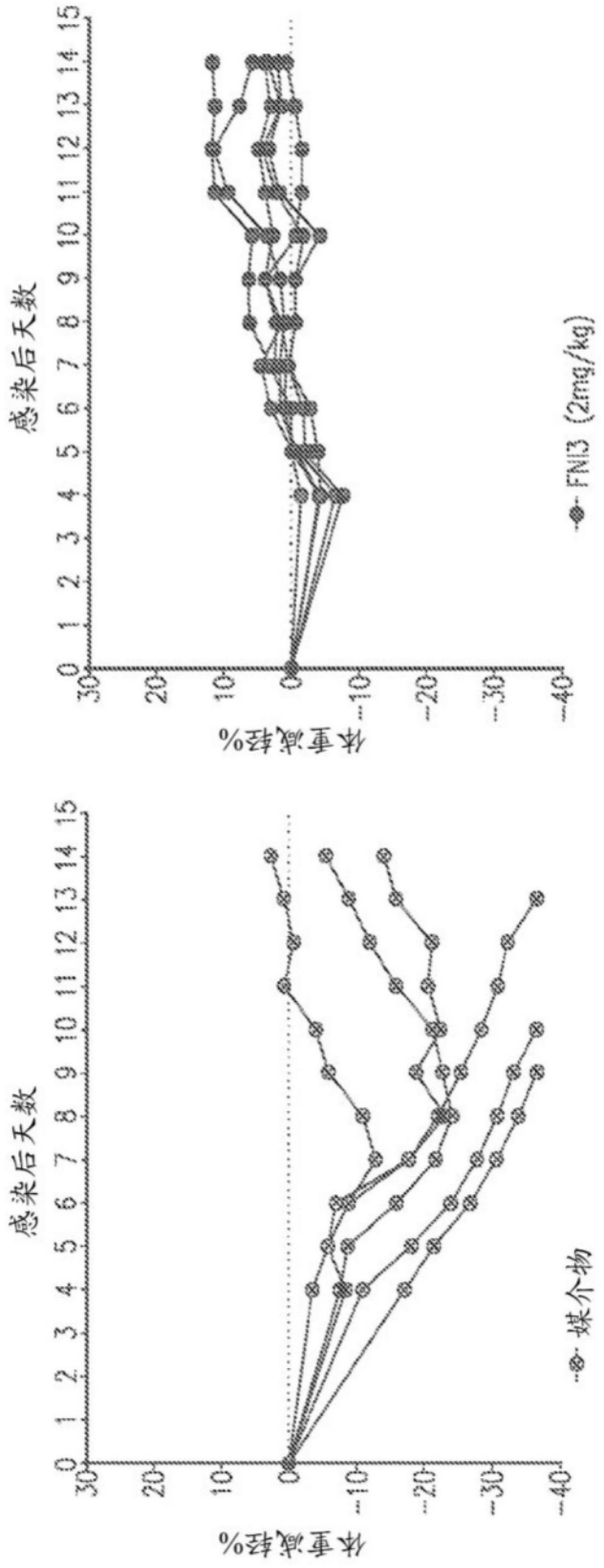

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN13 (2mg/kg)
媒介物

图44B

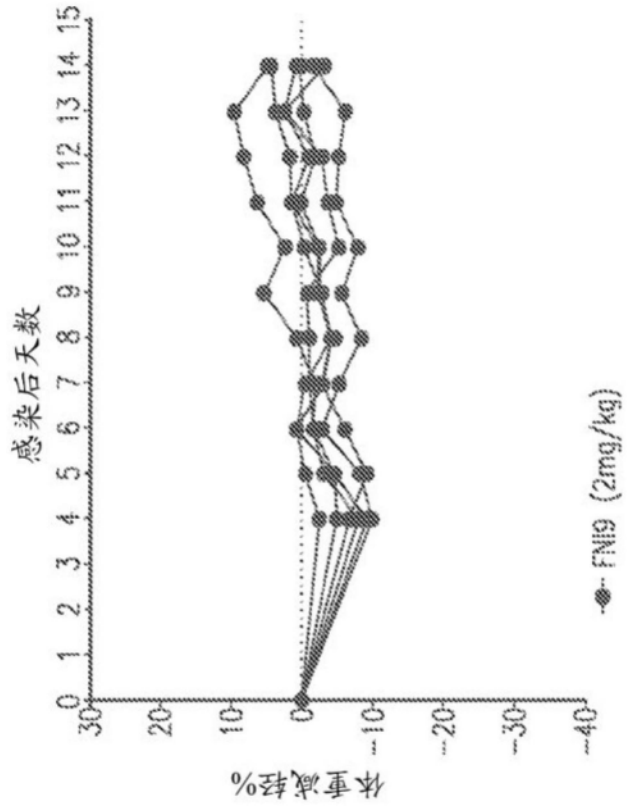

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (2mg/kg)

图44B(续)

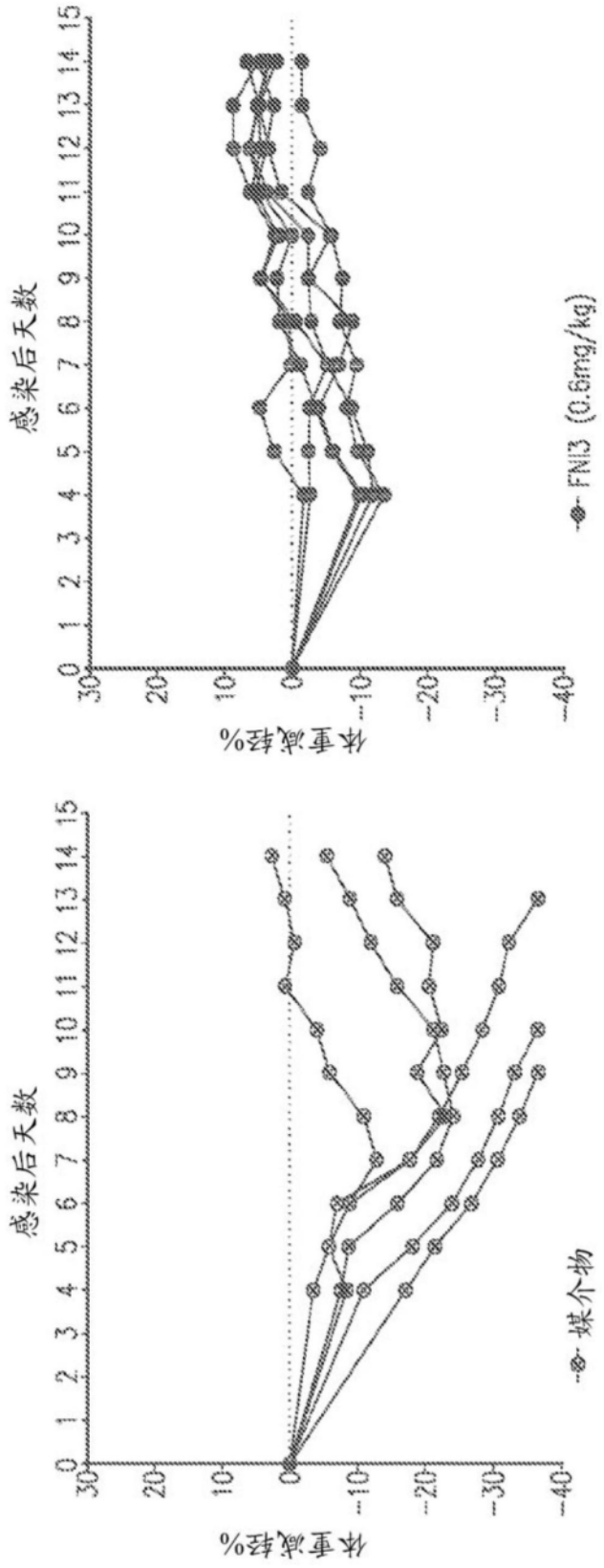


图44C

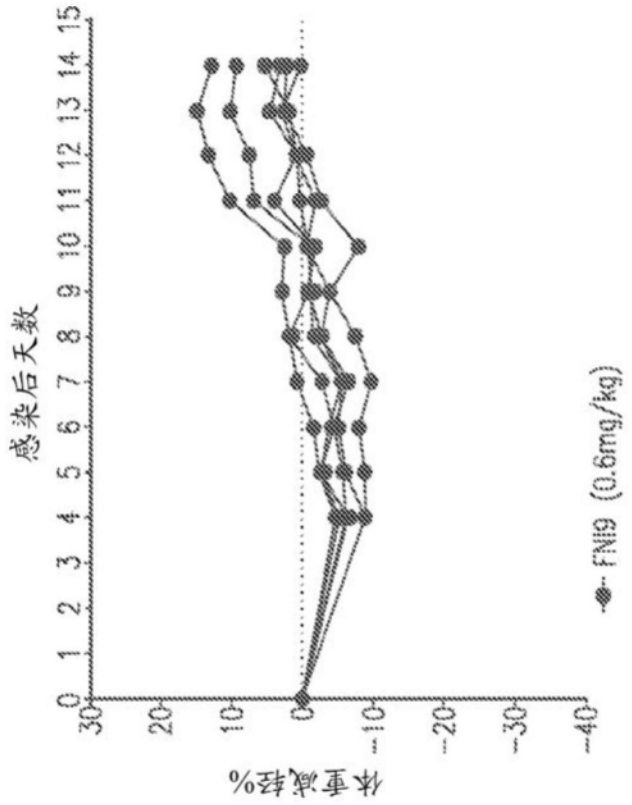

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (0.6mg/kg)

图44C(续)

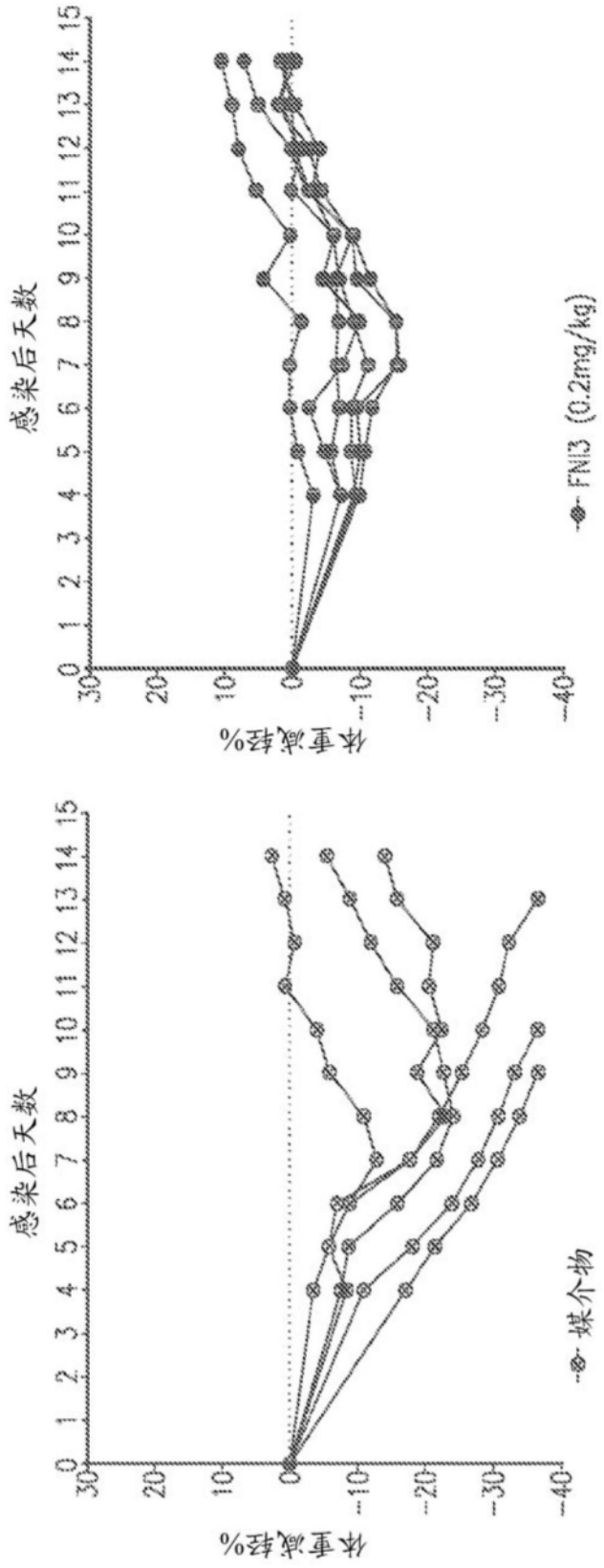


图44D

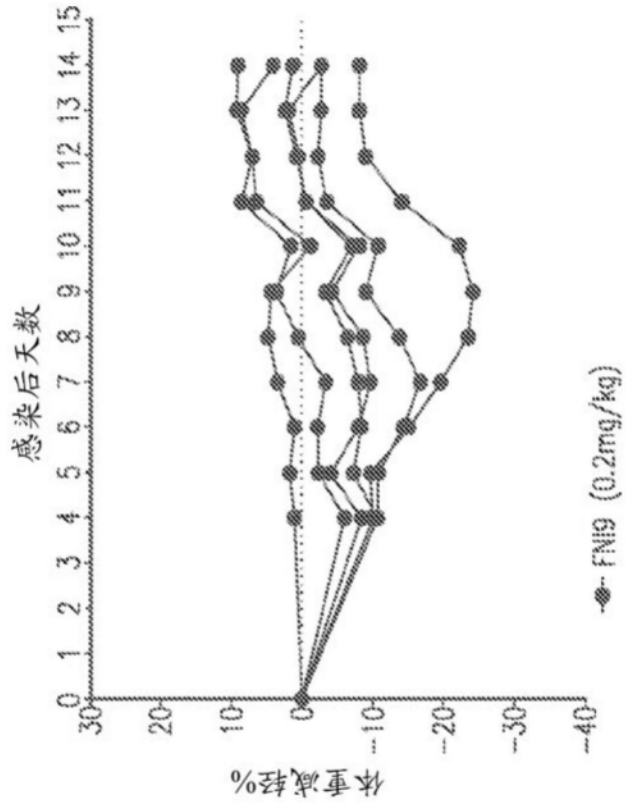

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (0.2mg/kg)

图44D(续)

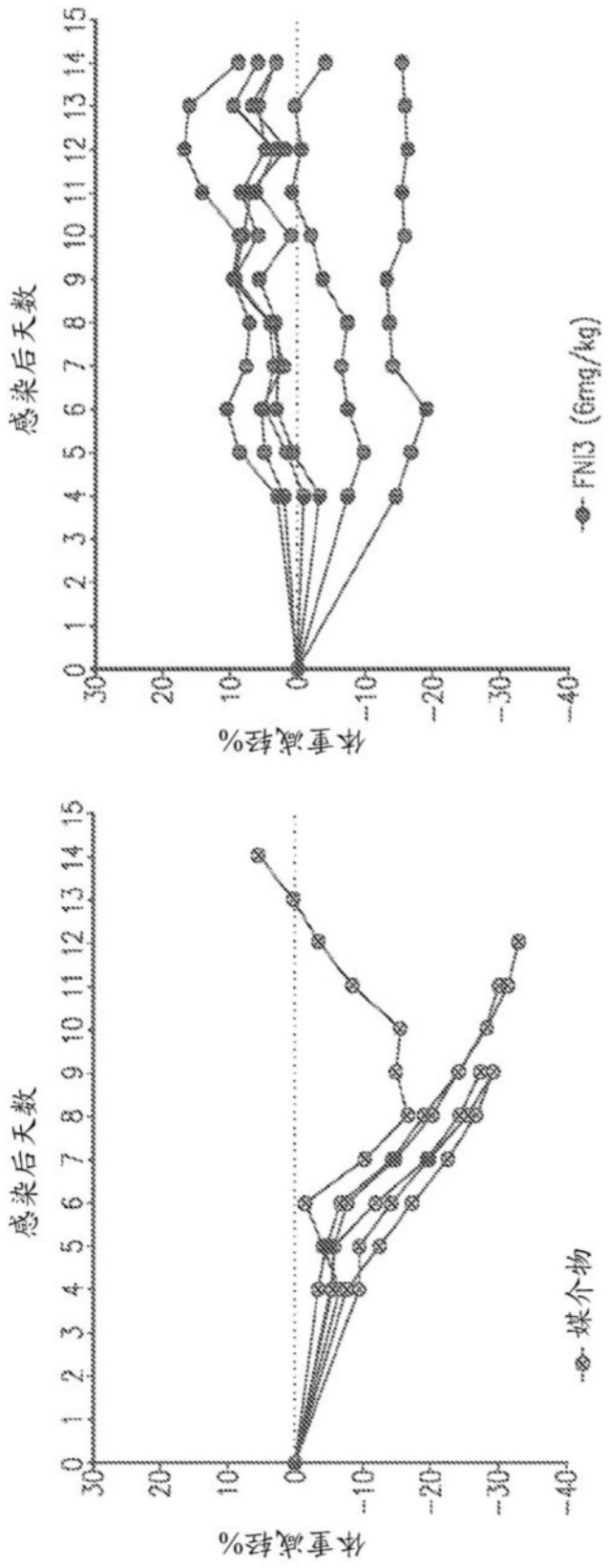


图45A

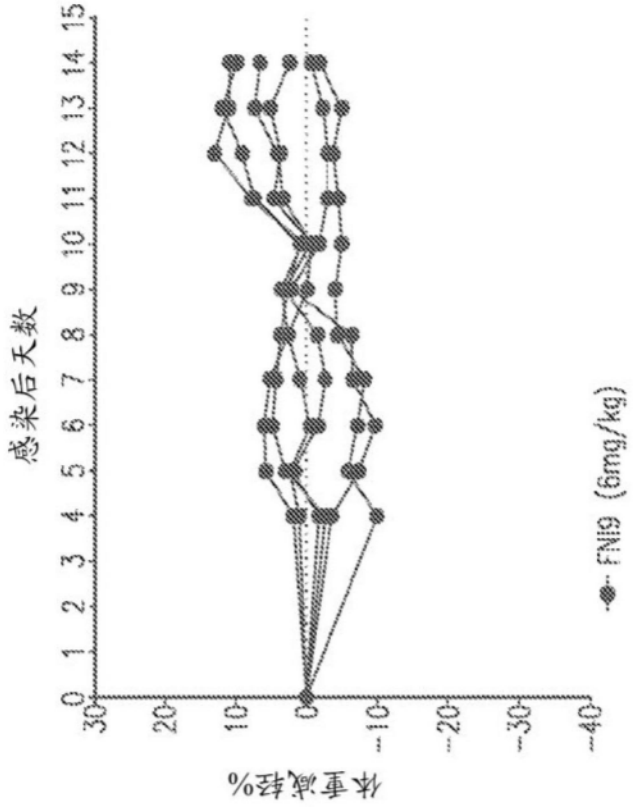

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (6mg/kg)

图45A(续)

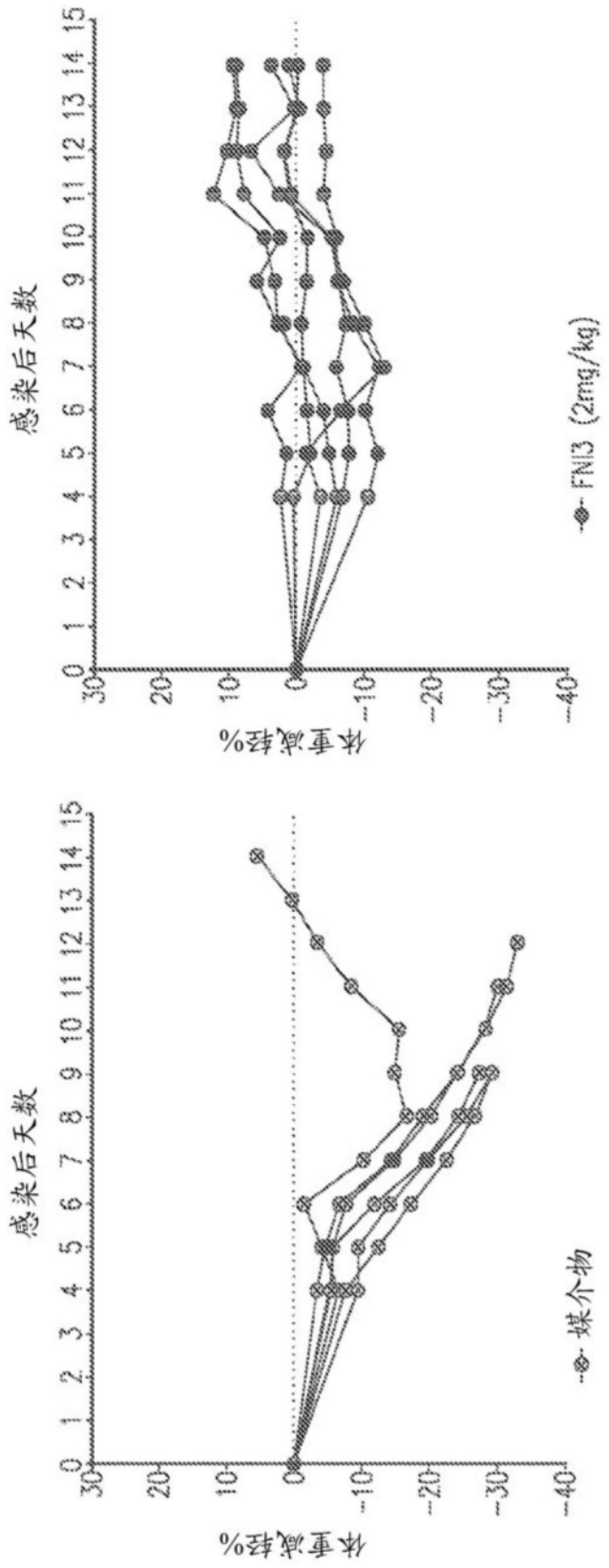

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FNI3 (2mg/kg)
媒介物

图45B

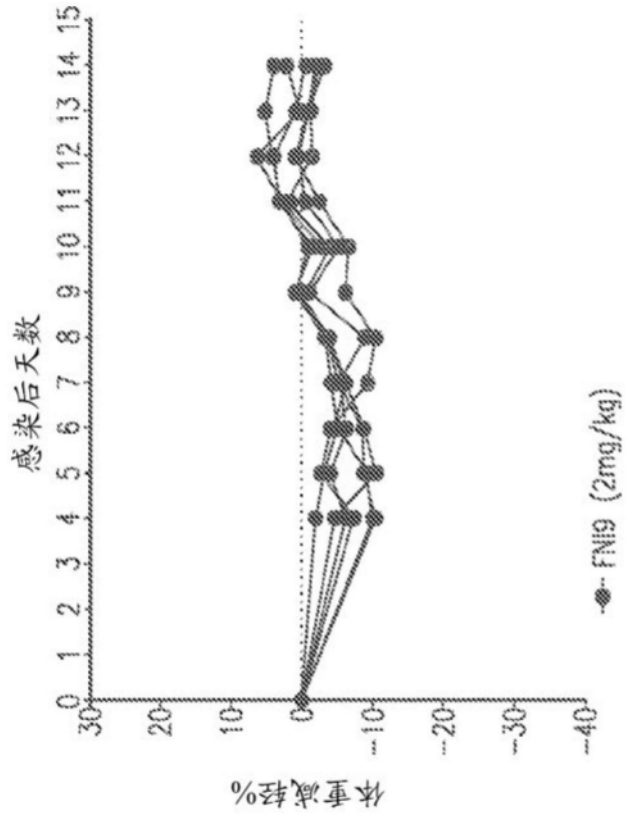

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (2mg/kg)

图45B(续)

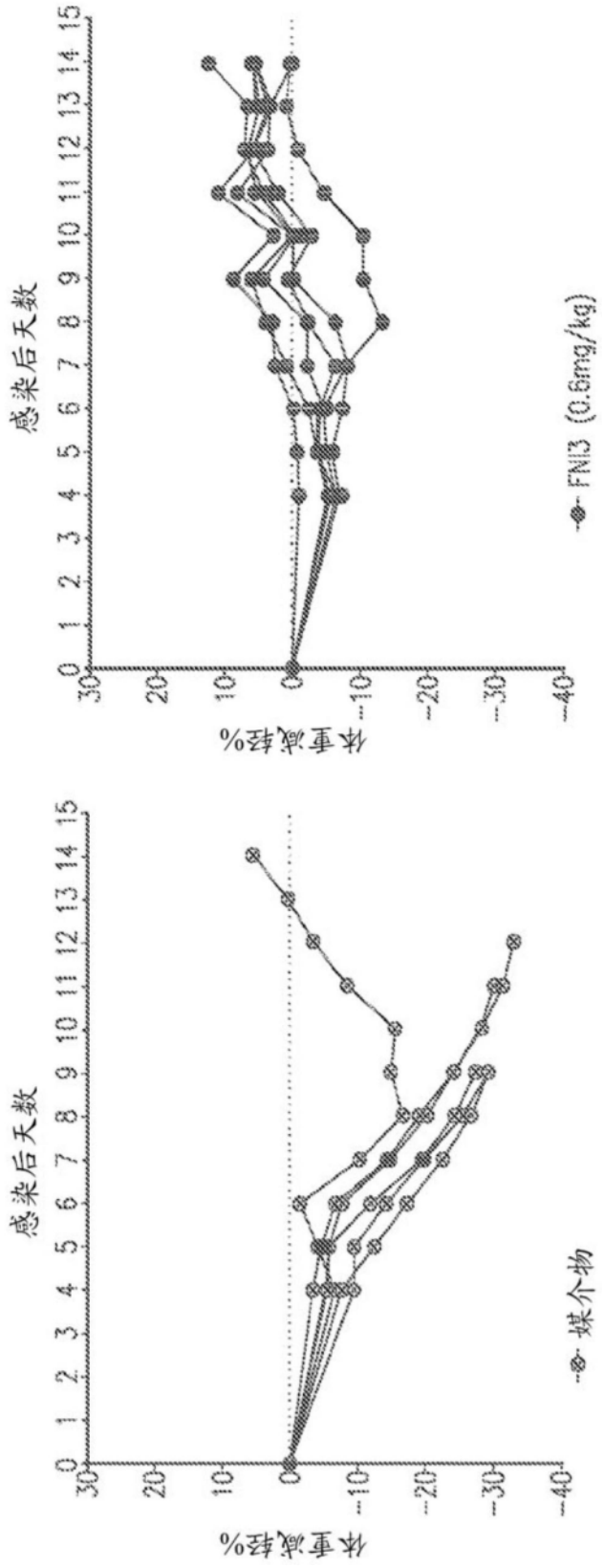

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN13 (0.6mg/kg)
媒介物

图45C

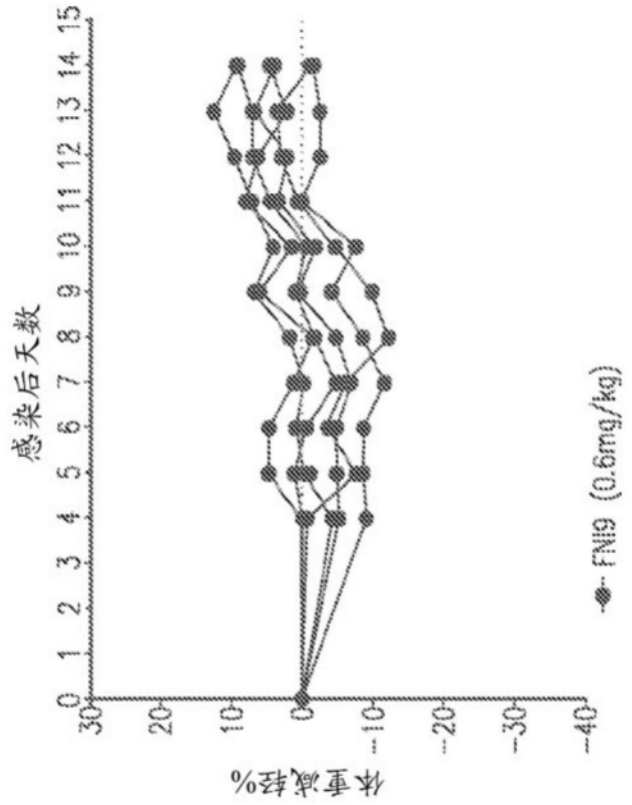

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (0.6mg/kg)

图45C(续)

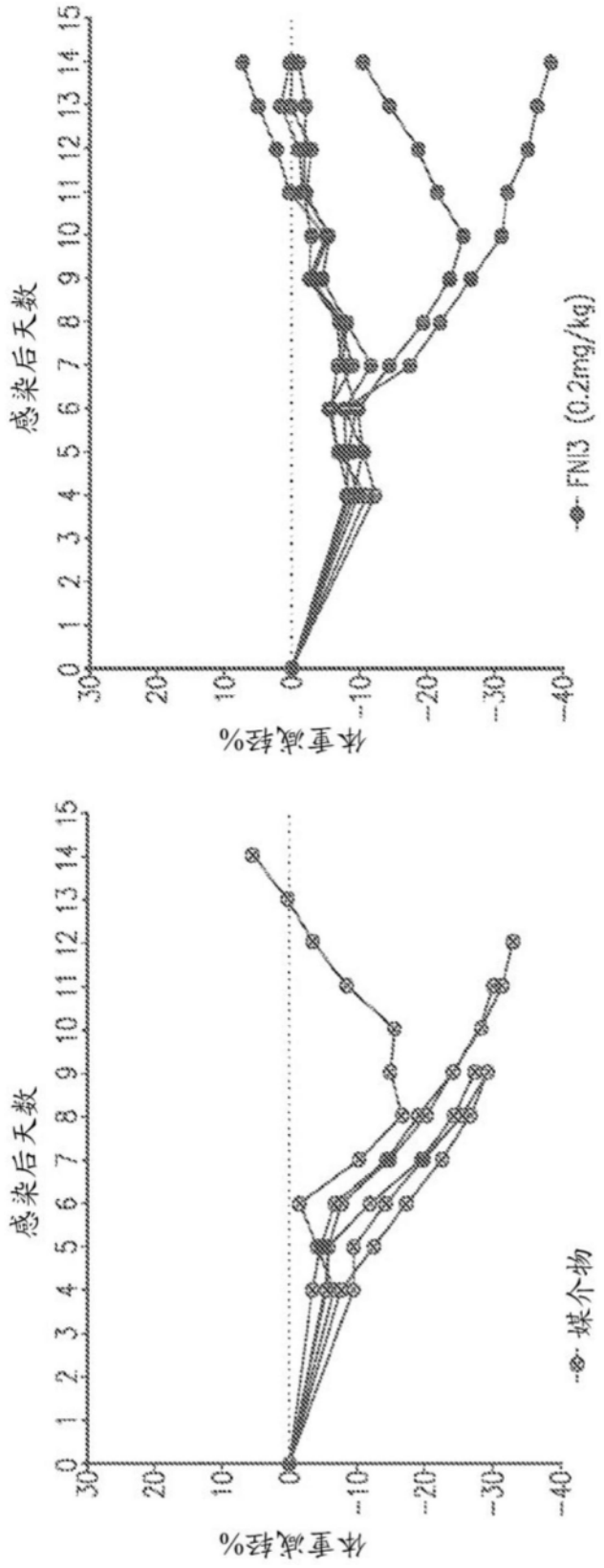

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN13 (0.2mg/kg)
媒介物

图45D

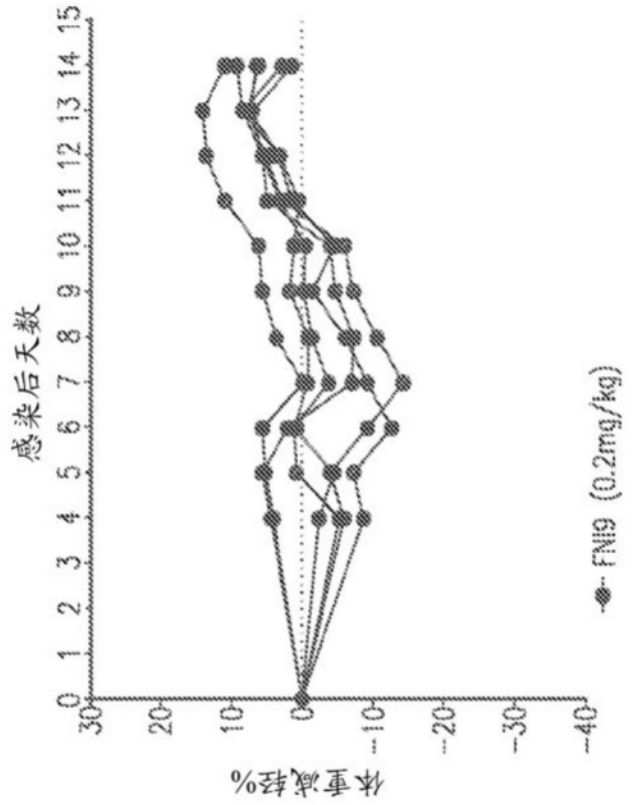

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
体重减轻%
30 20 10 0 -10 -20 -30 -40
FN19 (0.2mg/kg)

图45D(续)

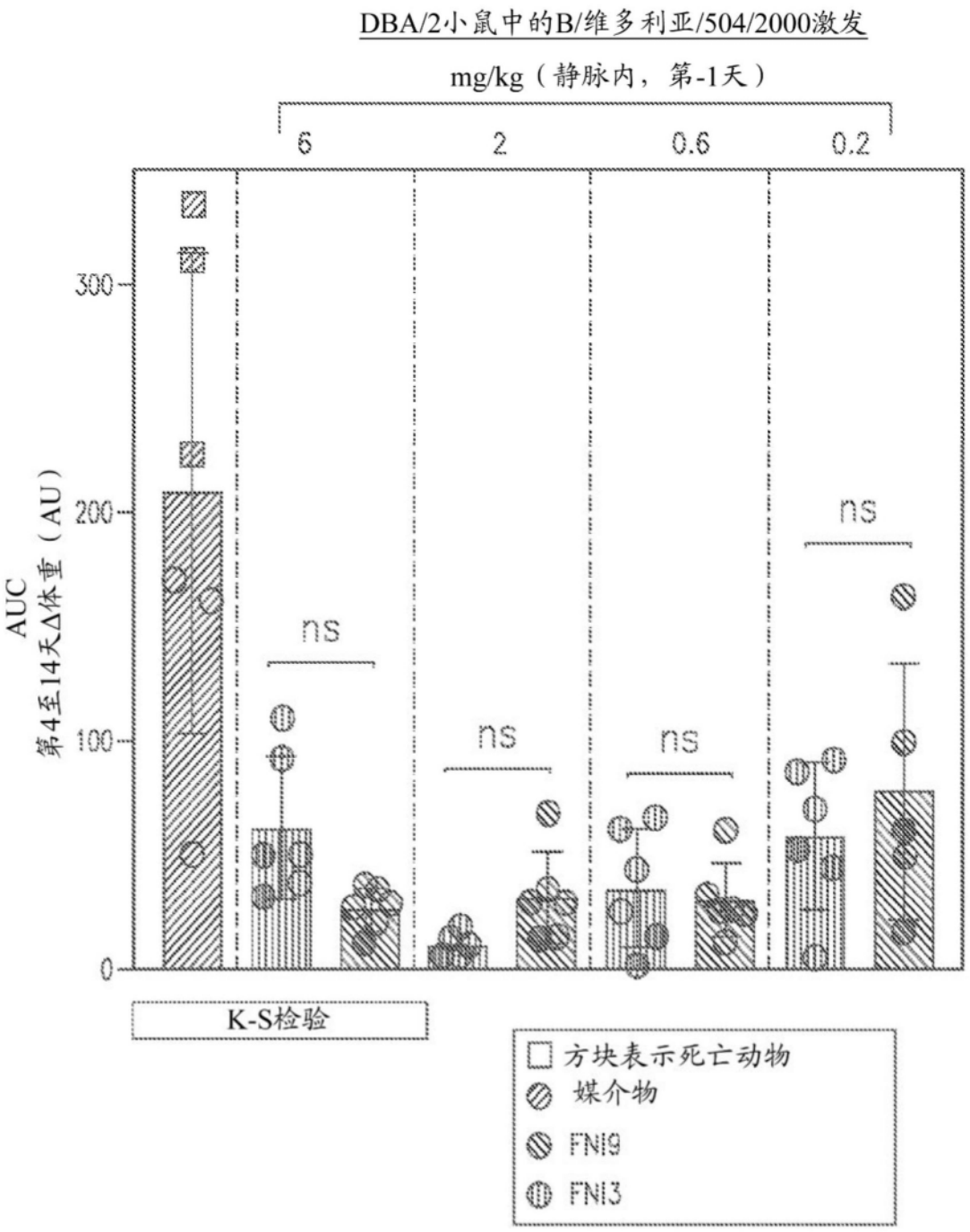

DBA/2小鼠中的B/维多利亚/504/2000激发
mg/kg（静脉内，第-1天）
6
2
0.6
0.2
AUC
第4至14天Δ体重（AU）
300
200
100
0
ns
ns
ns
ns
K-S检验
方块表示死亡动物
媒介物
FN19
FN13

图46A

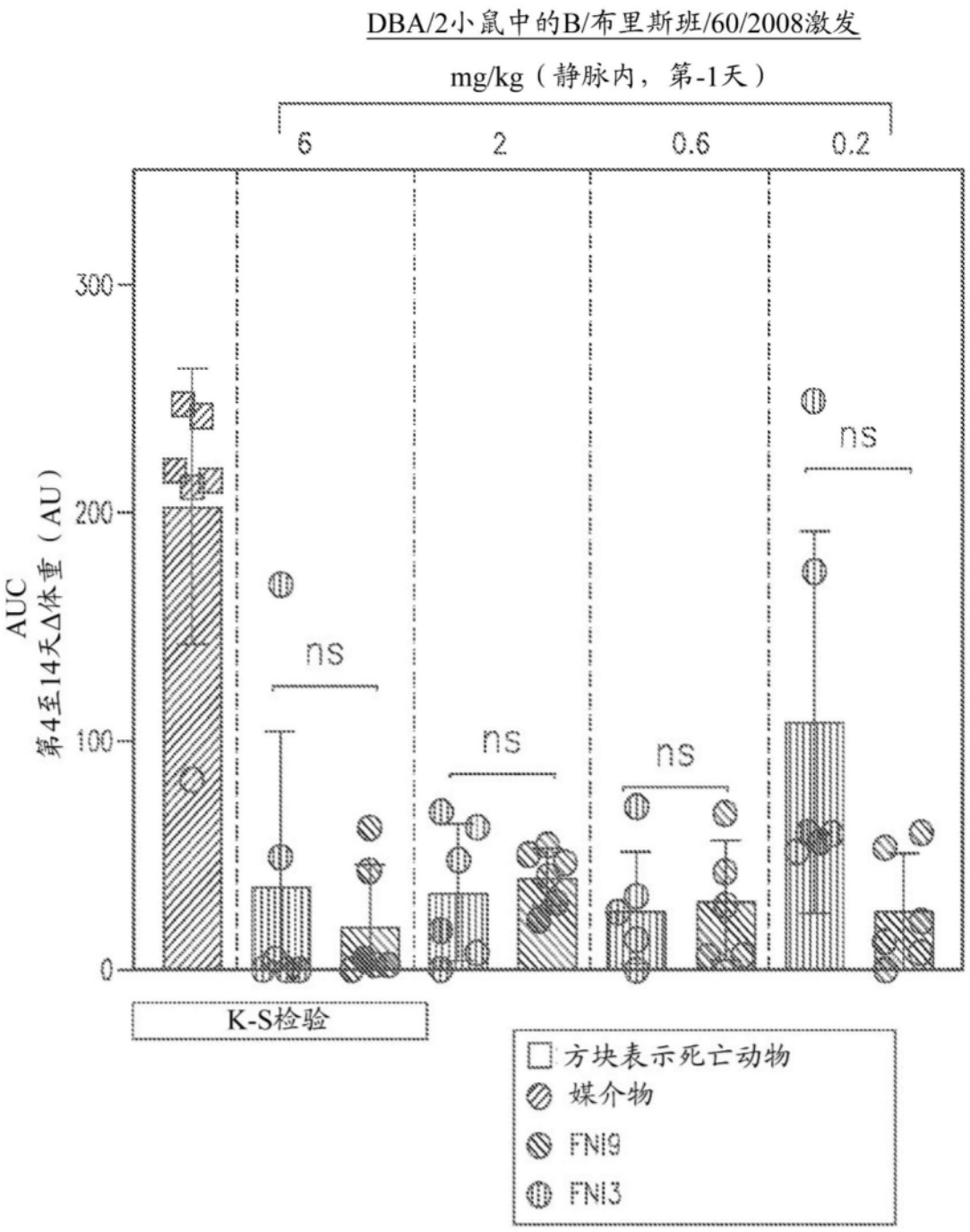

DBA/2小鼠中的B/布里斯班/60/2008激发
mg/kg（静脉内，第-1天）
6
2
0.6
0.2
AUC
第4至14天Δ体重（AU）
300
200
100
0
ns
ns
ns
ns
K-S检验
方块表示死亡动物
媒介物
FN19
FN13

图46B

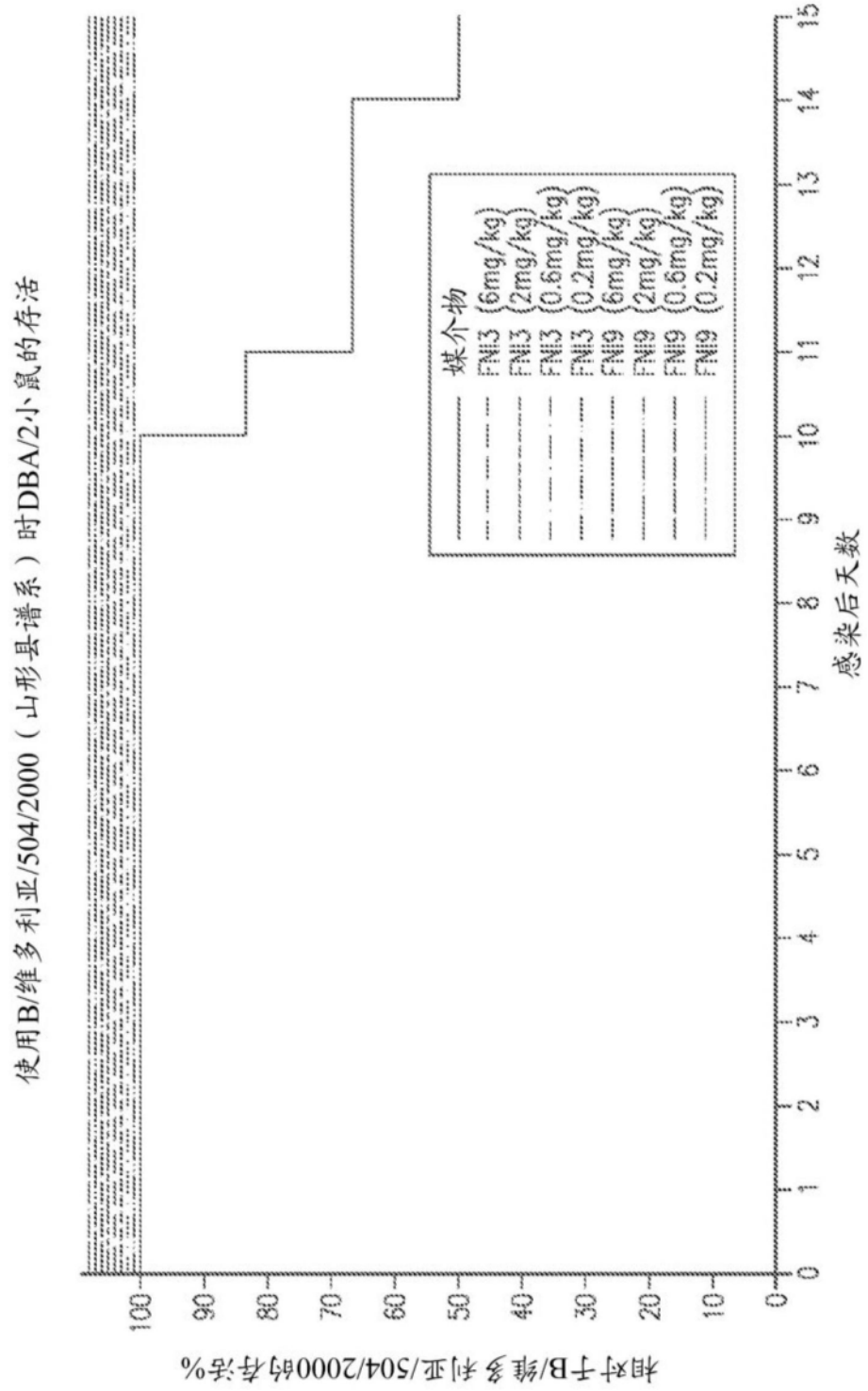

使用B/维多利亚/504/2000（山形县谱系）时DBA/2小鼠的存活
相对于B/维多利亚/504/2000的存活%
感染后天数
媒介物
FNI3 (6mg/kg)
FNI3 (2mg/kg)
FNI3 (0.6mg/kg)
FNI3 (0.2mg/kg)
FNI9 (6mg/kg)
FNI9 (2mg/kg)
FNI9 (0.6mg/kg)
FNI9 (0.2mg/kg)

图47A

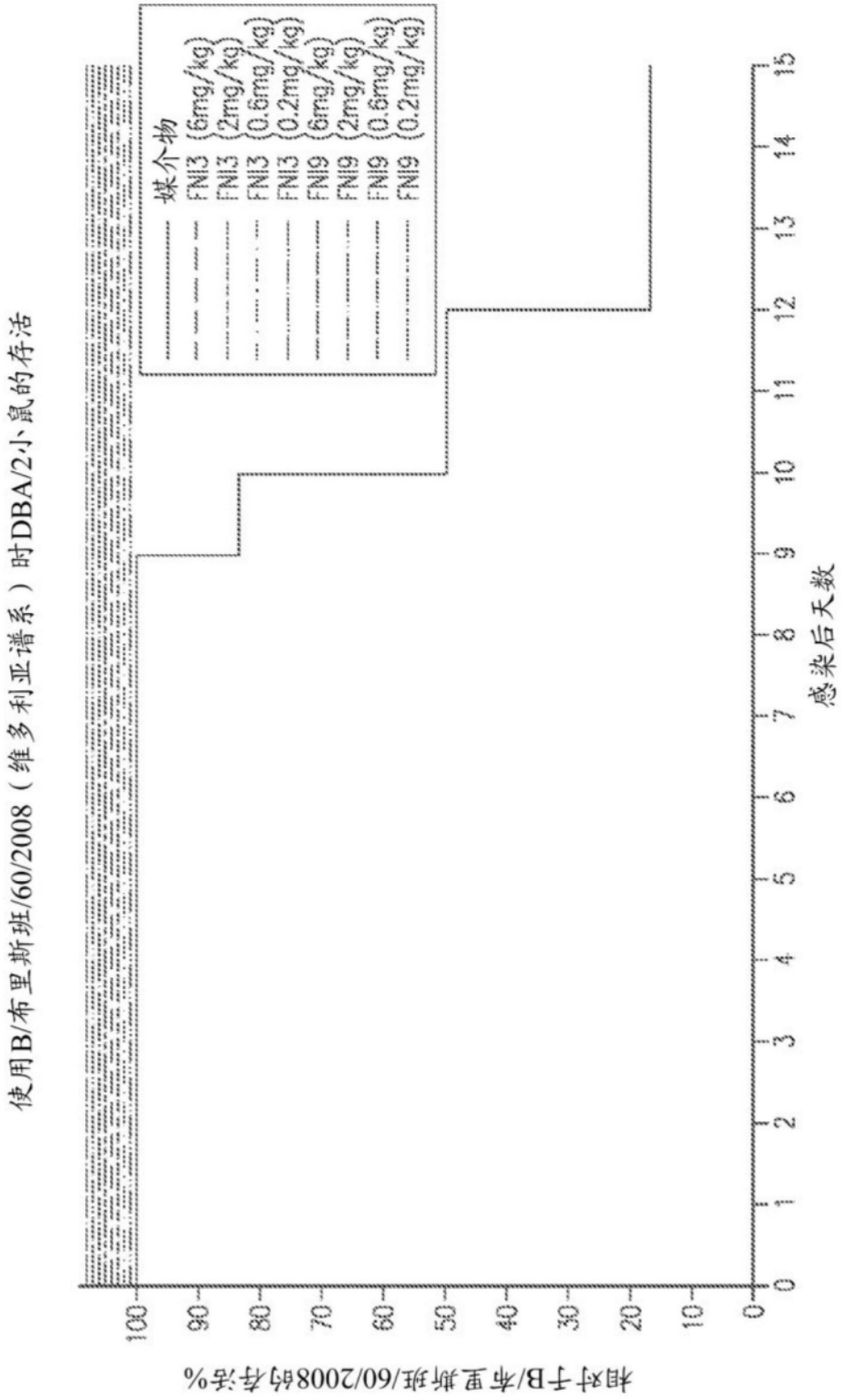

使用B/布里斯班/60/2008（维多利亚谱系）时DBA/2小鼠的存活
相对于B/布里斯班/60/2008的存活%
感染后天数
媒介物
FNI3 (6mg/kg)
FNI3 (2mg/kg)
FNI3 (0.6mg/kg)
FNI3 (0.2mg/kg)
FNI9 (6mg/kg)
FNI9 (2mg/kg)
FNI9 (0.6mg/kg)
FNI9 (0.2mg/kg)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15

图47B

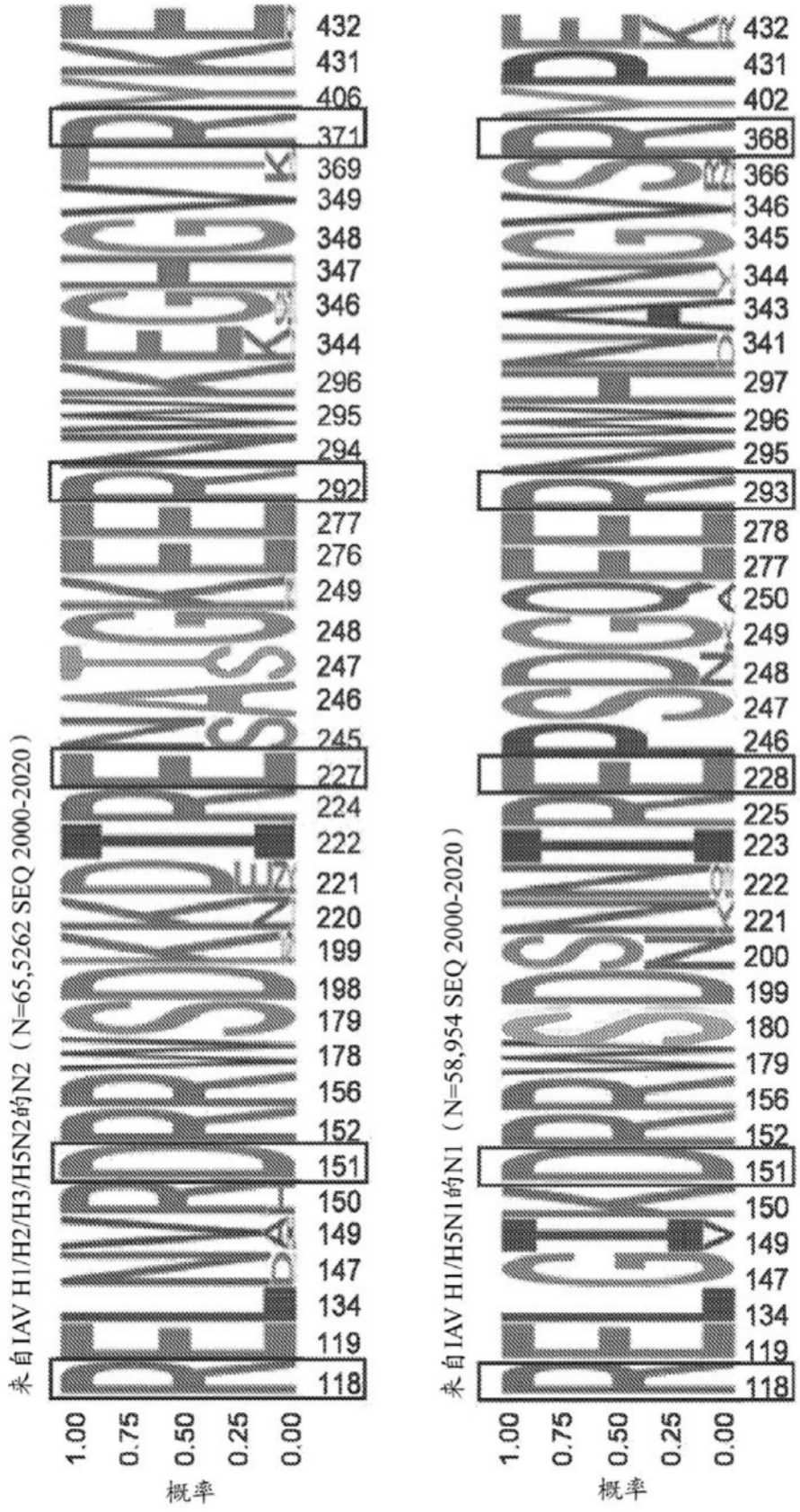

来自IAV H1/H2/H3/H5N2的N2（N=65,5262 SEQ 2000-2020）
来自IAV H1/H5N1的N1（N=58,954 SEQ 2000-2020）
概率
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00

图48A

N2上的主要 相互作用残基	FNI3 HCDR3上的对应 相互作用残基
R118	D107
D151	R106
E227	R106
R292	D107
R371	D107

酶活性位点：

形成催化核心并直接接触唾液酸的8个功能性氨基酸（R118、D151、R152、R224、E276、R292、R371和Y406 - N2编号贯穿始终）

形成活性位点框架的11个结构性氨基酸（E119、R156、W178、S179、D/N198、I222、E227、H274、E277、D293和E425）

图48B

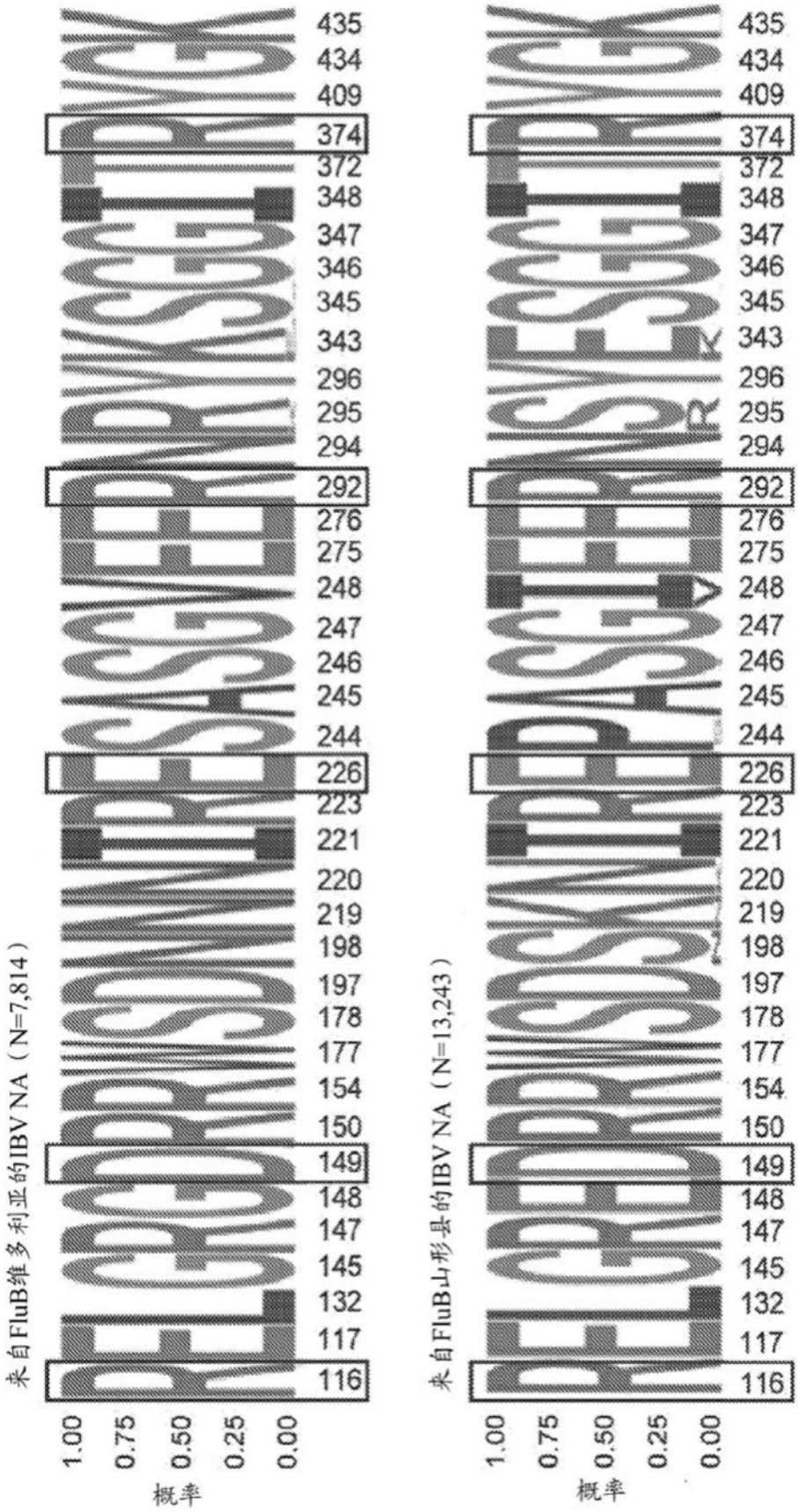

来自FluB维多利亚的IBV NA（N=7,814）
来自FluB山形县的IBV NA（N=13,243）
435
434
409
374
372
348
347
346
345
343
296
295
294
292
276
275
248
247
246
245
244
226
223
221
220
219
198
197
178
177
154
150
149
148
147
145
132
117
116
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
概率

图49

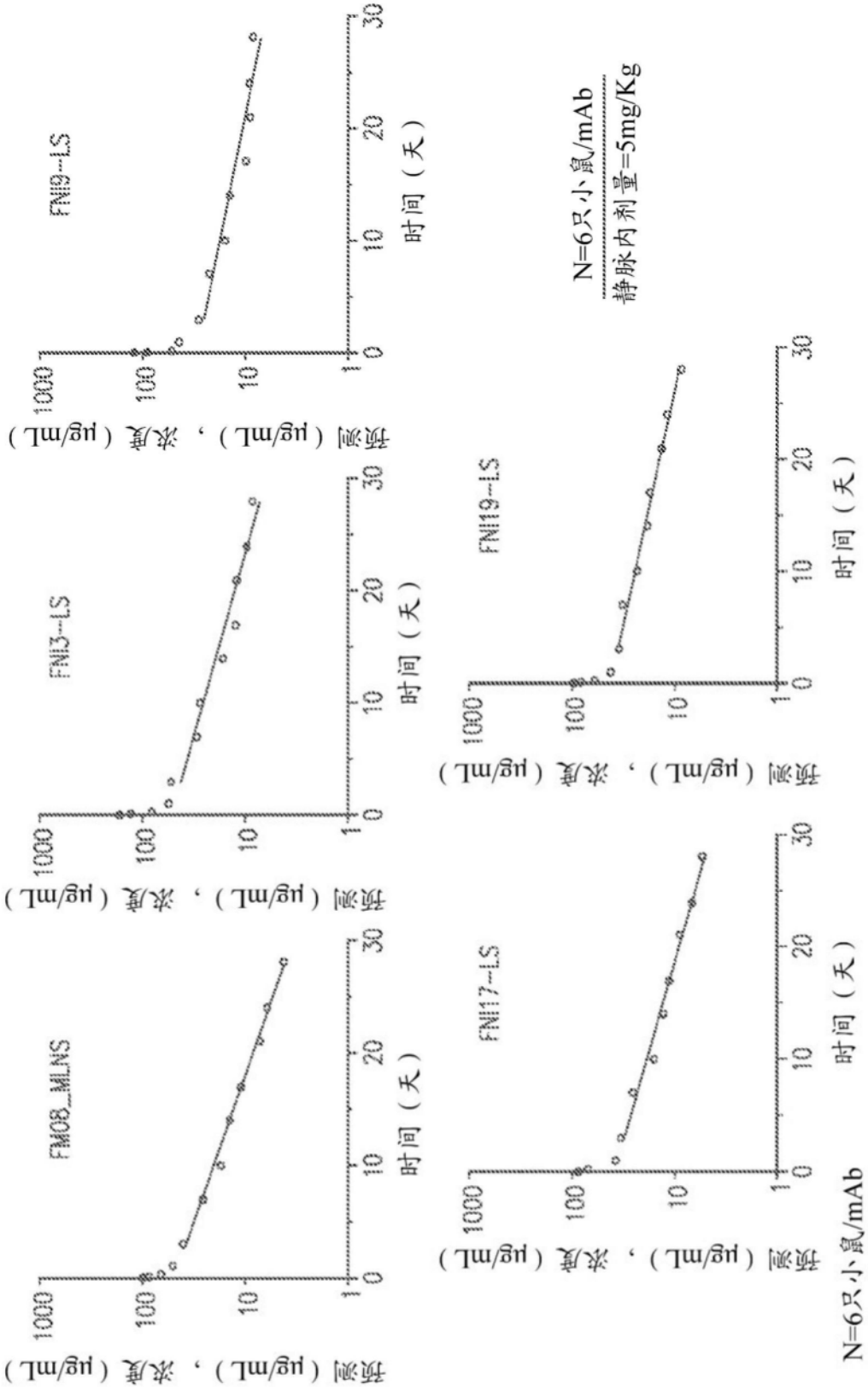
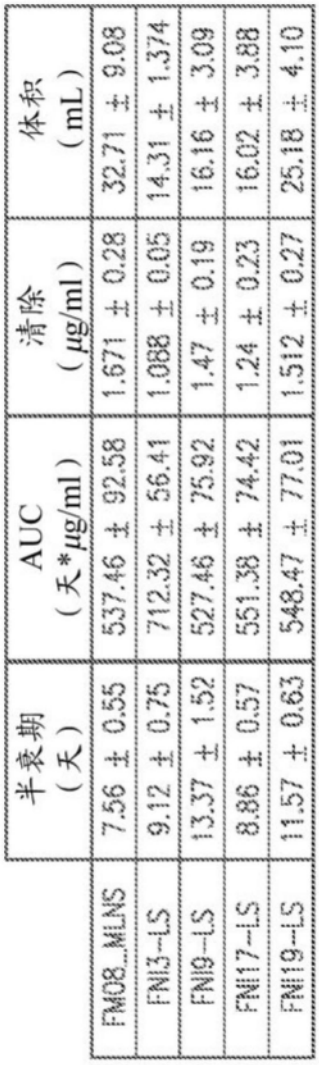

FM08_MLNS
FN3-LS
FN9-LS
FN117-LS
FN19-LS
预测（μg/mL）、浓度（μg/mL）
时间（天）
N=6只小鼠/mAb
静脉内剂量=5mg/Kg

图50A



	半衰期（天）	AUC（天*μg/ml）	清除（μg/ml）	体积（mL）
FM08_MLNS	7.56 ± 0.55	537.46 ± 92.58	1.671 ± 0.28	32.71 ± 9.08
FN13-LS	9.12 ± 0.75	712.32 ± 56.41	1.088 ± 0.05	14.31 ± 1.374
FN19-LS	13.37 ± 1.52	527.46 ± 75.92	1.47 ± 0.19	16.16 ± 3.09
FN117-LS	8.86 ± 0.57	551.38 ± 74.42	1.24 ± 0.23	16.02 ± 3.88
FN119-LS	11.57 ± 0.63	548.47 ± 77.01	1.512 ± 0.27	25.18 ± 4.10

图50B

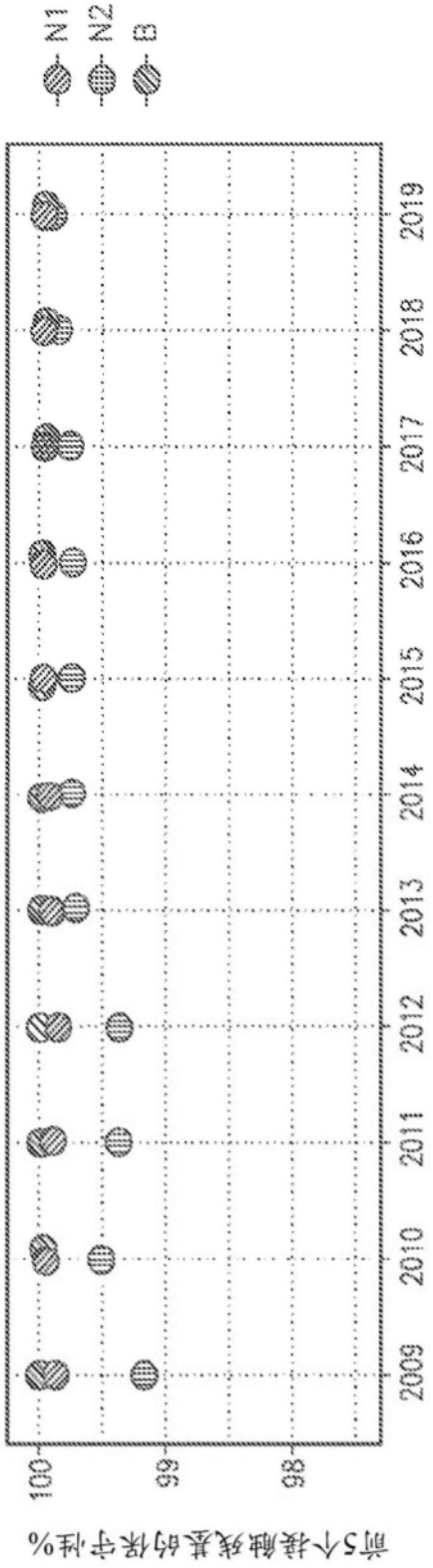
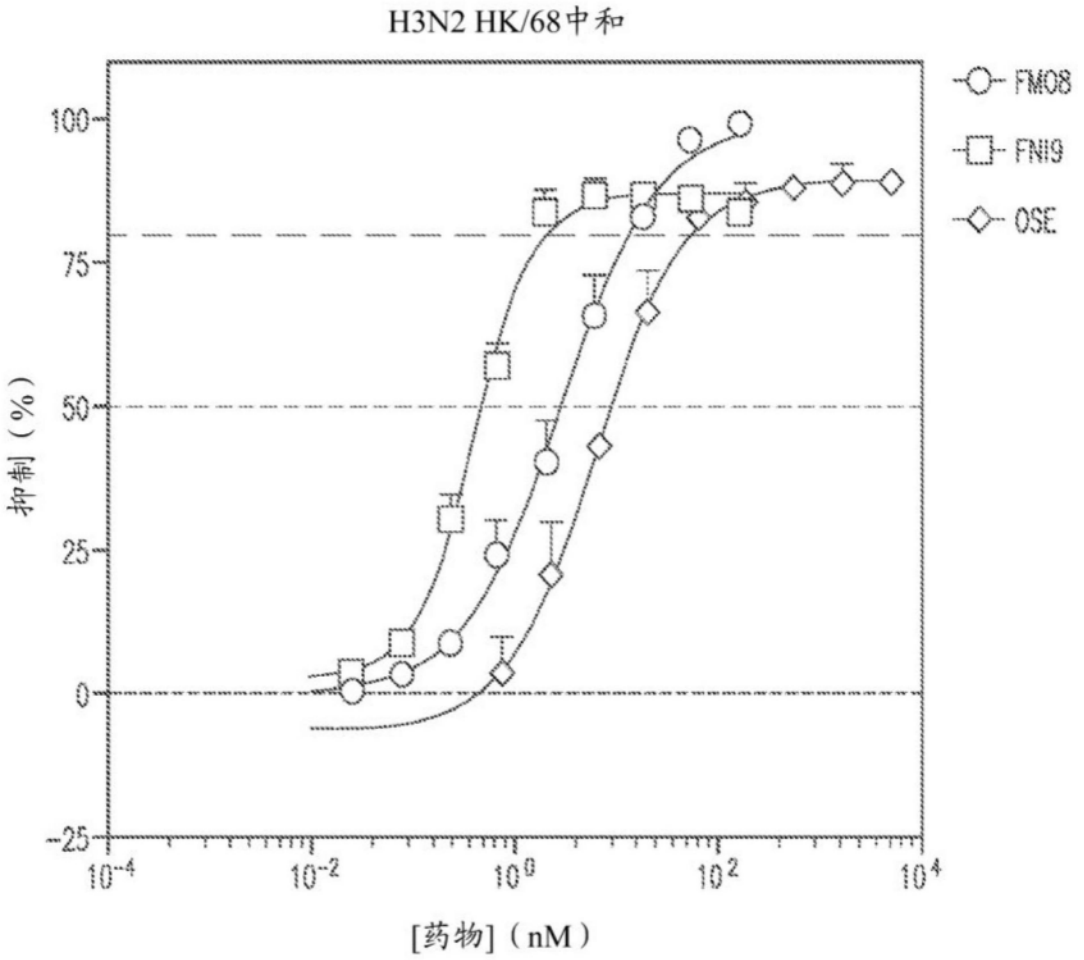

N1
N2
B
2019
2018
2017
2016
2015
2014
2013
2012
2011
2010
2009
100
99
98
前5个接触残基的保守性%

图51



	FM08	FN19	OSE
EC50 (nM)	2.87	0.47	8.82
EC80 (nM)	13.45	2.06	56.17
最大抑制（%）	100	86	89

图52

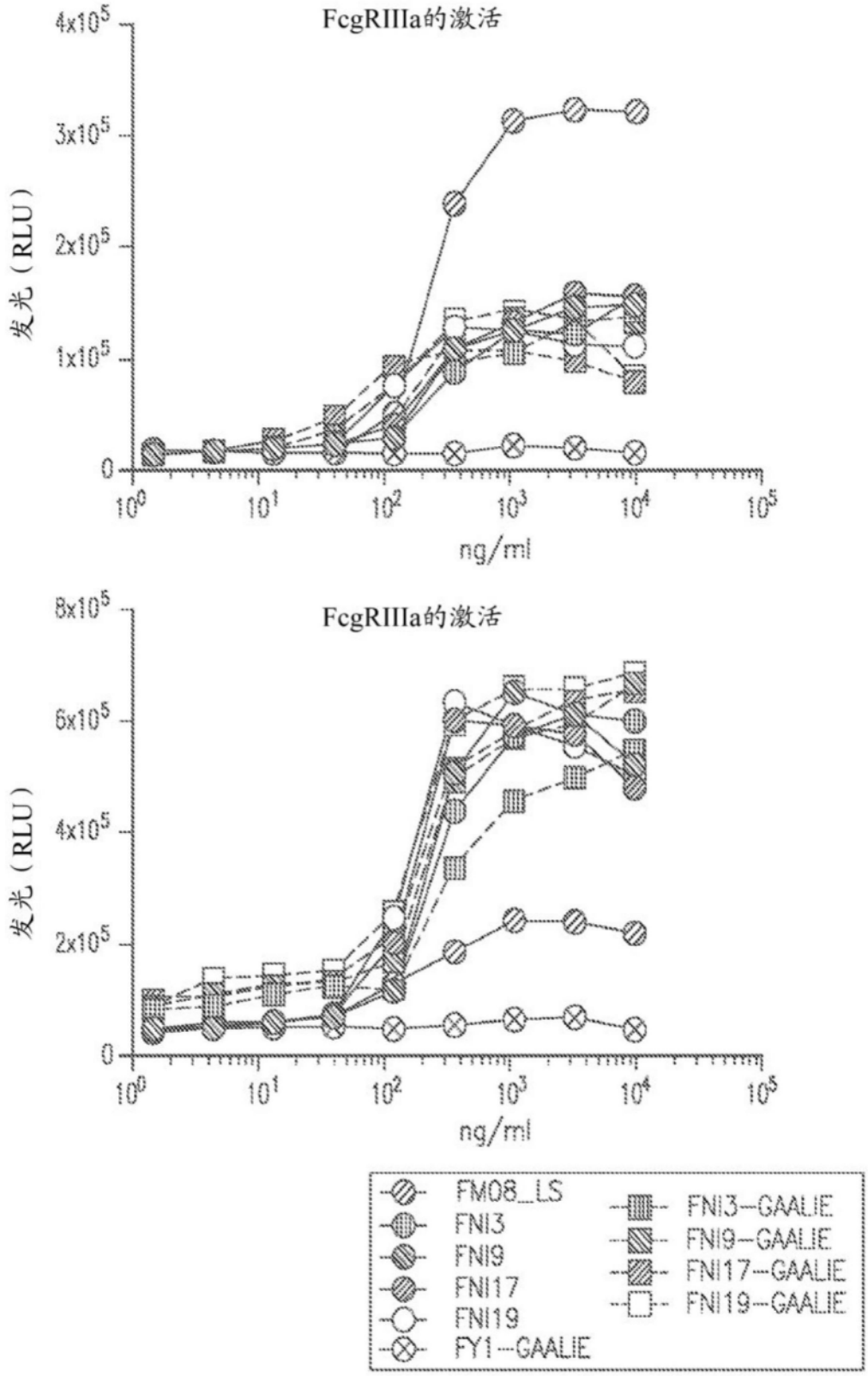

FcgRIIIa的激活
发光（RLU）
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
ng/ml
FcgRIIIa的激活
发光（RLU）
8x10^5
6x10^5
4x10^5
2x10^5
0
ng/ml
FM08_LS
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1--GAALIE
FNI3--GAALIE
FNI9--GAALIE
FNI17--GAALIE
FNI19--GAALIE

图53

EXP--A	EXP--B	治疗	流感感染	终点
		媒介物对照	A/波多黎各/8/34	体重、死亡率
FNI3--LS	FM08--LS	6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		0.6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		0.2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
FNI9--LS		6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		0.6 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		0.2 mg/kg	A/波多黎各/8/34	
		总共54只小鼠		
		媒介物对照	A/香港/8/68	体重、死亡率
FNI3--LS	FM08--LS	6 mg/kg	A/香港/8/68	
		2 mg/kg	A/香港/8/68	
		0.6 mg/kg	A/香港/8/68	
		0.2 mg/kg	A/香港/8/68	
FNI9--LS		6 mg/kg	A/香港/8/68	
		2 mg/kg	A/香港/8/68	
		0.6 mg/kg	A/香港/8/68	
		0.2 mg/kg	A/香港/8/68	
		总共54只小鼠		

图54

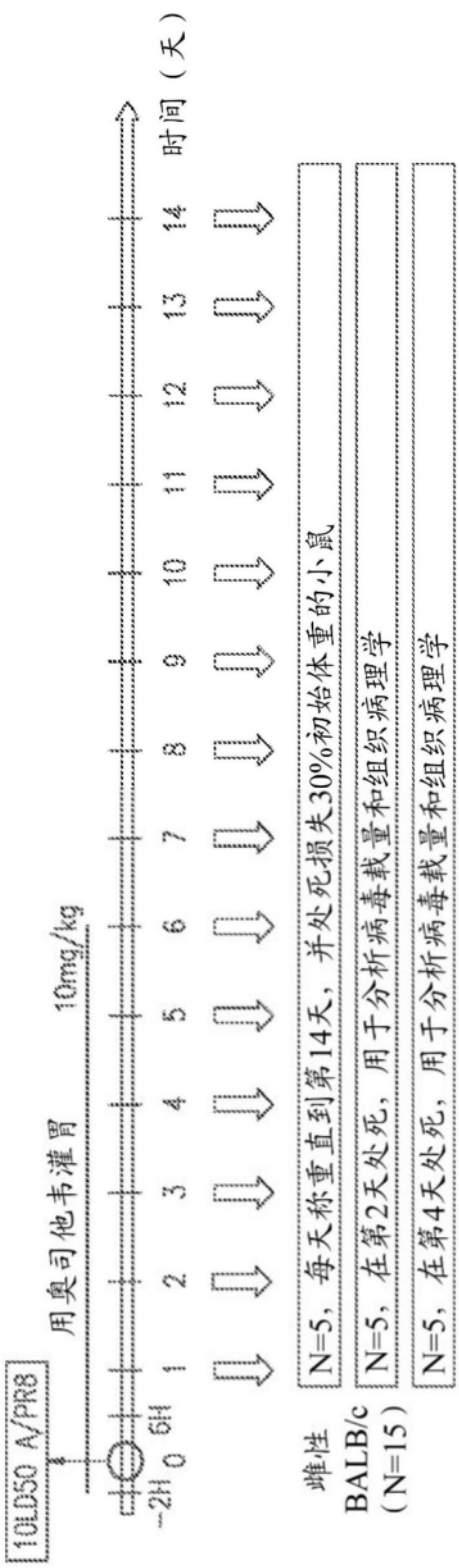

10LD50 A/PR8
用奥司他韦灌胃 10mg/kg
-2H 0 6H 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 时间（天）
雌性 BALB/c（N=15）
N=5，每天称重直到第14天，并处死损失30%初始体重的小鼠
N=5，在第2天处死，用于分析病毒载量和组织病理学
N=5，在第4天处死，用于分析病毒载量和组织病理学

图55

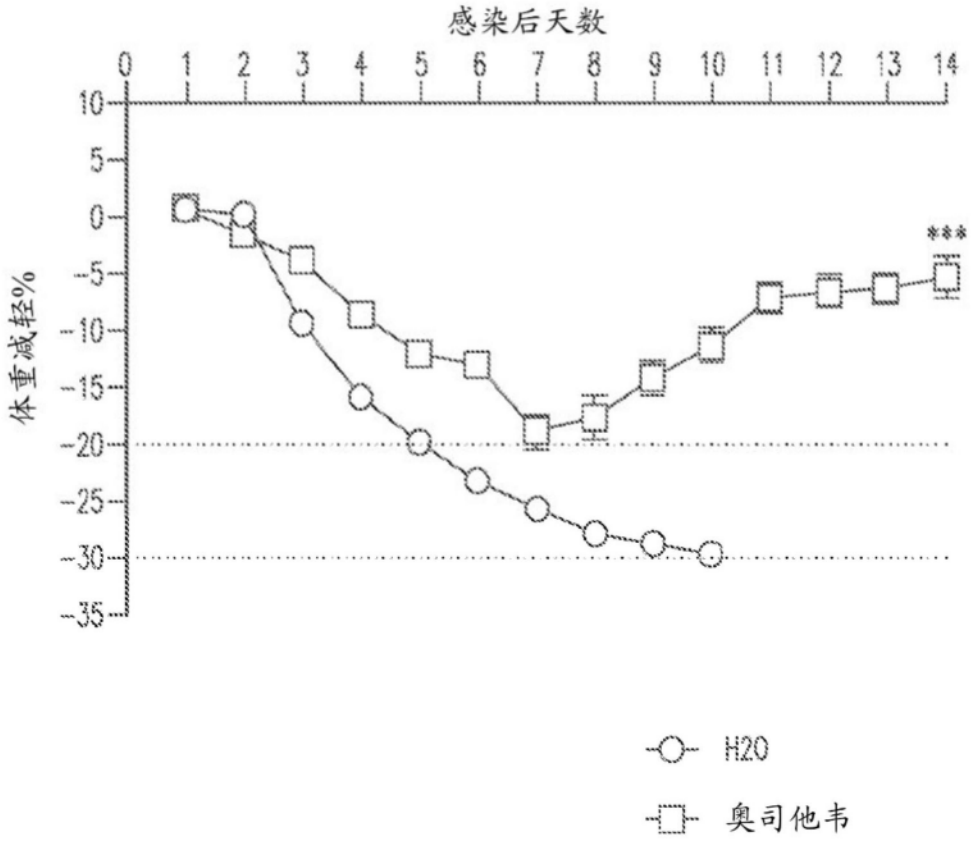

感染后天数
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
10 5 0 -5 -10 -15 -20 -25 -30 -35
体重减轻%
***
H20
奥司他韦

图56

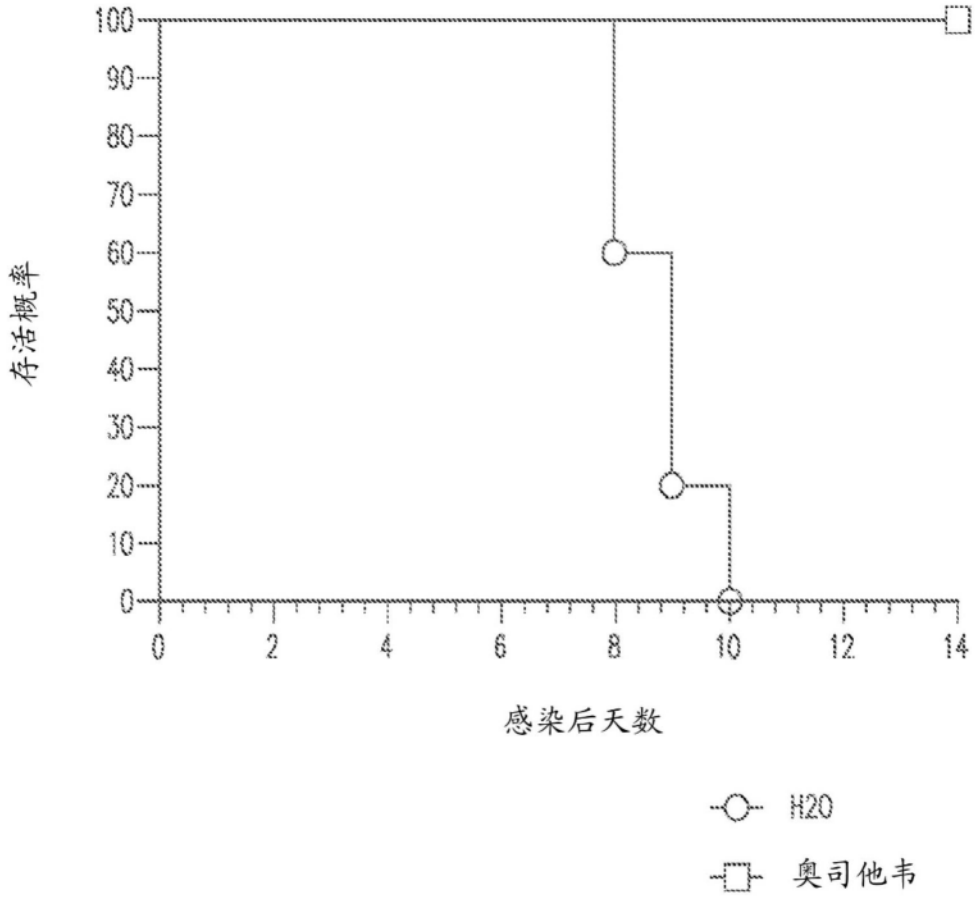


图57

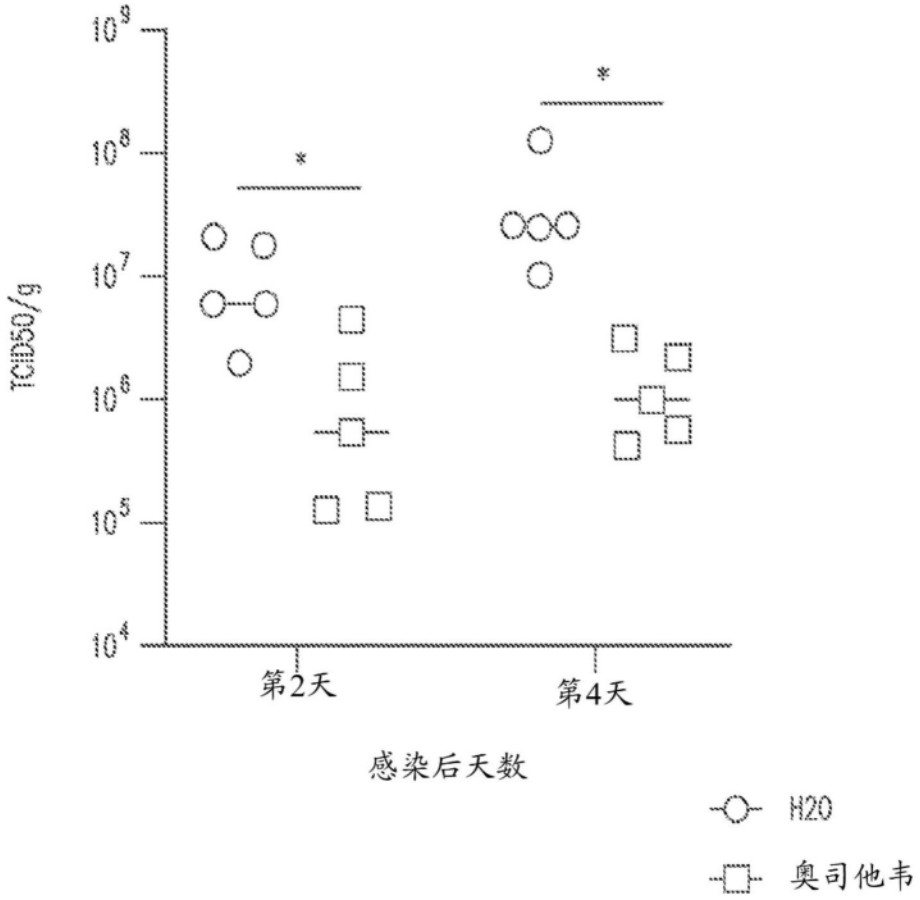


图58

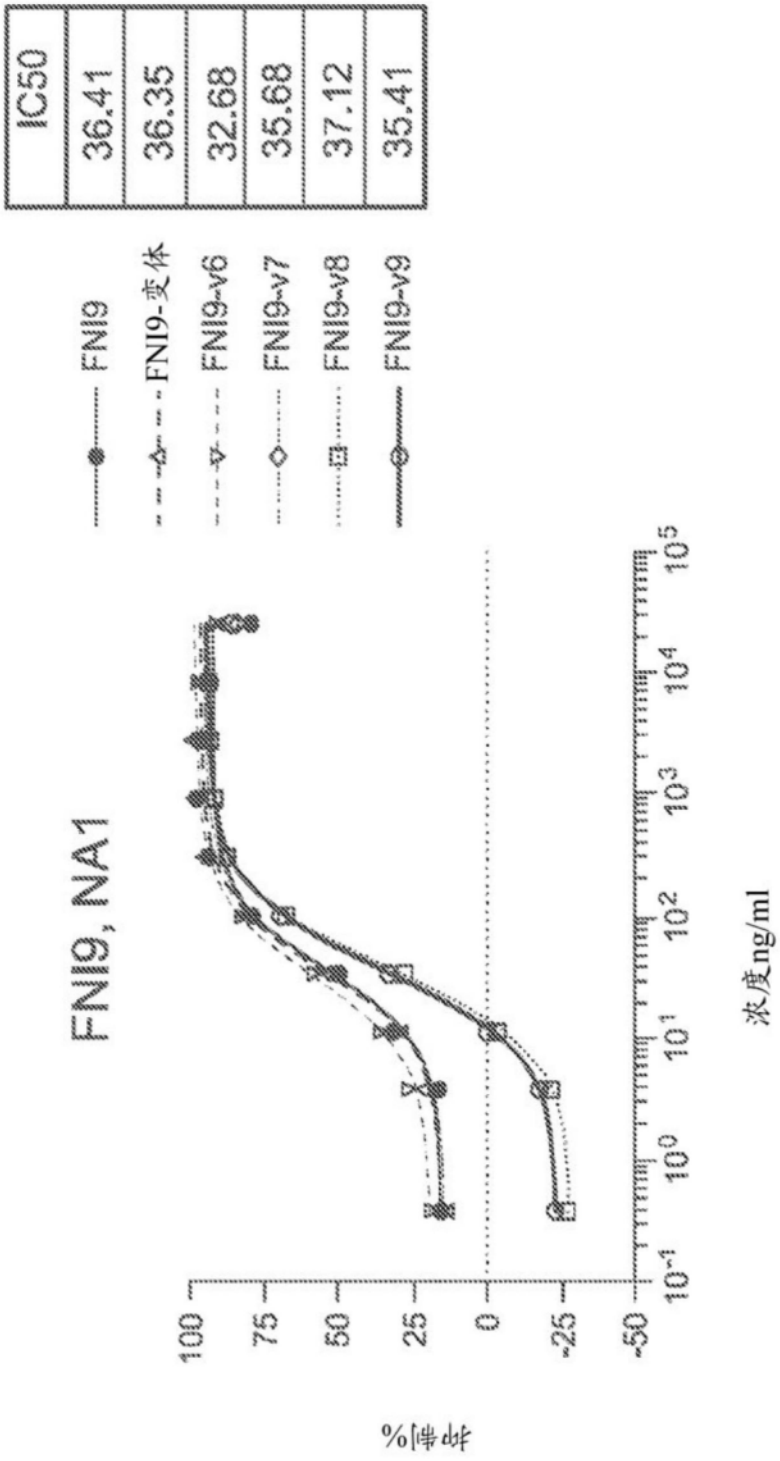

IC50
36.41
36.35
32.68
35.68
37.12
35.41
FNI9
FNI9-变体
FNI9-v6
FNI9-v7
FNI9-v8
FNI9-v9
FNI9, NA1
100
75
50
25
0
-25
-50
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
抑制%

图59A

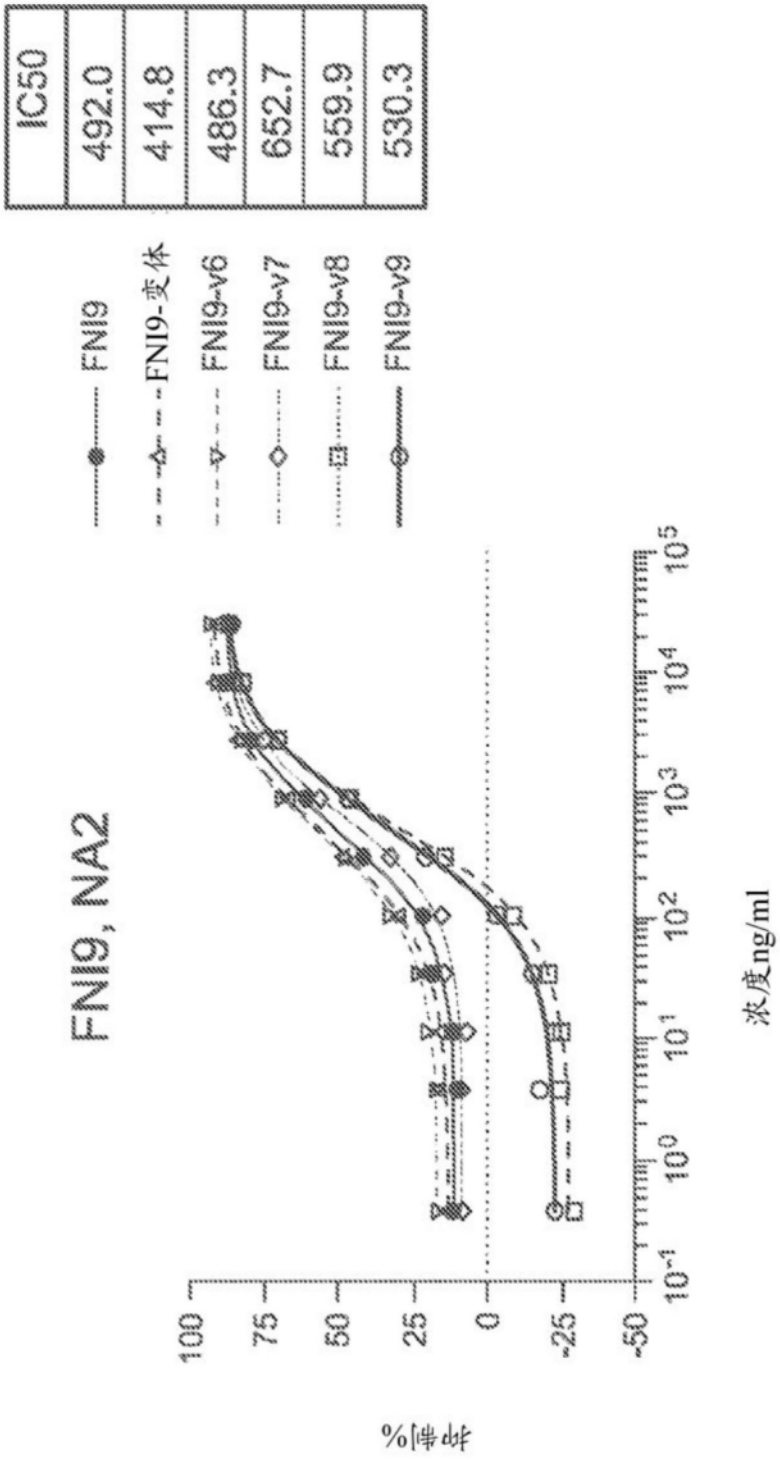

IC50
492.0
414.8
486.3
652.7
559.9
530.3
FNI9
FNI9-变体
FNI9-v6
FNI9-v7
FNI9-v8
FNI9-v9
FNI9, NA2
100
75
50
25
0
-25
-50
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
抑制%

图59B

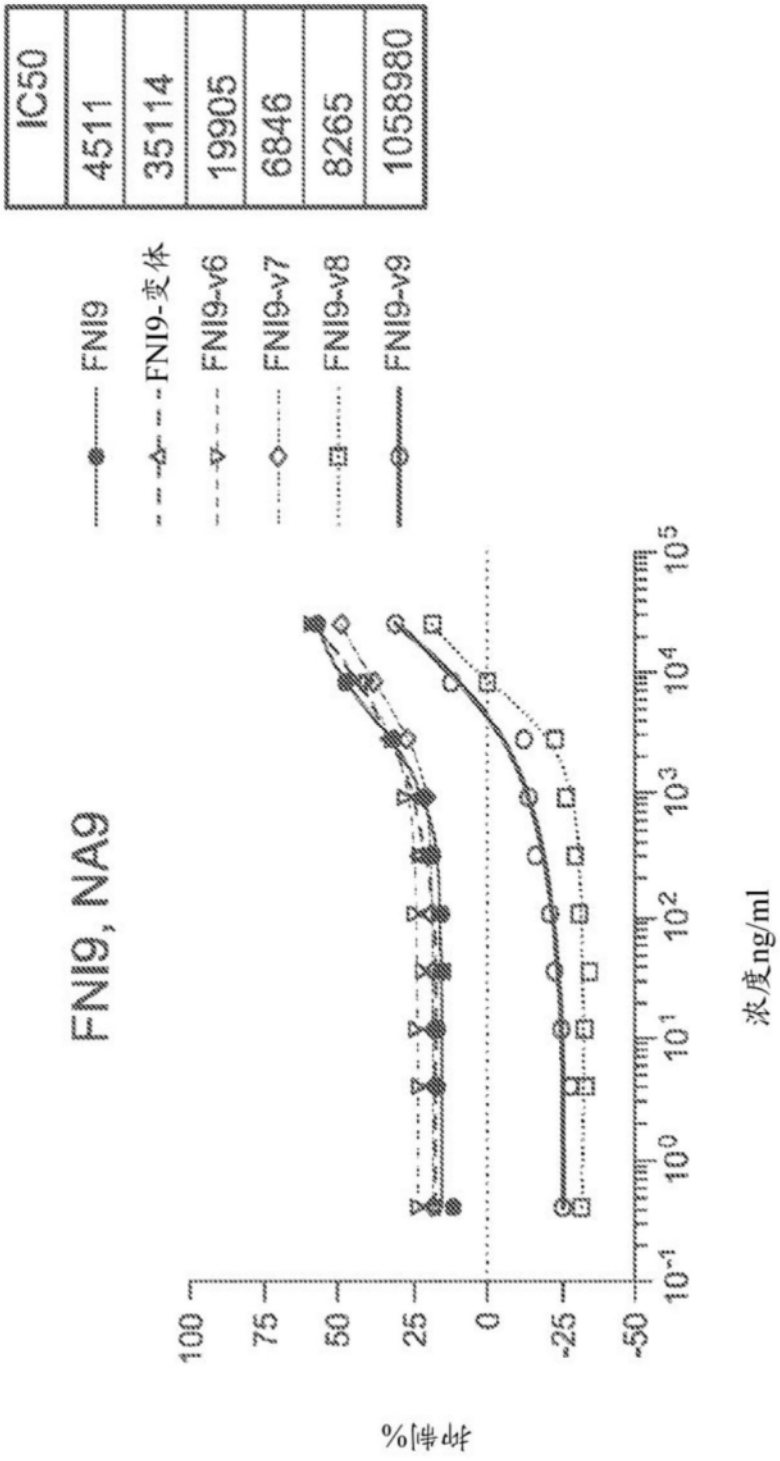

IC50
4511
35114
19905
6846
8265
1058980
FNI9
FNI9-变体
FNI9-v6
FNI9-v7
FNI9-v8
FNI9-v9
FNI9, NA9
100
75
50
25
0
-25
-50
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
抑制%

图59C

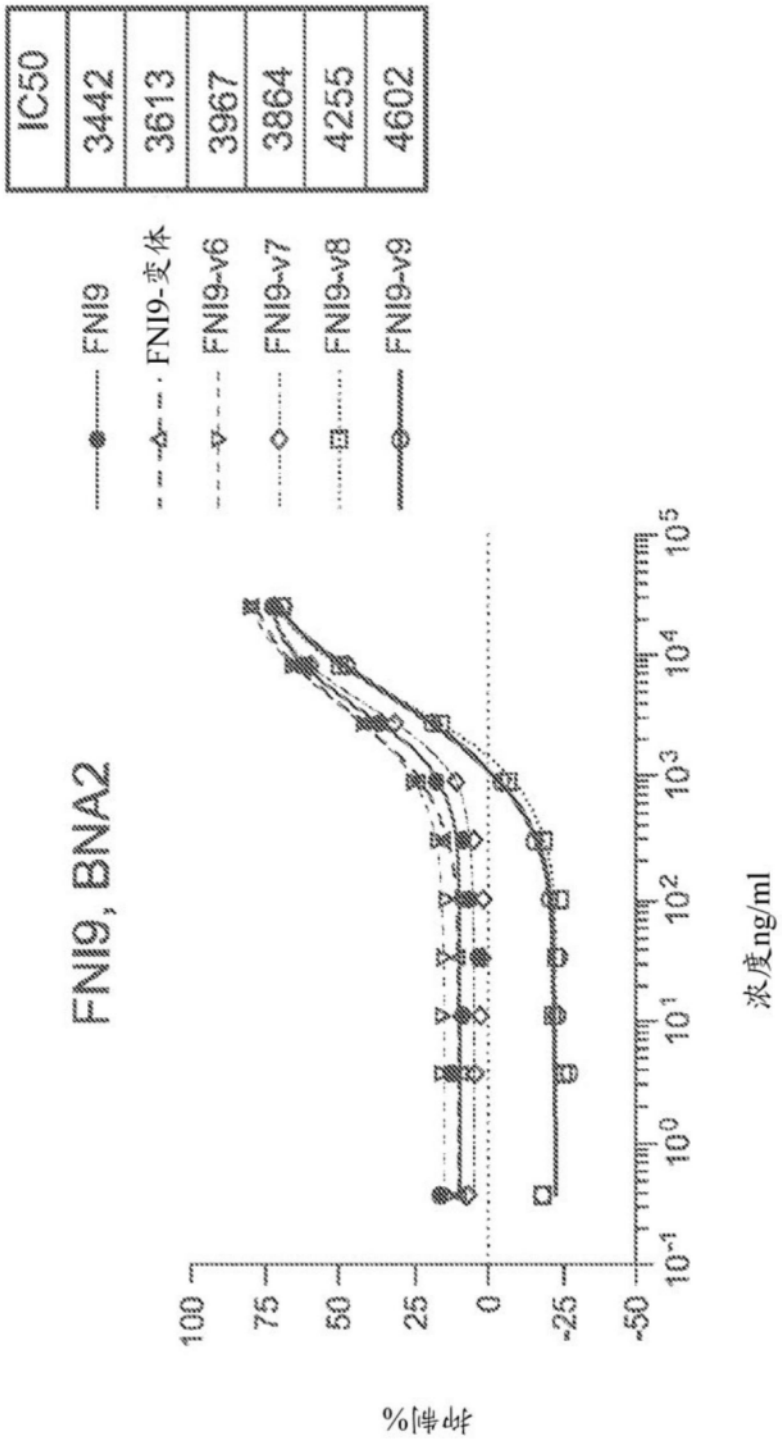

IC50
3442
3613
3967
3864
4255
4602
FN19
FN19-变体
FN19-v6
FN19-v7
FN19-v8
FN19-v9
FN19, BNA2
100
75
50
25
0
-25
-50
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
抑制%

图59D

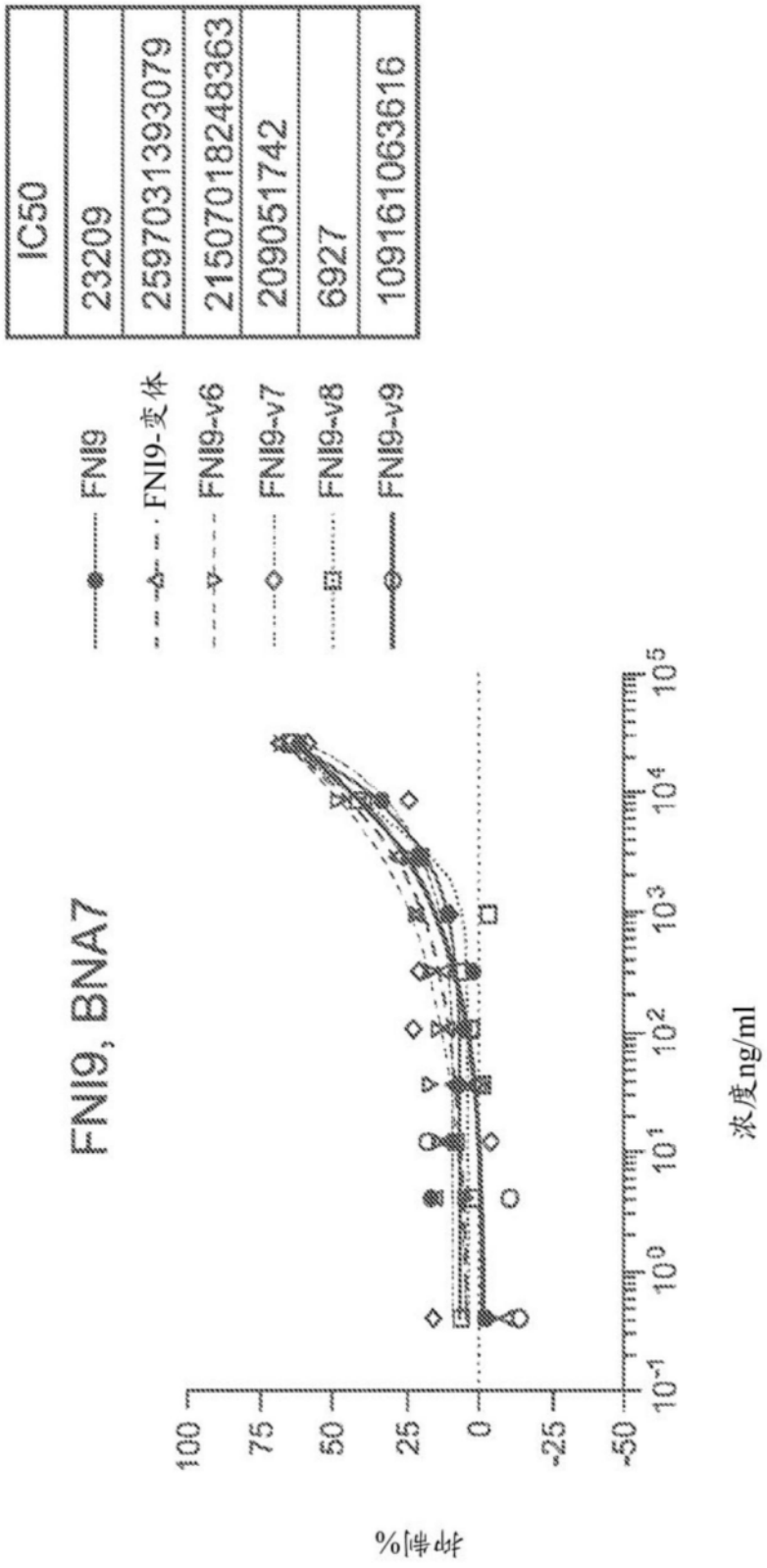

IC50
23209
2597031393079
21507018248363
2090511742
6927
1091610636l6
FN19
FN19-变体
FN19-v6
FN19-v7
FN19-v8
FN19-v9
FN19, BNA7
100
75
50
25
0
-25
-50
10-1
10⁰
10¹
10²
10³
10⁴
10⁵
浓度ng/ml
抑制%

图59E

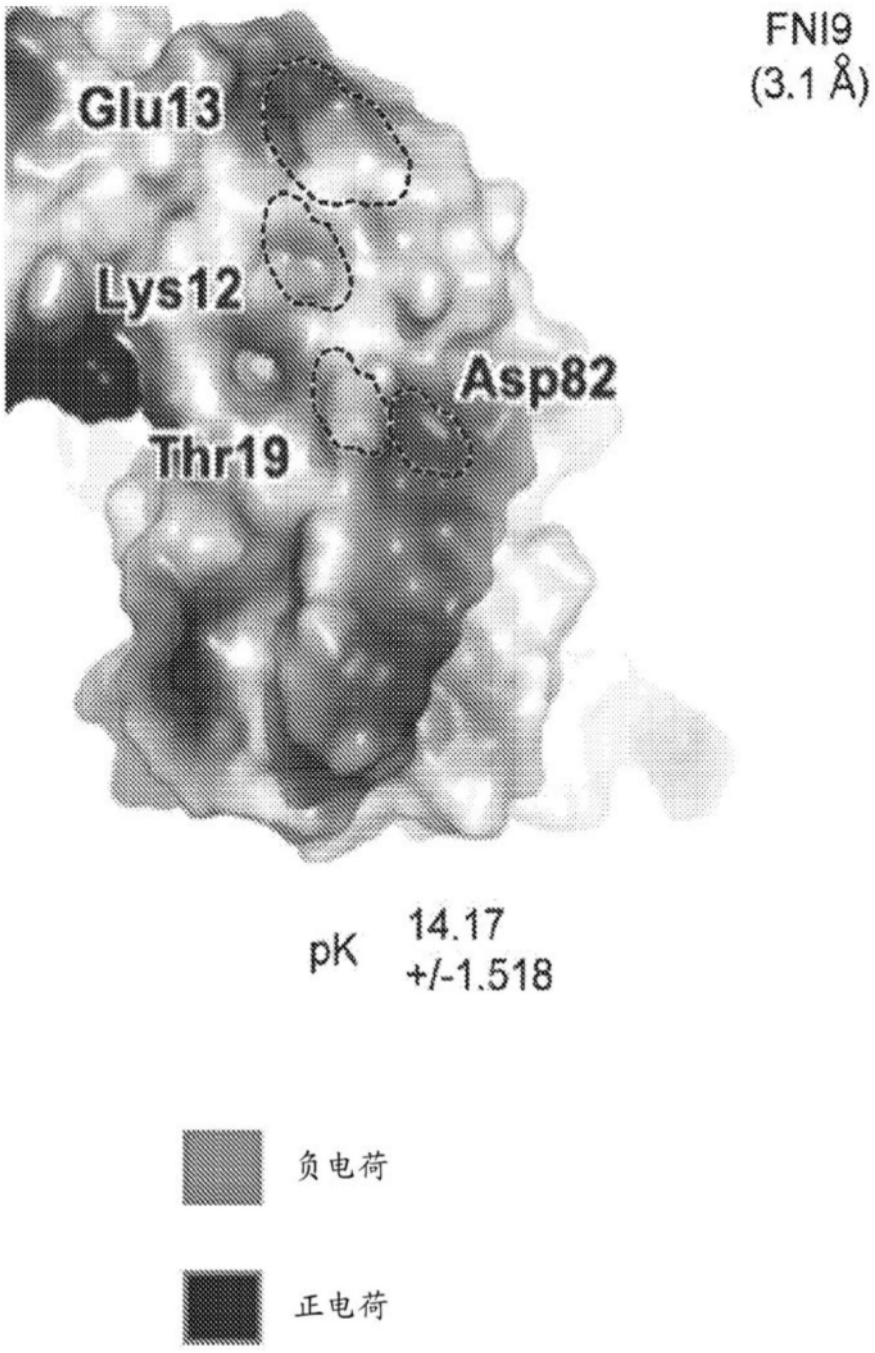


图60


Glu432
Lys431
Arg430
Ile427
Tyr 406
Arg371
Thr369
Val349
Gly348
His347
Gly346
Gly345
Glu344
Pro326
Lys296
Trp295
Asn294
Arg292
Glu277
Glu276
Lys249
Gly248
Ser247
Ala246
Ser245
Glu227
Thr225
Arg224
Ile222
Glu221
Lys220
Lys199
Asp198
Ser179
Trp178
Arg156
Thr153
Arg152
Asp151
Arg150
Val149
Leu134
Glu119
Arg118
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
结合能%
20
10
0
-10
-20

图61

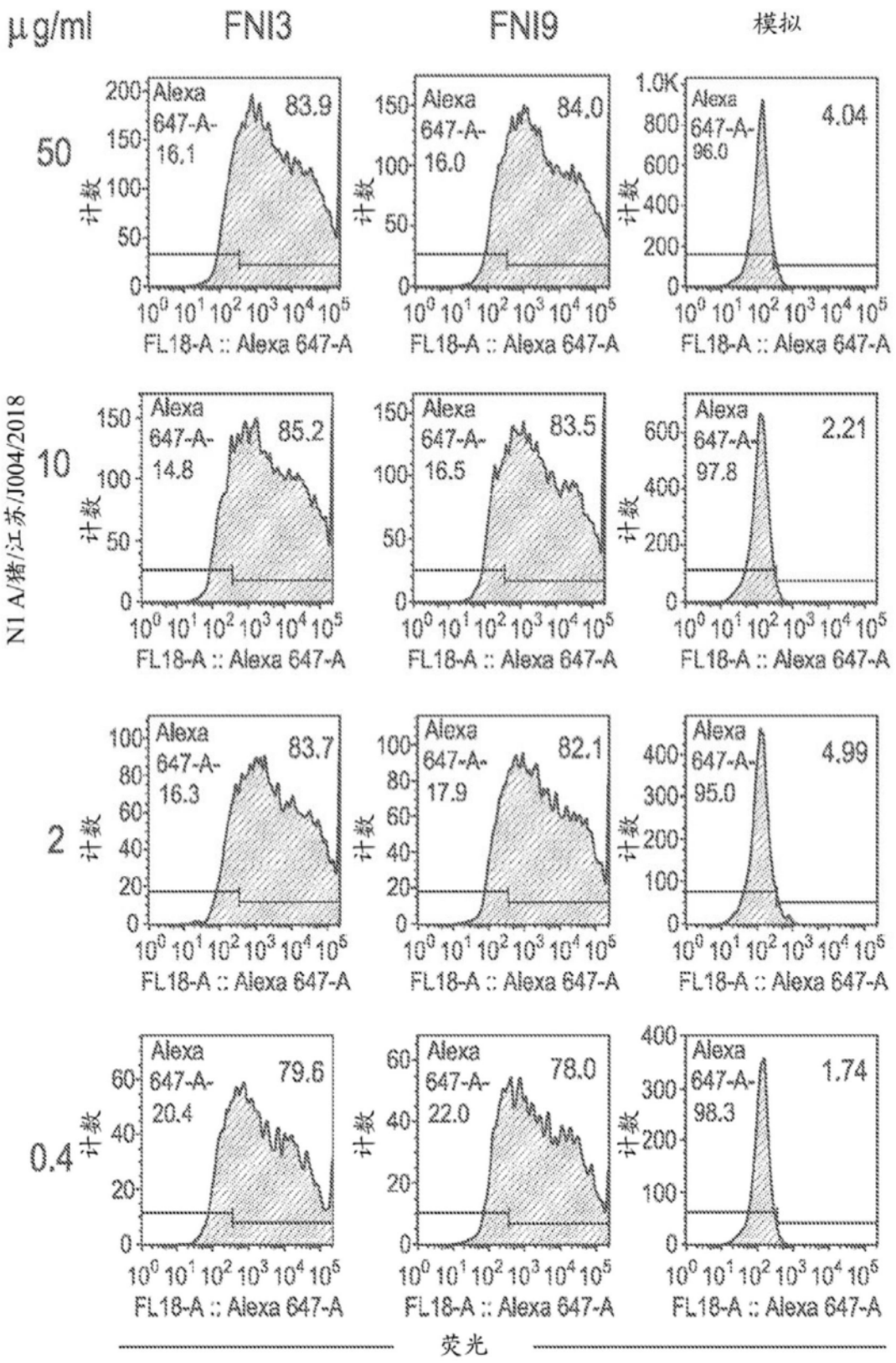

μg/ml
FNI3
FNI9
模拟
50
10
2
0.4
N1 A/猪/江苏/J004/2018
Alexa 647-A- 16.1
83.9
Alexa 647-A- 16.0
84.0
Alexa 647-A- 96.0
4.04
Alexa 647-A- 14.8
85.2
Alexa 647-A- 16.5
83.5
Alexa 647-A- 97.8
2.21
Alexa 647-A- 16.3
83.7
Alexa 647-A- 17.9
82.1
Alexa 647-A- 95.0
4.99
Alexa 647-A- 20.4
79.6
Alexa 647-A- 22.0
78.0
Alexa 647-A- 98.3
1.74
计数
FL18-A :: Alexa 647-A
荧光

图62

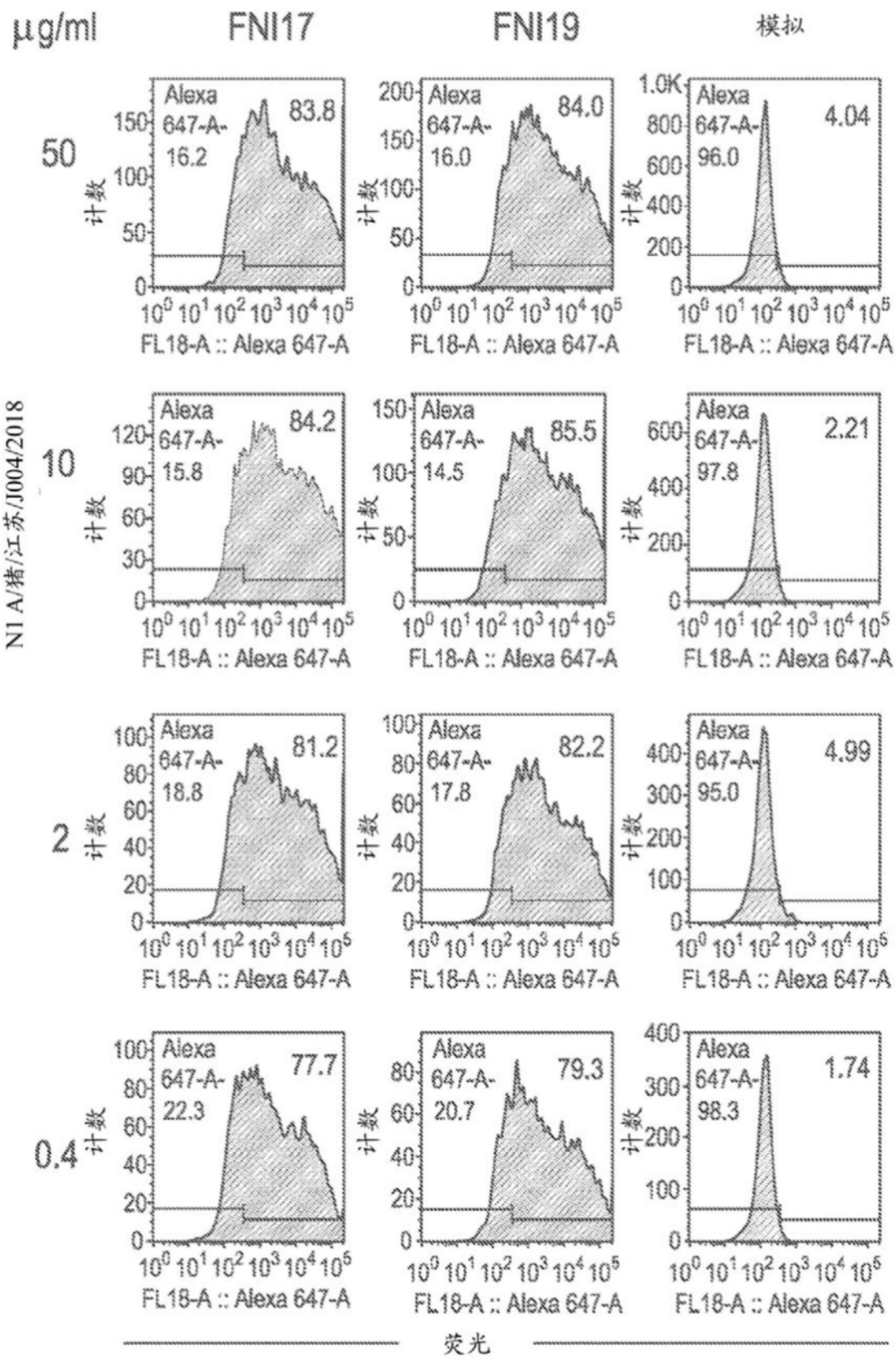

μg/ml
FNI17
FNI19
模拟
50
10
2
0.4
N1 A/猪/江苏/J004/2018
Alexa 647-A-
16.2
83.8
16.0
84.0
96.0
4.04
15.8
84.2
14.5
85.5
97.8
2.21
18.8
81.2
17.8
82.2
95.0
4.99
22.3
77.7
20.7
79.3
98.3
1.74
计数
FL18-A :: Alexa 647-A
荧光

图62(续)

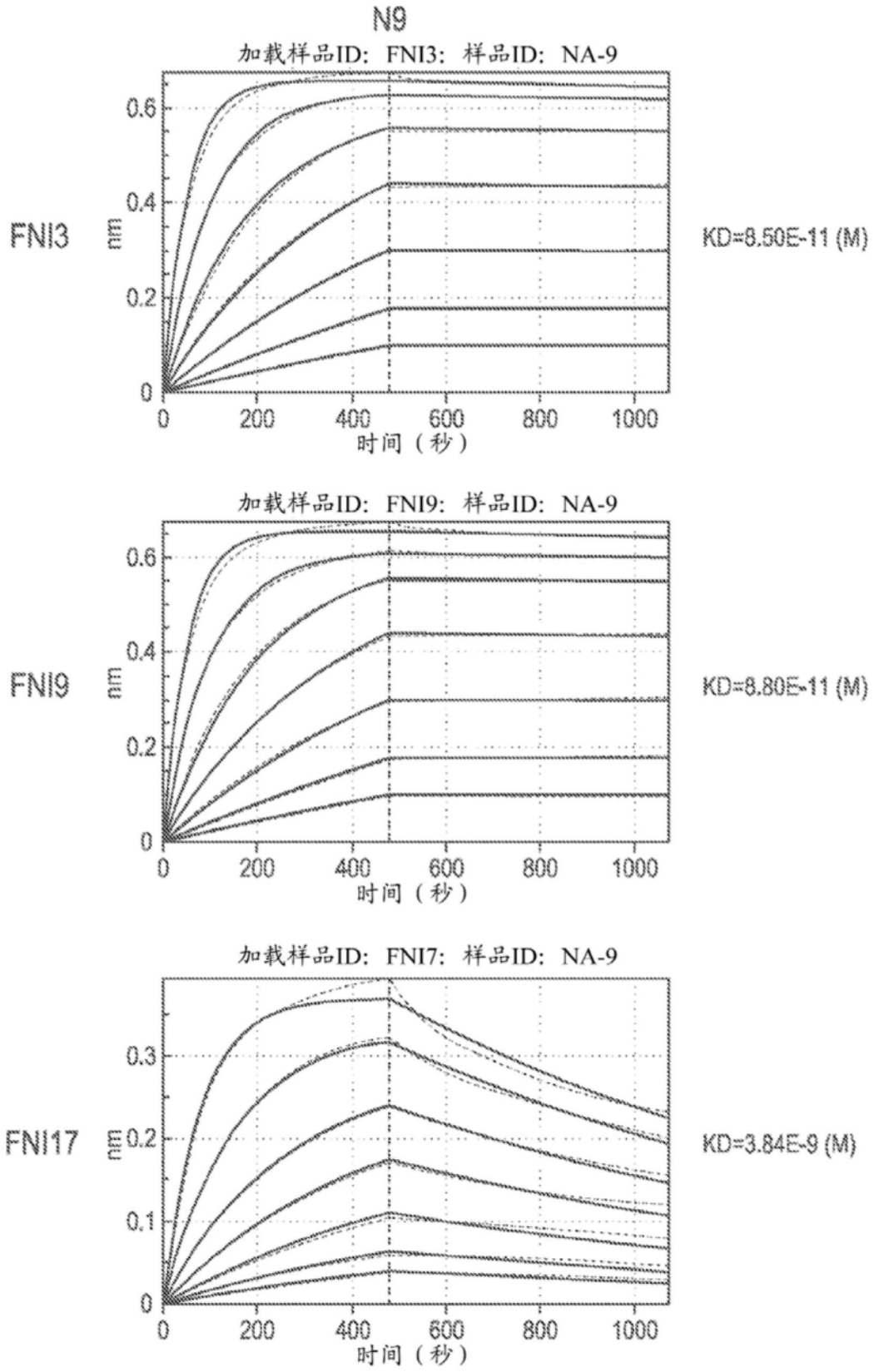

N9
加载样品ID: FNI3; 样品ID: NA-9
FNI3
nm
KD=8.50E-11 (M)
时间（秒）
加载样品ID: FNI9; 样品ID: NA-9
FNI9
nm
KD=8.80E-11 (M)
时间（秒）
加载样品ID: FNI7; 样品ID: NA-9
FNI17
nm
KD=3.84E-9 (M)
时间（秒）

图63

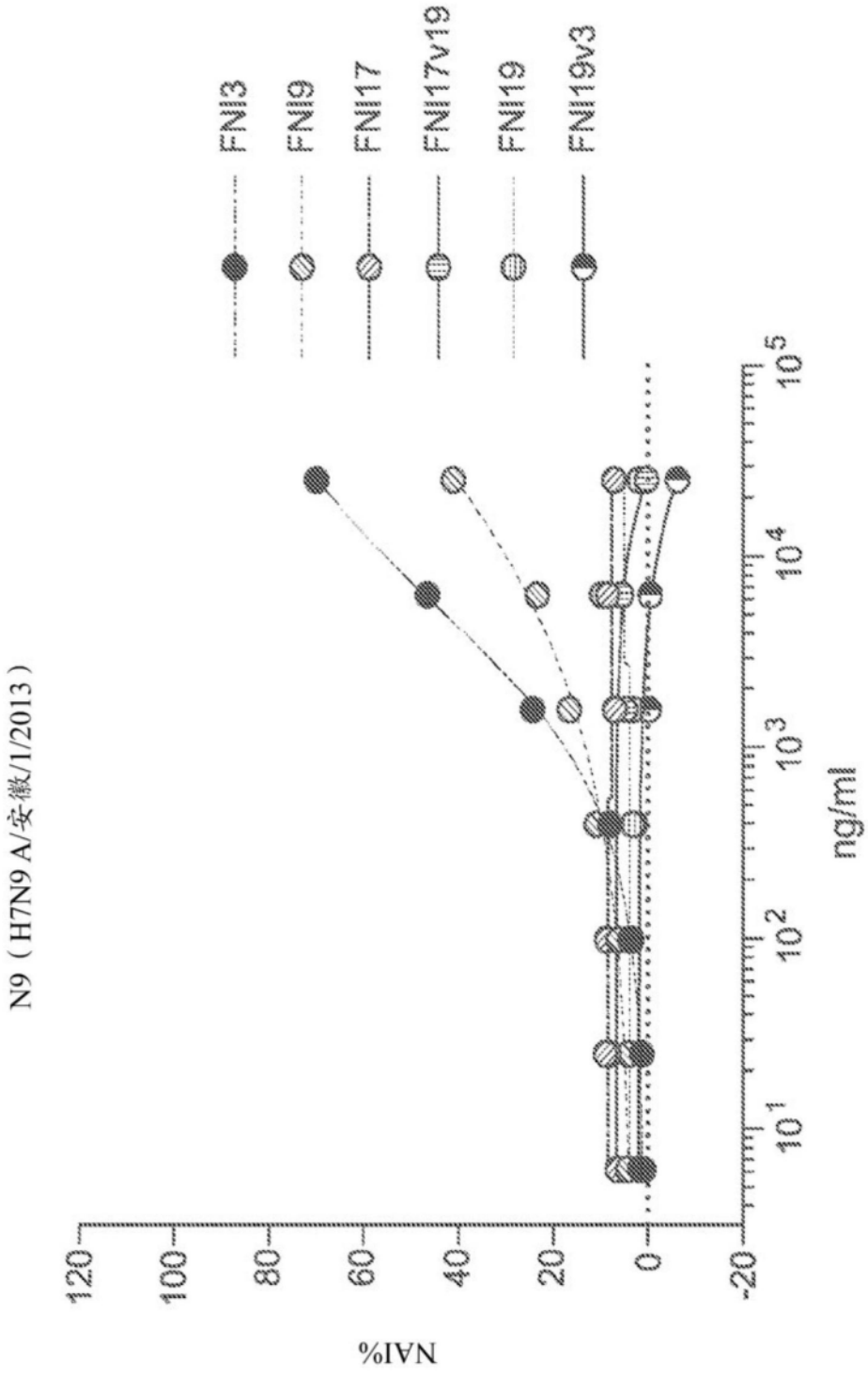

FNI3
FNI9
FNI17
FNII17v19
FNII19
FNII19v3
N9（H7N9 A/安徽/1/2013）
%INA
120
100
80
60
40
20
0
-20
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
ng/ml

图64

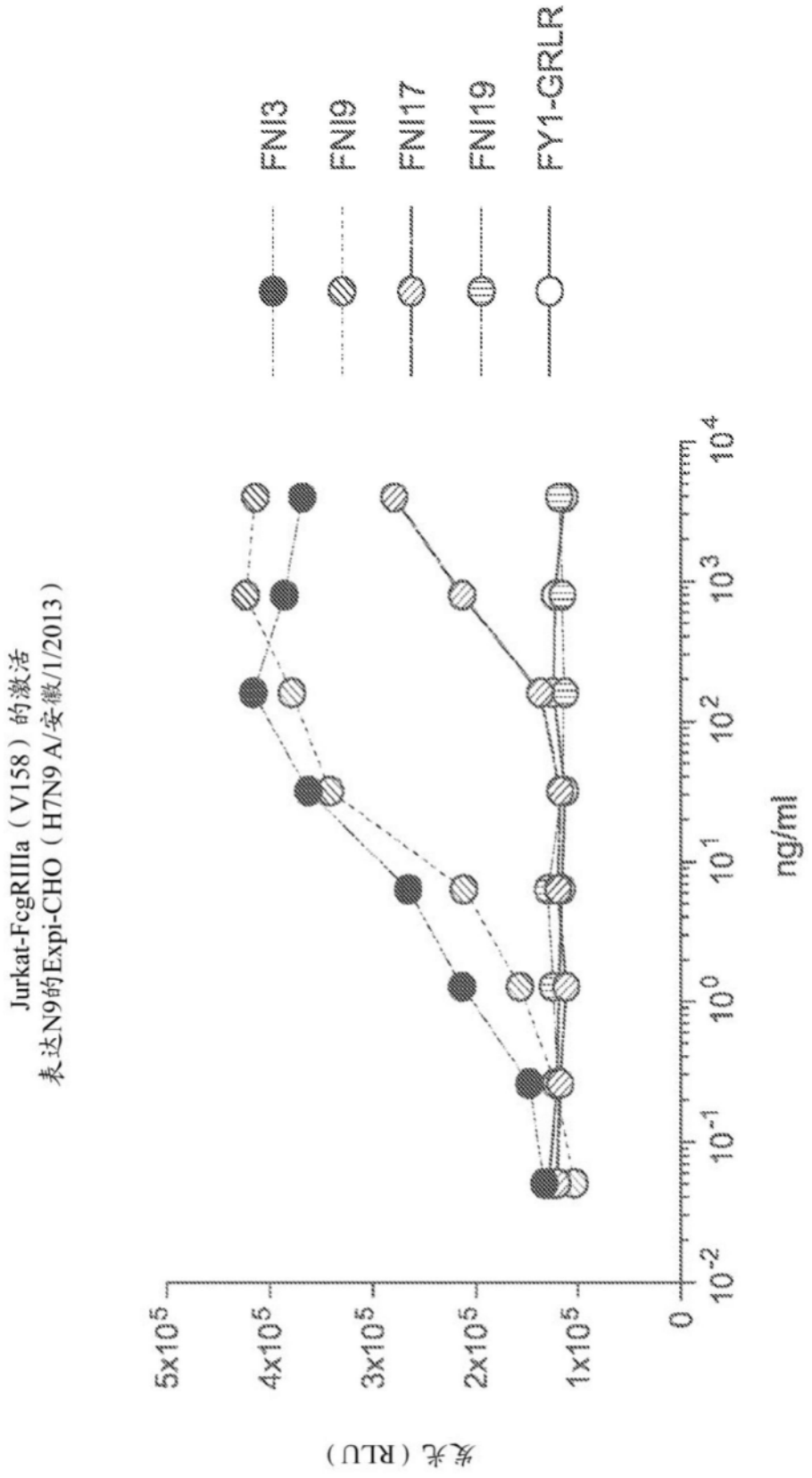

Jurkat-FcgRIIIa（V158）的激活
表达N9的Expi-CHO（H7N9 A/安徽/1/2013）
FNI3
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
5x10^5
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
发光（RLU）

图65

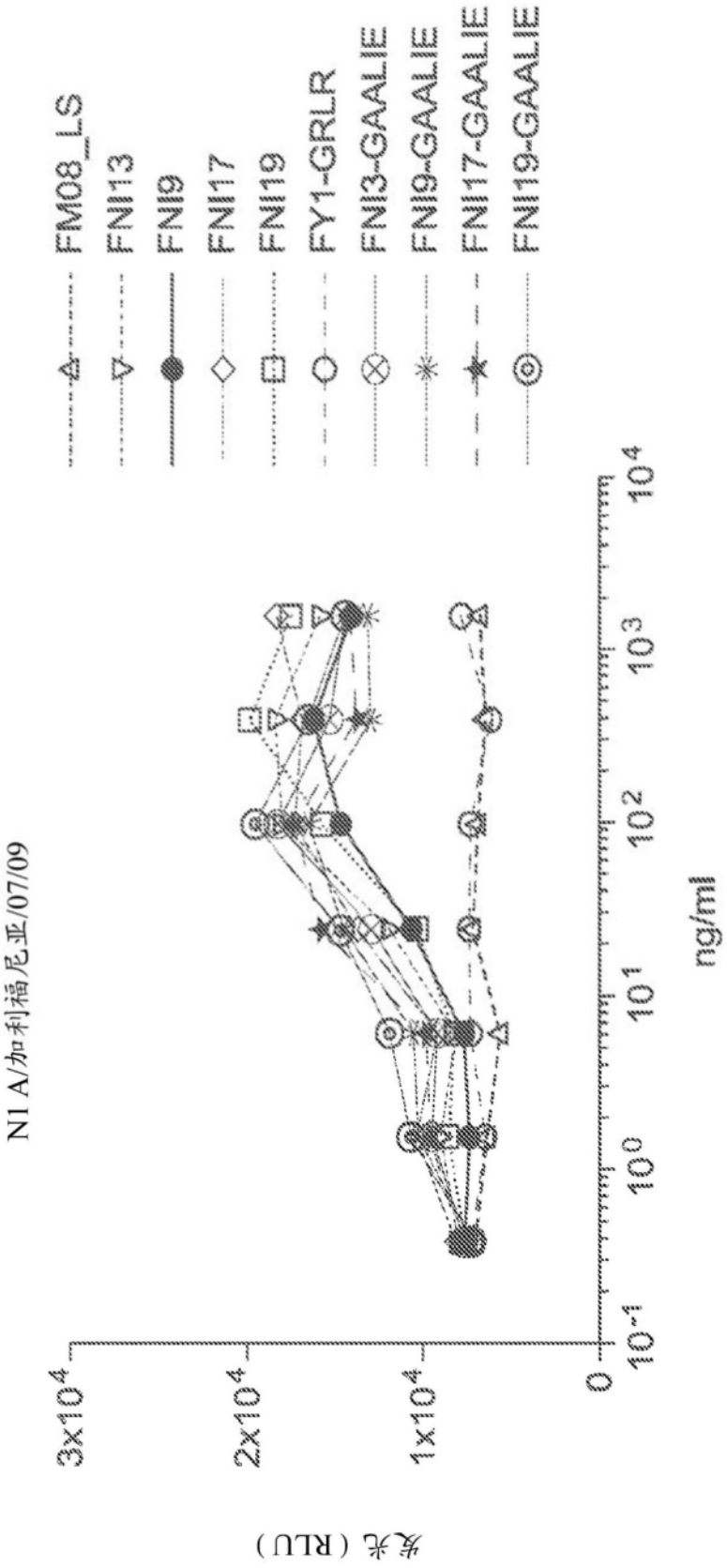

FM08_LS
FNI13
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
FNI3-GAALIE
FNI9-GAALIE
FNI17-GAALIE
FNI19-GAALIE
N1 A/加利福尼亚/07/09
3x10^4
2x10^4
1x10^4
0
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
发光（RLU）

图66A

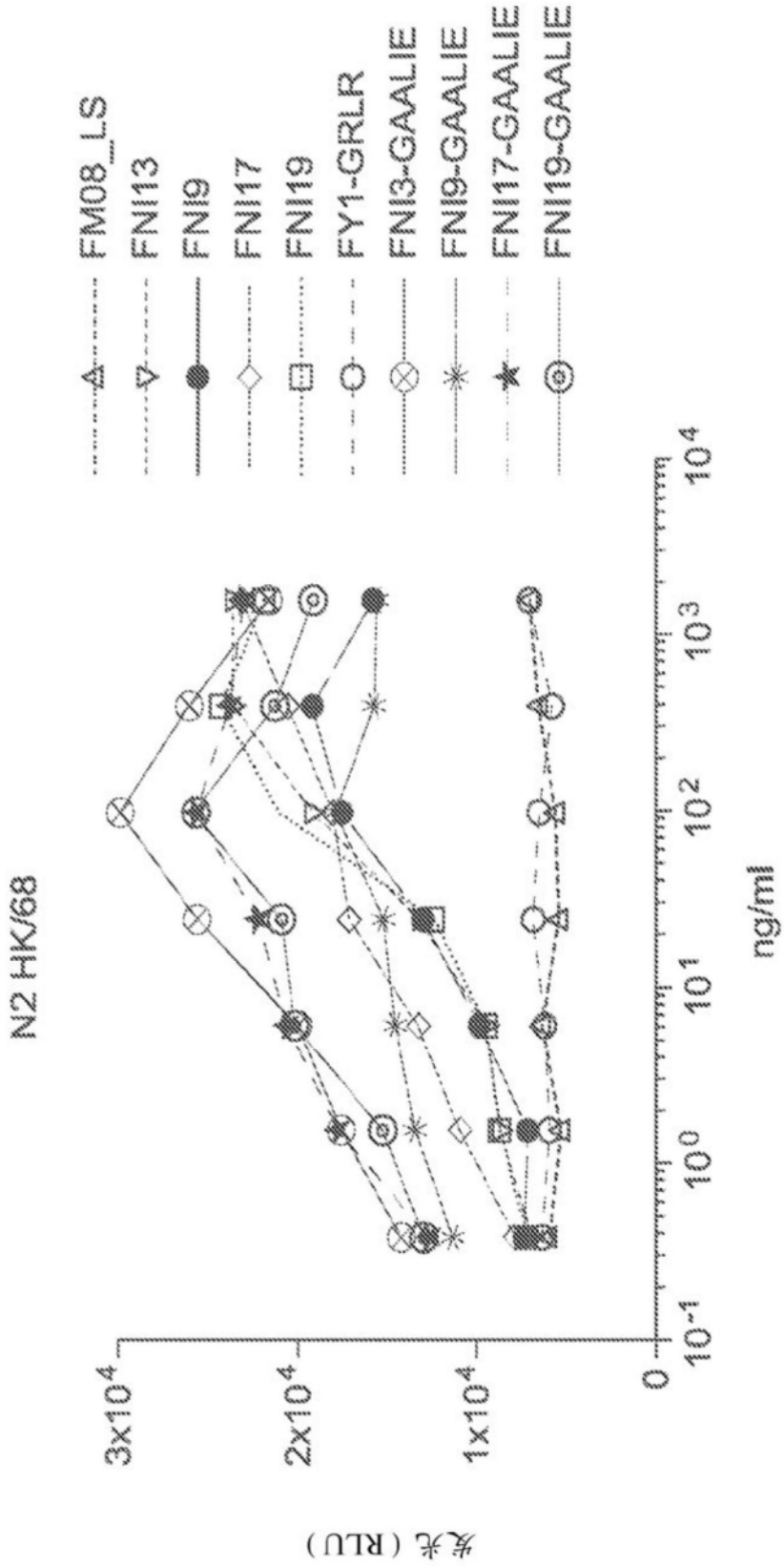

FM08_LS
FNI13
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
FNI3-GAALIE
FNI9-GAALIE
FNI17-GAALIE
FNI19-GAALIE
N2 HK/68
3x10^4
2x10^4
1x10^4
0
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
发光 (RLU)

图66B

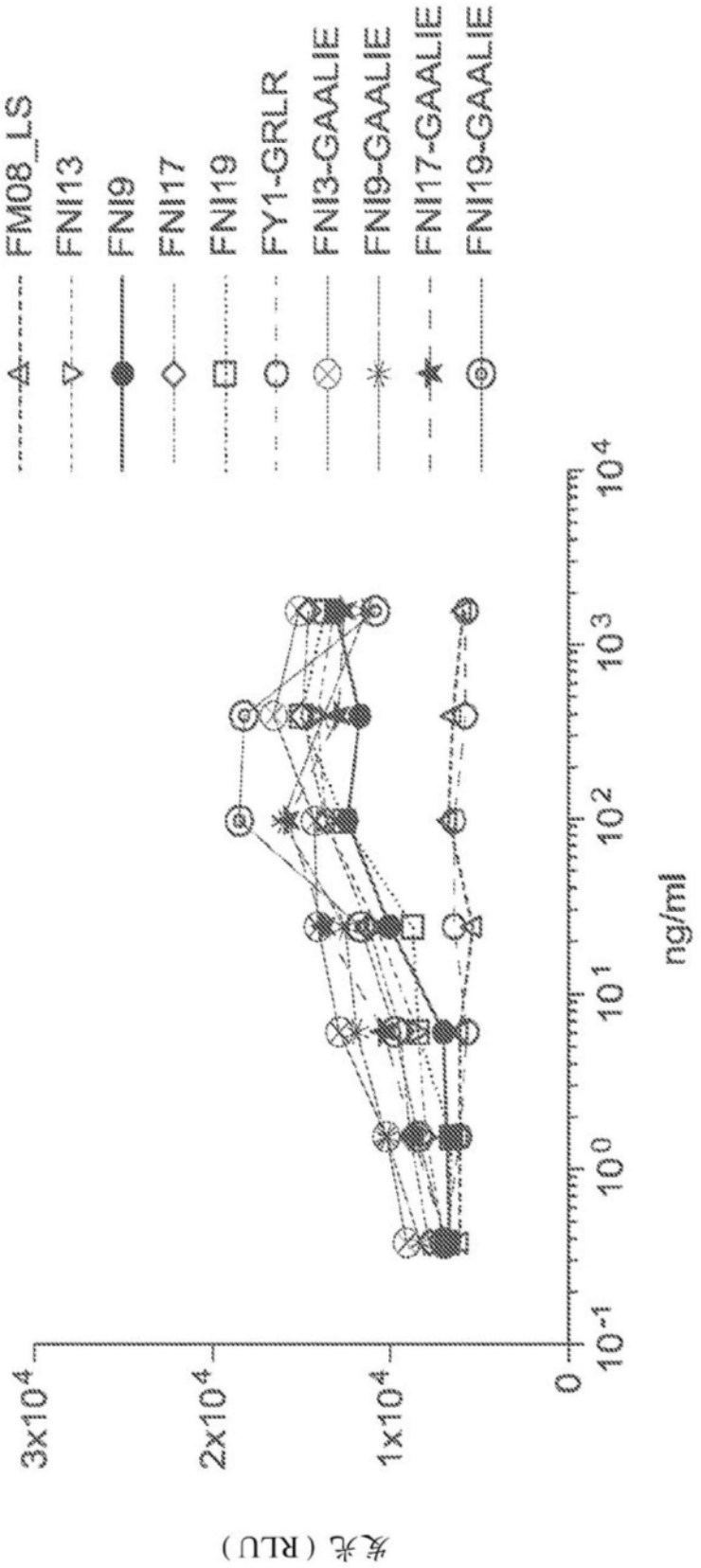

FM08_LS
FNI13
FNI9
FNI17
FNI19
FY1-GRLR
FNI3-GAALIE
FNI9-GAALIE
FNI17-GAALIE
FNI19-GAALIE
3x10^4
2x10^4
1x10^4
0
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
ng/ml
发光 (RLU)

图66C

mAb名称	VH	VK	滴度	增加/减少
FNI3-rIgG1-LS	FNI3-VH-WT	FNI3-VK-WT	75.064	
FNI3-v8-rIgG1-LS	FNI3-VH-WT	FNI3-VK-FR123GL	95.036	27%
FNI3-v9-rIgG1-LS	FNI3-VH-WT	FNI3-VK-FR12GL	181.42	142%
FNI3-v10-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL	FNI3-VK-WT	138.72	85%
FNI3-v11-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL	FNI3-VK-FR123GL	238.583	218%
FNI3-v12-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL	FNI3-VK-FR12GL	209.362	179%
FNI3-v13-rIgG1-LS	FNI3-VH-N92S/G93S	FNI3-VK-WT	96.217	28%
FNI3-v14-rIgG1-LS	FNI3-VH-N92S/G93S	FNI3-VK-FR123GL	153.183	104%
FNI3-v15-rIgG1-LS	FNI3-VH-N92S/G93S	FNI3-VK-FR12GL	314.734	319%
FNI3-v16-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL-N92S/G93S	FNI3-VK-WT	95.233	27%
FNI3-v17-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL-N92S/G93S	FNI3-VK-FR123GL	97.102	29%
FNI3-v18-rIgG1-LS	FNI3-VH-FR124GL-N92S/G93S	FNI3-VK-FR12GL	390.099	420%
FNI9-rIgG1-LS	FNI9-VH-WT	FNI9-VK-WT	169.122	
FNI9-v5-rIgG1-LS	FNI9-VH-WT	FNI9-VK-FR123GL	306.765	81%
FNI9-v6-rIgG1-LS	FNI9-VH-WT	FNI9-VK-FR123GL-2S	320.145	89%
FNI9-v7-rIgG1-LS	FNI9-VH-FR124GL	FNI9-VK-WT	236.713	40%
FNI9-v8-rIgG1-LS	FNI9-VH-FR124GL	FNI9-VK-FR123GL	328.115	94%
FNI9-v9-rIgG1-LS	FNI9-VH-FR124GL	FNI9-VK-FR123GL-2S	279.512	65%
FNI17-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-WT	176.697	
FNI17-v6-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-FR123GL	255.505	45%
FNI17-v7-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-FR12GL	130.947	-26%
FNI17-v8-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-W97A	168.236	-5%
FNI17-v9-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-W97L	148.657	-16%
FNI17-v10-rIgG1-LS	FNI17-VH-WT	FNI17-VK-W97Y	148.657	-16%
FNI17-v11-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-WT	319.752	81%
FNI17-v12-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-FR123GL	349.17	98%
FNI17-v13-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-FR12GL	260.621	47%
FNI17-v14-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-W97A	265.246	50%
FNI17-v15-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-W97L	237.796	35%
FNI17-v16-rIgG1-LS	FNI17-VH-FR124GL	FNI17-VK-W97Y	188.11	6%
FNI19-rIgG1-LS	FNI19-VH-WT	FNI19-VK-WT	205.82	
FNI19-v1-rIgG1-LS	FNI19-VH-WT	FNI19-VK-FR123GL	88.641	-57%
FNI19-v2-rIgG1-LS	FNI19-VH-WT	FNI19-VK-FR12GL	70.735	-66%
FNI19-v3-rIgG1-LS	FNI19-VH-FR124GL	FNI19-VK-WT	309.323	50%
FNI19-v4-rIgG1-LS	FNI19-VH-FR124GL	FNI19-VK-FR123GL	151.412	-26%
FNI19-v5-rIgG1-LS	FNI19-VH-FR124GL	FNI19-VK-FR12GL	150.92	-27%

图67

MFI值相对于野生型的归一化

	FN19	FN19-变体	FN19-v6	FN19-v7	FN19-v8	FN19-v9
N1_A_斯德哥尔摩_18_2007	1.00	0.97	0.93	0.98	1.02	1.00
N1_A_加利福尼亚_07_2009_I223R_H275Y	1.00	0.48	0.46	0.82	0.41	0.40
N1_A_加利福尼亚_07_2009	1.00	1.03	0.98	0.80	0.66	0.51
N1_NA_A_猪_河北_0116_2017	1.00	1.00	0.93	0.95	0.97	1.00
N1_NA_A_猪_江苏_J004_2018	1.00	0.97	0.99	0.86	0.88	0.90
N2_NA_A_南澳大利亚_34_2019	1.00	1.04	0.96	0.88	0.84	0.89
N2_A_列宁格勒_134_17_57	1.00	0.96	0.89	0.89	0.83	0.85
N2_A_华盛顿_01_2007	1.00	0.85	0.81	0.86	0.74	0.69
N3_A_加拿大_rv504_2004	1.00	1.05	0.90	0.90	1.04	0.96
N6_A_猪_安大略_01911_1_99	1.00	1.01	0.94	0.89	0.87	0.84
N7_A_荷兰_078_03	1.00	0.68	0.70	0.64	0.57	0.59
N8_A_港海豹_新罕布什尔_179629_2011	1.00	0.78	0.79	0.72	0.58	0.64
N9_A_安徽_1_2013	1.00	0.79	0.74	0.85	0.71	0.62
B/山梨县/166/1998（山形县）	1.00	1.03	1.04	0.88	0.96	1.00
B/马来西亚/2506/2004（维多利亚）	1.00	1.00	0.94	0.91	0.92	0.91
B/Lee/10/1940（祖先）	1.00	0.98	0.96	0.85	0.90	0.88

图68

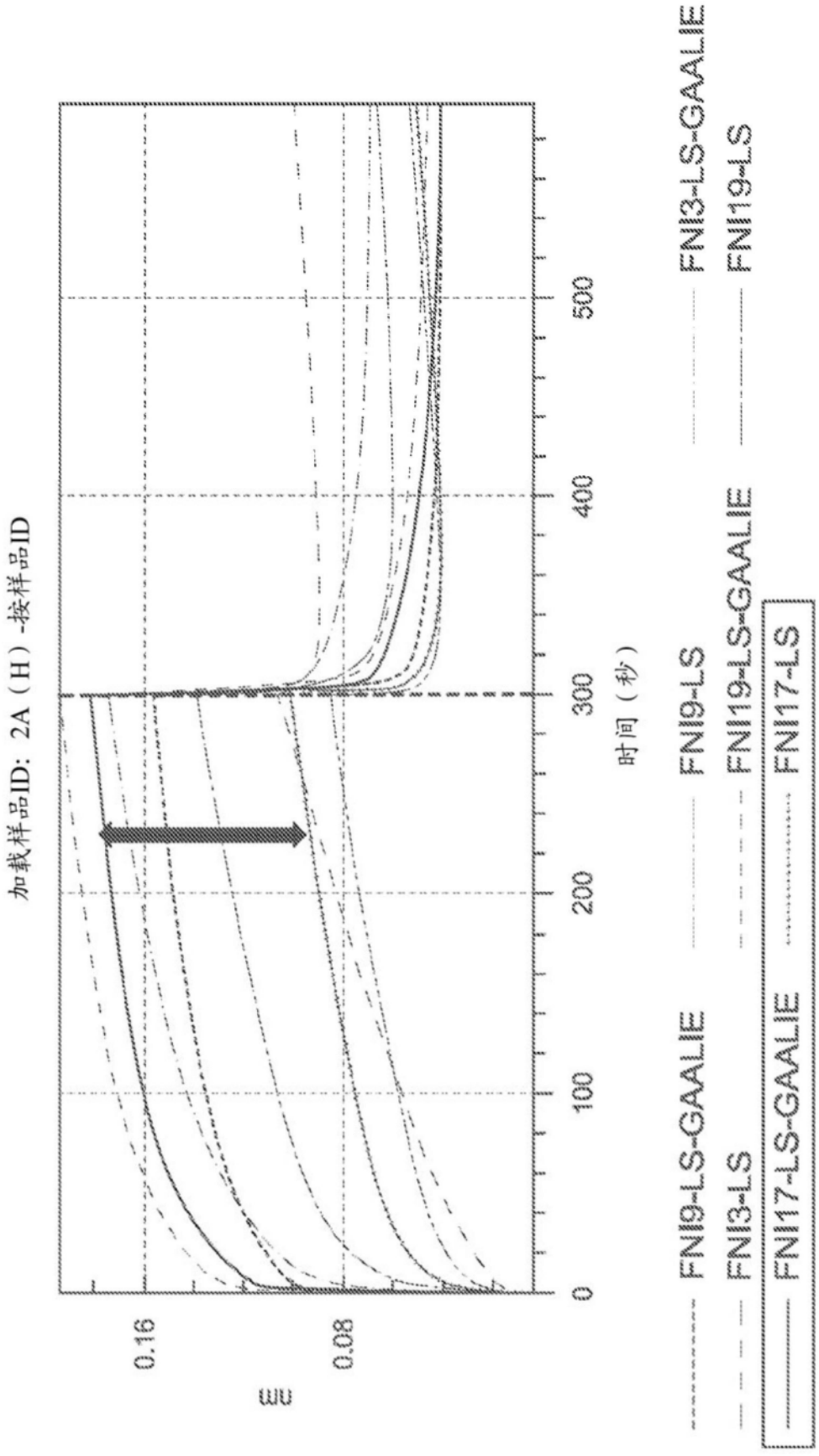

加载样品ID: 2A（H）-按样品ID
0.16
0.08
ωω
0
100
200
300
400
500
时间（秒）
FNI9-LS-GAALIE
FNI3-LS
FNI17-LS-GAALIE
FNI9-LS
FNI19-LS-GAALIE
FNI3-LS-GAALIE
FNI19-LS
FNI17-LS

图69A

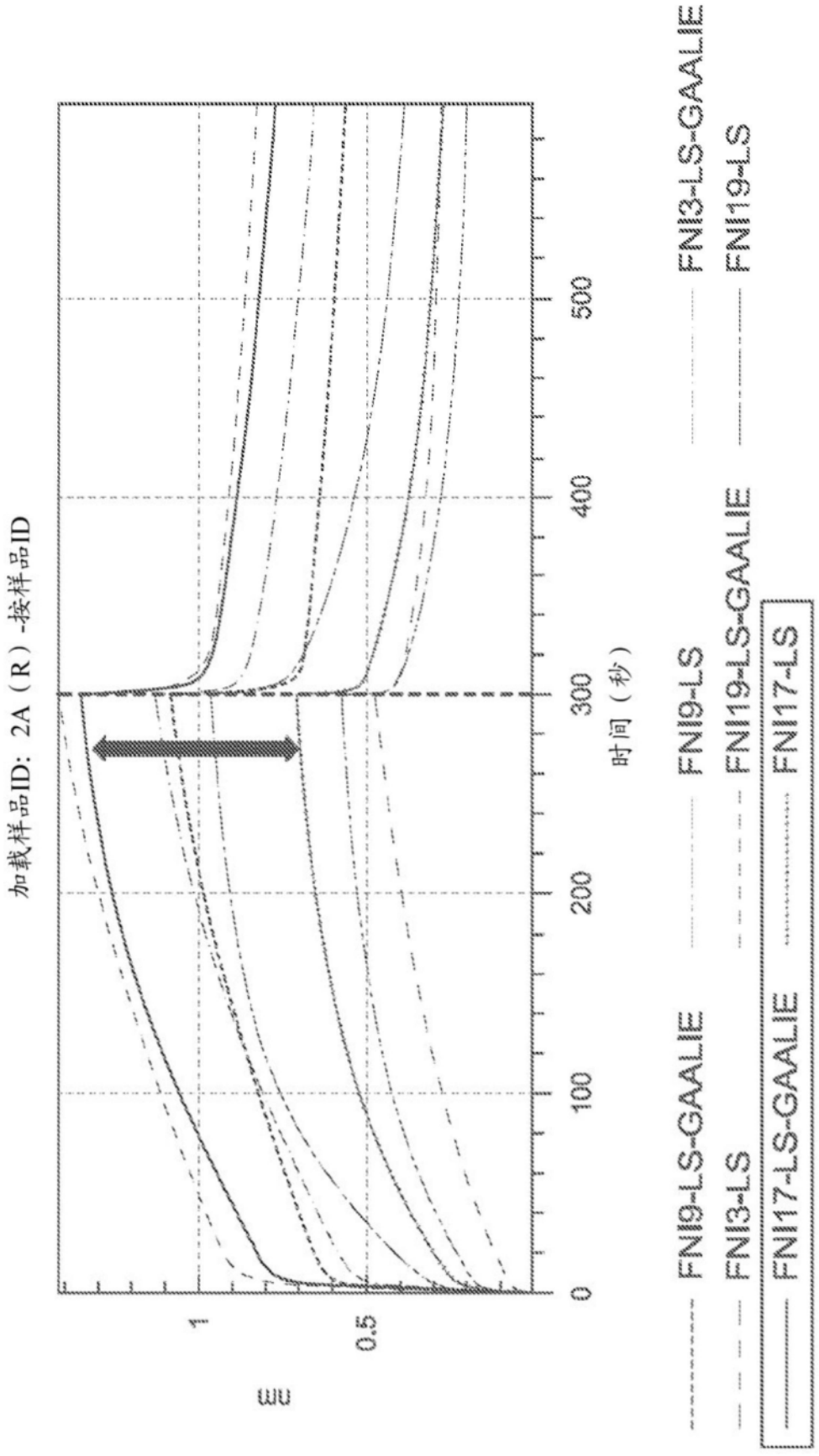

加载样品ID: 2A（R）-按样品ID
时间（秒）
0
100
200
300
400
500
0.5
1
FNI9-LS-GAALIE
FNI3-LS
FNI17-LS-GAALIE
FNI9-LS
FNI19-LS-GAALIE
FNI17-LS
FNI3-LS-GAALIE
FNI19-LS

图69B

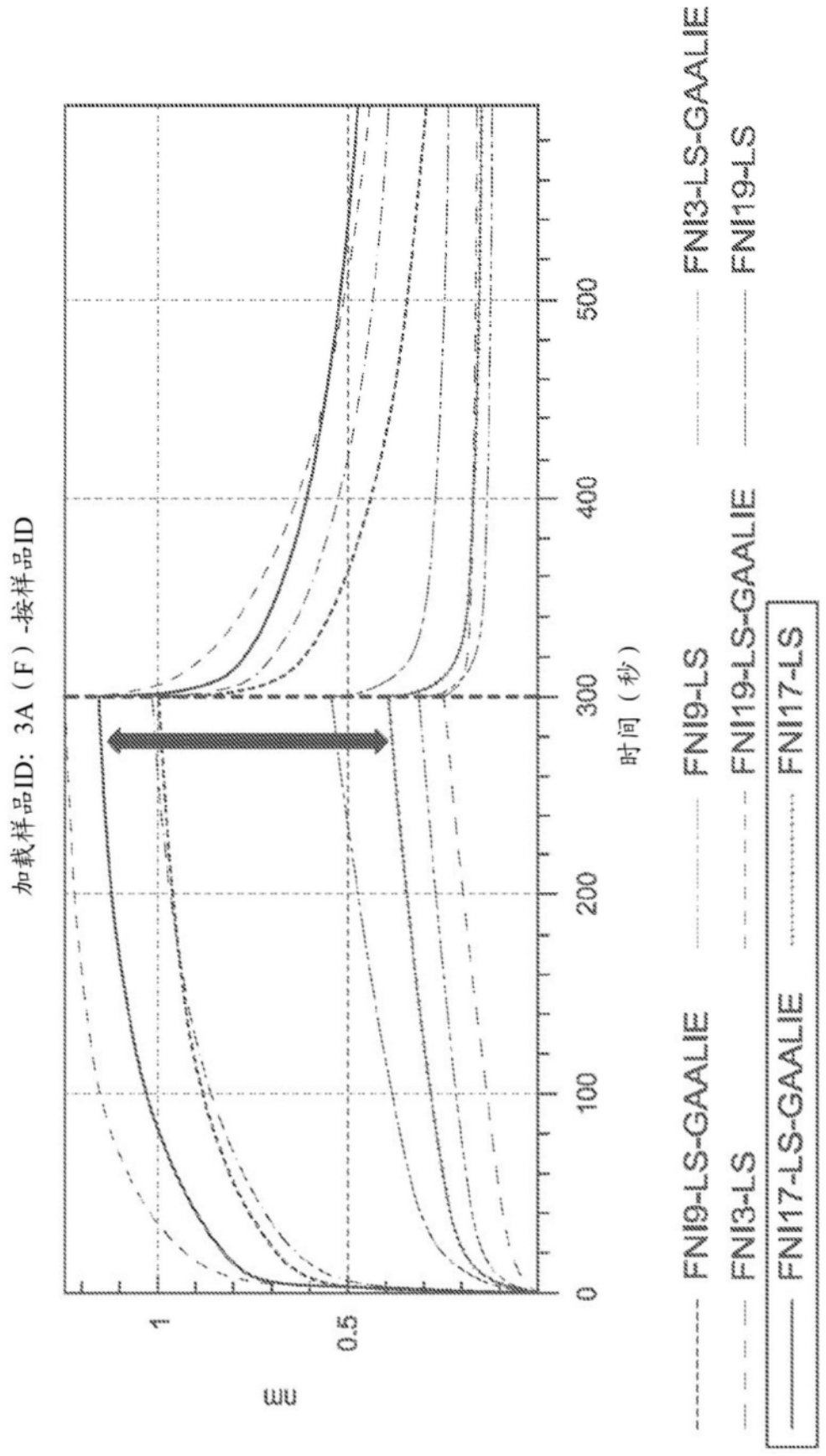

加载样品ID：3A（F）-按样品ID
εε
1
0.5
0
100
200
300
400
500
时间（秒）
FNI9-LS-GAALIE
FNI3-LS
FNI17-LS-GAALIE
FNI9-LS
FNI19-LS-GAALIE
FNI17-LS
FNI3-LS-GAALIE
FNI19-LS

图69C

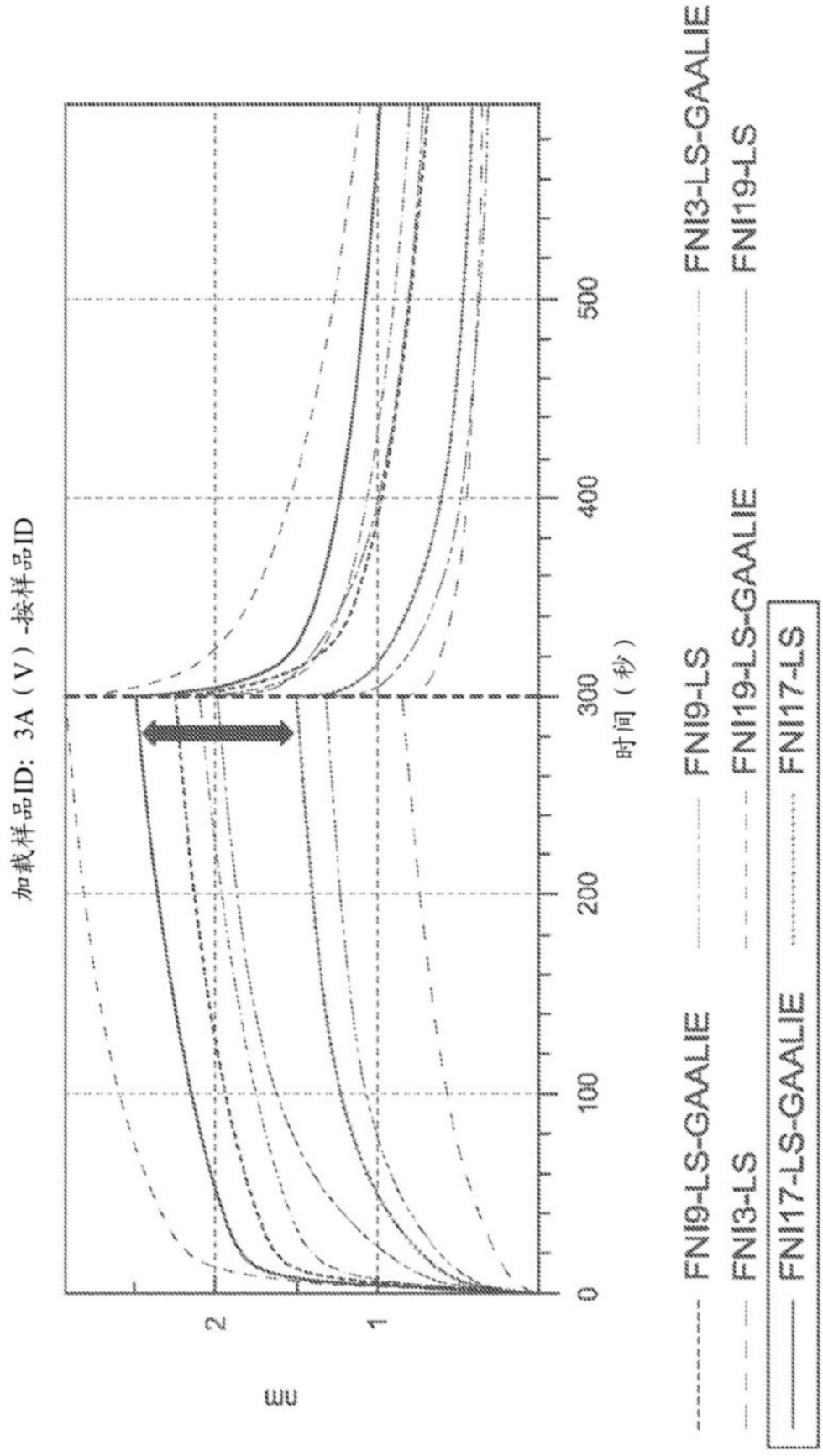
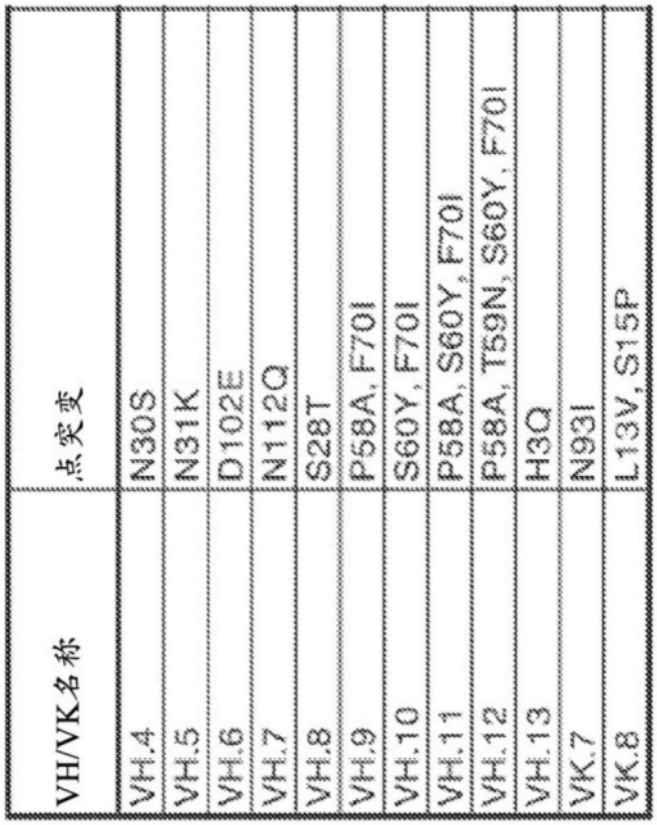

加载样品ID：3A（V）-按样品ID
Ω
2
1
0
100
200
300
400
500
时间（秒）
FNI9-LS-GAALIE
FNI3-LS
FNI17-LS-GAALIE
FNI9-LS
FNI19-LS-GAALIE
FNI19-LS
FNI3-LS-GAALIE
FNI17-LS

图69D



VH/VK名称	点突变
VH.4	N30S
VH.5	N31K
VH.6	D102E
VH.7	N112Q
VH.8	S28T
VH.9	P58A, F70I
VH.10	S60Y, F70I
VH.11	P58A, S60Y, F70I
VH.12	P58A, T59N, S60Y, F70I
VH.13	H3Q
VK.7	N93I
VK.8	L13V, S15P

图70

>FNI9-VH-WT

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH-FR124GL

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.4

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFSNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.5

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNKQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

图71

>FNI9-VH.6

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSEYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.7

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWEQYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.8

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGTFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.9

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTATS
AQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

图71(续)

>FNI9-VH.10

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTY
AQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.11

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTATY
AQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.12

QVHLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTANY
AQRFQGRVTITADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

>FNI9-VH.13

QVQLVQSGAEVKEPGSSVTVSCKASGGSFNNQAISWVRQAPGQGLEWMGGIFPISGTPTS
AQRFQGRVTFTADESTTTVYMDLSSLRSDDTAVYYCARAGSDYFNRDLGWENYYFASWGQ
GTLVTVSS

图71(续)

序列可变区轻链:

>FNI9-VK-WT

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARF
AGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK

>FNI9-VK.7

EIVMTQSPATLSLSSGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARF
AGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNIWPPWTFGQGTKVEIK

>FNI9-VK.8

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASRSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGFSARF
AGSGSGTEFTLTISSLQSEDSAIYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIK

图71(续)

变体名称	VH突变	VK突变
FNI9-V5	无	***FR123GL***
FNI9	无	无
FNI9-v13.8	***H3Q***	***L13V, S15P***
FNI9-v4.1	N30S	无
FNI9-v5.1	N31K	无
FNI9-v6.1	D102E	无
FNI9-v7.1	N112Q	无
FNI9-v8.1	S28T	无
FNI9-v9.1	P58A, F70I	无
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无
FNI9-v4.7	N30S	N93I
FNI9-v5.7	N31K	N93I
FNI9-v6.7	D102E	N93I
FNI9-v7.7	N112Q	N93I
FNI9-v8.7	S28T	N93I
FNI9-v9.7	P58A, F70I	N93I
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I
FNI9-v11.7	T59N, F70I	N93I
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I

图72

	IIA_H	IIB	IIA_R	IIIA_V	IIIA_F	IIIB	FcRn	IIA/IIB	滴度mg/mL	Tm (℃)
G236A_A330L_I332E	4.3	0.61	1.62	2.38	13.35	1.98	0.93		-0.0039	-13.305
G236A_A330L_I332E	2.91	0.60	1.19	1.69	11.25	1.6	0.94		-0.0181	-13.725
G236A_E272Y_S298N	0.63	0.19	0.38	0.06	0.31	0.62	0.98	3.24	0.0255	-2.985
G236A_K334A_Q295E	5.01	0.4	2.88	0.27	0.74	0.72	1.02	12.59	0.0245	-8.055
G236A_L328V_Q295E	7.76	0.81	10.72	0.36	0.52	0.71	1.07	9.55	0.0145	-11.265
G236A_P230A_Q295E	7.59	0.48	4.57	0.31	0.48	0.72	0.93	15.85	0.0245	-6.185
G236A_Q295E_S298N	1.82	0.23	0.65	0.07	0.35	0.76	0.93	7.76	0.0425	-3.225
K334A_Q295E_S298N	0.22	0.47	0.28	0.09	0.37	0.93	0.91	0.47		
L234D_G236D_K326E	0.14	0.28	0.3	0.05	0.35	0.6	0.83	0.51		
L234D_V264R_K326E	0.14	0.5	0.25	0.05	0.27	0.6	0.83	0.28		
L328V_Q295E_S298N	0.26	0.32	0.33	0.08	0.28	0.79	1.02	0.79		
P245A_Q295E_S298N	0.28	0.31	0.3	0.1	0.34	0.89	0.85	0.91		

图73

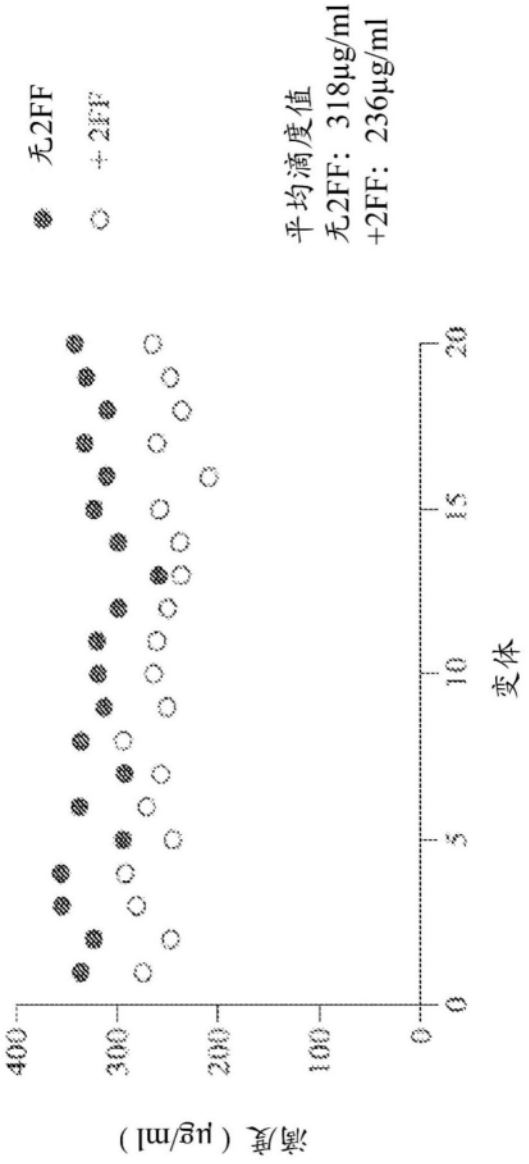

无2FF
+2FF
平均滴度值
无2FF: 318μg/ml
+2FF: 236μg/ml
滴度（μg/ml）
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
变体

图74A

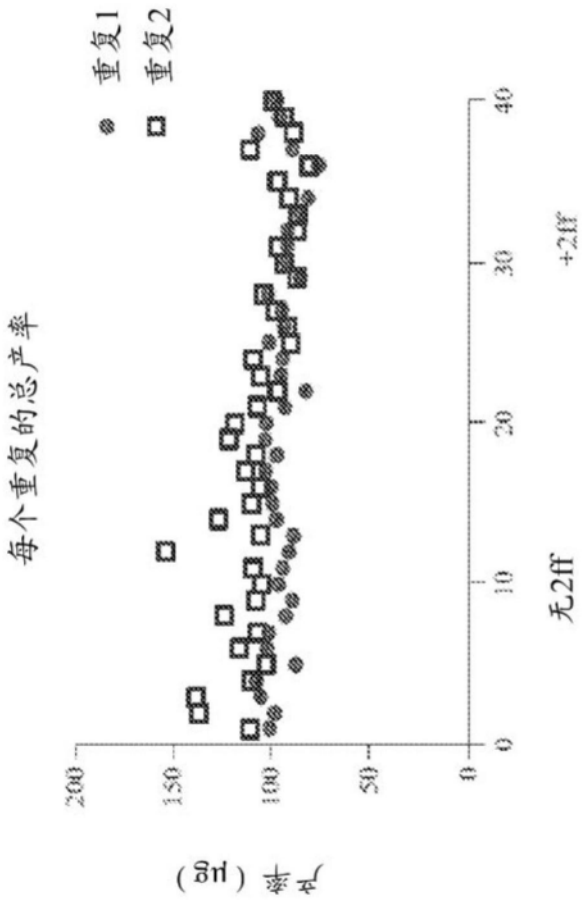


图74B

纯化	理论平均最大产率（μg）	平均产率（μg）	平均回收率	平均浓度第2次洗脱（mg/mL）
无2FF 1	286	98	34%	0.61
无2FF 2	286	117	41%	0.68
+2FF 1	230	92	40%	0.54
+2FF 2	230	96	42%	0.55

图74C

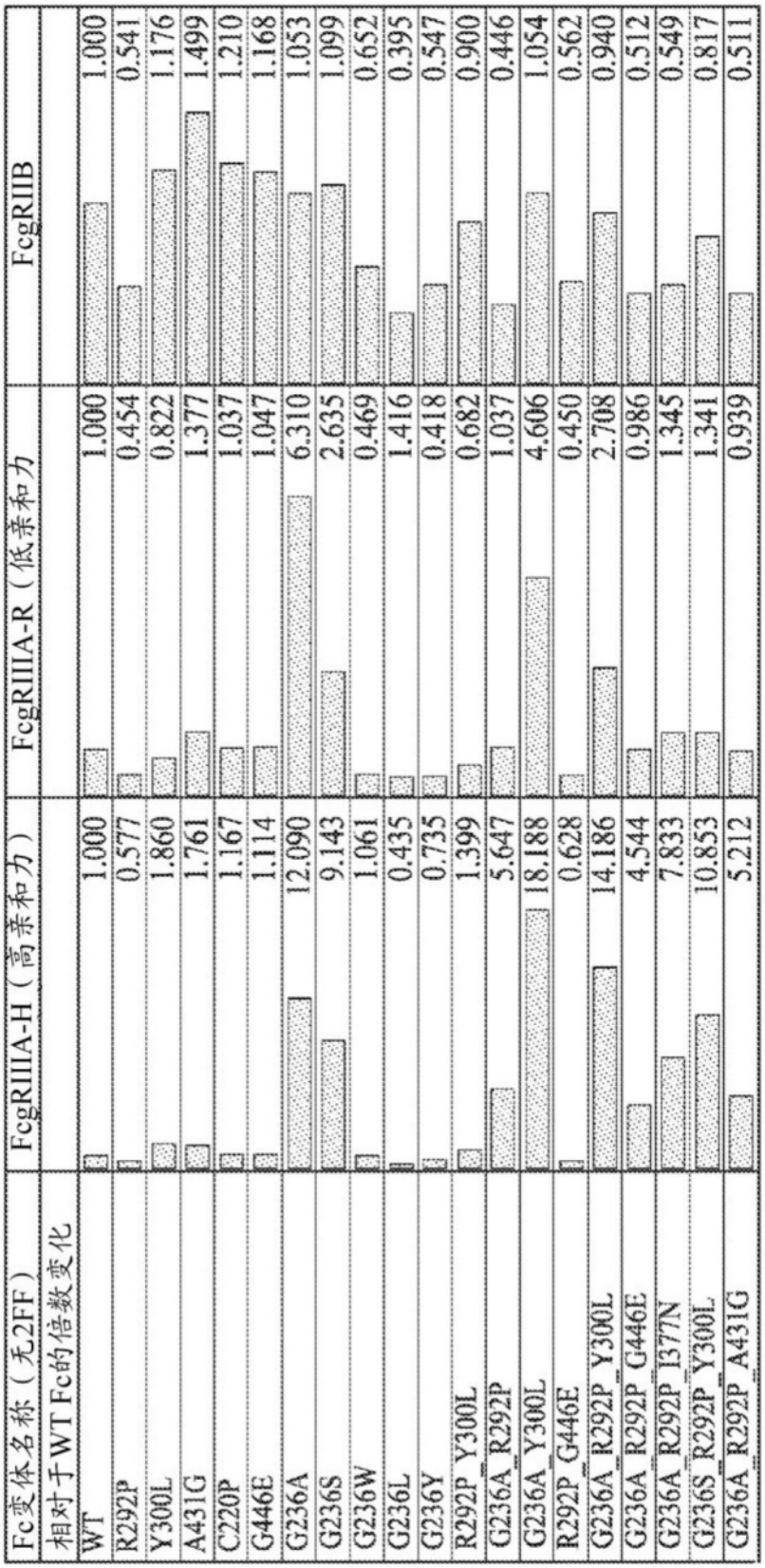
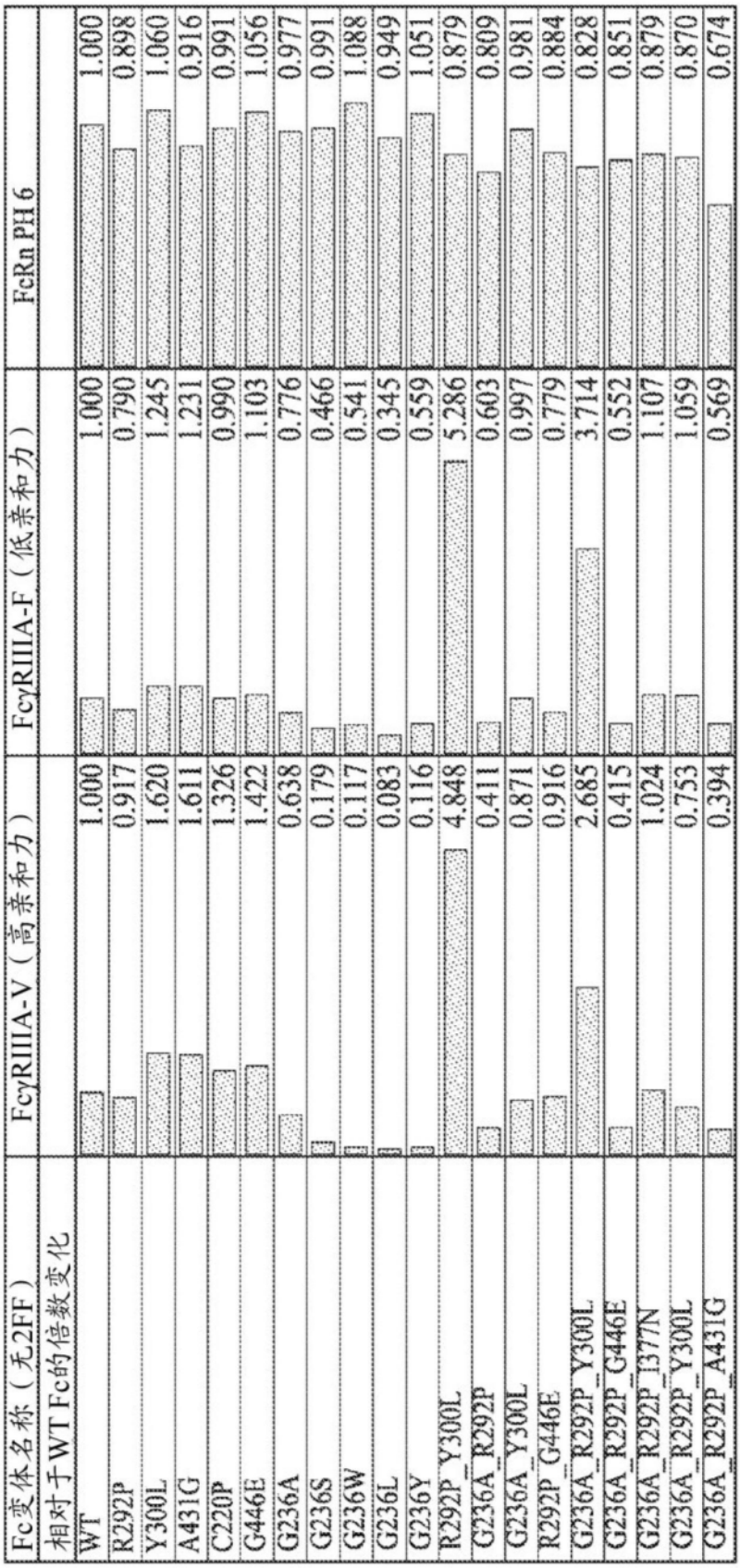
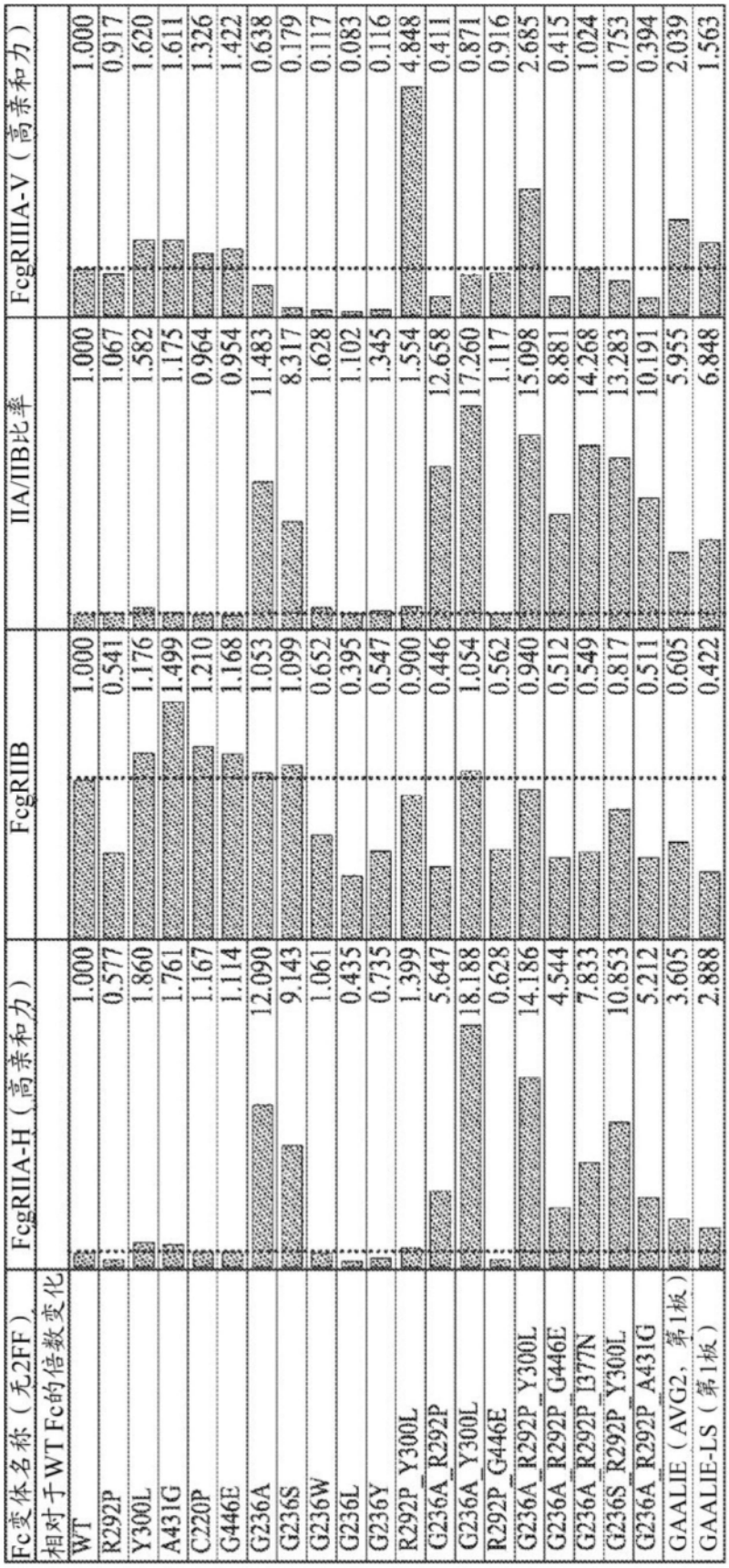

Fc变体名称（无2FF）
FcgRIIIA-H（高亲和力）
FcgRIIIA-R（低亲和力）
FcgRIIB
相对于WT Fc的倍数变化
WT 1.000 1.000 1.000
R292P 0.577 0.454 0.541
Y300L 1.860 0.822 1.176
A431G 1.761 1.377 1.499
C220P 1.167 1.037 1.210
G446E 1.114 1.047 1.168
G236A 12.090 6.310 1.053
G236S 9.143 2.635 1.099
G236W 1.061 0.469 0.652
G236L 0.435 1.416 0.395
G236Y 0.735 0.418 0.547
R292P_Y300L 1.399 0.682 0.900
G236A_R292P 5.647 1.037 0.446
G236A_Y300L 18.188 4.606 1.054
R292P_G446E 0.628 0.450 0.562
G236A_R292P_Y300L 14.186 2.708 0.940
G236A_R292P_G446E 4.544 0.986 0.512
G236A_R292P_I377N 7.833 1.345 0.549
G236S_R292P_Y300L 10.853 1.341 0.817
G236A_R292P_A431G 5.212 0.939 0.511

图75A



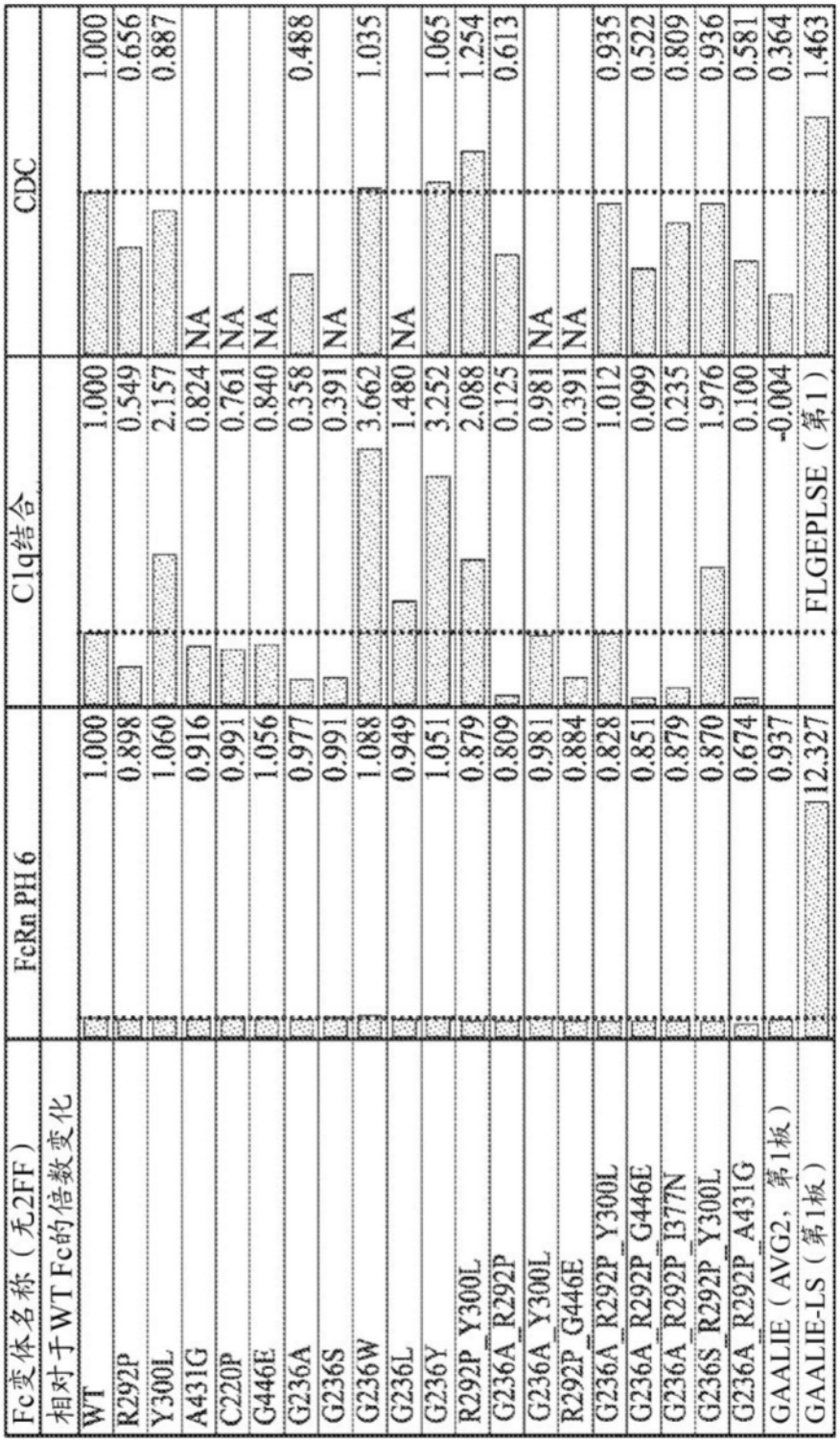
Fc变体名称（无2FF）	FcγRIIIA-V（高亲和力）	FcγRIIIA-F（低亲和力）	FcRn PH 6
相对于WT Fc的倍数变化			
WT	1.000	1.000	1.000
R292P	0.917	0.790	0.898
Y300L	1.620	1.245	1.060
A431G	1.611	1.231	0.916
C220P	1.326	0.990	0.991
G446E	1.422	1.103	1.056
G236A	0.638	0.776	0.977
G236S	0.179	0.466	0.991
G236W	0.117	0.541	1.088
G236L	0.083	0.345	0.949
G236Y	0.116	0.559	1.051
R292P_Y300L	4.848	5.286	0.879
G236A_R292P	0.411	0.603	0.809
G236A_Y300L	0.871	0.997	0.981
R292P_G446E	0.916	0.779	0.884
G236A_R292P_Y300L	2.685	3.714	0.828
G236A_R292P_G446E	0.415	0.552	0.851
G236A_R292P_I377N	1.024	1.107	0.879
G236A_R292P_Y300L	0.753	1.059	0.870
G236A_R292P_A431G	0.394	0.569	0.674

图75A(续)



Fc变体名称（无2FF）	FcgRIIA-H（高亲和力）	FcgRIIB	IIA/IIB比率	FcgRIIIA-V（高亲和力）
相对于WT Fc的倍数变化				
WT	1.000	1.000	1.000	1.000
R292P	0.577	0.541	1.067	0.917
Y300L	1.860	1.176	1.582	1.620
A431G	1.761	1.499	1.175	1.611
C220P	1.167	1.210	0.964	1.326
G446E	1.114	1.168	0.954	1.422
G236A	12.090	1.053	11.483	0.638
G236S	9.143	1.099	8.317	0.179
G236W	1.061	0.652	1.628	0.117
G236L	0.435	0.395	1.102	0.083
G236Y	0.735	0.547	1.345	0.116
R292P_Y300L	1.399	0.900	1.554	4.848
G236A_R292P	5.647	0.446	12.658	0.411
G236A_Y300L	18.188	1.054	17.260	0.871
R292P_G446E	0.628	0.562	1.117	0.916
G236A_R292P_Y300L	14.186	0.940	15.098	2.685
G236A_R292P_G446E	4.544	0.512	8.881	0.415
G236A_R292P_I377N	7.833	0.549	14.268	1.024
G236S_R292P_Y300L	10.853	0.817	13.283	0.753
G236A_R292P_A431G	5.212	0.511	10.191	0.394
GAALIE（AVG2，第1板）	3.605	0.605	5.955	2.039
GAALIE-LS（第1板）	2.888	0.422	6.848	1.563

图75B



Fc变体名称（无2FF）	FcRn PH 6	C1q结合	CDC
相对于WT Fc的倍数变化			
WT	1.000	1.000	1.000
R292P	0.898	0.549	0.656
Y300L	1.060	2.157	0.887
A431G	0.916	0.824	NA
C220P	0.991	0.761	NA
G446E	1.056	0.840	NA
G236A	0.977	0.358	0.488
G236S	0.991	0.391	NA
G236W	1.088	3.662	1.035
G236L	0.949	1.480	NA
G236Y	1.051	3.252	1.065
R292P_Y300L	0.879	2.088	1.254
G236A_R292P	0.809	0.125	0.613
G236A_Y300L	0.981	0.981	NA
R292P_G446E	0.884	0.391	NA
G236A_R292P_Y300L	0.828	1.012	0.935
G236A_R292P_G446E	0.851	0.099	0.522
G236A_R292P_I377N	0.879	0.235	0.809
G236S_R292P_Y300L	0.870	1.976	0.936
G236A_R292P_A431G	0.674	0.100	0.581
GAALIE（AVG2，第1板）	0.937	-0.004	0.364
GAALIE-LS（第1板）	12.327	FLGEPLSE（第1）	1.463

图75B(续)

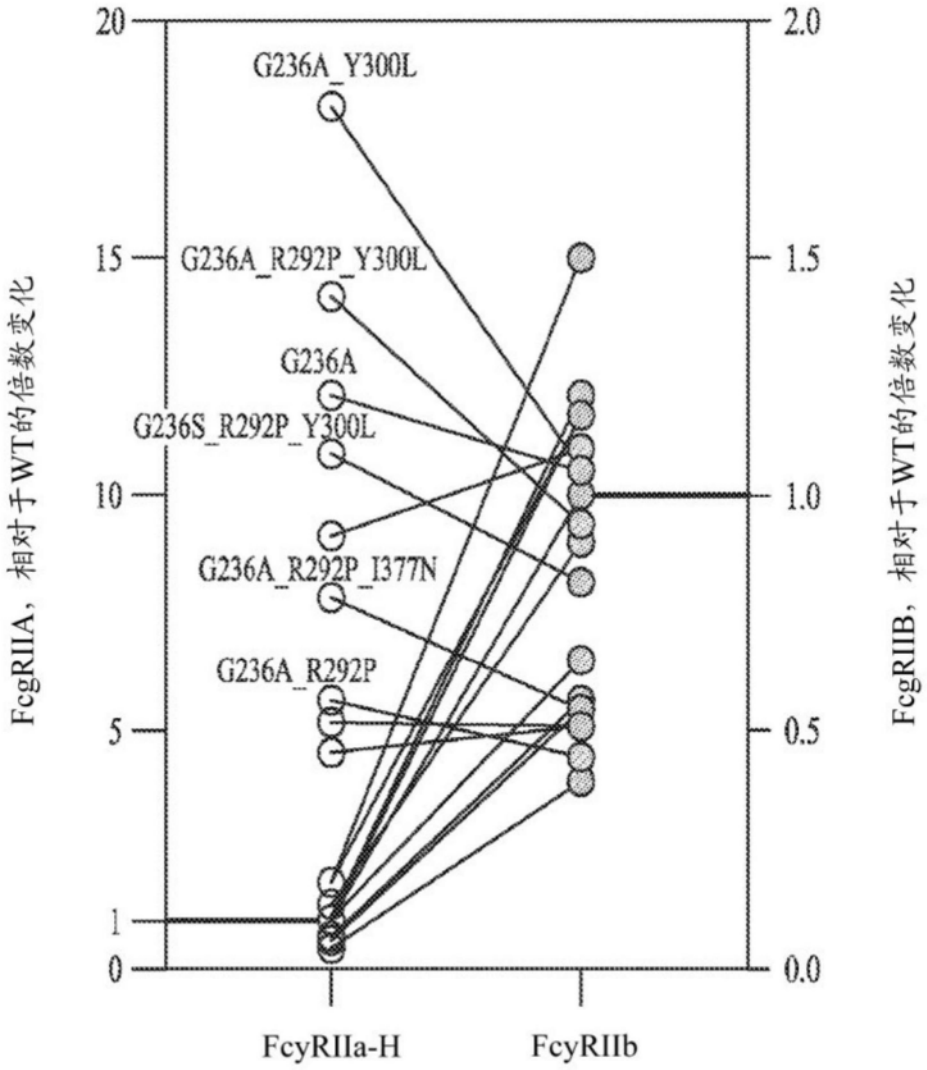

20
15
10
5
1
0
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
G236A_Y300L
G236A_R292P_Y300L
G236A
G236S_R292P_Y300L
G236A_R292P_I377N
G236A_R292P
FcgRIIA，相对于WT的倍数变化
FcgRIIB，相对于WT的倍数变化
FcγRIIa-H
FcγRIIb

图76

	IIA-H	IIB	比率
WT	1.00	1.00	1.00
GAALIE（第1）	2.20	1.58	1.39
R292P	0.63	0.13	4.89
Y300L	1.33	1.05	1.27
G236A	2.52	1.27	1.99
G236W	1.53	0.24	6.40
G236Y	1.02	0.05	22.21
R292P_Y300L	1.36	0.96	1.41
G236A_R292P	2.06	0.18	11.28
G236A_R292P_Y300L	2.45	1.30	1.88
G236A_R292P_G446E	1.95	0.09	21.63
G236A_R292P_I377N	1.96	0.28	6.94
G236A_R292P_Y300L	2.02	0.75	2.70
G236A_R292P_A431G	1.87	0.16	11.38
A431G	1.20	1.38	0.87
C220P	1.65	1.75	0.94
G446E	1.48	1.16	1.28
G236S	2.23	1.27	1.75
G236L	0.25	0.02	11.67
G236A_Y300L	2.52	1.65	1.53
R292P_G446E	0.81	0.12	6.57
	fuc	fuc	fuc

图77A

	IIIA-V		IIIA-F	
WT	1.00	5.20	1.00	16.45
GAALIE（第1）	3.54	6.44	13.92	29.86
R292P	0.98	3.24	0.46	5.10
Y300L	1.12	4.61	1.40	12.02
G236A	0.58	4.14	0.34	9.81
G236W	0.02	2.09	0.07	6.60
G236Y	0.02	1.34	0.07	4.07
R292P_Y300L	3.80	4.90	8.29	13.76
G236A_R292P	0.56	2.92	0.33	6.72
G236A_R292P_Y300L	3.00	4.06	7.16	11.37
G236A_R292P_G446E	0.51	2.76	0.36	4.12
G236A_R292P_I377N	0.99	3.56	0.93	6.44
G236A_R292P_Y300L	1.18	2.58	1.01	4.35
G236A_R292P_A431G	0.47	2.14	0.12	2.89
A431G	1.20	5.61	fuc	afuc
C220P	1.18	4.77		
G446E	1.21	4.63		
G236S	0.13	3.36		
G236L	0.02	0.03		
G236A_Y300L	0.87	4.10		
R292P_G446E	1.22	3.53		
	fuc	afuc		

图77B

变体	IIA_H	IIA_R	IIB	IIA-H/IIB	IIA-R/IIB	IIIA_V	IIIA_F	IIIB
高IIA/IIB，低IIB				计算	计算			
G236A	8.50	5.53	0.81	10.49	6.83	0.49	0.69	0.82
G236A_L328V_Q295E	7.80	10.78	0.86	9.07	12.53	0.36	0.52	0.70
G236A_P230A_Q295E	7.67	4.57	0.54	14.20	8.46	0.31	0.48	0.72
G236A_R292P_I377N	7.83	1.34	0.55	14.24	2.44	1.02	1.11	0.96
G236A_K334A_Q295E	4.96	2.92	0.67	7.40	4.36	0.27	0.74	0.72
G236S_R292P_Y300L	10.85	1.34	0.82	13.23	1.63	0.75	1.06	1.04
IIA强烈增加，IIB无变化								
G236S	9.14	2.63	1.10	8.31	2.39	0.18	0.47	0.92
G236A_Y300L	18.19	4.61	1.05	17.32	4.39	0.87	1.00	0.97
IIB强烈降低								
G236S_G420V_G446E_L309T	4.85	1.47	0.39	12.44	3.77	0.09	0.32	0.56
G236A_R292P	5.65	1.04	0.45	12.56	2.31	0.41	0.60	0.95
高IIA/IIB，低IIB，IIIA增加								
G236A_A330L_I332E	3.54	1.39	0.61	5.80	2.28	2.01	12.25	1.78
G236A_A330L_I332E_M428L_N434S	2.89	1.27	0.42	6.88	3.02	1.56	9.41	1.40

图78

变体	IIA_H	IIA_R	IIB	IIA-H/IIB	IIA-R/IIB	IIIA_V	IIIA_F	IIIB
				计算	计算			
高IIA，IIB很少变化/无变化，IIIA增加，具有C1q								
G236A_R292P_Y300L	14.19	2.71	0.94	15.10	2.88	2.69	3.71	1.03
IIIA高增加，Tm在大多数情况下降低								
R292P_Y300L	1.40	0.68	0.90	1.56	0.76	4.85	5.29	1.72
A330L_I332E	0.42	0.52	0.66	0.64	0.79	3.52	11.90	5.19
G236A_S239D_A330L_I332E	5.15	9.68	1.94	2.65	4.99	8.03	55.13	13.99
消除FcgR结合（与本底相同）								
G236R_L328R	0.14	0.22	0.16	0.88	1.38	0.05	0.26	0.61
其他对照								
L309T_P238D_P396L_T366A	0.17	0.50	3.08	0.06	0.16	0.05	0.26	0.58
S239D_H268E_G236A	11.72	53.52	5.09	2.30	10.51	7.90	16.33	3.04
R292P	0.58	0.45	0.54	0.92	0.83	0.79	0.93	0.9
Y300L	1.86	0.82	1.18	1.62	0.69	1.24	1.01	1.06

图78(续)

变体	FcRn	C1q	Tm	滴度	信号传导_IIA_H	信号传导_IIB	信号传导_IIIA_V	信号传导_IIIA_F
高IIA/IIB，低IIB								
G236A	0.99	0.06	-1.30	-0.06	2.51	1.06	0.65	0.46
G236A_L328V_Q295E	1.08	0.07	-11.26	0.01	2.18	0.66	0.03	0.02
G236A_P230A_Q295E	0.93	0.30	-6.19	0.02	2.29	0.56	0.06	0.02
G236A_R292P_I377N	0.88	0.24	-1.08	-0.03	2.15	0.35	0.11	1.40
G236A_K334A_Q295E	1.02	0.90	-8.06	0.02	2.13	0.80	0.36	0.23
G236S_R292P_Y300L	0.87	1.98	-4.00	-0.01	2.24	0.93	1.32	1.52
IIA强烈增加，IIB无变化								
G236S	0.99	0.39	-2.36	0.00	1.95	1.37	0.11	NaN
G236A_Y300L	0.98	0.98	-4.45	-0.04	2.21	1.78	0.74	NaN
IIB强烈降低								
G236S_G420V_G446E_L309T	0.77	0.21	1.89	-0.01	2.56	0.22	0.06	0.03
G236A_R292P	0.81	0.13	-4.00	-0.08	1.47	0.15	0.54	0.29
高IIA/IIB，低IIB，IIIA增加								
G236A_A330L_I332E	0.94	0.00	-13.51	-0.01	1.98	0.55	3.24	9.57
G236A_A330L_I332E_M428L_N434S	12.33	0.00	-14.26	0.00	2.32	0.35	3.92	13.51

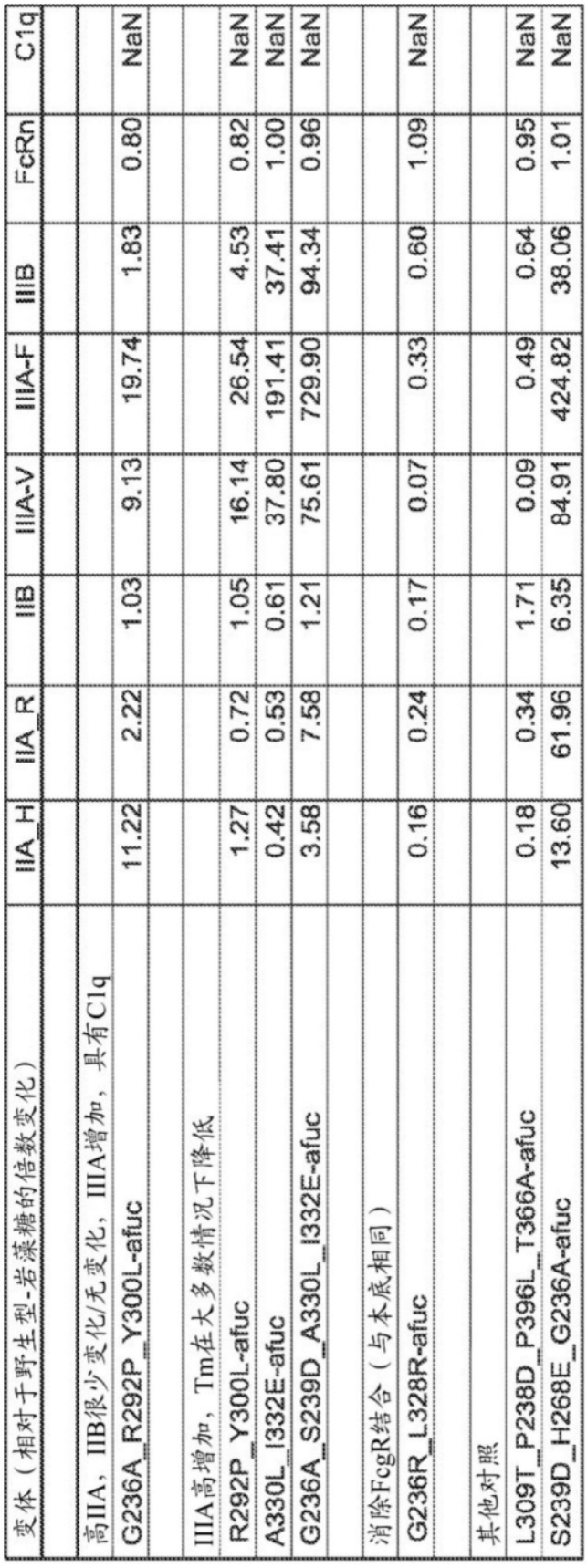
图78(续)

变体	FcRn	C1q	Tm	滴度	信号传导 IIA_H	信号传导 IIB	信号传导 IIIA_V	信号传导 IIIA_F
高IIA，IIB很少变化/无变化，IIIA增加，具有C1q								
G236A_R292P_Y300L	0.83	1.01	-4.00	-0.02	1.87	1.01	2.83	6.15
IIIA高增加，Tm在大多数情况下降低								
R292P_Y300L	0.88	2.09	-4.00	-0.04	0.98	0.72	3.66	7.42
A330L_I332E	1.12	0.03	-12.98	-0.02	0.71	0.69	4.38	11.91
G236A_S239D_A330L_I332E	1.02	0.00	-23.37	-0.04	2.47	1.20	6.02	19.43
消除FcgR结合（与本底相同）								
G236R_L328R	1.03	NaN	-3.73	0.03	0.05	0.04	0.02	0.27
其他对照								
L309T_P238D_P396L_T366A	0.88	0.01	-13.37	-0.01	0.04	0.91	0.01	0.05
S239D H268E G236A	0 91	0 40	-8 34	0 00	2 15	1 80	5 22	12 85
Y300L	2.16	2.						1.27

图78(续)

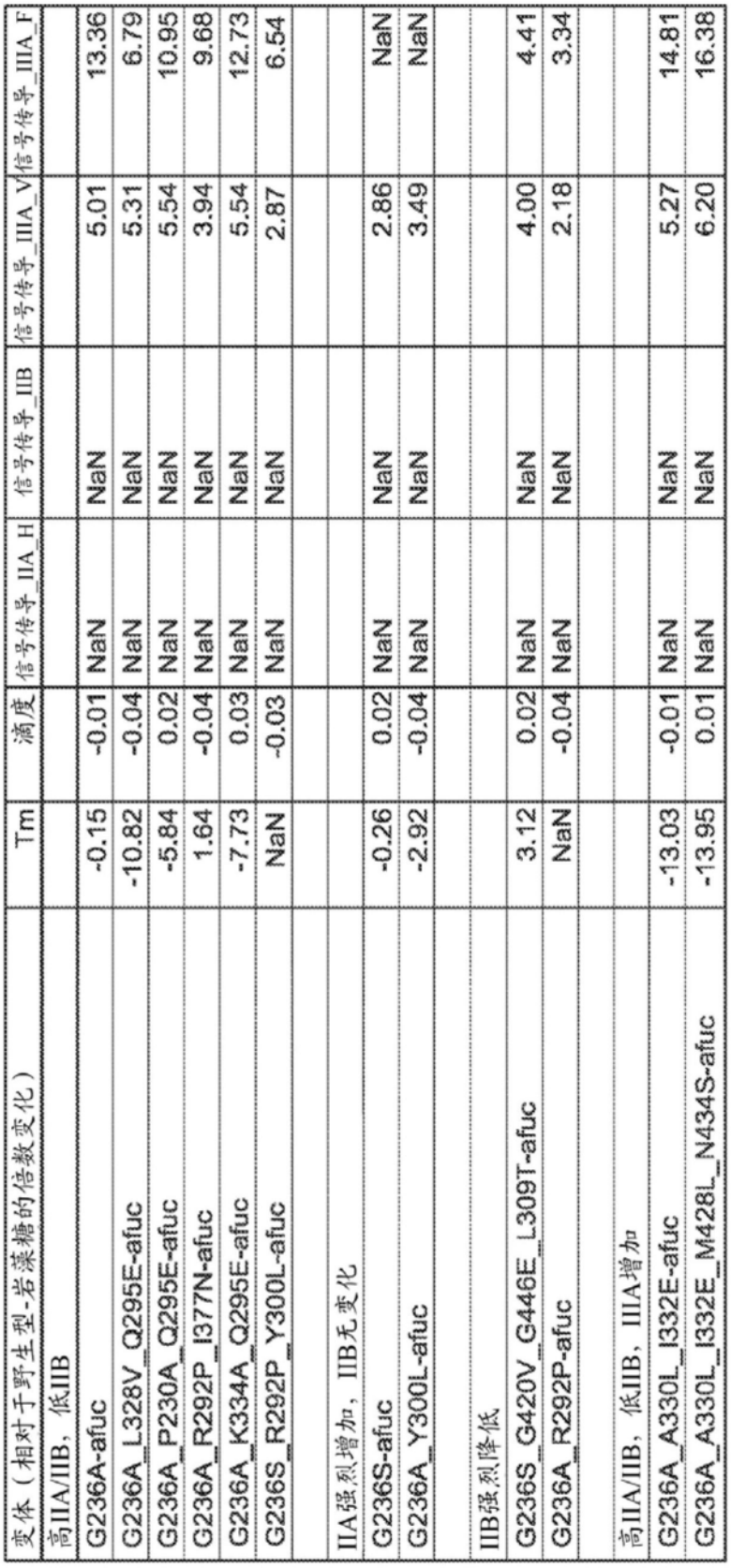
变体（相对于野生型-岩藻糖的倍数变化）	IIA_H	IIA_R	IIB	IIIA-V	IIIA-F	IIIB	FcRn	C1q
高IIA/IIB，低IIB								
G236A-afuc	7.59	7.91	0.91	10.20	25.67	1.92	0.95	NaN
G236A_L328V_Q295E-afuc	7.54	10.07	1.13	8.41	12.71	2.31	1.09	NaN
G236A_P230A_Q295E-afuc	8.94	6.04	0.67	10.84	26.73	1.80	1.02	NaN
G236A_R292P_I377N-afuc	5.54	1.35	0.60	7.14	14.79	1.20	0.80	NaN
G236A_K334A_Q295E-afuc	5.32	3.75	0.55	7.93	27.49	1.62	1.11	NaN
G236S_R292P_Y300L-afuc	8.13	1.50	0.72	3.17	5.47	1.04	0.80	NaN
IIA强烈增加，IIB无变化								
G236S-afuc	7.37	4.39	1.08	4.63	10.60	1.37	0.85	NaN
G236A_Y300L-afuc	14.86	3.95	0.93	13.73	30.09	2.55	0.92	NaN
IIB强烈降低								
G236S_G420V_G446E_L309T-afuc	3.62	1.70	0.44	1.99	3.35	0.86	0.77	NaN
G236A_R292P-afuc	3.05	1.04	0.51	3.37	5.83	1.15	0.73	NaN
高IIA/IIB，低IIB，IIIA增加								
G236A_A330L_I332E-afuc	3.45	1.65	0.67	31.96	259.43	14.14	1.09	NaN
G236A_A330L_I332E_M428L_N434S-afuc	2.56	1.20	0.41	34.46	275.26	11.77	7.37	NaN

图78(续)



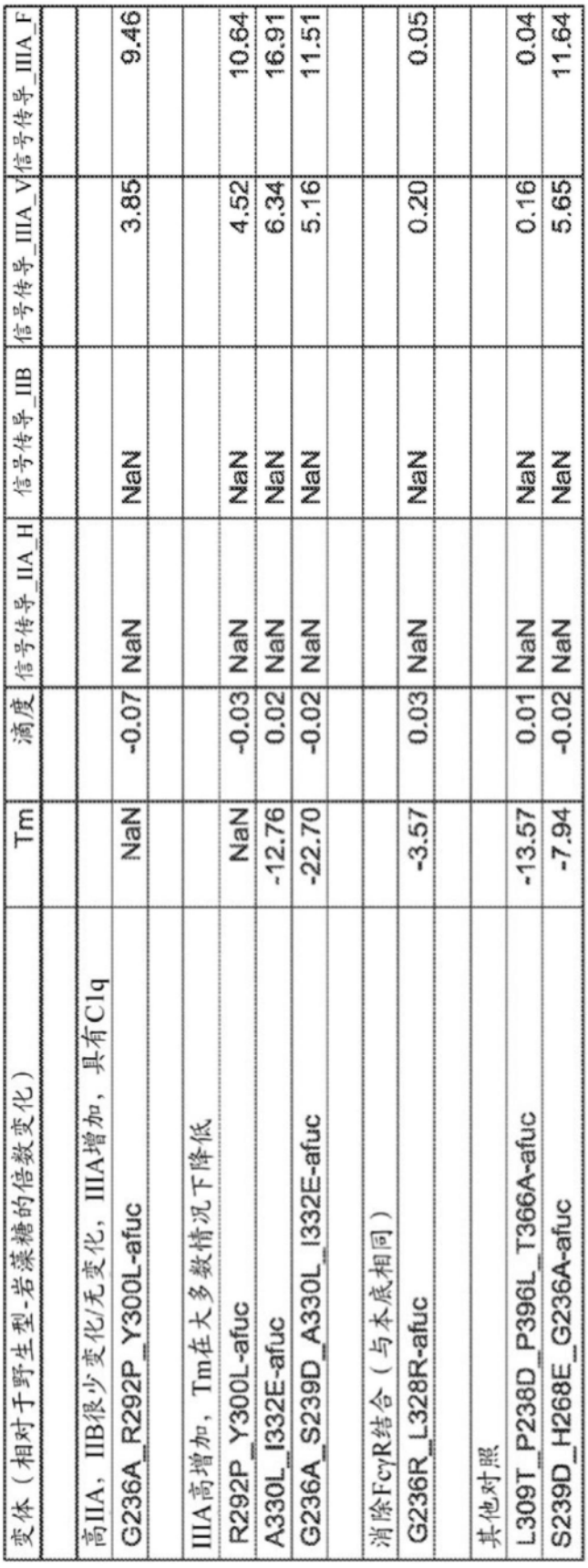
变体（相对于野生型-岩藻糖的倍数变化）	IIA_H	IIA_R	IIB	IIIA-V	IIIA-F	IIIB	FcRn	C1q
高IIA，IIB很少变化/无变化，IIIA增加，具有C1q								
G236A_R292P_Y300L-afuc	11.22	2.22	1.03	9.13	19.74	1.83	0.80	NaN
IIIA高增加，Tm在大多数情况下降低								
R292P_Y300L-afuc	1.27	0.72	1.05	16.14	26.54	4.53	0.82	NaN
A330L_I332E-afuc	0.42	0.53	0.61	37.80	191.41	37.41	1.00	NaN
G236A_S239D_A330L_I332E-afuc	3.58	7.58	1.21	75.61	729.90	94.34	0.96	NaN
消除FcgR结合（与本底相同）								
G236R_L328R-afuc	0.16	0.24	0.17	0.07	0.33	0.60	1.09	NaN
其他对照								
L309T_P238D_P396L_T366A-afuc	0.18	0.34	1.71	0.09	0.49	0.64	0.95	NaN
S239D_H268E_G236A-afuc	13.60	61.96	6.35	84.91	424.82	38.06	1.01	NaN

图78(续)



变体（相对于野生型-岩藻糖的倍数变化）	Tm	滴度	信号传导_IIA_H	信号传导_IIB	信号传导_IIIA_V	信号传导_IIIA_F
高IIA/IIB，低IIB						
G236A-afuc	-0.15	-0.01	NaN	NaN	5.01	13.36
G236A_L328V_Q295E-afuc	-10.82	-0.04	NaN	NaN	5.31	6.79
G236A_P230A_Q295E-afuc	-5.84	0.02	NaN	NaN	5.54	10.95
G236A_R292P_I377N-afuc	1.64	-0.04	NaN	NaN	3.94	9.68
G236A_K334A_Q295E-afuc	-7.73	0.03	NaN	NaN	5.54	12.73
G236S_R292P_Y300L-afuc	NaN	-0.03	NaN	NaN	2.87	6.54
IIA强烈增加，IIB无变化						
G236S-afuc	-0.26	0.02	NaN	NaN	2.86	NaN
G236A_Y300L-afuc	-2.92	-0.04	NaN	NaN	3.49	NaN
IIB强烈降低						
G236S_G420V_G446E_L309T-afuc	3.12	0.02	NaN	NaN	4.00	4.41
G236A_R292P-afuc	NaN	-0.04	NaN	NaN	2.18	3.34
高IIA/IIB，低IIB，IIIA增加						
G236A_A330L_I332E-afuc	-13.03	-0.01	NaN	NaN	5.27	14.81
G236A_A330L_I332E_M428L_N434S-afuc	-13.95	0.01	NaN	NaN	6.20	16.38

图78(续)



变体（相对于野生型-岩藻糖的倍数变化）	Tm	滴度	信号传导_IIA_H	信号传导_IIB	信号传导_IIIA_V	信号传导_IIIA_F
高IIA，IIB很少变化/无变化，IIIA增加，具有C1q						
G236A_R292P_Y300L-afuc	NaN	-0.07	NaN	NaN	3.85	9.46
IIIA高增加，Tm在大多数情况下降低						
R292P_Y300L-afuc	NaN	-0.03	NaN	NaN	4.52	10.64
A330L_I332E-afuc	-12.76	0.02	NaN	NaN	6.34	16.91
G236A_S239D_A330L_I332E-afuc	-22.70	-0.02	NaN	NaN	5.16	11.51
消除FcγR结合（与本底相同）						
G236R_L328R-afuc	-3.57	0.03	NaN	NaN	0.20	0.05
其他对照						
L309T_P238D_P396L_T366A-afuc	-13.57	0.01	NaN	NaN	0.16	0.04
S239D_H268E_G236A-afuc	-7.94	-0.02	NaN	NaN	5.65	11.64

图78(续)

CDC和C1q	IIA_H	IIA_R	IIB	IIA/IIB	IIIA_V	IIIA_F	FcRn	C1q	Tm
G236S_R292P_Y300L	10.85	1.34	0.82	13.24	0.75	1.06	0.87	1.96	-4.00
R292P_Y300L	1.40	0.68	0.90	1.56	4.85	5.29	0.88	2.07	-4.00
Y300L	1.86	0.82	1.18	1.58	1.62	1.24	1.06	2.14	-2.96
E345K_G236S_L235Y_S267E	0.53	9.22	1.71	0.34	0.05	0.29	0.90	2.35	NaN
E272R_L309T_S219Y_S267E	0.33	10.65	4.77	0.10	0.11	0.37	0.98	2.53	NaN
G236Y	0.74	0.42	0.55	1.35	0.12	0.56	1.05	3.22	-3.24
G236W	1.06	0.47	0.65	1.63	0.12	0.54	1.09	3.63	-4.19
F243L_G446E_P396L_S267E	0.77	31.05	15.73	0.07	0.24	0.63	1.05	4.17	NaN

图78(续)

Fc-LS	IIA-H	IIA-R	IIB	IIA_H/IIB	IIA_R/IIB	IIIA-V	IIIA-F	IIIB	C1q	Tm	FcRn
				比率	比率					°C	
GAALIE	3.8	2.5	0.8	4.7	3.1	2.1	14.4	1.9	NB	56.5	0.68
GA	10	6.9	1.1	9.9	6.6	0.52	0.93	0.84	0.35	68.4	0.95
GRLR	0.28	0.38	0.38	0.72	1.00	0.08	0.25	0.70	NB	65.7	0.69
GALVQE	11	14	1.1	10	13	0.16	0.27	0.88	0.08	61.1	0.81
GAYL	16	3.7	1.0	17	3.9	0.48	0.78	0.85	1.09	65.9	0.88
GARPYL	9.9	2.4	0.85	12	2.8	1.8	3.4	1.1	1.39	69.3	0.60
GARPIN	22	5.4	0.6	37	8.9	1.3	1.5	0.84	0.29	69.8	1.54

图79

Fc	IIA-H	IIA-R	IIB	IIA_H/IIB	IIA_R/IIB	IIIA-V	IIIA-F	IIIB	C1q	Tm	FcRn
				比率	比率					°C	
GAALIE	3.6	1.4	0.6	6.0	2.3	2.0	12.2	1.8	NB	58.8	0.9
GAALIE-LS	2.9	1.3	0.4	6.8	3.0	1.6	9.4	1.4	NB	58.0	12.3
GA	5.9	4.8	0.6	9.4	7.7	0.4	0.6	NB	0.59	72.6	1.0
GA	12.1	6.3	1.1	11.5	6.0	0.6	0.8	0.82	0.36	71.1	1.0
GRLR	NB	NB	0.2	NA	NA	NB	NB	0.61	NB	68.6	1.0
GALVQE	7.8	10.8	0.9	9.0	12.5	0.4	0.5	0.70	0.07	61.0	1.1
GAYL	18.2	4.6	1.1	17.3	4.4	0.9	1.0	0.97	0.98	69.6	1.0
GARPYL	14.2	2.7	0.9	15.1	2.9	2.7	3.7	1.03	1.01	>70	0.8
GARPIN	7.8	1.3	0.5	14.3	2.4	1.0	1.1	0.96	0.24	72.9	0.9

图80

Fc	IIA-H	IIA-R	IIB	IIA_H/IIB	IIA_R/IIB	IIIA_V	IIIA_F	III_B	C1q	Tm
				比率	比率					°C
GAALIE-afuc	3.1	1.6	0.6	5.1	2.6	28.0	242	14.8	NB	59.4
GAALIE-LS-afuc	2.3	1.1	0.4	6.5	3.3	30.2	256	12.3	NB	58.5
GA-afuc	5.4	6.1	0.6	8.4	9.5	6.7	17.2	2.1	0.16	73.0
GA-afuc	9.5	9.9	1.1	8.4	8.7	13.6	35.6	1.8	NA	71.6
GRLR-afuc	NB	NB	0.2	NA	NA	NB	NB	NB	NA	68.9
GALVQE-afuc	6.7	9.6	1.0	6.8	9.8	7.4	11.8	2.4	NA	61.6
GAYL-afuc	14.9	4.0	0.9	16.0	4.2	13.7	30.1	2.6	NA	69.6
GARPYL-afuc	11.2	2.2	1.0	11.0	2.2	9.1	19.7	1.8	NA	>70
GARPIN-afuc	5.5	1.4	0.6	9.2	2.3	7.1	14.8	1.2	NA	74.2

图81

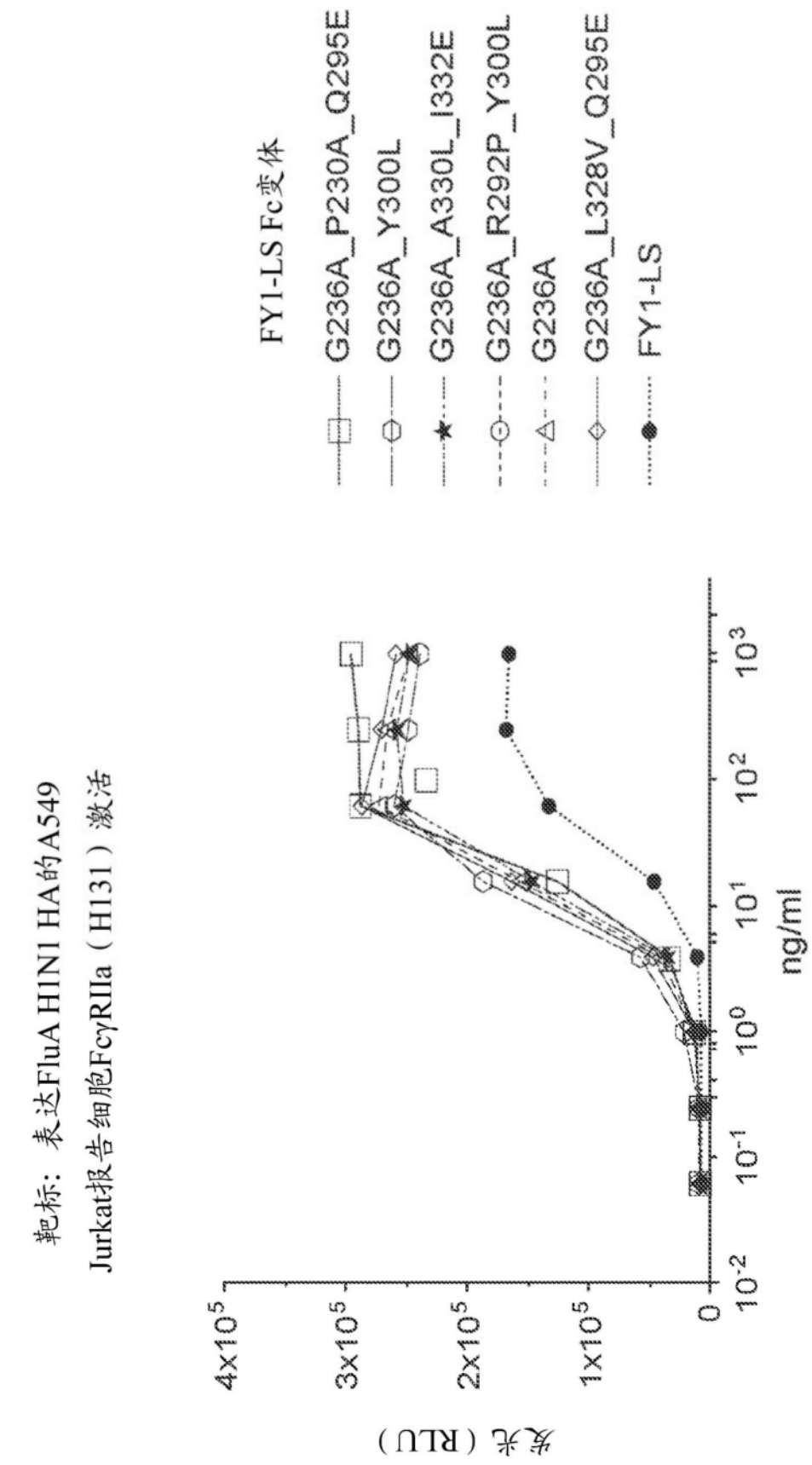

靶标：表达FluA H1N1 HA的A549
Jurkat报告细胞FcγRIIa（H131）激活
发光（RLU）
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
ng/ml
FY1-LS Fc变体
G236A_P230A_Q295E
G236A_Y300L
G236A_A330L_I332E
G236A_R292P_Y300L
G236A
G236A_L328V_Q295E
FY1-LS

图82

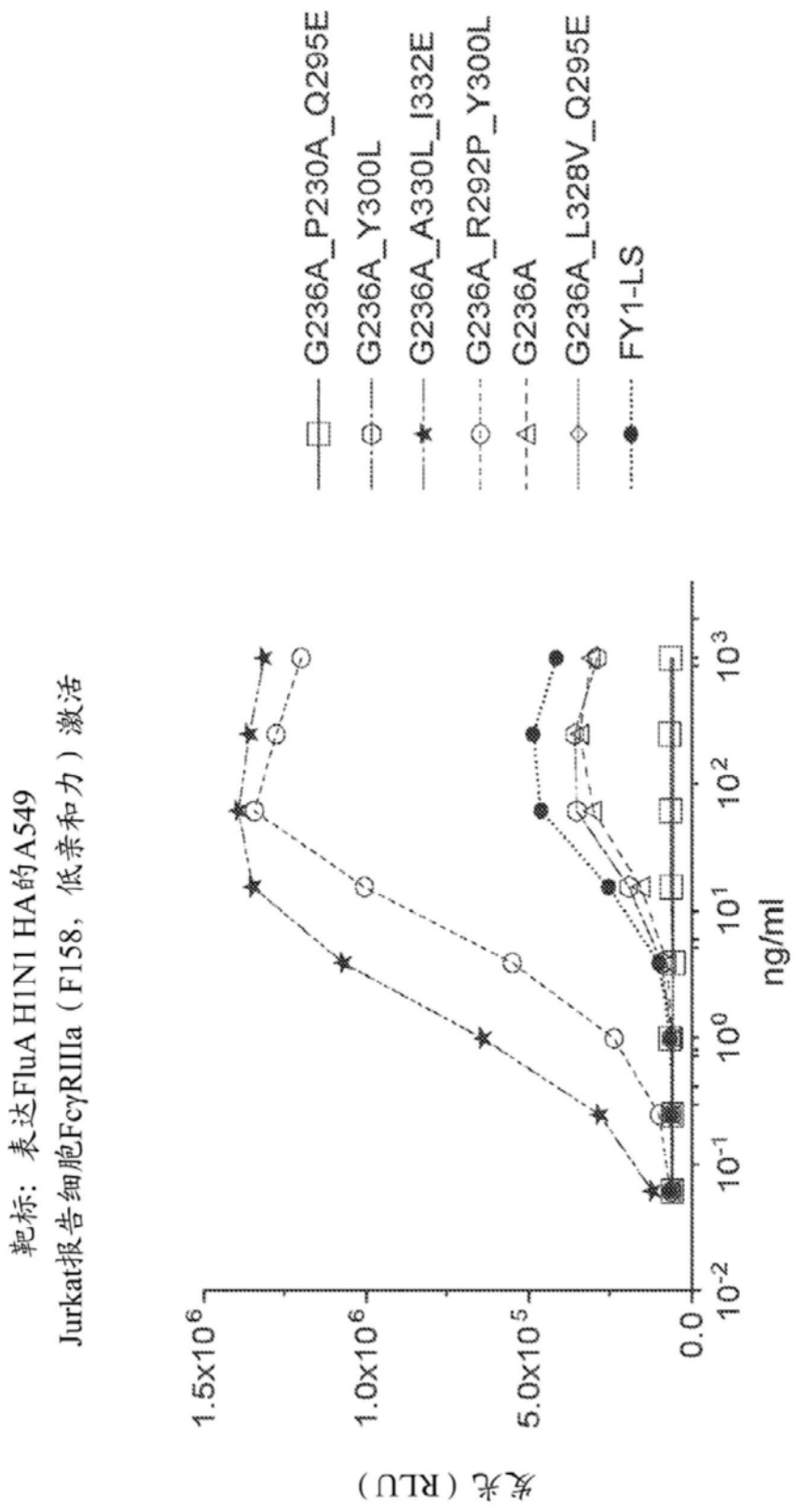

靶标：表达FluA H1N1 HA的A549
Jurkat报告细胞FcγRIIIa（F158，低亲和力）激活
G236A_P230A_Q295E
G236A_Y300L
G236A_A330L_I332E
G236A_R292P_Y300L
G236A
G236A_L328V_Q295E
FY1-LS
发光（RLU）
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0.0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
ng/ml

图83A

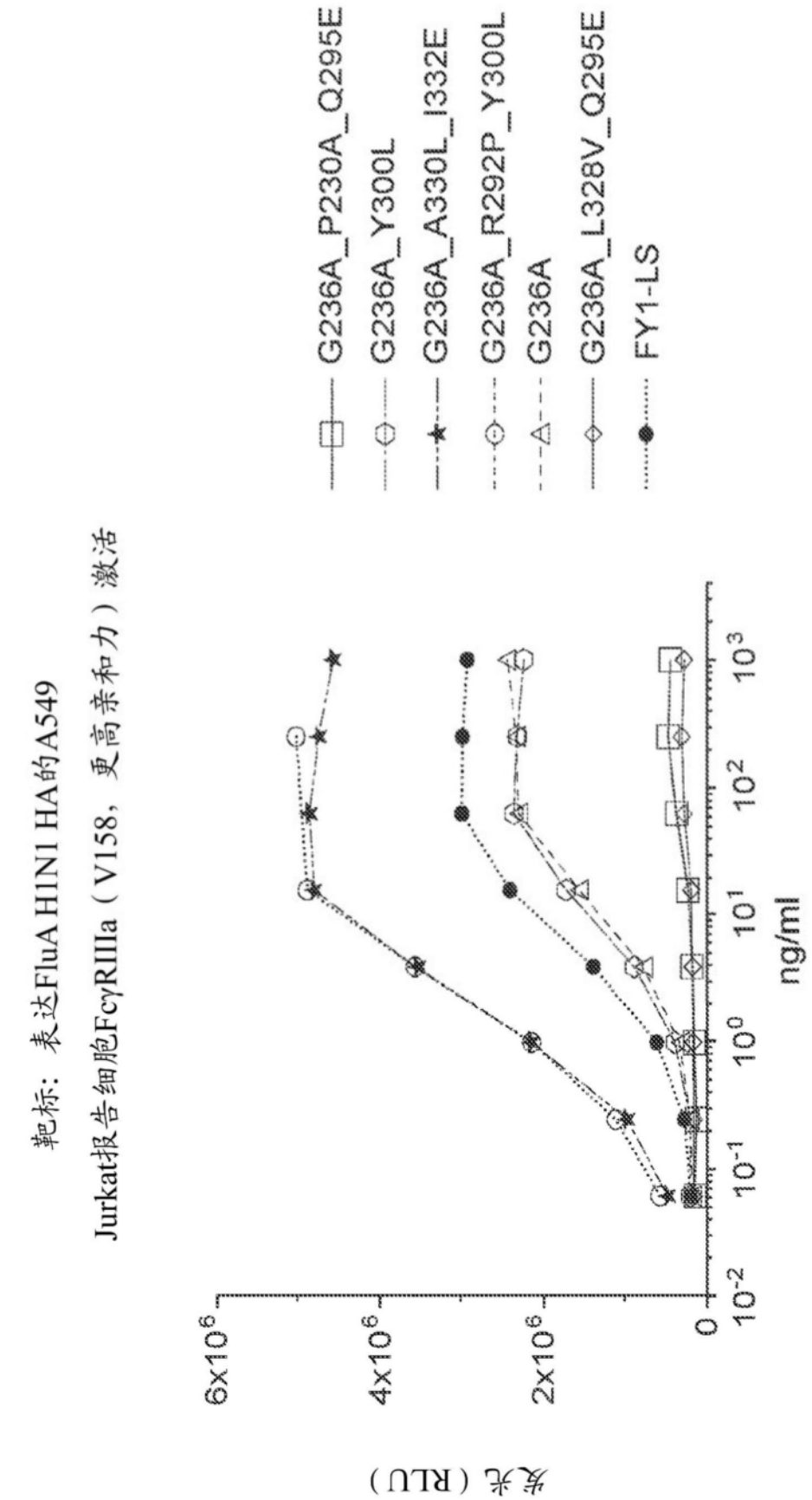

靶标：表达FluA H1N1 HA的A549
Jurkat报告细胞FcγRIIIa（V158，更高亲和力）激活
G236A_P230A_Q295E
G236A_Y300L
G236A_A330L_I332E
G236A_R292P_Y300L
G236A
G236A_L328V_Q295E
FY1-LS
发光（RLU）
6x10^6
4x10^6
2x10^6
0
10^-2
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
ng/ml

图83B

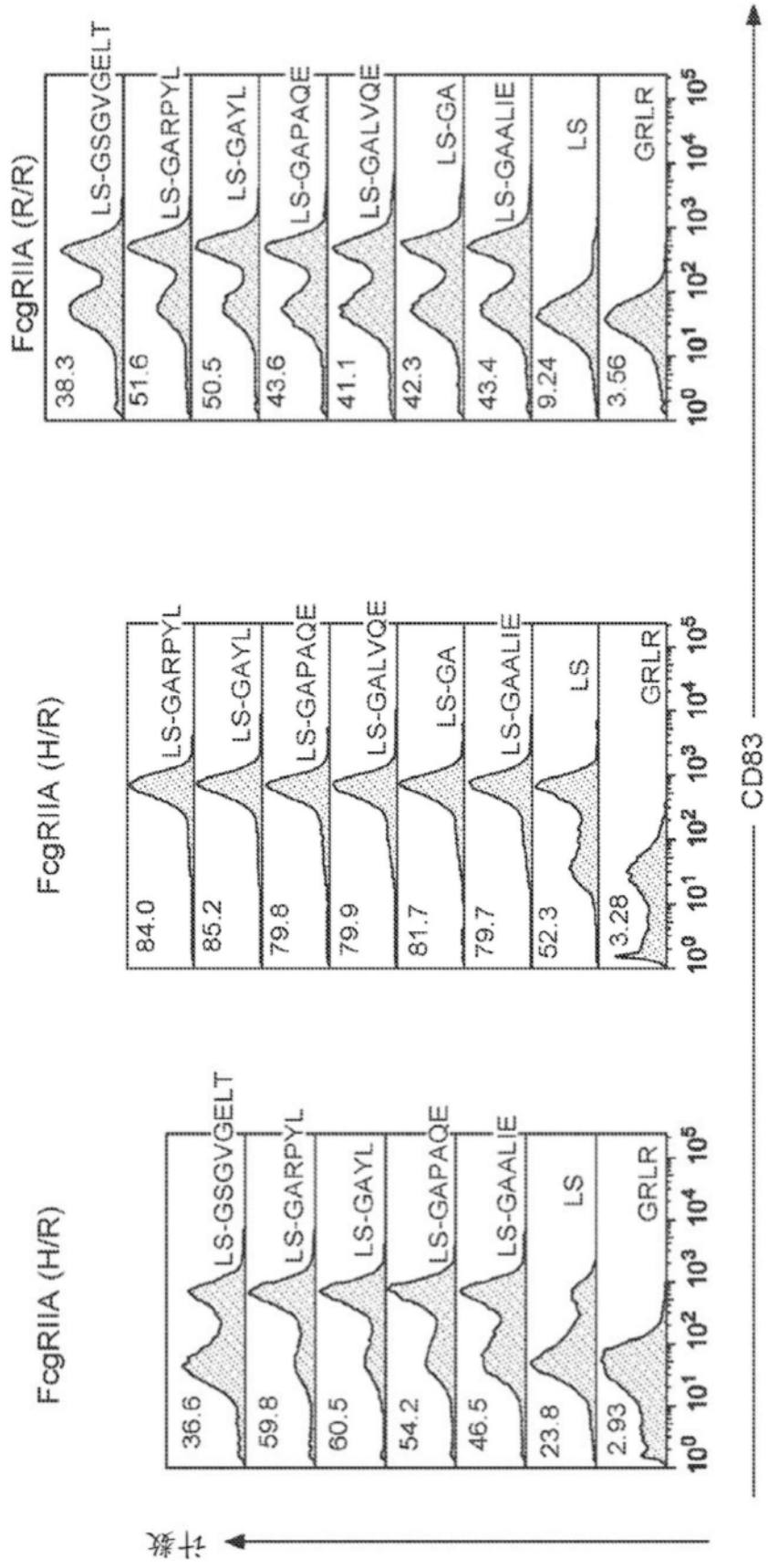

FcgRIIA (H/R)
FcgRIIA (H/R)
FcgRIIA (R/R)
LS-GSGVGELT
LS-GARPYL
LS-GAYL
LS-GAPAQE
LS-GALVQE
LS-GA
LS-GAALIE
LS
GRLR
36.6
59.8
60.5
54.2
46.5
23.8
2.93
84.0
85.2
79.8
79.9
81.7
79.7
52.3
3.28
38.3
51.6
50.5
43.6
41.1
42.3
43.4
9.24
3.56
CD83
计数

图84A

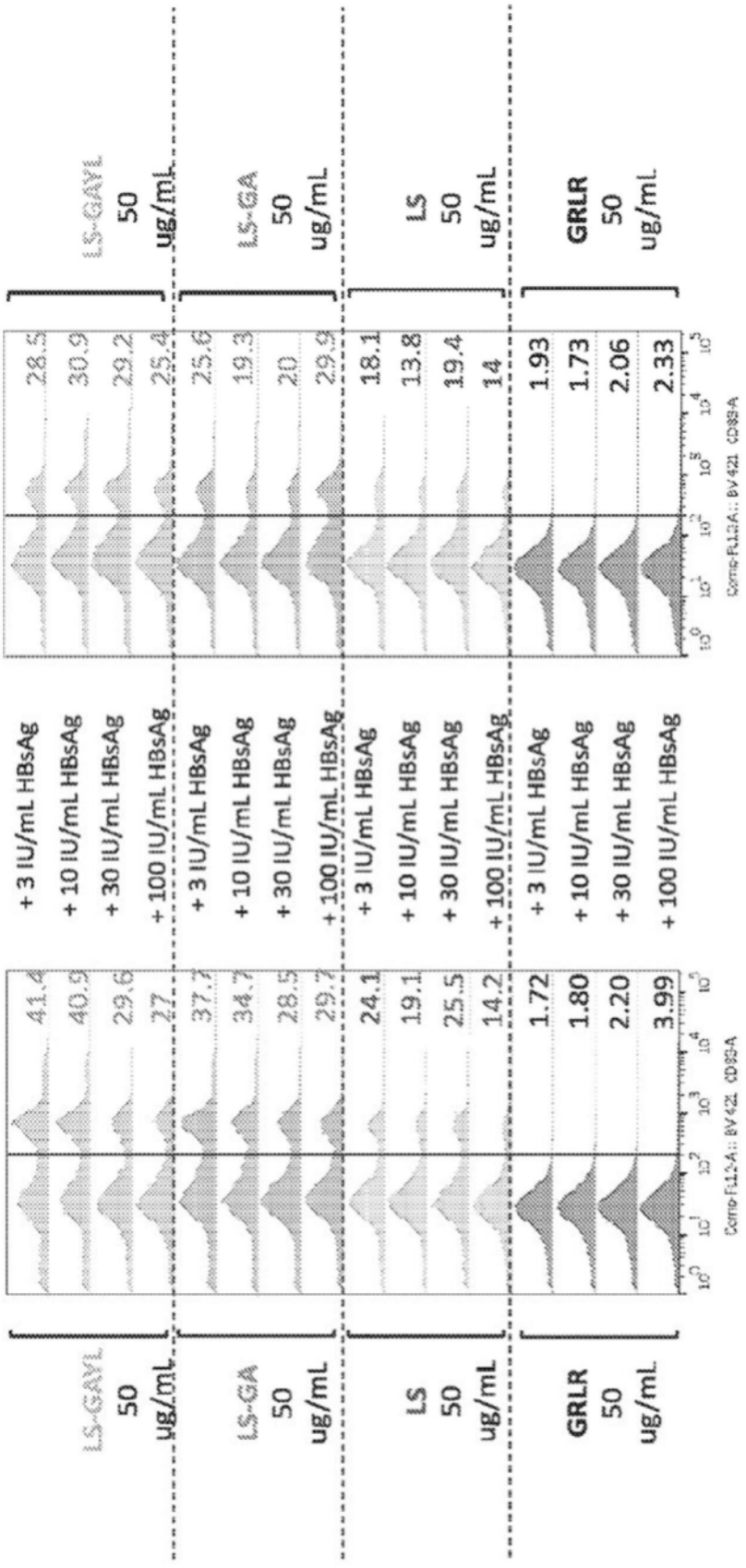

LS-GAYL 50 ug/mL
LS-GA 50 ug/mL
LS 50 ug/mL
GRLR 50 ug/mL
+ 3 IU/mL HBsAg
+ 10 IU/mL HBsAg
+ 30 IU/mL HBsAg
+ 100 IU/mL HBsAg
41.4
40.9
29.6
27
37.7
34.7
28.5
29.7
24.1
19.1
25.5
14.2
1.72
1.80
2.20
3.99
28.5
30.9
29.2
25.4
25.6
19.3
20
29.9
18.1
13.8
19.4
14
1.93
1.73
2.06
2.33

图84B

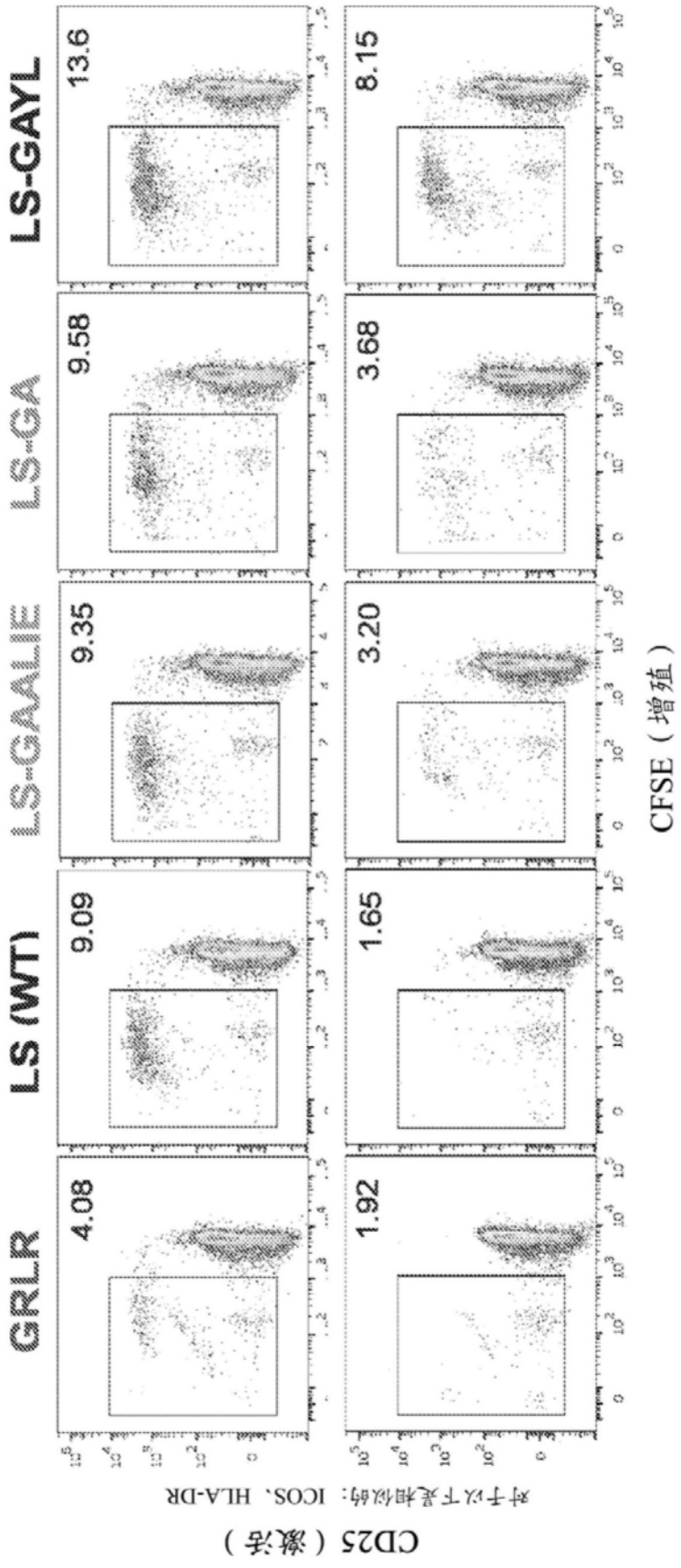
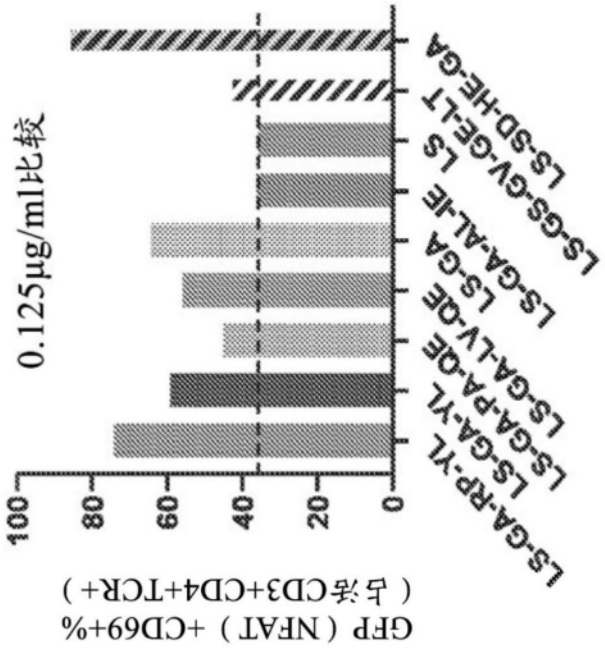

GRLR
LS (WT)
LS-GAALIE
LS-GA
LS-GAYL
4.08
9.09
9.35
9.58
13.6
1.92
1.65
3.20
3.68
8.15
CFSE（增殖）
CD25（激活）
对于Tγδ亚群：ICOS、HLA-DR

图84C


0.125μg/ml比较
GFP（NFAT）+CD69+%
（占活CD3+CD4+TCR+）
100
80
60
40
20
0
LS-GA-RP-VL
LS-GA-VL
LS-GA-PA-OE
LS-GA-LV-OE
LS-GA
LS-GA-AL-IE
LS
LS-GS-GV-GE-LT
LS-SD-HE-GA

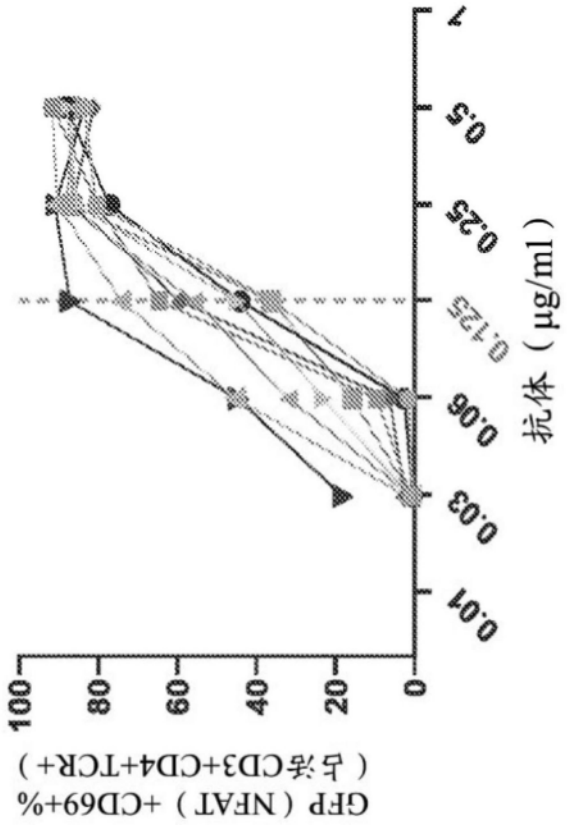

抗体（μg/ml）
7
0.5
0.25
0.125
0.06
0.03
0.01
GFP（NFAT）+CD69+%
（占活CD3+CD4+TCR+）
100
80
60
40
20
0

图84D

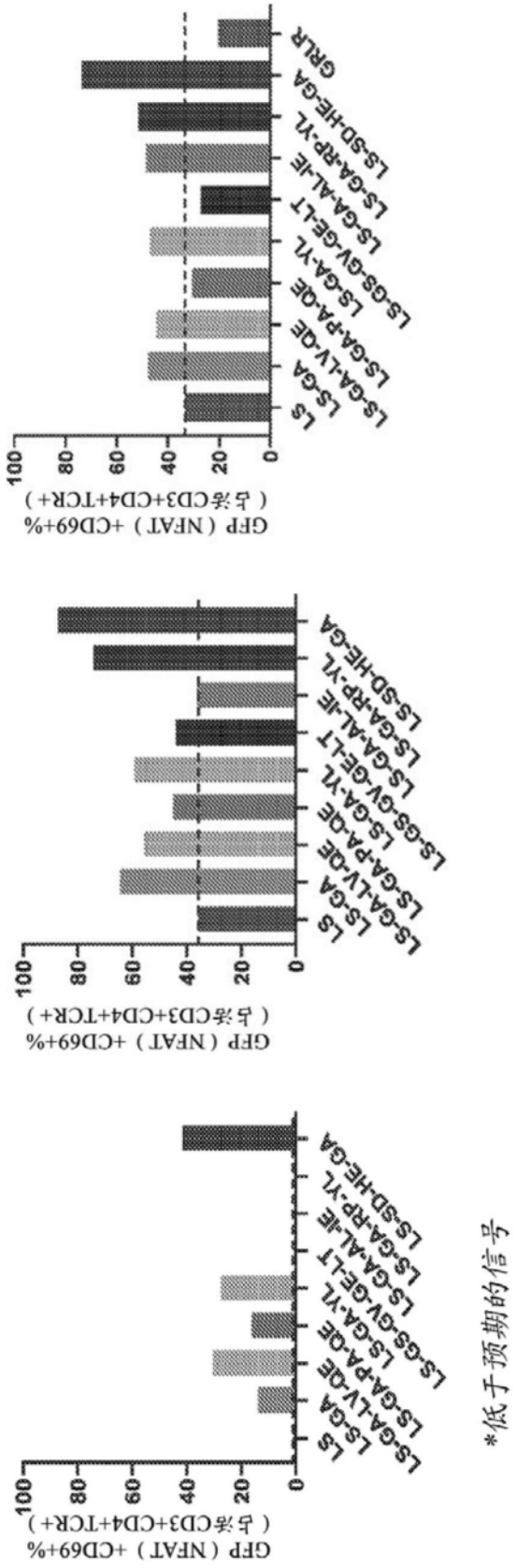

GFP（NFAT）+CD69+%
（占活CD3+CD4+TCR+）
0
20
40
60
80
100
LS
LS-GA
LS-GA-LV-QE
LS-GA-PA-QE
LS-GA-YL
LS-GS-GV-GE-LT
LS-GA-AL-IE
LS-GA-RP-YL
LS-SD-HE-GA
GRLR
*低于预期的信号

图84E

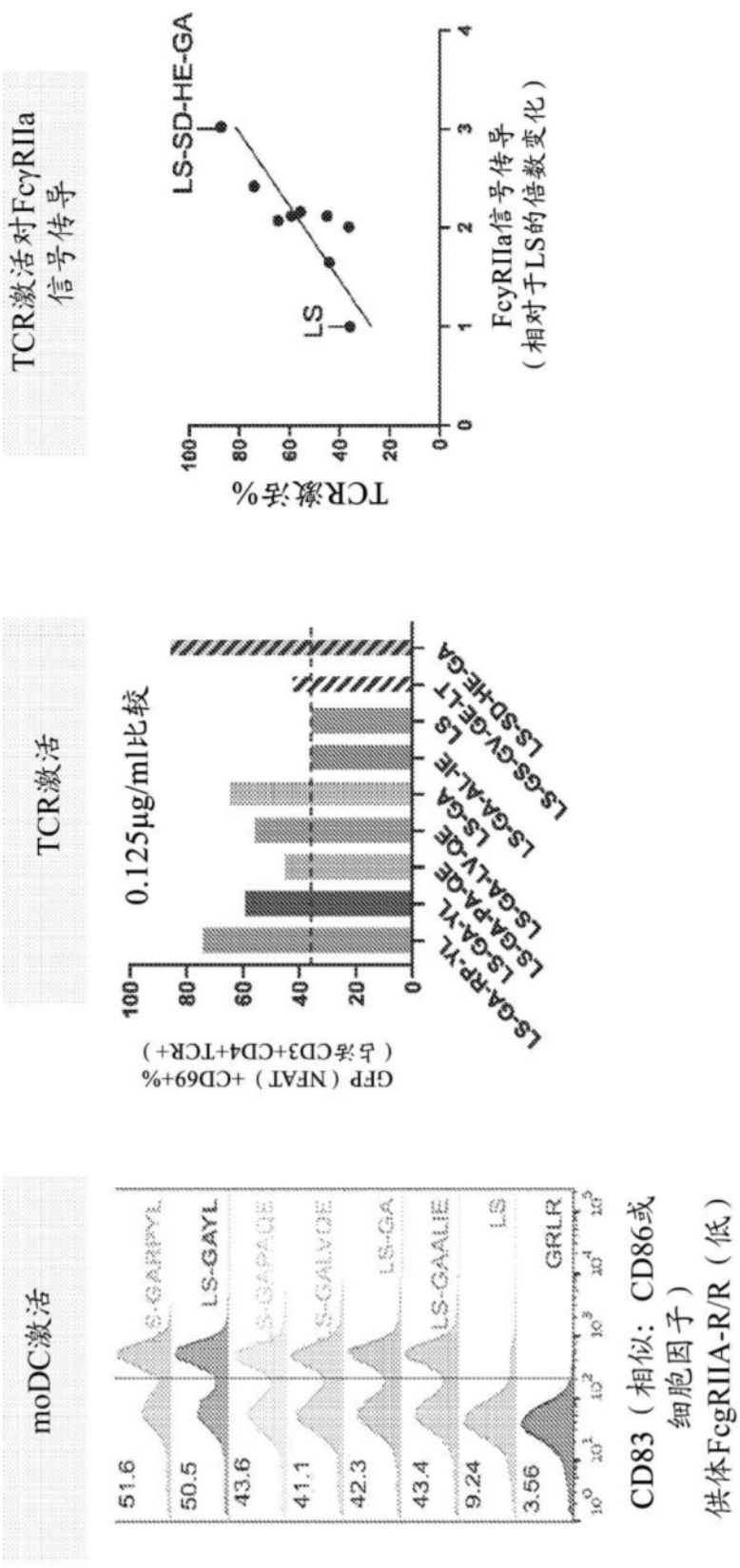

TCR激活对FcγRIIa
信号传导
LS-SD-HE-GA
LS
TCR激活%
FcyRIIa信号传导
（相对于LS的倍数变化）
TCR激活
0.125μg/ml比较
GFP（NFAT）+CD69+%
（占活CD3+CD4+TCR+）
LS-GA-RP-YL
LS-GA-PA-YL
LS-GA-PA-QE
LS-GA-LV-QE
LS-GA
LS-GA-AL-IE
LS-GS-GV-GE-LT
LS-SD-HE-GA
moDC激活
51.6
50.5
43.6
41.1
42.3
43.4
9.24
3.56
LS-GARPYL
LS-GAYL
LS-GAPAQE
LS-GALVQE
LS-GA
LS-GAALIE
LS
GRLR
CD83（相似：CD86或
细胞因子）
供体FcgRIIA-R/R（低）

图84F

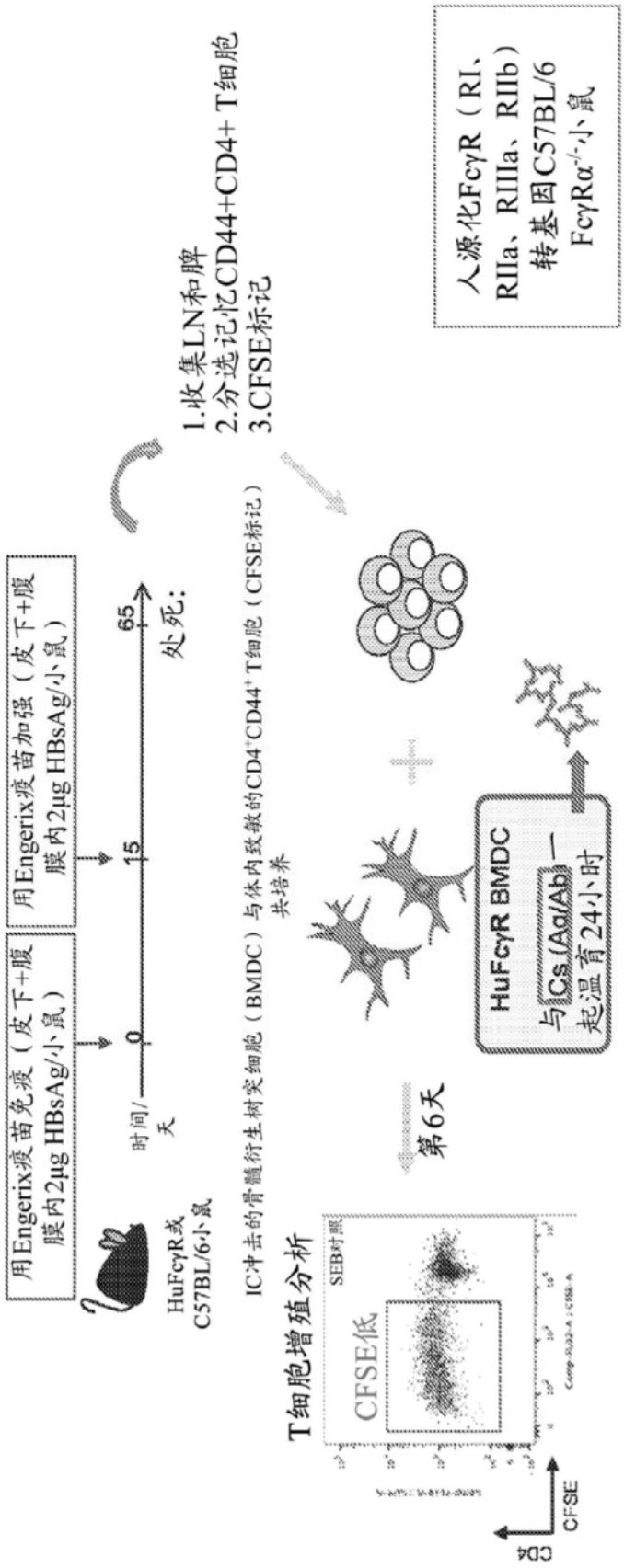

用Engerix疫苗免疫（皮下+腹膜内2μg HBsAg/小鼠）
用Engerix疫苗加强（皮下+腹膜内2μg HBsAg/小鼠）
时间/天
0
15
65
处死：
HuFcγR或C57BL/6小鼠
IC冲击的骨髓衍生树突细胞（BMDC）与体内致敏的CD4+CD44+ T细胞（CFSE标记）共培养
1.收集LN和脾
2.分选记忆CD44+CD4+ T细胞
3.CFSE标记
人源化FcγR（RI、RIIa、RIIIa、RIIb）转基因C57BL/6
FcγRα-/-小鼠
T细胞增殖分析
SEB对照
CFSE低
CD4
CFSE
第6天
HuFcγR BMDC
与Cs.(Aq/Ab)一起温育24小时

图84G

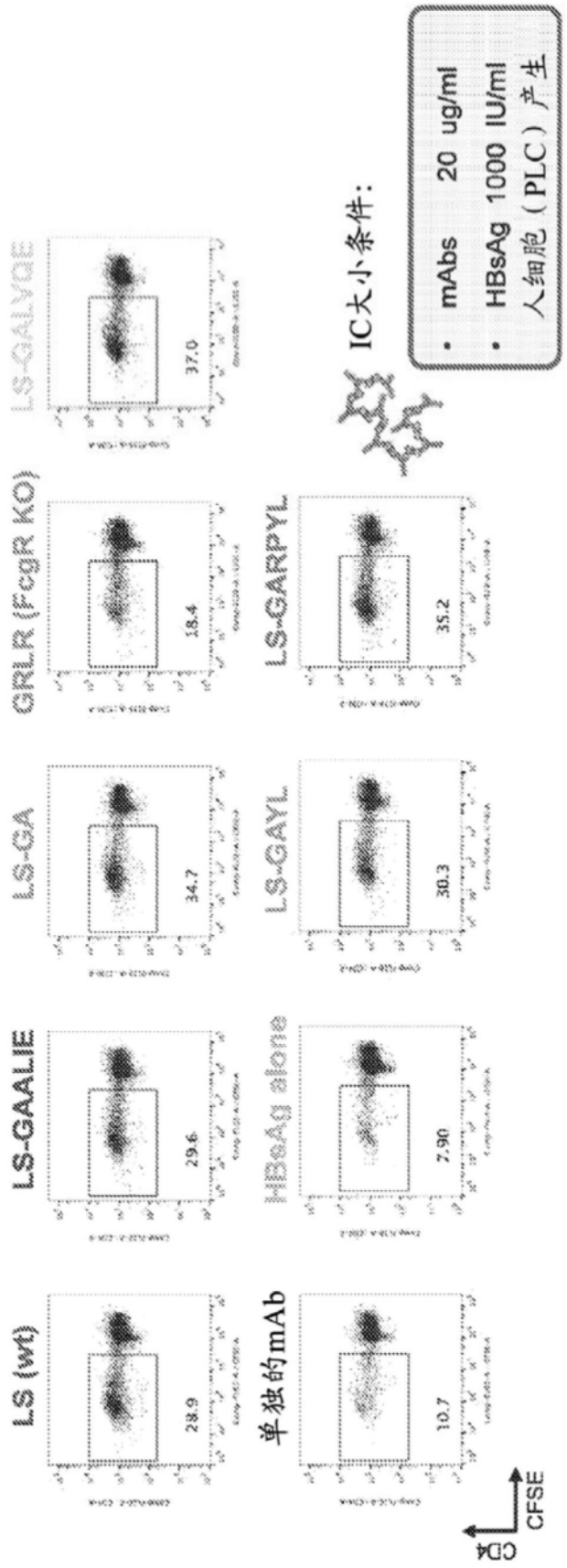

LS (wt)
LS-GAALIE
LS-GA
GRLR (FcgR KO)
LS-GALVGE
单独的mAb
HBeAg alone
LS-GAYL
LS-GARPYL
28.9
29.6
34.7
18.4
37.0
10.7
7.90
30.3
35.2
IC大小条件：
• mAbs 20 ug/ml
• HBsAg 1000 IU/ml
人细胞（PLC）产生
CD4
CFSE

图84H

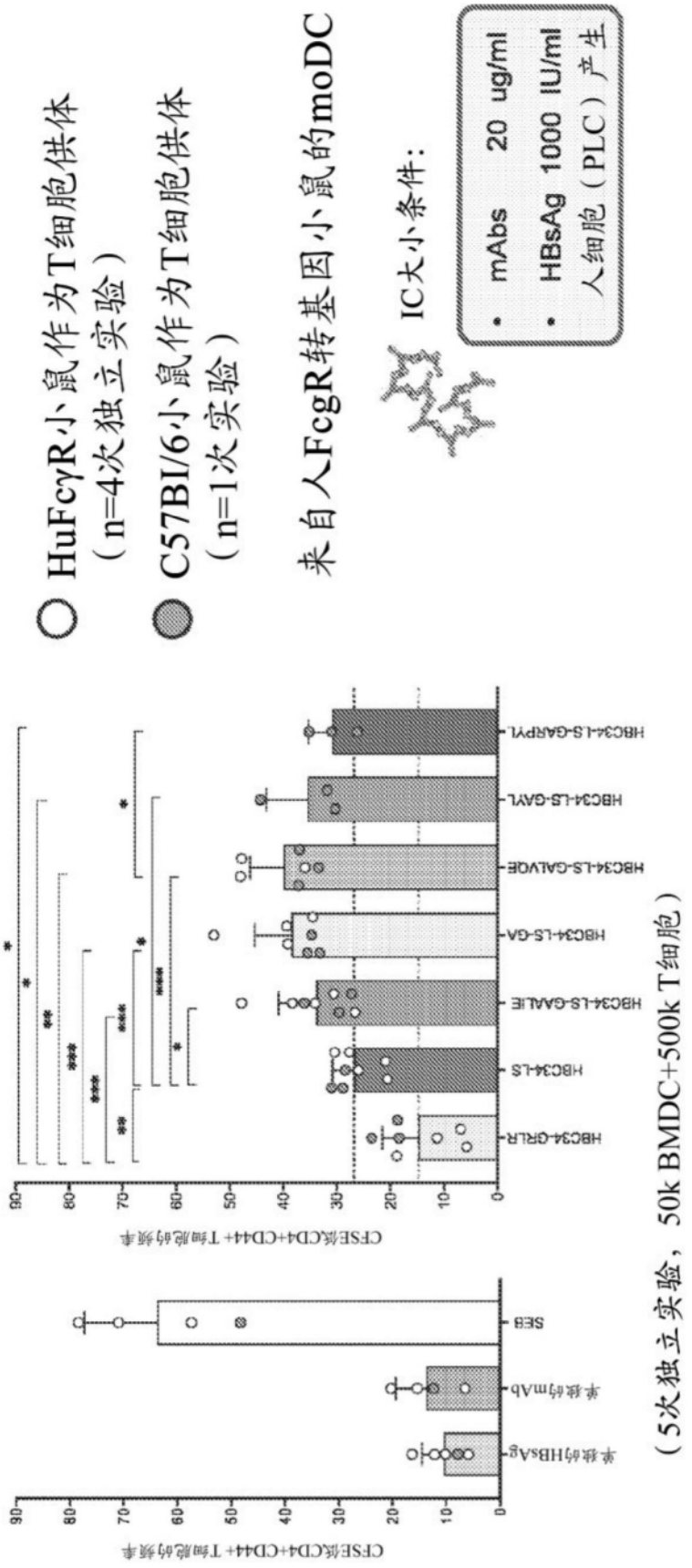

HuFcγR小鼠作为T细胞供体
（n=4次独立实验）
C57BI/6小鼠作为T细胞供体
（n=1次实验）
来自人FcgR转基因小鼠的moDC
IC大小条件：
mAbs 20 ug/ml
HBsAg 1000 IU/ml
人细胞（PLC）产生
CFSE低CD4+CD44+ T细胞的频率
单独的HBsAg
单独的mAb
SEB
HBC34-GRLR
HBC34-LS
HBC34-LS-GAALIE
HBC34-LS-GA
HBC34-LS-GALVGE
HBC34-LS-GAYL
HBC34-LS-GARPYL
（5次独立实验，50k BMDC+500k T细胞）

图84I

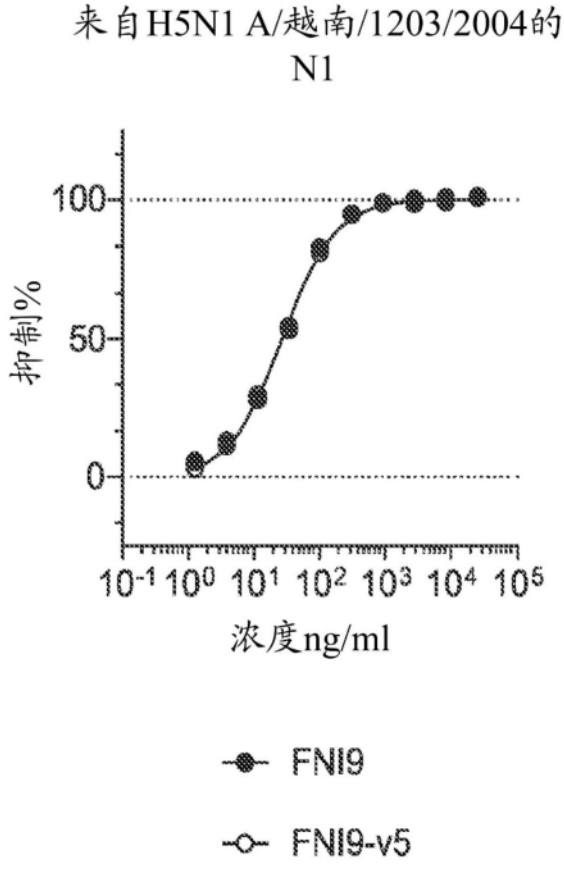

来自H5N1 A/越南/1203/2004的
N1
100
50
0
抑制%
10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5

图85A

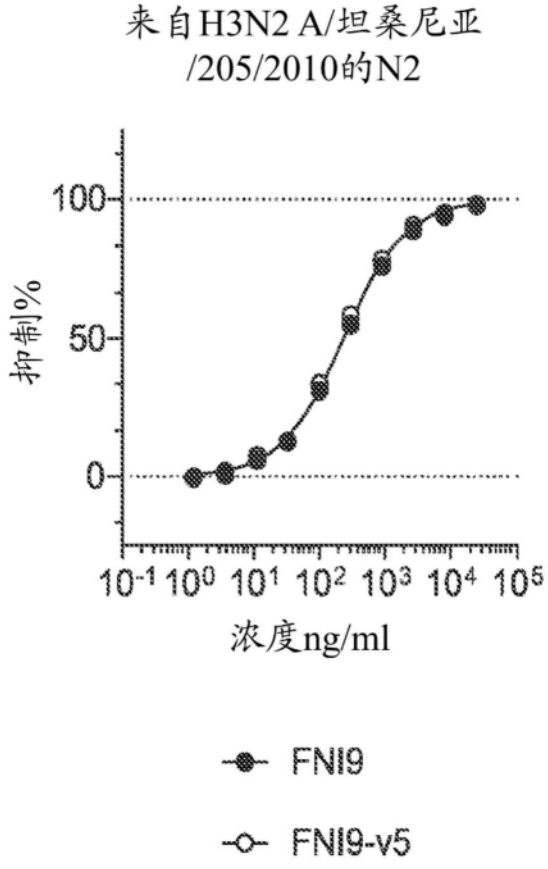

来自H3N2 A/坦桑尼亚
/205/2010的N2
抑制%
100
50
0
10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5

图85B

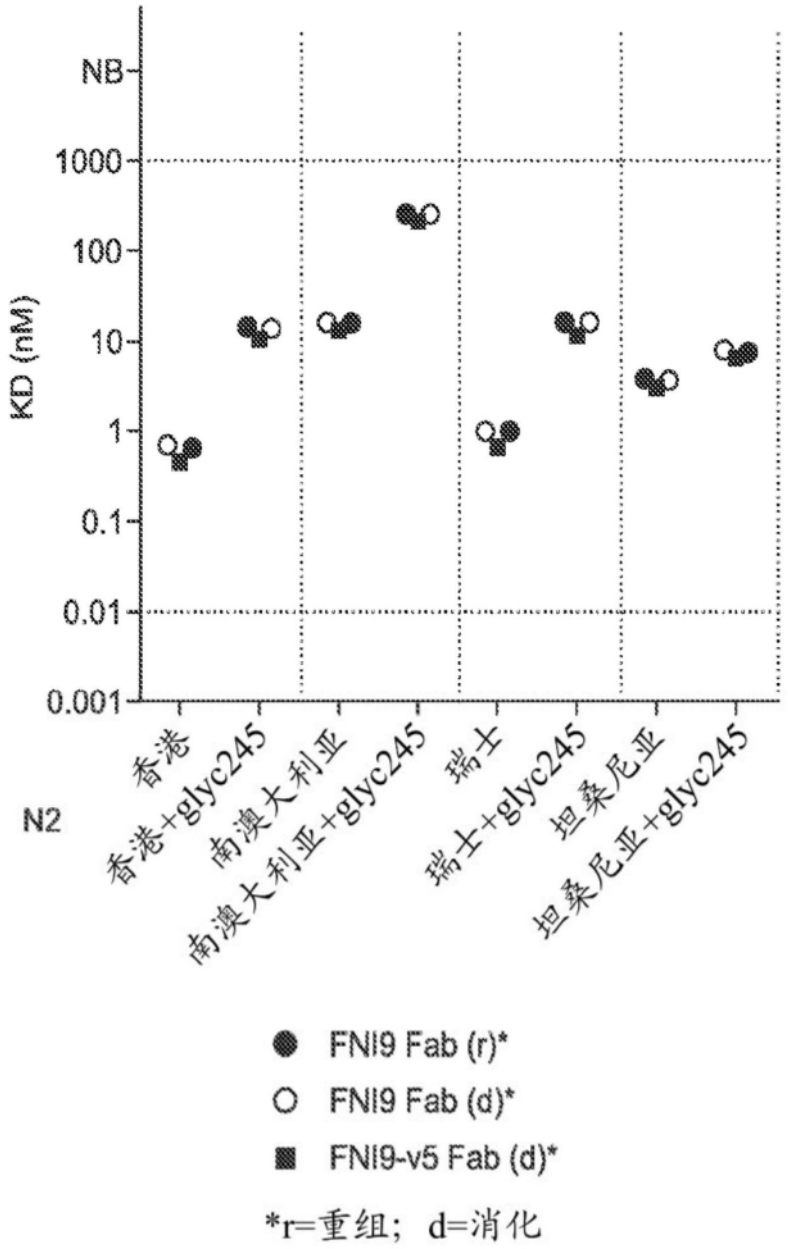

NB
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
KD (nM)
N2
香港
香港+glyc245
南澳大利亚
南澳大利亚+glyc245
瑞士
瑞士+glyc245
坦桑尼亚
坦桑尼亚+glyc245
FNI9 Fab (r)*
FNI9 Fab (d)*
FNI9-v5 Fab (d)*
*r=重组； d=消化

图86

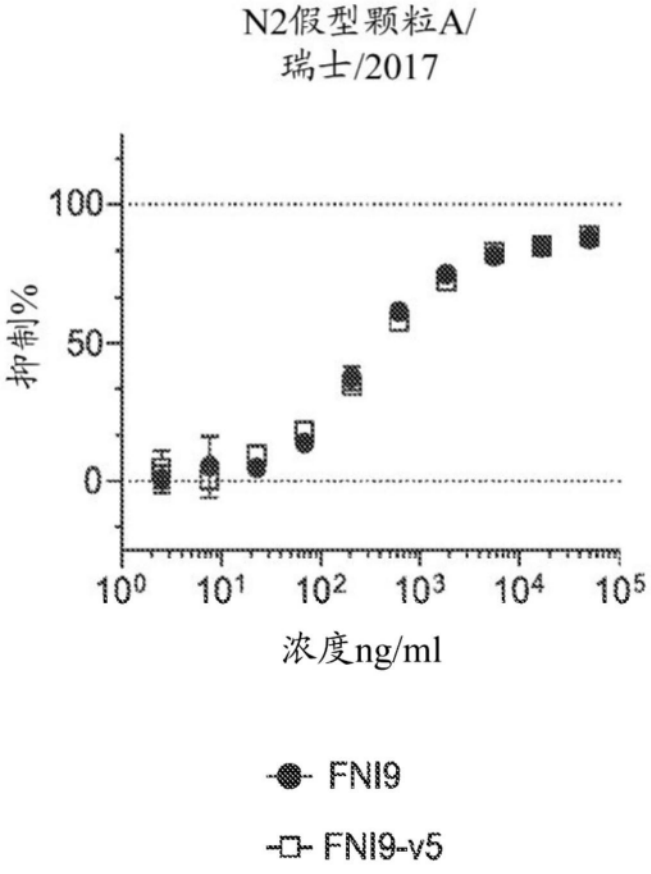

N2假型颗粒A/
瑞士/2017
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5

图87A

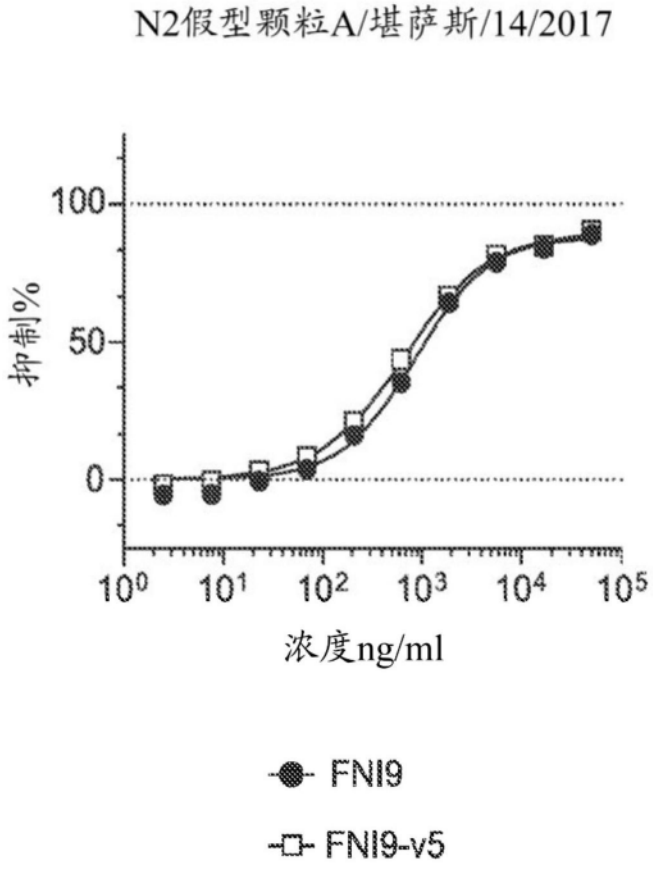

N2假型颗粒A/堪萨斯/14/2017
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5

图87B

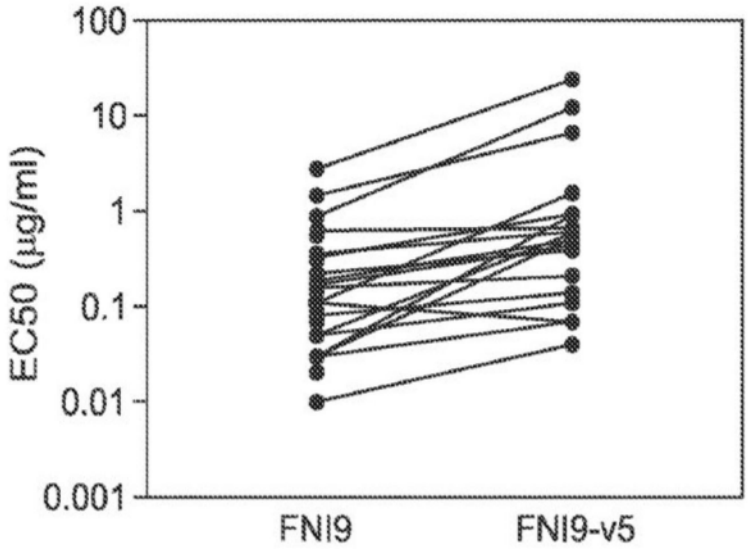
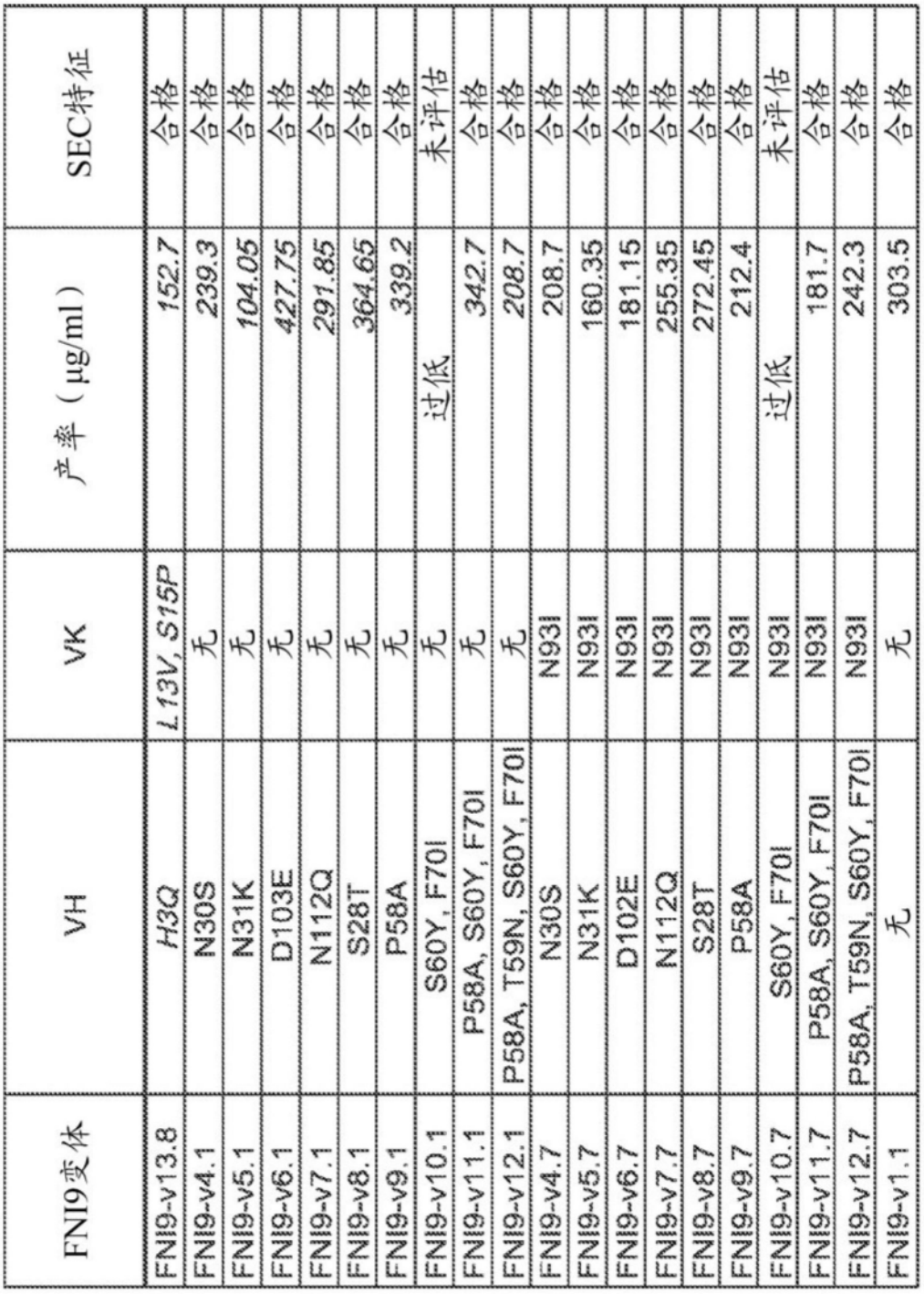

100
10
1
0.1
0.01
0.001
EC50 (μg/ml)
FNI9
FNI9-v5

图88

FNI9变体	VH	VK
FNI9-v5	无	*FR123GL*
FNI9	无	无
FNI9-v1.1	无	无
FNI9-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*
FNI9-v4.1	N30S	无
FNI9-v5.1	N31K	无
FNI9-v6.1	D103E	无
FNI9-v7.1	N112Q	无
FNI9-v8.1	S28T	无
FNI9-v9.1	P58A	无
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无
FNI9-v4.7	N30S	N93I
FNI9-v5.7	N31K	N93I
FNI9-v6.7	D102E	N93I
FNI9-v7.7	N112Q	N93I
FNI9-v8.7	S28T	N93I
FNI9-v9.7	P58A	N93I
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I
FNI9-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I

图89



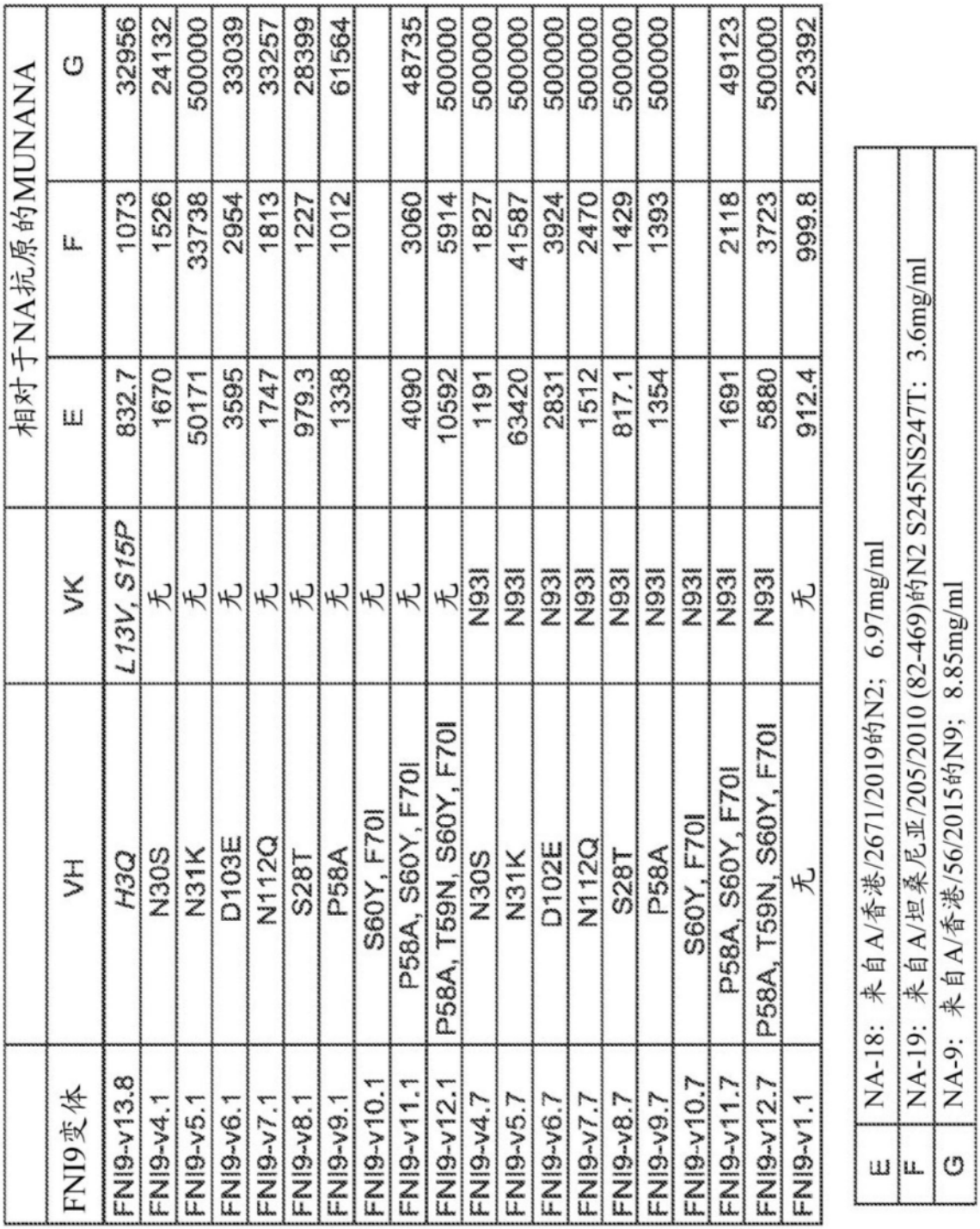
FN19变体	VH	VK	产率（μg/ml）	SEC特征
FN19-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*	*152.7*	合格
FN19-v4.1	N30S	无	*239.3*	合格
FN19-v5.1	N31K	无	*104.05*	合格
FN19-v6.1	D103E	无	*427.75*	合格
FN19-v7.1	N112Q	无	*291.85*	合格
FN19-v8.1	S28T	无	*364.65*	合格
FN19-v9.1	P58A	无	*339.2*	合格
FN19-v10.1	S60Y, F70I	无	过低	未评估
FN19-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无	*342.7*	合格
FN19-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无	*208.7*	合格
FN19-v4.7	N30S	N93I	208.7	合格
FN19-v5.7	N31K	N93I	160.35	合格
FN19-v6.7	D102E	N93I	181.15	合格
FN19-v7.7	N112Q	N93I	255.35	合格
FN19-v8.7	S28T	N93I	272.45	合格
FN19-v9.7	P58A	N93I	212.4	合格
FN19-v10.7	S60Y, F70I	N93I	过低	未评估
FN19-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I	181.7	合格
FN19-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I	242.3	合格
FN19-v1.1	无	无	303.5	合格

图90

			相对于NA抗原的MUNANA			
FNI9变体	VH	VK	A	B	C	D
FNI9-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*	30.6	158.3	834.9	80455
FNI9-v4.1	N30S	无	35.76	252.5	1579	169110
FNI9-v5.1	N31K	无	357.3	5276	51066	500000
FNI9-v6.1	D103E	无	79.01	606.1	3876	500000
FNI9-v7.1	N112Q	无	53.13	282.1	1856	170210
FNI9-v8.1	S28T	无	22.16	154.7	859.9	92480
FNI9-v9.1	P58A	无	13.34	76.95	1289	131864
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无				
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无	33.86	215.2	3190	500000
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无	112.1	361.4	9180	500000
FNI9-v4.7	N30S	N93I	29.84	120.5	1111	62361
FNI9-v5.7	N31K	N93I	167.4	2439	51443	500000
FNI9-v6.7	D102E	N93I	81.93	328.6	2867	207574
FNI9-v7.7	N112Q	N93I	65.22	264.8	1499	73075
FNI9-v8.7	S28T	N93I	38.25	138.4	748.4	29081
FNI9-v9.7	P58A	N93I	18.41	88.86	1064	82465
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I				
FNI9-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I	34.3	138	1446	79611
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I	55.54	164.2	5017	500000
FNI9-v1.1	无	无	31.63	179.3	925.3	90722

A	NA-1：来自A/越南/1203/2004的N1；1.1mg/ml
B	NA-5：来自A/坦桑尼亚/205/2010的N2；3.2mg/ml
C	NA-16：来自A/瑞士/8060/2017的N2；2.15mg/ml
D	NA-17：来自A/南澳大利亚/34/2019的N2；1.96mg/ml

图91A



			相对于NA抗原的MUNANA		
FNI9变体	VH	VK	E	F	G
FNI9-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*	832.7	1073	32956
FNI9-v4.1	N30S	无	1670	1526	24132
FNI9-v5.1	N31K	无	50171	33738	500000
FNI9-v6.1	D103E	无	3595	2954	33039
FNI9-v7.1	N112Q	无	1747	1813	33257
FNI9-v8.1	S28T	无	979.3	1227	28399
FNI9-v9.1	P58A	无	1338	1012	61564
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无			
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无	4090	3060	48735
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无	10592	5914	500000
FNI9-v4.7	N30S	N93I	1191	1827	500000
FNI9-v5.7	N31K	N93I	63420	41587	500000
FNI9-v6.7	D102E	N93I	2831	3924	500000
FNI9-v7.7	N112Q	N93I	1512	2470	500000
FNI9-v8.7	S28T	N93I	817.1	1429	500000
FNI9-v9.7	P58A	N93I	1354	1393	500000
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I			
FNI9-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I	1691	2118	49123
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I	5880	3723	500000
FNI9-v1.1	无	无	912.4	999.8	23392

E	NA-18：来自A/香港/2671/2019的N2；6.97mg/ml
F	NA-19：来自A/坦桑尼亚/205/2010 (82-469)的N2 S245NS247T：3.6mg/ml
G	NA-9：来自A/香港/56/2015的N9；8.85mg/ml

图91B

			相对于假病毒的ELLA		
FNI9变体	VH	VK	H	I	J
FNI9-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*	11.57	0.6153	2.03
FNI9-v4.1	N30S	无	18.45	0.8342	2.435
FNI9-v5.1	N31K	无	33.31	7.238	10.3
FNI9-v6.1	D103E	无	12.6	1.59	2.593
FNI9-v7.1	N112Q	无	14.8	1.068	3.085
FNI9-v8.1	S28T	无	15.43	0.8377	2.965
FNI9-v9.1	P58A	无	11.15	1.296	1.756
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无			
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无	13.52	1.605	2.732
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无	17.09	5.215	5.446
FNI9-v4.7	N30S	N93I	21.1	1.838	4.417
FNI9-v5.7	N31K	N93I	58.85	11.33	21.86
FNI9-v6.7	D102E	N93I	24.52	7.405	16.04
FNI9-v7.7	N112Q	N93I	25.21	3.861	9.493
FNI9-v8.7	S28T	N93I	20.32	1.597	4.51
FNI9-v9.7	P58A	N93I	18.83	7.987	15.14
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I			
FNI9-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I	16.6	2.468	4.362
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I	22.6	27.98	35.84
FNI9-v1.1	无	无	16.42	0.6902	2.079

H	H7N3_NA_A_Ck_Ja_PAVX17170_2017: 1 μg
I	H5N6_NA_A_CK_苏州_j6_2019: 1μg
J	H5N6_NA_A_杭州_01_2021

图92A

			相对于假病毒的ELLA		
FNI9变体	VH	VK	K	L	M
FNI9-v13.8	*H3Q*	*L13V, S15P*	53.76	0.5235	1.701
FNI9-v4.1	N30S	无	55.26	1.42	2.18
FNI9-v5.1	N31K	无	175.1	78.63	40.99
FNI9-v6.1	D103E	无	69.58	5.347	5.163
FNI9-v7.1	N112Q	无	67.39	0.9031	2.244
FNI9-v8.1	S28T	无	51.52	0.6418	1.618
FNI9-v9.1	P58A	无	47.23	0.5693	15.05
FNI9-v10.1	S60Y, F70I	无			
FNI9-v11.1	P58A, S60Y, F70I	无	101.6	1.019	5.811
FNI9-v12.1	P58A, T59N, S60Y, F70I	无	132	13.58	18.62
FNI9-v4.7	N30S	N93I	70.09	1.471	243.3
FNI9-v5.7	N31K	N93I	151	104.5	1762
FNI9-v6.7	D102E	N93I	142.5	8.066	698.7
FNI9-v7.7	N112Q	N93I	194.9	2.311	519.4
FNI9-v8.7	S28T	N93I	73.7	0.7193	192.9
FNI9-v9.7	P58A	N93I	429.3	0.3576	2778
FNI9-v10.7	S60Y, F70I	N93I			
FNI9-v11.7	P58A, S60Y, F70I	N93I	148.7	0.8679	650.1
FNI9-v12.7	P58A, T59N, S60Y, F70I	N93I	231.5	19.92	1714
FNI9-v1.1	无	none	41.42	0.5326	1.544

K	H7N7_NA_A_Ck_621572_03: 1 μg
L	H5N8_NA_A_CK_RU_3-29_2020: 1 μg
M	H7N9_NA_A_安徽_1_2023

图92B

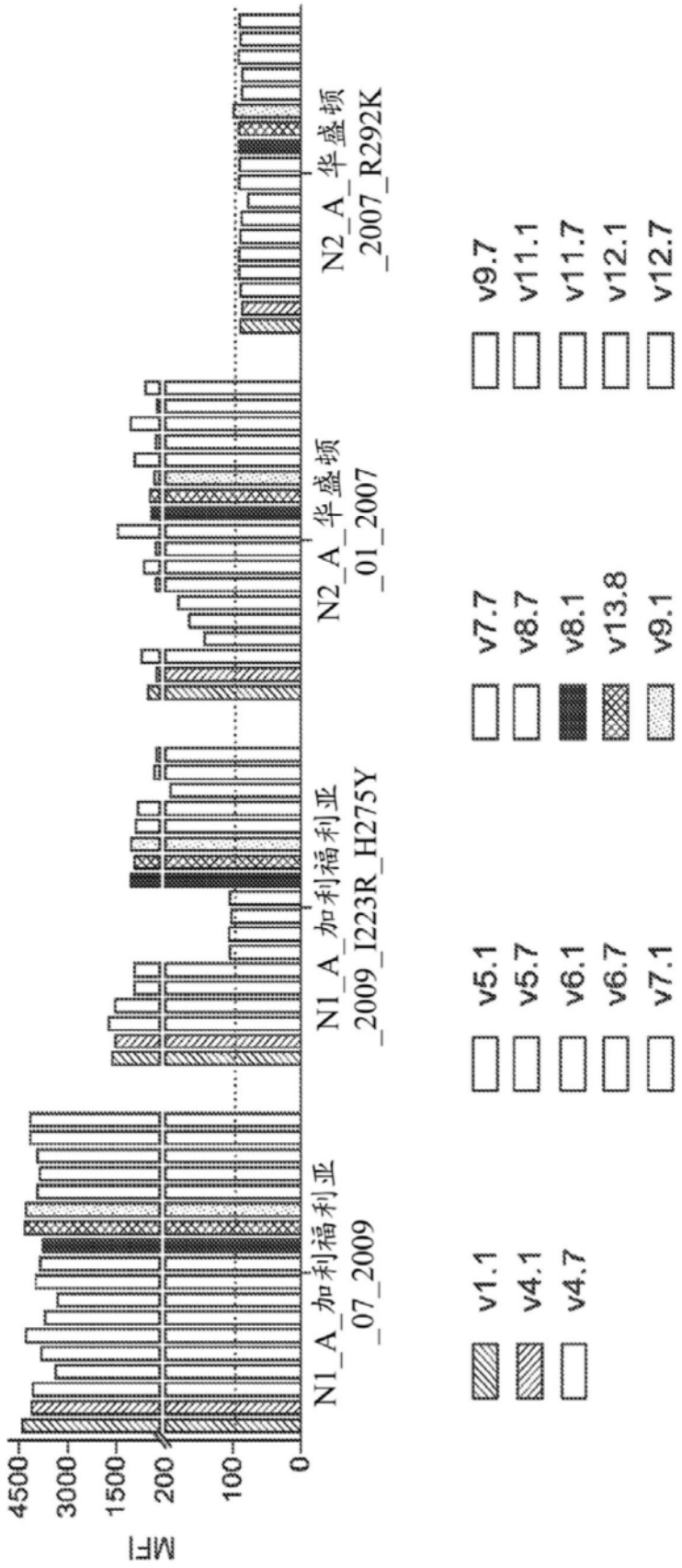

4500
3000
1500
200
100
0
ET
N1_A_加利福利亚
_07_2009
N1_A_加利福利亚
_2009_I223R_H275Y
N2_A_华盛顿
_01_2007
N2_A_华盛顿
_2007_R292K
v1.1
v4.1
v4.7
v5.1
v5.7
v6.1
v6.7
v7.1
v7.7
v8.7
v8.1
v13.8
v9.1
v9.7
v11.1
v11.7
v12.1
v12.7

图93A

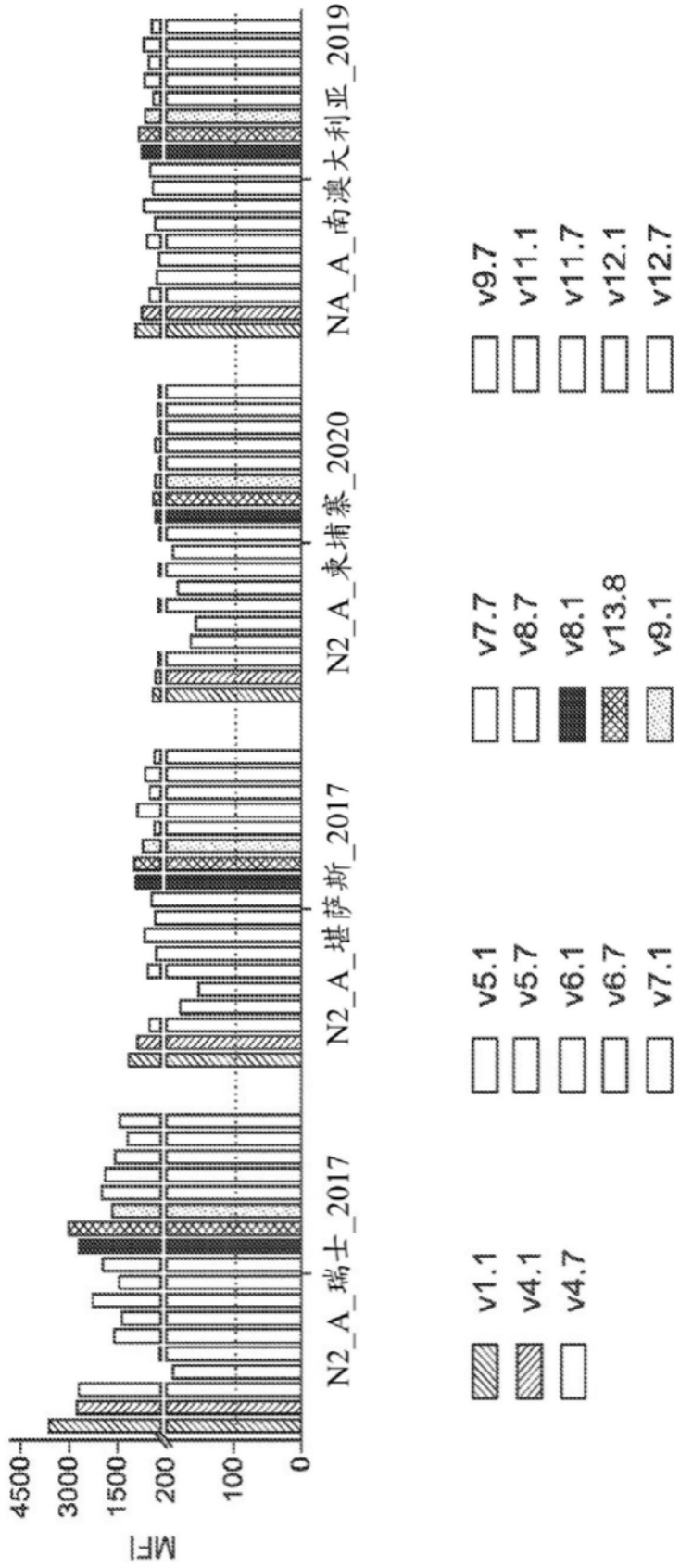

4500
3000
1500
200
100
0
N2_A_瑞士_2017
N2_A_堪萨斯_2017
N2_A_柬埔寨_2020
NA_A_南澳大利亚_2019
v1.1
v4.1
v4.7
v5.1
v5.7
v6.1
v6.7
v7.1
v7.7
v8.7
v8.1
v13.8
v9.1
v9.7
v11.1
v11.7
v12.1
v12.7

图93B

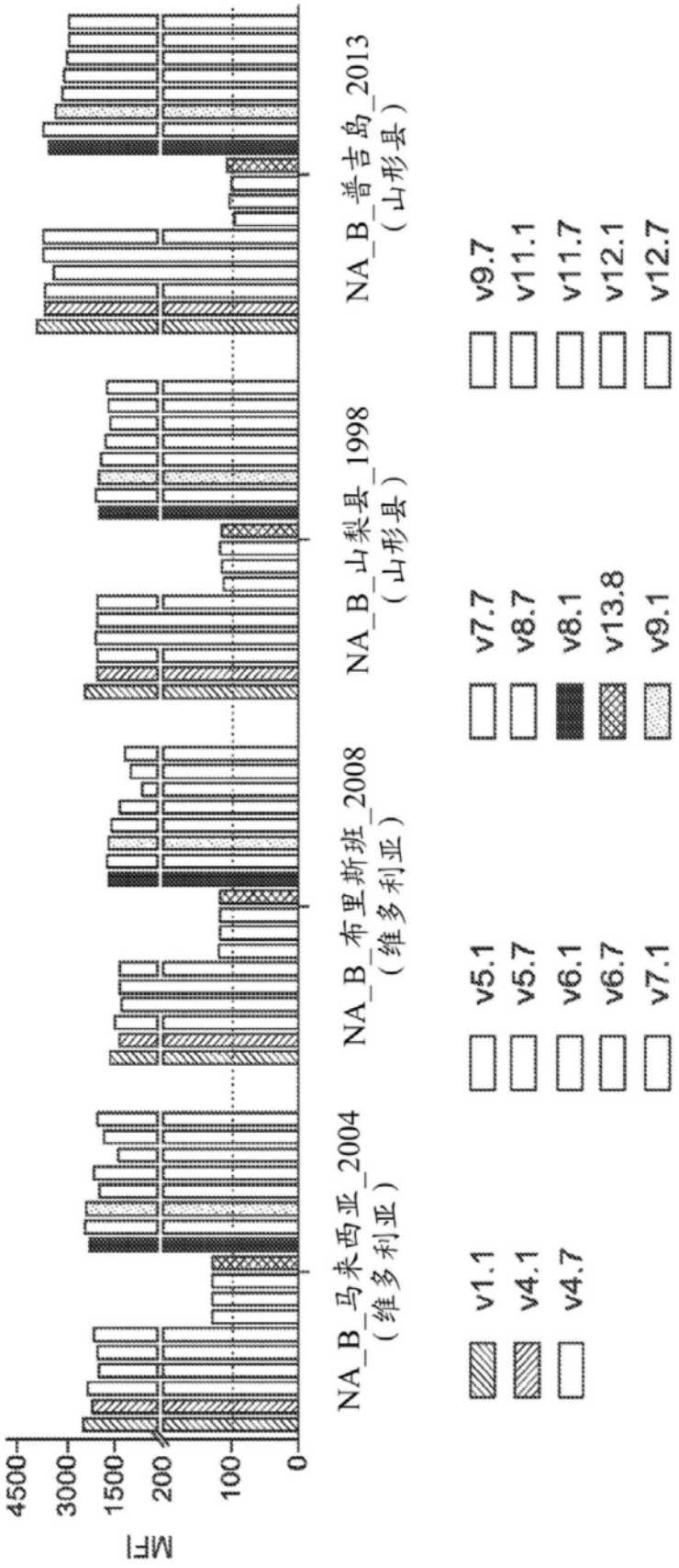

4500
3000
1500
200
100
0
MFI
NA_B_马来西亚_2004
（维多利亚）
NA_B_布里斯班_2008
（维多利亚）
NA_B_山梨县_1998
（山形县）
NA_B_普吉岛_2013
（山形县）
v1.1
v4.1
v4.7
v5.1
v5.7
v6.1
v6.7
v7.1
v7.7
v8.7
v8.1
v13.8
v9.1
v9.7
v11.1
v11.7
v12.1
v12.7

图93C

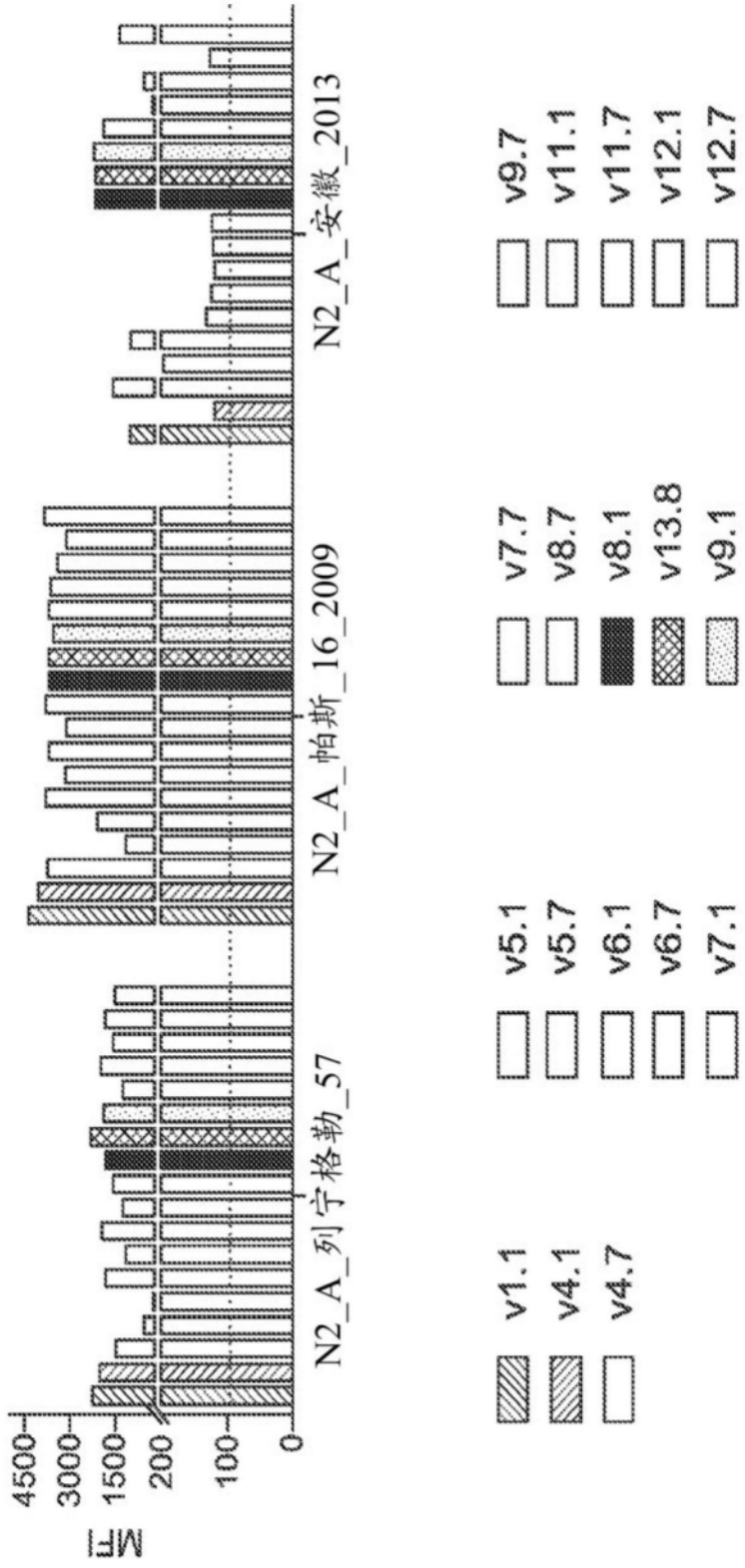

MFI
4500
3000
1500
200
100
0
N2_A_列宁格勒_57
N2_A_帕斯_16_2009
N2_A_安徽_2013
v1.1
v4.1
v4.7
v5.1
v5.7
v6.1
v6.7
v7.1
v7.7
v8.7
v8.1
v13.8
v9.1
v9.7
v11.1
v11.7
v12.1
v12.7

图93D

NA 类别	NA 代码	毒株	FNI9-v4.1	FNI9-v8.1	FNI9-v9.1	FNI9-v13.8
FluB	BNA-1	B/Lec/40（祖先）	N/A	N/A	N/A	N/A
	BNA-2	B/帕斯/211/2011	1.48	1.03	1.59	1.07
	BNA-3	B/马萨诸塞/02/2012（山形县）	1.24	1.17	0.92	1.03
	BNA-6	B/布里斯班/602008或33/2008（维多利亚）	0.78	0.92	0.81	1.01
	BNA-7	B/马来西亚/2506/2004（维多利亚）	1.44	1.35	1.53	1.13
N1	NA-3	A/N1 越南/1203/2004	1.06	1.98	0.93	0.68
A/H3N2 -glyc245	NA-23	N2 A/瑞士/8060/2017 (82-469) N245S	N/A	N/A	N/A	N/A
	NA-24	N2 A/南澳大利亚/34/2019 (82-469) N245S	1.53	0.42	0.99	1.04
	NA-25	N2 A/香港/2671/2019 (82-469) N245S	N/A	N/A	N/A	N/A
	NA-5	N2 A/坦桑尼亚/205/2010, 82-469（头部）	1.76	0.98	0.81	1.00
A/H3N2 +glyc245	NA-16	N2 A/瑞士/8060/2017 (82-469)	1.06	0.98	0.93	0.68
	NA-17	N2 A/南澳大利亚/34/2019 (82-469)	1.30	1.20	2.99	1.12
	NA-18	N2 A/香港/2671/2019 (82-469)	1.85	0.40	1.15	0.98
	NA-19	N2 A/坦桑尼亚/205/2010, (82-469) S245N S247T	2.47	1.12	4.59	0.08
N9	N9	N9 香港/56/2015	1.31	1.10	8.43	1.28

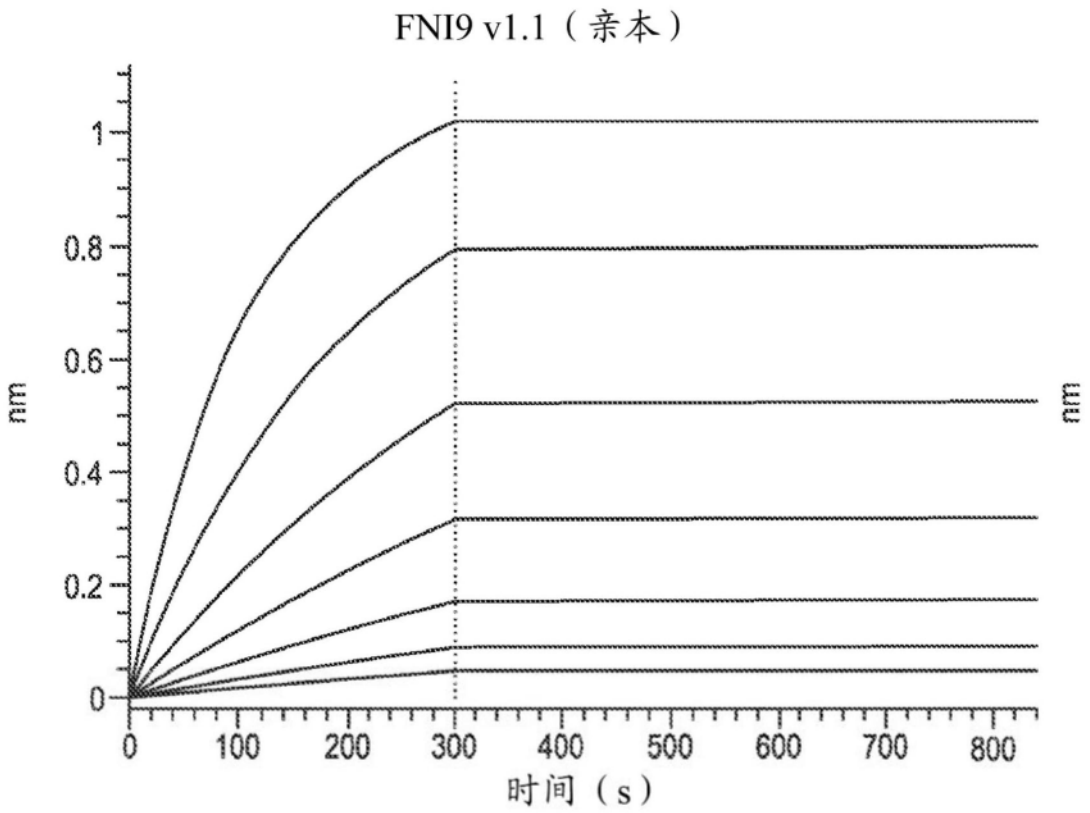
图94

表1	A/坦桑尼亚/205/2010		A/南澳大利亚/2019		A/香港/2671/2019	
KD（nM）1:1结合	NA-19 "+glyc245"	NA-5 "-glyc245"	NA-17 "+glyc245"	NA-24 "-glyc245"	NA-18 "+glyc245"	NA-25 "-glyc245"
Fab FNI9-v1.1	6.77	3.28	127.43	13.75	10.45	0.70
Fab FNI9-v4.1	8.31	5.35	132.88	22.84	19.93	1.07
Fab FNI9-v8.1	3.83	2.57	99.49	11.24	8.64	0.49
Fab FNI9-v13.8	5.02	3.01	90.72	13.93	9.37	0.68

图95A

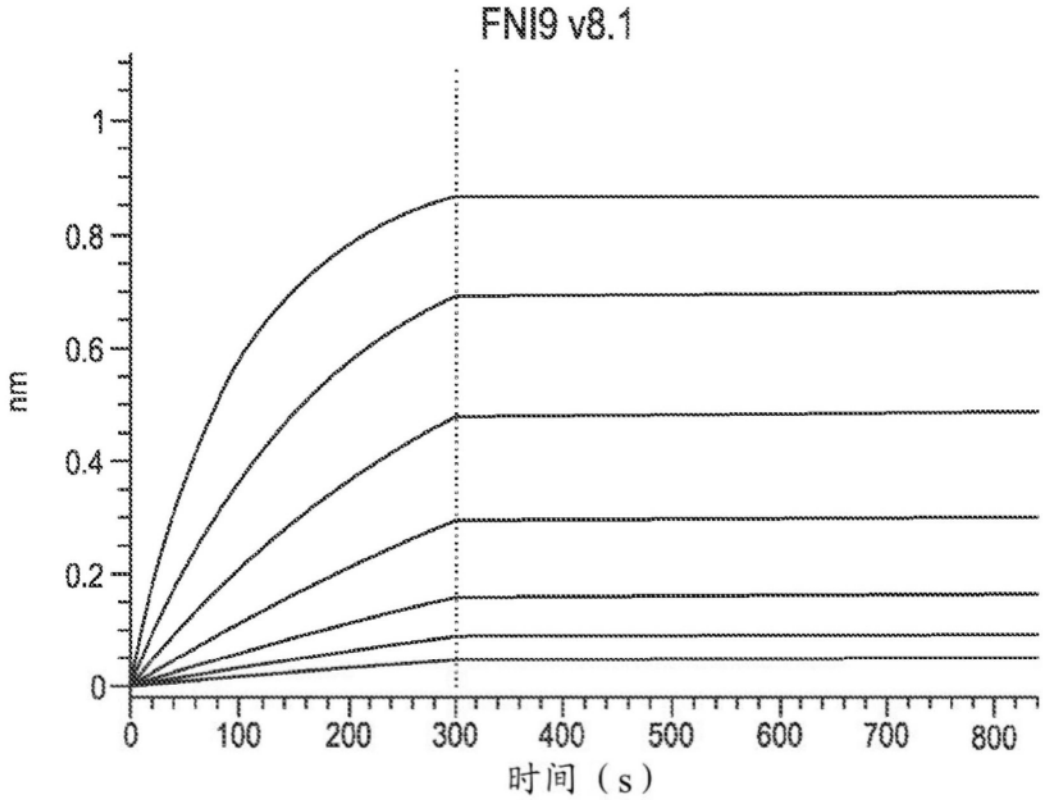
表2	A/坦桑尼亚/205/2010			A/南澳大利亚/2019			A/香港/2671/2019		
与v1.1相比的KD	NA-19 "+glyc245"	NA-5 "-glyc245"		NA-17 "-glyc245"	NA-24 "+glyc245"		NA-18 "-glyc245"	NA-25 "+glyc245"	
Fab FNI9-v1.1	1.00		1.00	1.00		1.00	1.00		1.00
Fab FNI9-v4.1	1.23		1.63	1.04		1.66	1.91		1.53
Fab FNI9-v8.1	0.57		0.78	0.78		0.82	0.83		0.70
Fab FNI9-v13.8	0.74		0.92	0.71		1.01	0.90		0.97

图95B



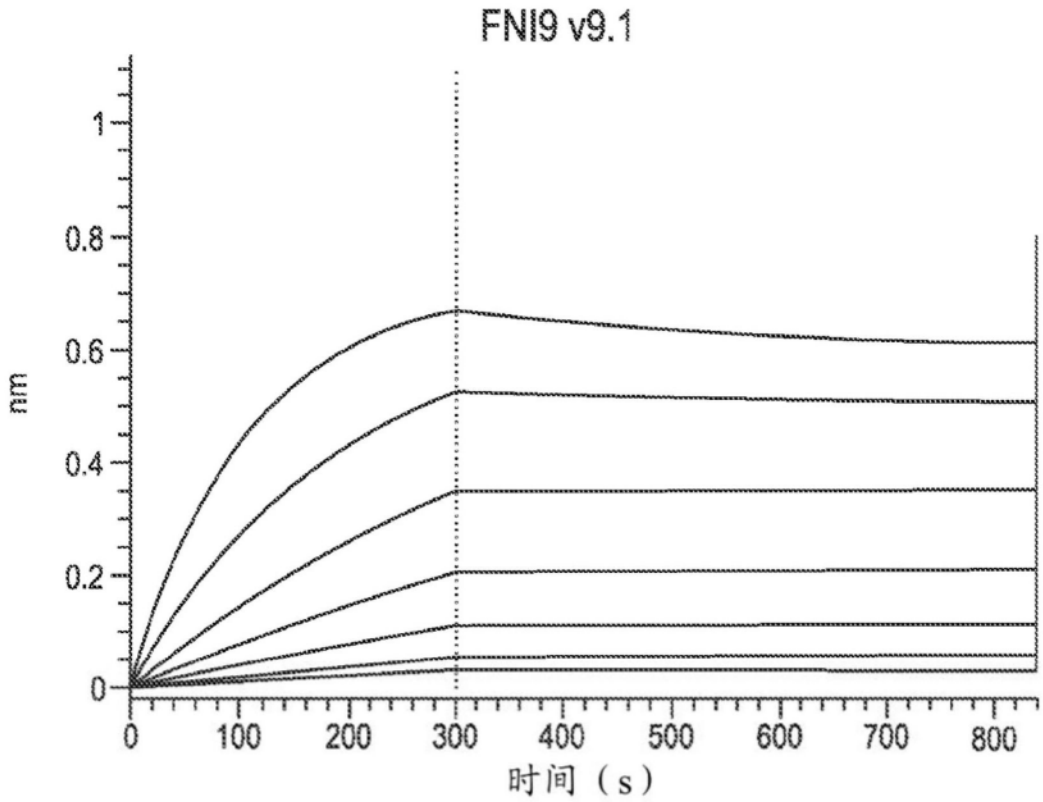
变体	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
FNI9 v1.1	<1.0E-12	4.05E+05	<1.0E-07

图96A



变体	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
FNI9 v8.1	<1.0E-12	4.63E+05	<1.0E-07

图96B



变体	KD (M)	ka (1/Ms)	kdis (1/s)
FNI9 v9.1	1.90E-10	4.56E+05	8.658E-05

图96C

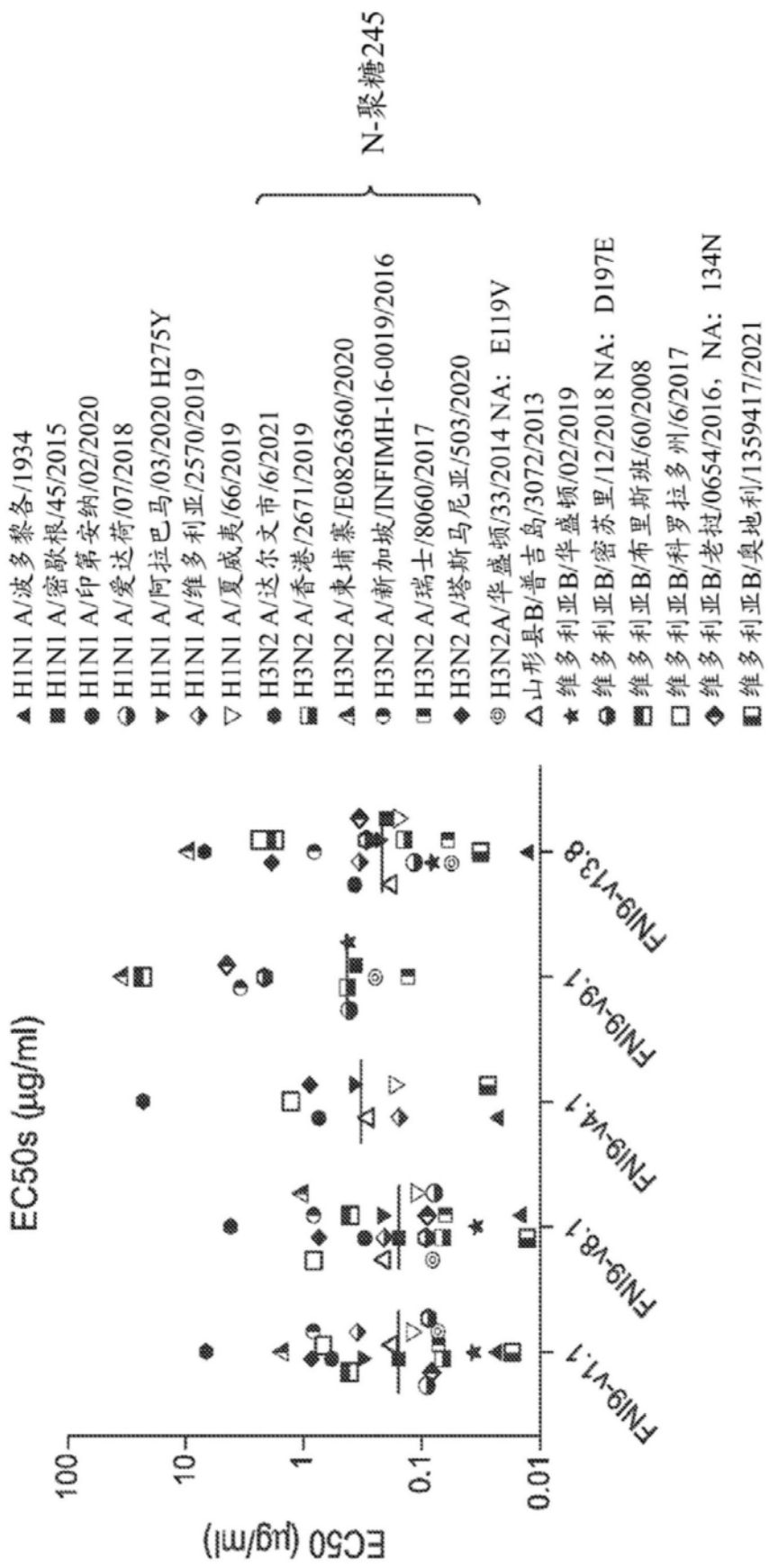
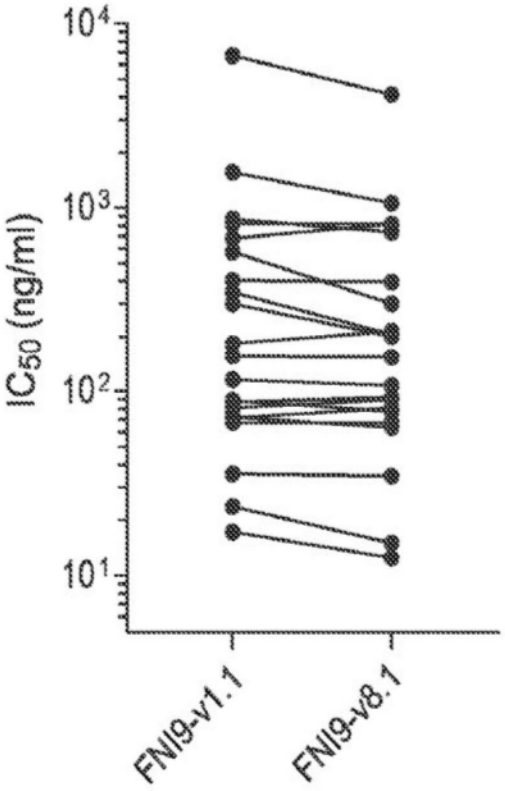

EC50 (μg/ml)
100
10
1
0.1
0.01
FN19-V1.1
FN19-V8.1
FN19-V4.1
FN19-V9.1
FN19-V13.8
N-聚糖245
▲H1N1 A/波多黎各/1934
■H1N1 A/密歇根/45/2015
●H1N1 A/印第安纳/02/2020
◒H1N1 A/爱达荷/07/2018
▼H1N1 A/阿拉巴马/03/2020 H275Y
◆H1N1 A/维多利亚/2570/2019
▽H1N1 A/夏威夷/66/2019
●H3N2 A/达尔文市/6/2021
■H3N2 A/香港/2671/2019
▲H3N2 A/柬埔寨/E0826360/2020
◑H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016
◨H3N2 A/瑞士/8060/2017
◆H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020
◎H3N2A/华盛顿/33/2014 NA: E119V
△山形县B/普吉岛/3072/2013
★维多利亚B/华盛顿/02/2019
◒维多利亚B/密苏里/12/2018 NA: D197E
■维多利亚B/布里斯班/60/2008
□维多利亚B/科罗拉多州/6/2017
◆维多利亚B/老挝/0654/2016，NA: 134N
◧维多利亚B/奥地利/1359417/2021

图97A



H1N1 A/波多黎各/1934
H1N1 A/密歇根/45/2015
H1N1 A/印第安纳/02/2020
H1N1 A/爱达荷/07/2018
H1N1 A/阿拉巴马/03/2020 H275Y
H1N1 A/维多利亚/2570/2019
H1N1 A/夏威夷/66/2019
H3N2 A/达尔文市/6/2021
H3N2 A/香港/2671/2019
H3N2 A/柬埔寨/E0826360/2020
H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016
H3N2 A/瑞士/8060/2017
H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020
H3N2A/华盛顿/33/2014 NA: E119V
山形县B/普吉岛/3072/2013
维多利亚B/华盛顿/02/2019
维多利亚B/密苏里/12/2018 NA: D197E
维多利亚B/布里斯班/60/2008
维多利亚B/科罗拉多州/6/2017
维多利亚B/老挝/0654/2016，NA: 134N
维多利亚B/奥地利/1359417/2021

图97B

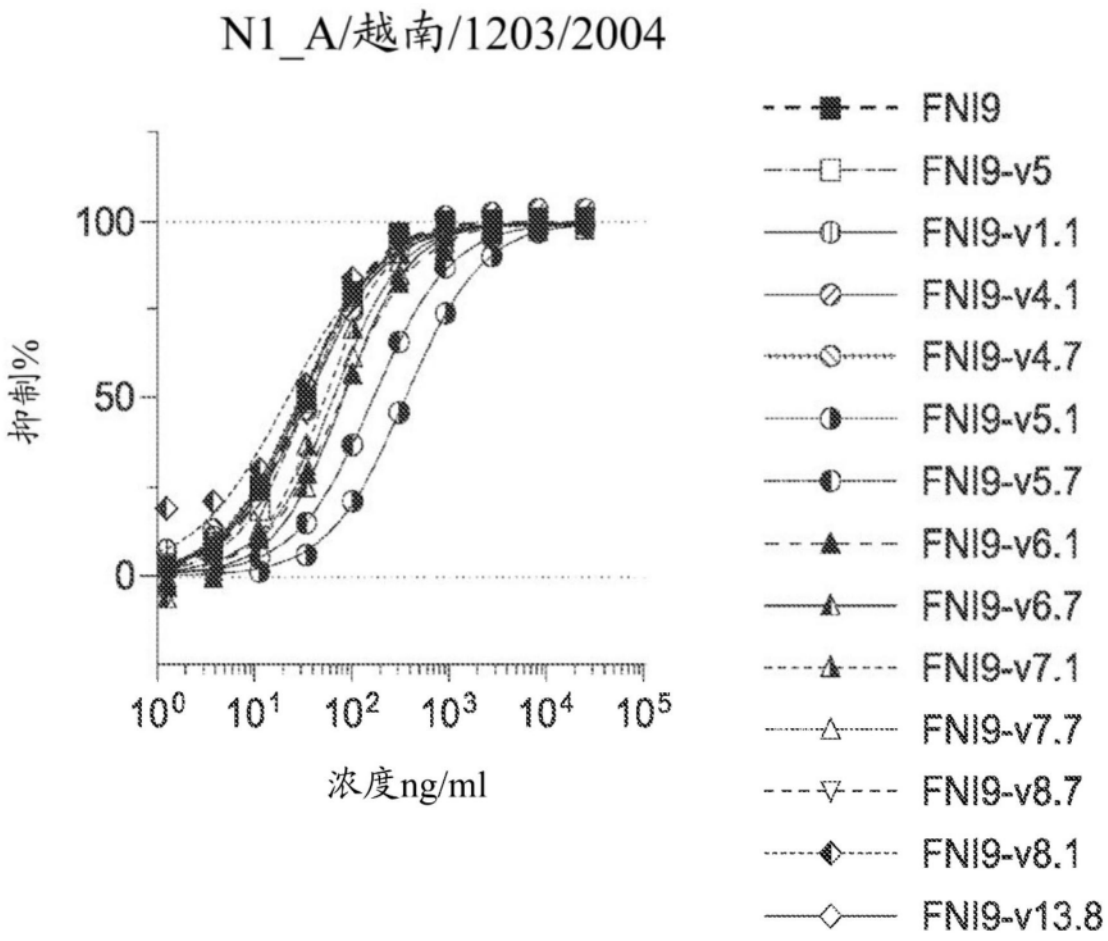

N1_A/越南/1203/2004
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98A

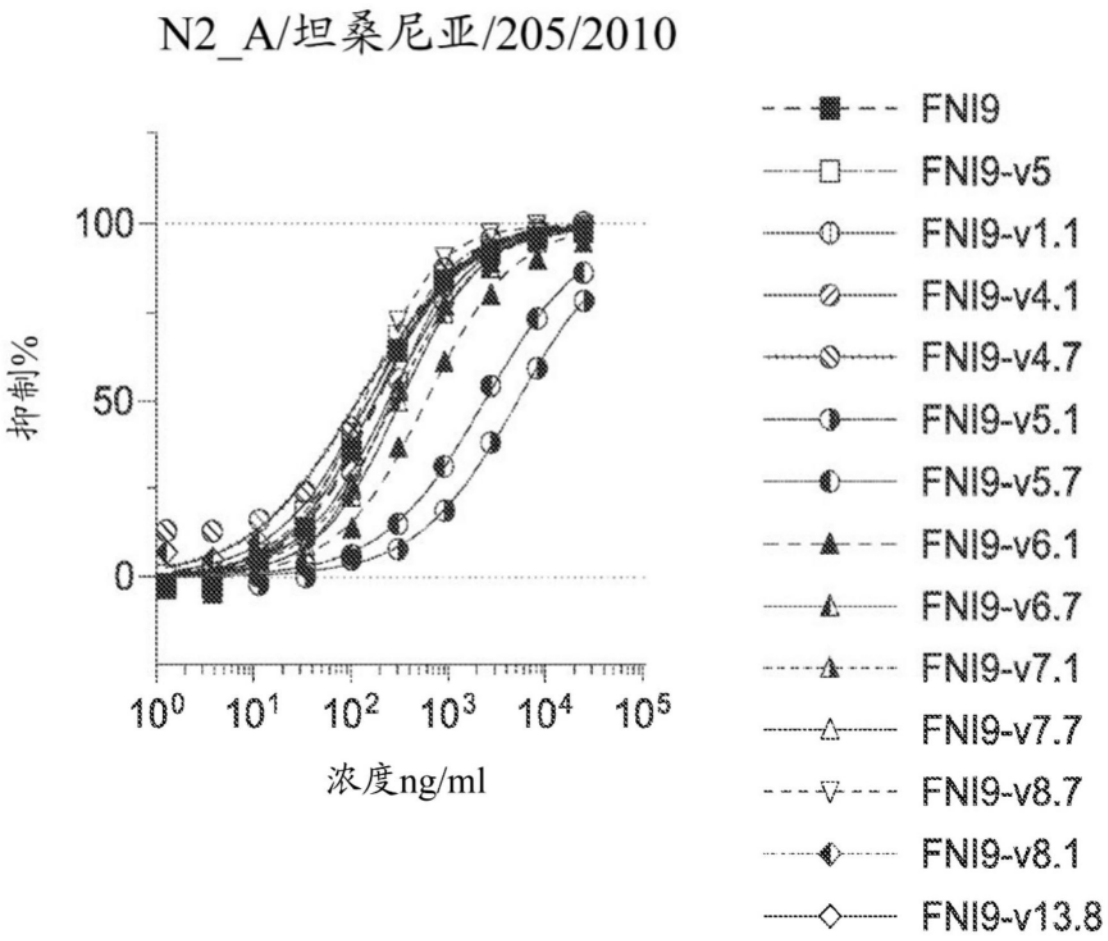

N2_A/坦桑尼亚/205/2010
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98B

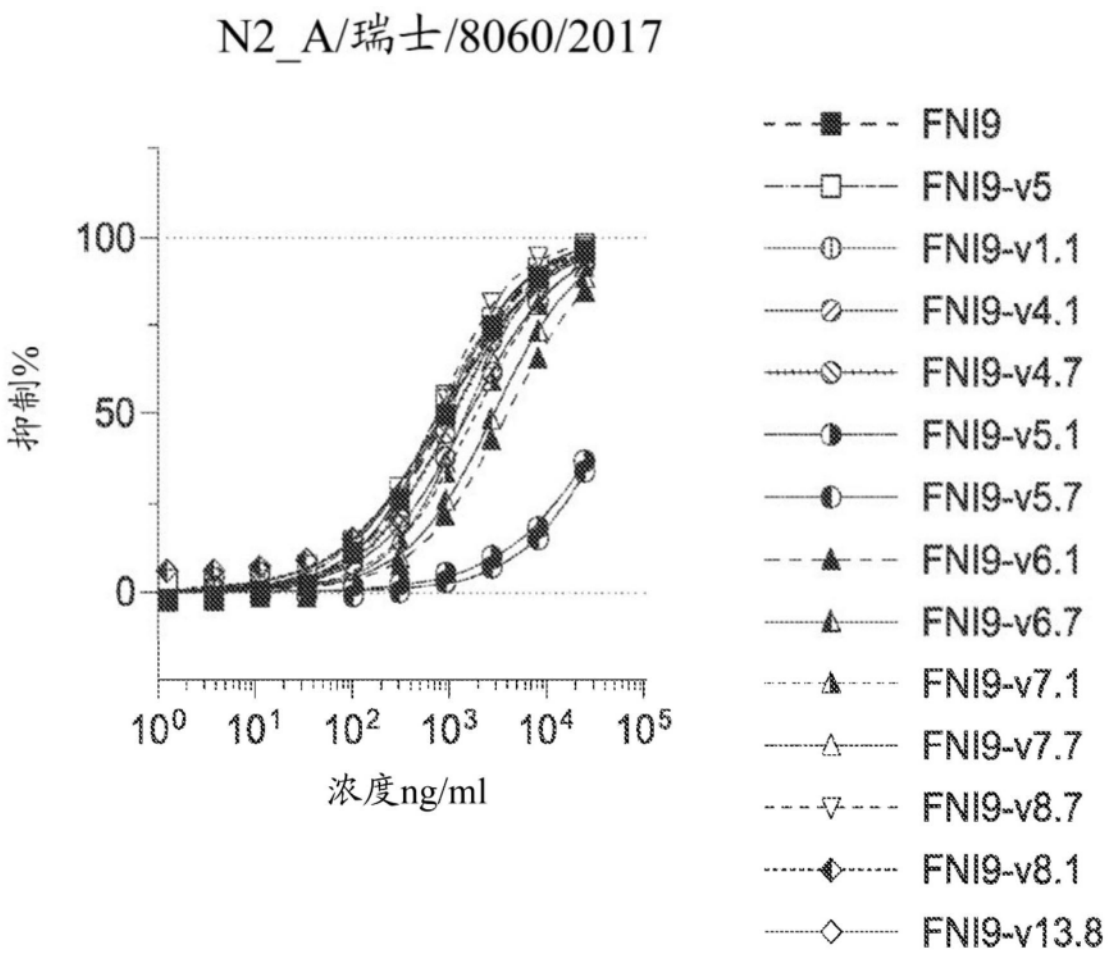

N2_A/瑞士/8060/2017
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98C

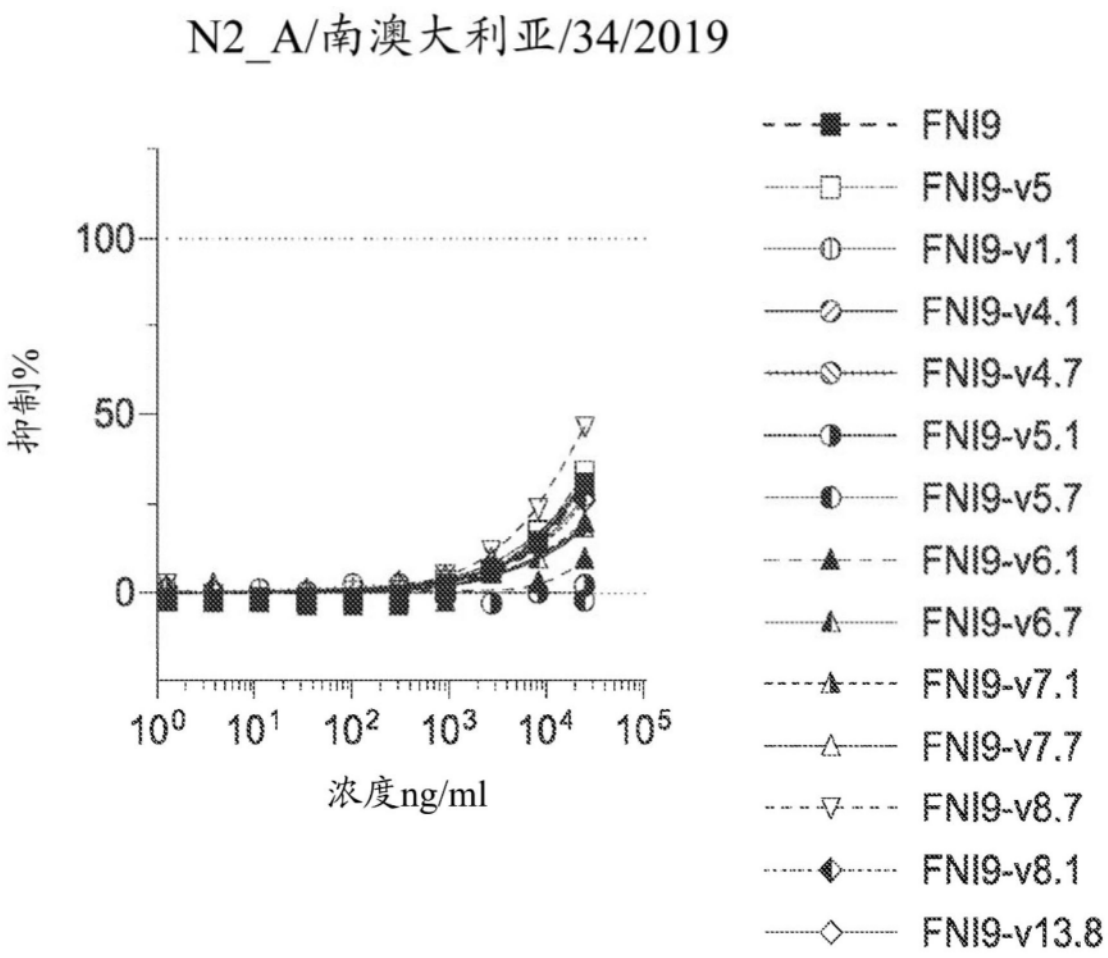

N2_A/南澳大利亚/34/2019
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98D

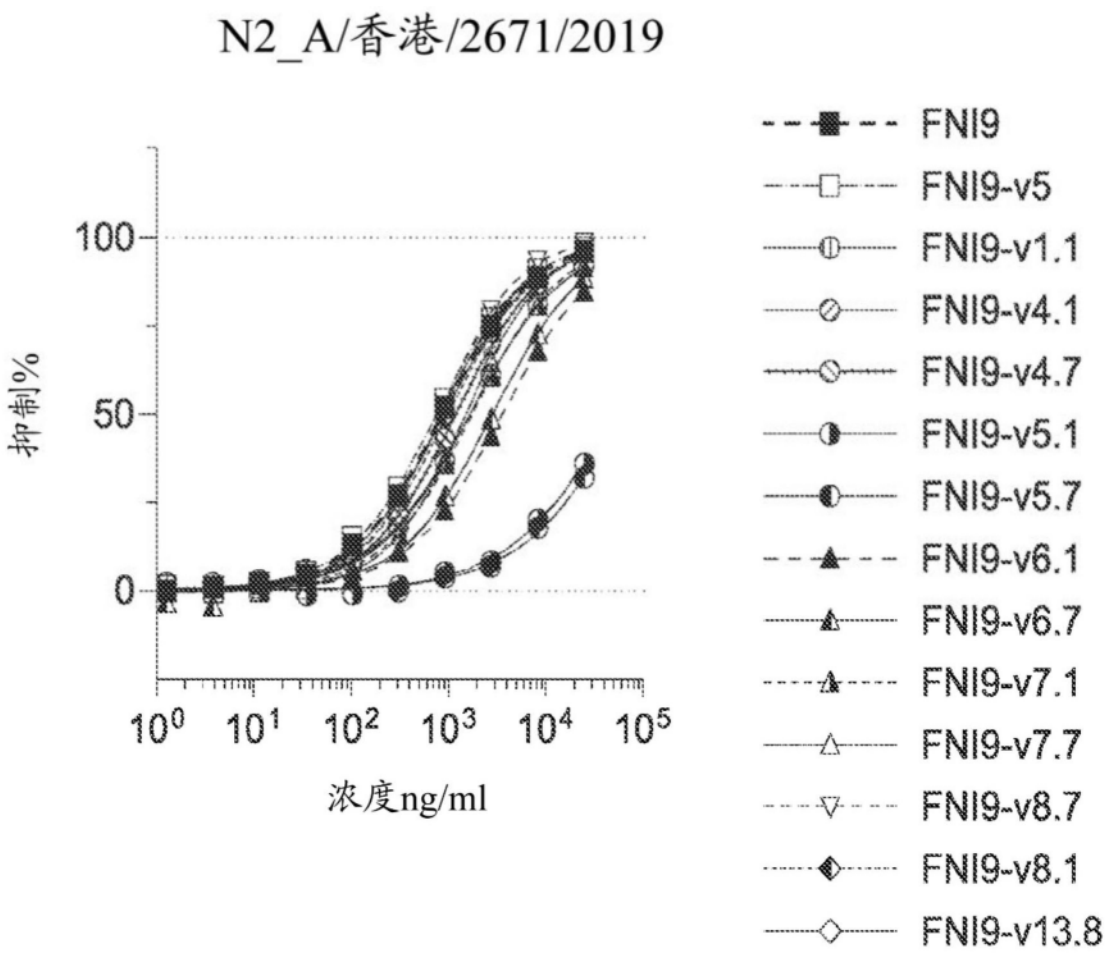

N2_A/香港/2671/2019
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98E

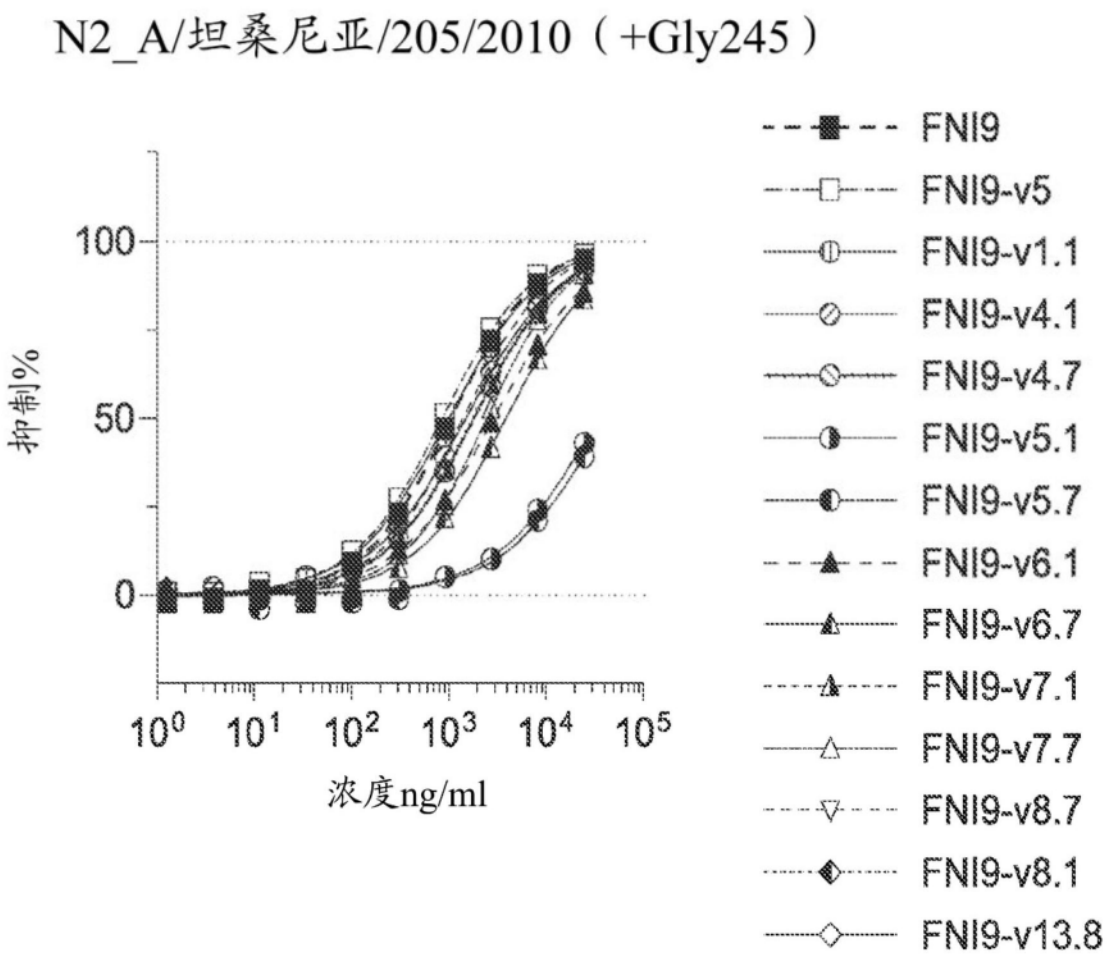

N2_A/坦桑尼亚/205/2010（+Gly245）
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98F

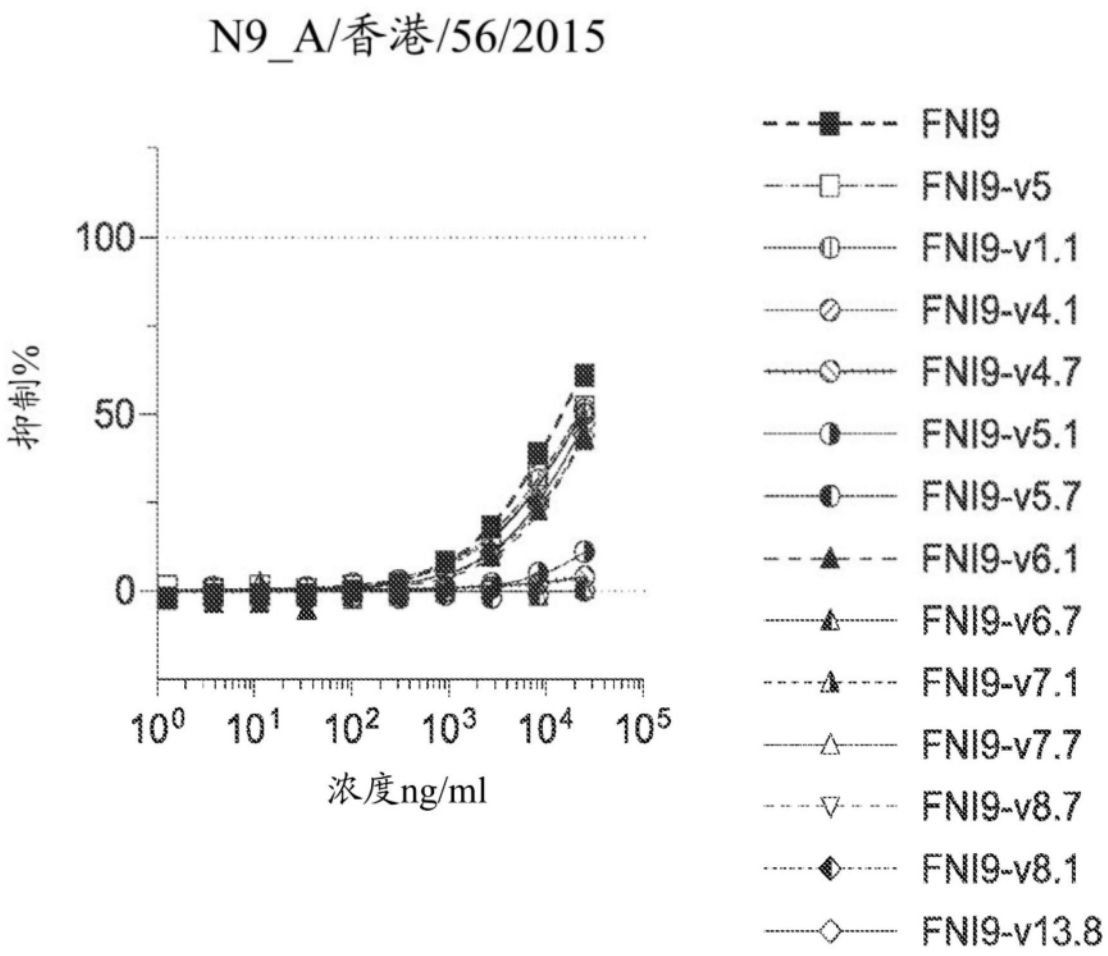

N9_A/香港/56/2015
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图98G

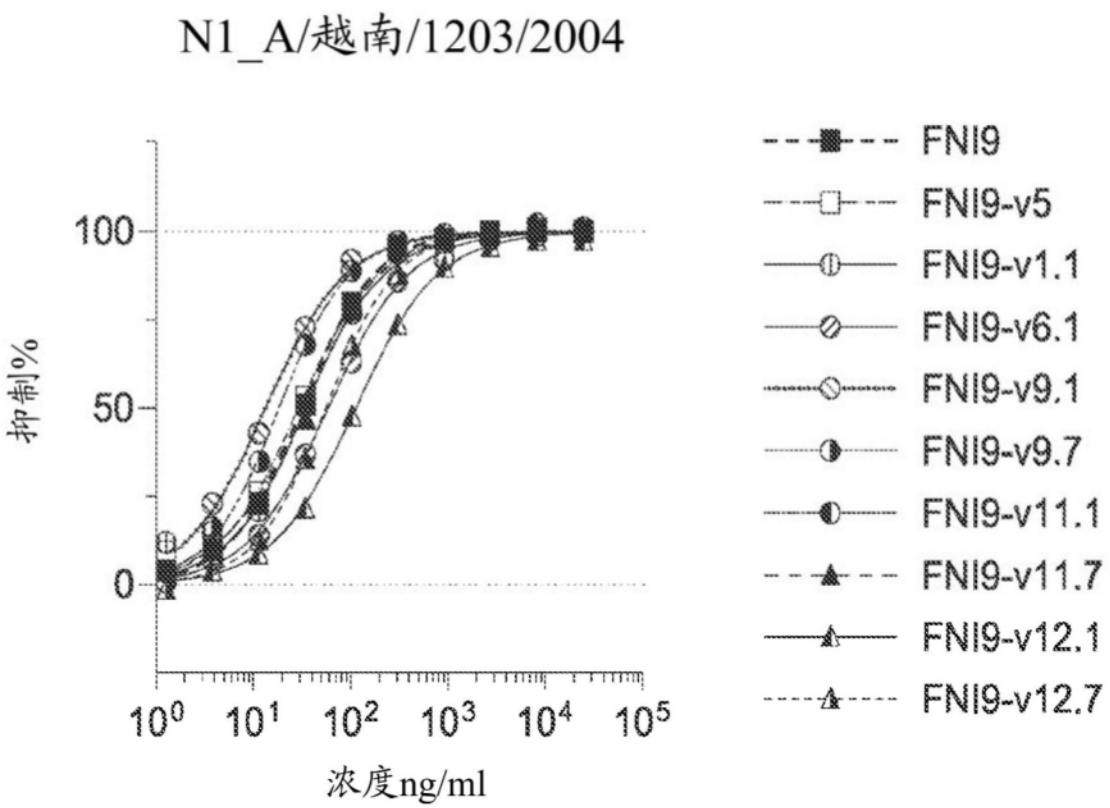

N1_A/越南/1203/2004
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99A

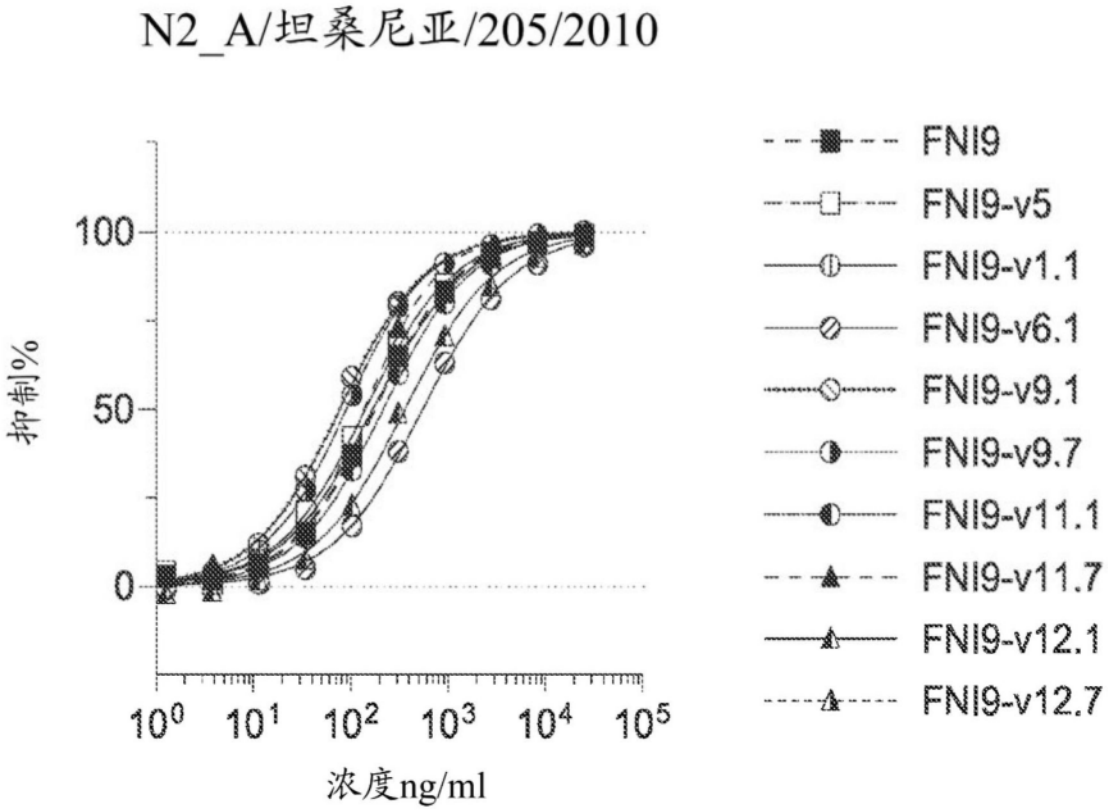

N2_A/坦桑尼亚/205/2010
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99B

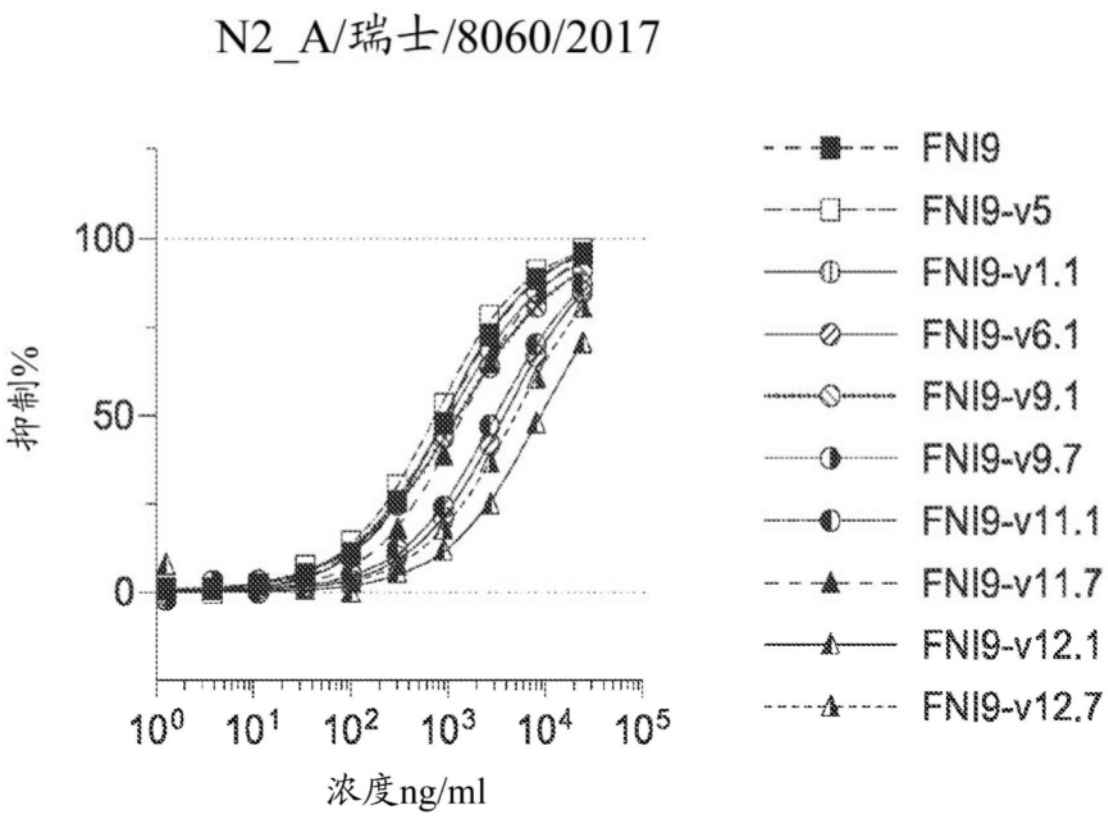

N2_A/瑞士/8060/2017
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99C

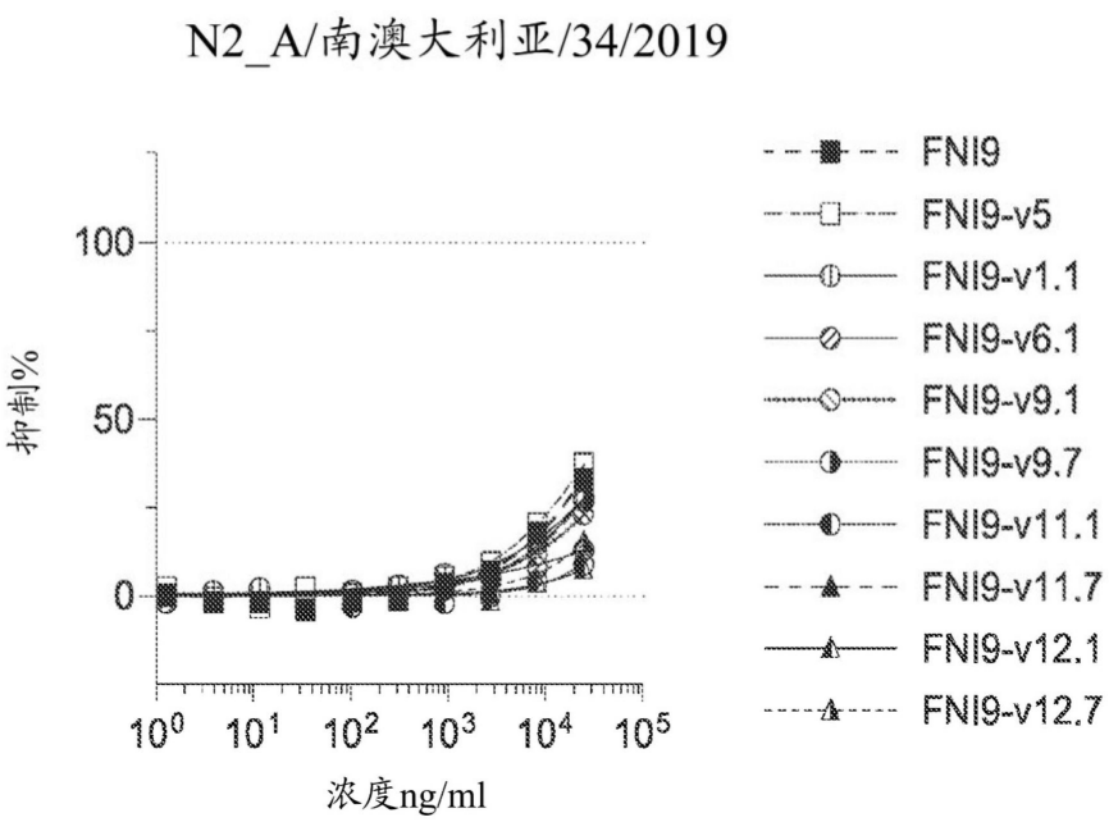

N2_A/南澳大利亚/34/2019
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99D

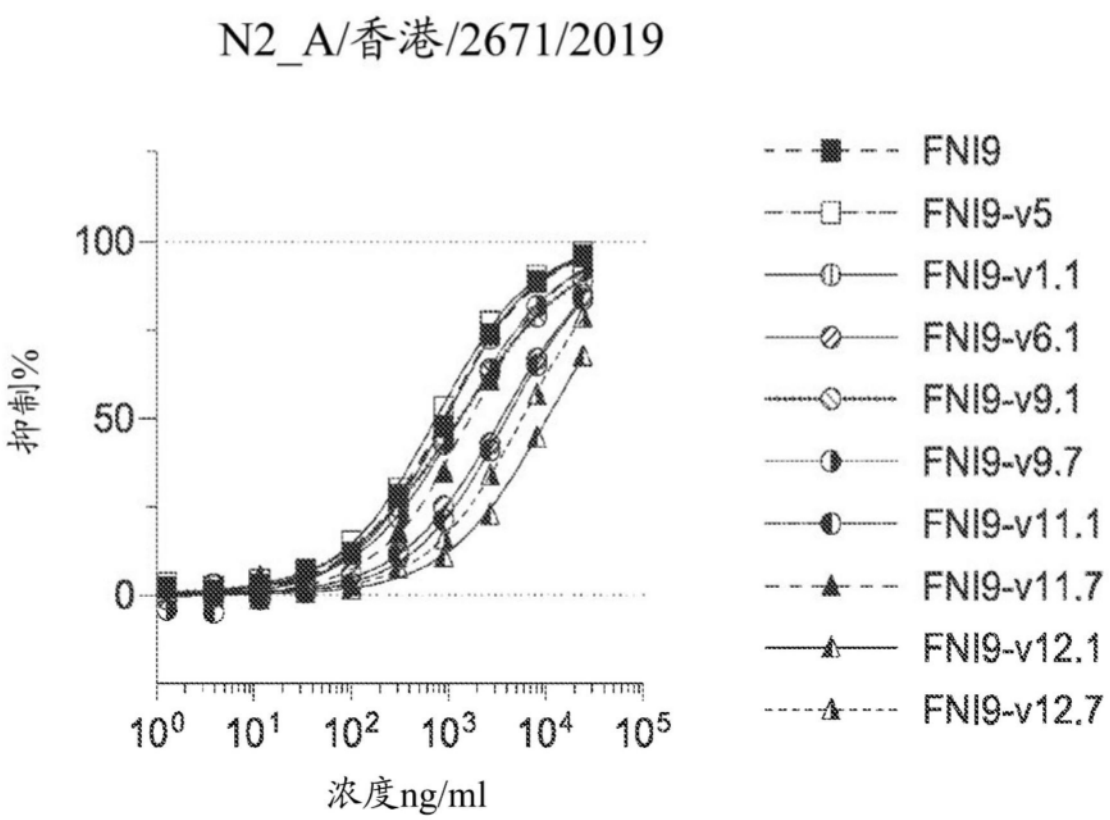

N2_A/香港/2671/2019
100
50
0
抑制%
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99E

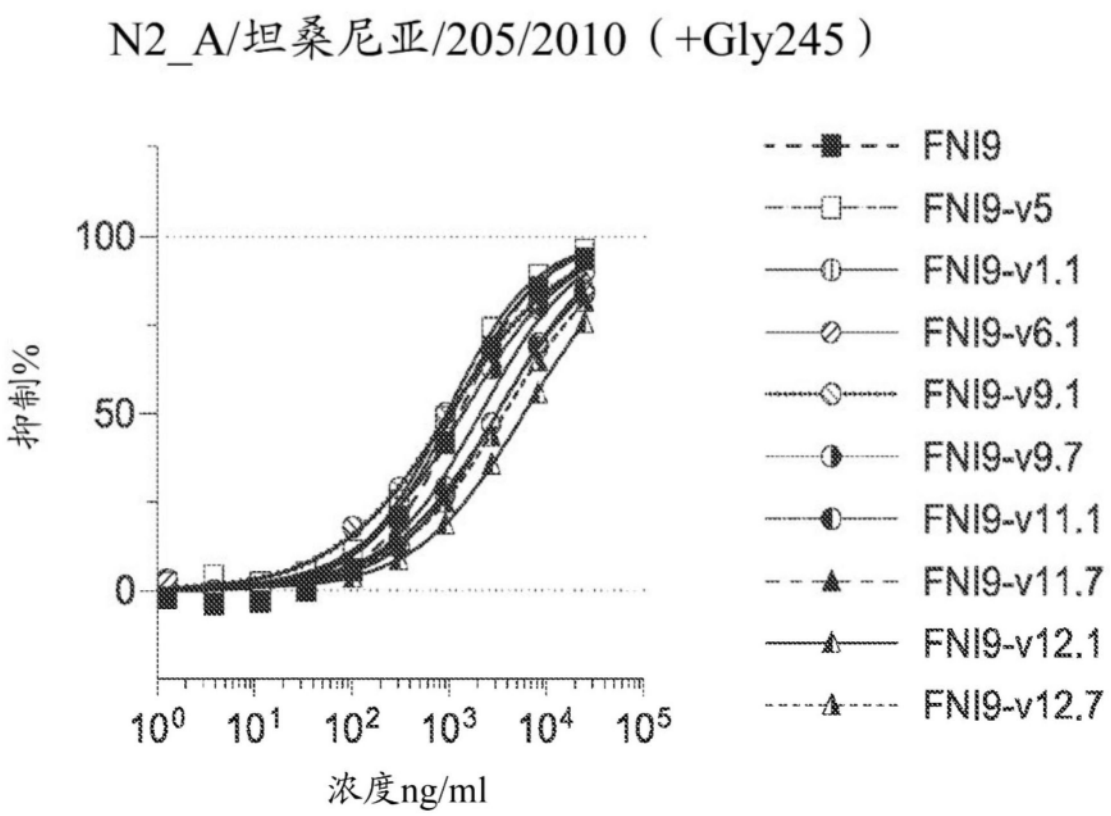

N2_A/坦桑尼亚/205/2010（+Gly245）
抑制%
100
50
0
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99F

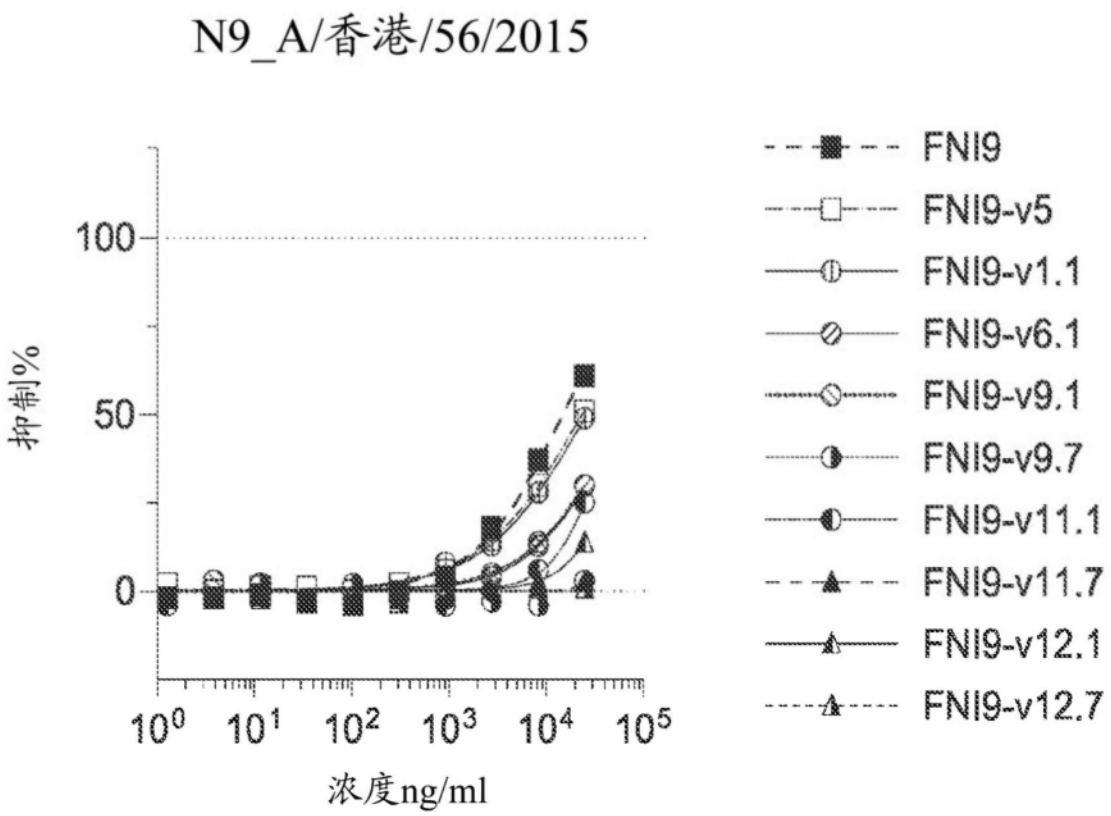

N9_A/香港/56/2015
100
50
0
抑制%
10^0 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图99G

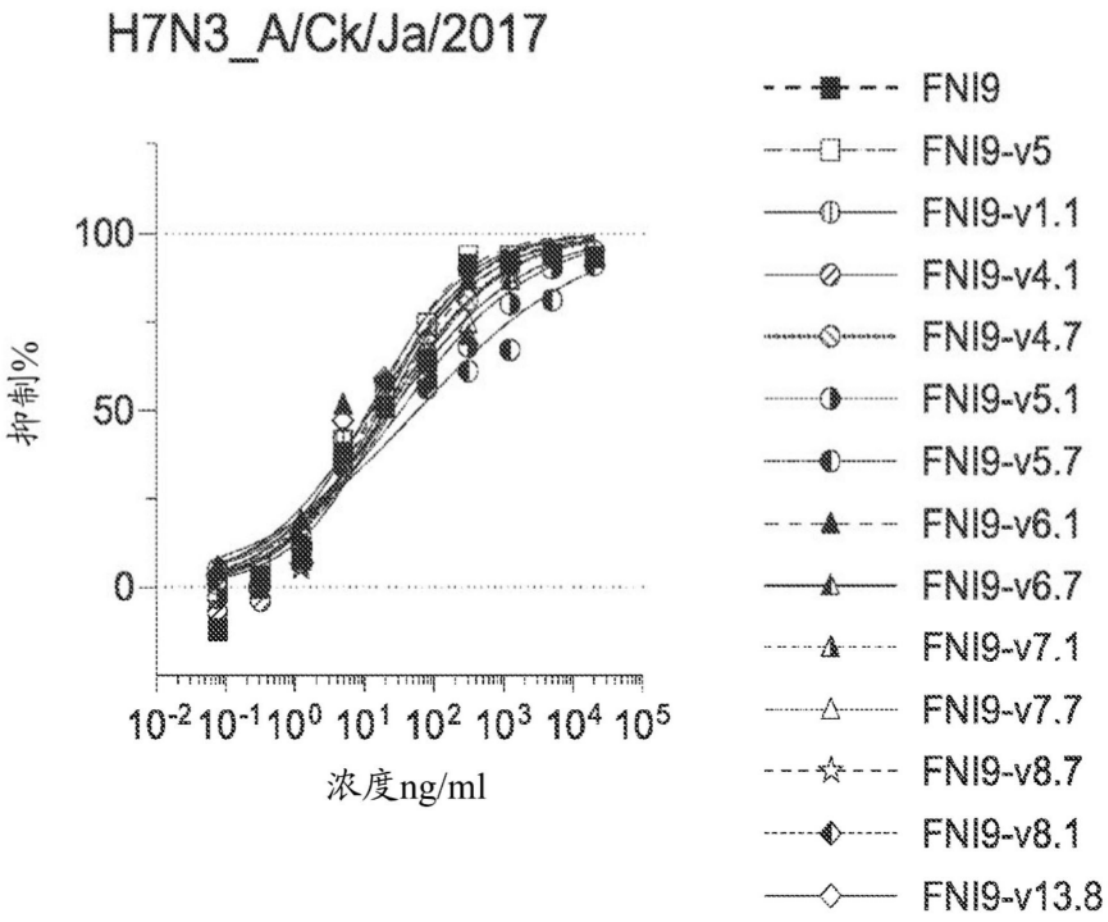

H7N3_A/Ck/Ja/2017
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100A

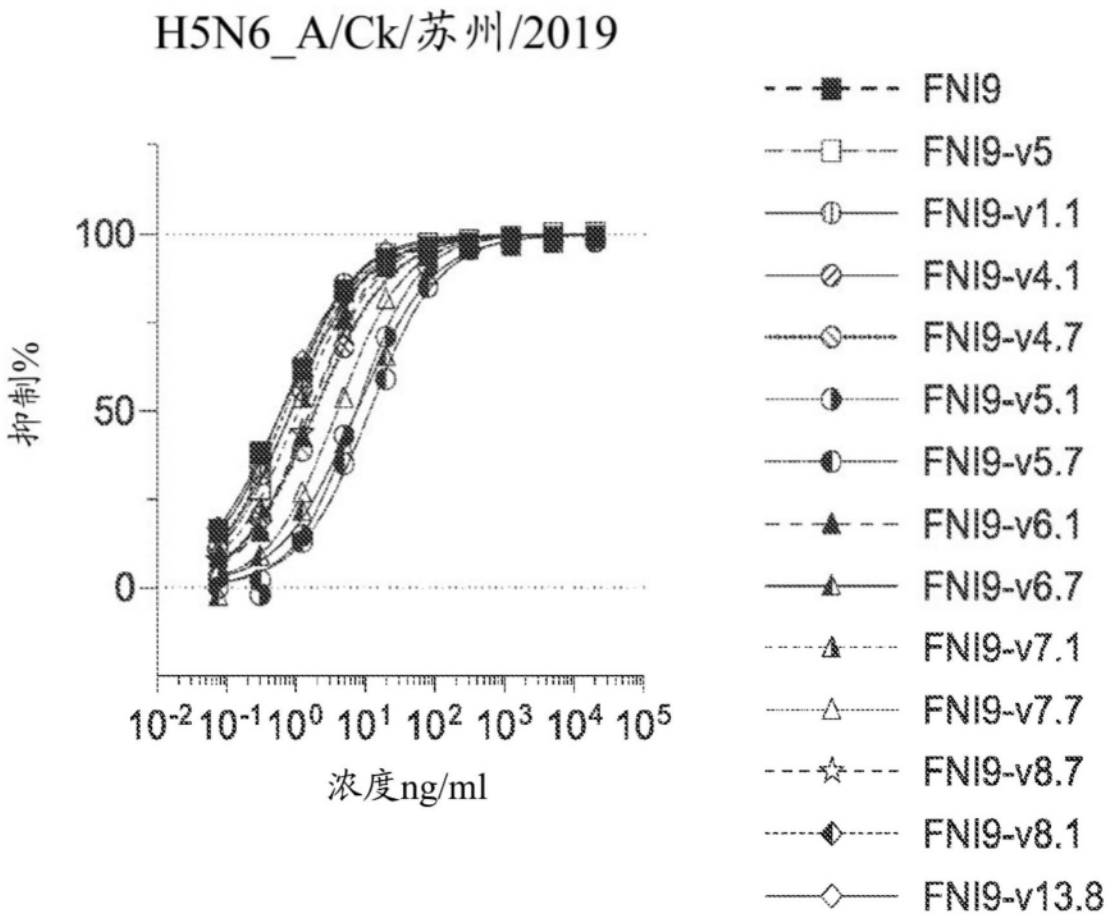

H5N6_A/Ck/苏州/2019
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100B

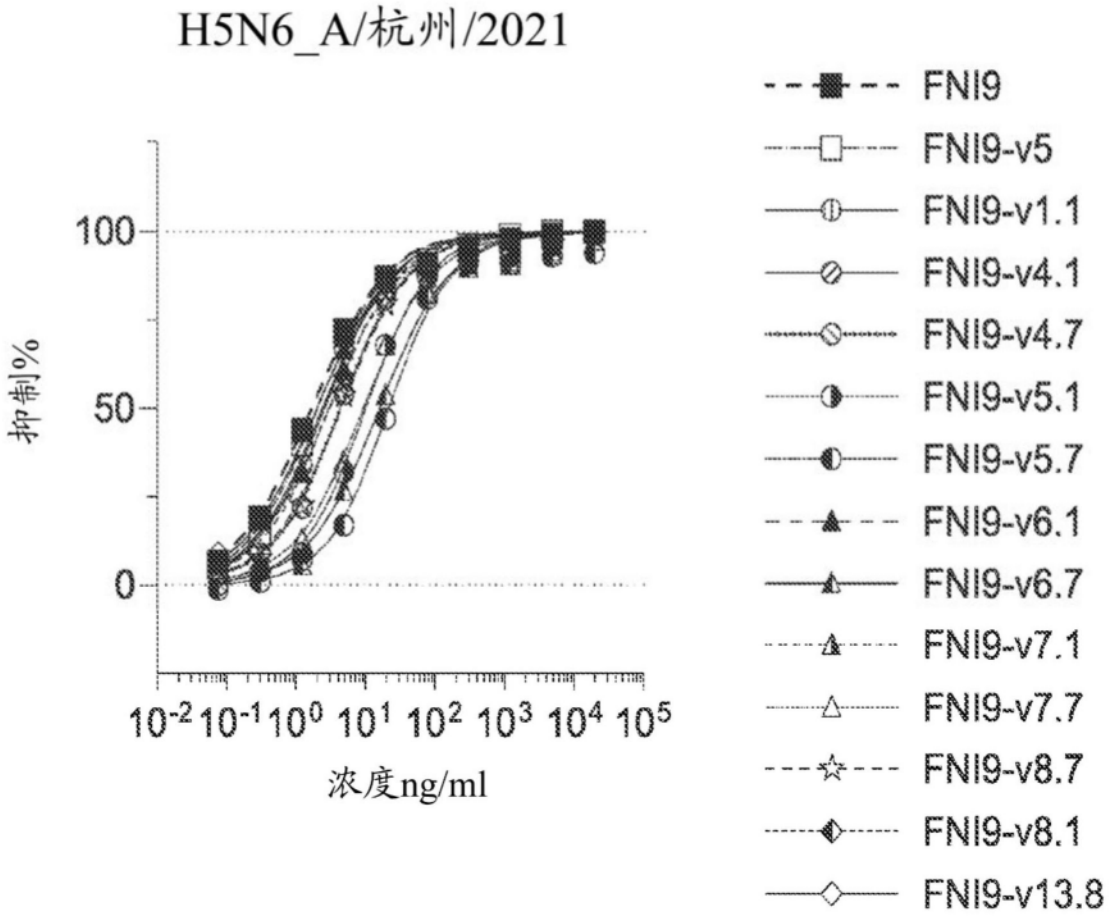

H5N6_A/杭州/2021
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100C

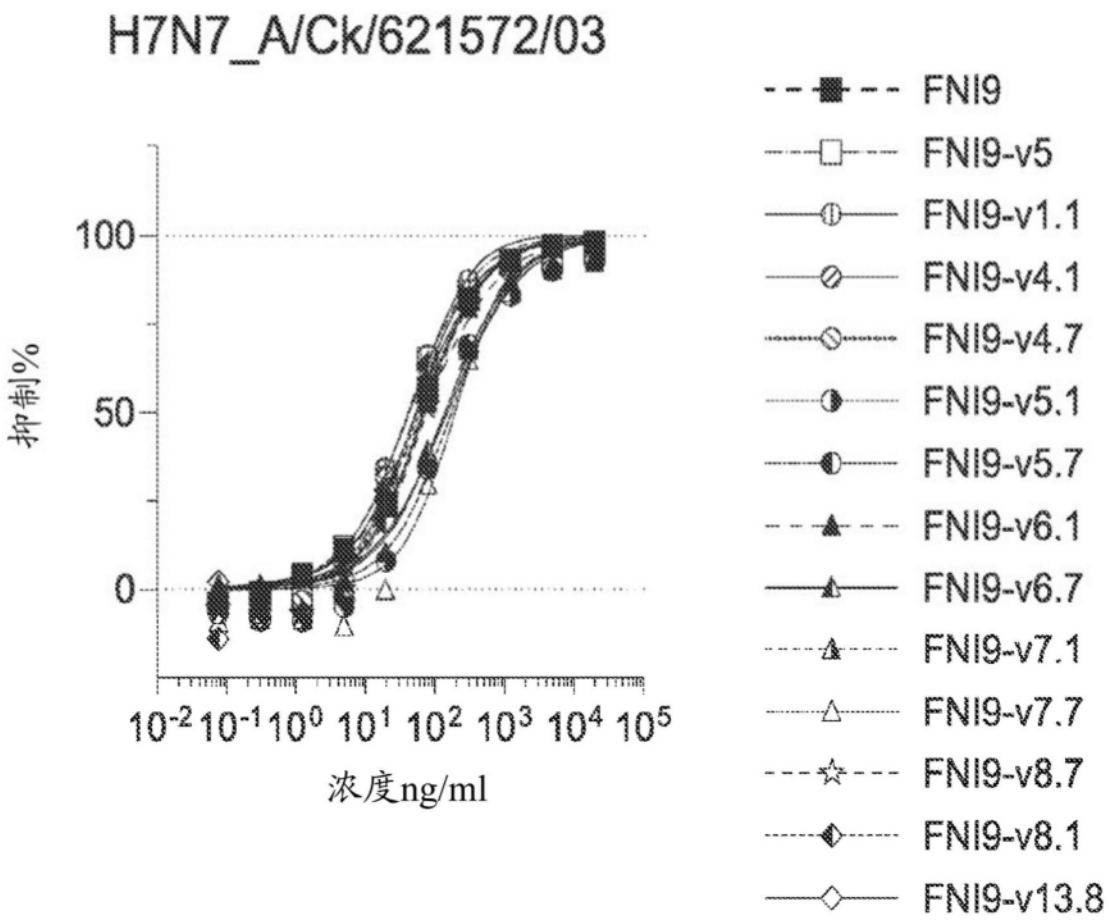

H7N7_A/Ck/621572/03
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100D

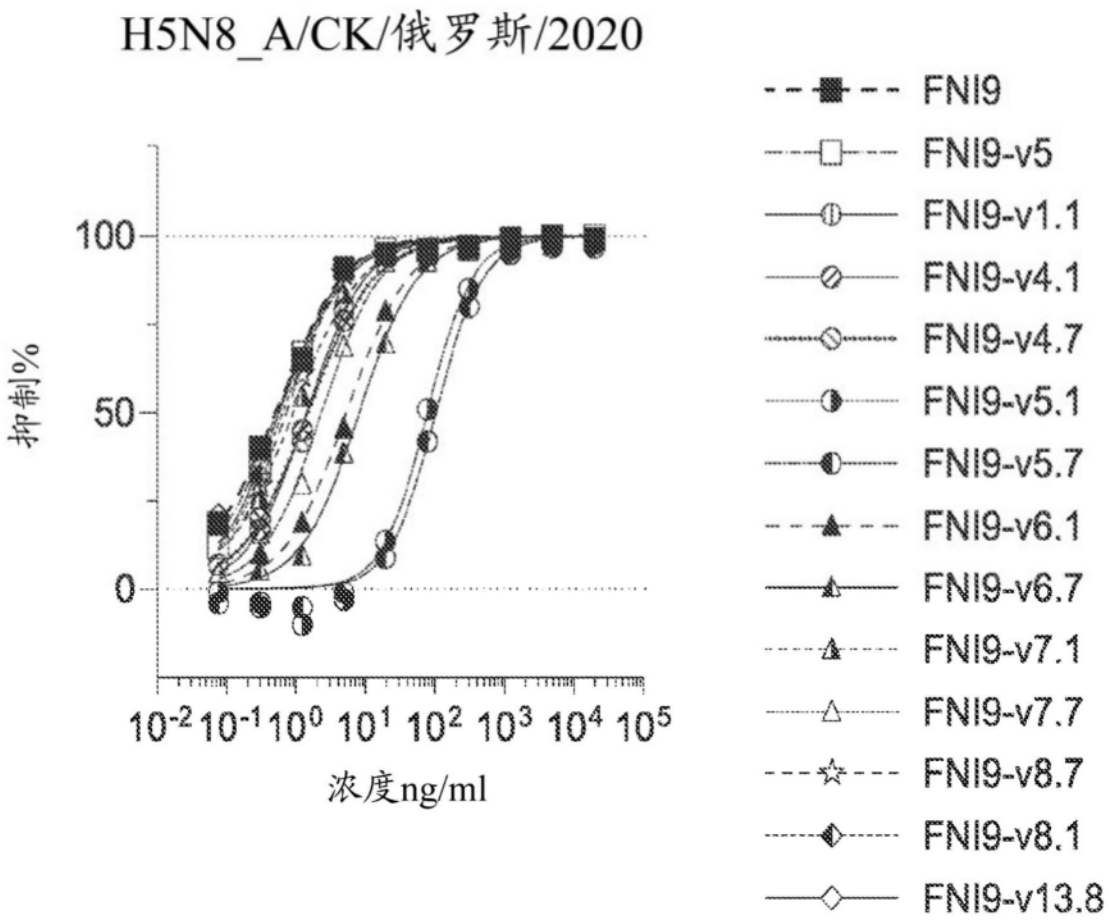

H5N8_A/CK/俄罗斯/2020
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100E

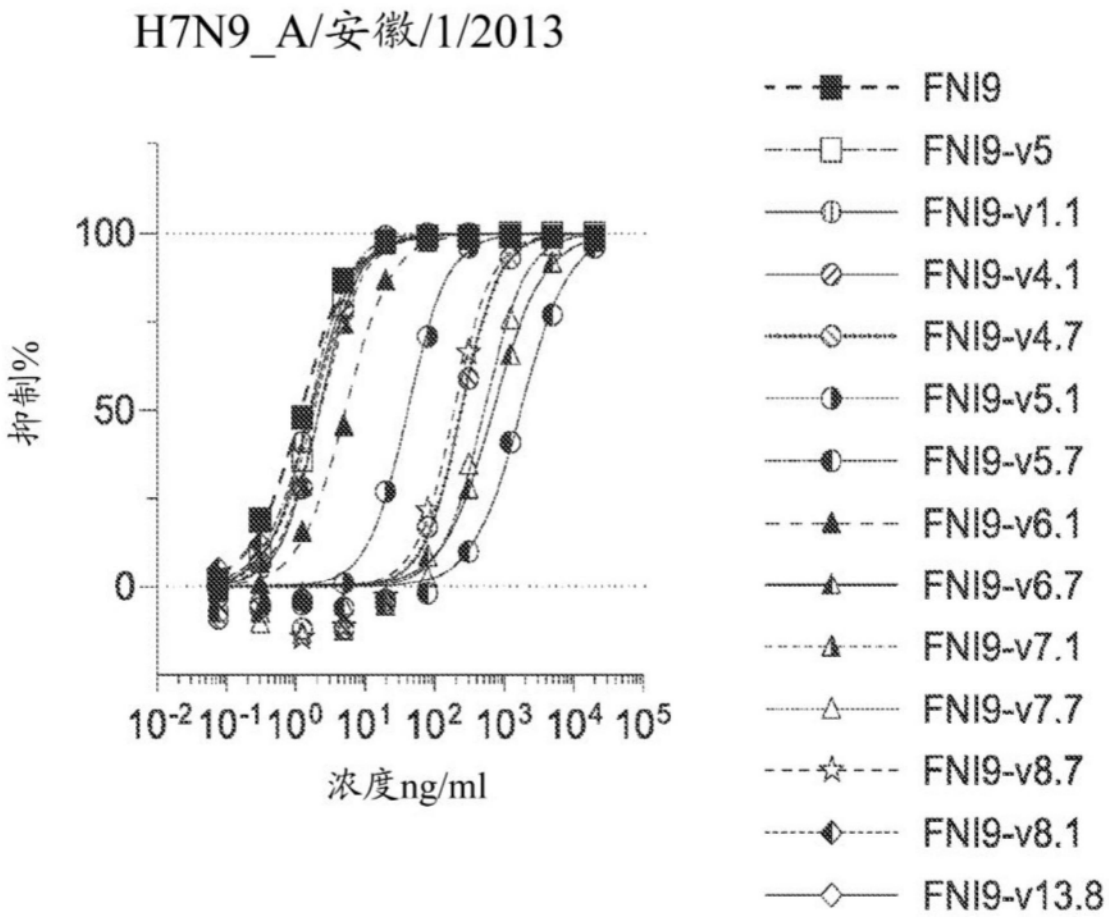

H7N9_A/安徽/1/2013
抑制%
100
50
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v4.1
FNI9-v4.7
FNI9-v5.1
FNI9-v5.7
FNI9-v6.1
FNI9-v6.7
FNI9-v7.1
FNI9-v7.7
FNI9-v8.7
FNI9-v8.1
FNI9-v13.8

图100F

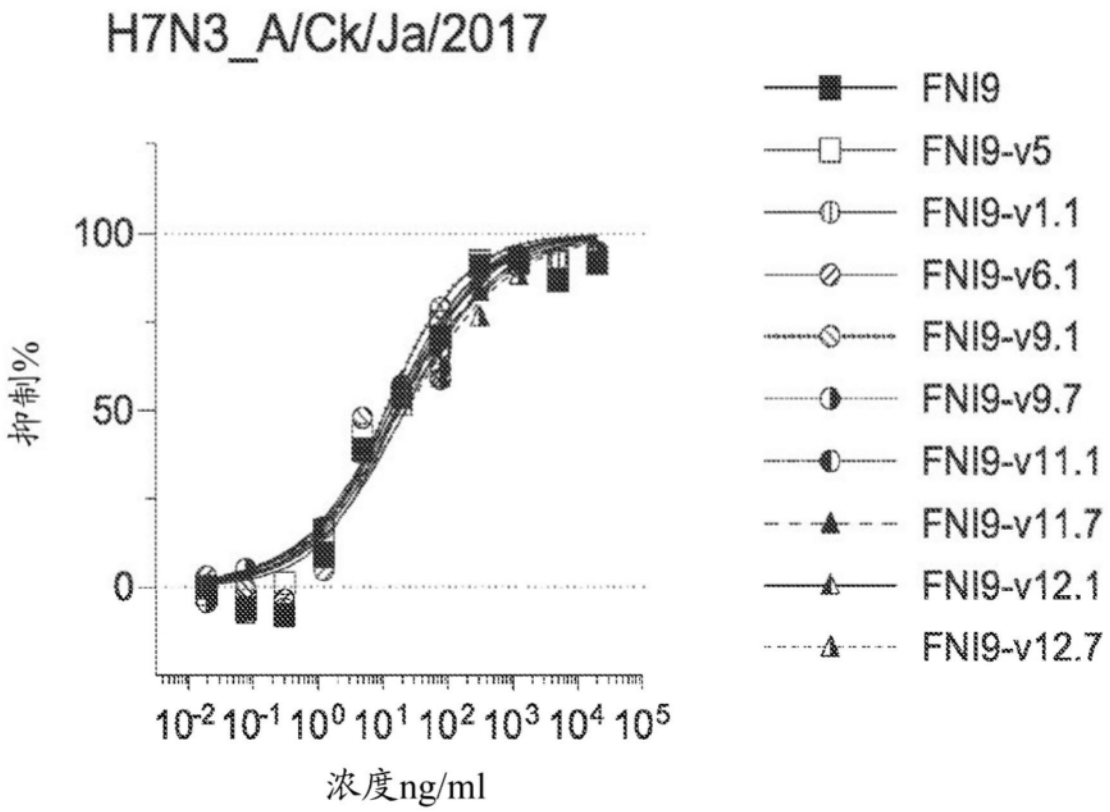

H7N3_A/Ck/Ja/2017
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml

图101A

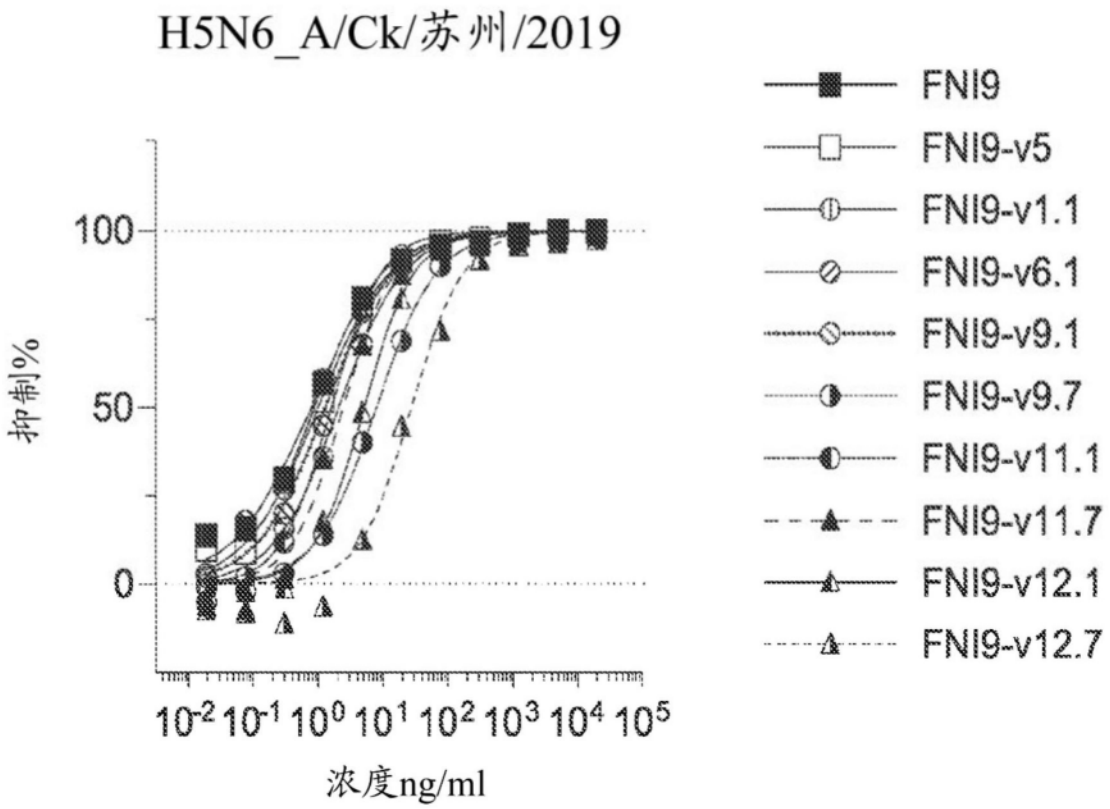

H5N6_A/Ck/苏州/2019
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml

图101B

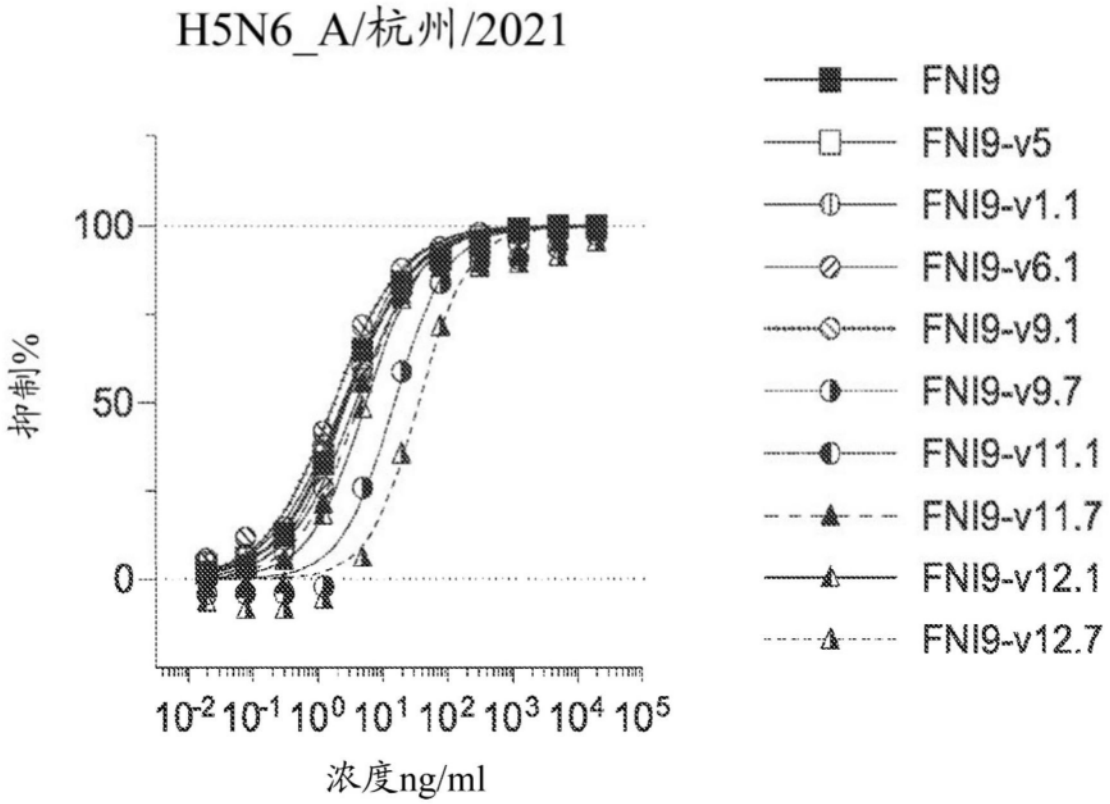

H5N6_A/杭州/2021
抑制%
100
50
0
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图101C

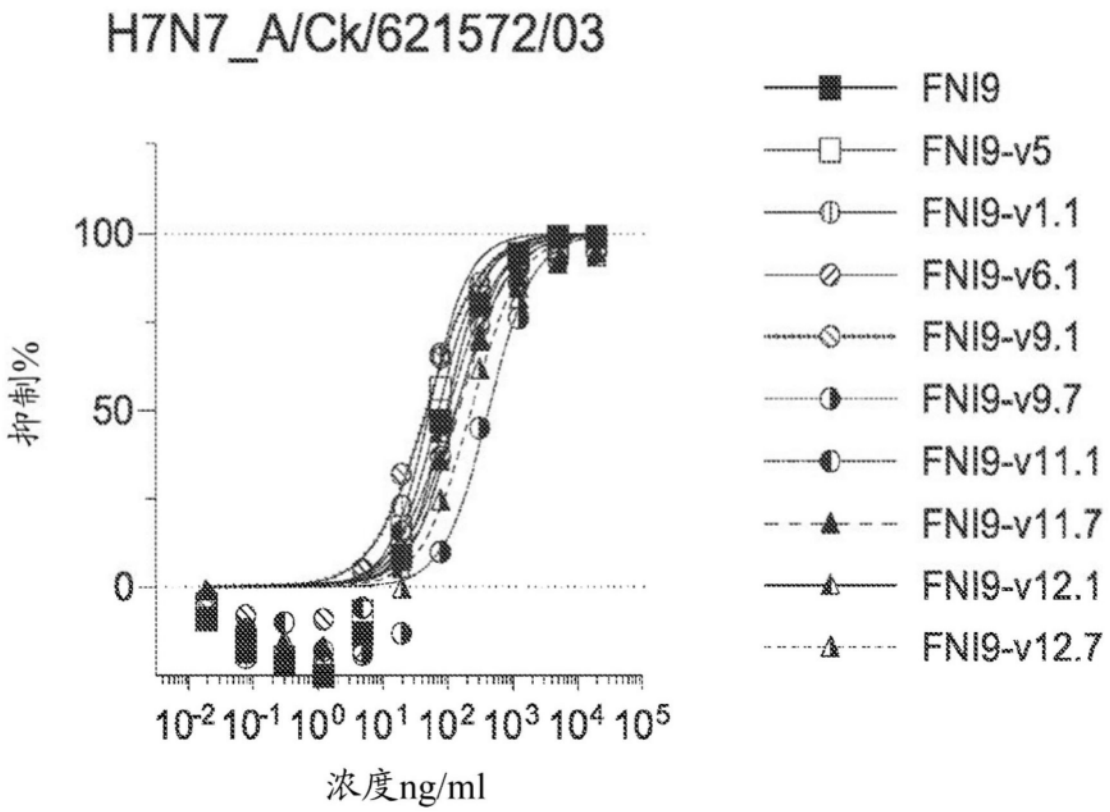

H7N7_A/Ck/621572/03
抑制%
100
50
0
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图101D

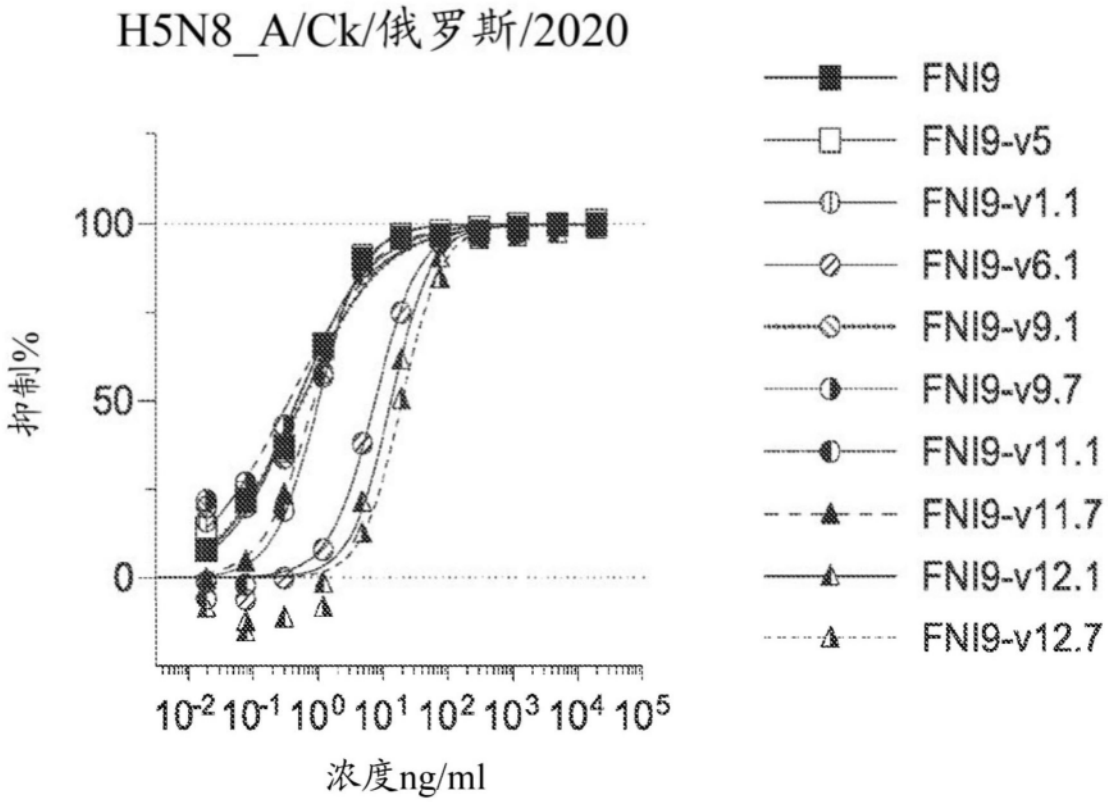

H5N8_A/Ck/俄罗斯/2020
抑制%
100
50
0
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图101E

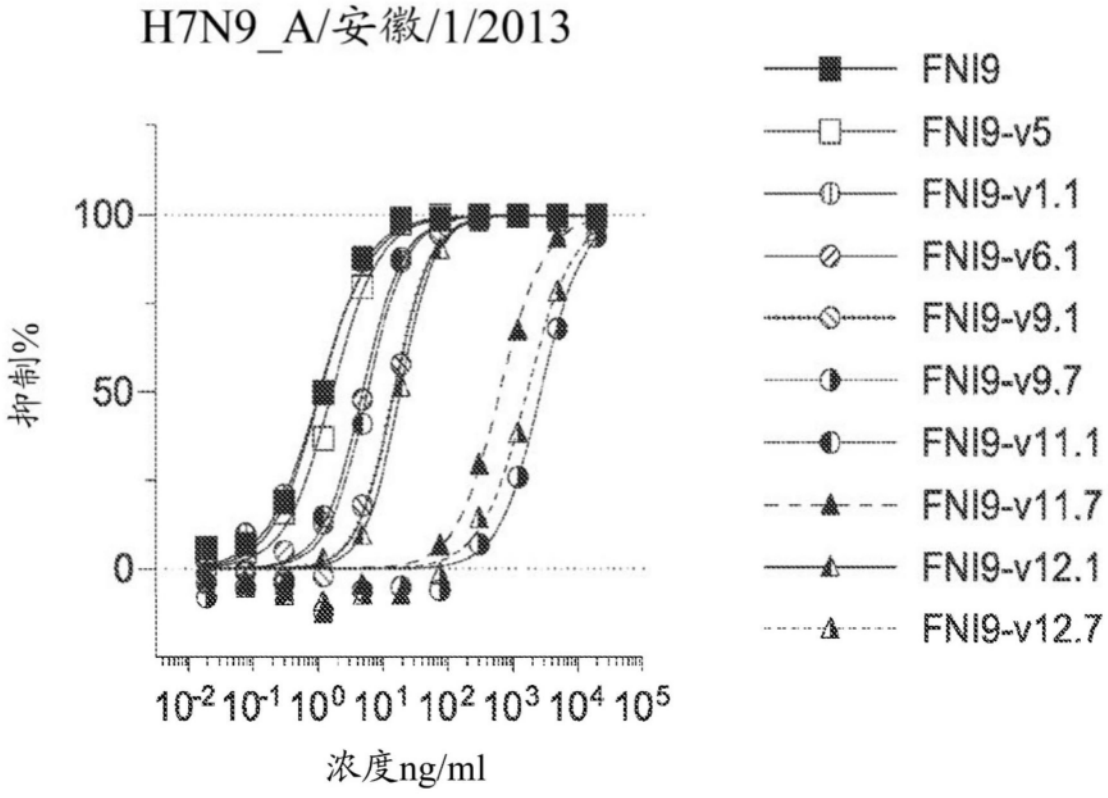

H7N9_A/安徽/1/2013
抑制%
100
50
0
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI9-v5
FNI9-v1.1
FNI9-v6.1
FNI9-v9.1
FNI9-v9.7
FNI9-v11.1
FNI9-v11.7
FNI9-v12.1
FNI9-v12.7

图101F

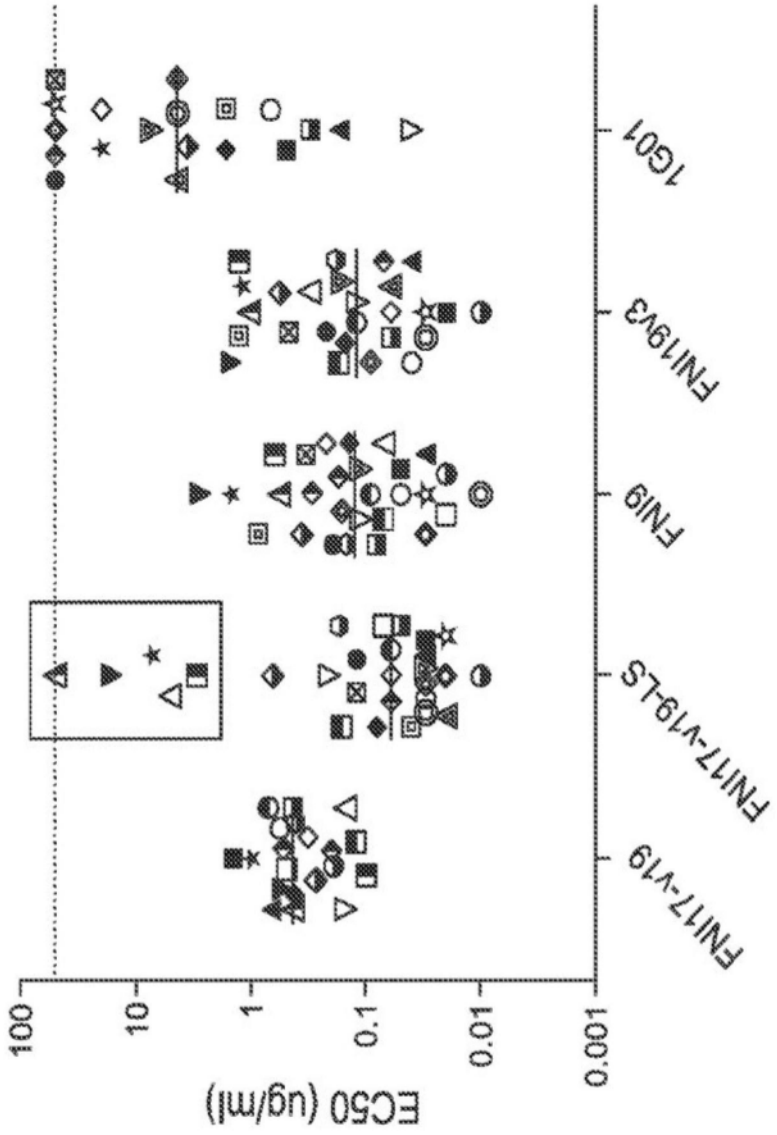

1G01
FN19V3
FN19
FN17-V19-LS
FN17-V19
EC50 (ug/ml)
100
10
1
0.1
0.01
0.001

图102A

H1N1
A/印第安纳/02/2020
A/阿拉巴马/03/2020，NA：H275
A/伊利诺伊/45/2019
A/夏威夷/66/2019
A/维多利亚/2570/2019
A/爱达荷/07/2018
A/密歇根/45/2015
A/加利福尼亚/2009
A/波多黎各/1934
H3N2
A/达尔文市/6/2021
A/塔斯马尼亚/503/2020 K*
A/柬埔寨/E0826360/2020 K*
A/南澳大利亚/34/2019 K*
A/香港/2671/2019 E*
A/堪萨斯/14/2017 K*
A/新加坡/INFMH-16-0019/2016 E*
A/香港/4801/2014 E*
A/瑞士/9715293/2013 E*
A/维多利亚/361/2011 E*
A/香港/1968 R*
聚糖245
IBV-山形县
B/普吉岛/3072/2013
B/马萨诸塞/2/2012
IBV-维多利亚
B/奥地利/1359417/2021
B/华盛顿/02/2019
B/密苏里/12/2018 NA：D197E
B/北卡罗来纳/25/2018
B/科罗拉多/6/2017
B/老挝/0654/2016，NA：134N
B/老挝/0080/2016，维多利亚

图102B

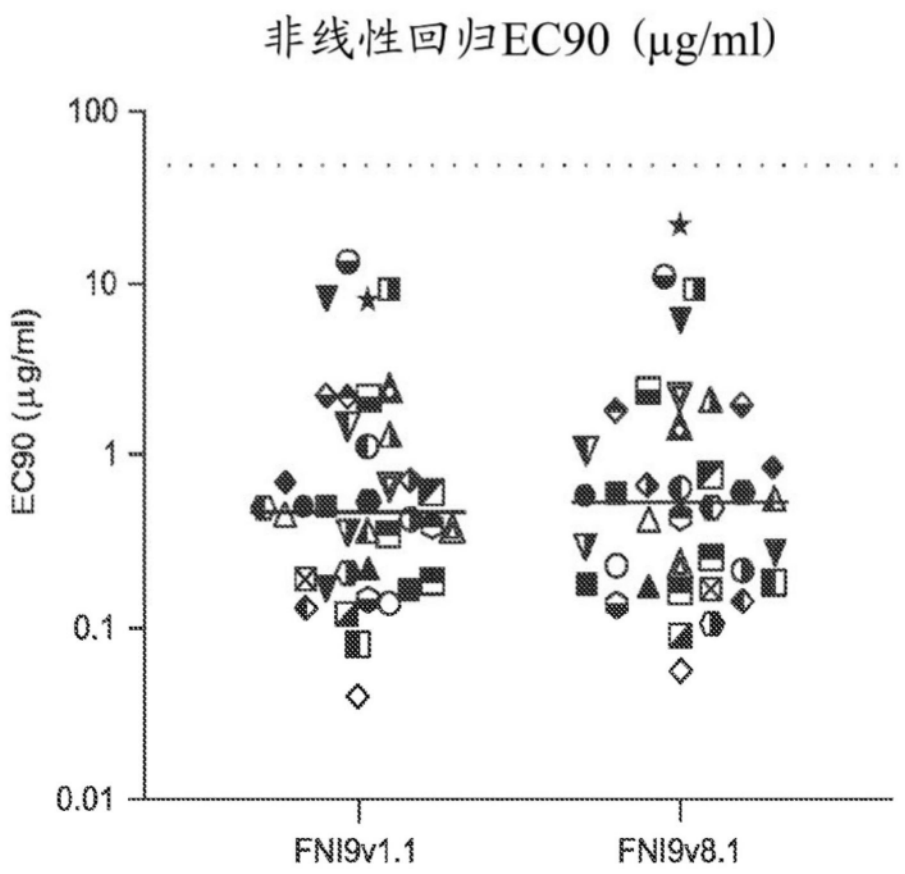


图103A


A/印第安纳/02/2020
A/阿拉巴马/03/2020，NA：H275
A/伊利诺伊/45/2019
A/夏威夷/66/2019
A/维多利亚/2570/2019
A/爱达荷/07/2018
A/密歇根/45/2015
A/加利福尼亚/07/2009
A/波多黎各/1934
A/达尔文市/6/2021
A/密歇根/173/2020
A/柬埔寨/E0826360/2020
A/塔斯马尼亚/503/2020
A/南澳大利亚/34/2019
A/香港/2671/2019
A/堪萨斯/14/2017
A/瑞士/8060/2017
A/新加坡/INFMH-16-0019/2016
A/香港/4801/2014
A/华盛顿/33/2014，NA：E119V
A/瑞士/9715293/2013
A/维多利亚/361/2011
A/德克萨斯/12/2017，NA：E119V
A/香港/1968
B/奥地利/1359417/2021
B/华盛顿/02/2019
B/布里斯班/35/2018
B/北卡罗来纳/25/2018
B/密苏里/12/2018 NA：D197E
B/科罗拉多/6/2017
B/老挝/0654/2016，NA:
B/老挝/0080/2016
B/布里斯班/60/2008
B/纽约/1056/2003
B/普吉岛/3073/2013
B/马萨诸塞/2/2012
B/德克萨斯/6/2011
B/Lee/1940

图103B

毒株子集	中值EC_{90}（μg/mL）	$taEC_{90}$：25%分布（μg/mL）	$taEC_{90}$：5%分布（μg/mL）
H1N1、B组和H3N2（没有聚糖-245）	0.60	2.40	12.0
H3N2（具有聚糖-245）	2.30	9.2	46.0

$taEC_{90}$=组织调整EC_{90}

图104

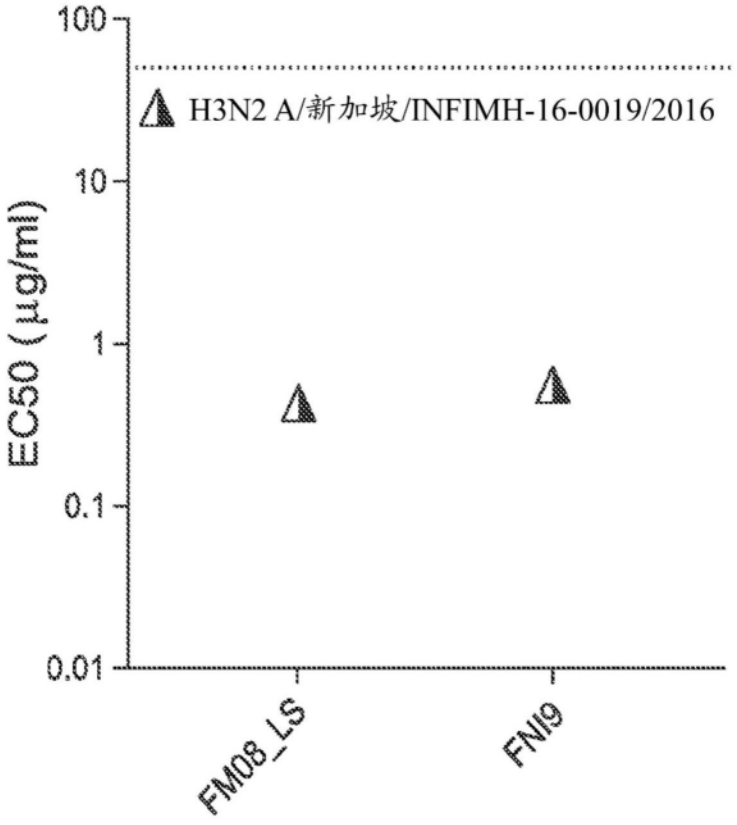

100
10
1
0.1
0.01
EC50 (μg/ml)
H3N2 A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016
FM08_LS
FNI9

图105

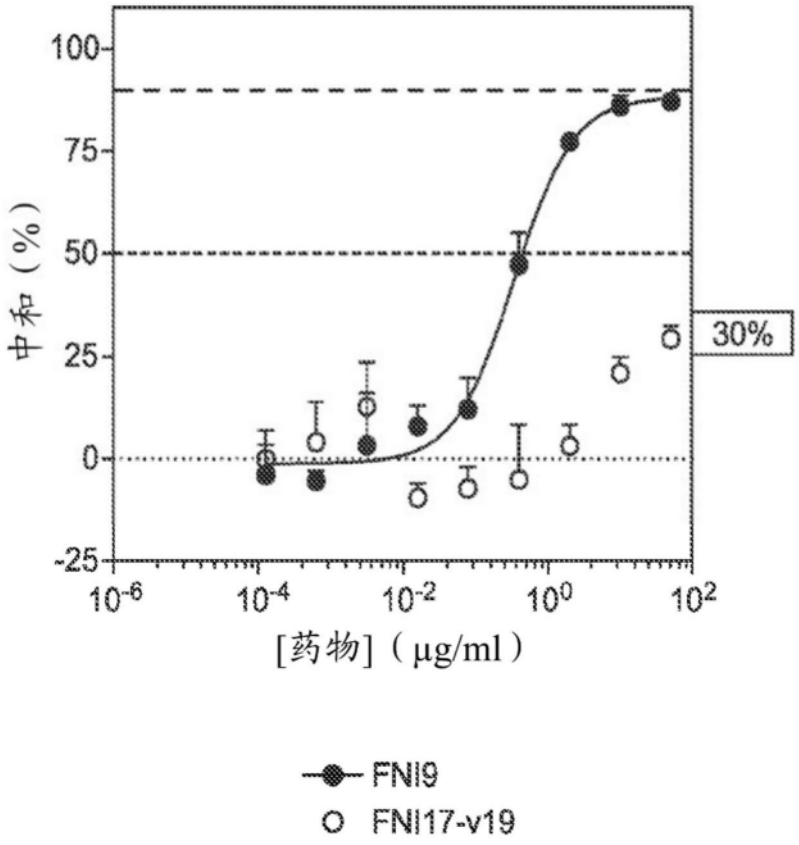


图106

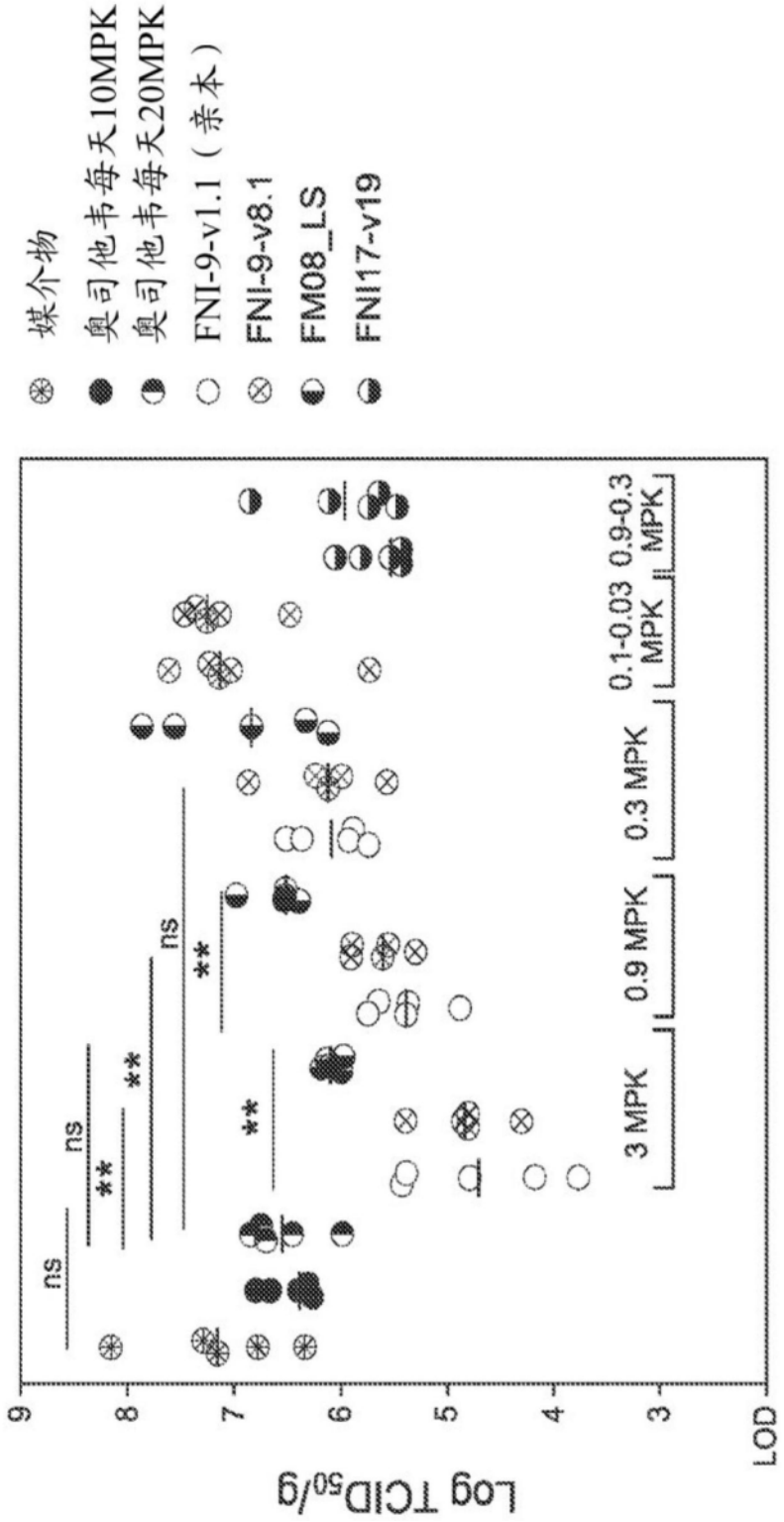

媒介物
奥司他韦每天10MPK
奥司他韦每天20MPK
FNI-9-v1.1（亲本）
FNI-9-v8.1
FM08_LS
FNI17-v19
Log TCID50/g
9
8
7
6
5
4
3
LOD
ns
ns
**
**
ns
**
**
3 MPK
0.9 MPK
0.3 MPK
0.1-0.03 MPK
0.9-0.3 MPK

图107

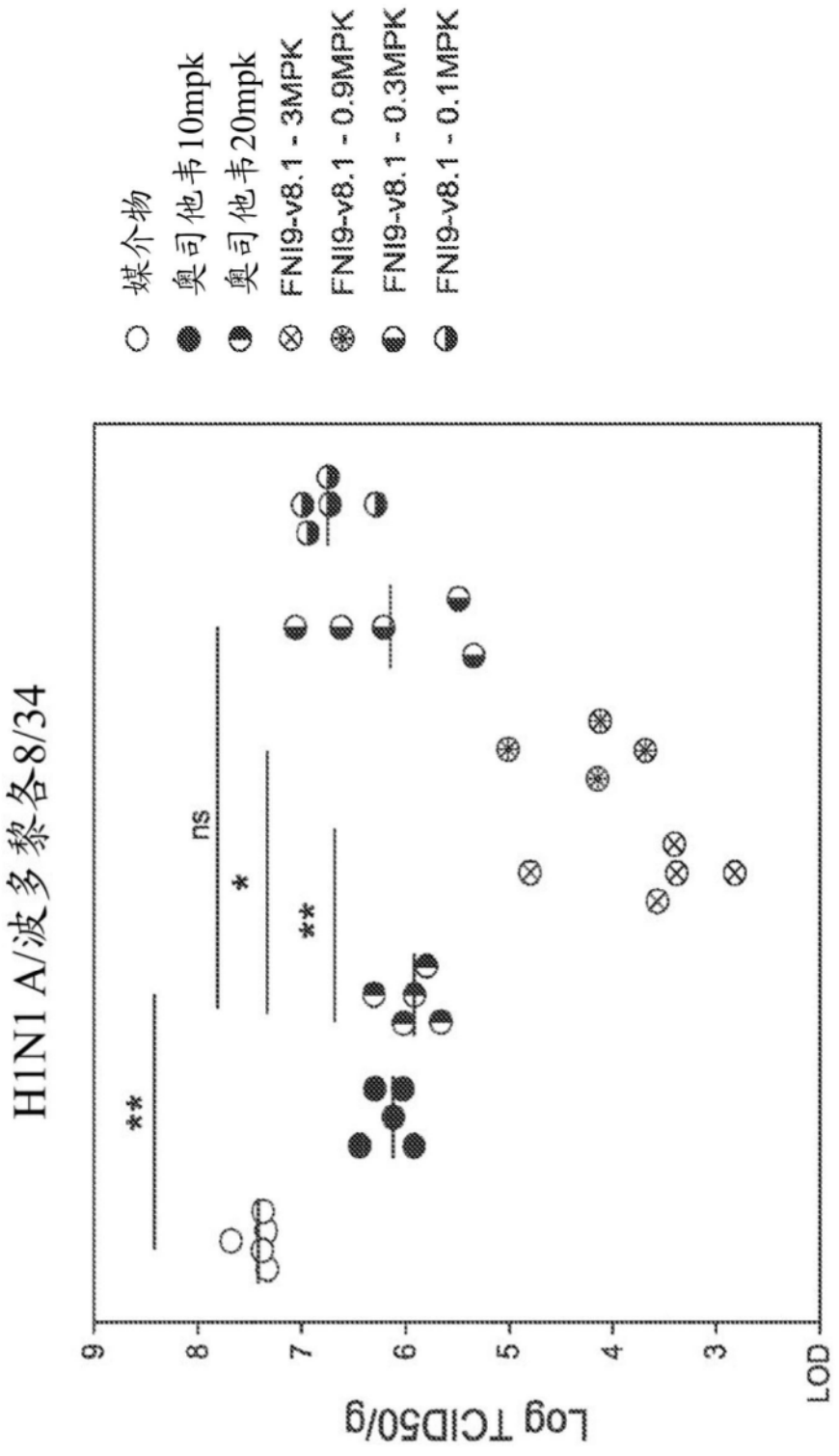

媒介物
奥司他韦10mpk
奥司他韦20mpk
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK
H1N1 A/波多黎各8/34
**
ns
*
**
Log TCID50/g
9
8
7
6
5
4
3
LOD

图108A

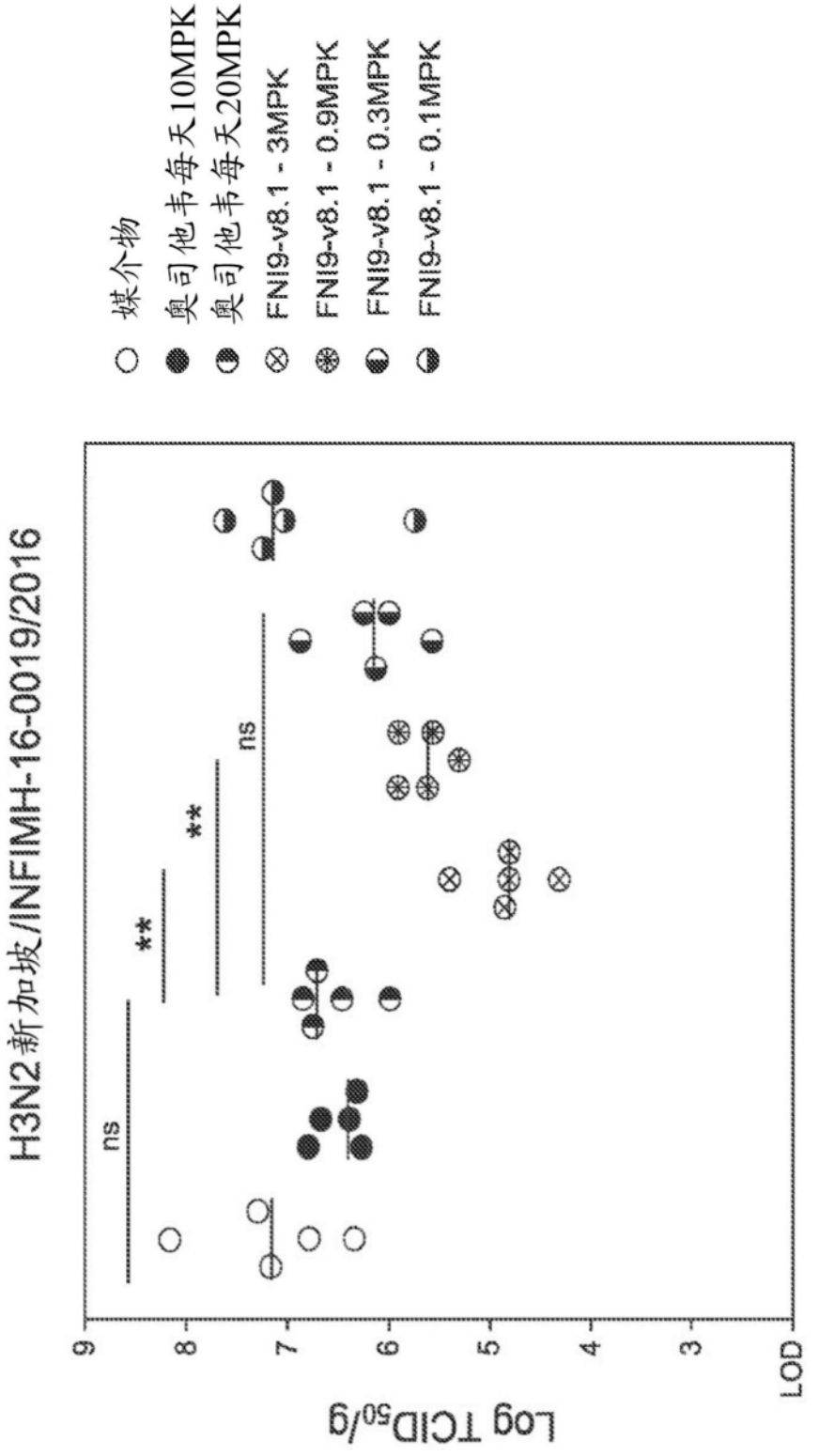

媒介物
奥司他韦每天10MPK
奥司他韦每天20MPK
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK
H3N2新加坡/INFIMH-16-0019/2016
ns
**
**
ns
Log TCID50/g
9
8
7
6
5
4
3
LOD

图108B

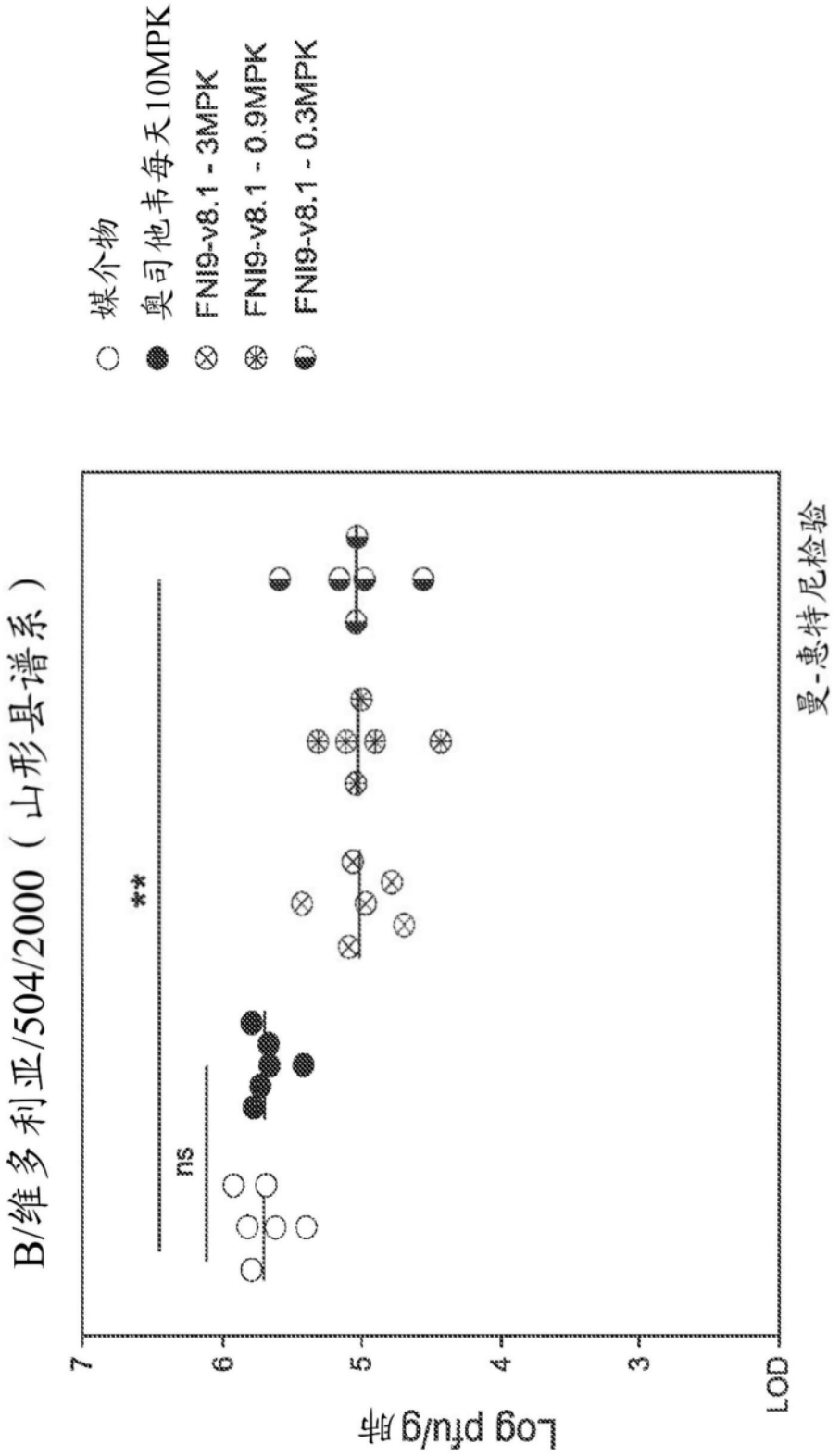

媒介物
奥司他韦每天10MPK
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
B/维多利亚/504/2000（山形县谱系）
**
ns
Log pfu/g 肺
7
6
5
4
3
LOD
曼-惠特尼检验

图108C

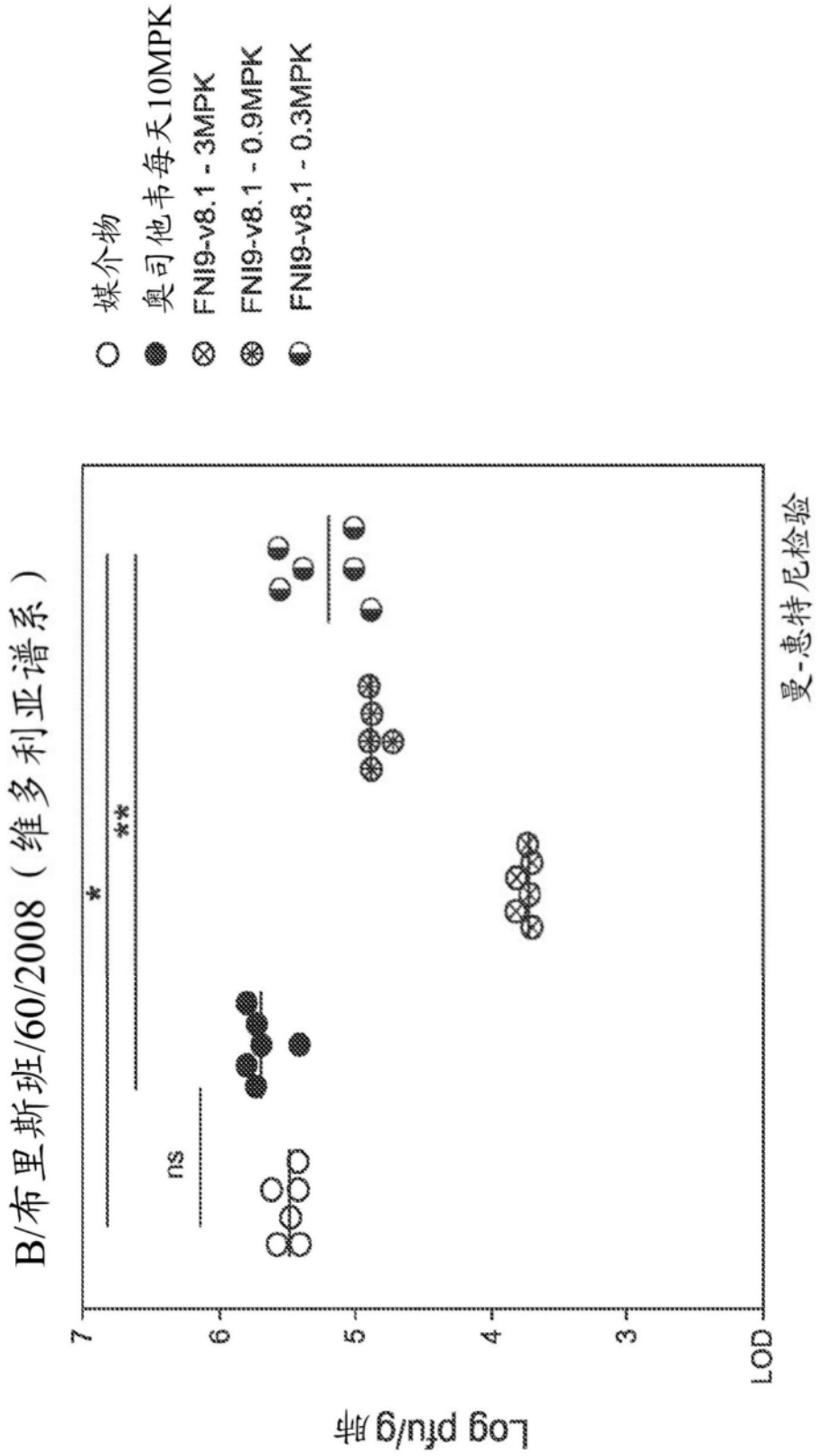

媒介物
奥司他韦每天10MPK
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
B/布里斯班/60/2008（维多利亚谱系）
ns
*
**
Log pfu/g 肺
7
6
5
4
3
LOD
曼-惠特尼检验

图108D

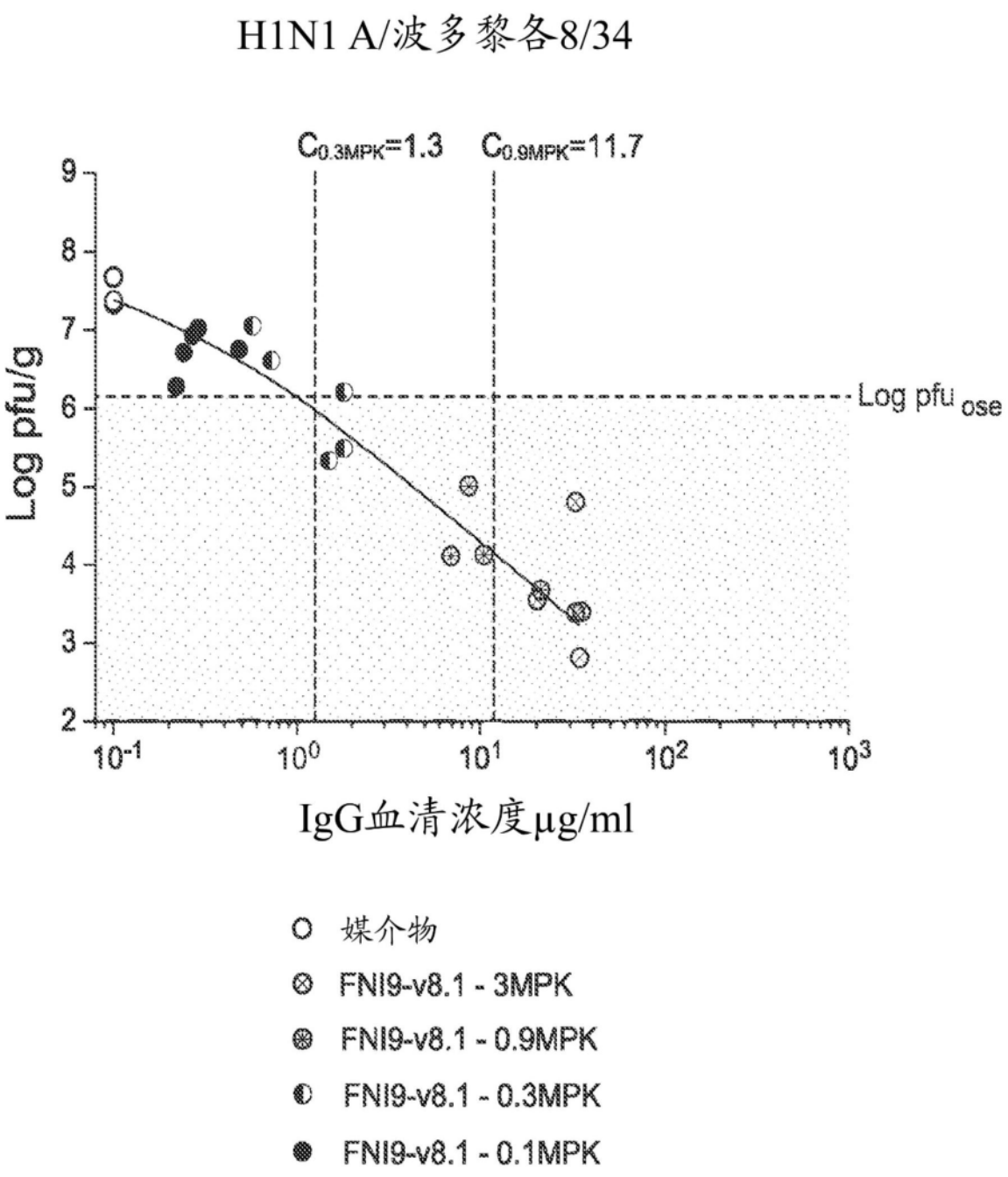

H1N1 A/波多黎各8/34
C0.3MPK=1.3
C0.9MPK=11.7
Log pfu/g
Log pfu ose
9
8
7
6
5
4
3
2
10-1
100
101
102
103
IgG血清浓度μg/ml
媒介物
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图109A

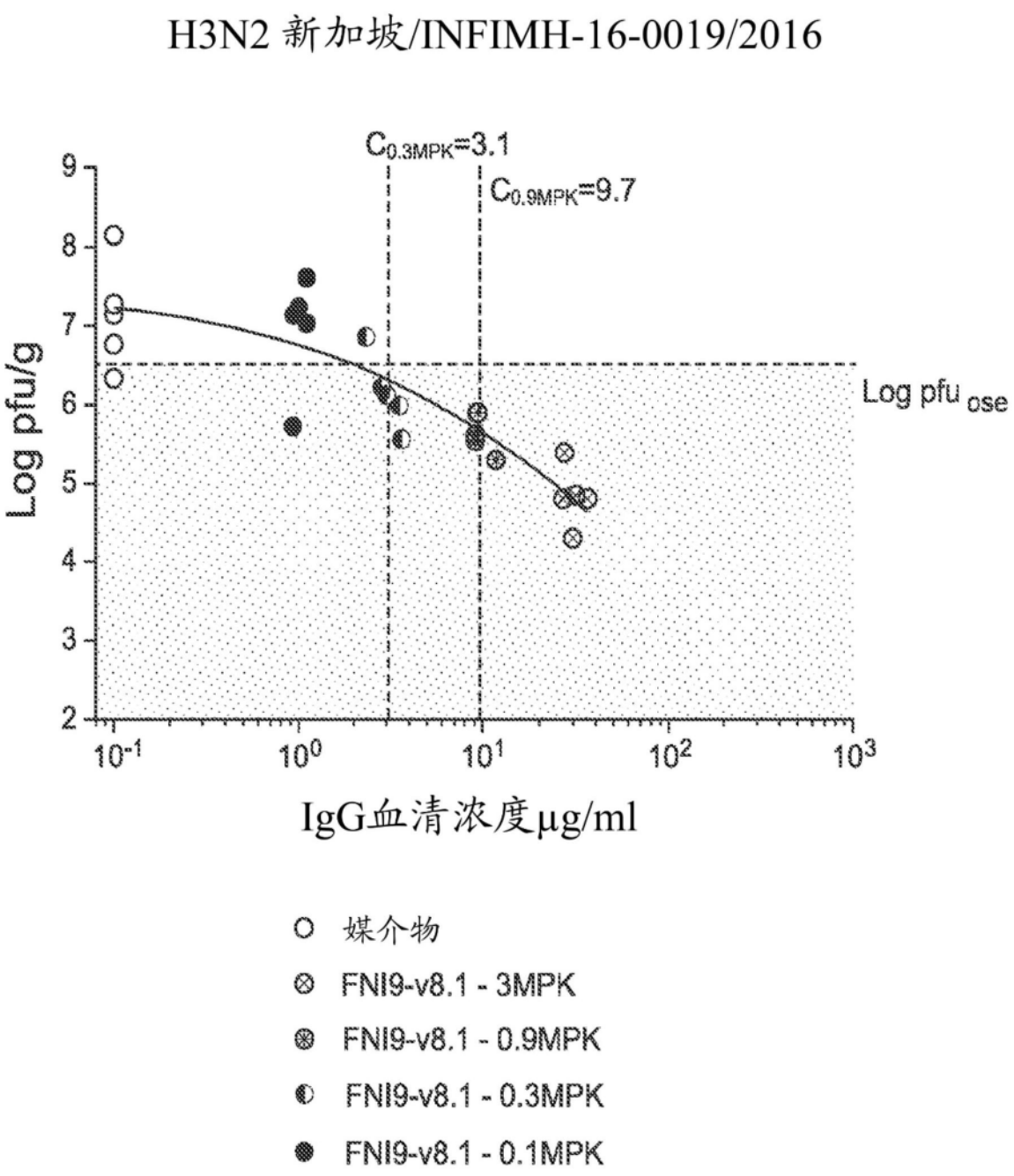

H3N2 新加坡/INFIMH-16-0019/2016
C0.3MPK=3.1
C0.9MPK=9.7
Log pfu/g
Log pfu ose
9
8
7
6
5
4
3
2
10-1
100
101
102
103
IgG血清浓度μg/ml
媒介物
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图109B

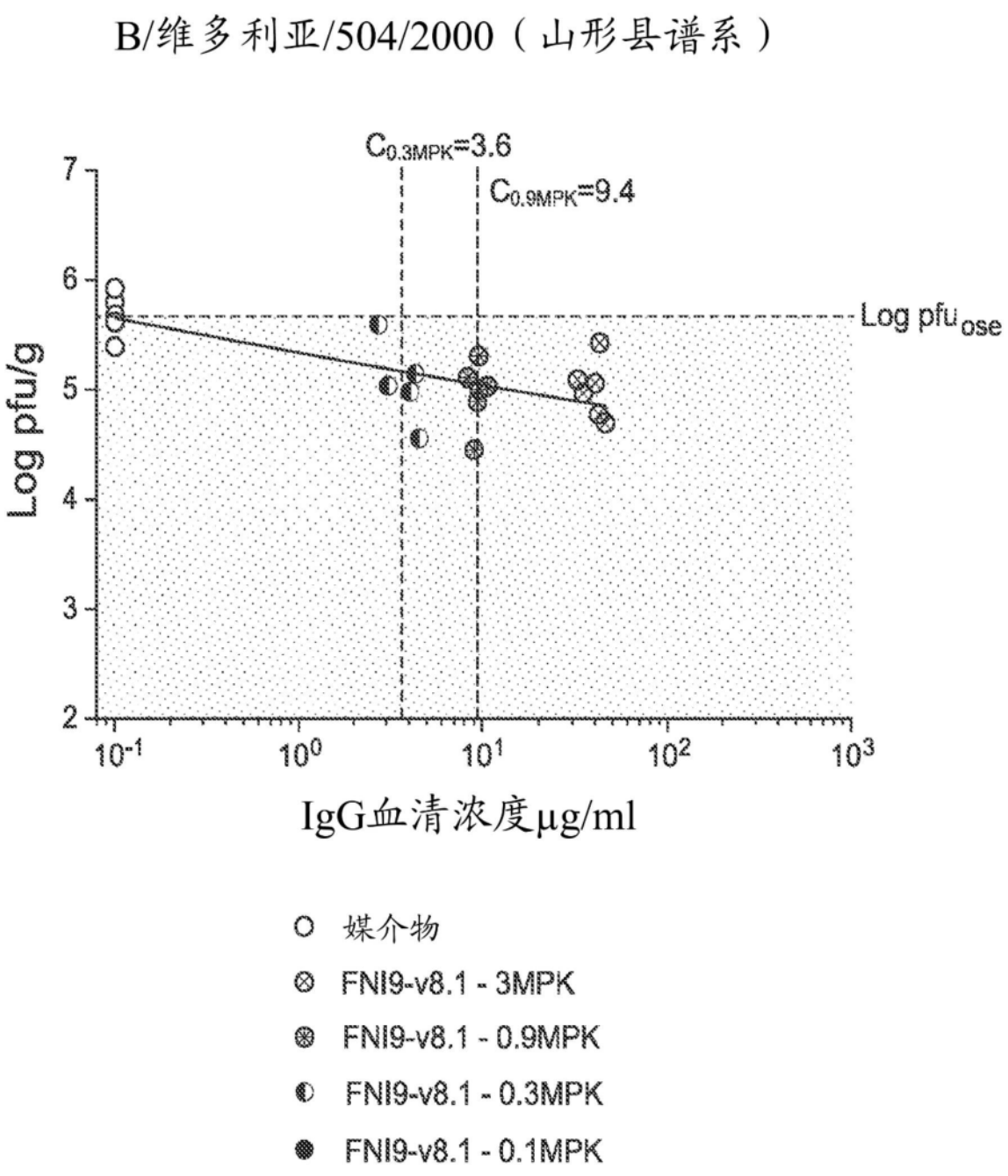

B/维多利亚/504/2000（山形县谱系）
C0.3MPK=3.6
C0.9MPK=9.4
Log pfuose
Log pfu/g
7
6
5
4
3
2
10-1
100
101
102
103
IgG血清浓度μg/ml
媒介物
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图109C

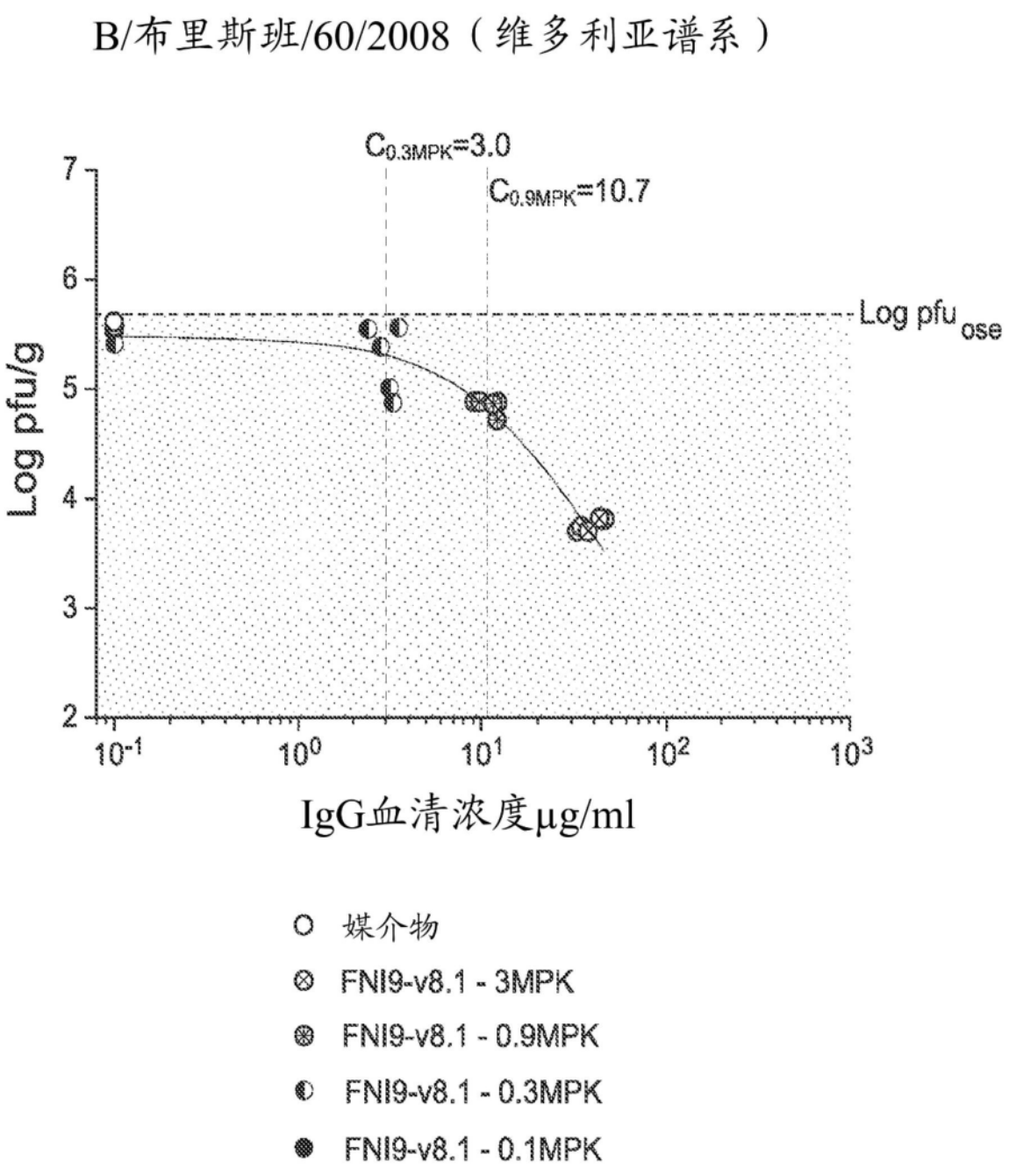

B/布里斯班/60/2008（维多利亚谱系）
$C_{0.3MPK}$=3.0
$C_{0.9MPK}$=10.7
Log pfu ose
Log pfu/g
7
6
5
4
3
2
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
IgG血清浓度μg/ml
媒介物
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图109D

毒株ID	组	亚型	聚糖-245变体	FN19v8.1 EC90	EC_{90}单位
A/加利福尼亚/07/2009	A	H1N1	N	0.513	mcg/mL
A/夏威夷/66/2019	A	H1N1	N	0.182	mcg/mL
A/爱达荷/07/2018	A	H1N1	N	0.175	mcg/mL
A/印第安纳/02/2020	A	H1N1	N	0.852	mcg/mL
A/密歇根/45/2015	A	H1N1	N	0.615	mcg/mL
A/波多黎各/1934	A	H1N1	N	0.137	mcg/mL
A/维多利亚/2570/2019	A	H1N1	N	0.681	mcg/mL
A/阿拉巴马/03/2020，NA：H275	A	H1N1	N	0.596	mcg/mL
A/伊利诺伊/45/2019	A	H1N1	N	0.608	mcg/mL
A/香港/1968	A	H3N2	N	0.161	mcg/mL
A/香港/4801/2014	A	H3N2	N	0.295	mcg/mL
A/瑞士/9715293/2013	A	H3N2	N	0.257	mcg/mL
A/维多利亚/361/2011	A	H3N2	N	0.444	mcg/mL
A/华盛顿/33/2014，NA：E119V	A	H3N2	N	0.58	mcg/mL
A/德克萨斯/12/2007，NA：E119V	A	H3N2	N	1.834	mcg/mL
A/瑞士/8060/2017	A	H3N2	Y	0.275	mcg/mL
A/香港/2671/2019	A	H3N2	Y	0.430	mcg/mL

图110A

毒株ID	组	亚型	聚糖-245变体	FNI9v8.1 EC90	EC_{90}单位
A/堪萨斯/14/2017	A	H3N2	Y	1.978	mcg/mL
A/新加坡/INFIMH-10-0019/2016	A	H3N2	Y	2.298	mcg/mL
A/南澳大利亚/34/2019	A	H3N2	Y	2.808	mcg/mL
A/塔斯马尼亚/503/2020	A	H3N2	Y	10.88	mcg/mL
A/达尔文市/6/2021	A	H3N2	Y	9.573	mcg/mL
B/华盛顿/02/2019	B	IBV-维多利亚	N	0.232	mcg/mL
B/布里斯班/60/2008	B	IBV-维多利亚	N	2.251	mcg/mL
B/北卡罗来纳/25/2018	B	IBV-维多利亚	N	0.107	mcg/mL
B/密苏里/12/2018 NA: D197E	B	IBV-维多利亚	N	0.184	mcg/mL
B/老挝/0080/2016	B	IBV-维多利亚	N	0.12	mcg/mL
B/老挝/0654/2016, NA: 134N	B	IBV-维多利亚	N	0.051	mcg/mL
B/奥地利/1359417/2021	B	IBV-维多利亚	N	0.143	mcg/mL
B/科罗拉多/6/2017	B	IBV-维多利亚	N	1.053	mcg/mL
B/Lee/1940	B	IBV-维多利亚	N	0.214	mcg/mL
B/德克萨斯/6/2011	B	IBV-维多利亚	N	0.651	mcg/mL
B/纽约/1056/2003	B	IBV-维多利亚	N	0.239	mcg/mL
B/布里斯班/35/2018	B	IBV-维多利亚	N	0.168	mcg/mL
B/普吉岛/3073/2013	B	IBV-山形县	N	0.788	mcg/mL
B/马萨诸塞/2/2012	B	IBV-山形县	N	1.496	mcg/mL

图110B

毒株子集	中值EC_{90}	平均EC_{90}	75% EC_{90}	最大EC_{90}	最小EC_{90}
所有毒株	0.48	1.22	0.90	10.88	0.05
所有H1N1	0.60	0.48	0.62	0.85	0.14
所有H3N2	0.58	2.45	2.30	10.88	0.16
H3N2（没有聚糖-245）	0.37	0.60	0.55	1.83	0.16
H3N2（具有聚糖-245）	2.30	4.03	6.19	10.88	0.28
B组	0.22	0.55	0.75	2.25	0.05

图111

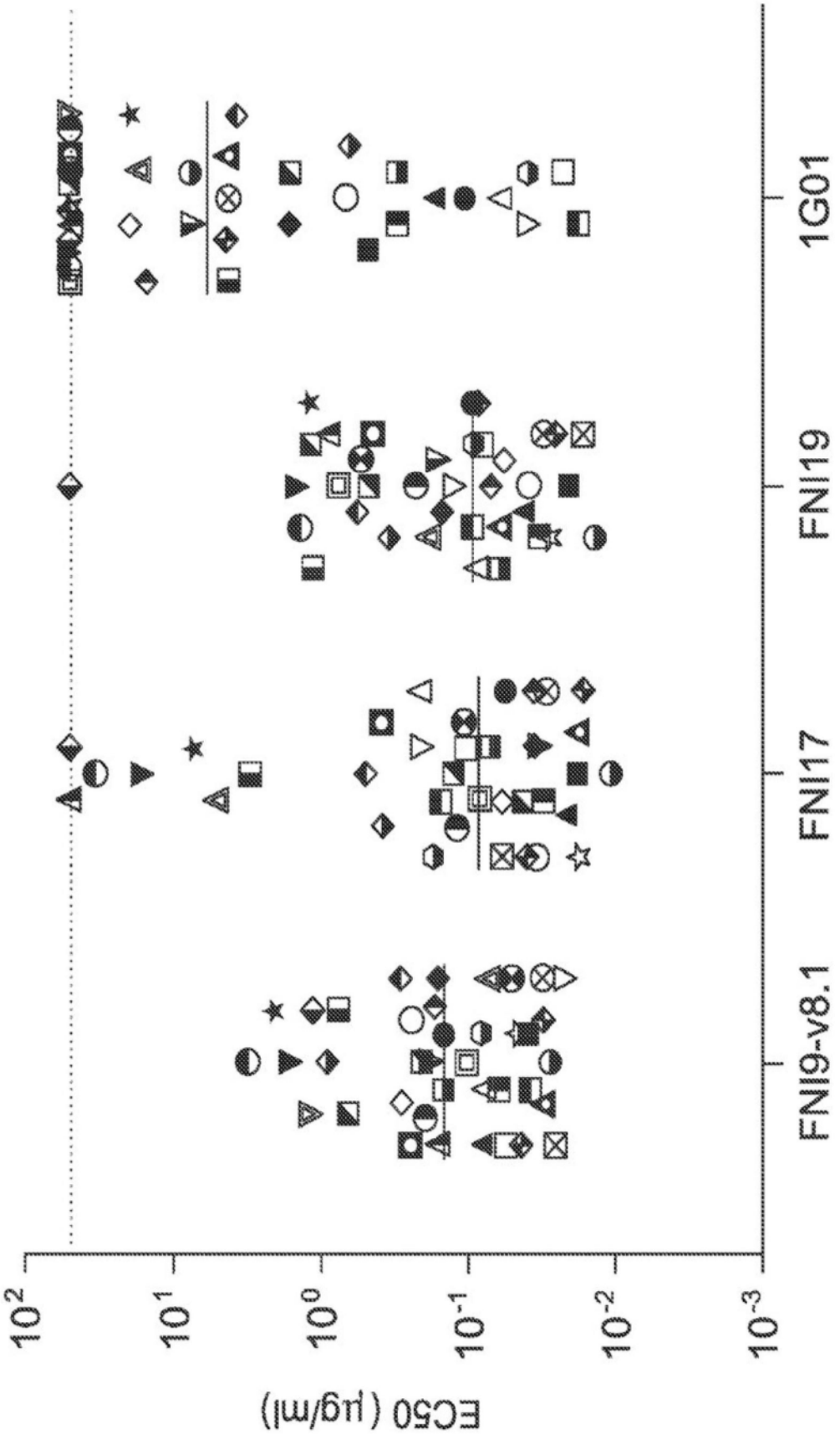


图112A

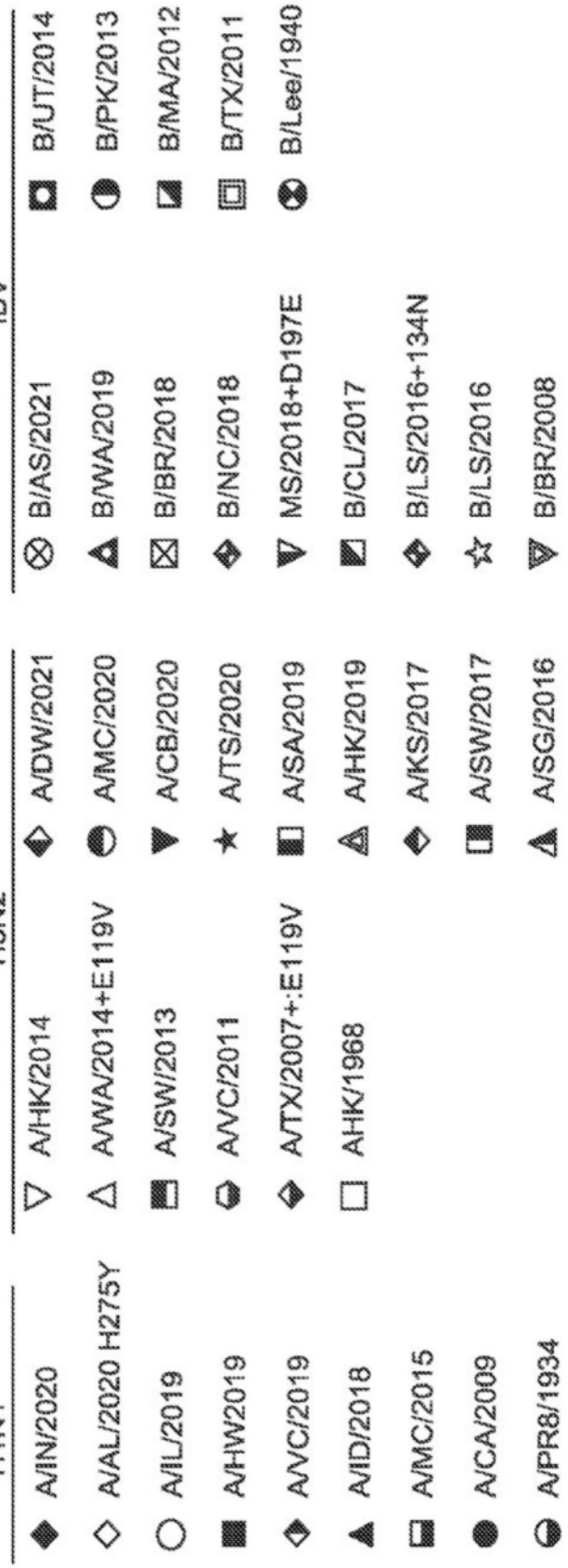

H1N1
A/IN/2020
A/AL/2020 H275Y
A/IL/2019
A/HW/2019
A/VC/2019
A/ID/2018
A/MC/2015
A/CA/2009
A/PR8/1934
H3N2
A/HK/2014
A/WA/2014+E119V
A/SW/2013
A/VC/2011
A/TX/2007+:E119V
AHK/1968
IBV
B/AS/2021
B/WA/2019
B/BR/2018
B/NC/2018
MS/2018+D197E
B/CL/2017
B/LS/2016+134N
B/LS/2016
B/BR/2008
A/DW/2021
A/MC/2020
A/CB/2020
A/TS/2020
A/SA/2019
A/HK/2019
A/KS/2017
A/SW/2017
A/SG/2016
B/UT/2014
B/PK/2013
B/MA/2012
B/TX/2011
B/Lee/1940

图112B

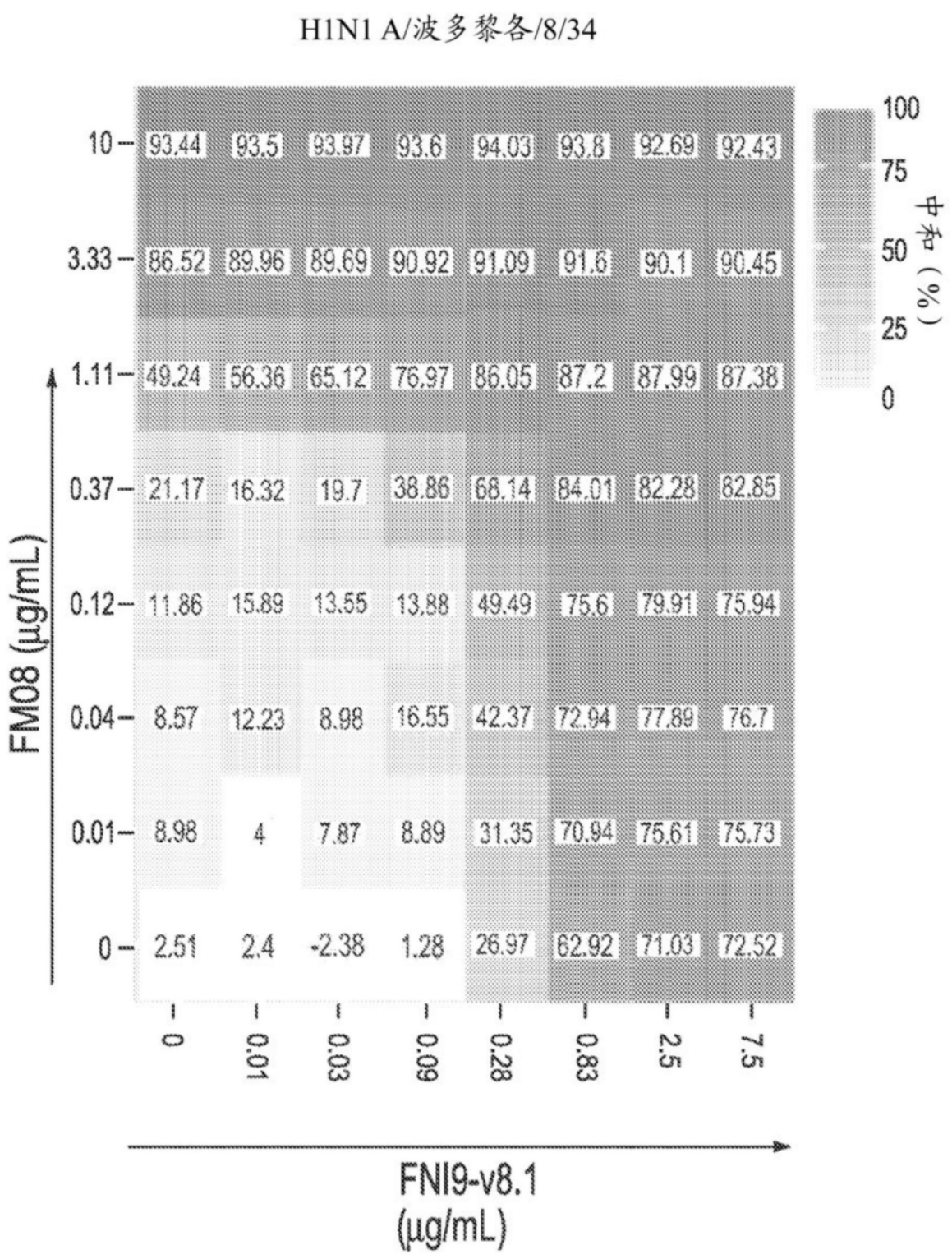

H1N1 A/波多黎各/8/34
10
3.33
1.11
0.37
0.12
0.04
0.01
0
93.44 93.5 93.97 93.6 94.03 93.8 92.69 92.43
86.52 89.96 89.69 90.92 91.09 91.6 90.1 90.45
49.24 56.36 65.12 76.97 86.05 87.2 87.99 87.38
21.17 16.32 19.7 38.86 68.14 84.01 82.28 82.85
11.86 15.89 13.55 13.88 49.49 75.6 79.91 75.94
8.57 12.23 8.98 16.55 42.37 72.94 77.89 76.7
8.98 4 7.87 8.89 31.35 70.94 75.61 75.73
2.51 2.4 -2.38 1.28 26.97 62.92 71.03 72.52
FM08 (μg/mL)
0
0.01
0.03
0.09
0.28
0.83
2.5
7.5
FNI9-v8.1 (μg/mL)
100
75
50
25
0
中和（%）

图113A

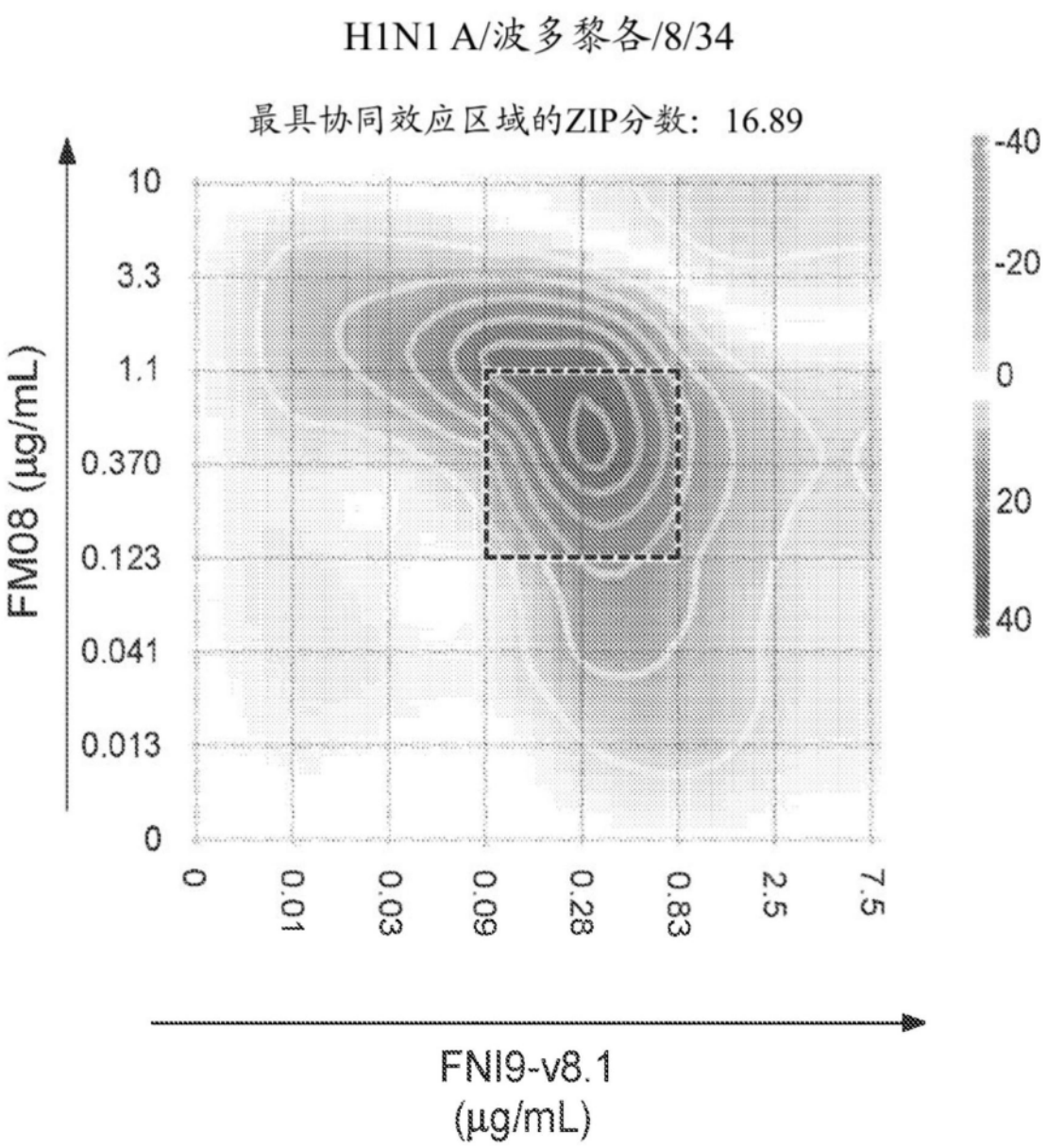

H1N1 A/波多黎各/8/34
最具协同效应区域的ZIP分数: 16.89
FM08 (µg/mL)
10
3.3
1.1
0.370
0.123
0.041
0.013
0
0
0.01
0.03
0.09
0.28
0.83
2.5
7.5
FNI9-v8.1
(µg/mL)
-40
-20
0
20
40

图113B

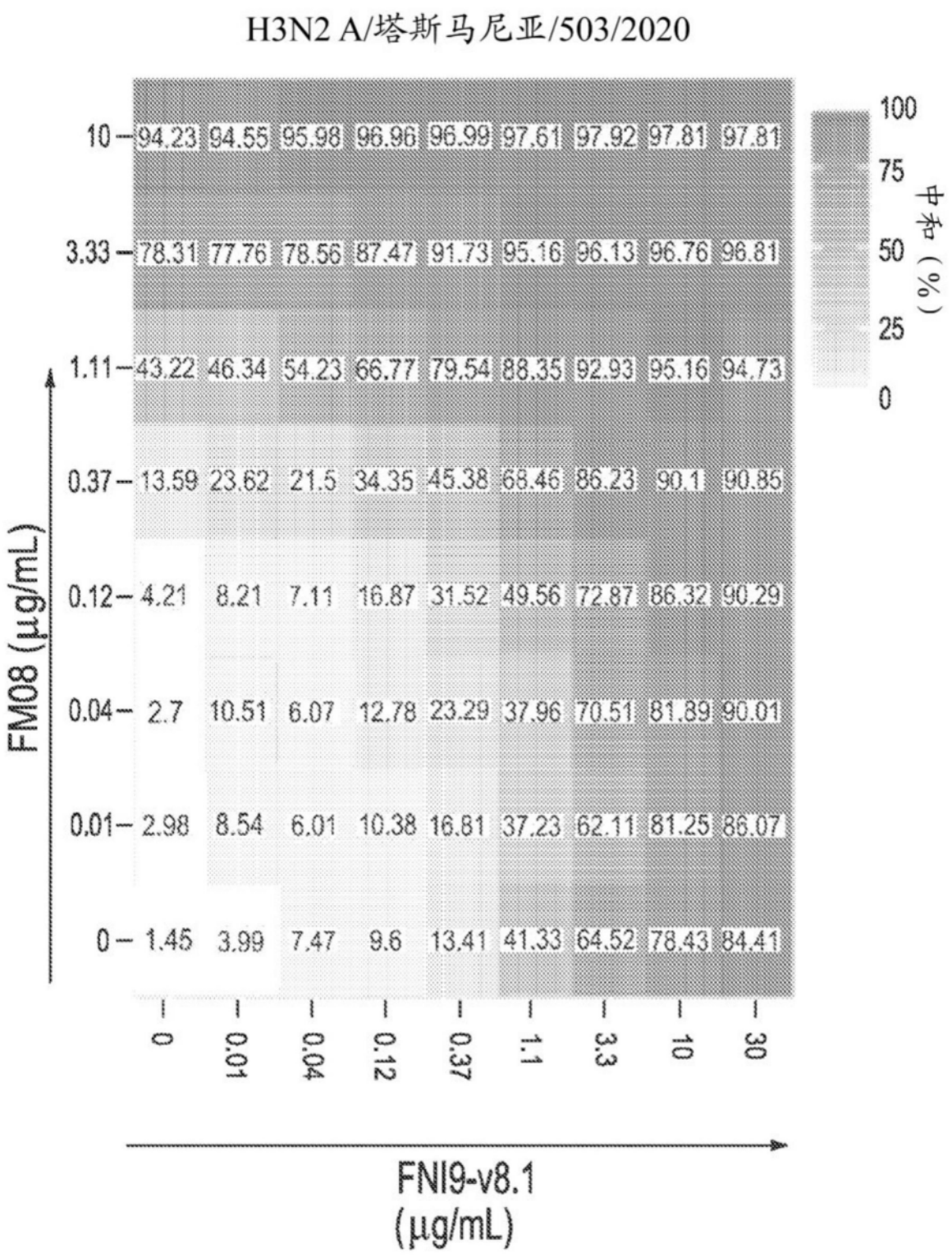

H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020
10 94.23 94.55 95.98 96.96 96.99 97.61 97.92 97.81 97.81
3.33 78.31 77.76 78.56 87.47 91.73 95.16 96.13 96.76 96.81
1.11 43.22 46.34 54.23 66.77 79.54 88.35 92.93 95.16 94.73
0.37 13.59 23.62 21.5 34.35 45.38 68.46 86.23 90.1 90.85
0.12 4.21 8.21 7.11 16.87 31.52 49.56 72.87 86.32 90.29
0.04 2.7 10.51 6.07 12.78 23.29 37.96 70.51 81.89 90.01
0.01 2.98 8.54 6.01 10.38 16.81 37.23 62.11 81.25 86.07
0 1.45 3.99 7.47 9.6 13.41 41.33 64.52 78.43 84.41
FM08 (μg/mL)
0 0.01 0.04 0.12 0.37 1.1 3.3 10 30
FNI9-v8.1 (μg/mL)
100 75 50 25 0
中和（%）

图113C

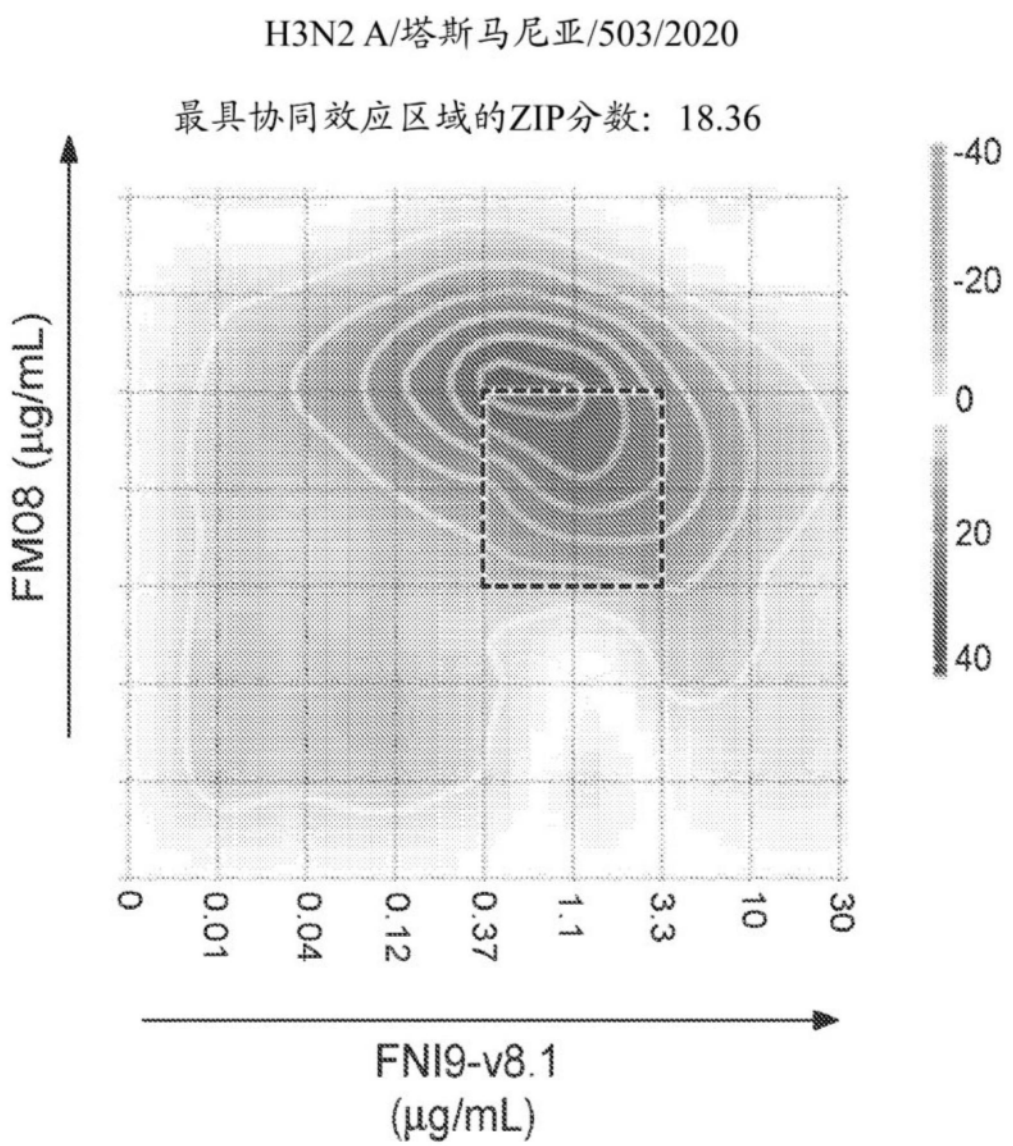

H3N2 A/塔斯马尼亚/503/2020
最具协同效应区域的ZIP分数: 18.36
FM08 (μg/mL)
-40
-20
0
20
40
0
0.01
0.04
0.12
0.37
1.1
3.3
10
30
FNI9-v8.1
(μg/mL)

图113D

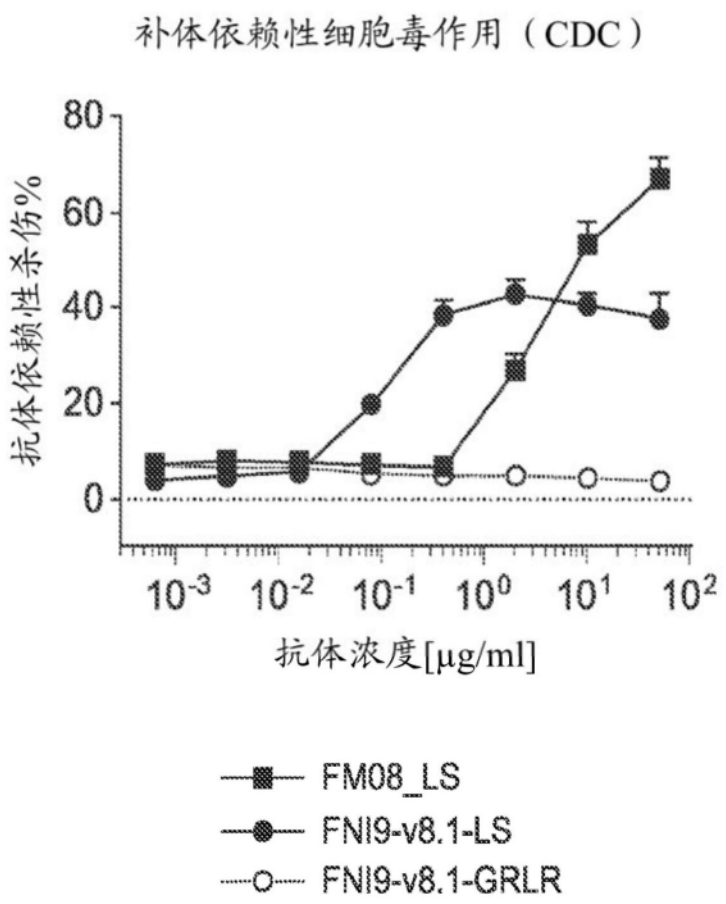

补体依赖性细胞毒作用（CDC）
抗体依赖性杀伤%
80
60
40
20
0
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
抗体浓度[μg/ml]
FM08_LS
FNI9-v8.1-LS
FNI9-v8.1-GRLR

图114A

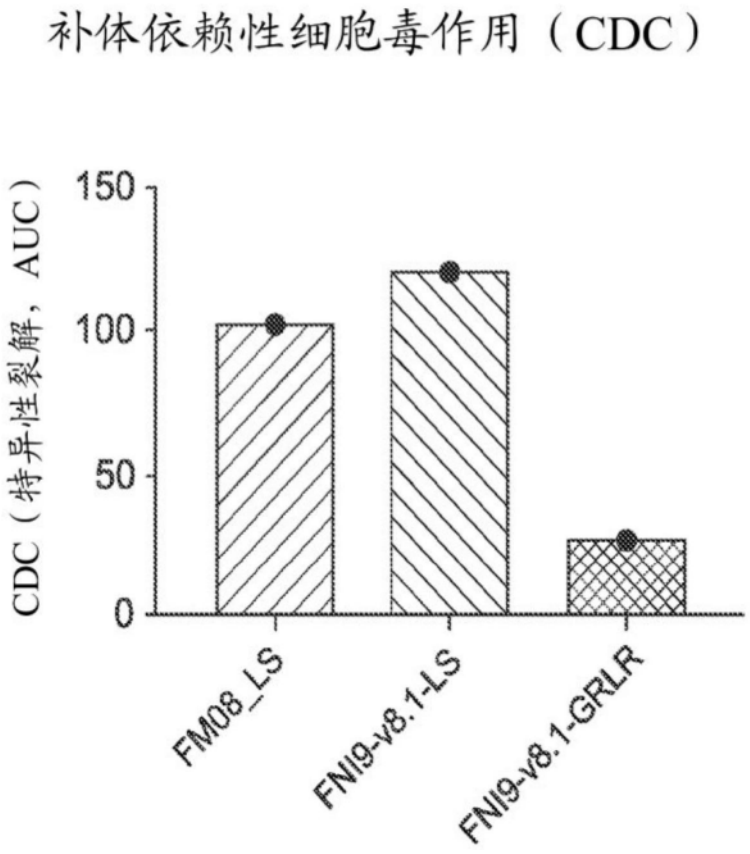

补体依赖性细胞毒作用（CDC）
CDC（特异性裂解，AUC）
150
100
50
0
FM08_LS
FNI9-v8.1-LS
FNI9-v8.1-GRLR

图114B

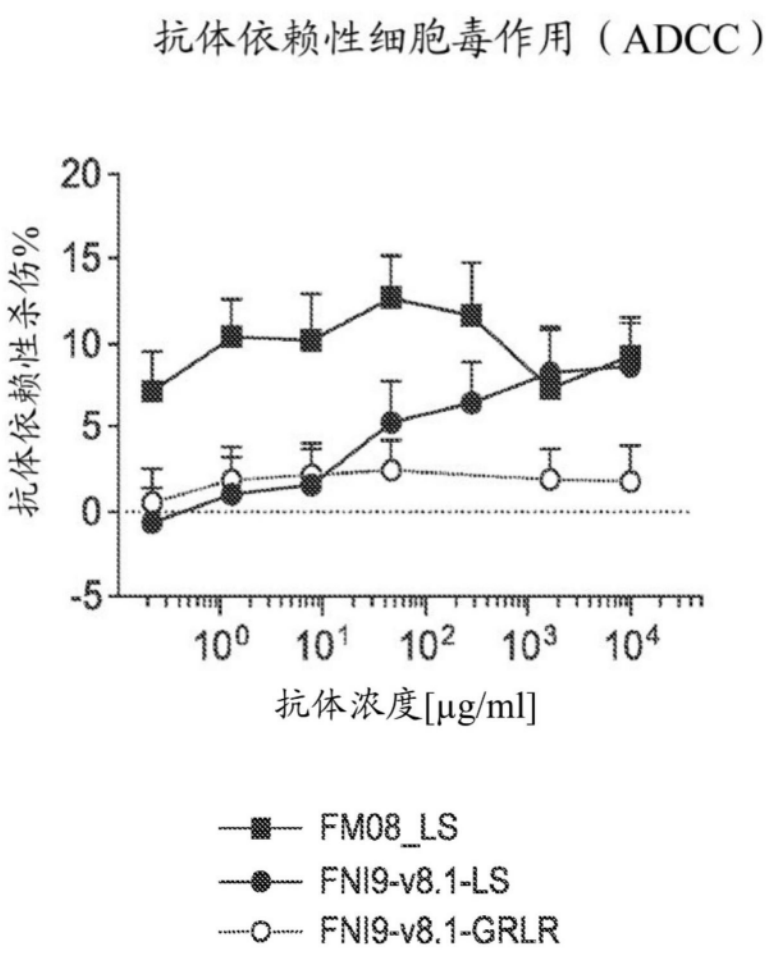

抗体依赖性细胞毒作用（ADCC）
抗体依赖性杀伤%
20
15
10
5
0
-5
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
抗体浓度[μg/ml]
FM08_LS
FNI9-v8.1-LS
FNI9-v8.1-GRLR

图115A

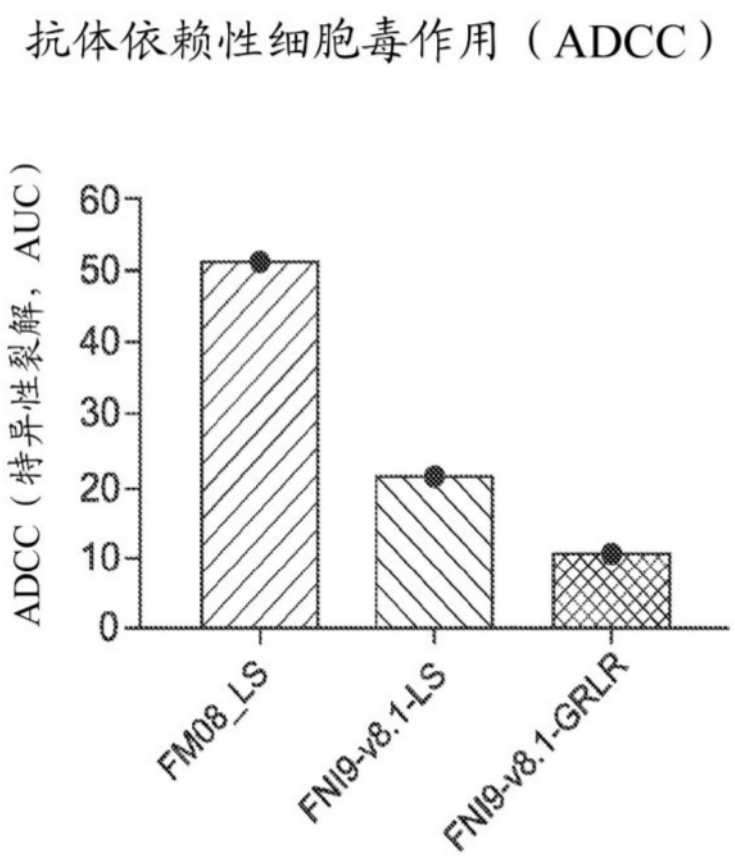

抗体依赖性细胞毒作用（ADCC）
ADCC（特异性裂解，AUC）
60
50
40
30
20
10
0
FM08_LS
FNI9-v8.1-LS
FNI9-v8.1-GRLR

图115B

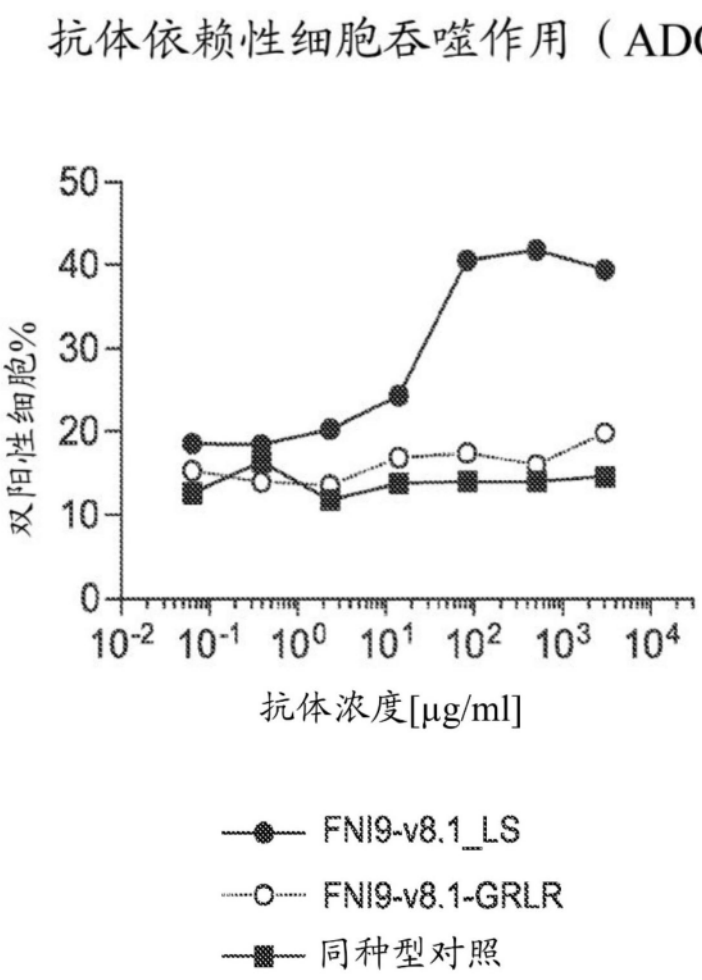

抗体依赖性细胞吞噬作用（ADCP）
双阳性细胞%
50
40
30
20
10
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104
抗体浓度[μg/ml]
FNI9-v8.1_LS
FNI9-v8.1-GRLR
同种型对照

图116A

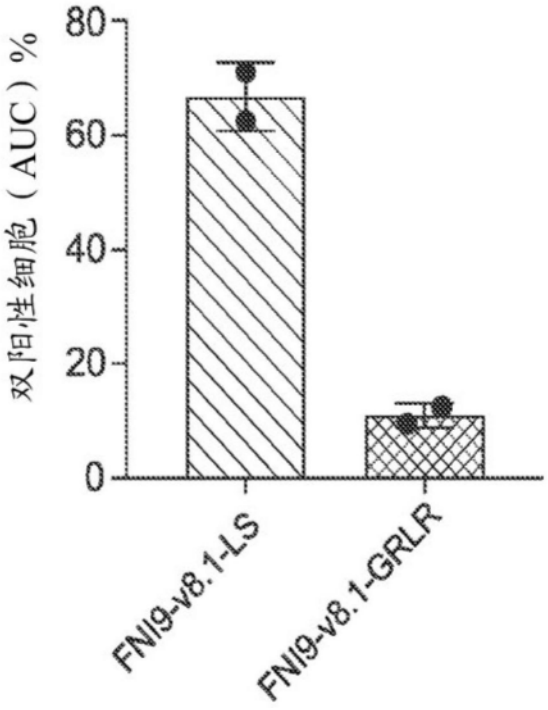


图116B

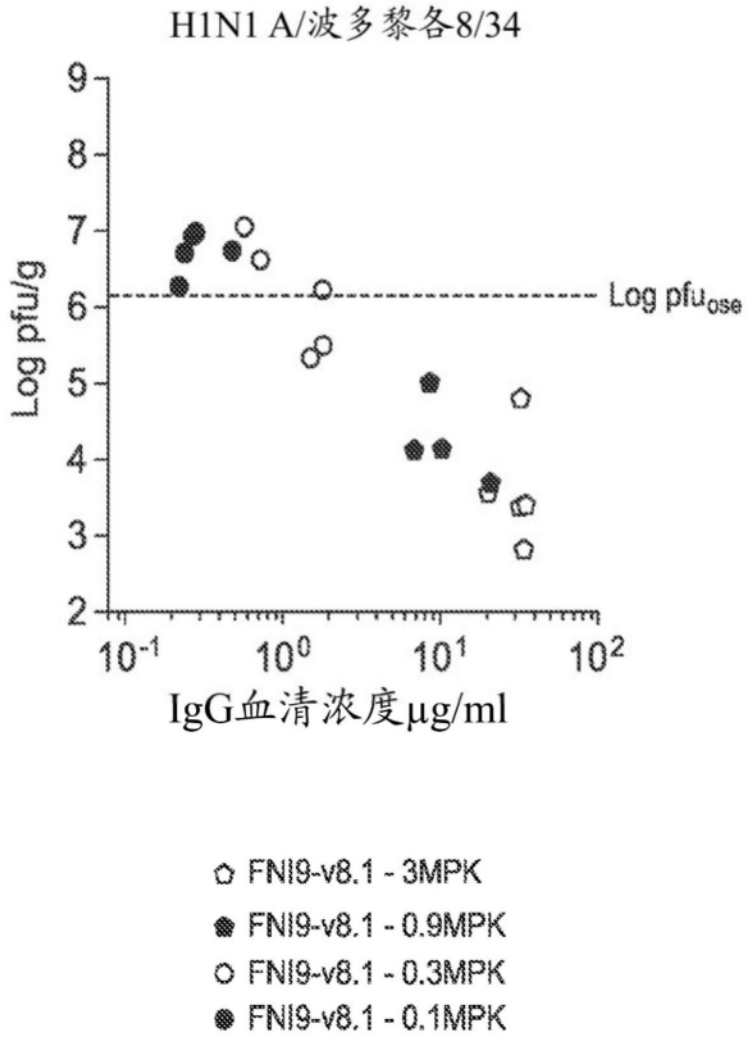

H1N1 A/波多黎各8/34
Log pfu/g
9
8
7
6
5
4
3
2
Log pfu$_{ose}$
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
IgG血清浓度μg/ml
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图117A

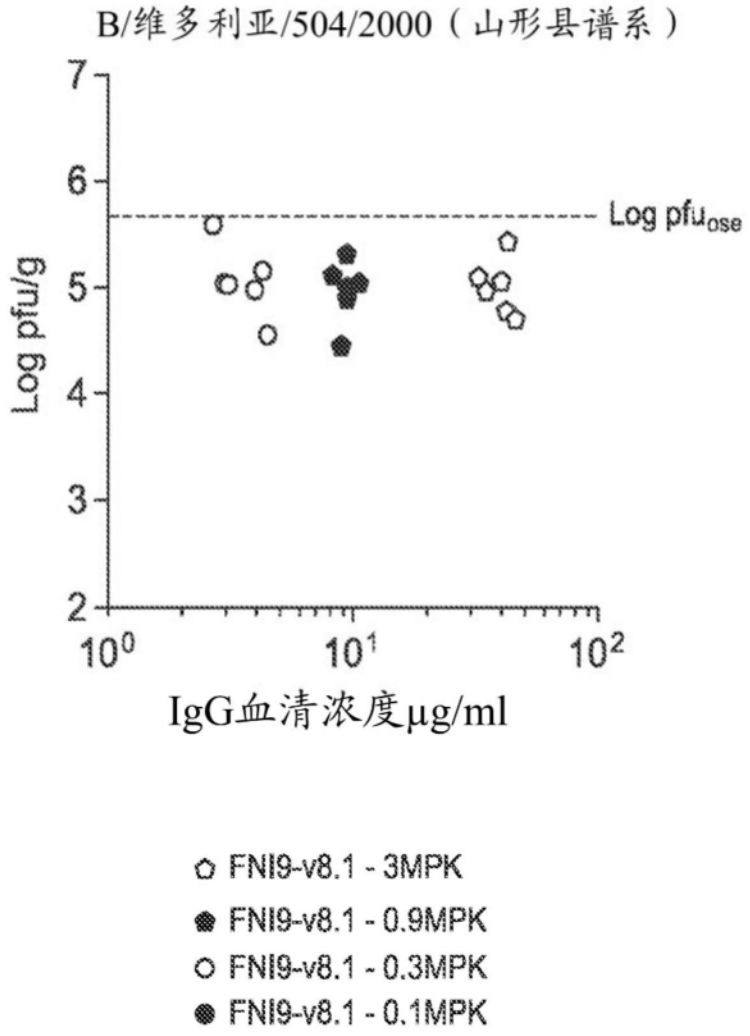

B/维多利亚/504/2000（山形县谱系）
Log pfu/g
7
6
5
4
3
2
Log pfu$_{ose}$
10^0
10^1
10^2
IgG血清浓度μg/ml
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图117B

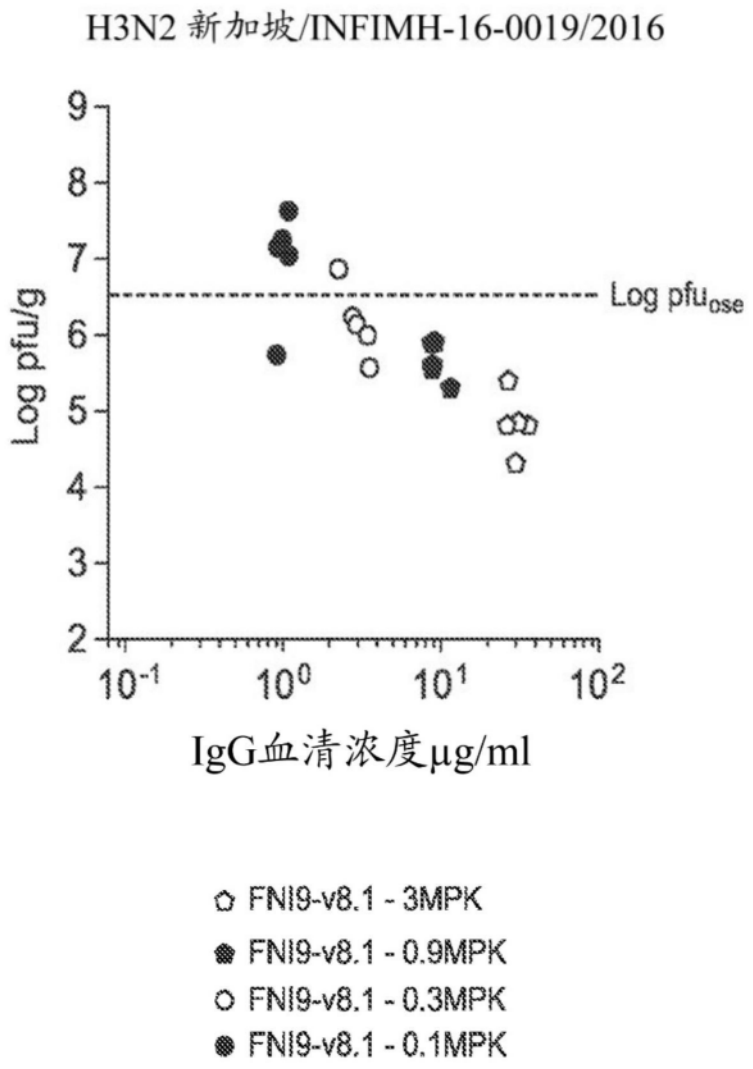

H3N2 新加坡/INFIMH-16-0019/2016
Log pfu/g
9
8
7
6
5
4
3
2
Log pfu$_{ose}$
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
IgG血清浓度μg/ml
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图117C

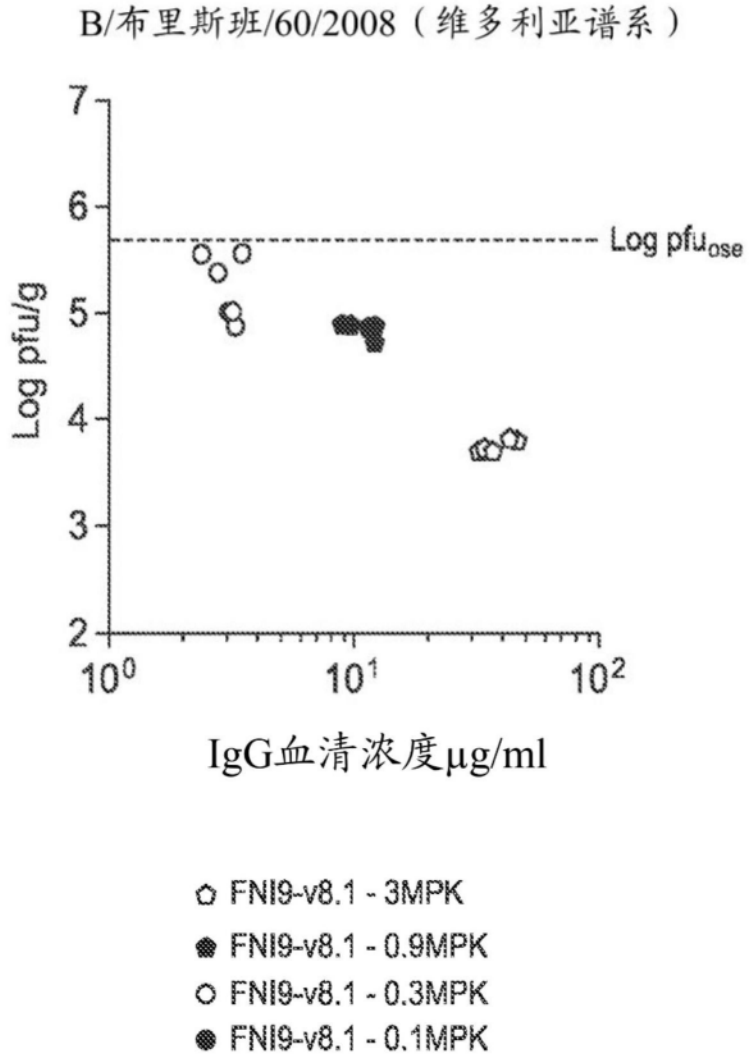

B/布里斯班/60/2008（维多利亚谱系）
Log pfu/g
7
6
5
4
3
2
Log pfu$_{ose}$
10^0
10^1
10^2
IgG血清浓度μg/ml
FNI9-v8.1 - 3MPK
FNI9-v8.1 - 0.9MPK
FNI9-v8.1 - 0.3MPK
FNI9-v8.1 - 0.1MPK

图117D

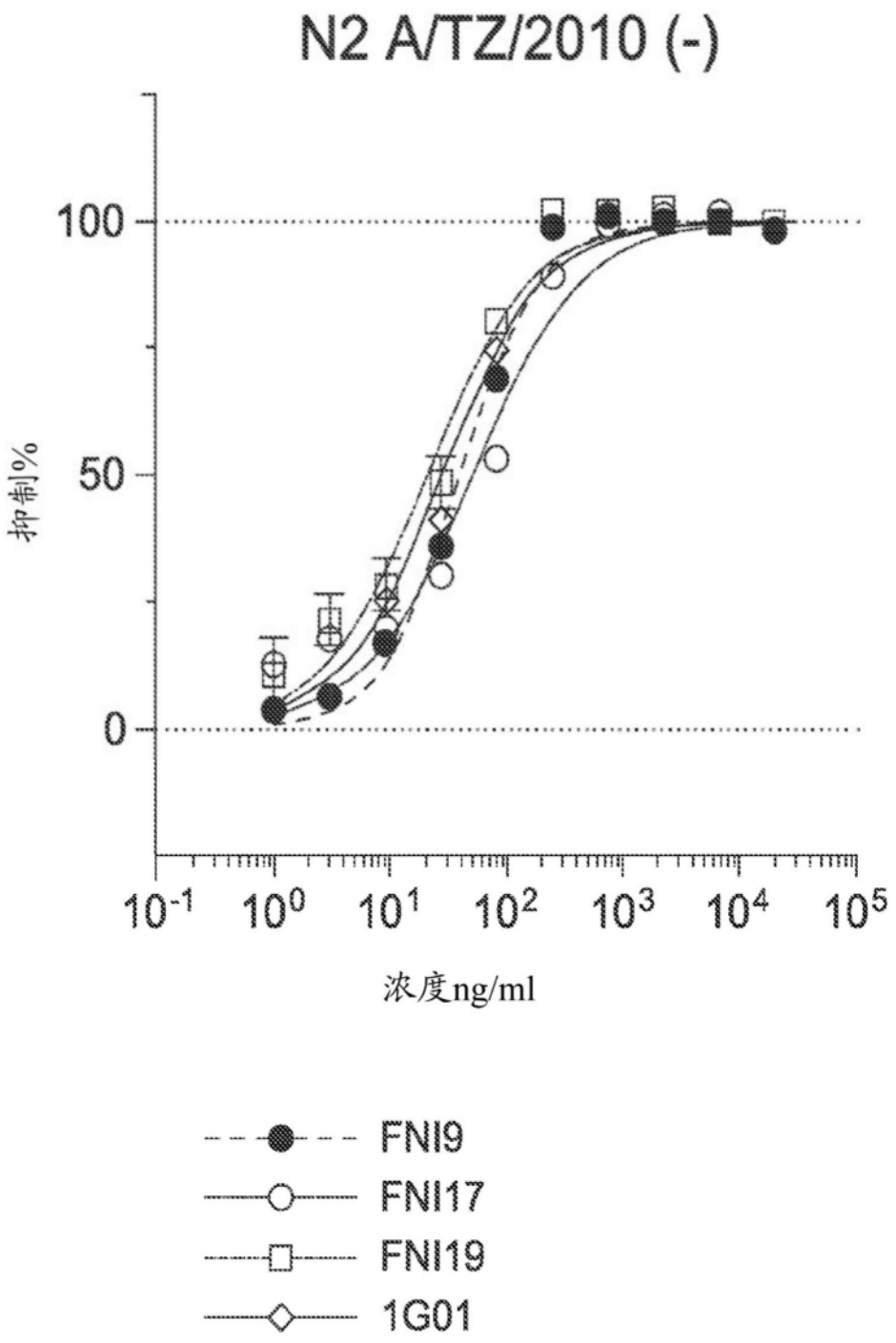

N2 A/TZ/2010 (-)
100
50
0
抑制%
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118A

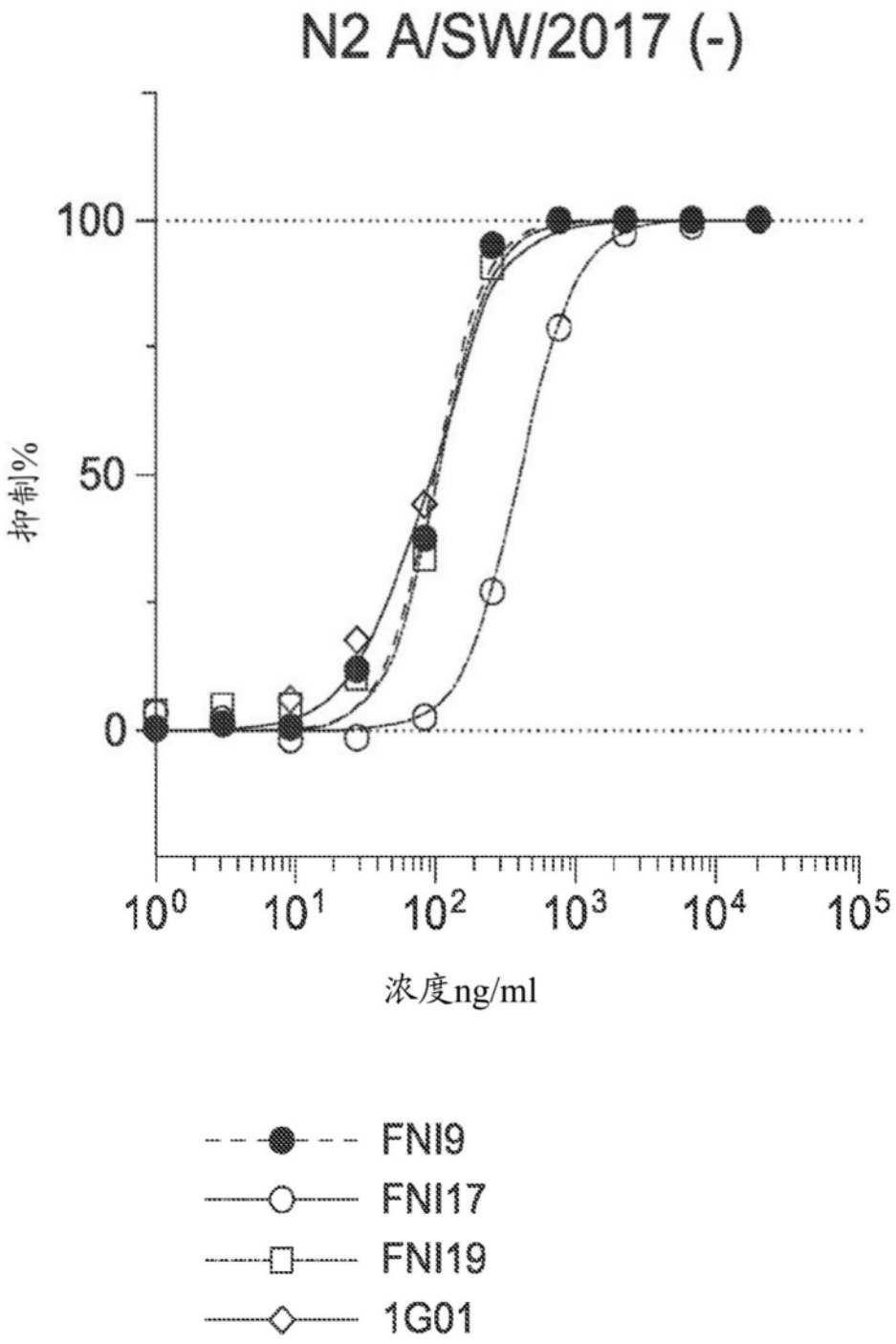

N2 A/SW/2017 (-)
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118B

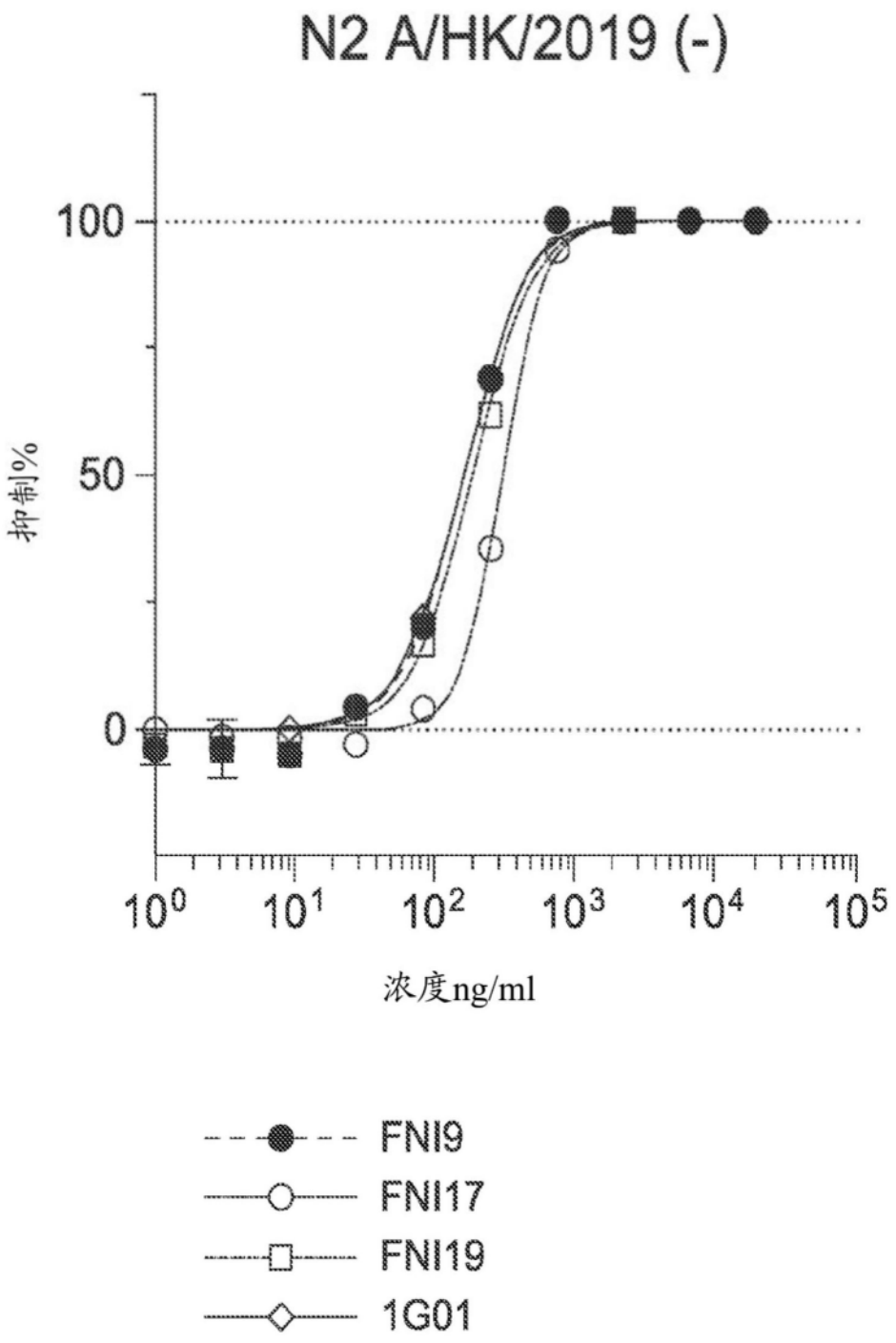

N2 A/HK/2019 (-)
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118C

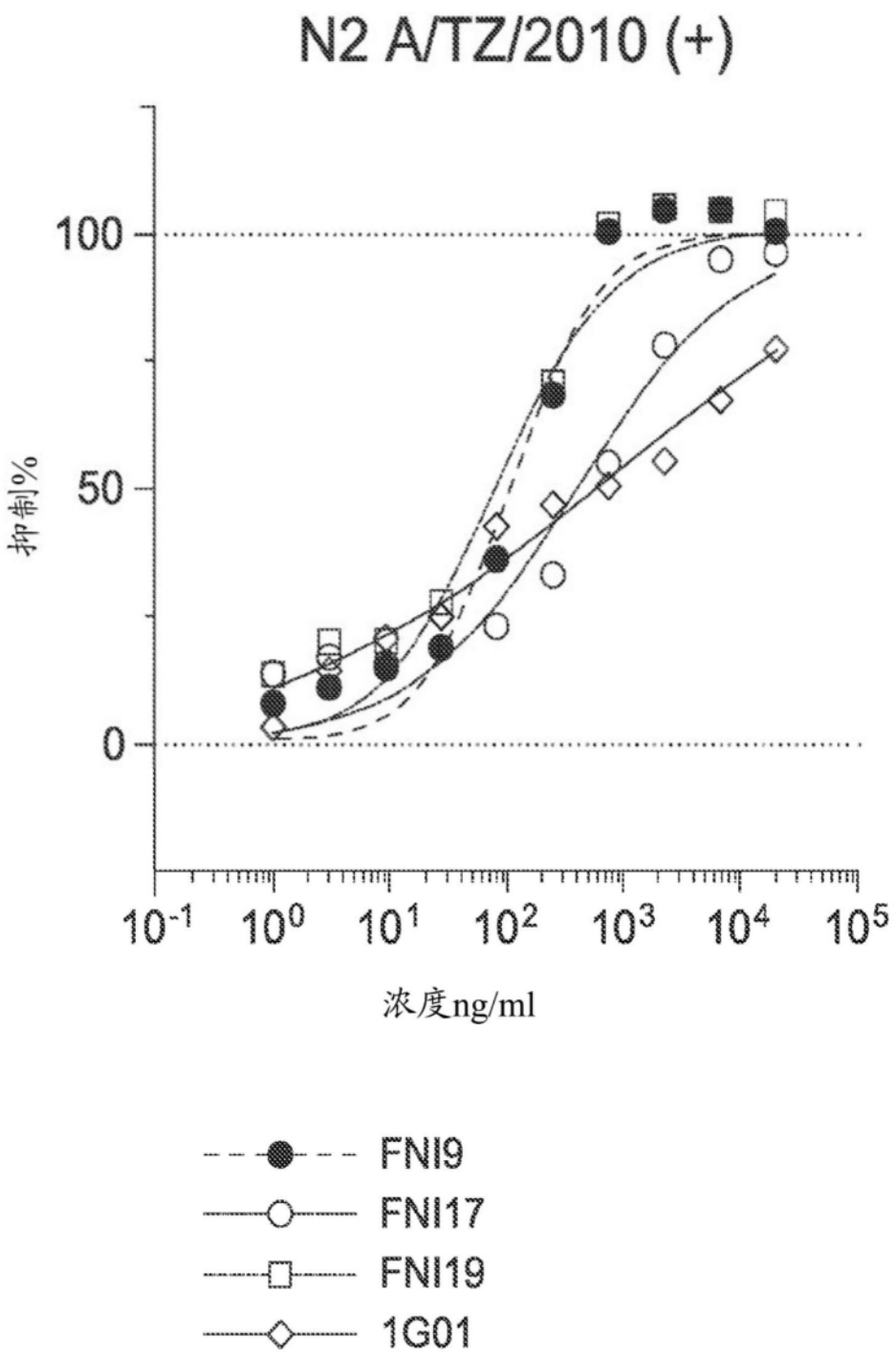

N2 A/TZ/2010 (+)
100
50
0
抑制%
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118D

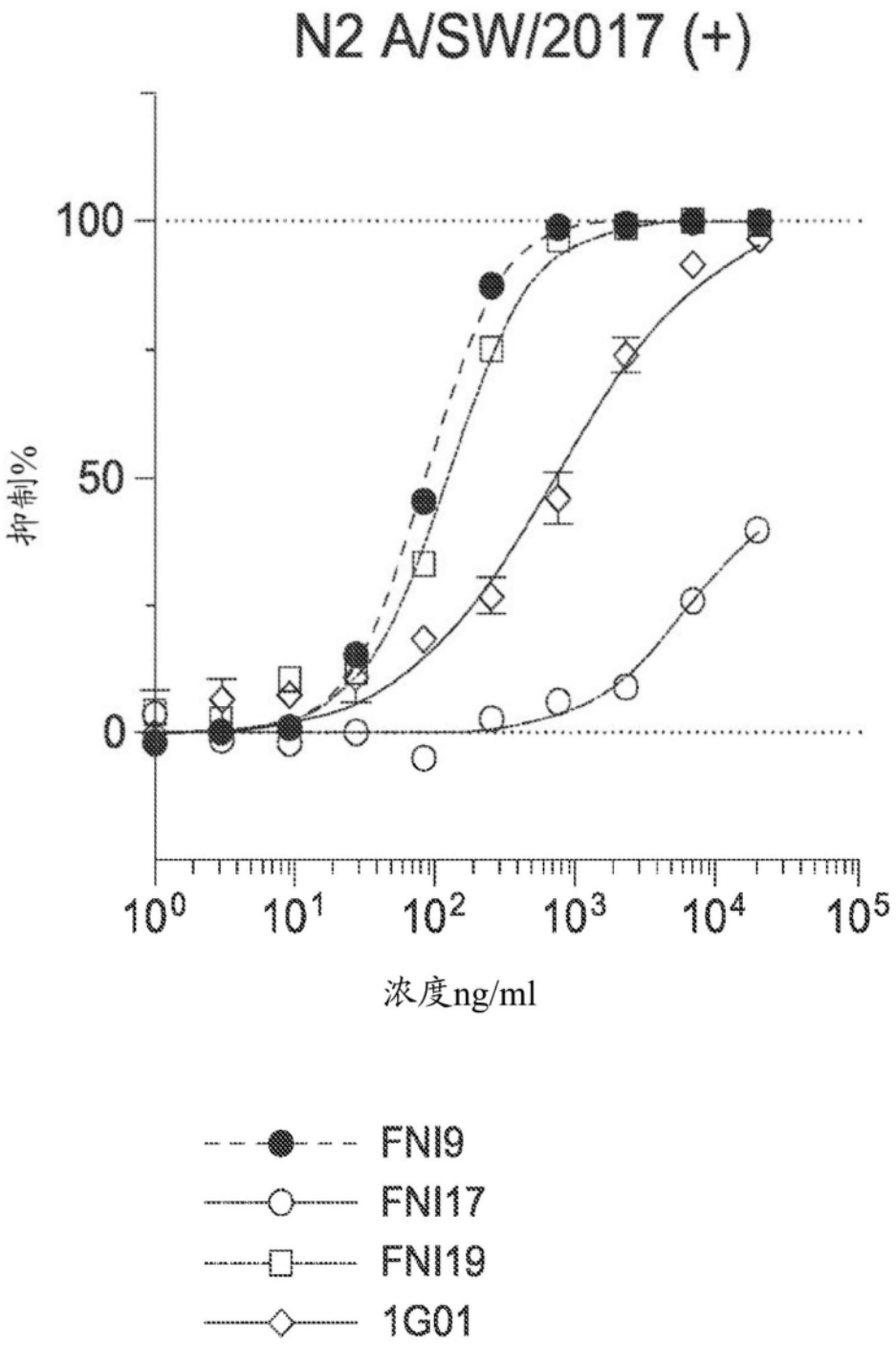

N2 A/SW/2017 (+)
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118E

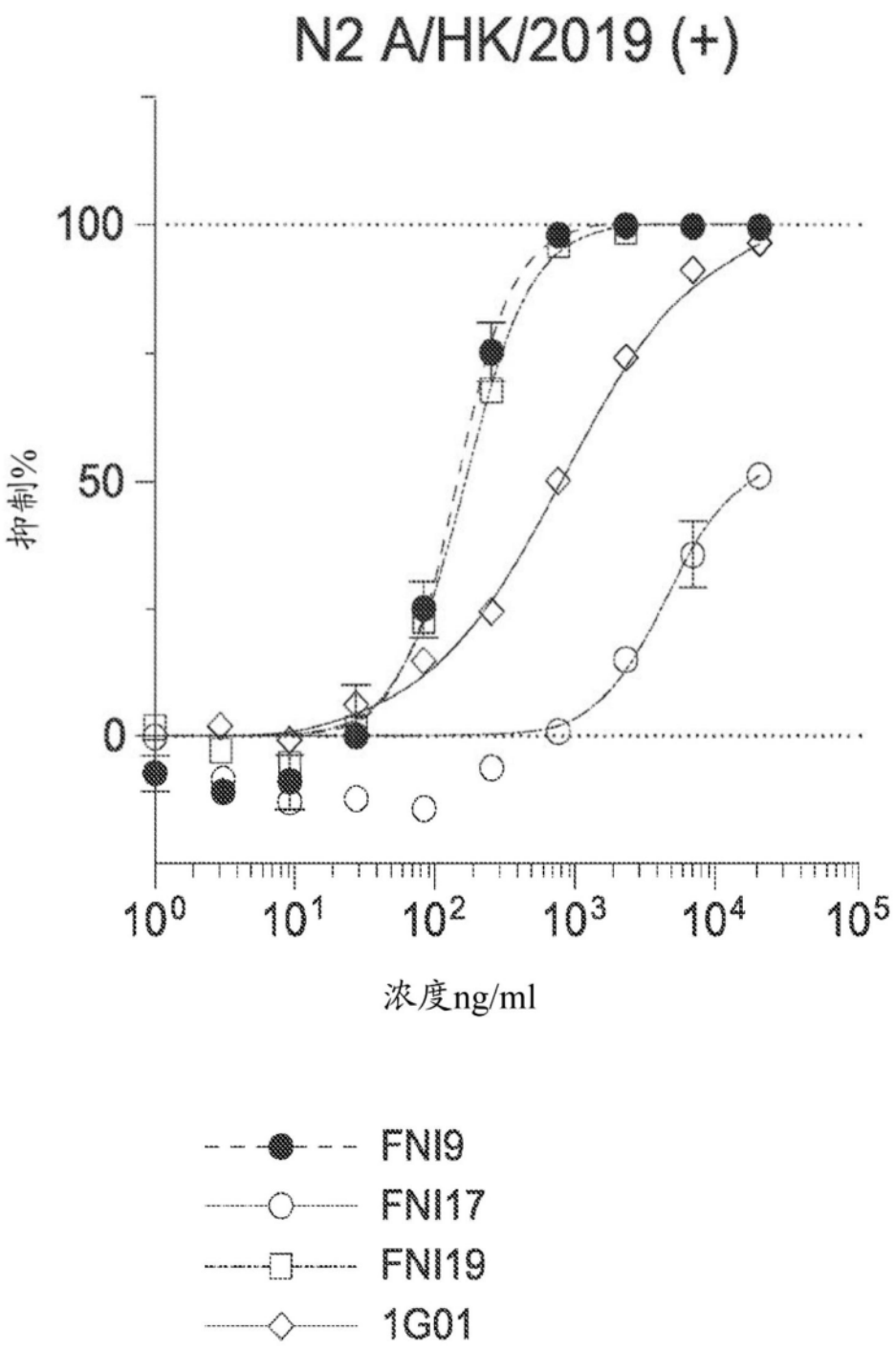

N2 A/HK/2019 (+)
100
50
0
抑制%
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图118F

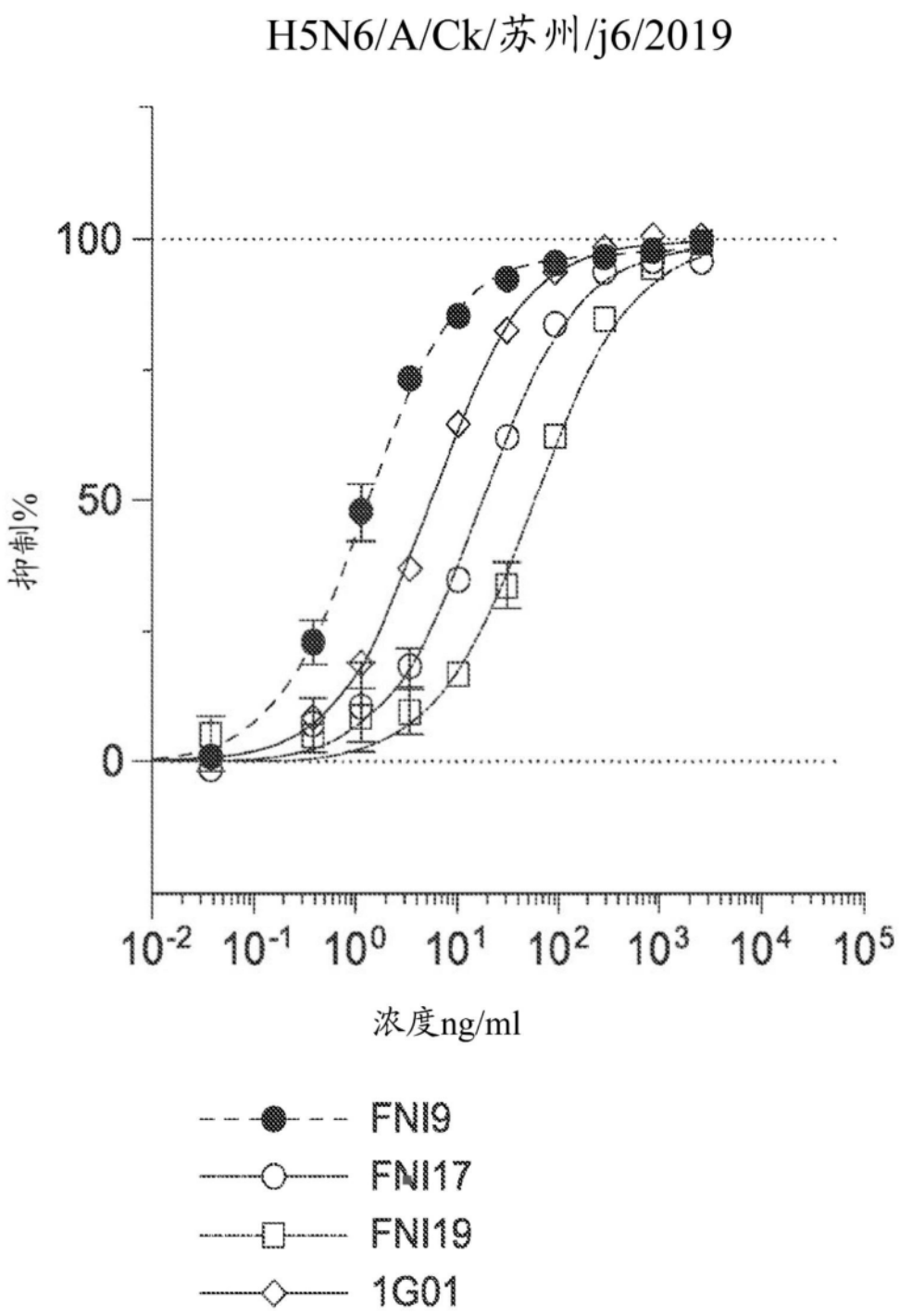

H5N6/A/Ck/苏州/j6/2019
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图119A

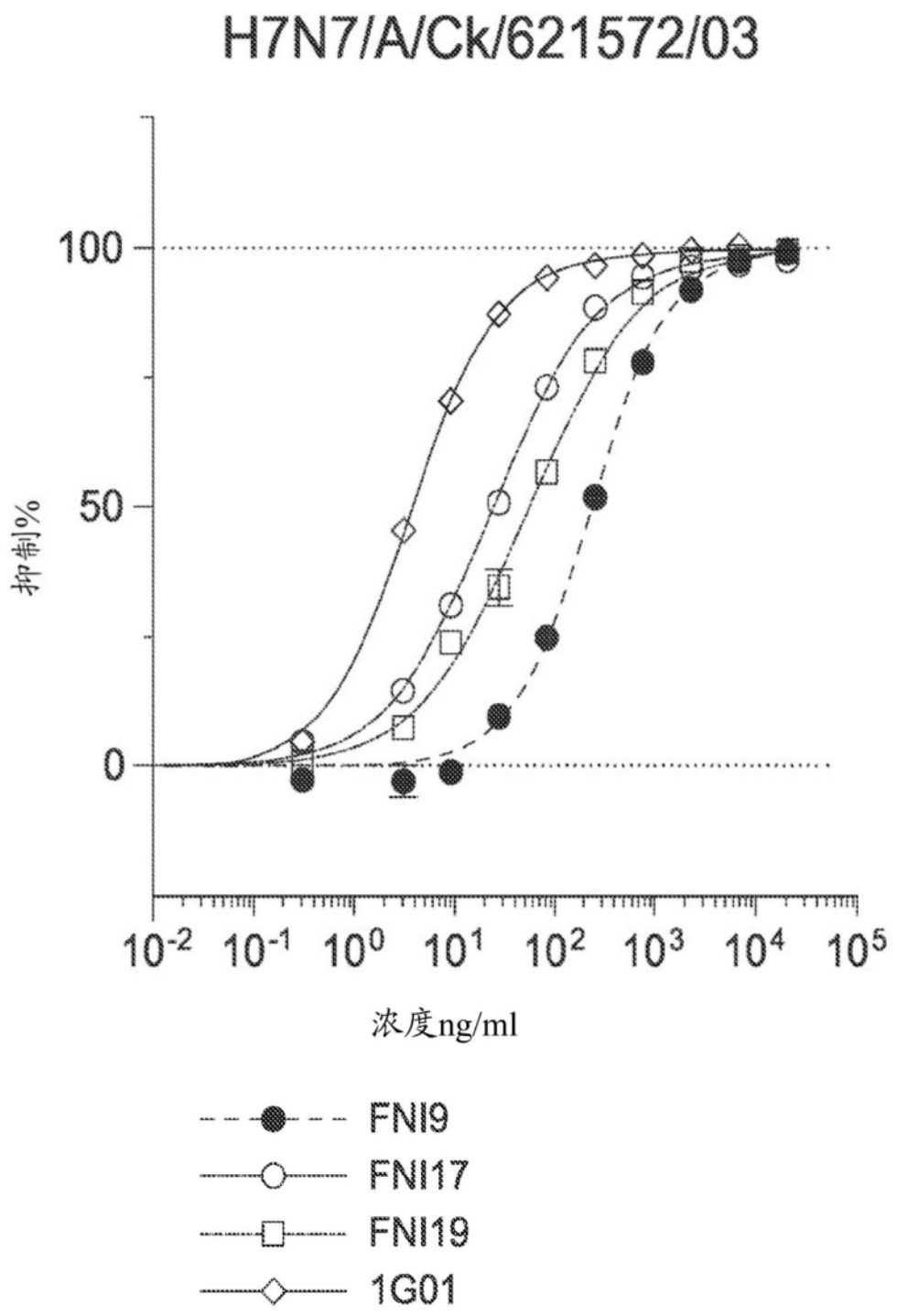

H7N7/A/Ck/621572/03
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图119B

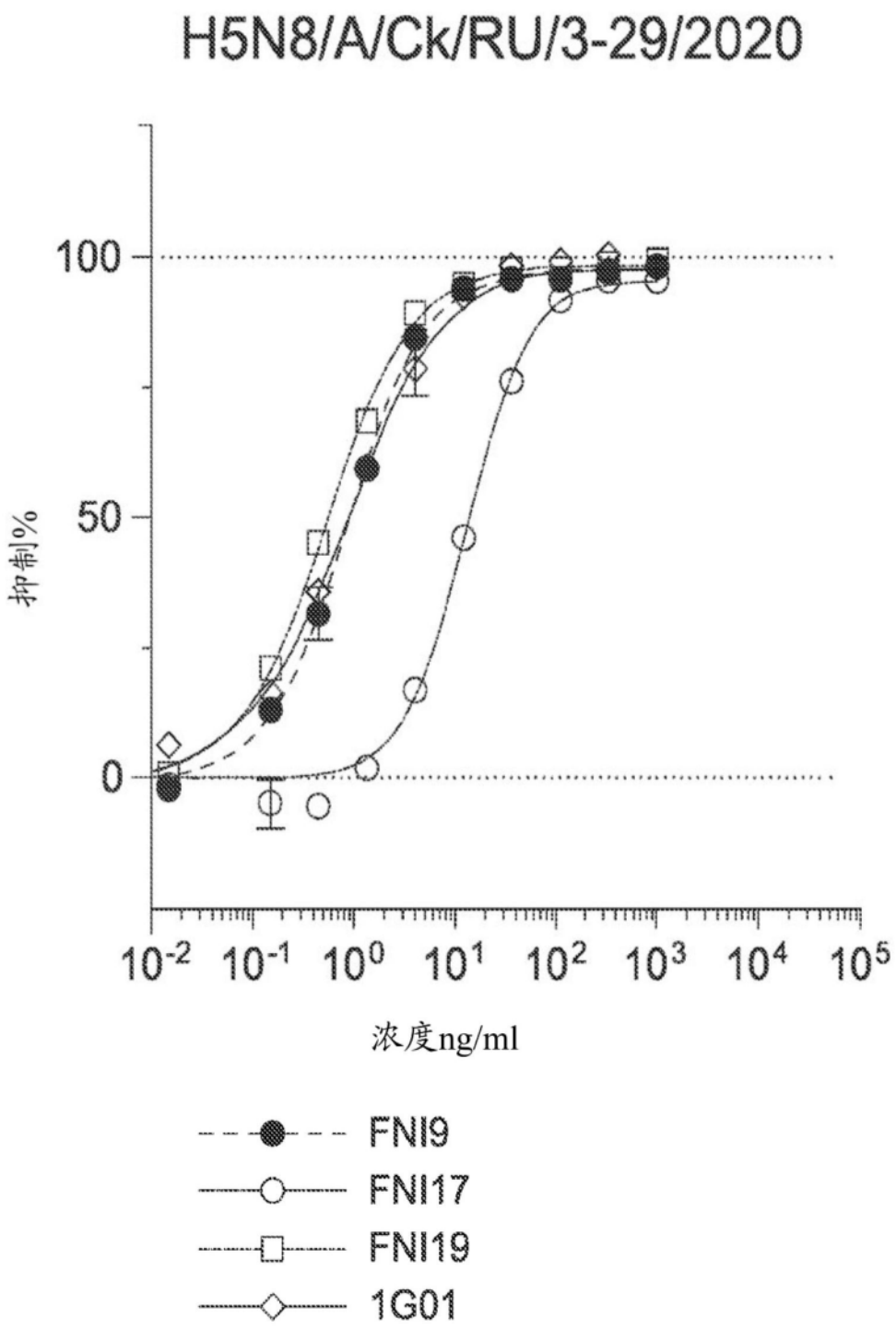

H5N8/A/Ck/RU/3-29/2020
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图119C

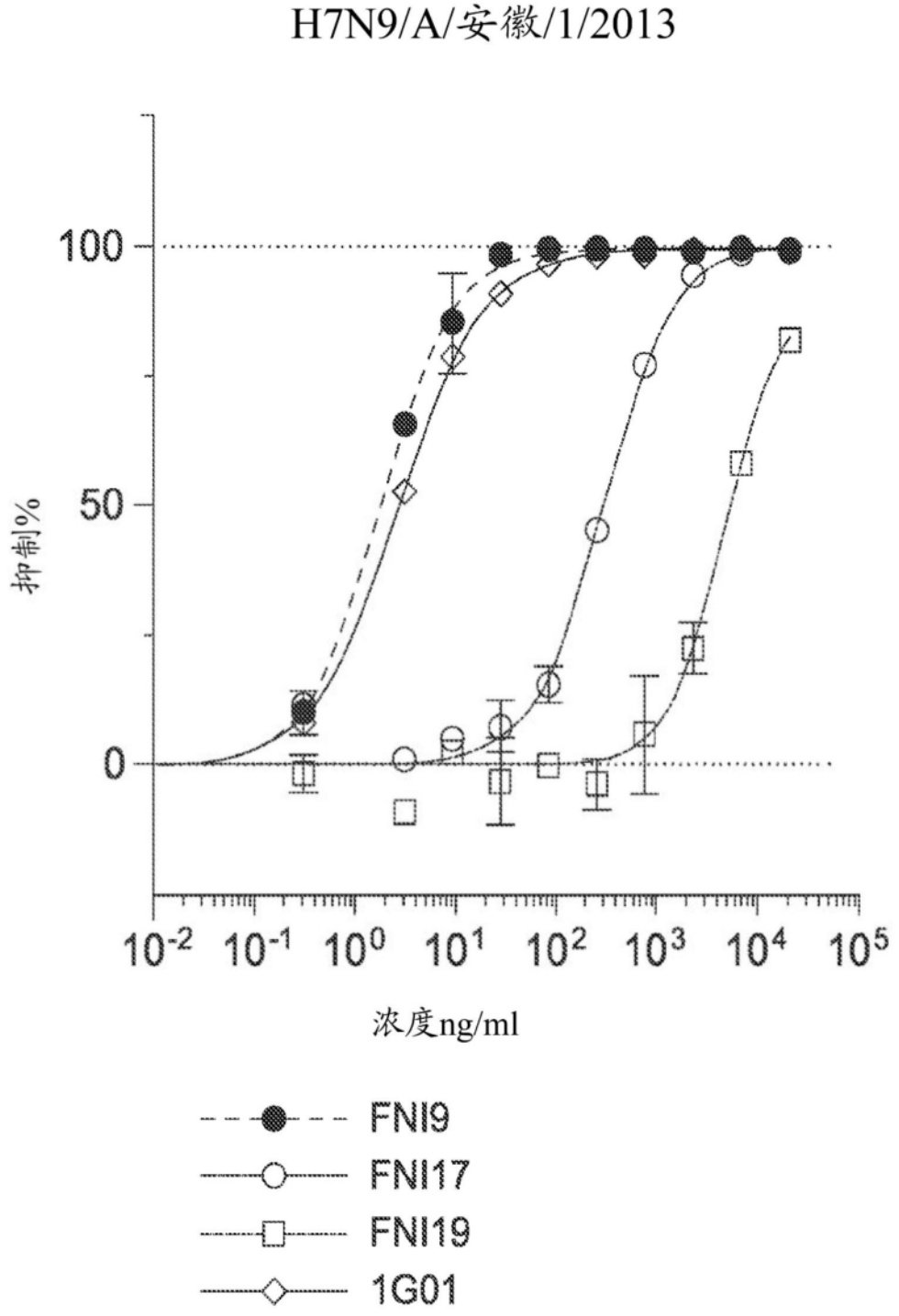

H7N9/A/安徽/1/2013
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图119D

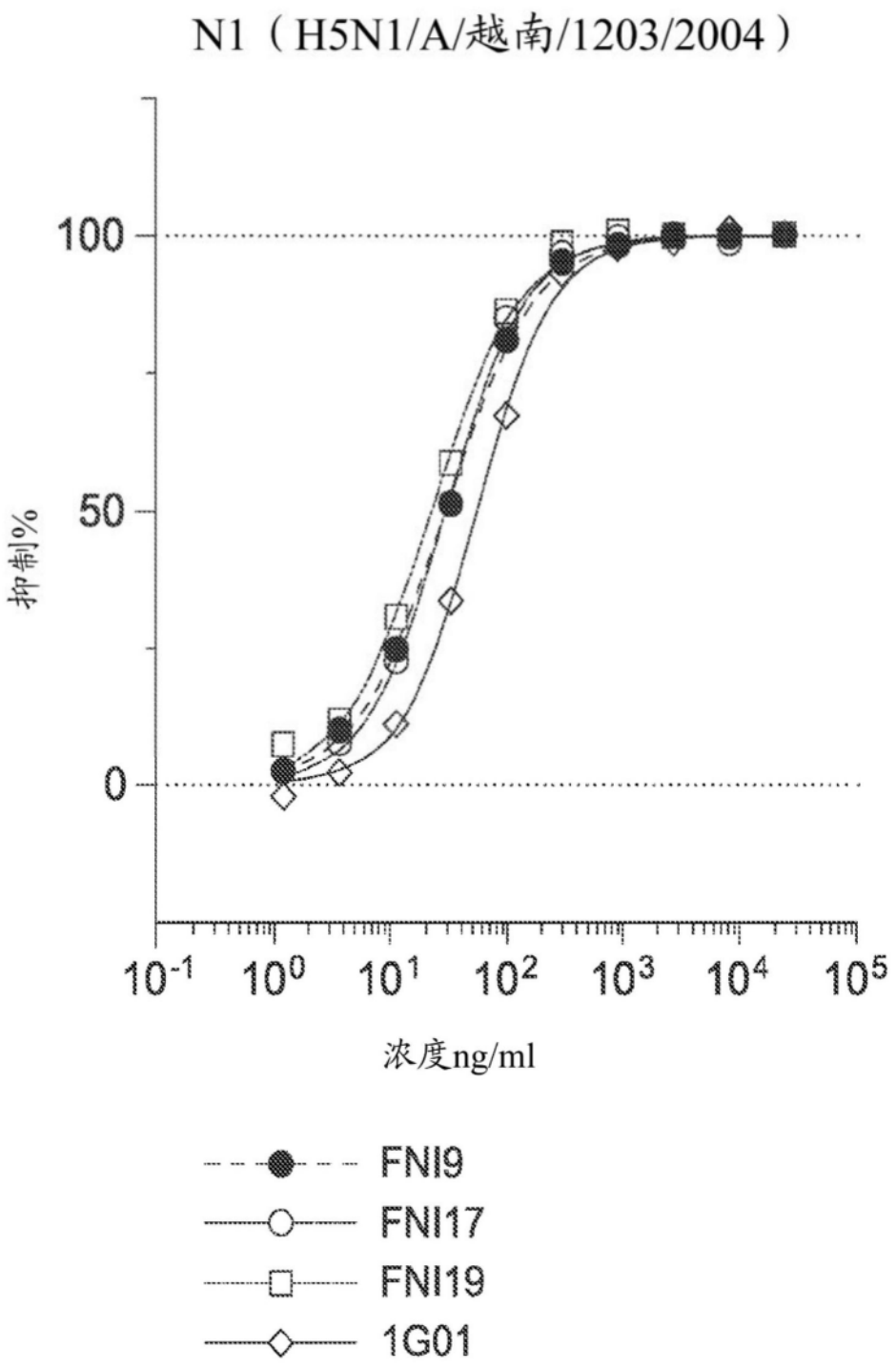

N1（H5N1/A/越南/1203/2004）
100
50
0
抑制%
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图120A

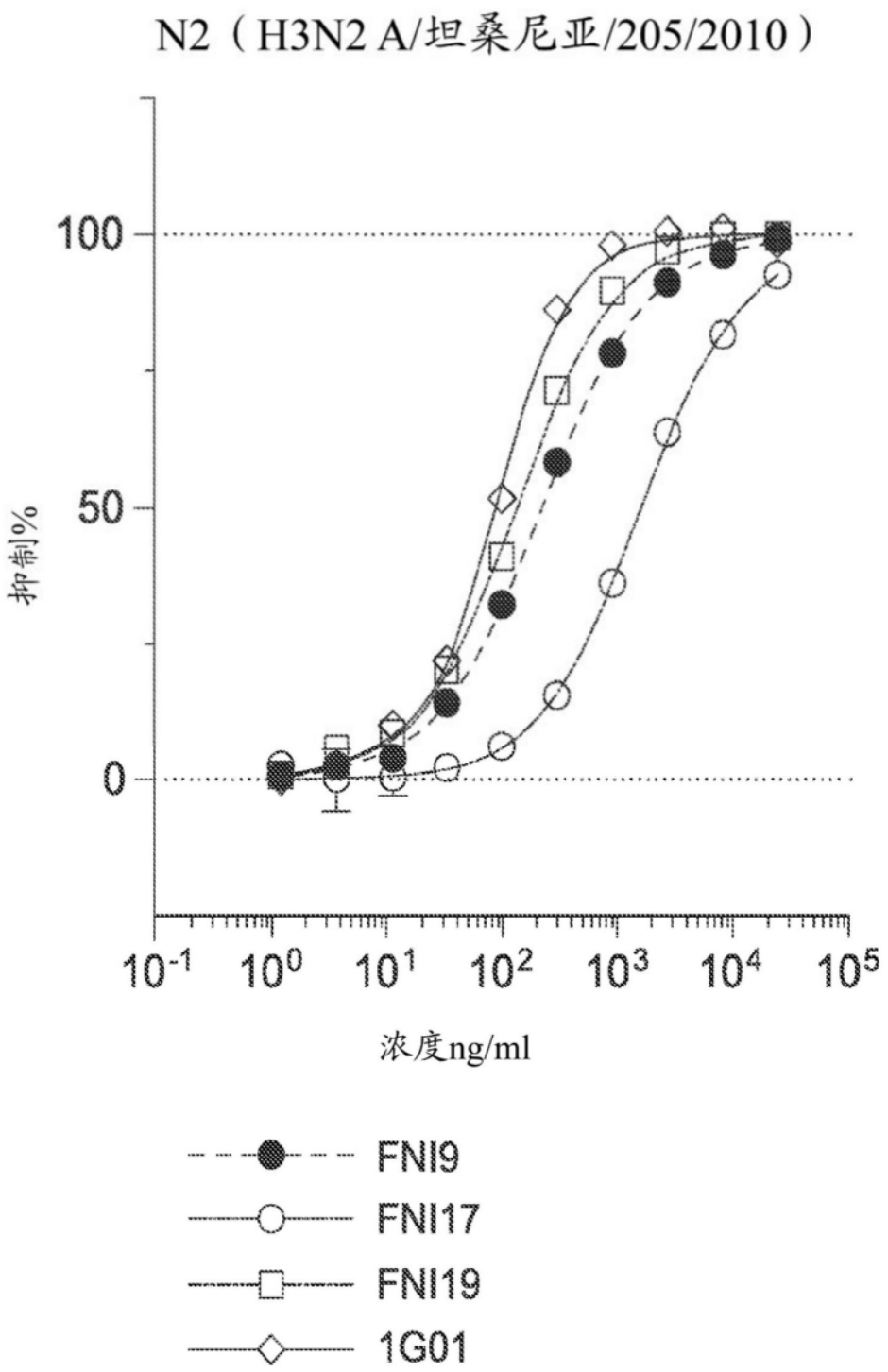

N2（H3N2 A/坦桑尼亚/205/2010）
100
50
0
抑制%
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图120B

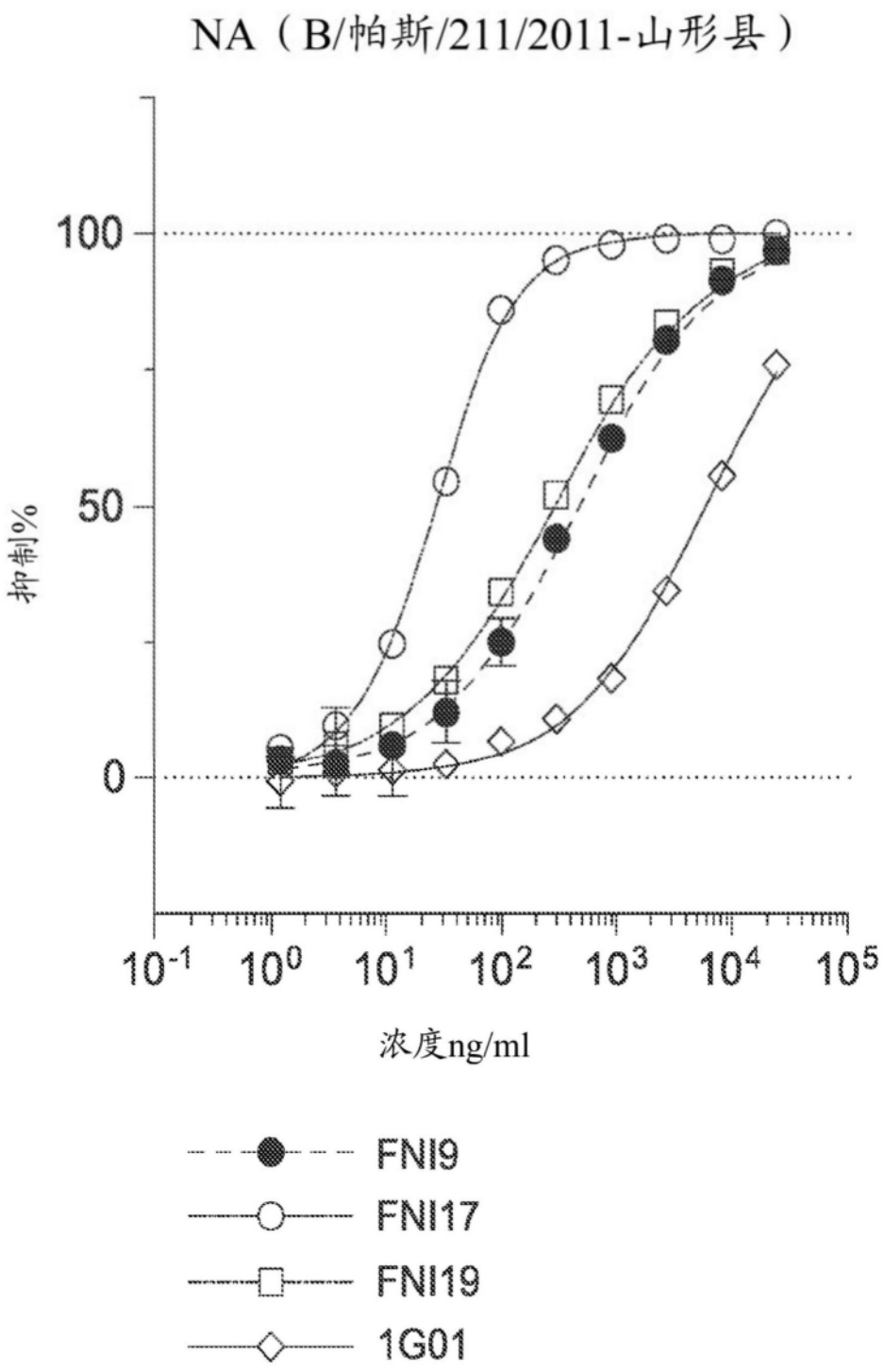

NA（B/帕斯/211/2011-山形县）
100
50
0
抑制%
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图120C

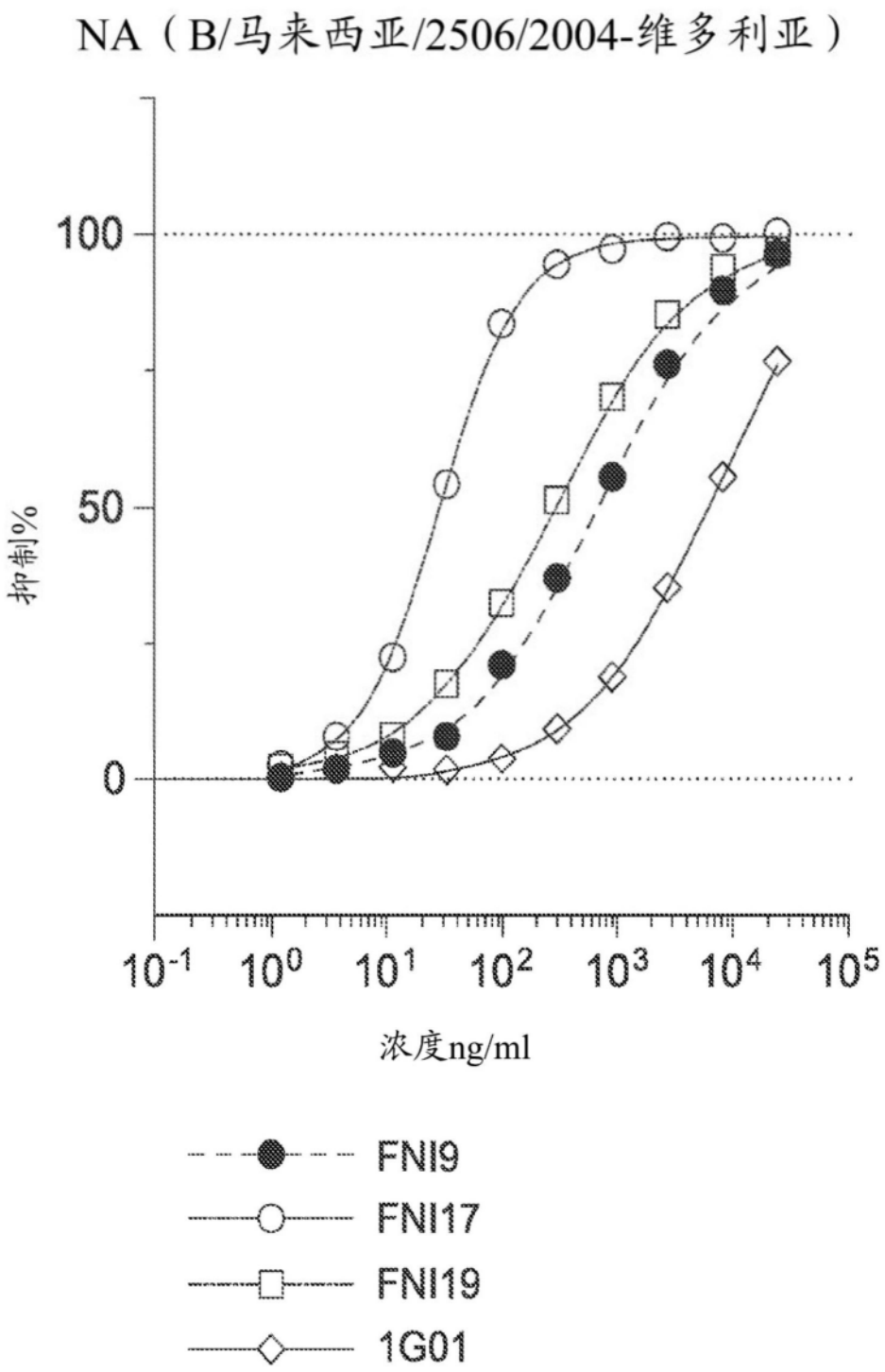

NA（B/马来西亚/2506/2004-维多利亚）
100
50
0
抑制%
10-1
100
101
102
103
104
105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图120D

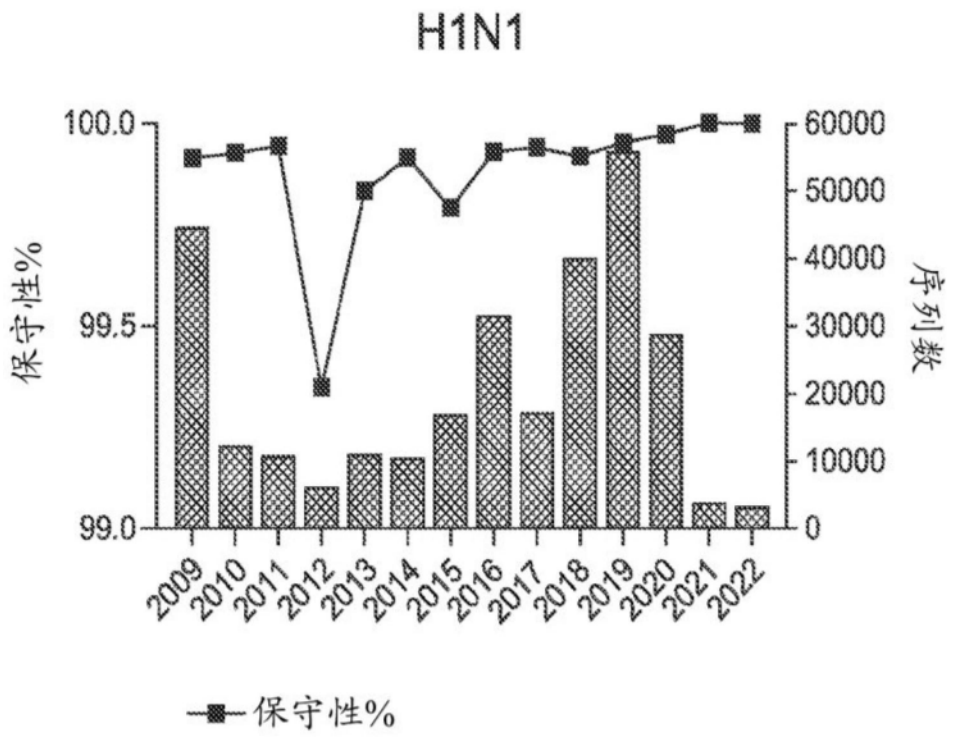

H1N1
100.0
99.5
99.0
保守性%
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
序列数
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
保守性%

图121A

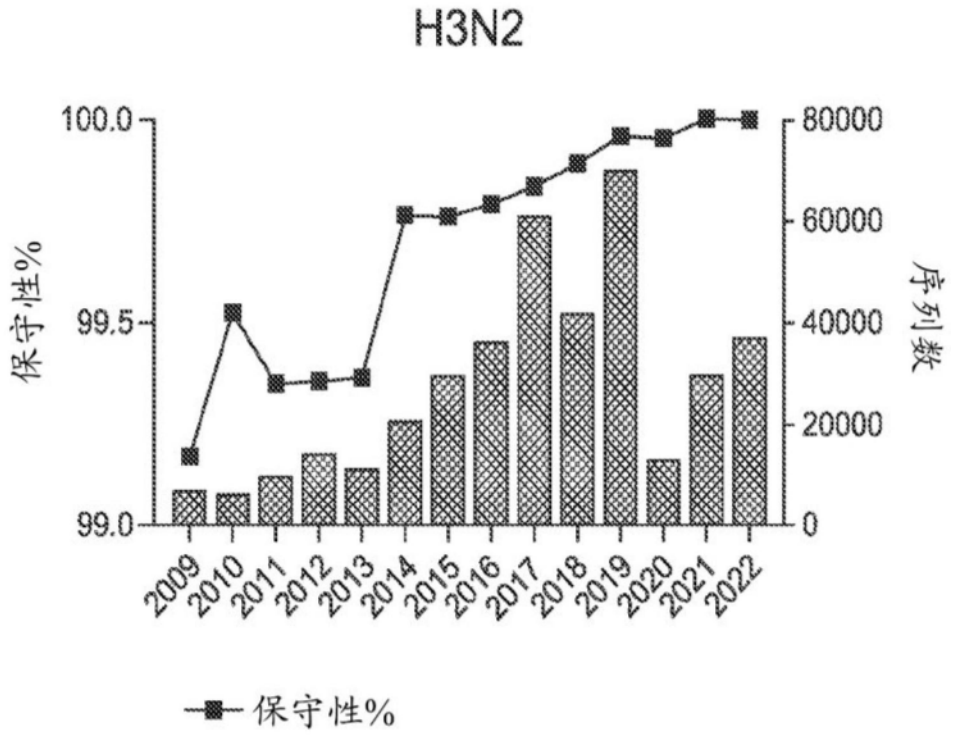

H3N2
100.0
99.5
99.0
保守性%
80000
60000
40000
20000
0
序列数
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
保守性%

图121B

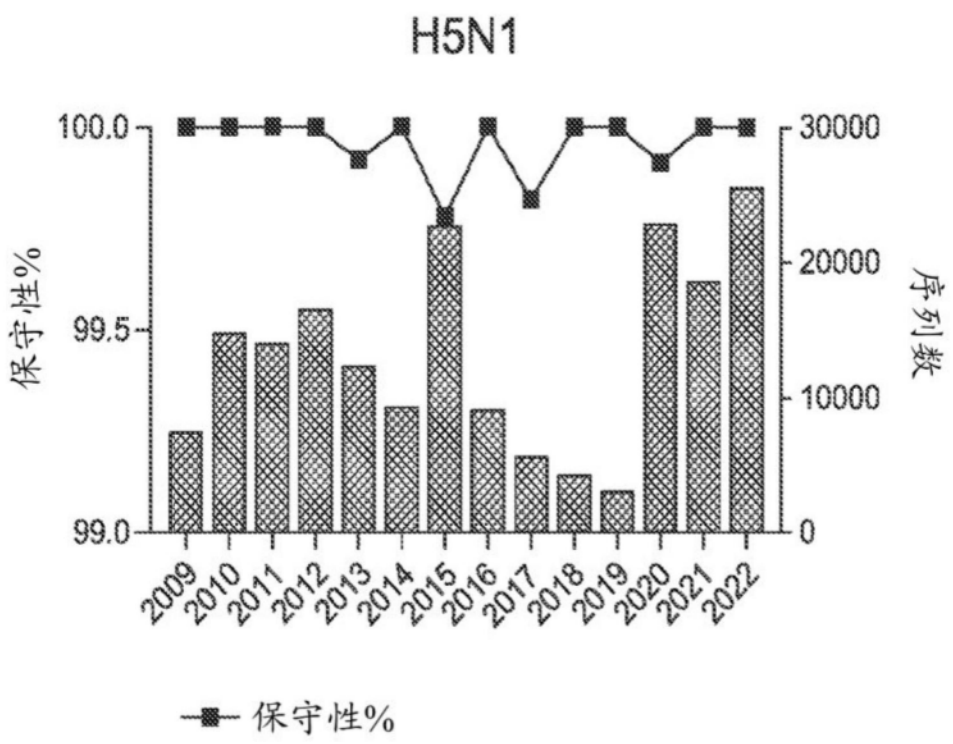

H5N1
100.0
99.5
99.0
保守性%
30000
20000
10000
0
序列数
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
保守性%

图121C

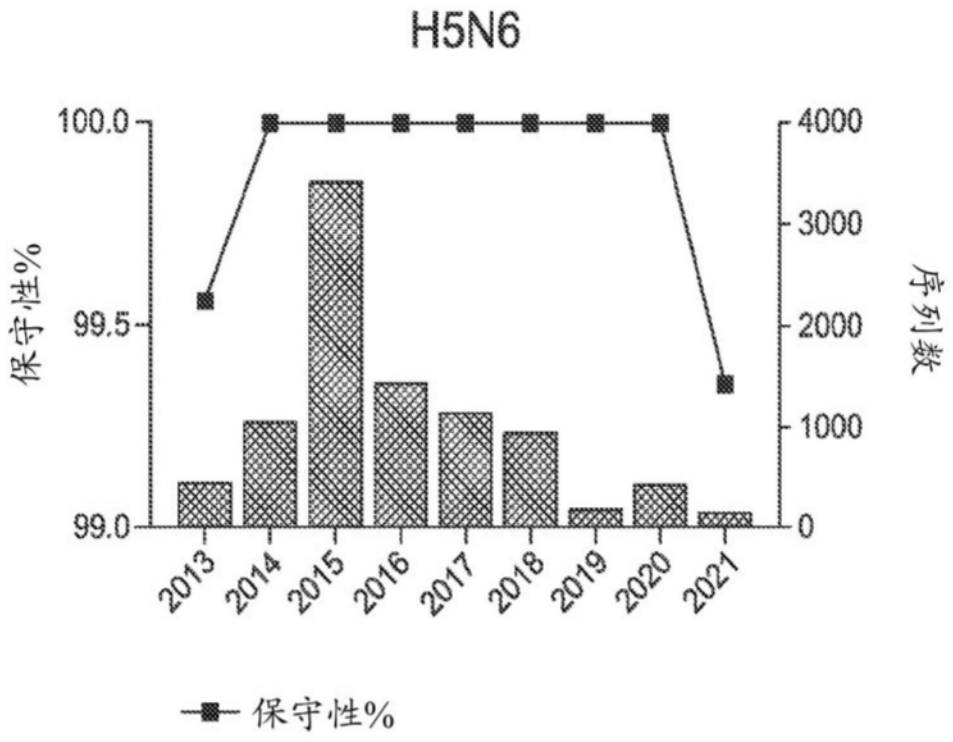

H5N6
100.0
99.5
99.0
保守性%
4000
3000
2000
1000
0
序列数
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
保守性%

图121D

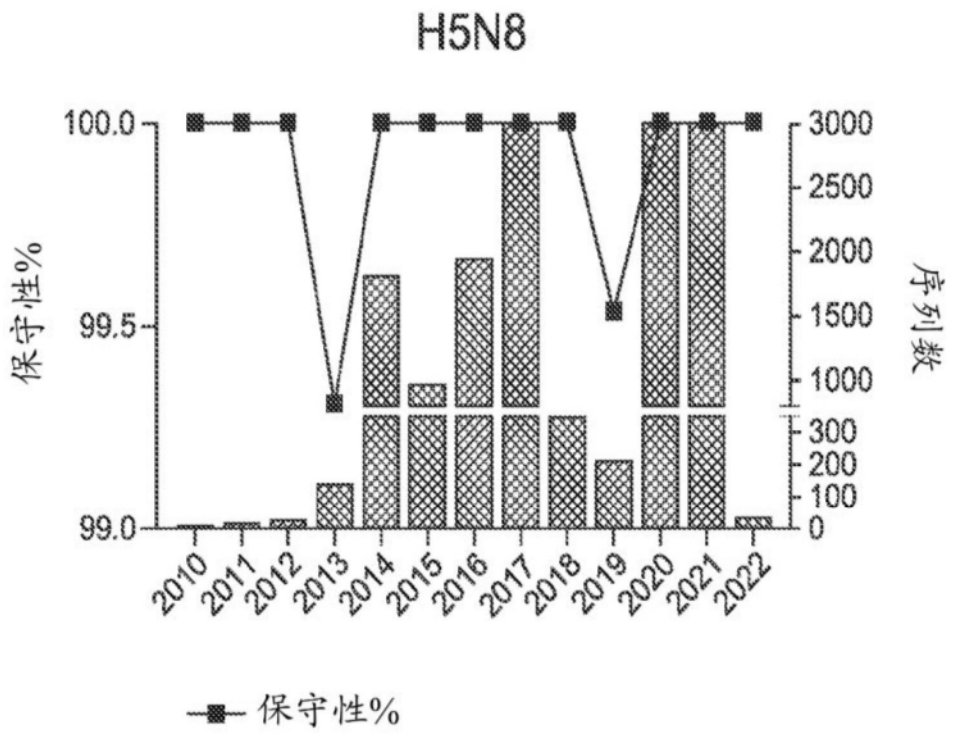

H5N8
100.0
99.5
99.0
保守性%
3000
2500
2000
1500
1000
300
200
100
0
序列数
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
保守性%

图121E

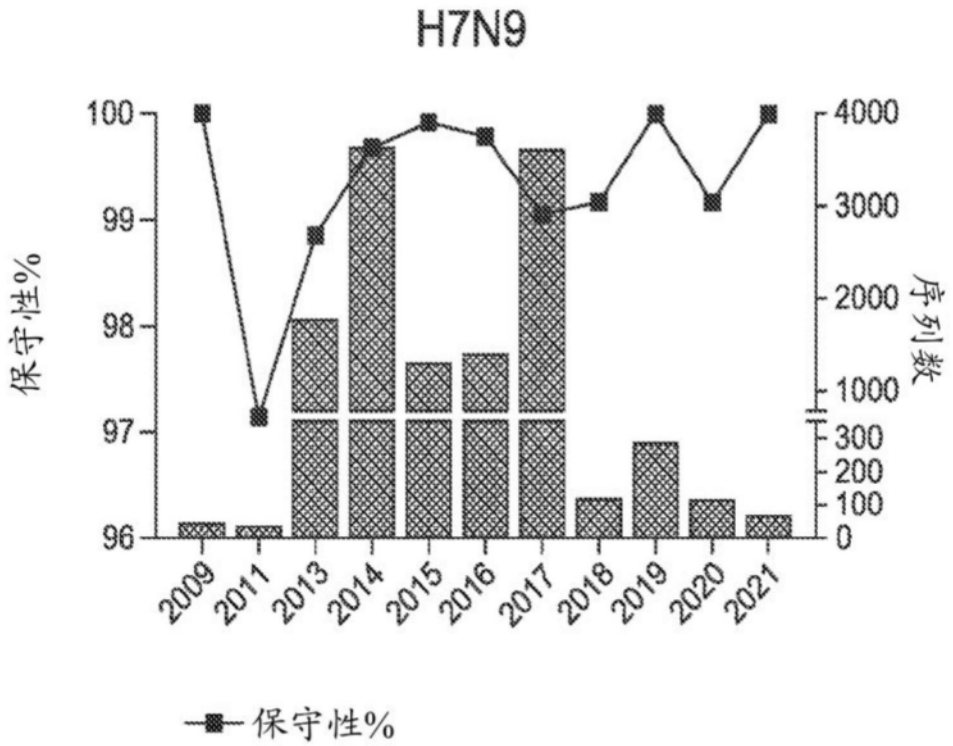

H7N9
100
99
98
97
96
保守性%
4000
3000
2000
1000
300
200
100
0
序列数
2009
2011
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
保守性%

图121F

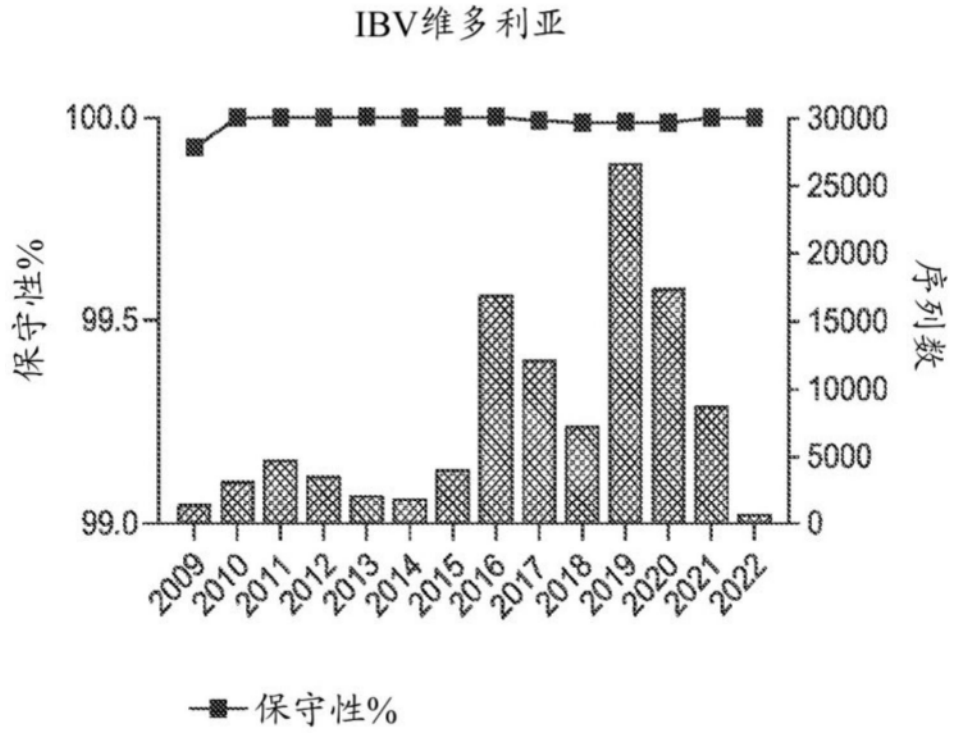

IBV维多利亚
100.0
99.5
99.0
保守性%
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
序列数
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
保守性%

图121G

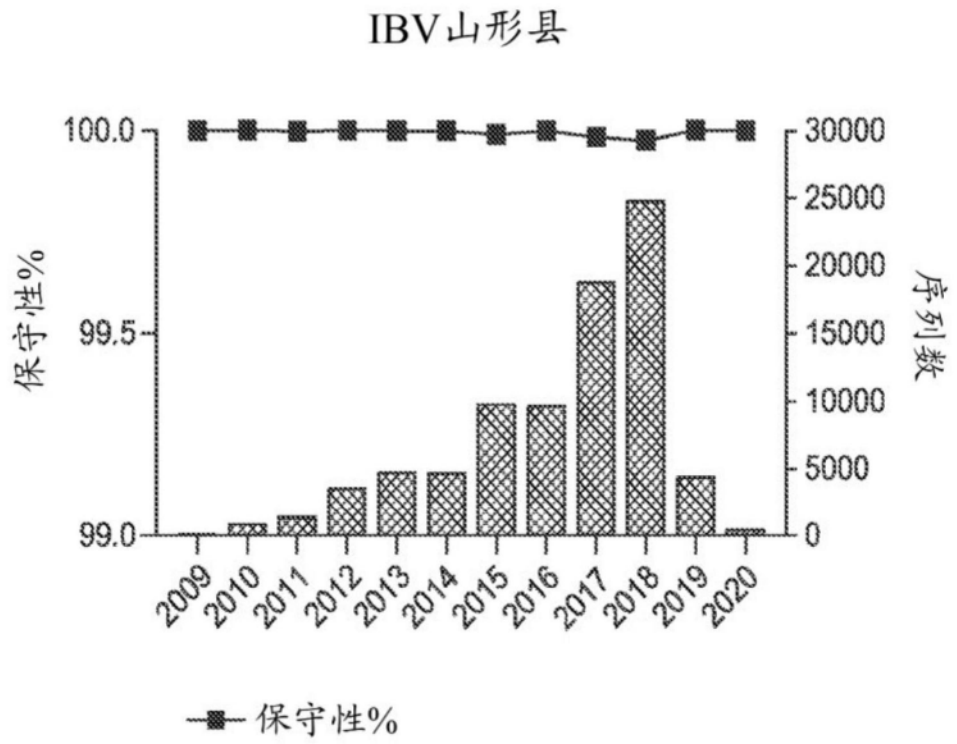

IBV山形县
100.0
99.5
99.0
保守性%
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
序列数
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
保守性%

图121H

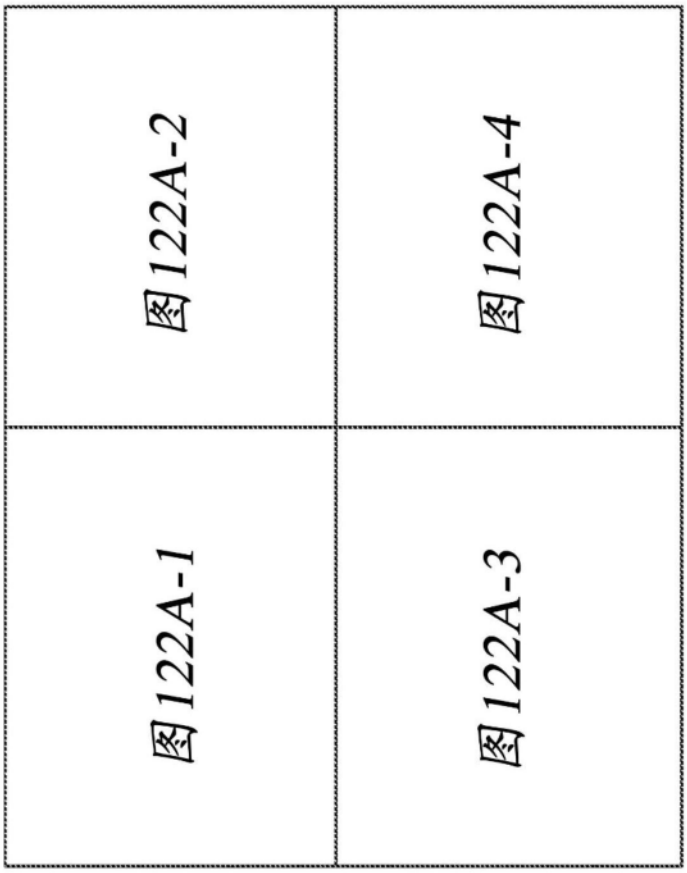


图122A

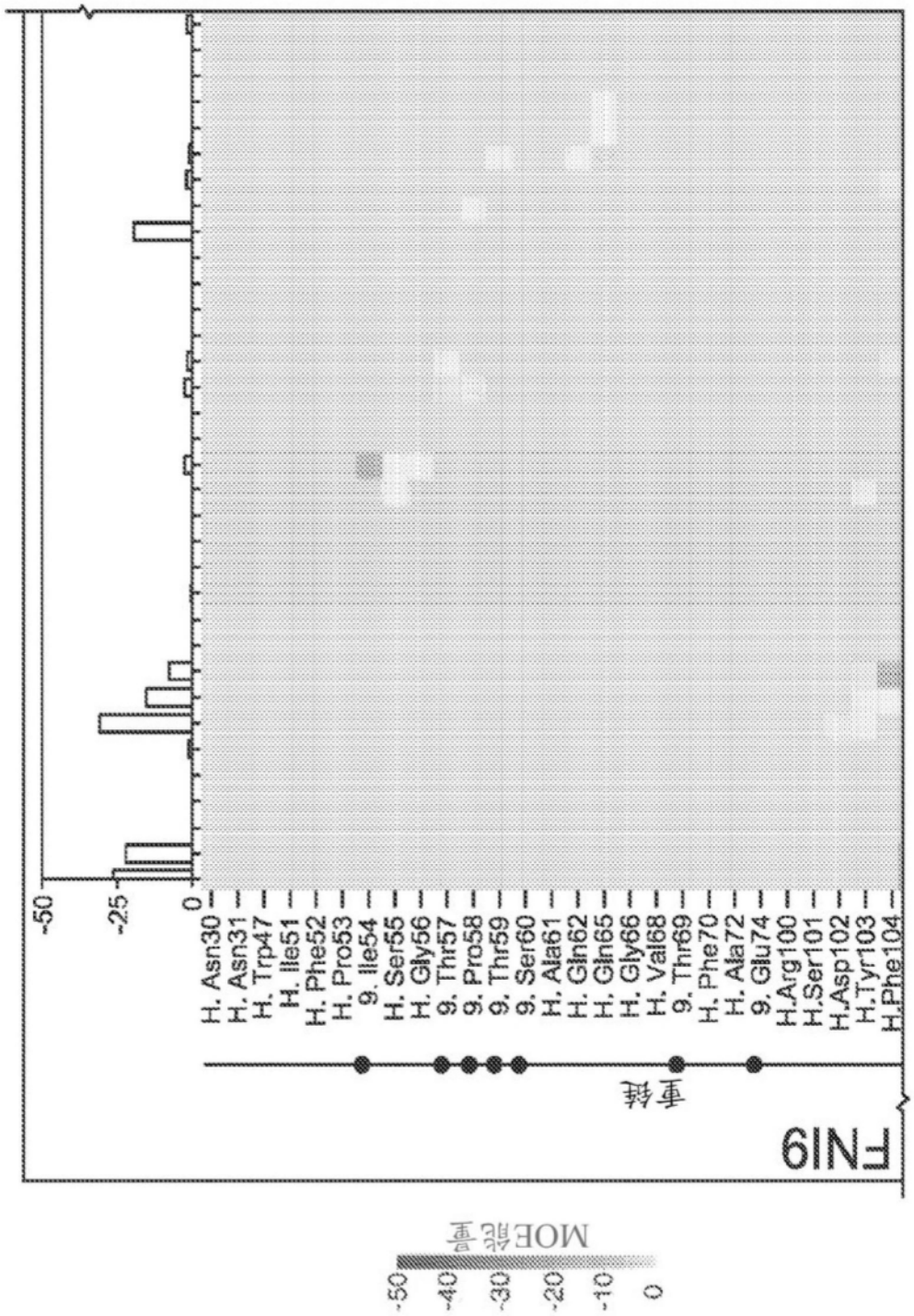

FN19
重链
H. Asn30
H. Asn31
H. Trp47
H. Ile51
H. Phe52
H. Pro53
9. Ile54
H. Ser55
H. Gly56
9. Thr57
9. Pro58
9. Thr59
9. Ser60
H. Ala61
H. Gln62
H. Gln65
H. Gly66
H. Val68
9. Thr69
H. Phe70
H. Ala72
9. Glu74
H.Arg100
H.Ser101
H.Asp102
H.Tyr103
H.Phe104
-50
-25
0
MOE能量
-50
-40
-30
-20
-10
0

图122A-1

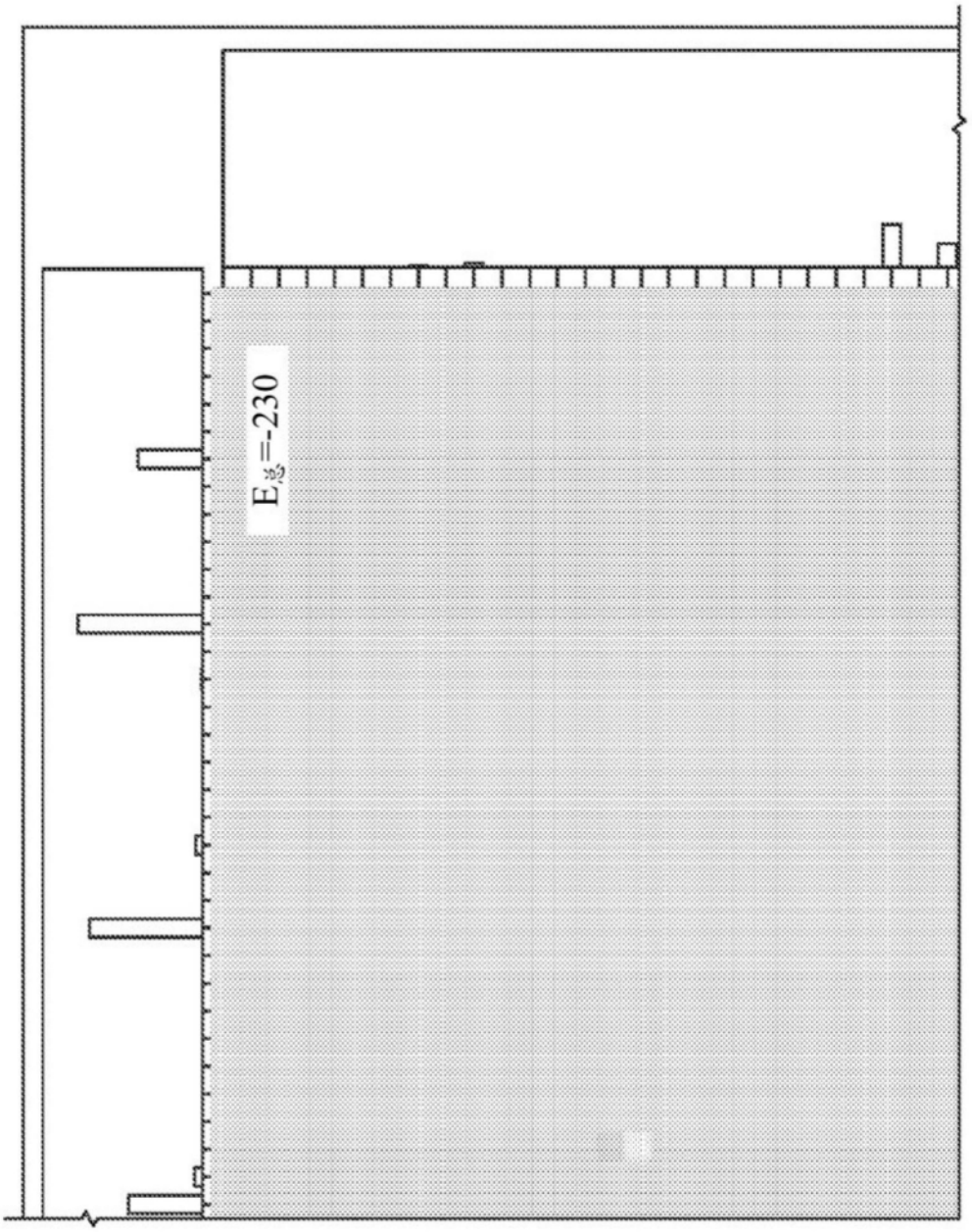


图122A-2

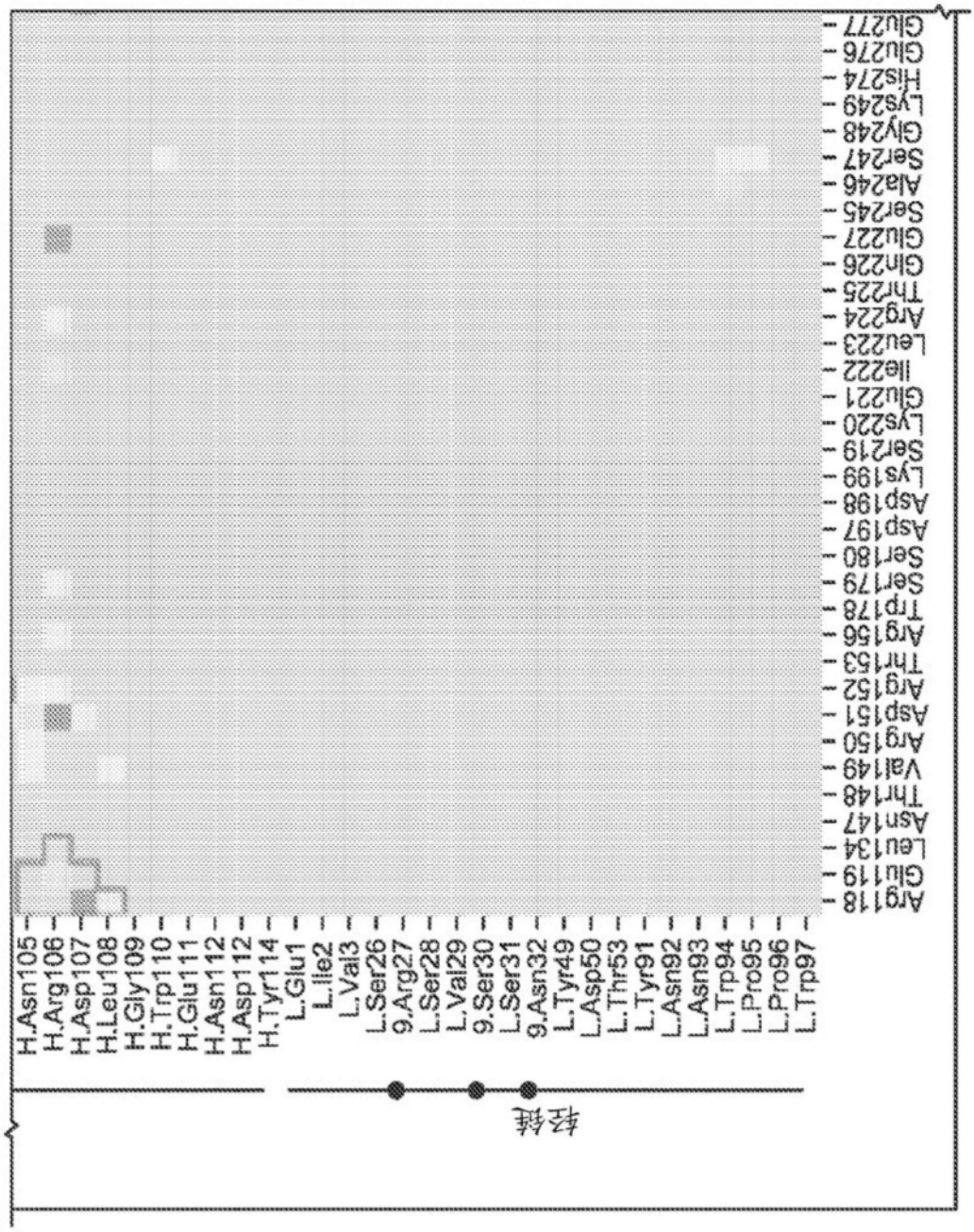

H.Asn105
H.Arg106
H.Asp107
H.Leu108
H.Gly109
H.Trp110
H.Glu111
H.Asn112
H.Asp112
H.Tyr114
L.Glu1
L.Ile2
L.Val3
L.Ser26
9.Arg27
L.Ser28
L.Val29
9.Ser30
L.Ser31
9.Asn32
L.Tyr49
L.Asp50
L.Thr53
L.Tyr91
L.Asn92
L.Asn93
L.Trp94
L.Pro95
L.Pro96
L.Trp97
轻链
Arg118
Glu119
Leu134
Asn147
Thr148
Val149
Arg150
Asp151
Arg152
Thr153
Arg156
Trp178
Ser179
Ser180
Asp197
Asp198
Lys199
Ser219
Lys220
Glu221
Ile222
Leu223
Arg224
Thr225
Gln226
Glu227
Ser245
Ala246
Ser247
Gly248
Lys249
His274
Glu276
Glu277

图122A-3

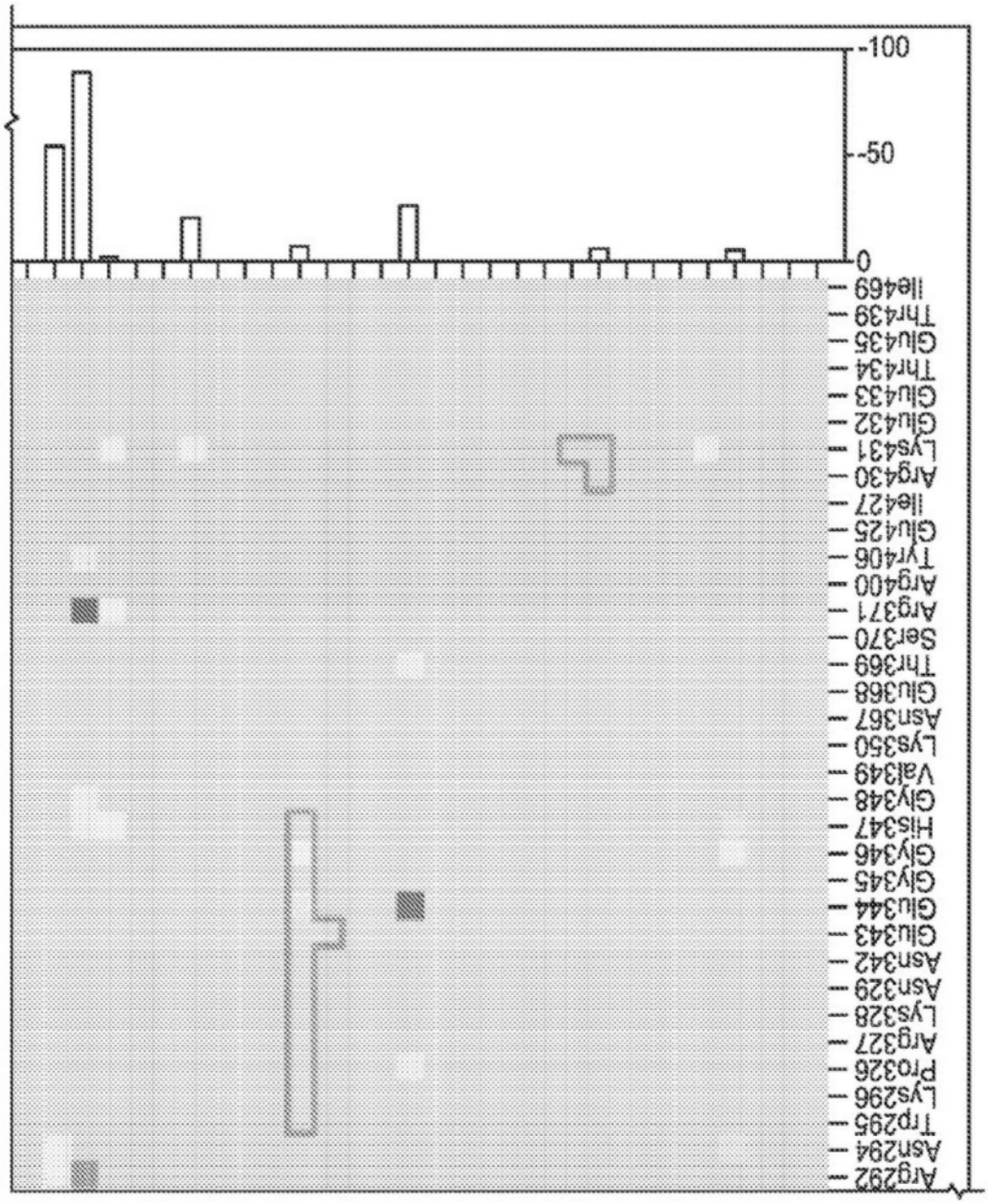

100
50
0
Ile469
Thr439
Glu435
Thr434
Glu433
Glu432
Lys431
Arg430
Ile427
Glu425
Tyr406
Arg400
Arg371
Ser370
Thr369
Glu368
Asn367
Lys350
Val349
Gly348
His347
Gly346
Gly345
Glu344
Glu343
Asn342
Asn329
Lys328
Arg327
Pro326
Lys296
Trp295
Asn294
Arg292

图122A-4

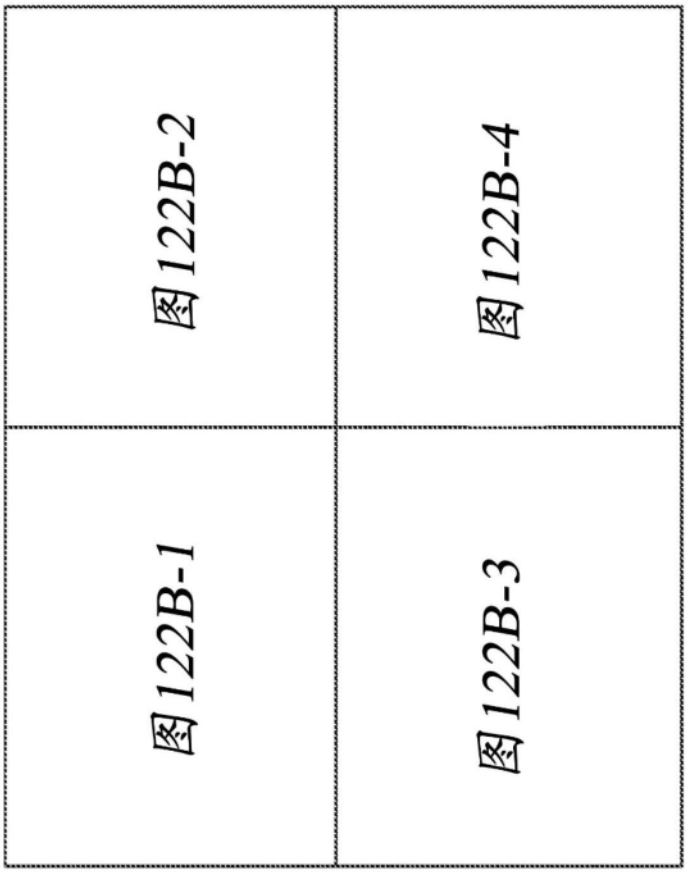


图122B

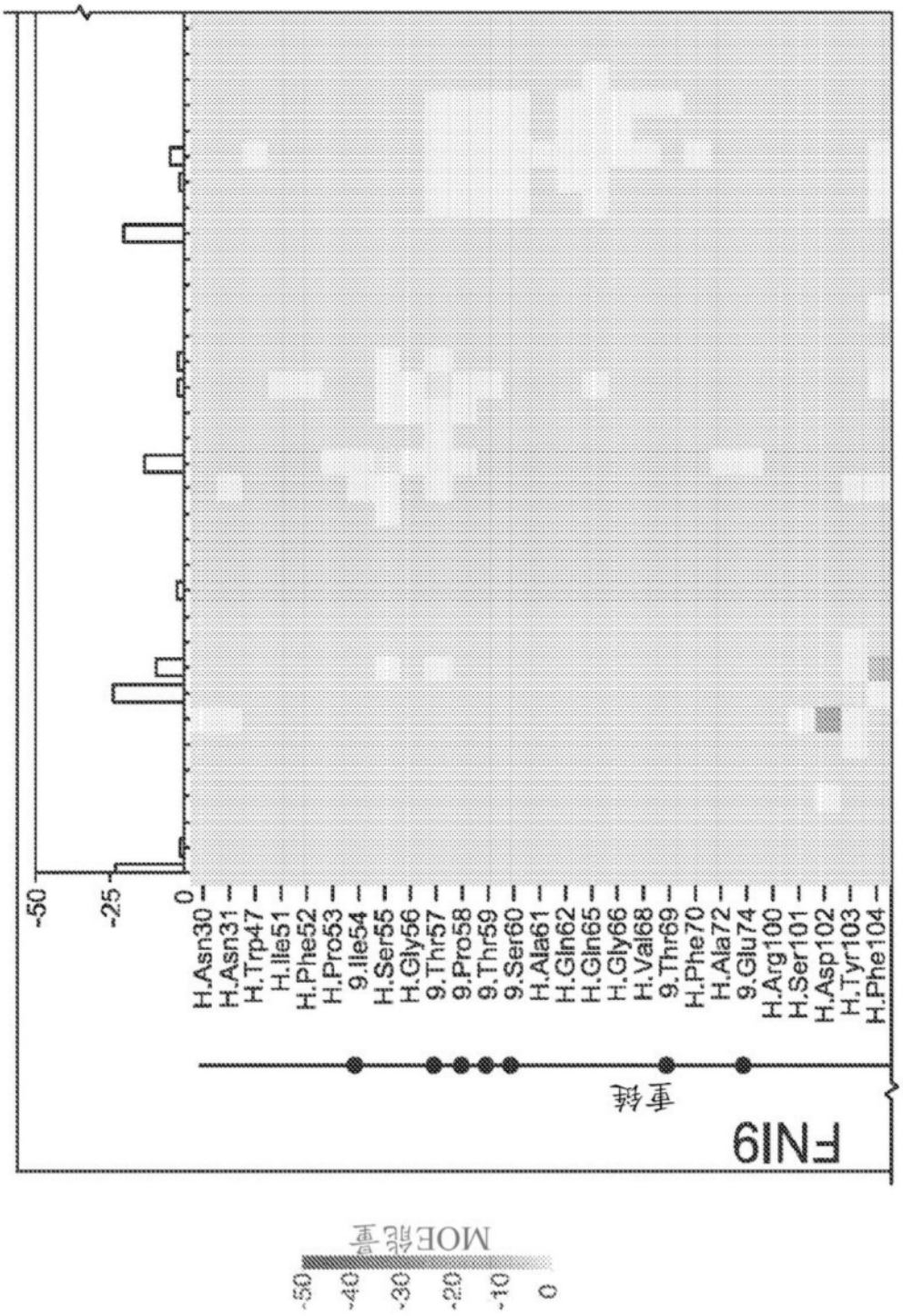

-50
-25
0
H.Asn30
H.Asn31
H.Trp47
H.Ile51
H.Phe52
H.Pro53
9.Ile54
H.Ser55
H.Gly56
9.Thr57
9.Pro58
9.Thr59
9.Ser60
H.Ala61
H.Gln62
H.Gln65
H.Gly66
H.Val68
9.Thr69
H.Phe70
H.Ala72
9.Glu74
H.Arg100
H.Ser101
H.Asp102
H.Tyr103
H.Phe104
重链
FN19
MOE能量
-50
-40
-30
-20
-10
0

图122B-1

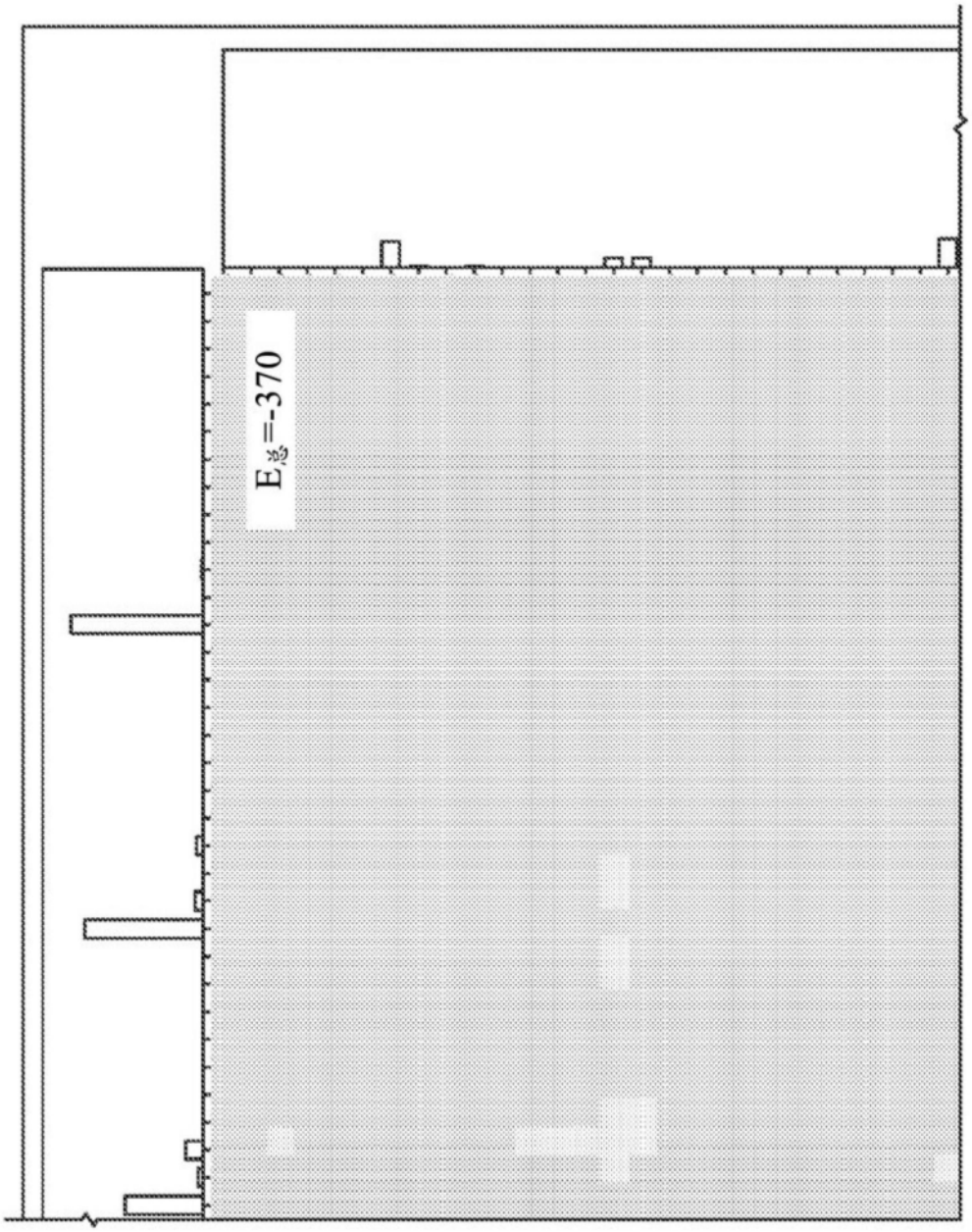


图122B-2

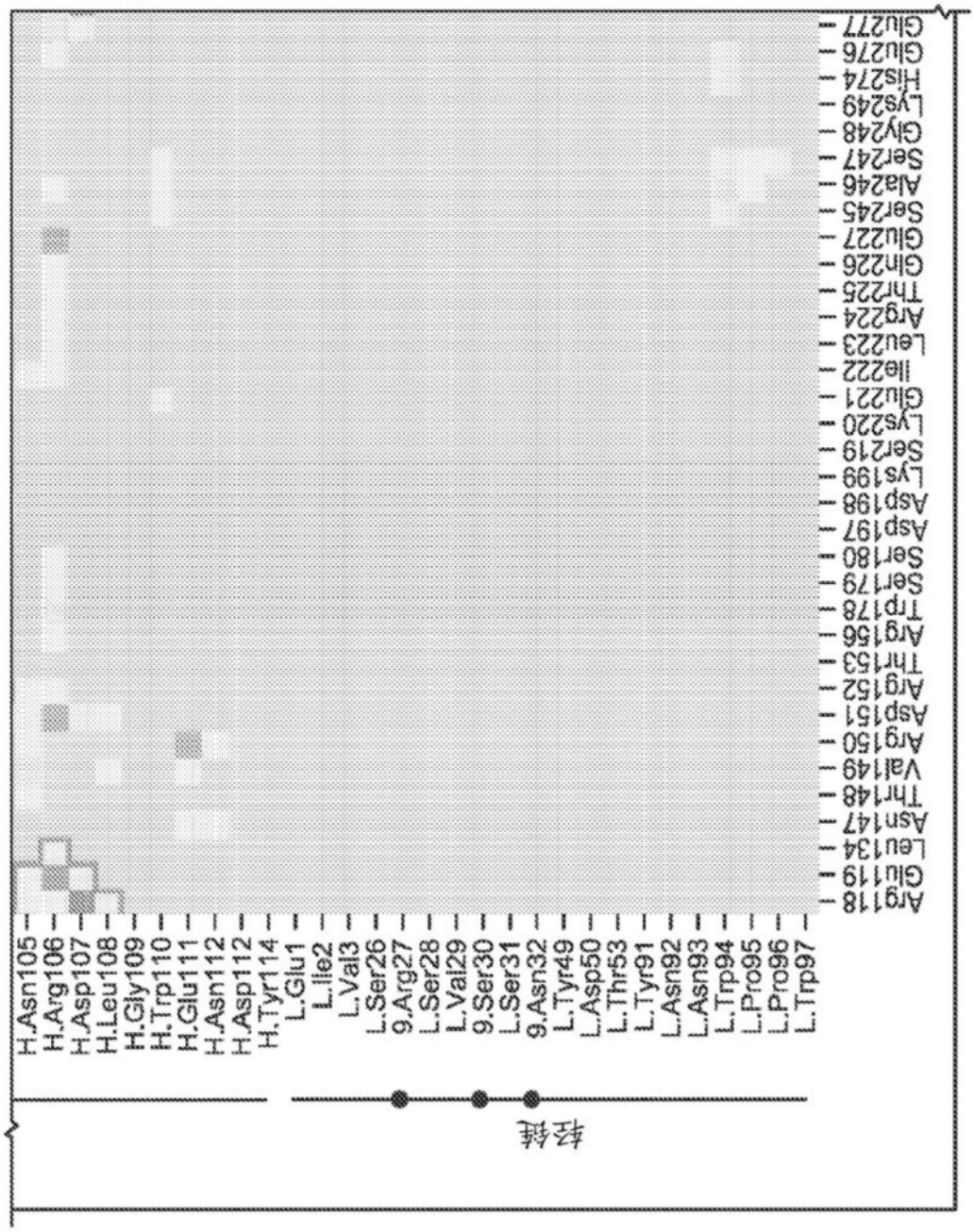

H.Asn105
H.Arg106
H.Asp107
H.Leu108
H.Gly109
H.Trp110
H.Glu111
H.Asn112
H.Asp112
H.Tyr114
L.Glu1
L.Ile2
L.Val3
L.Ser26
9.Arg27
L.Ser28
L.Val29
9.Ser30
L.Ser31
9.Asn32
L.Tyr49
L.Asp50
L.Thr53
L.Tyr91
L.Asn92
L.Asn93
L.Trp94
L.Pro95
L.Pro96
L.Trp97
Arg118
Glu119
Leu134
Asn147
Thr148
Val149
Arg150
Asp151
Arg152
Thr153
Arg156
Trp178
Ser179
Ser180
Asp197
Asp198
Lys199
Ser219
Lys220
Glu221
Ile222
Leu223
Arg224
Thr225
Gln226
Glu227
Ser245
Ala246
Ser247
Gly248
Lys249
His274
Glu276
Glu277
轻链

图122B-3

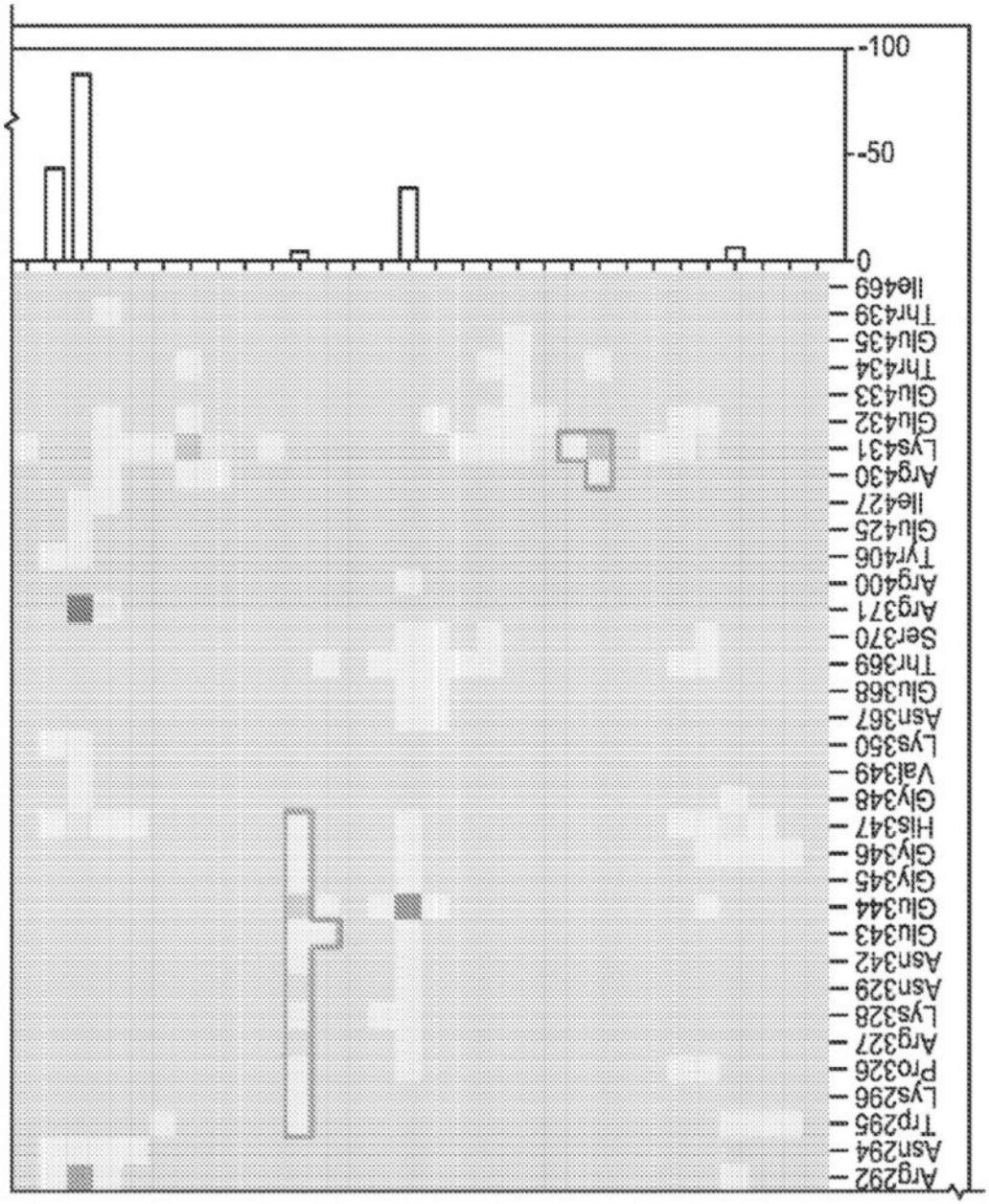

-100
-50
0
Ile469
Thr439
Glu435
Thr434
Glu433
Glu432
Lys431
Arg430
Ile427
Glu425
Tyr406
Arg400
Arg371
Ser370
Thr369
Glu368
Asn367
Lys350
Val349
Gly348
His347
Gly346
Gly345
Glu344
Glu343
Asn342
Asn329
Lys328
Arg327
Pro326
Lys296
Trp295
Asn294
Arg292

图122B-4

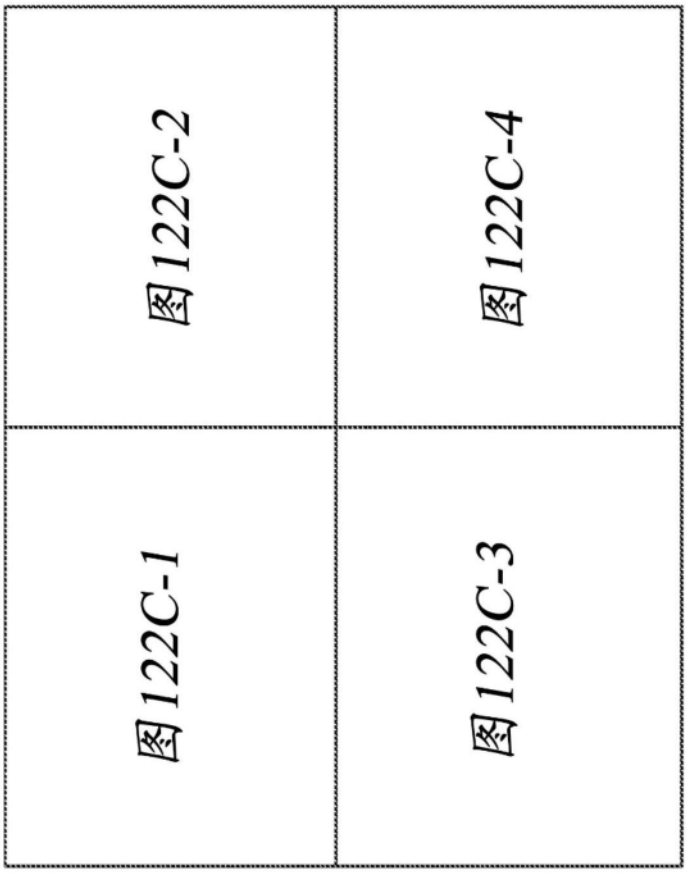


图122C

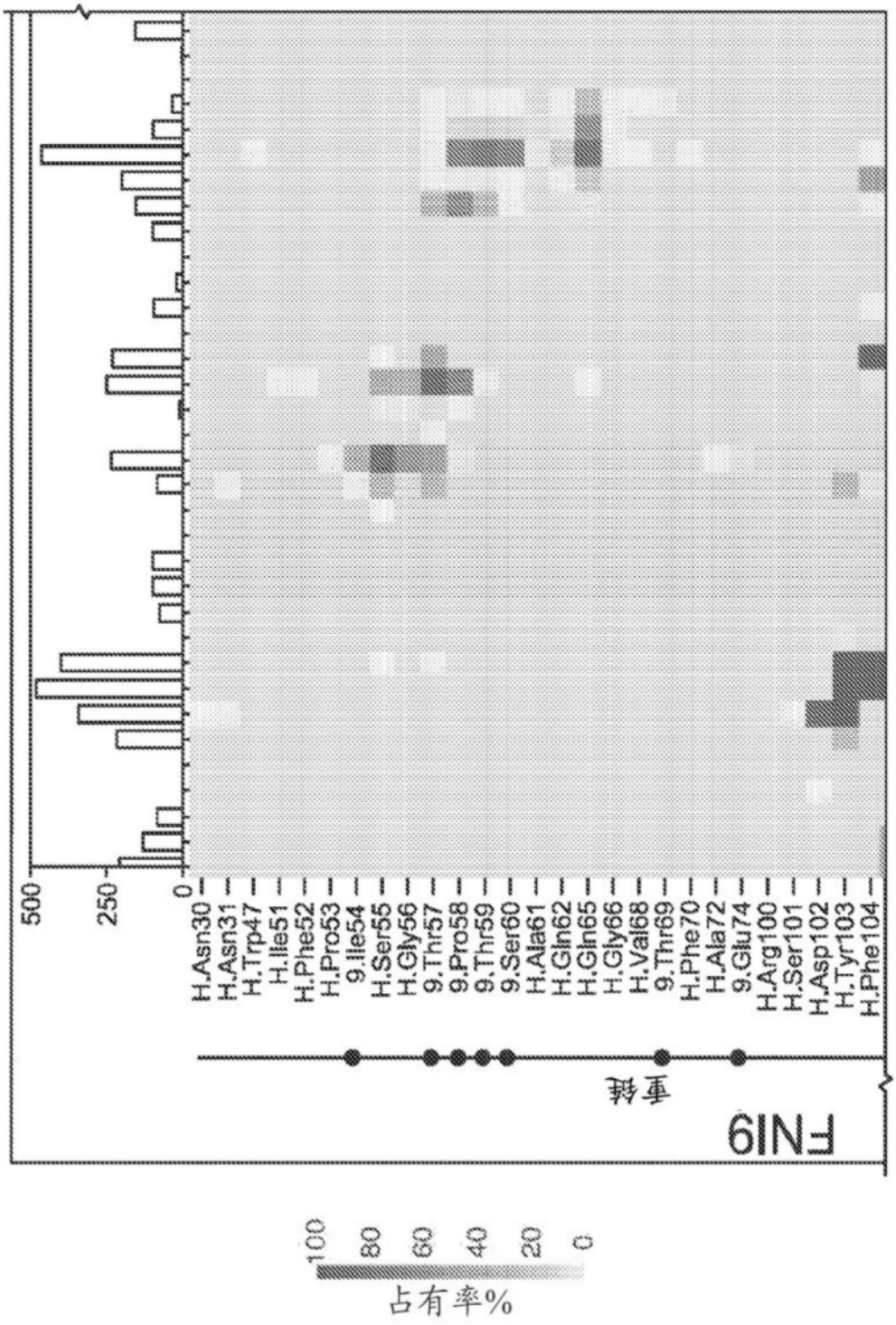

500
250
0
H.Asn30
H.Asn31
H.Trp47
H.Ile51
H.Phe52
H.Pro53
9.Ile54
H.Ser55
H.Gly56
9.Thr57
9.Pro58
9.Thr59
9.Ser60
H.Ala61
H.Gln62
H.Gln65
H.Gly66
H.Val68
9.Thr69
H.Phe70
H.Ala72
9.Glu74
H.Arg100
H.Ser101
H.Asp102
H.Tyr103
H.Phe104
重链
FN19
100
80
60
40
20
0
占有率%

图122C-1

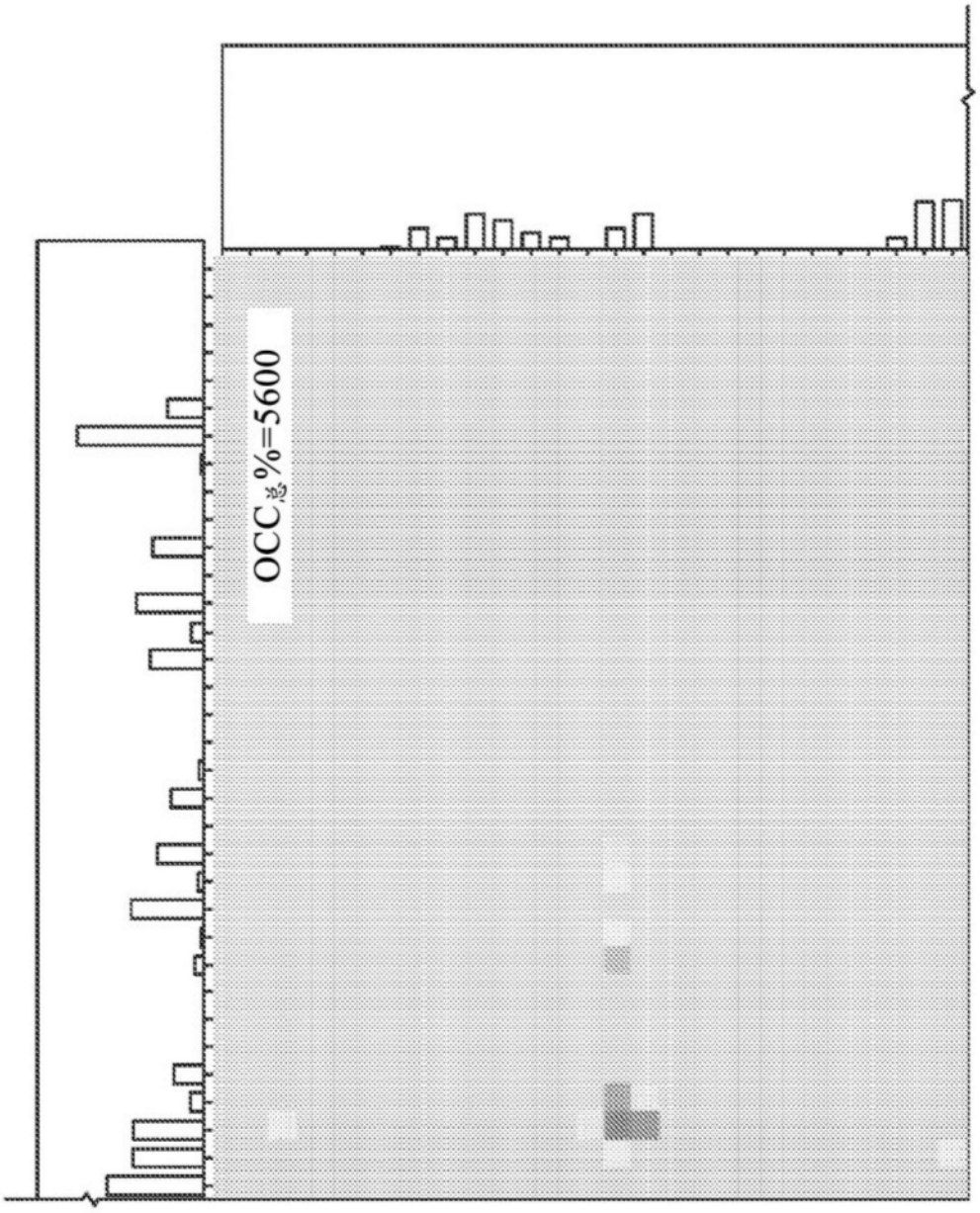


图122C-2

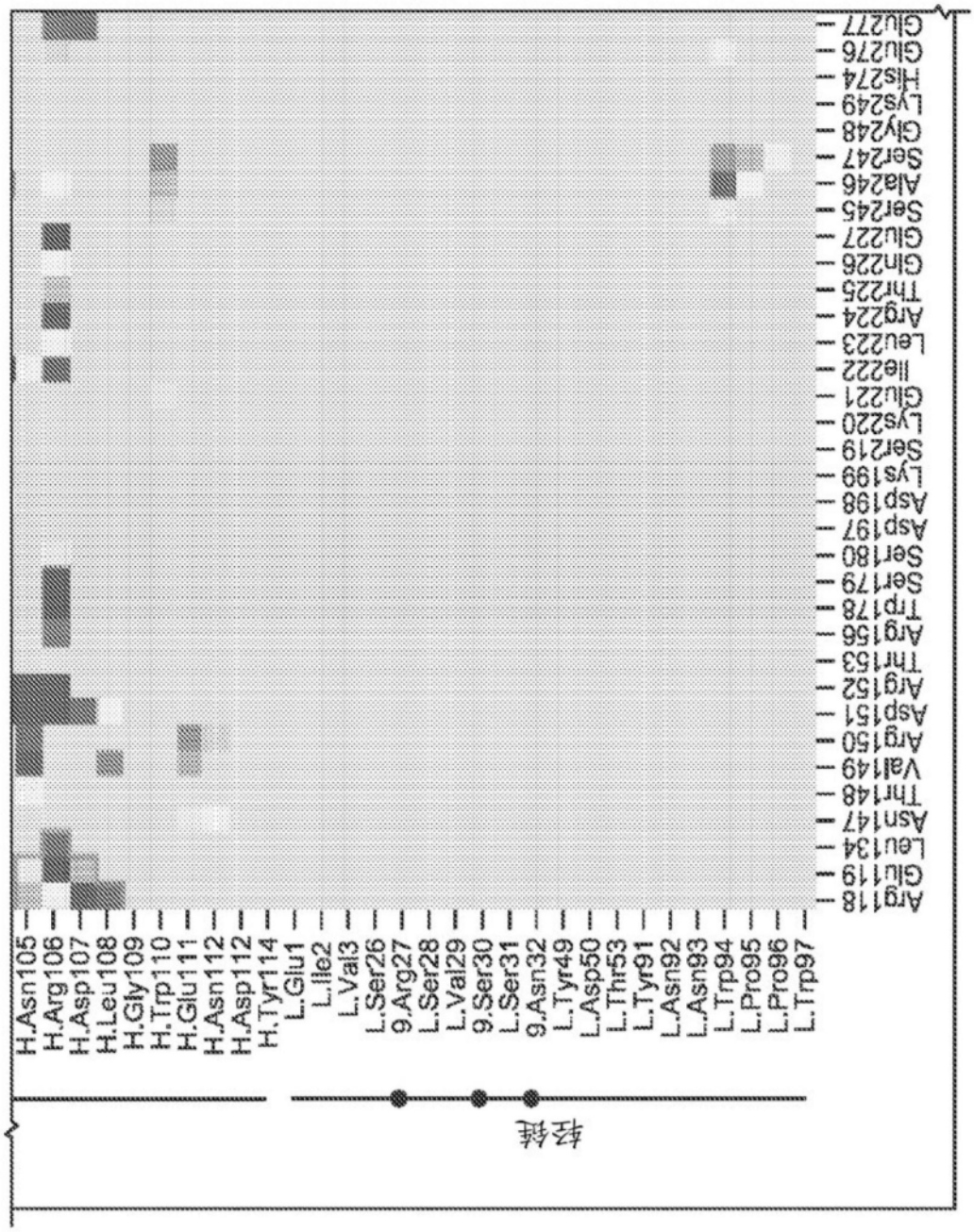

H.Asn105
H.Arg106
H.Asp107
H.Leu108
H.Gly109
H.Trp110
H.Glu111
H.Asn112
H.Asp112
H.Tyr114
L.Glu1
L.Ile2
L.Val3
L.Ser26
9.Arg27
L.Ser28
L.Val29
9.Ser30
L.Ser31
9.Asn32
L.Tyr49
L.Asp50
L.Thr53
L.Tyr91
L.Asn92
L.Asn93
L.Trp94
L.Pro95
L.Pro96
L.Trp97
轻链
Arg118
Glu119
Leu134
Asn147
Thr148
Val149
Arg150
Asp151
Arg152
Thr153
Arg156
Trp178
Ser179
Ser180
Asp197
Asp198
Lys199
Ser219
Lys220
Glu221
Ile222
Leu223
Arg224
Thr225
Gln226
Glu227
Ser245
Ala246
Ser247
Gly248
Lys249
His274
Glu276
Glu277

图122C-3

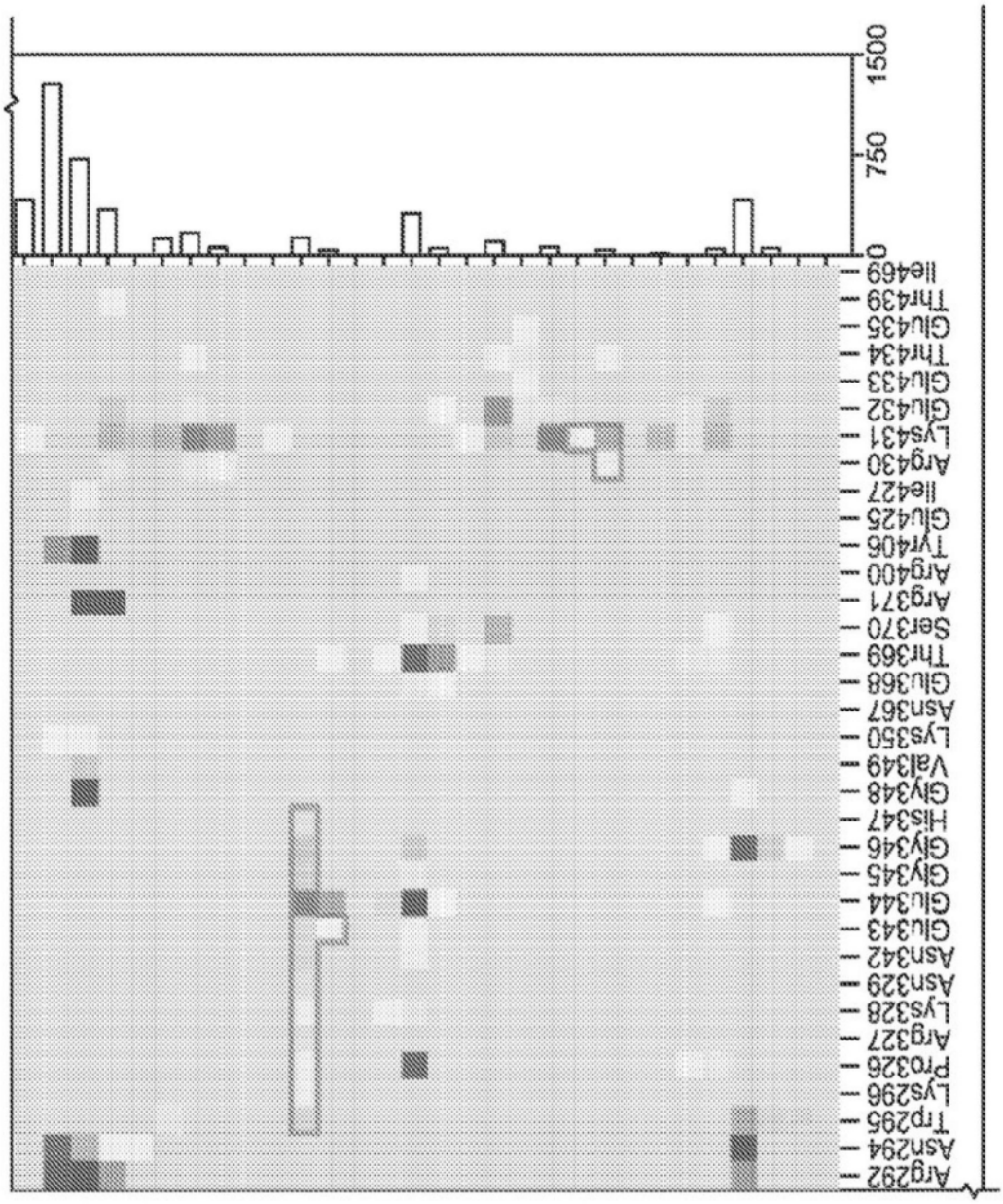

1500
750
0
Ile469
Thr439
Glu435
Thr434
Glu433
Glu432
Lys431
Arg430
Ile427
Glu425
Tyr406
Arg400
Arg371
Ser370
Thr369
Glu368
Asn367
Lys350
Val349
Gly348
His347
Gly346
Gly345
Glu344
Glu343
Asn342
Asn329
Lys328
Arg327
Pro326
Lys296
Trp295
Asn294
Arg292

图122C-4

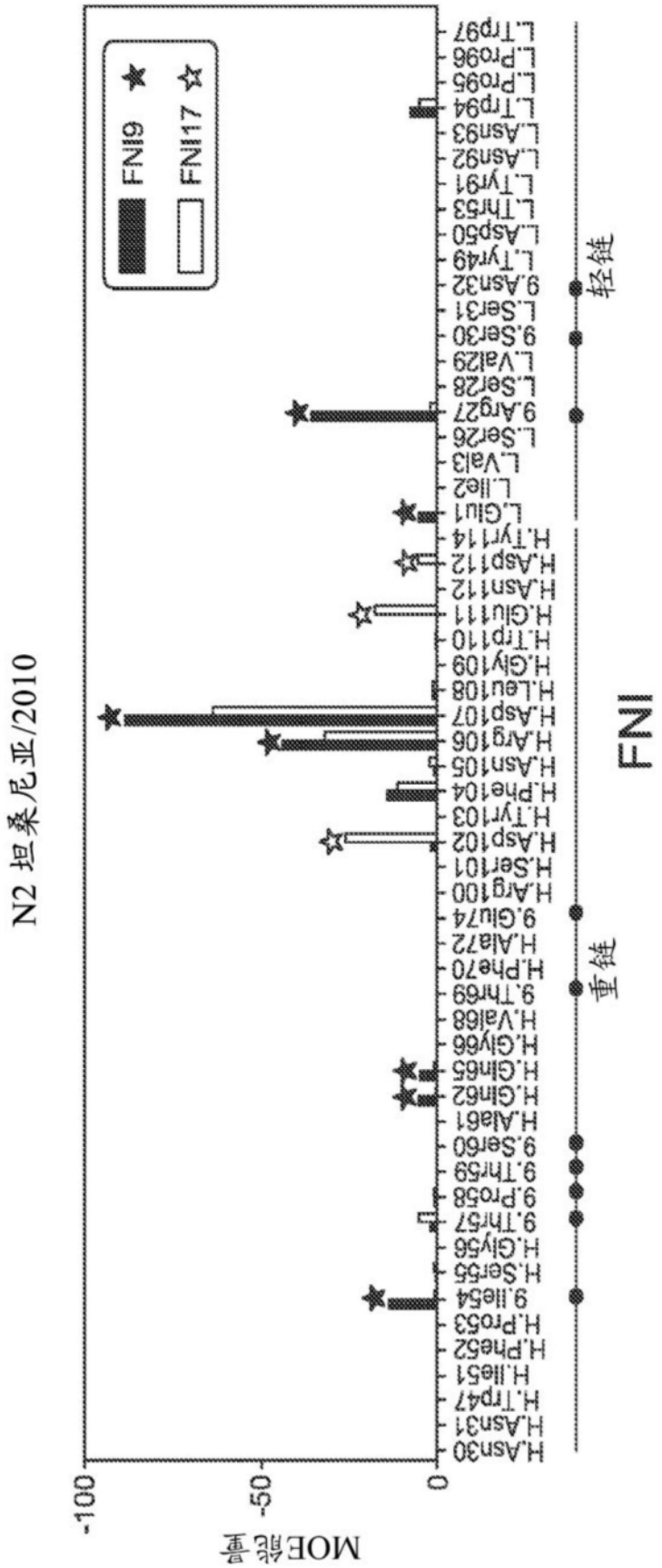

N2 坦桑尼亚/2010
FNI9
FNI17
MOE能量
-100
-50
0
FNI
轻链
重链
H.Asn30
H.Asn31
H.Trp47
H.Ile51
H.Phe52
H.Pro53
9.Ile54
H.Ser55
H.Gly56
9.Thr57
9.Pro58
9.Thr59
9.Ser60
H.Ala61
H.Gln62
H.Gln65
H.Gly66
H.Val68
9.Thr69
H.Phe70
H.Ala72
9.Glu74
H.Arg100
H.Ser101
H.Asp102
H.Tyr103
H.Phe104
H.Asn105
H.Arg106
H.Asp107
H.Leu108
H.Gly109
H.Trp110
H.Glu111
H.Asn112
H.Asp112
H.Tyr114
L.Glu1
L.Ile2
L.Val3
L.Ser26
9.Arg27
L.Ser28
L.Val29
9.Ser30
L.Ser31
9.Asn32
L.Tyr49
L.Asp50
L.Thr53
L.Tyr91
L.Asn92
L.Asn93
L.Trp94
L.Pro95
L.Pro96
L.Trp97

图122D

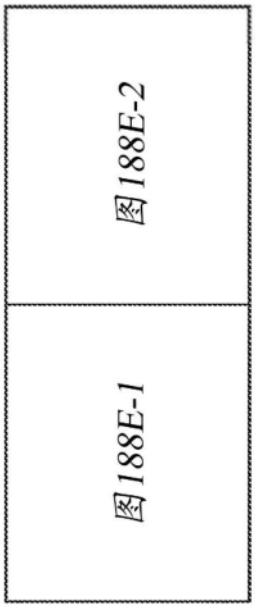


图122E

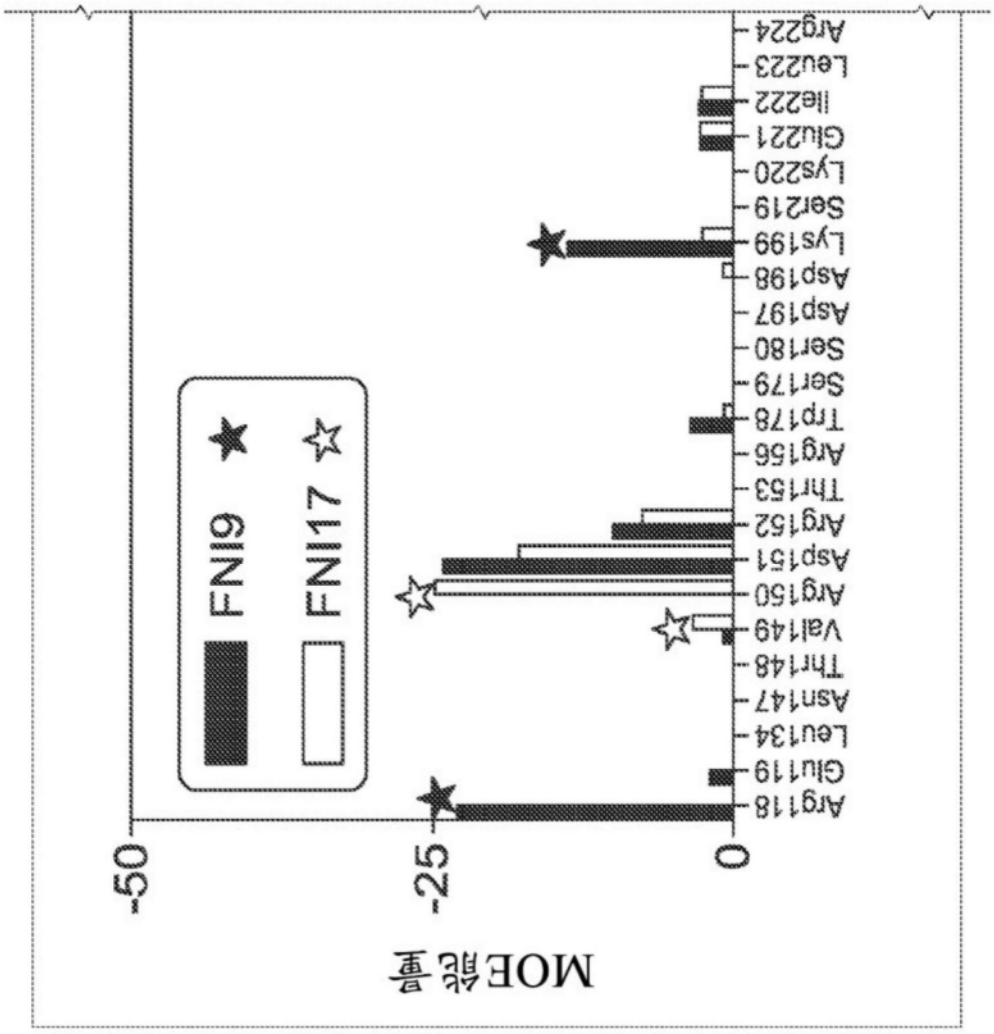

MOE能量
-50
-25
0
FNI9
FNI17
Arg118
Glu119
Leu134
Asn147
Thr148
Val149
Arg150
Asp151
Arg152
Thr153
Arg156
Trp178
Ser179
Ser180
Asp197
Asp198
Lys199
Ser219
Lys220
Glu221
Ile222
Leu223
Arg224

图122E-1

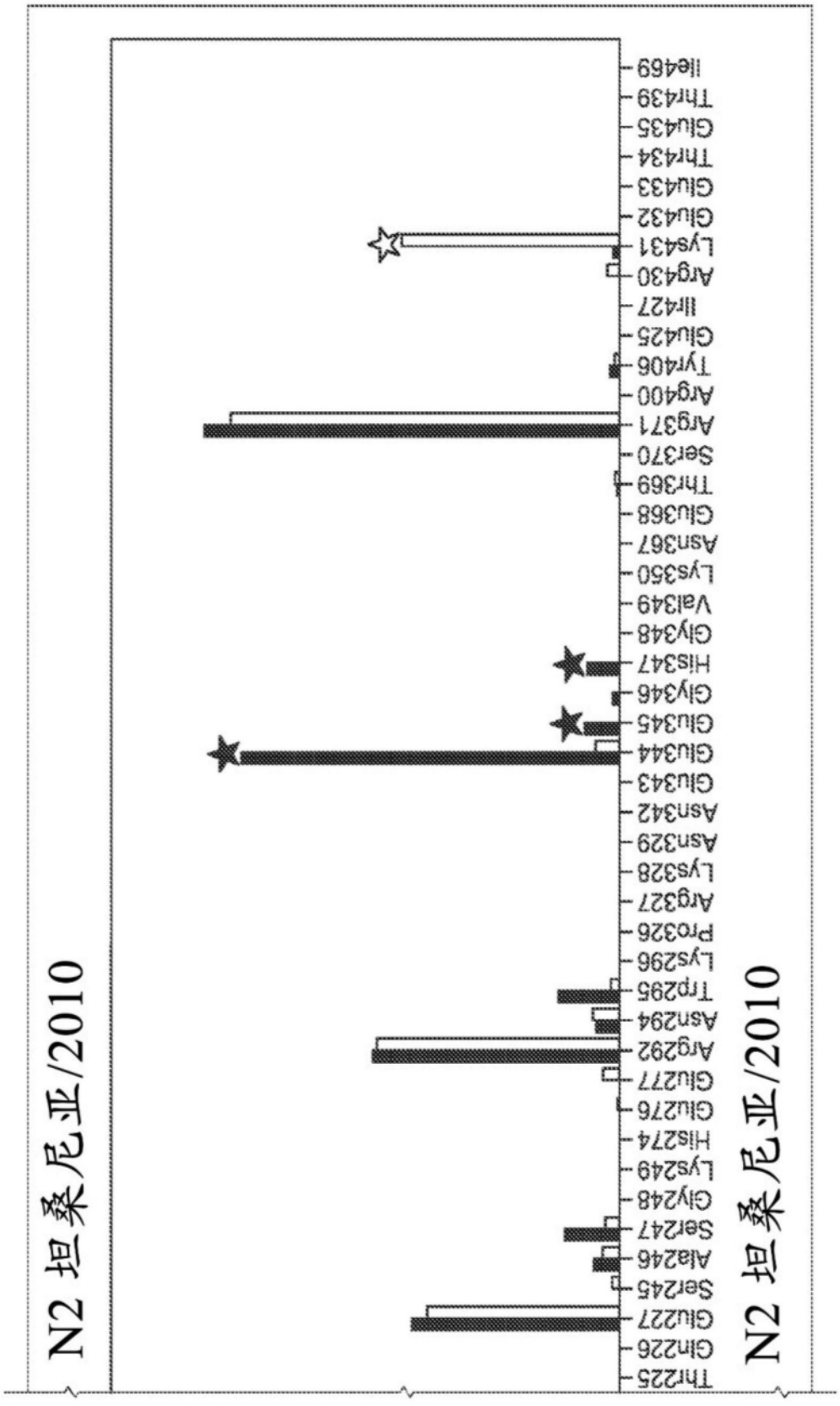

N2 坦桑尼亚/2010
N2 坦桑尼亚/2010
Thr225
Gln226
Glu227
Ser245
Ala246
Ser247
Gly248
Lys249
His274
Glu276
Glu277
Arg292
Asn294
Trp295
Lys296
Pro326
Arg327
Lys328
Asn329
Asn342
Glu343
Glu344
Glu345
Gly346
His347
Gly348
Val349
Lys350
Asn367
Glu368
Thr369
Ser370
Arg371
Arg400
Tyr406
Glu425
Ile427
Arg430
Lys431
Glu432
Glu433
Thr434
Glu435
Thr439
Ile469

图122E-2

			体外中和EC50（μg/mL）			
			FNI9	FNI17	FNI19	1G01
毒株	缩写	组	EC50	EC50	EC50	EC50
A/印第安纳/02/2020	A/IN/2020	H1N1	0.161	0.036	0.150	6.432
A/阿拉巴马/03/2020，NA：H275	A/AL/2020 H275Y	H1N1	0.283	0.060	0.057	19.721
A/伊利诺伊/45/2019	A/IL/2019	H1N1	0.243	0.035	0.039	0.673
A/夏威夷/66/2019	A/HW/2019	H1N1	0.039	0.018	0.021	0.486
A/维多利亚/2570/2019	A/VC/2019	H1N1	0.168	0.036	0.071	15.054
A/爱达荷/07/2018	A/ID/2018	H1N1	0.079	0.022	0.043	0.293
A/密歇根/45/2015	A/MC/2015	H1N1	0.151	0.073	0.062	0.570
A/加利福尼亚/2009	A/CA/2009	H1N1	0.147	0.056	0.094	0.147
A/波多黎各/1934	A/PR8/1934	H1N1	0.028	0.011	0.014	7.606
A/香港/4801/2014	A/HK/2014	H3N2	0.022	0.208	0.122	0.039
A/华盛顿/33/2014，NA：E119V	A/WA/2014 E119V	H3N2	0.079	0.219	0.091	0.062
A/瑞士/9715293/2013	A/SW/2013	H3N2	0.039	0.155	0.094	0.018
A/维多利亚/361/2011	A/VC/2011	H3N2	0.082	0.175	0.091	0.040
A/德克萨斯/12/2007，NA：E119V	A/TX/2007 E119V	H3N2	0.910	0.386	0.349	0.645
A/香港/1968	A/HK/1968	H3N2	0.056	0.104	0.083	0.023
A/达尔文市/6/2021	A/DW/2021	H3N2	1.128	>50	>50	>50
A/密歇根/173/2020	A/MC/2020	H3N2	3.093	33.080	1.363	>50
A/柬埔寨/E0826360/2020	A/CB/2020	H3N2	1.614	16.173	1.474	18.578
A/塔斯马尼亚/503/2020	A/TS/2020	H3N2	2.007	7.183	1.181	19.360
A/南澳大利亚/34/2019	A/SA/2019	H3N2	0.760	2.977	1.108	4.166
A/香港/2671/2019	A/HK/2019	H3N2	0.073	5.068	0.190	10.614
A/堪萨斯/14/2017	A/KS/2017	H3N2	0.284	0.485	0.559	4.522
A/瑞士/8060/2017	A/SW/2017	H3N2	0.063	0.029	0.031	0.342
A/新加坡/INFIMH-16-0019/2016	A/SG/2016	H3N2	0.162	>50	0.916	>50
B/奥地利/1359417/2021	B/AS/2021	维多利亚	0.032	0.030	0.031	4.331
B/华盛顿/02/2019	B/WA/2019	维多利亚	0.031	0.019	0.063	4.388
B/布里斯班/35/2018	B/BR/2018	维多利亚	0.026	0.059	0.017	>50
B/北卡罗来纳/25/2018	B/NC/2018	维多利亚	0.044	0.040	0.087	4.415
B/密苏里/12/2018 NA：D197E	B/MS/2018 D197E	维多利亚	0.178	0.033	0.160	7.326
B/科罗拉多/6/2017	B/CL/2017	维多利亚	0.669	0.042	1.171	1.632
B/老挝/0654/2016，NA：134N	B/LS/2016 134N	维多利亚	0.031	0.017	0.026	>50
B/老挝/0080/2016	B/LS/2016	维多利亚	0.047	0.018	0.029	>50
B/布里斯班/60/2008	B/BR/2008	维多利亚	1.161	NT	NT	>50
B/犹他/9/2014	B/UT/2014	山形县	0.245	0.392	0.445	>50
B/普吉岛/3073/2013	B/PK/2013	山形县	0.193	0.117	0.222	>50
B/马萨诸塞/2/2012	B/MA/2012	山形县	0.204	0.125	0.472	>50
B/德克萨斯/6/2011	B/TX/2011	山形县	0.104	0.085	0.737	>50
B/Lee/1940	B/LEE/1940	祖先	0.051	0.107	0.534	>50

图123

来自H3N2季节性病毒的N2抗原的列表，这些抗原具有或没有聚糖245并且具有通过SPR测得的与FNI Fab和1G01 Fab的对应亲和力（KD）

N2抗原	核苷酸突变	N245聚糖	KD(nM)			
			1G01	FNI9	FNI17	FNI19
N2 A/香港/2671/2019	N/A	否	<0.02	3.49	122	3.71
N2 A/香港/2671/2019 N245S	AGC	是	375	16.0	2095	15.1
N2 A/瑞士/8060/2017	N/A	否	<0.02	4.76	353	4.42
N2 A/瑞士/8060/2017 N245S	AGC	是	398	17.1	3376	17.6
N2 A/坦桑尼亚/205/2010 S245N 247T	AAT, ACA	否	<0.02	4.08	27.3	N.Q (*)
N2 A/坦桑尼亚/205/2010	N/A	是	194	5.00	234	8.55

表中列出了指定氨基酸突变的密码子。每个KD值是2次技术重复的平均值。N/A: 不适用

图124

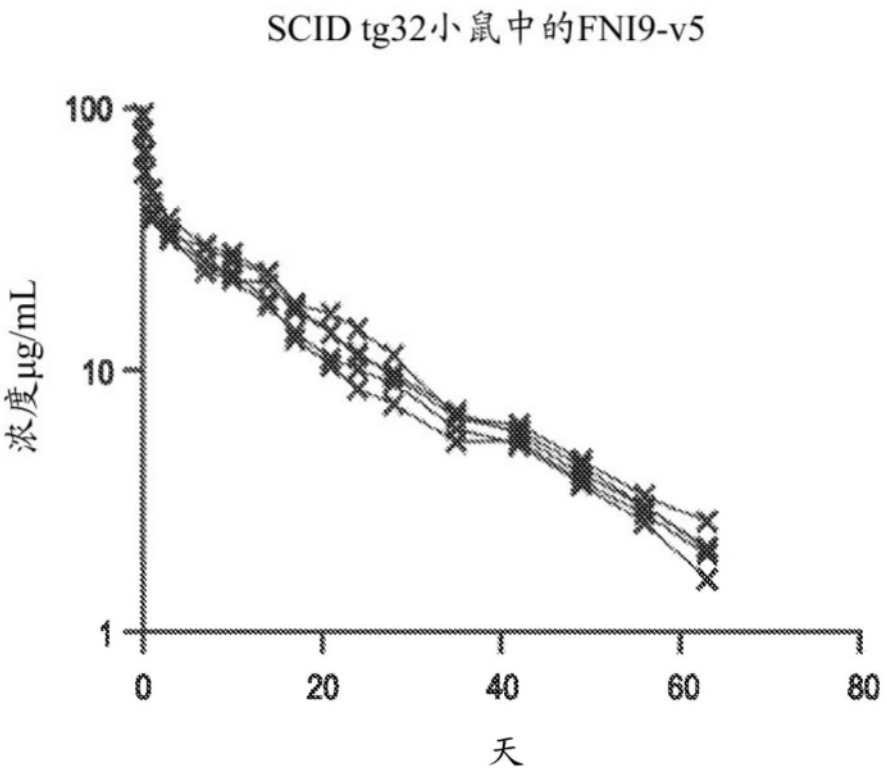

SCID tg32小鼠中的FNI9-v5
100
10
1
浓度μg/mL
0
20
40
60
80
天

图125A

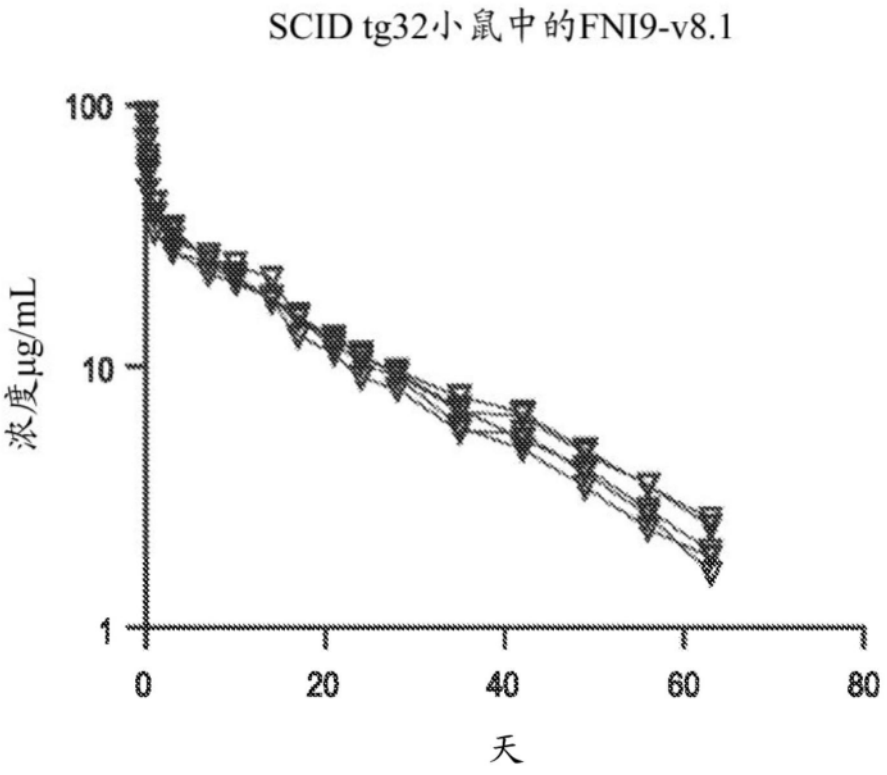

SCID tg32小鼠中的FNI9-v8.1
100
10
1
浓度μg/mL
0
20
40
60
80
天

图125B

抗体	动物ID	剂量（μg）	R平方	λ_z数据点数
FNI9-v5-rIgG1-LS	878.00	95.00	0.98	13.00
	879.00	100.00	0.99	13.00
	880.00	90.00	1.00	13.00
	881.00	95.00	0.99	13.00
	882.00	100.00	0.97	13.00
	平均值	96.000	0.986	13.000
	SD	4.183	0.012	0.000
FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS	883.00	95.00	0.99	13.00
	884.00	90.00	0.98	13.00
	885.00	90.00	0.98	13.00
	886.00	100.00	1.00	13.00
	887.00	90.00	0.99	13.00
	平均值	93.000	0.990	13.000
	SD	4.472	0.007	0.000

图126A

抗体	动物ID	λ_z（1天）	HL_λ_z（天）	Cmax (μg/ml)
FNI9-v5-rIgG1-LS	878.00	0.04	15.91	94.23
	879.00	0.05	14.41	104.97
	880.00	0.04	15.65	82.09
	881.00	0.05	14.75	80.74
	882.00	0.05	15.30	94.84
	平均值	0.046	15.203	91.373
	SD	0.002	0.622	10.054
FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS	883.00	0.04	17.53	71.88
	884.00	0.04	17.42	90.41
	885.00	0.05	15.10	82.49
	886.00	0.05	15.09	73.77
	887.00	0.05	15.12	92.43
	平均值	0.043	16.050	82.196
	SD	0.003	1.301	9.351

图126B

抗体	动物ID	AUClast（天*μg/ml）	AUClast_D（天*μg/ml/μg）	AUCINF_obs（天*μg/ml）
FNI9-v5-rIgG1-LS	878.00	829.18	8.73	889.73
	879.00	885.13	8.85	928.12
	880.00	762.67	8.47	810.07
	881.00	708.04	7.45	741.91
	882.00	728.82	7.29	772.57
	平均值	782.769	8.159	828.480
	SD	73.369	0.735	78.485
FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS	883.00	730.71	7.69	792.44
	884.00	780.77	8.68	846.53
	885.00	702.29	7.80	737.28
	886.00	691.69	6.92	732.08
	887.00	776.59	8.61	817.47
	平均值	736.011	7.939	785.160
	SD	40.686	0.727	49.930

图126C

抗体	动物ID	AUCINF_D_obs（天*μg/ml/μg）	Ctau (μg/ml)	Cavg (μg/ml)
FNI9-v5-rIgG1-LS	878.00	9.37	43.54	62.79
	879.00	9.28	48.69	67.51
	880.00	9.00	39.25	54.49
	881.00	7.81	37.62	53.60
	882.00	7.73	48.40	65.49
	平均值	8.637	43.500	60.774
	SD	0.805	5.088	6.378
FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS	883.00	8.34	32.96	46.04
	884.00	9.41	42.14	58.91
	885.00	8.19	38.12	53.20
	886.00	7.32	37.47	52.48
	887.00	9.08	41.68	60.34
	平均值	8.469	38.472	54.195
	SD	0.816	3.717	5.709

图126D

抗体	动物ID	CLss（ml/天）	Vz (ml)
FNI9-v5-rIgG1-LS	878.00	1.51	34.73
	879.00	1.48	30.79
	880.00	1.65	37.28
	881.00	1.77	37.72
	882.00	1.53	33.71
	平均值	1.589	34.847
	SD	0.121	2.829
FNI9-v8.1-rIgG1m3-LS	883.00	2.06	52.19
	884.00	1.53	38.39
	885.00	1.69	36.84
	886.00	1.91	41.48
	887.00	1.49	32.53
	平均值	1.736	40.286
	SD	0.245	7.396

图126E

组织滴定（FNI9-v8.1-AF488）

样品:	人组织

阳性染色强度、频率和位置的评估											非特异性染色（用FNI9-v8.1-AF488、ctrl-IgG1-AF488和抗体稀释液）
组织	如下浓度（μg/mL）（保留2位有效数字）下的阳性染色强度和频率等级						阳性染色描述				
	1.25		0.16		0.020		细胞类型/结构	备注			
	I	F	I	F	I	F					
肾上腺	-	-	-	-	-	-	N/A	N/A			N/A
膀胱	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
血细胞	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
骨髓	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			分散的单核细胞。
乳腺	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			一些导管中的细胞外染色。
小脑	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
脑皮质	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
内皮	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
眼	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A 注意：虹膜和RPE中存在色素沉着
输卵管	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			N/A
食管	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			粘液
胃窦	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			大量分散的单核细胞和粘液。
胃体	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			大量分散的单核细胞和粘液。
十二指肠	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			偶见分散的单核细胞和粘液。
回肠	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A			分散的单核细胞和粘液

图127A

组织滴定（FNI9-v8.1-AF488）

样品：	人组织									
阳性染色强度、频率和位置的评估									非特异性染色（用FNI9-v8.1-AF488、ctrl-IgG1-AF488和抗体稀释液）	
组织	如下浓度（μg/mL）（保留2位有效数字）下的阳性染色强度和频率等级						阳性染色描述			
	1.25		0.16		0.020					
	I	F	I	F	I	F	细胞类型/结构	备注		
结肠	"	--	--	--	--	--	N/A	N/A	分散的单核细胞和粘液。	
心脏	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
肾	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
肝	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
肺	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	极其偶见单核细胞。 注意：存在色素	
淋巴结	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	极其偶见单核细胞。	
卵巢	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
胰腺	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
腮腺	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	偶见弥漫性腺体染色。	
周围神经	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
垂体	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
胎盘	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	极其偶见分散的单核细胞。	
前列腺	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
皮肤	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A 注意：基底上皮中存在色素	
肾髓	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
脾	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	N/A	
横纹肌	"	"	"	"	"	"	N/A	N/A	偶见分散的单核细胞。	

图127B

组织滴定（FNI9-v8.1-AF488）

样品:	人组织

阳性染色强度、频率和位置的评估								阳性染色描述		非特异性染色（用FNI9-v8.1-AF488、ctrl-IgG1-AF488和抗体稀释液）
组织	如下浓度（μg/mL）（保留2位有效数字）下的阳性染色强度和频率等级							细胞类型/结构	备注	
	1.25		0.16		0.020					
	I	F	I	F	I	F				
睾丸	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
胸腺	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	偶见分散的单核细胞。
甲状腺	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
扁桃体	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
输尿	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
子宫颈	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
子宫内膜	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A
FLU阳性细胞	4	++++	4	++	3	++		FLU阳性细胞	膜和细胞质。整个制备过程中的单独细胞。	N/A
FLU阴性细胞	-	-	-	-	-	-		N/A	N/A	N/A

图127C

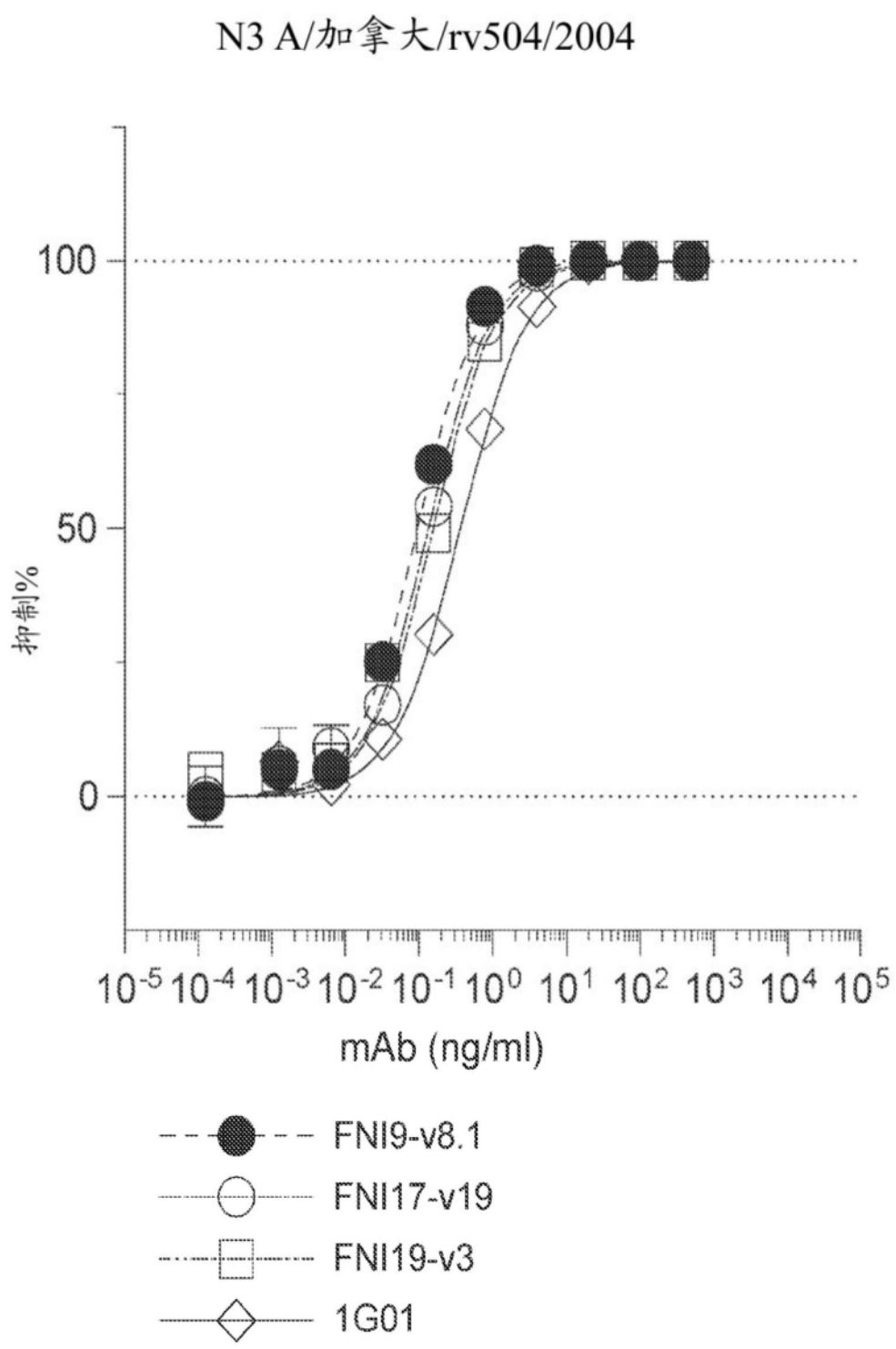

N3 A/加拿大/rv504/2004
100
50
0
抑制%
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图128A

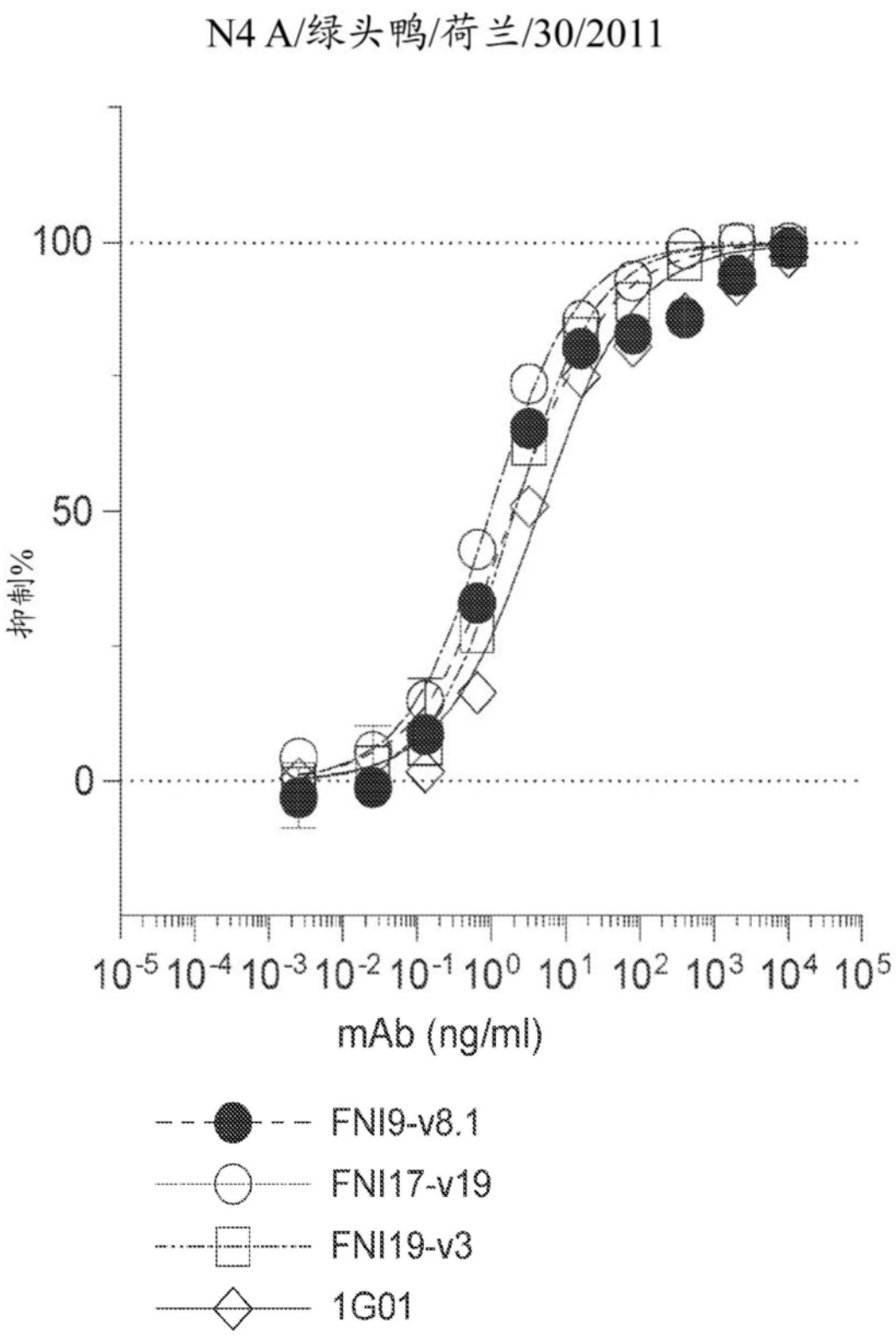

N4 A/绿头鸭/荷兰/30/2011
100
50
0
抑制%
10^{-5} 10^{-4} 10^{-3} 10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图128B

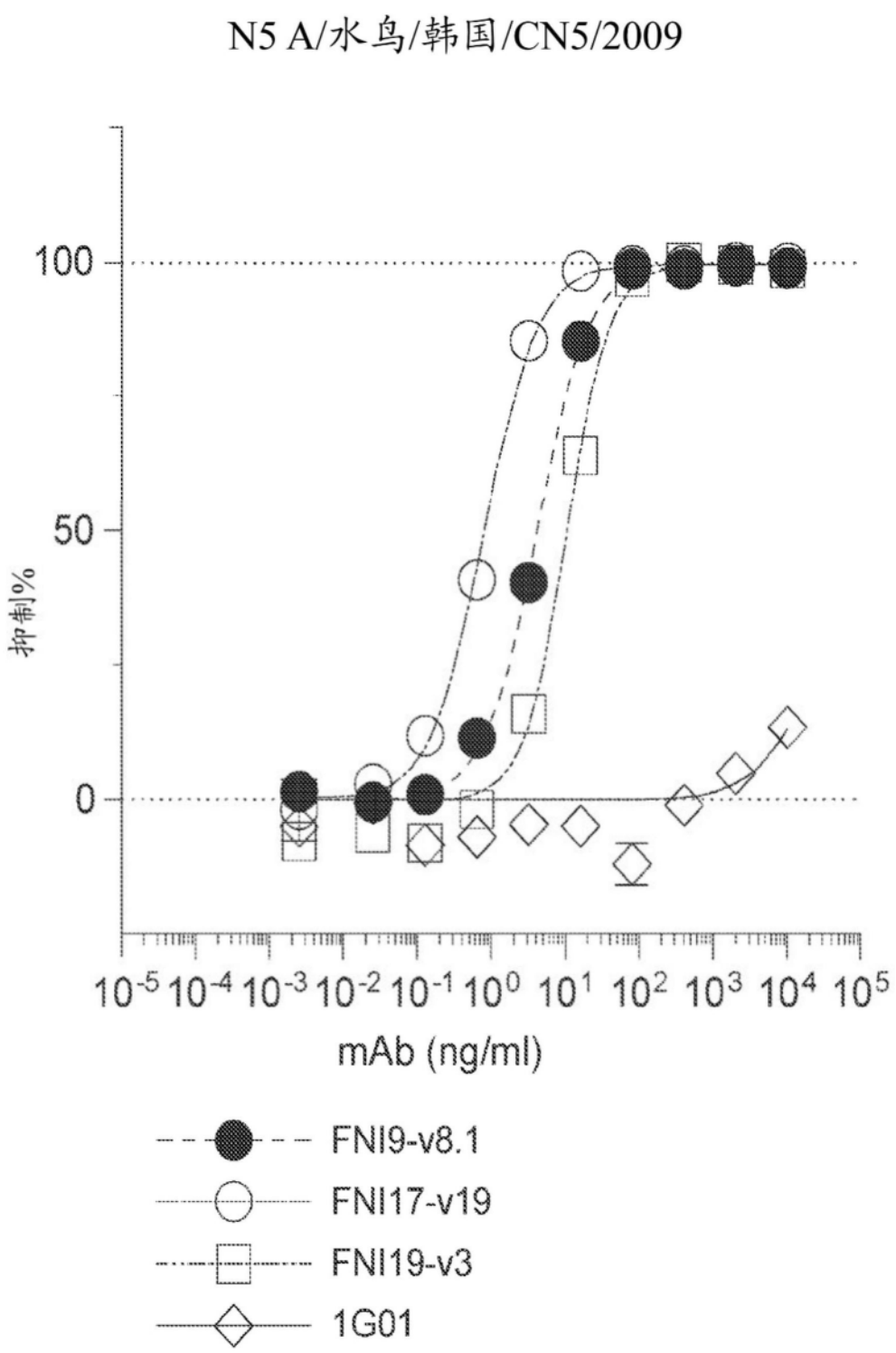

N5 A/水鸟/韩国/CN5/2009
100
50
0
抑制%
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图128C

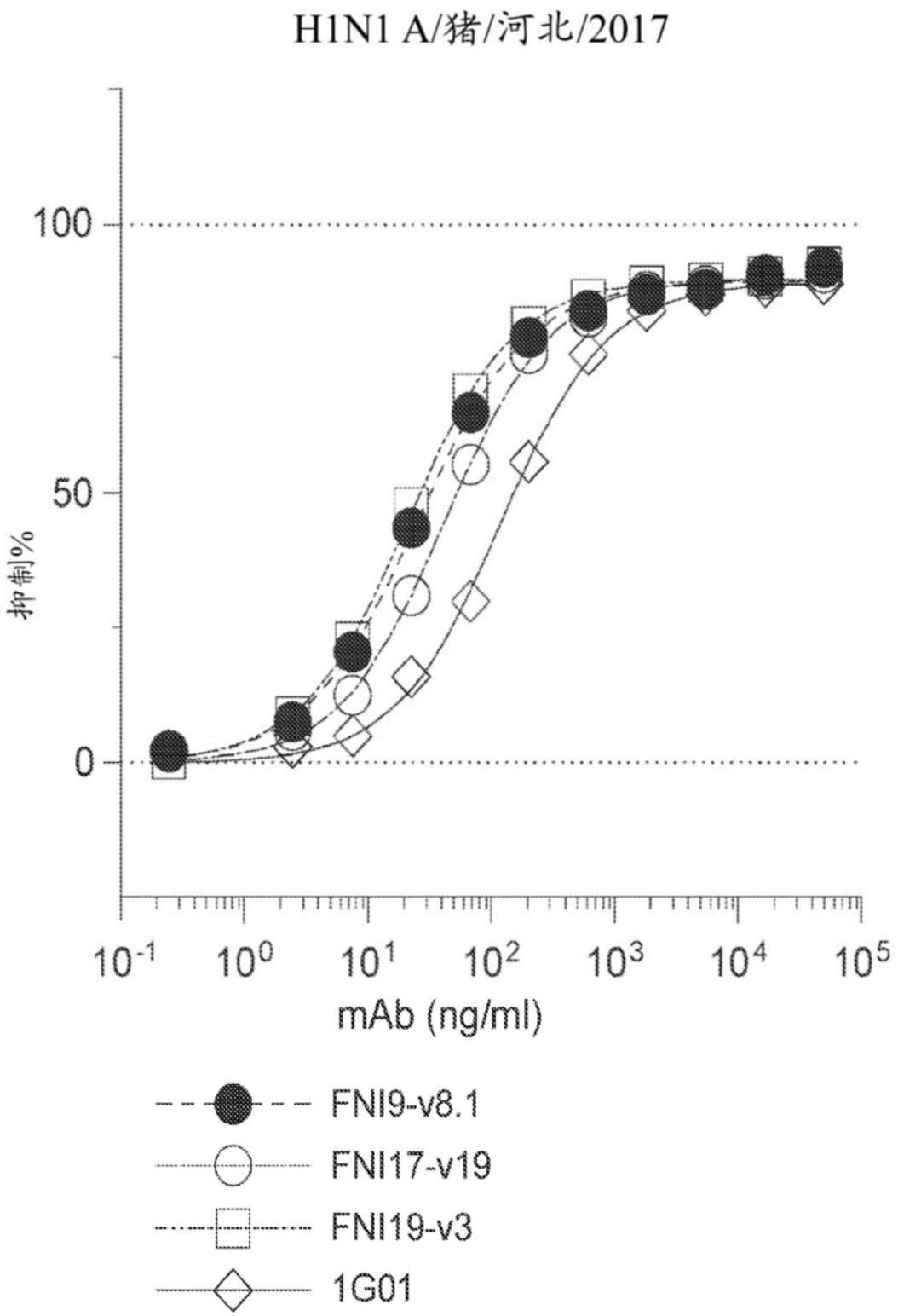

H1N1 A/猪/河北/2017
100
50
0
抑制%
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
10^{4}
10^{5}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129A

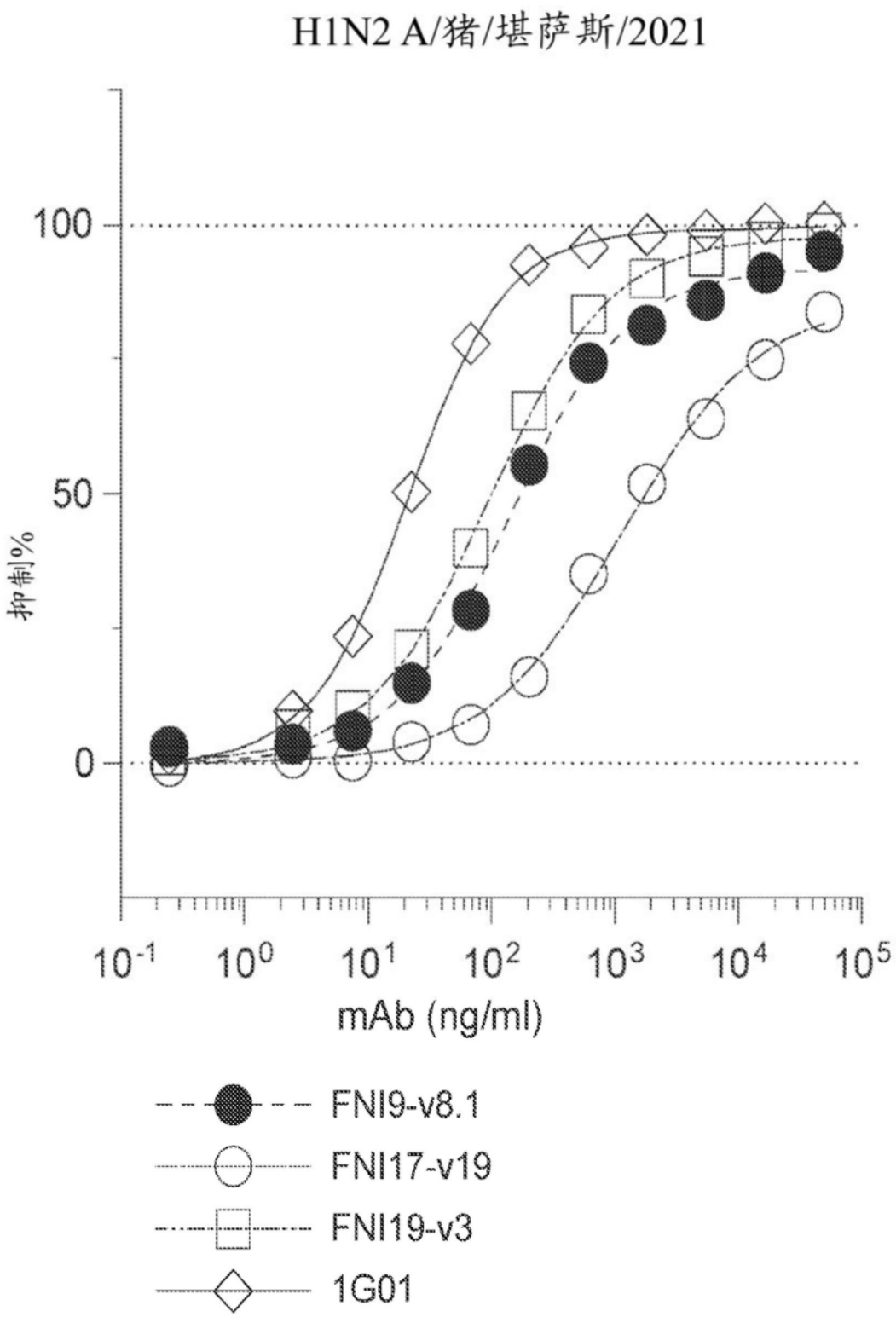

H1N2 A/猪/堪萨斯/2021
100
50
0
抑制%
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
10^{4}
10^{5}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129B

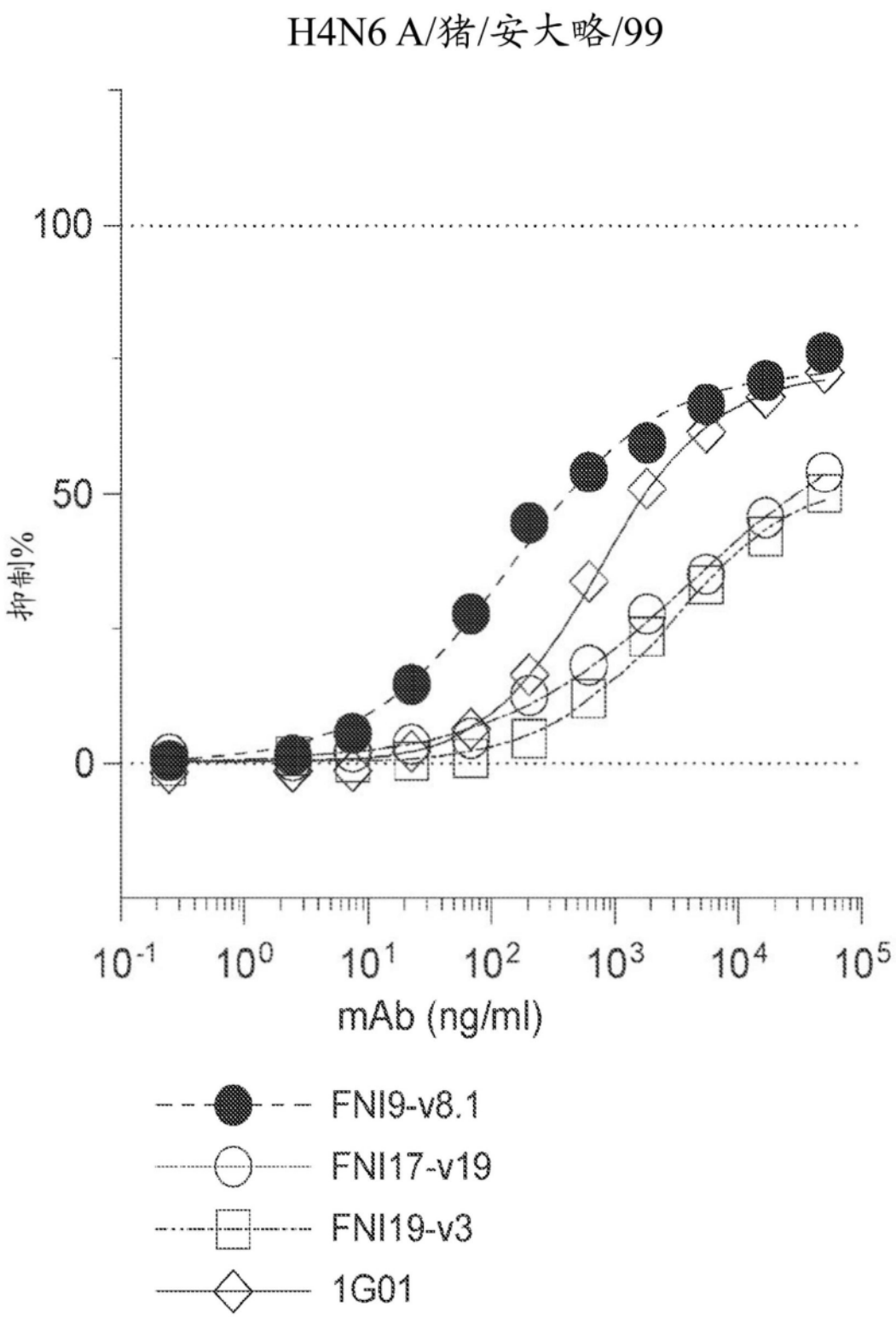

H4N6 A/猪/安大略/99
100
50
0
抑制%
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
10^{4}
10^{5}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129C

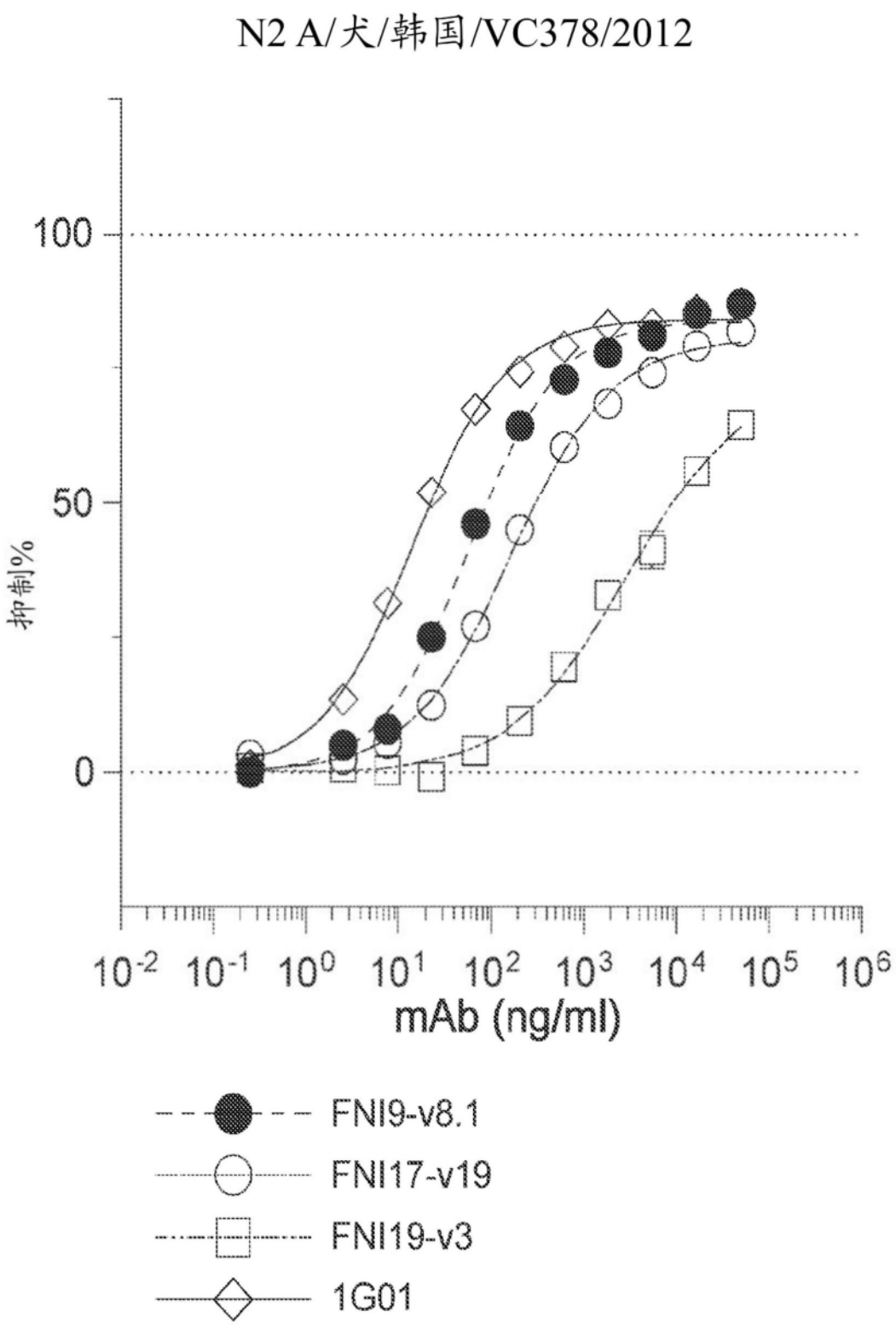

N2 A/犬/韩国/VC378/2012
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129D

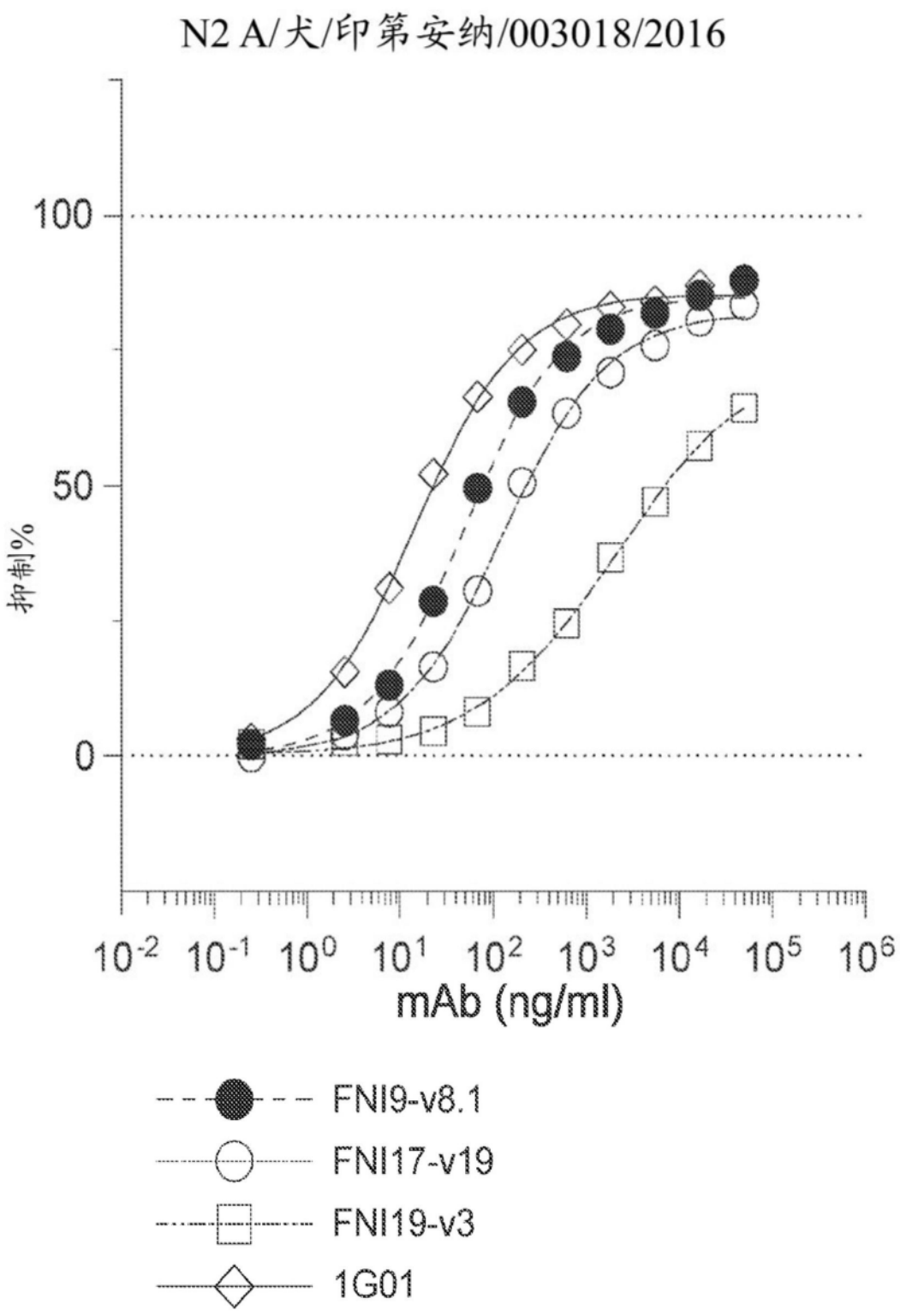

N2 A/犬/印第安纳/003018/2016
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129E

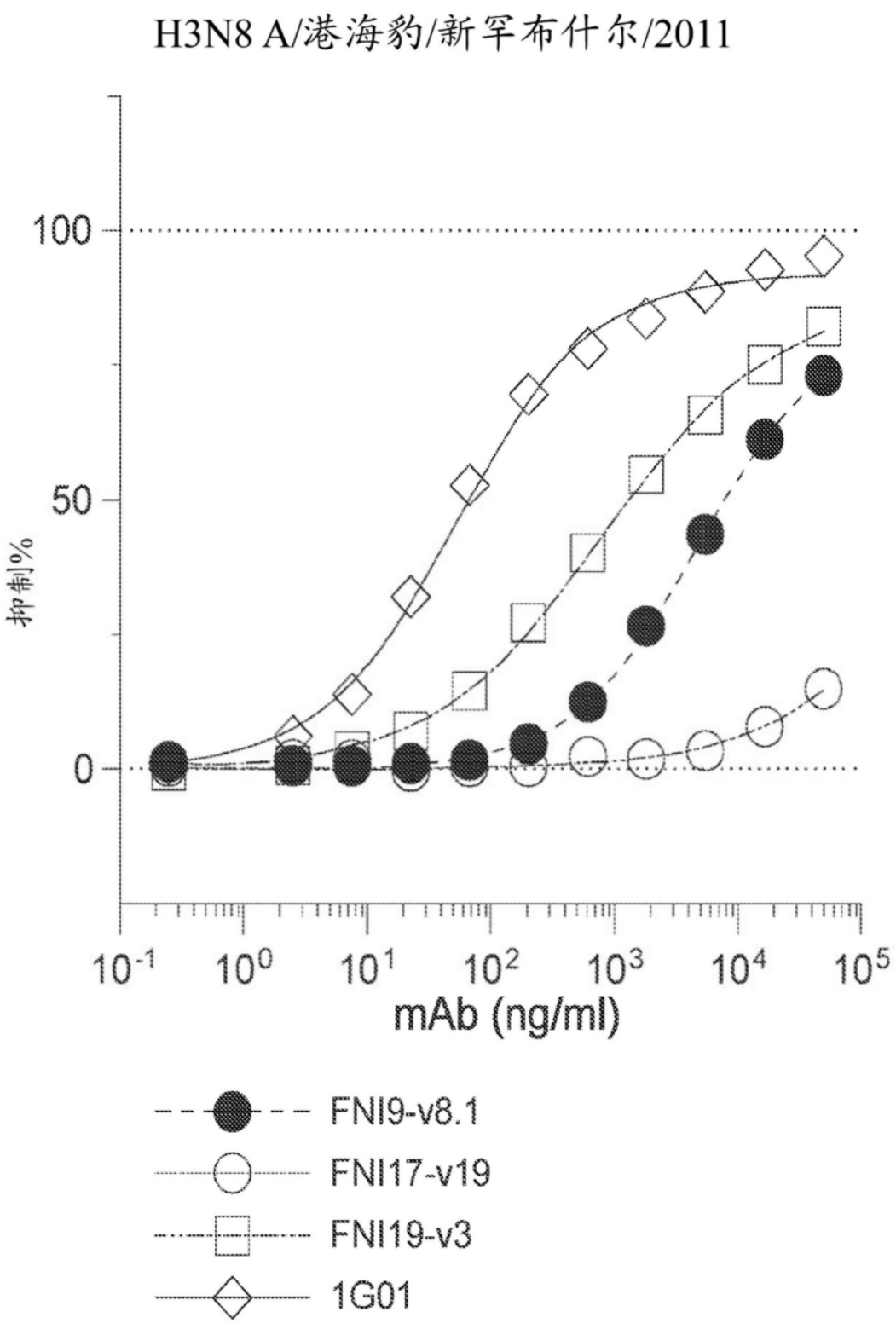

H3N8 A/港海豹/新罕布什尔/2011
100
50
0
抑制%
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
10^{4}
10^{5}
mAb (ng/ml)
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图129F

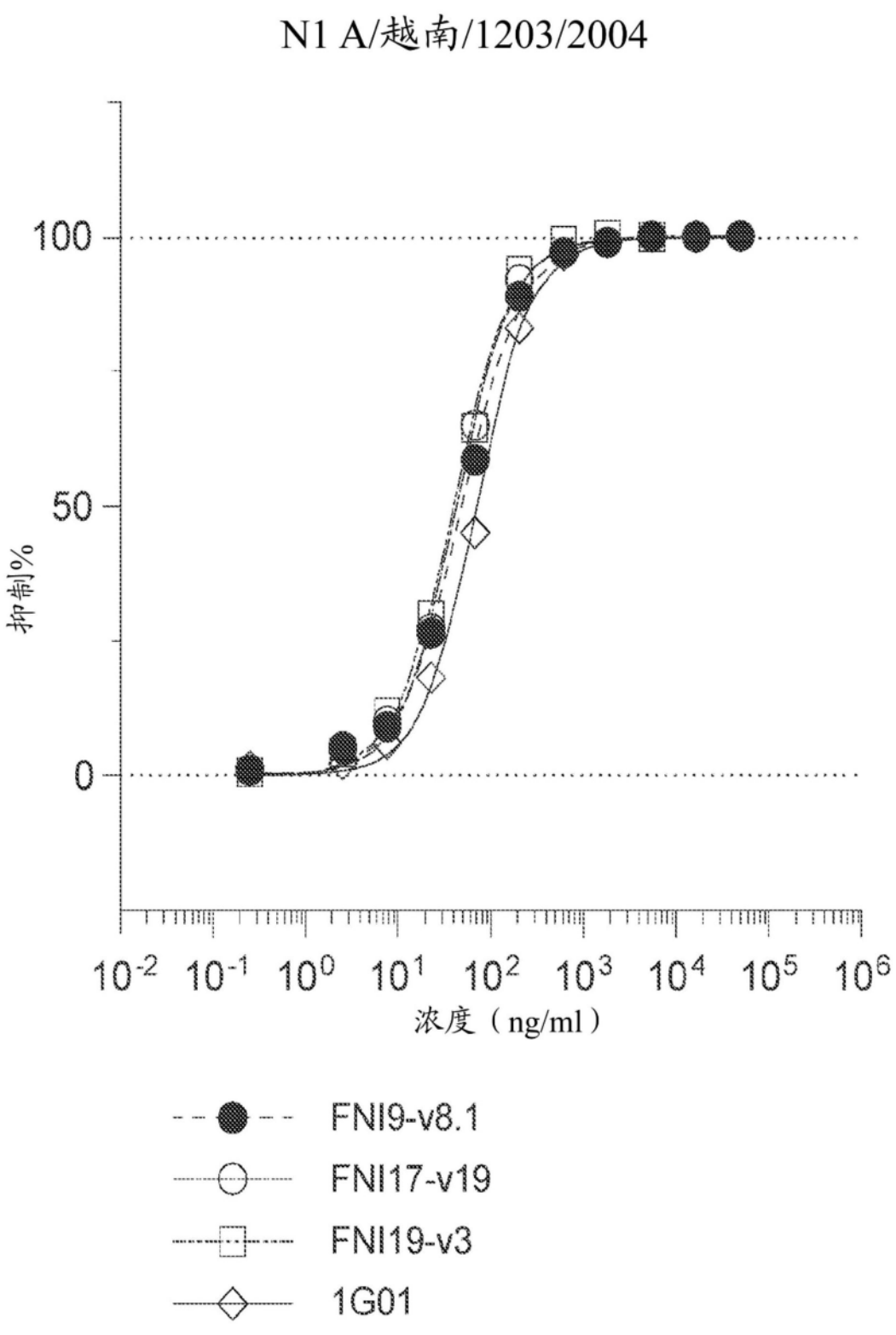

N1 A/越南/1203/2004
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130A

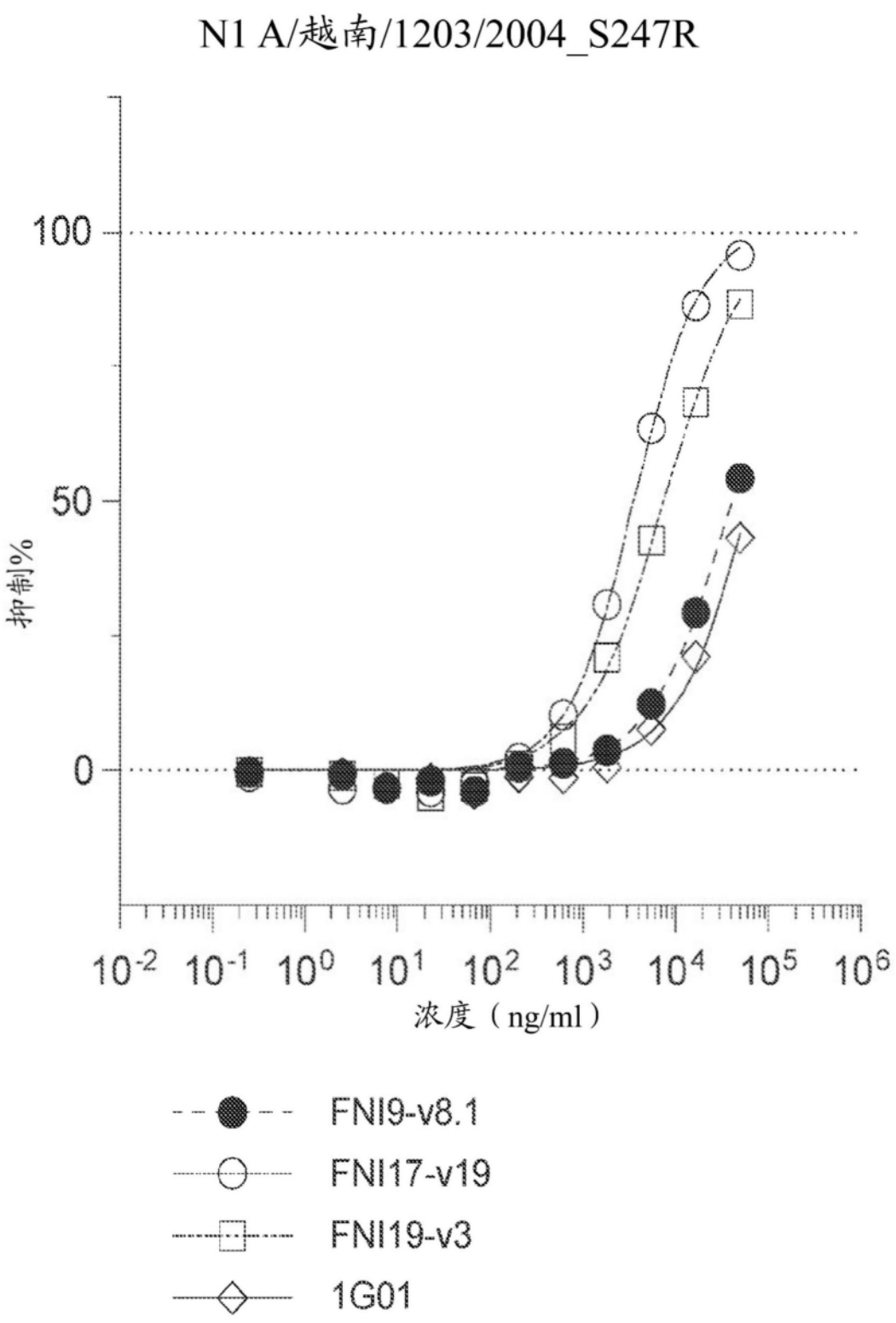

N1 A/越南/1203/2004_S247R
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130B

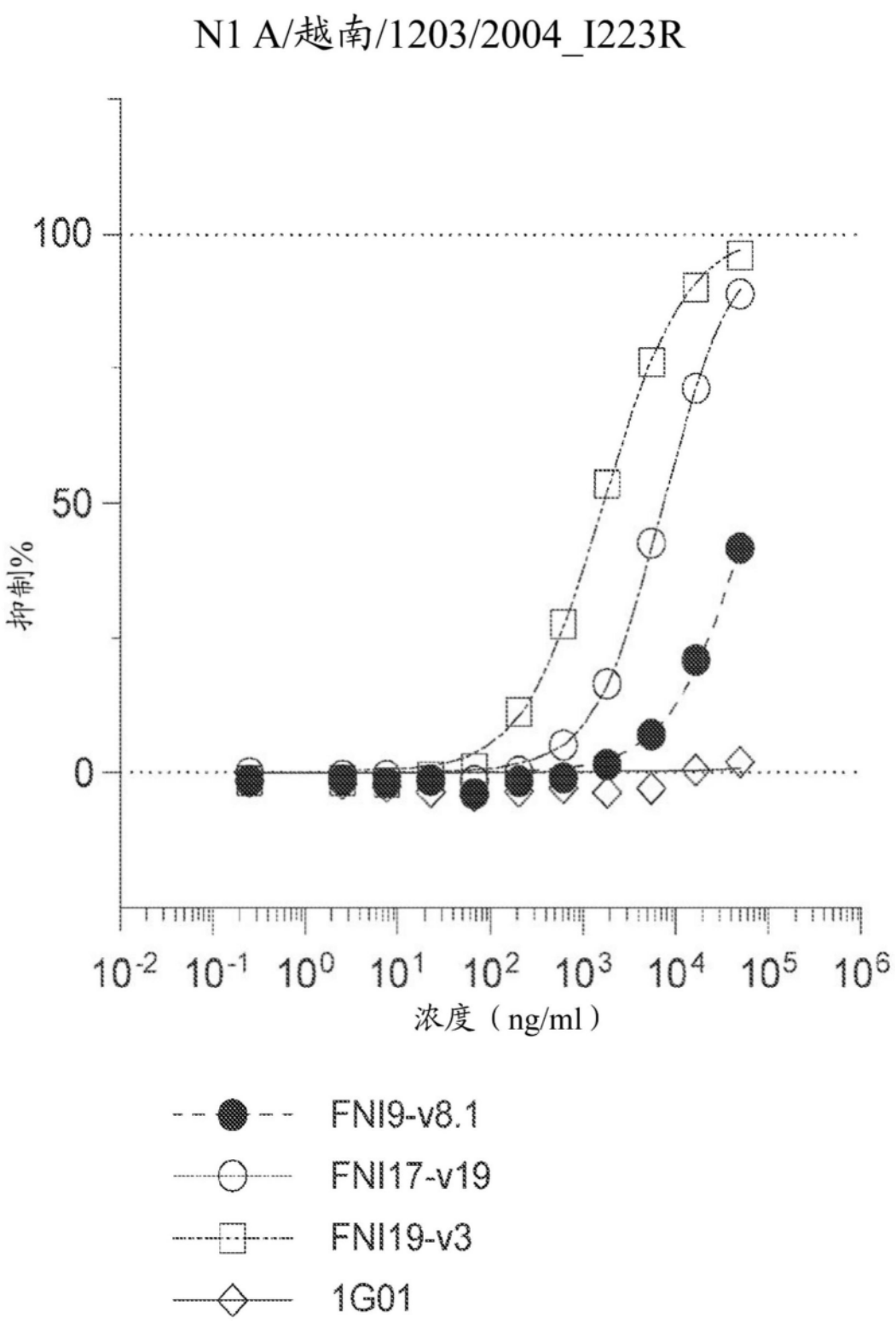

N1 A/越南/1203/2004_I223R
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130C

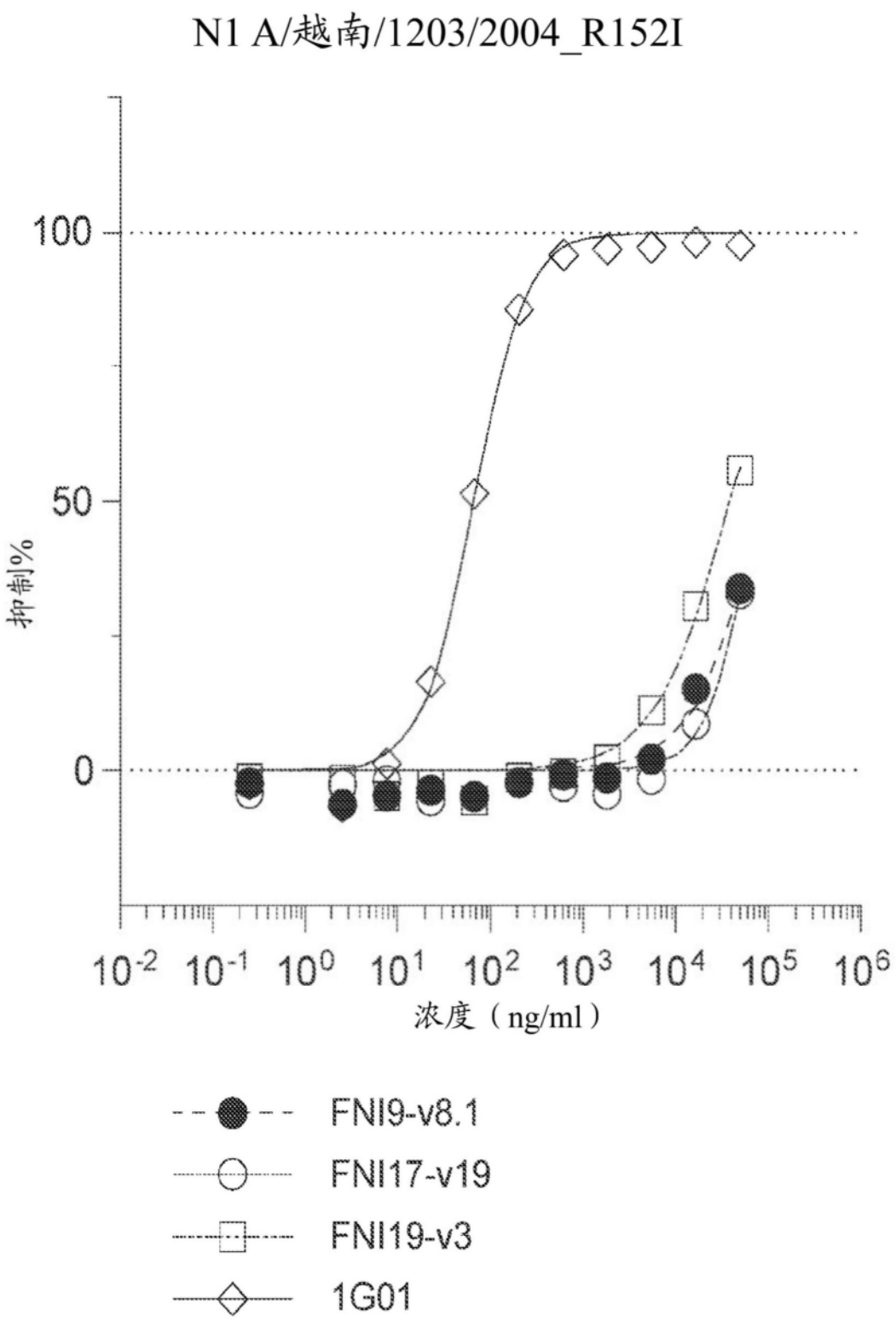

N1 A/越南/1203/2004_R152I
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130D

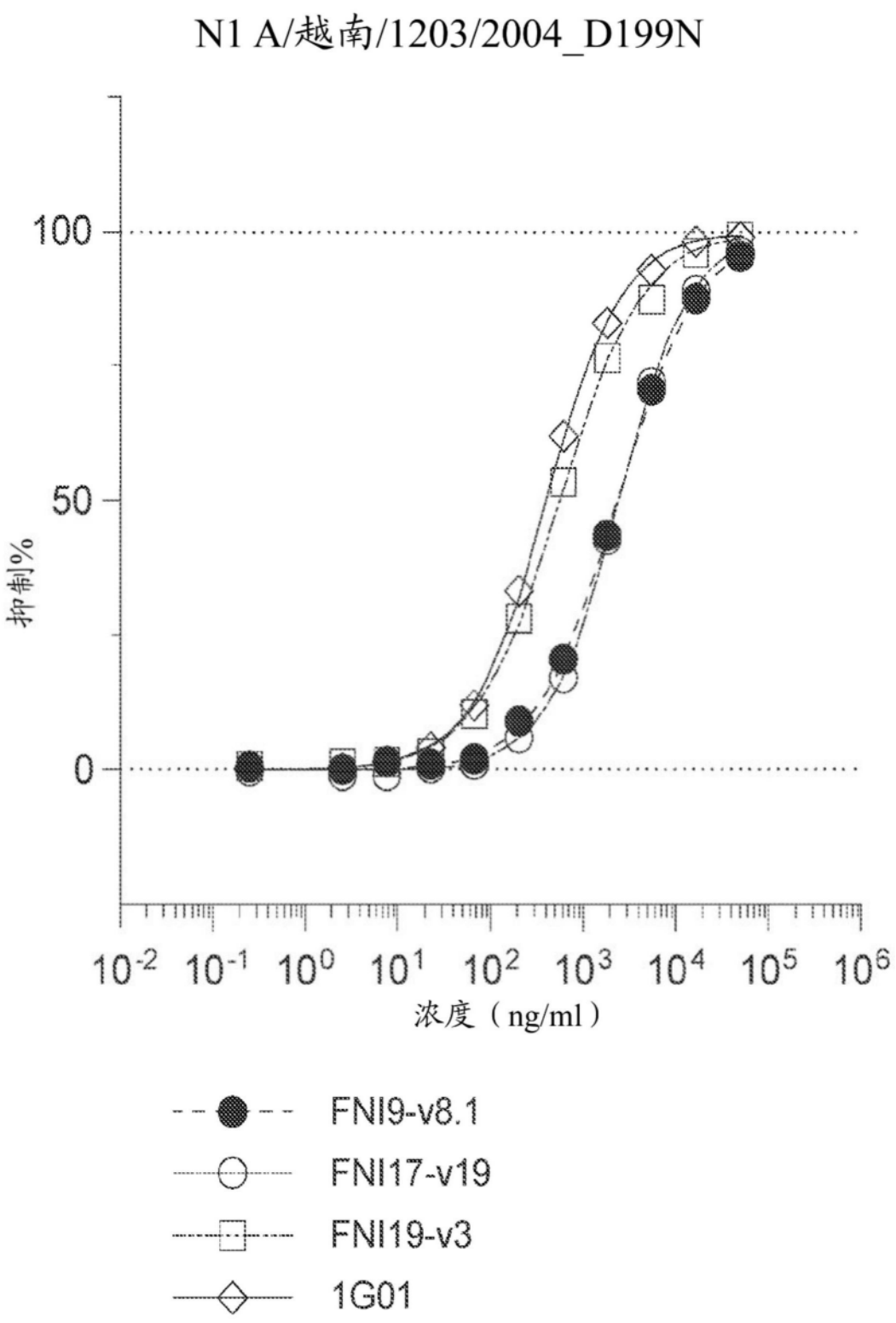

N1 A/越南/1203/2004_D199N
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130E

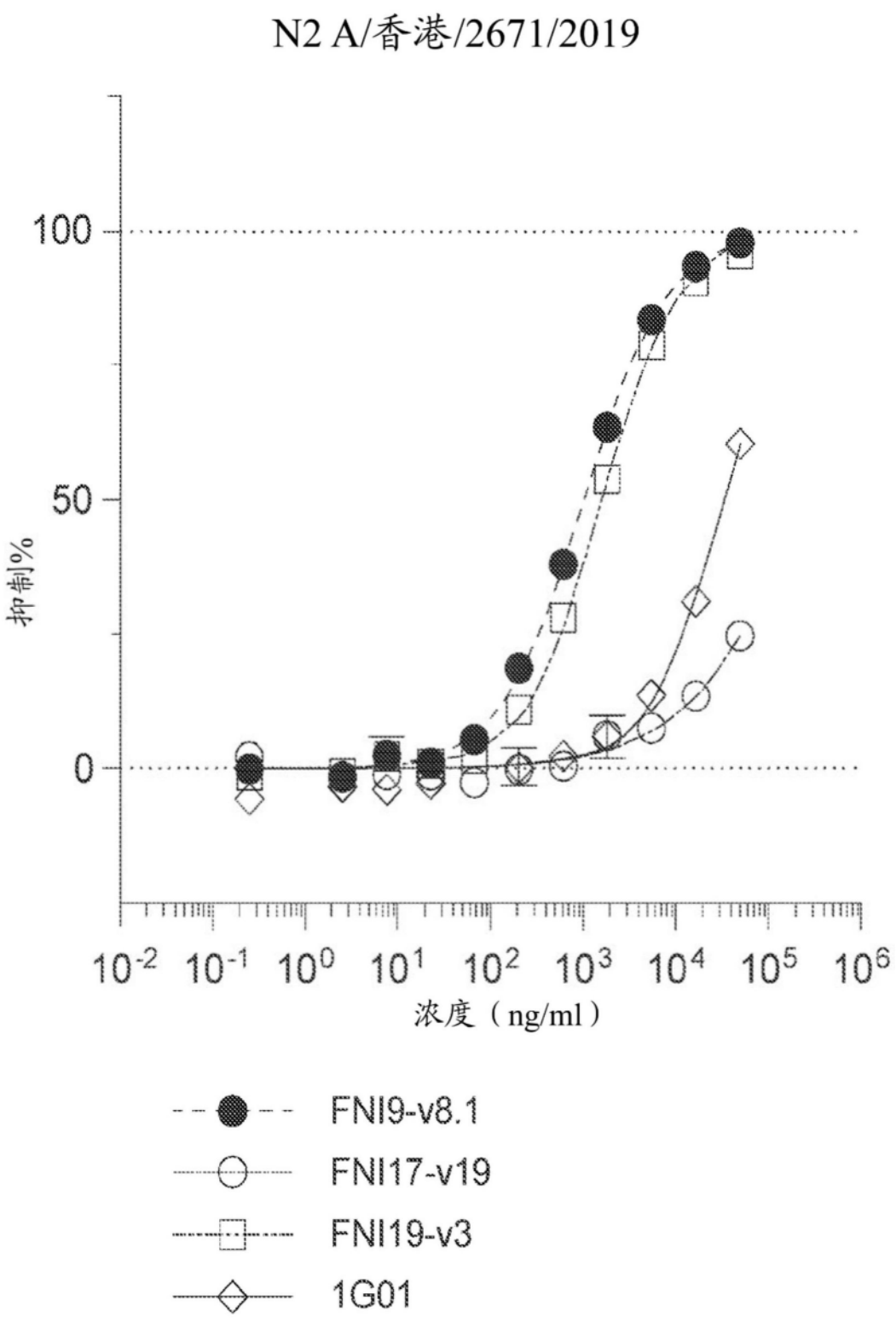

N2 A/香港/2671/2019
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130F

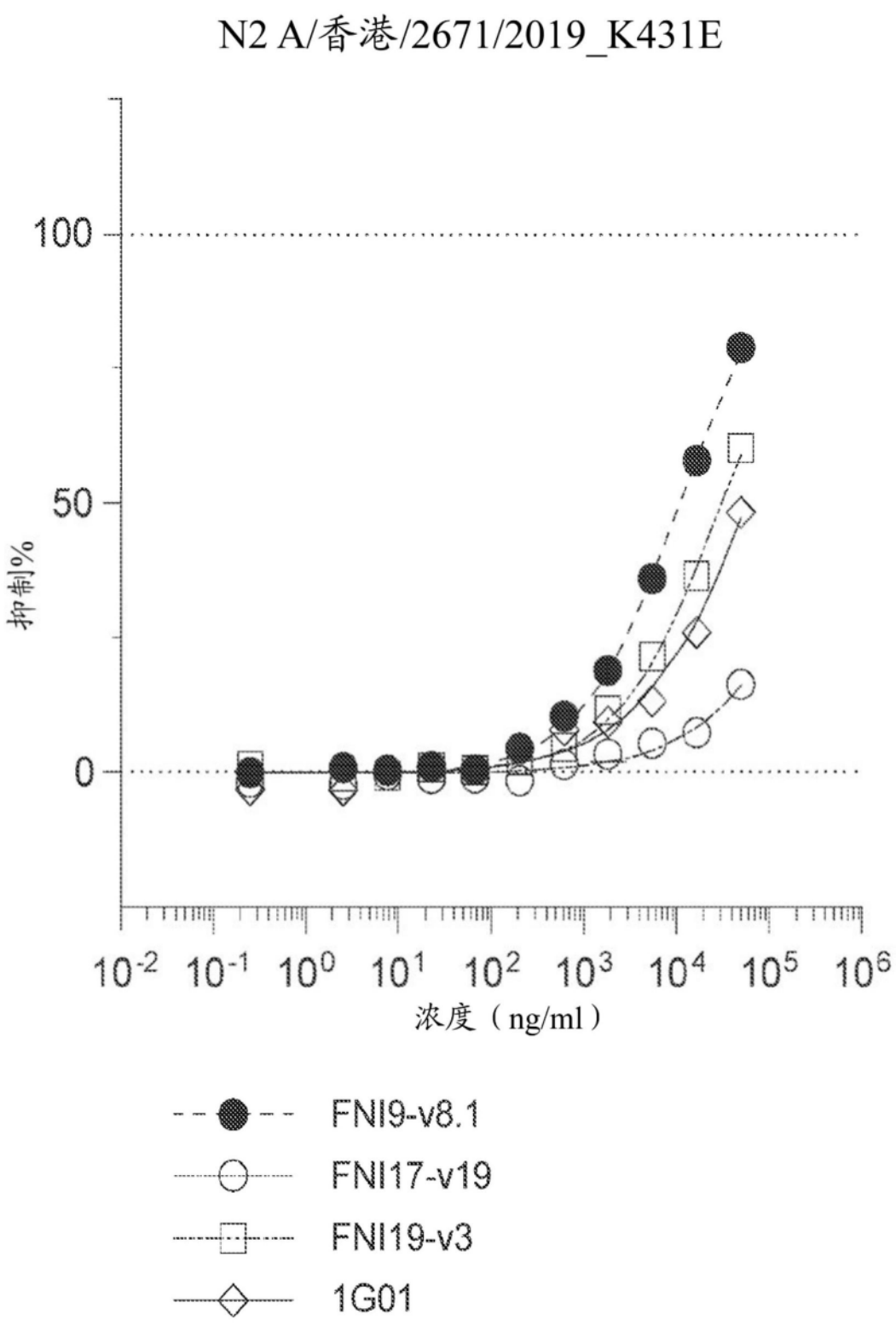

N2 A/香港/2671/2019_K431E
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图130G

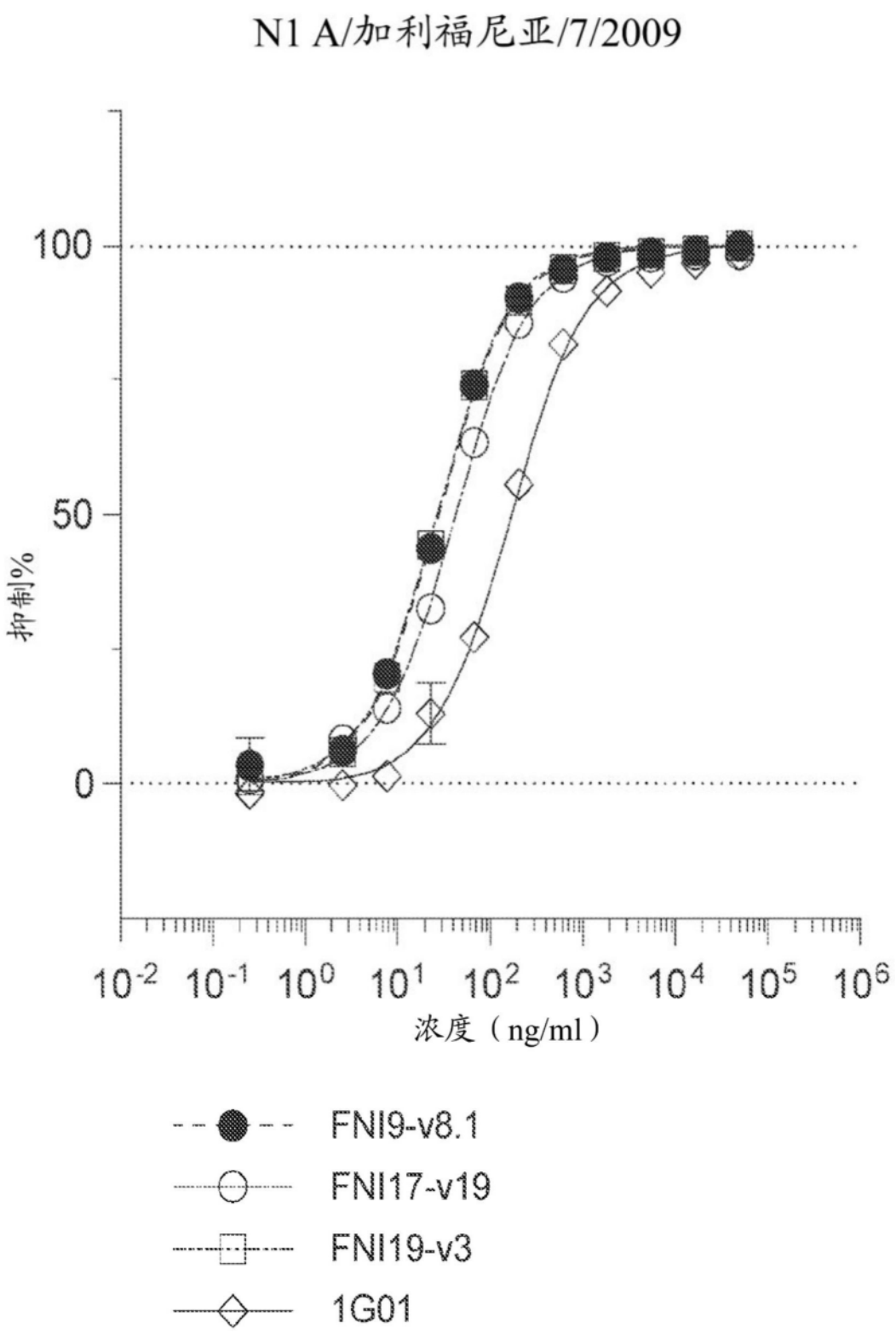

N1 A/加利福尼亚/7/2009
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图131A

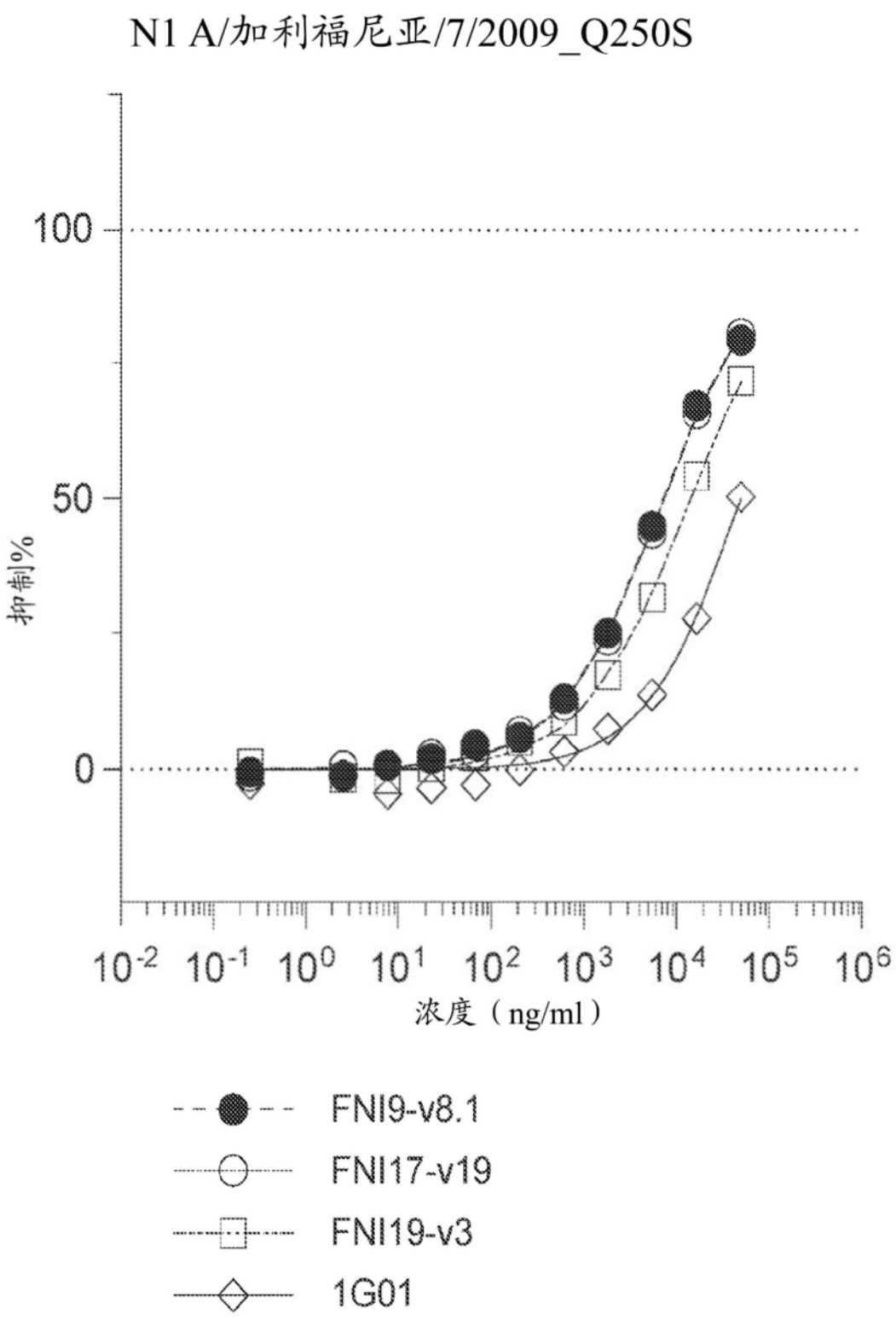

N1 A/加利福尼亚/7/2009_Q250S
100
50
0
抑制%
10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
浓度（ng/ml）
FNI9-v8.1
FNI17-v19
FNI19-v3
1G01

图131B

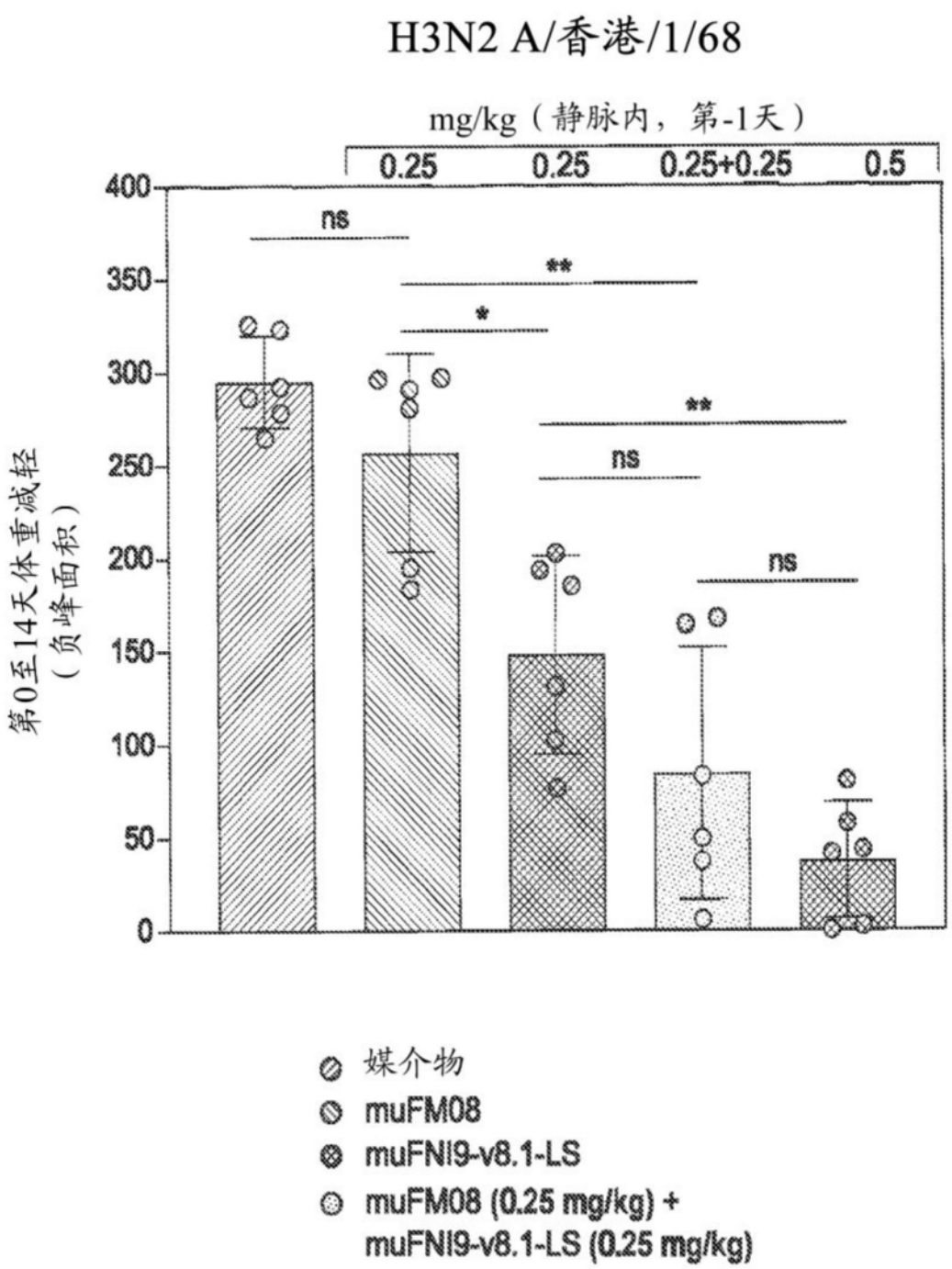

H3N2 A/香港/1/68
mg/kg（静脉内，第-1天）
0.25
0.25
0.25+0.25
0.5
第0至14天体重减轻（负峰面积）
400
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
**
*
**
ns
ns
媒介物
muFM08
muFNI9-v8.1-LS
muFM08 (0.25 mg/kg) +
muFNI9-v8.1-LS (0.25 mg/kg)

图132A

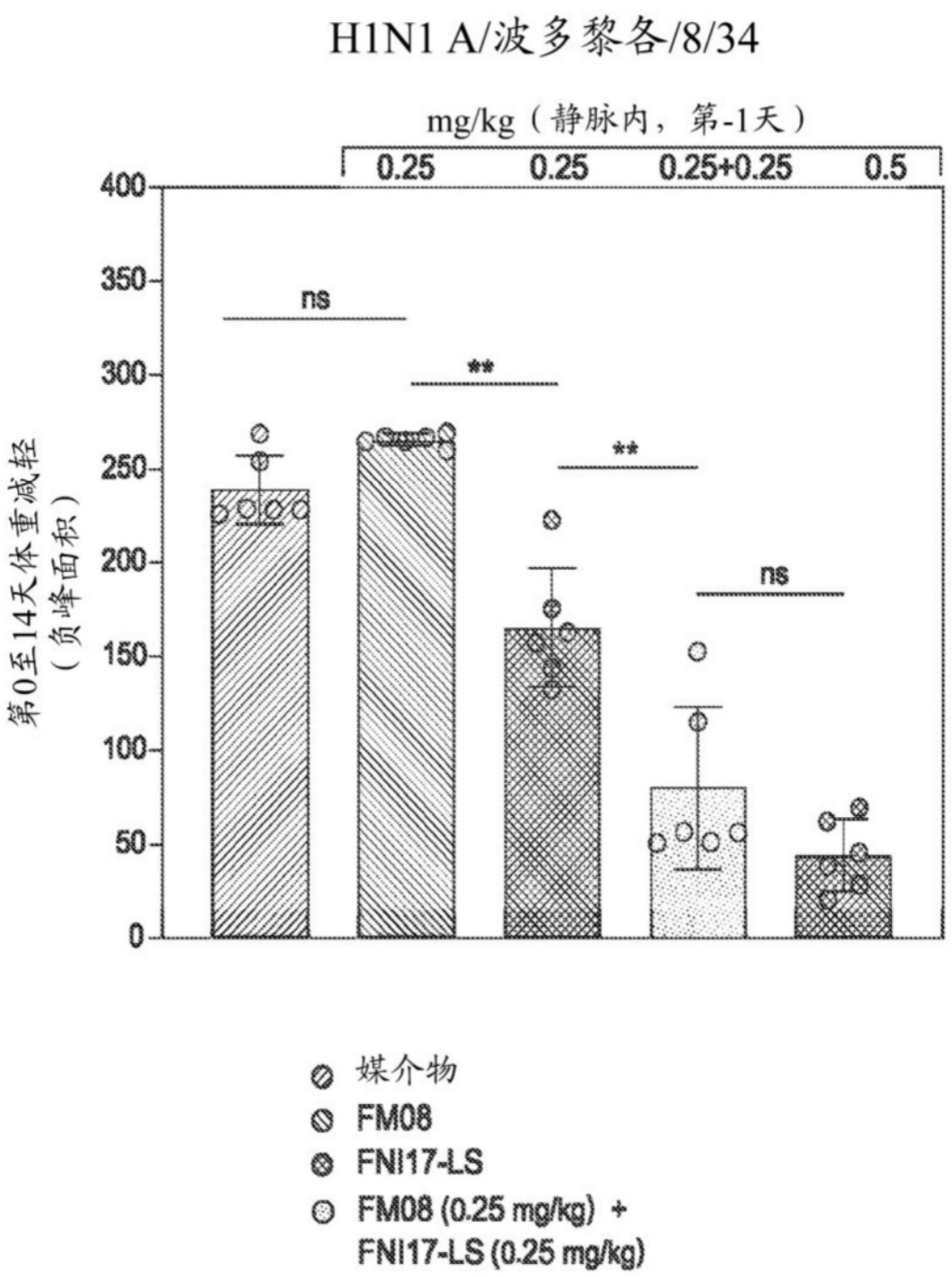

H1N1 A/波多黎各/8/34
mg/kg（静脉内，第-1天）
0.25
0.25
0.25+0.25
0.5
第0至14天体重减轻（负峰面积）
400
350
300
250
200
150
100
50
0
ns
**
**
ns
媒介物
FM08
FNI17-LS
FM08 (0.25 mg/kg) + FNI17-LS (0.25 mg/kg)

图132B

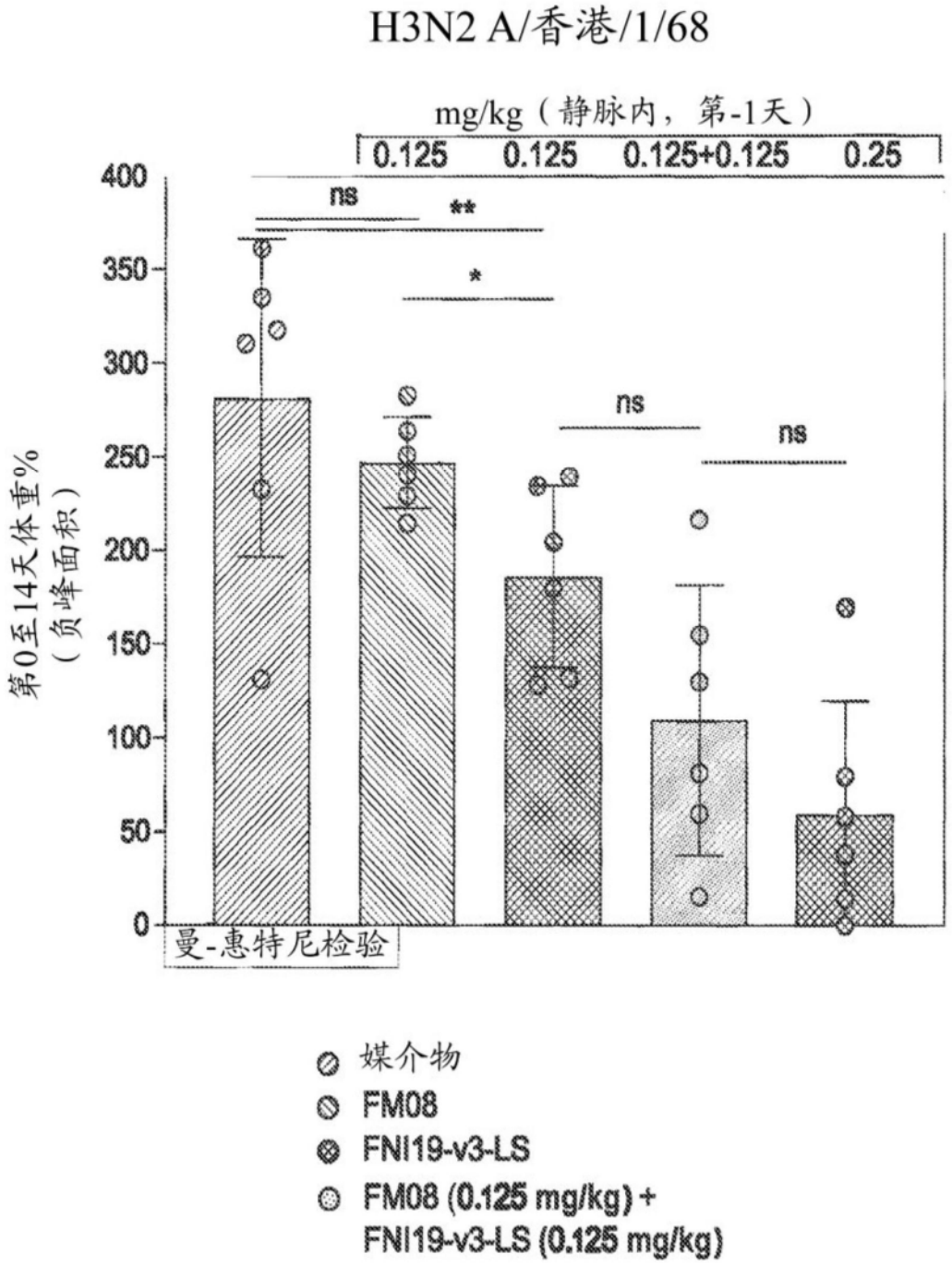

H3N2 A/香港/1/68
mg/kg（静脉内，第-1天）
0.125
0.125
0.125+0.125
0.25
ns
**
*
ns
ns
第0至14天体重%
（负峰面积）
400
350
300
250
200
150
100
50
0
曼-惠特尼检验
媒介物
FM08
FNI19-v3-LS
FM08 (0.125 mg/kg) +
FNI19-v3-LS (0.125 mg/kg)

图132C

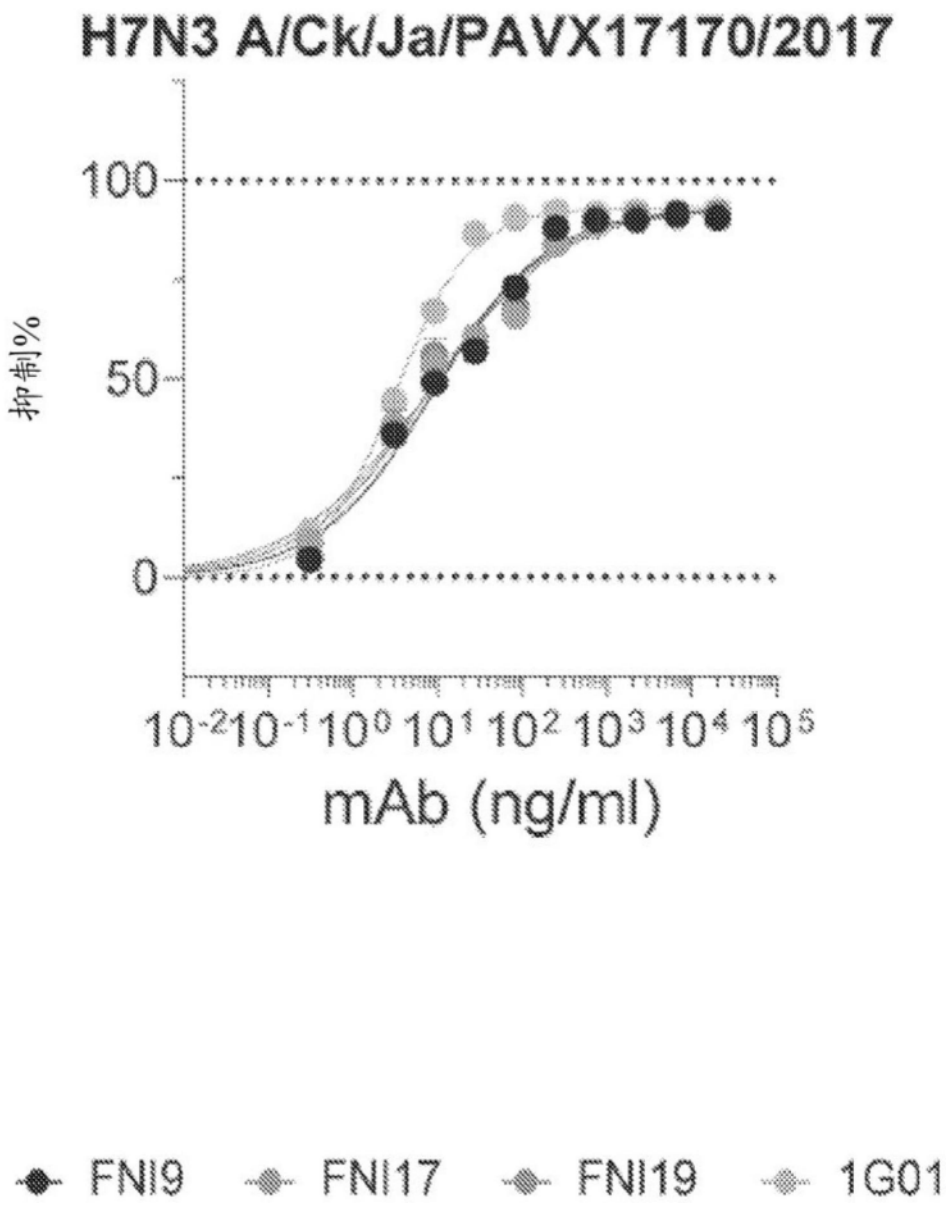

H7N3 A/Ck/Ja/PAVX17170/2017
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
mAb (ng/ml)
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图133A

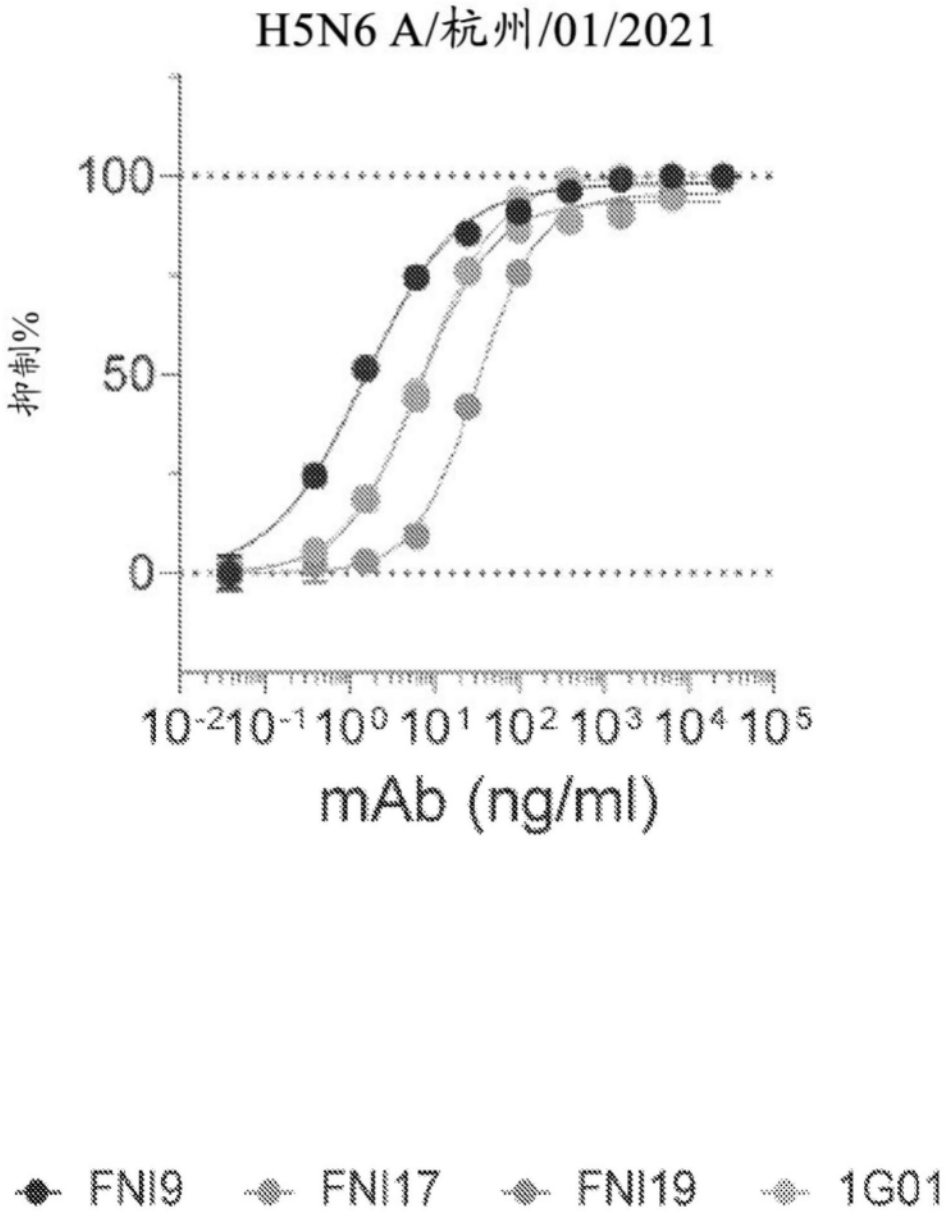

H5N6 A/杭州/01/2021
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
mAb (ng/ml)
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图133B

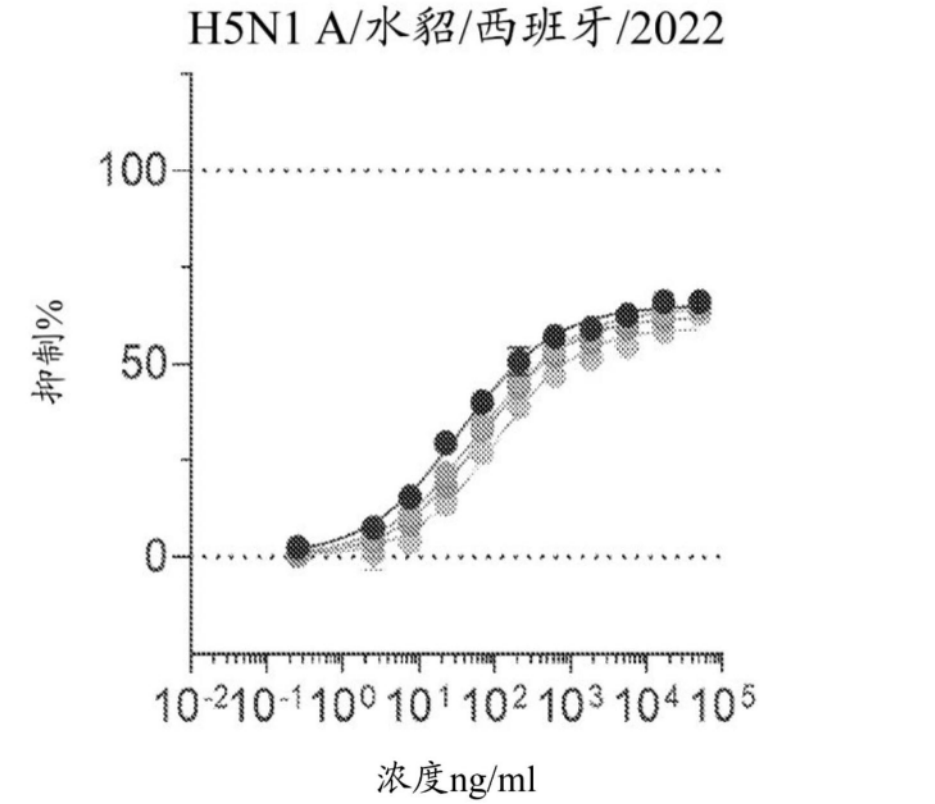

H5N1 A/水貂/西班牙/2022
100
50
0
抑制%
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105
浓度ng/ml
FNI9
FNI17
FNI19
1G01

图133C