



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119836433 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 15

(21) 申请号 202380036604.9

(22) 申请日 2023.04.28

(30) 优先权数据

63/336332 2022.04.29 US

63/371454 2022.08.15 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.10.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/061297 2023.04.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/209177 EN 2023.11.02

(71) 申请人 阿斯利康(英国)有限公司

地址 英国剑桥

(72) 发明人 T·科恩 J·弗朗西卡 S·拉詹

G·卡普兰 Y·蔡 A·迪佩尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

专利代理师 李唐 杨思捷

(51) Int.Cl.

C07K 16/10 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书10页 说明书54页
序列表(电子公布) 附图6页

(54) 发明名称

SARS-CoV-2抗体及其使用方法

(57) 摘要

本披露提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的抗体及其抗原结合片段及其制备和使用方法。这些抗体可以用于例如SARS-CoV-2感染的预防、暴露后预防或治疗。这些抗体还可以用于检测例如受试者中的SARS-CoV-2感染。

1. 一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:69、70、71、73、74和75的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

2. 一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。

3. 一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

4. 如权利要求2或3所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

5. 如权利要求4所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。

6. 如权利要求2-5中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:69、70、71、73、74和74的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

7. 如权利要求6所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VL,任选地其中该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VL,任选地其中该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的组合物或组合,其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2病毒,任选地其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2BA.2.12.1,其IC₅₀为25ng/mL或更低、或其IC₅₀为20ng/mL或更低。

11. 如权利要求26-38中任一项所述的组合物或组合,其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2D614G、SARS-CoV-2 α 、SARS-CoV-2 δ +T51I+T95I、SARS-CoV-2BA.1、SARS-CoV-2BA.1.1、SARS-CoV-2BA.2、SARS-CoV-2BA.2.12.1和/或SARS-CoV-2BA.5病毒,其IC₅₀为75ng/mL或更低、或其IC₅₀为小于60ng/mL或更低。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是完全人的和/或该第二抗体或抗原结合片段是完全人的。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgG κ 轻链恒定区,和/或该第二抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgG κ 轻链恒定区。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

19. 如权利要求1-18中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是全长抗体和/或该第二抗体或抗原结合片段是全长抗体。

22. 如权利要求1-20中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是抗原结合片段和/或其中该第二抗体或抗原结合片段是抗原结合片段。

23. 如权利要求22所述的组合物或组合,其中该第一抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG Δ CH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc和/或该第二抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG Δ CH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

24. 如权利要求1-23中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是分离的和/或该第二抗体或抗原结合片段是分离的。

25. 如权利要求1-24中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是单克隆的和/或该第二抗体或抗原结合片段是单克隆的。

26. 如权利要求1-25中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是重组的和/或该第二抗体或抗原结合片段是重组的。

27. 一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

28. 如权利要求27所述的组合物或组合,其中(i)该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列和/或该第二人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,或(ii)该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,该第二人IgG1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链,以及该第二人IgG1抗体包含含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

29. 如权利要求1-28中任一项所述的组合物,其中该组合物是进一步包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

30. 如权利要求1-28中任一项所述的组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在相同的组合物中,任选地其中该组合物是药物组合物。

31. 如权利要求1-28中任一项所述的组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中,任选地其中该第一抗体或其抗原结合片段和/或该第二抗体或其抗原结合片段在药物组合物中。

32. 一种特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含分别具有以下的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3:(i)SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36;(ii)SEQ ID NO:25、26、30、28、67和29;或(iii)SEQ ID NO:13、14、19、16、17和18。

33. 一种特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含:

(a) 含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(b) 含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(c) 含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(d) 含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(e) 含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(f) 含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(g) 含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(h) 含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(i) 含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(j) 含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(k) 含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL)；

(l) 含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL)；或

(m) 含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL)。

34. 如权利要求32或33所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段中和SARS-CoV-2假病毒,任选地其中该抗体或其抗原结合片段中和SARS-CoV-2BA.1、SARS-CoV-2BA1.1、SARS-CoV-2BA.2、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2D614G假病毒,其EC₅₀为100ng/mL或更低。

35. 如权利要求32-34中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段是全人的。

36. 如权利要求32-35中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。

37. 如权利要求36所述的抗体或其抗原结合片段,其中该轻链恒定区选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区。

38. 如权利要求32-37中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。

39. 如权利要求38所述的抗体或其抗原结合片段,其中该重链恒定区选自由人免疫球

蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

40.如权利要求32-39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgGκ轻链恒定区。

41.如权利要求32-40中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

42.如权利要求32-41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

43.如权利要求32-42中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

44.如权利要求32-43中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其是全长抗体。

45.如权利要求32-43中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其是抗原结合片段。

46.如权利要求45所述的抗原结合片段,其中该抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG ΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

47.如权利要求32-46中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段是分离的。

48.如权利要求32-47中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段是单克隆的。

49.如权利要求32-48中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段是重组的。

50.如权利要求32-49中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段进一步包含可检测标记。

51.一种分离的多核苷酸,该分离的多核苷酸包含编码如权利要求32-49中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的重链可变区的核酸分子和/或编码轻链可变区的核酸分子。

52.一种分离的载体,该分离的载体包含如权利要求51所述的多核苷酸。

53.一种宿主细胞,该宿主细胞包含如权利要求51所述的多核苷酸、如权利要求52所述的载体、或第一载体和第二载体,该第一载体包含编码如权利要求32-49中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的重链可变区的核酸分子,该第二载体包含编码如权利要求32-49中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的核酸分子。

54.一种产生与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的方法,该方法包括培养如权利要求53所述的宿主细胞,使得该核酸分子被表达并且产生该抗体或其抗原结合片段,任选地其中该方法进一步包括分离该抗体或抗原结合片段。

55.一种抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段通过如权利要求54所述的方法产生。

56.一种组合物,该组合物包含如权利要求32-50和55中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,任选地其中该组合物是进一步包含药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

57.一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或

其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)或(ii)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。

58.一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段同包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)或(ii)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

59.如权利要求57或58所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

60.如权利要求59所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。

61.如权利要求57-60中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

62.如权利要求61所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(ii)含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(iii)含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(iv)含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;(v)含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;或(vi)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL。

63.如权利要求57-60中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:20、21、22、23、67和24的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

64.如权利要求63所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL或(ii)含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VL。

65.一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3或(ii)分别具有SEQ ID NO:20、21、22、23、67和24的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

66.如权利要求57-65中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。

67.如权利要求57-62、65和66中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。

68.如权利要求57-60和63-66中任一项所述的组合物或组合,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL。

69.如权利要求57-68中任一项所述的组合物或组合,其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2假病毒,任选地其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2BA.1、SARS-CoV-2BA1.1、SARS-CoV-2BA.2、SARS-CoV-2δ和/或SARS-CoV-2D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低。

70.如权利要求57-69中任一项所述的组合物或组合,其中该组合物或组合(i)中和SARS-CoV-2BA.1、SARS-CoV-2BA1.1和/或SARS-CoV-2BA.2假病毒,其EC₅₀为25ng/mL或更低,和/或(ii)中和SARS-CoV-2δ和/或SARS-CoV-2D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低。

71.如权利要求57-70中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是完全人的和/或该第二抗体或抗原结合片段是完全人的。

72.如权利要求57-71中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。

73.如权利要求57-72中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgGκ和IgGλ轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgGκ和IgGλ轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区。

74.如权利要求57-73中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。

75.如权利要求57-74中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

76.如权利要求57-75中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgGκ轻链恒定区,和/或该第二抗体或抗原结合片段包

含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgGκ轻链恒定区。

77.如权利要求57-76中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

78.如权利要求57-77中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

79.如权利要求57-78中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

80.如权利要求57-79中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是全长抗体和/或该第二抗体或抗原结合片段是全长抗体。

81.如权利要求57-79中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是抗原结合片段和/或其中该第二抗体或抗原结合片段是抗原结合片段。

82.如权利要求81所述的组合物或组合,其中该第一抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgGΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc和/或该第二抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgGΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

83.如权利要求57-82中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是分离的和/或该第二抗体或抗原结合片段是分离的。

84.如权利要求57-83中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是单克隆的和/或该第二抗体或抗原结合片段是单克隆的。

85.如权利要求57-84中任一项所述的组合物或组合,其中该第一抗体或抗原结合片段是重组的和/或该第二抗体或抗原结合片段是重组的。

86.一种组合物或组合,该组合物或组合包含:

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

87.一种组合物或组合,该组合物或组合包含

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;

以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

88.一种组合物或组合,该组合物或组合包含

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及

特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

89.如权利要求86-88中任一项所述的组合物或组合,其中该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列和/或该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列。

90.如权利要求57-89中任一项所述的组合物,其中该组合物是进一步包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

91.如权利要求57-89中任一项所述的组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在相同的组合物中,任选地其中该组合物是药物组合物。

92.如权利要求57-89中任一项所述的组合,其中该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中,任选地其中该第一抗体或其抗原结合片段和/或该第二抗体或其抗原结合片段在药物组合物中。

93.一种用于中和SARS-CoV-2的方法,该方法包括使该SARS-CoV-2与如权利要求32-50和55中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求1-31和57-92中任一项所述的组合物或组合接触。

94.如权利要求93所述的方法,其中该接触是在体外的。

95.如权利要求93所述的方法,其中该接触是在受试者体内的。

96.一种用于在受试者中提供SARS-CoV-2的暴露前预防的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求1-31和57-92中任一项所述的组合物或组合。

97.如权利要求96所述的方法,其中该受试者目前没有感染SARS-CoV-2。

98.如权利要求96或97所述的方法,其中该受试者已知最近没有暴露于感染SARS-CoV-2的个体。

99.如权利要求96-98中任一项所述的方法,其中该受试者具有中度至重度免疫损害。

100.如权利要求99所述的方法,其中该中度至重度免疫损害是由于医学病症或接受免疫抑制药物或治疗。

101.如权利要求96-100中任一项所述的方法,其中该受试者可能不会对COVID-19疫苗接种产生足够的免疫反应。

102.如权利要求96-101中任一项所述的方法,其中不建议该受试者进行COVID-19疫苗接种。

103. 如权利要求102所述的方法,其中由于对COVID-19疫苗和/或COVID-19疫苗组分有严重不良反应史,因此不建议COVID-19疫苗接种。

104. 如权利要求96-103中任一项所述的方法,其中将该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段依序施用。

105. 一种治疗或预防受试者中的SARS-CoV-2感染的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求1-32、57-89和92中任一项所述的组合,其中将该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段依序施用。

106. 如权利要求104或105所述的方法,其中在施用该第二抗体或其抗原结合片段之前施用该第一抗体或其抗原结合片段。

107. 如权利要求104或105所述的方法,其中在施用该第二抗体或其抗原结合片段之后施用该第一抗体或其抗原结合片段。

108. 如权利要求104-107中任一项所述的方法,其中将该第一抗体或抗原结合片段肌肉施用和/或其中将该第二抗体或其抗原结合片段肌肉注射。

109. 一种用于在受试者中提供SARS-CoV-2的暴露前预防的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求32-49和55中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

110. 一种治疗或预防受试者中的SARS-CoV-2感染的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求32-49和55中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

111. 如权利要求109或110所述的方法,其中该施用是肌肉内的。

112. 如权利要求105-108、110和111中任一项所述的方法,其中该受试者已暴露于SARS-CoV-2或处于暴露于SARS-CoV-2的风险中。

113. 如权利要求95-112中任一项所述的方法,其中该受试者是人。

114. 如权利要求93-113中任一项所述的方法,其中该SARS-CoV-2是SARS-CoV-2BA.1、SARS-CoV-2BA1.1、SARS-CoV-2BA.2、SARS-CoV-2 β 、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2D614G。

115. 如权利要求93-113中任一项所述的方法,其中该SARS-CoV-2是SARS-CoV-2BA.2.12.1。

116. 一种用于检测样品中SARS-CoV-2的方法,该方法包括使该样品与如权利要求32-49和55中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求1-31和56-92中任一项所述的组合物或组合接触。

SARS-CoV-2抗体及其使用方法

[0001] 1.相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年4月29日提交的美国临时申请号63/336,332和2022年8月15日提交的美国临时申请号63/371,454的优先权权益,将其各自通过援引以其全文并入本文。

[0003] 2.对以电子方式提交的序列表的引用

[0004] 与本申请一起提交的ASCII文本文件形式的电子版提交的序列表(文件名:2943_218PC02_SequenceListing_ST26;大小:89,789字节;创建日期:2023年4月24日)的内容通过援引以其全文并入本文。

3.技术领域

[0005] 本披露涉及与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的抗体及其抗原结合片段及其使用方法。

4.背景技术

[0006] 已经出现了由严重急性呼吸道综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2) 引起的冠状病毒2019 (COVID 19) 大流行。SARS-CoV-2迅速在世界范围内引起感染。该病毒的死亡率目前尚不确定,但全球病例数和死亡数令人震惊。该病毒能够通过感染者咳嗽、打喷嚏或说话时从鼻子或口腔排出的小飞沫在人与人之间传播。潜伏期(从暴露到症状发作的时间)范围为0到24天,平均为3-5天,但是在恢复后的这段时间期间可能具有传染性。大多数感染SARS-CoV-2的人在暴露11.5天内显示出症状。症状包括发烧、咳嗽和呼吸困难。该病毒对患有2型糖尿病、心脏病、慢性阻塞性肺病(COPD)和/或肥胖症的高龄患者具有更大的影响。大多数感染该病毒的患者具有轻度症状,但在一些患者中,肺部感染很严重,导致严重的呼吸窘迫甚至死亡。

[0007] 用于预防COVID-19的几种疫苗已获得批准,并且抗体组合(Evusheld)可用于暴露前预防,但这些对在其开发后出现的变体的功效低于对较早变体的功效。因此,迫切需要能够预防和治疗COVID-19(包括由新的病毒变体引起的那些病例)的药物。

5.发明内容

[0008] 本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段以及其组合物和组合。在一些方面,组合物或组合包含(i)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;和(ii)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:69、70、71、73、74和75的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0009] 在一些方面,组合物或组合包含(i)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合,和(ii)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗

体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。

[0010] 在一些方面,组合物或组合包含(i)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,和(ii)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

[0011] 在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。

[0012] 在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:69、70、71、73、74和74的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0013] 在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和/或含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0014] 在一些方面,该组合物或组合中和SARS-CoV-2病毒,任选地其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2 BA.2.12.1,其IC₅₀为25ng/mL或更低、或其IC₅₀为20ng/mL或更低。在一些方面,该组合物或组合中和SARS-CoV-2 D614G、SARS-CoV-2 α 、SARS-CoV-2 δ +T51I+T95I、SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA.1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 BA.2.12.1和/或SARS-CoV-2 BA.5病毒,其IC₅₀为75ng/mL或更低、或其IC₅₀为小于60ng/mL或更低。

[0015] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是完全人的和/或该第二抗体或抗原结合片段是完全人的。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、

IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgGκ轻链恒定区,和/或该第二抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgGκ轻链恒定区。

[0016] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgGκ轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

[0017] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

[0018] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是全长抗体和/或该第二抗体或抗原结合片段是全长抗体。

[0019] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是抗原结合片段和/或其中该第二抗体或抗原结合片段是抗原结合片段。在一些方面,该第一抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgGΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc和/或该第二抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgGΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

[0020] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是分离的和/或该第二抗体或抗原结合片段是分离的。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是单克隆的和/或该第二抗体或抗原结合片段是单克隆的。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是重组的和/或该第二抗体或抗原结合片段是重组的。

[0021] 在一些方面,组合物或组合包含(i)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及(ii)特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。在一些方面,该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列和/或该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列。在一些方面,该第二人IgG1抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0022] 在一些方面,该组合物是进一步包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0023] 在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在相同的组合物中,任选地其中该组合物是药物组合物。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合

片段和该第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中,任选地其中该第一抗体或其抗原结合片段和/或该第二抗体或其抗原结合片段在药物组合物中。

[0024] 在一些方面,特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗体或其抗原结合片段包含分别具有以下的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3: (i) SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36; (ii) SEQ ID NO:25、26、30、28、67和29;或 (iii) SEQ ID NO:13、14、19、16、17和18。

[0025] 在一些方面,特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗体或其抗原结合片段包含: (a) 含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的可变轻链(VL); (b) 含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的可变轻链(VL); (c) 含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL); (d) 含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL); (e) 含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL); (f) 含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的可变轻链(VL); (g) 含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的可变轻链(VL); (h) 含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的可变轻链(VL); (i) 含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL); (j) 含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL); (k) 含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL); (l) 含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL);或 (m) 含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和/或含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的可变轻链(VL)。

[0026] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段中和SARS-CoV-2假病毒。在一些方面,该抗体或其抗原结合片段中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为100ng/mL或更低。

[0027] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段是全人的。

[0028] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。在一些方面,该轻链恒定区选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区。

[0029] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。在一些方面,该重链恒定区选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组。在一些方面,该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

[0030] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含 (i) 人IgG1重链恒定区和 (ii) 人IgG κ 轻链恒定区。

[0031] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变和TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重

链恒定区。在一些方面,该抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

[0032] 在一些方面,该抗体或其抗原结合片段是全长抗体。在一些方面,该抗体或其抗原结合片段是抗原结合片段。在一些方面,该抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG ΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

[0033] 在一些方面,该抗体或抗原结合片段是分离的。在一些方面,该抗体或抗原结合片段是单克隆的。在一些方面,该抗体或抗原结合片段是重组的。

[0034] 在一些方面,该抗体或其抗原结合片段进一步包含可检测标记。

[0035] 本文还提供了多核苷酸。

[0036] 在一些方面,分离的多核苷酸包含编码本文提供的抗体或其抗原结合片段的重链可变区的核酸分子和/或编码本文提供的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的核酸分子。

[0037] 本文还提供了载体,在一些方面,分离的载体包含本文提供的多核苷酸。

[0038] 本文还提供了宿主细胞。在一些方面,宿主细胞包含本文提供的多核苷酸、本文提供的载体或包含编码本文提供的抗体或其抗原结合片段的重链可变区的核酸分子的第一载体和包含编码本文提供的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的核酸分子的第二载体。

[0039] 本文还提供了产生抗体及其抗原结合片段的方法。在一些方面,产生与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的方法包括培养本文提供的宿主细胞,使得该核酸分子被表达并且产生该抗体或其抗原结合片段。在一些方面,该方法进一步包括分离该抗体或抗原结合片段。本文还提供了通过本文提供的方法产生的抗体及抗原结合片段。

[0040] 本文还提供了组合物。在一些方面,组合物包含本文提供的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,该组合物是进一步包含药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0041] 本文还提供了组合物和组合。在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)或(ii)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。

[0042] 在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段同包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)或(ii)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

[0043] 在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。

[0044] 在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(ii)含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(iii)含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;(iv)含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;(v)含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;或(vi)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL。

[0045] 在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:20、21、22、23、67和24的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL或(ii)含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VL。

[0046] 在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或其抗原结合片段包含(i)分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3或(ii)分别具有SEQ ID NO:20、21、22、23、67和24的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0047] 在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。

[0048] 在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。

[0049] 在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH和/或含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL。

[0050] 在一些方面,该组合物或组合中和SARS-CoV-2假病毒,任选地其中该组合物或组合中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低。在一些方面,该组合物或组合(i)中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1和/或SARS-CoV-2 BA.2假病毒,其EC₅₀为25ng/mL或更低,和/或(ii)中和SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低。

[0051] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是完全人的和/或该第二抗体或抗原结合片段是完全人的。

[0052] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含轻链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫

球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG κ 和IgG λ 轻链恒定区组成的组的轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区。

[0053] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含重链恒定区。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1和/或该第二抗体或抗原结合片段包含选自由人免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2重链恒定区组成的组的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

[0054] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgG κ 轻链恒定区,和/或该第二抗体或抗原结合片段包含(i)人IgG1重链恒定区和(ii)人IgG κ 轻链恒定区。

[0055] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有YTE突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

[0056] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区,和轻链恒定区,任选地其中该轻链恒定区是人IgG κ 轻链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有TM突变的重链恒定区,任选地其中该重链恒定区是人IgG1重链恒定区。

[0057] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区和/或该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的重链恒定区。

[0058] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是全长抗体和/或该第二抗体或抗原结合片段是全长抗体。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是抗原结合片段和/或该第二抗体或抗原结合片段是抗原结合片段。在一些方面,该第一抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG Δ CH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc和/或该第二抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、IgG Δ CH2、微型抗体、F(ab')₃、四抗体、三抗体、双抗体、单结构域抗体、(scFv)₂或scFv-Fc。

[0059] 在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是分离的和/或该第二抗体或抗原结合片段是分离的。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是单克隆的和/或该第二抗体或抗原结合片段是单克隆的。在一些方面,该第一抗体或抗原结合片段是重组的和/或该第二抗体或抗原结合片段是重组的。

[0060] 在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨

氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

[0061] 在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

[0062] 在一些方面,组合物或组合包含:特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第一人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第一抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区;以及特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的第二人IgG1抗体或其抗原结合片段,其中该第二抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的可变重链(VH),含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的可变轻链(VL),含有YTE突变和TM突变的重链恒定区和轻链恒定区。

[0063] 在一些方面,该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列和/或该第一人IgG1抗体或抗原结合片段的重链恒定区包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列。

[0064] 在一些方面,该组合物是进一步包含药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0065] 在本文提供的组合的一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在相同的组合物中,任选地其中该组合物是药物组合物。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中,任选地其中该第一抗体或其抗原结合片段和/或该第二抗体或其抗原结合片段在药物组合物中。

[0066] 本文还提供了中和SARS-CoV-2的方法。在一些方面,中和SARS-CoV-2的方法包括使SARS-CoV-2与本文提供的抗体或其抗原结合片段或本文提供的组合物或组合接触。在一些方面,该接触是在体外进行的。在一些方面,该接触是在受试者体内的。

[0067] 本文还提供了SARS-CoV-2的暴露前预防的方法。在一些方面,在受试者中提供SARS-CoV-2的暴露前预防的方法包括向受试者施用有效量的本文提供的组合物或组合。在一些方面,该受试者目前没有感染SARS-CoV-2。在一些方面,该受试者已知最近没有暴露于感染SARS-CoV-2的个体。在一些方面,该受试者具有中度至重度免疫损害。在一些方面,中度至重度免疫损害是由于医学病症或接受免疫抑制药物或治疗。在一些方面,该受试者可能不会对COVID-19疫苗接种产生足够的免疫反应。在一些方面,不建议受试者进行COVID-19疫苗接种。在一些方面,由于对COVID-19疫苗和/或COVID-19疫苗组分有严重不良反应史,因此不建议COVID-19疫苗接种。在一些方面,将该第一抗体或其抗原结合片段和该第二抗体或其抗原结合片段依序施用。

[0068] 本文还提供了治疗或预防SARS-CoV-2感染的方法。在一些方面,治疗或预防受试者中SARS-CoV-2感染的方法包括向受试者施用有效量的本文提供的组合,其中将第一抗体或其抗原结合片段和第二抗体或其抗原结合片段依序施用。在一些方面,在施用第二抗体

或其抗原结合片段之前施用第一抗体或其抗原结合片段。在一些方面,在施用第二抗体或其抗原结合片段之后施用第一抗体或其抗原结合片段。在一些方面,将第一抗体或抗原结合片段肌内施用和/或其中将第二抗体或其抗原结合片段肌内注射。

[0069] 在一些方面,在受试者中提供SARS-CoV-2的暴露前预防的方法包括向受试者施用有效量的本文提供的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,在受试者中治疗或预防SARS-CoV-2感染的方法包括向受试者施用有效量的本文提供的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,该施用是肌内的。

[0070] 在本文提供的方法的一些方面,受试者已暴露于SARS-CoV-2或处于暴露于SARS-CoV-2的风险中。

[0071] 在本文提供的方法的一些方面,受试者是人。

[0072] 在本文提供的方法的一些方面,SARS-CoV-2是SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 β 、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G。在本文提供的方法的一些方面,SARS-CoV-2是SARS-CoV-2 BA.2.12.1。

[0073] 本文还提供了检测SARS-CoV-2的方法。在一些方面,检测样品中SARS-CoV-2的方法包括使样品与本文提供的抗体或抗原结合片段或本文提供的组合物或组合接触。

6.附图说明

[0074] 图1显示了RQ33、RQ40、RQ41和RQ43抗体对SARS-CoV-2假病毒的中和。(参见实例17。)

[0075] 图2显示了抗体组合对SARS-CoV-2假病毒的中和。(参见实例17。)

[0076] 图3显示了通过噬斑减少中和试验(FRNT)测定的RQ33、RQ43-GL-H-L01和RQ33+RQ43-GL-H-L01组合对SARS-CoV-2 BA.2.12.1VOC的体外中和活性。测定在两个独立的重复中进行重复,每个重复两次。非线性回归剂量-反应曲线描绘了在每个稀释度下两个重复的平均值和标准偏差。mAb,单克隆抗体;VOC,关注的变体(参见实例18。)

[0077] 图4显示了通过假病毒中和测定的带有SARS-CoV-2 omicron(奥密克戎)BA.2.12.1 VOC刺突的假病毒的体外中和曲线。测定在三个独立的重复中进行重复,每个重复三次。非线性回归剂量-反应曲线描绘了在每个稀释度下具有平均值和标准偏差的代表性重复。mAb,单克隆抗体;VOC,关注的变体(参见实例18。)

[0078] 图5显示了西加韦单抗和RQ43-GL-H-L01连续结合SARS-CoV-2刺突蛋白受体结合结构域。进行生物层干涉测量以评估西加韦单抗、RQ43-GL-H-L01和CR3022(非竞争性对照mAb)与SARS-CoV-2刺突RBD的同时结合。显示了mAb1结合的结合信号(nm)(黑色),随后增加缓冲液(无可见信号)、CR3022(灰色)、西加韦单抗(左小图中斜线条纹)或RQ43-GL-H-L01(右小图中斜线条纹)的结合信号。结合信号是取每个结合步骤在平衡下10秒的数据点平均值。如果结合信号的增加大于0.3nm,则认为mAb是结合的。数据代表两个独立实验。mAb,单克隆抗体;SARS-CoV-2,严重急性呼吸综合征冠状病毒2。(参见实例18。)

[0079] 图6提供了映射到SARS-CoV-2 RBD的西加韦单抗结合位点(顶部)和RQ43结合位点(底部)的线性描述。西加韦单抗和RQ43结合位点是不连续的,用方框和加下划线字母表示,而在各自结合位点外的残基不加下划线。(参见实例18。)

7.具体实施方式

[0080] 本文提供了特异性结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的抗体(例如单克隆抗体)及其抗

原结合片段及其使用方法。

[0081] 7.1术语

[0082] 术语“抗体”意指通过免疫球蛋白分子的可变区中的至少一个抗原识别位点识别并特异性结合靶标(诸如蛋白质、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂质或前述的组合)的免疫球蛋白分子。如本文所用,术语“抗体”涵盖完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、包含抗体的融合蛋白、以及任何其他修饰的免疫球蛋白分子,只要这些抗体展现出所希望的生物活性即可。抗体可以是以下五大类免疫球蛋白中的任一种:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,或其亚类(同种型)(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2),基于它们的重链恒定域的特性分别被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。不同类别的免疫球蛋白具有不同的和熟知的亚基结构和三维构型。抗体可以是裸的或缀合至其他分子如毒素、放射性同位素等等。

[0083] 术语“抗体片段”是指完整抗体的一部分。“抗原结合片段”、“抗原结合结构域”或“抗原结合区”是指与抗原结合的完整抗体的一部分。抗原结合片段可以含有完整抗体的抗原决定区(例如,互补决定区(CDR))。抗体的抗原结合片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段、线性抗体和单链抗体。抗体的抗原结合片段可以源自任何动物物种,诸如啮齿动物(例如,小鼠、大鼠或仓鼠)和人,或者可以人工产生。

[0084] 术语“抗SARS-CoV-2刺突蛋白抗体”、“SARS-CoV-2刺突蛋白抗体”和“与SARS-CoV-2刺突蛋白结合的抗体”在本文中可互换使用,指的是能够以足够的亲和力与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体,使得该抗体可在靶向SARS-CoV-2中用作诊断剂和/或治疗剂。例如使用ForteBio或Biacore所测量的,SARS-CoV-2刺突蛋白抗体与不相关的非SARS-CoV-2刺突蛋白的结合程度可以小于该抗体与SARS-CoV-2刺突蛋白的结合程度的约10%。

[0085] “单克隆”抗体或其抗原结合片段是指涉及单一抗原决定簇或表位的高度特异性识别和结合的同源抗体或其抗原结合片段群。这与典型地包括针对不同抗原决定簇的不同抗体的多克隆抗体相反。术语“单克隆”抗体或其抗原结合片段涵盖完整和全长单克隆抗体以及抗体片段(诸如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链(scFv)突变体、包含抗体部分的融合蛋白和包含抗原识别位点的任何其他修饰的免疫球蛋白分子。此外,“单克隆”抗体或其抗原结合片段是指以任何数目的方式(包括但不限于通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达和转基因动物)制备的这样的抗体及其抗原结合片段。

[0086] 如本文所用,术语“可变区”或“可变结构域”可互换使用并且在本领域中是常见的。可变区通常是指抗体的一部分,通常是轻链或重链的一部分,通常是成熟重链中氨基端约110至120个氨基酸或110至125个氨基酸以及成熟轻链中约90至115个氨基酸,该部分在抗体之间的序列广泛不同并且用于特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。序列的变异性集中在称为互补决定区(CDR)的那些区域中,而可变结构域中保守性更高的区域称为框架区(FR)。不希望受任何特定机制或理论的束缚,据信轻链和重链的CDR主要负责抗体与抗原的相互作用和特异性。在一些方面,可变区是人可变区。在一些方面,可变区包含啮齿动物或鼠类CDR和人框架区(FR)。在一些方面,可变区是灵长类(例如,非人灵长类)可变区。在一些方面,可变区包含啮齿动物或鼠类CDR和灵长类(例如,非人灵长类)框架区(FR)。

[0087] 如本文所用,术语“互补决定区”或“CDR”是指抗体可变结构域中在序列上是高变的和/或形成结构上限定的环(高变环)和/或含有与抗原接触的残基的每个区域。抗体可包

含六个CDR,例如VH中的三个和VL中的三个。

[0088] 术语“VL”和“VL结构域”可互换用于指抗体的轻链可变区。

[0089] 术语“VH”和“VH结构域”可互换用于指抗体的重链可变区。

[0090] 术语“Kabat编号”和类似术语在本领域中是公认的并且是指对抗体或其抗原结合片段的重链和轻链可变区中的氨基酸残基进行编号的系统。在一些方面,可以根据Kabat编号系统来确定CDR(参见例如Kabat EA和Wu TT(1971) Ann NY Acad Sci[纽约科学院年鉴] 190:382-391以及Kabat EA等人,(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学相关蛋白序列],第五版,美国卫生与公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH公开号91-3242)。使用Kabat编号系统,抗体重链分子内的CDR通常存在于氨基酸位置31至35(任选地可包括35位之后的一个或两个附加氨基酸(在Kabat编号方案中称为35A和35B))(CDR1)、氨基酸位置50至65(CDR2)和氨基酸位置95至102(CDR3)。使用Kabat编号系统,抗体轻链分子内的CDR通常存在于氨基酸位置24至34(CDR1)、氨基酸位置50至56(CDR2)和氨基酸位置89至97(CDR3)。

[0091] 相反,Chothia是指结构环的位置(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志] 196:901-917(1987))。Chothia CDR-H1环的末端在利用Kabat编号惯例编号时在H32与H34之间变化,这取决于环的长度(这是因为Kabat编号方案将插入放在H35A和H35B处;如果35A和35B都不存在,那么环端点在32;如果只存在35A,那么环端点在33;如果35A和35B都存在,那么环端点在34)。AbM高变区表示Kabat CDR和Chothia结构环之间的折衷,并且被牛津分子公司(Oxford Molecular)的AbM抗体建模软件使用。

环	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34
[0092]		(Kabat 编号)	
	H1	H26-H35	H26-H32
		(Chothia 编号)	
	H2	H50-H65	H52-H56
	H3	H95-H102	H95-H102

[0093] 如本文所用,术语“恒定区”或“恒定结构域”是可互换的并且具有其在本领域中常见的含义。恒定区是抗体的一部分,例如轻链和/或重链的羧基端部分,该部分不直接涉及抗体与抗原的结合,但是可以表现出各种效应子功能,诸如与Fc受体的相互作用。相对于免疫球蛋白可变结构域,免疫球蛋白分子的恒定区通常具有更保守的氨基酸序列。在一些方面,抗体或抗原结合片段包含对于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)而言足够的恒定区或其一部分。

[0094] 如本文所用,术语“重链”在用于指抗体时可以基于恒定结构域的氨基酸序列指任何不同的类型,例如alpha(α)、delta(δ)、epsilon(ϵ)、gamma(γ)和mu(μ),分别产生IgA、IgD、IgE、IgG和IgM类抗体,包括IgG亚类,例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。重链氨基酸序列是本领域熟知的。在一些方面,重链是人重链。

[0095] 如本文所用,术语“轻链”在用于指抗体时可以基于恒定结构域的氨基酸序列指任何不同的类型,例如,kappa (κ) 或lambda (λ)。轻链氨基酸序列是本领域熟知的。在一些方面,轻链是人轻链。

[0096] 术语“人源化”抗体或其抗原结合片段是指非人(例如鼠类)抗体或抗原结合片段的形式,这些形式是含有最少的非人(例如,鼠类)序列的特异性免疫球蛋白链或其片段。典型地,人源化抗体或其抗原结合片段是人免疫球蛋白,其中来自互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(例如,小鼠、大鼠、兔子或仓鼠)的CDR的具有所希望特异性、亲和性和能力的残基替代(“CDR移植”)(Jones等人,Nature[自然],321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature[自然]332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science[科学]239:1534-1536(1988))。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被来自非人物种的具有所希望特异性、亲和性和能力的抗体或片段中的相应残基置换。人源化抗体或其抗原结合片段可以通过取代Fv框架区中和/或置换的非人残基内另外的残基来进一步修饰,以改进和优化抗体或其抗原结合片段特异性、亲和力和/或能力。通常,人源化抗体或其抗原结合片段将包含基本上所有至少一个(并且典型地两个或三个)可变结构域,该可变结构域包含对应于非人免疫球蛋白的所有或基本上所有CDR区,而所有或基本上所有FR区是人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体或其抗原结合片段还可以包含免疫球蛋白恒定区或结构域(Fc),典型地是人免疫球蛋白的恒定区或结构域的至少一部分。用于产生人源化抗体的方法的实例描述于美国专利5,225,539;Roguska等人,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊]USA,91(3):969-973(1994);以及Roguska等人,Protein Eng.[蛋白质工程]9(10):895-904(1996)。在一些方面,“人源化抗体”是表面重整抗体(resurfaced antibody)。

[0097] 术语“人”或“完全人”抗体或其抗原结合片段意指具有源自人免疫球蛋白基因座的氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段,其中这种抗体或抗原结合片段是使用本领域已知的任何技术制备的。人抗体或其抗原结合片段的这一定义包括完整抗体或全长抗体及其片段。

[0098] “结合亲和力”通常是指分子(例如抗体或其抗原结合片段)的单个结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,如本文所用,“结合亲和力”是指反映结合对的成员(例如抗体或其抗原结合片段和抗原)之间的1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以用解离常数(K_D)表示。亲和力可以以本领域中已知的多种方式测量和/或表示,包括但不限于平衡解离常数(K_D)和平衡缔合常数(K_A)。 K_D 是根据 k_{off}/k_{on} 的商计算的,而 K_A 是根据 k_{on}/k_{off} 的商计算的。 k_{on} 是指例如抗体或其抗原结合片段与抗原的缔合速率常数,而 k_{off} 是指例如抗体或其抗原结合片段与抗原的解离。 k_{on} 和 k_{off} 可以通过本领域普通技术人员已知的技术来测定,诸如BIAcore®或KinExA。

[0099] 如本文所用,“表位”是本领域中的术语并且是指抗原中抗体或其抗原结合片段可以特异性结合的局部区域。表位可以是例如多肽的连续氨基酸(线性或连续表位),或者表位可以例如一起来自一个或多个多肽的两个或更多个非连续区域(构象性、非线性、不连续或非连续的表位)。在一些方面,抗体或其抗原结合片段结合的表位可以通过例如NMR光谱法、X射线衍射晶体学研究、ELISA测定法、氢/氘交换联合质谱法(例如,液相色谱-电喷雾质谱法)、基于阵列的寡肽扫描测定法和/或诱变作图(例如,定点诱变作图)。对于X射线晶体

学,可以使用本领域中任何已知的方法来完成结晶(例如,Giegé R等人,(1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*[结晶学报,D辑:生物结晶学]50(Pt 4):339-350; McPherson A(1990) *Eur J Biochem*[欧洲生物化学杂志]189:1-23; Chayen NE(1997) *Structure*[结构]5:1269-1274; McPherson A(1976) *J Biol Chem*[生物化学杂志]251:6300-6303)。抗体/其抗原结合片段:抗原晶体可以使用熟知的X射线衍射技术研究并且可以使用计算机软件进行改进,诸如X-PLOR(耶鲁大学(Yale University),1992,由分子模拟公司(Molecular Simulations, Inc.)发行;参见,例如, *Meth Enzymol*[酶学方法](1985)第114和115卷,编辑Wyckoff HW等人;U.S.2004/0014194)、以及BUSTER(Bricogne G(1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*[晶体学报D辑:生物晶体学]49(Pt 1):37-60; Bricogne G(1997) *Meth Enzymol*[酶学方法]276A:361-423,编辑Carter CW; Roversi P等人,(2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*[结晶学报,D辑:生物结晶学]56(Pt 10):1316-1323)。可以使用本领域技术人员已知的任何方法来完成诱变作图研究。对于诱变技术(包括丙氨酸扫描诱变技术)的描述,参见例如,Champe M等人,(1995) *J Biol Chem*[生物化学杂志]270:1388-1394以及Cunningham BC和Wells JA(1989) *Science*[科学]244:1081-1085。

[0100] 同参考抗体“结合相同表位”的抗体是指同参考抗体结合相同氨基酸残基的抗体。可以通过氢/氘交换测定来确定抗体同参考抗体结合相同表位的能力(参见例如,Coales等人 *Rapid Commun. Mass Spectrom.*[质谱学快报]2009;23:639-647)。

[0101] 如本文所用,术语“免疫特异性结合”、“免疫特异性识别”、“特异性结合”和“特异性识别”在抗体或其抗原结合片段的上下文中是类似术语。这些术语指示抗体或其抗原结合片段经由其抗原结合结构域与表位结合,并且指示该结合需要抗原结合结构域和表位之间的一些互补性。因此,在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白“特异性结合”的抗体也可以与一种或多种相关病毒(例如SARS-1)的刺突蛋白结合和/或也可以与SARS-CoV-2刺突蛋白的变体结合,但例如使用ForteBio或Biacore测量的那样,与不相关的非SARS-CoV-2刺突蛋白的结合程度小于抗体与SARS-CoV刺突蛋白结合的约10%。

[0102] 若抗体优先与该表位或重叠表位结合,其程度为在某种程度上阻断参考抗体与表位的结合,则将该抗体称为“竞争性抑制”参考抗体与给定表位的结合。竞争性抑制可以通过本领域已知的任何方法测定,例如竞争性ELISA测定法。可以说某抗体竞争性地将参考抗体与给定表位的结合抑制至少90%、至少80%、至少70%、至少60%或至少50%。

[0103] “分离的”多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是呈自然界中未发现形式的多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物。分离的多肽、抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物包括已经被纯化至它们不再呈自然界中发现形式的程度的那些。在一些方面,分离的抗体、多核苷酸、载体、细胞或组合物是基本上纯的。如本文所用,“基本上纯的”是指至少50%纯(即,不含污染物)、至少90%纯、至少95%纯、至少98%纯或至少99%纯的材料。

[0104] 在文中可互换使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指具有任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,它可以包含修饰的氨基酸,并且它可以被非氨基酸中断。这些术语还涵盖已经被天然修饰或通过干预修饰的氨基酸聚合物;例如,二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操纵或修饰,诸如与标记组分缀合。该定义还包括例如含有一种或多种氨基酸类似物(包括例如,非天然氨基酸等)以及本领域已知的其

他修饰的多肽。应当理解,由于本发明的多肽是基于抗体的,因此在一些方面,这些多肽可以作为单链或相关链出现。

[0105] “同一性百分比”是指两个序列(例如,氨基酸序列或核酸序列)之间的同一性程度。可以通过比对两个序列,引入空位以最大化序列之间的同一性来测定同一性百分比。可以使用本领域已知的程序来产生比对。为了本文的目的,核苷酸序列的比对可以用设为默认参数的blastn程序进行,而氨基酸序列的比对可以用设为默认参数的blastp程序进行(参见万维网上的国家生物技术信息中心(NCBI),ncbi.nlm.nih.gov)。

[0106] 如本文所用,具有疏水性侧链的氨基酸包括丙氨酸(A)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、蛋氨酸(M)、缬氨酸(V)、苯丙氨酸(F)、色氨酸(W)和酪氨酸(Y)。具有脂族疏水性侧链的氨基酸包括丙氨酸(A)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、蛋氨酸(M)和缬氨酸(V)。具有芳族疏水性侧链的氨基酸包括苯丙氨酸(F)、色氨酸(W)和酪氨酸(Y)。

[0107] 如本文所用,具有极性中性侧链的氨基酸包括天冬酰胺(N)、半胱氨酸(C)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T)。

[0108] 如本文所用,具有带电荷的侧链的氨基酸包括天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、精氨酸(R)、组氨酸(H)和赖氨酸(K)。具有带电荷的酸性侧链的氨基酸包括天冬氨酸(D)和谷氨酸(E)。具有带电荷的碱性侧链的氨基酸包括精氨酸(R)、组氨酸(H)和赖氨酸(K)。

[0109] 如本文所用,术语“宿主细胞”可以是任何类型的细胞,例如原代细胞、培养中的细胞或来自细胞系的细胞。在一些方面,术语“宿主细胞”是指用核酸分子转染的细胞及这种细胞的后代或潜在后代。这种细胞的后代可能与用核酸分子转染的亲代细胞不相同,例如这归因于可发生在成功传代或核酸分子整合入宿主细胞基因组中的过程中的突变或环境影响。

[0110] 术语“药物配制品”或“药物组合物”是指一种呈关于允许活性成分的生物活性有效的这种形式的制剂,并且不包含对于该配制品将给予的受试者而言具有不可接受毒性的额外组分的制剂。配制品可以是无菌的。

[0111] 如本文所提供的,抗体或其抗原结合片段的“组合”是指用于一起使用的两种或多种抗体或其抗原结合片段。组合中的抗体或其抗原结合片段可以一起包含在单一药物组合物中或可以包含在分开的药物组合物中。分开的药物组合物中的组合的抗体或抗原结合片段可以同时或依序施用。

[0112] 如本文所用,术语“施用”等是指可用于使得能够将药物(例如,与SARS-CoV-2刺突蛋白特异性结合的抗体或其抗原结合片段)递送到所希望的生物作用位点的方法(例如静脉内施用)。可以与本文所述的药剂和方法一起使用的施用技术可参见例如Goodman和Gilman,The Pharmacological Basis of Therapeutics[治疗学的药理学基础],现行版本,Pergamon;和Remington's,Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],现行版,Mack Publishing Co.[麦克出版公司],Easton,Pa[宾夕法尼亚州伊斯顿]。

[0113] 如本文使用的,术语“受试者”和“患者”可互换地使用。该受试者可以是动物。在一些方面,该受试者是哺乳动物,例如非人类动物(例如,牛、猪、马、猫、狗、大鼠、小鼠、猴或其他灵长类等)。在一些方面,该受试者是人。

[0114] 术语“治疗有效量”是指有效治疗受试者的疾病或病症的药物(例如,一种或多种抗体或其抗原结合片段)的量。

[0115] 术语如“治疗(treating或treatment或to treat)”或“减轻(alleviating或to alleviate)”是指治愈、减慢已诊断的病理状况或病症,减轻已诊断的病理状况或病症的症状,和/或停止已诊断的病理状况或病症的进展的治疗性措施。因此,有治疗需要的那些患者包括已经诊断患有或怀疑患有该病症的那些。需要治疗的患者或受试者可以包括诊断患有冠状病毒2019(COVID 19)的患者和已感染严重急性呼吸道综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)的患者。

[0116] 替代性地,药理和/或生理作用可以是预防性的,即,该作用完全或部分地预防疾病或其症状。在这方面,所披露的方法包括施用“预防有效量”的药物(例如,一种或多种抗体或其抗原结合片段)。“预防有效量”是指在必要的剂量下持续必要的时间段,有效实现所希望的预防结果(例如,预防SARS-CoV-2感染或疾病发作)的量。

[0117] 如在本披露内容和权利要求中所使用,单数形式“一种/个”和“该”包括复数形式,除非在上下文中的其他地方清楚地指出。

[0118] 应当理解,无论在什么情况下在此用语言“包含”描述方面时,还提供了关于“由……组成”和/或“主要由……组成”描述的其他类似方面。在本披露中,“包含(comprises或comprising)”、“含有”和“具有”等可以意指“包括(includes或including)”等;“基本上由……组成(consisting essentially of或consists essentially)”是开放性的,允许超出所叙述的存在,只要所叙述的基本或新颖特征不被超过叙述的存在改变,但是排除现有技术方面。

[0119] 除非明确声明或从上下文显而易见,如本文所用的,术语“或”被理解为包括在内。如本文在短语诸如“A和/或B”中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”和“B”。同样,如短语诸如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下每个方面:A、B、和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0120] 如本文所用,术语“约”和“大约”在用于修饰数值或数值范围时,指示高于该数值或范围10%和低于该数值或范围10%的偏差仍在所叙述的值或范围的预期含义内。应当理解,在本文中无论在何处用语言“约”或“大约”数值或范围来描述各方面,也提供了指代特定数值或范围(没有“约”)的类似方面。

[0121] 可以将本文提供的任何组合物或方法与本文提供的任何其他组合物和方法中的一种或多种进行组合。

[0122] 7.2抗体及其抗原结合片段

[0123] 在特定方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体(例如,单克隆抗体,诸如人抗体)及其抗原结合片段。SEQ ID NO:1中提供了SARS-CoV-2刺突蛋白的氨基酸序列:

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYDPDKVFRSS
 VLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVS GTNGTKRFDNPVLPFNDGVYF
 ASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDP
 FLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQ
 GNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLP
 IGINITRFQTLLALHRSYLT PGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFL
 [0124] LKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQP
 TESIVRFPNITNLC PFGEVFNA TRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVL
 YNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQ
 TGKIADYNYKLPDDFTGC VIAWNSNNLDSKVG GNYNLYRLFRK
 SNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG
 YQPYRVVVL SFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGT
 GVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVS
 VITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSN
 VFQTRAGCLIGAEHVNN SYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSV
 ASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNN SIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTS
 VDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE
 VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTL
 ADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDemiaQYT
 SALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYEN
 [0125] QKLIANQFN SAIGKIQDSLSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVK
 QLSSNFGAISSVLNDILSR LDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQ
 LIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSA
 PHGVVFLHV TYVPAQEKNFTTAPAICH DGKAHFPREGVFVSNGTH
 WFVTQRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDS
 FKEELDKYFKNHTSPD VDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNL
 NESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTS
 CCSC LKGCCSCGSCCKFDEDDSEPV LKGVKLHYT (SEQ ID NO:1)

[0126] SEQ ID NO:1的氨基酸1-12是刺突蛋白的信号肽。因此,成熟版的SARS-CoV-2的刺突蛋白含有SEQ ID NO:1的氨基酸13-1273。SEQ ID NO:1的氨基酸13-1213对应于胞外结构域;氨基酸1214-1234对应于跨膜结构域;并且氨基酸1235-1273对应于胞质结构域。

[0127] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合,并且与SARS-CoV-2的刺突蛋白的受体结合结构域(RBD)特异性结合。

[0128] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合,

并包含表1中列出的抗体的六个CDR(即,该抗体的三个VH CDR和同一抗体的三个VL CDR)。

[0129] 表1.具有Kabat定义的CDR的抗体序列

克隆	H/L	可变序列区	CDR1	CDR2	CDR3
RQ20	H	QVQLVESGPEMKKPGTTSVKVSKKASGFTFTITSAVQWVRQARG QRLEWMGWIAVSGGNTNYAQKFQDRVTINRDMSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAAPHCDRTSCHDGDGFDIWGGQTMVTVSS (SEQ ID NO:38)	TSAVQ (SEQ ID NO:2)	WIAVSGGNT NYAQKFQD (SEQ ID NO:3)	PHCDRTSCHDG FDI (SEQ ID NO:4)
RQ20	L	DIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASRRGTGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGGQTKVEIK (SEQ ID NO:39)	RASQSVRSY LA (SEQ ID NO:5)	GASRRGT (SEQ ID NO:6)	QQYGSSPW (SEQ ID NO:7)
RQ20- GL-LH	H	QVQLVQSGPEVKKPGTTSVKVSKKASGFTFTITSAVQWVRQARG QRLEWMGWIAVSGGNTNYAQKFQDRVTITRDMSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCAAPHCDRTSCHDGDGFDIWGGQTMVTVSS (SEQ ID NO:40)	TSAVQ (SEQ ID NO:2)	WIAVSGGNT NYAQKFQD (SEQ ID NO:3)	PHCDRTSCHDG FDI (SEQ ID NO:4)
RQ20- GL-LH	L	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASRRGTGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGGQTKVEIK (SEQ ID NO:41)	RASQSVRSY LA (SEQ ID NO:5)	GASRRGT (SEQ ID NO:6)	QQYGSSPW (SEQ ID NO:7)
RQ29	H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASRGTFNTYVFTWVRQAPG QGLEWMGGIIPFFGTADY AQKFQGRVTITADDSTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCSRSLSQWDLPLPMWGGQTLVTVSS (SEQ ID NO:42)	TYVFT (SEQ ID NO:8)	GIIPFFGTADY AQKFQG (SEQ ID NO:9)	LSQWDLPLM (SEQ ID NO:10)
RQ29	L	DIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSFSTSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC QQYGTSPRMYTFGGQTKVDIK (SEQ ID NO:43)	RASQSFSTSSY LA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGTSPRMYT (SEQ ID NO:12)
RQ29- GL-LH	H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASRGTFNTYVFTWVRQAPG QGLEWMGGIIPFFGTADY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCSRSLSQWDLPLPMWGGQTLVTVSS (SEQ ID	TYVFT (SEQ ID NO:8)	GIIPFFGTADY AQKFQG (SEQ ID NO:9)	LSQWDLPLM (SEQ ID NO:10)

[0130]

[0131]

RQ29- GL-LH	L	NO:44) EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSFTSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGTSPRMYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:45)	RASQSFTSSY LA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGTSPRMYT (SEQ ID NO:12)
RQ33	H	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVFGGSITSSNHYWVWIRQPPG KGLEWIGSMYYSGSTAYNPSTLNRTISVDTSKNQFSLKLSVT AADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFDPWGGGTLVTVSS (SEQ ID NO:46)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNPSLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFDP (SEQ ID NO:15)
RQ33	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGGTFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:47)	RASQGISSYL A (SEQ ID NO:16)	AASLTQS (SEQ ID NO:17)	QQLNSYPLT (SEQ ID NO:18)
RQ33- GL-H	H	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSITSSNHYWVWIRQPPG KGLEWIGSMYYSGSTAYNPSTLNRTISVDTSKNQFSLKLSVT AADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFDPWGGGTLVTVSS (SEQ ID NO:48)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNPSLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFDP (SEQ ID NO:15)
RQ33- GL-H	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGGTFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:47)	RASQGISSYL A (SEQ ID NO:16)	AASLTQS (SEQ ID NO:17)	QQLNSYPLT (SEQ ID NO:18)
RQ33- GL-H- LO1	H	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSITSSNHYWVWIRQPPG KGLEWIGSMYYSGSTAYNPSTLNRTISVDTSKNQFSLKLSVT AADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFEFPGGGTGLVTVSS (SEQ ID NO:49)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNPSLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFEF (SEQ ID NO:19)
RQ33- GL-H- LO1	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRTVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGGTFTLTISLQPEDFATYYCQ QLNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:47)	RASQGISSYL A (SEQ ID NO:16)	AASLTQS (SEQ ID NO:17)	QQLNSYPLT (SEQ ID NO:18)

[0132]

RQ40	H	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAINWVRQAPGQ GLEWMGGIPIFRTPHYAQKFQGRVTITADESTGTAYMELSSLR SEDTAVYYCASPCGGDCPQYLKSSKLDWYFDLWGRGTLVT SS (SEQ ID NO:50)	SYAIN (SEQ ID NO:20)	GIPIFRTPHY AQKFQ (SEQ ID NO:21)	PSCGGDCPQYL KSSKLDWYFDL (SEQ ID NO:22)
RQ40	L	VIWMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSTYLAWYQQKPGQ APRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGSSPLTFGQGRLEIK (SEQ ID NO:51)	RASQSVSSY LA (SEQ ID NO:23)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QHYGSSPLT (SEQ ID NO:24)
RQ40- GL-LH	H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAINWVRQAPG QGLEWMGGIPIFRTPHYAQKFQGRVTITADESTGTAYMELSSLR RSEDTAVYYCASPCGGDCPQYLKSSKLDWYFDLWGRGTLVT VSS (SEQ ID NO:52)	SYAIN (SEQ ID NO:20)	GIPIFRTPHY AQKFQ (SEQ ID NO:21)	PSCGGDCPQYL KSSKLDWYFDL (SEQ ID NO:22)
RQ40- GL-LH	L	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSTYLAWYQQKPGQ APRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGSSPLTFGQGRLEIK (SEQ ID NO:53)	RASQSVSSY LA (SEQ ID NO:23)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QHYGSSPLT (SEQ ID NO:24)
RQ41	H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASEIIVSRNYSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDLDDVVGTDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:54)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLDVVGGTDY (SEQ ID NO:27)
RQ41	L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPGYTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:55)	RASQSVSSY LA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41- GL-LH	H	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASEIIVSRNYSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDLDDVVGTDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:56)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLDVVGGTDY (SEQ ID NO:27)

[0133]

RQ41-GL-LH-LO1	L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPGYTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:57)	RASQSVSSSY LA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41-GL-LH-LO1	H	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAAASEIIVSRNYMSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDLEVVGGTDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:58)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLEVVGTTDY (SEQ ID NO:30)
RQ41-GL-LH-LO1	L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPGYTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:57)	RASQSVSSSY LA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41-LO1	H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAAASEIIVSRNYMSWVRQAPGK GLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDLEVVGGTDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:59)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLEVVGTTDY (SEQ ID NO:30)
RQ41-LO1	L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPGYTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:55)	RASQSVSSSY LA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ43	H	EVQLLETGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFPFDYAIHWVRLAPGK GLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFFPGYSSGWYYGLDVGQGTATVTVSS (SEQ ID NO:60)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGWY YGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGGY NYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKG (SEQ ID NO:36)
RQ43-	H	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFPFDYAIHWVRLAPGK	DYAIH	SISWDSGSIG	GAFPGYSSGWY

[0134]

GL-H		GLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFFGYSSGWYYGLDVWGQGTDTVSS (SEQ ID NO:62)	(SEQ ID NO:31)	YADSVKG (SEQ ID NO:32)	YGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43- GL-H	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGGKTLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGGY NYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-H- LO1	H	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFPFDDYAIHWVRLAPGK GLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFFGYSSGWYYGLEVWGQGTDTVSS (SEQ ID NO:63)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGWY YGLEV (SEQ ID NO:37)
RQ43- GL-H- LO1	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGGKTLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGGY NYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-L	H	EVQLLETGGGLVQPGRSRLSCAASGFPFDDYAIHWVRLAPGK GLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFFGYSSGWYYGLDVWGQGTDTVSS (SEQ ID NO:60)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGWY YGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43- GL-L	L	QSAVTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGGKTKTVL (SEQ ID NO:64)	TGTSSDVGGY NYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-LH	H	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFPFDDYAIHWVRLAPGK GLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFFGYSSGWYYGLDVWGQGTDTVSS (SEQ ID NO:62)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGWY YGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43-	L	QSAVTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG	TGTSSDVGGY	EVSKRPS	SSYAGNKGV

[0135]

GL-LH		KAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGSGTKVTVL (SEQ ID NO:64)	NYVS (SEQ ID NO:34)	(SEQ ID NO:35)	(SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-LH- LO1	H	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFPDDYAIHWVRLAPGK GLEWVSSISWDSGISGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTALYYCAKGAFAFGYSSGWYYGLEVWVGQGTITVTSS (SEQ ID NO:63)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAAPGYSSGWY YGLEV (SEQ ID NO:37)
RQ43- GL-LH- LO1	L	QSAVTQPASVSGSPGQISITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYAGNKGVFGSGTKVTVL (SEQ ID NO:64)	TGTSSDVGGY NYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
西加韦 单抗 (AZD10 61)	H	QMLVQSGPEVKKPGTSVKVSKKASGFTFMSSAVQWVRQARG QRLEWIGWIVIGSGNTNYAQKFQERVTITRDMSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCAAPYCSSISCNDGFDIWGQGTMTVTSS (SEQ ID NO:68)	GTFTFMSSA (SEQ ID NO: 69)	IVIGSGNT (SEQ ID NO: 70)	AAPYCSSISCND GFDI (SEQ ID NO: 71)
西加韦 单抗 (AZD10 61)	L	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHYGSSRGWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:72)	QSVSSSY (SEQ ID NO: 73)	GAS (SEQ ID NO: 74)	QHYGSSRGWT (SEQ ID NO: 75)
克隆	H/L	重链和轻链序列	CDR1	CDR2	CDR3
西加韦 单抗 (AZD10 61)	H	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRDVMWSVVRQAPG KGLEWVGRIKSKIDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQM NSLKTEDTAVYYCTTAGSYYYDTVGPGLPEGKFDYWVGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP KPKDTLITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA	GTFTFMSSA (SEQ ID NO: 69)	IVIGSGNT (SEQ ID NO: 70)	AAPYCSSISCND GFDI (SEQ ID NO: 71)

[0136]

西加韦单抗 (AZD1061)	L	KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP ASIEKTTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76) DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQ QKPGQPPKLLMYYWASTRESGVDPDRFSGSGSGAEFTLTISSLQAE DVAIYYCQYYSTLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:77)	QSVSSSY (SEQ ID NO: 73)	GAS (SEQ ID NO: 74)	QHYGSSRGWT (SEQ ID NO: 75)
--------------------	---	--	-------------------------------	---------------------------	-------------------------------

[0137] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合并包含表1中列出的抗体的VH。在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2

的刺突蛋白结合并包含表1中列出的抗体的VL。

[0138] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合并包含1中列出抗体的VH和VL(即,抗体的VH和同一抗体的VL)。

[0139] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段可以通过其单独的VL结构域或其单独的VH结构域,或通过其单独的3个VL CDR或其单独的3个VH CDR来描述。参见例如Rader C等人,(1998)PNAS[美国国家科学院院刊]95:8910-8915,其通过援引以其全文并入本文,其描述了通过鉴定分别来自于人轻链或重链文库的互补轻链或重链来进行小鼠抗 $\alpha\text{v}\beta 3$ 抗体的人源化,产生具有与原始抗体亲和力一样高或更高的亲和力的人源化抗体变体。另请参见Clackson T等人,(1991)Nature[自然]352:624-628,其通过援引以其全文并入本文,描述了通过使用特定VL结构域(或VH结构域)并筛选文库中的互补可变结构域来产生结合特定抗原的抗体的方法。筛选产生了特定VH结构域的14个新配偶体和特定VL结构域的13个新配偶体,如通过ELISA所测定,它们是强结合剂。另请参见Kim SJ和Hong HJ,(2007)J Microbiol[微生物学杂志]45:572-577,其通过援引以其全文并入本文,描述了通过使用特定VH结构域并筛选文库(例如,人VL文库)中的互补VL结构域来产生结合特定抗原的抗体的方法;所选择的VL结构域又可以用于指导对另外的互补(例如人)VH结构域的选择。

[0140] 在一些方面,可以根据Chothia编号方案确定抗体或其抗原结合片段的CDR,Chothia编号方案是指免疫球蛋白结构环的位置(参见例如Chothia C和Lesk AM,(1987),J Mol Biol[分子生物学杂志]196:901-917;Al-Lazikani B等人,(1997)J Mol Biol[分子生物学杂志]273:927-948;Chothia C等人,(1992)J Mol Biol[分子生物学杂志]227:799-817;Tramontano A等人,(1990)J Mol Biol[分子生物学杂志]215(1):175-82;以及美国专利号7,709,226)。典型地,当使用Kabat编号惯例时,Chothia CDR-H1环存在于重链氨基酸26至32、33或34处,Chothia CDR-H2环存在于重链氨基酸52至56处,并且Chothia CDR-H3环存在于重链氨基酸95至102处,而Chothia CDR-L1环存在于轻链氨基酸24至34处,Chothia CDR-L2环存在于轻链氨基酸50至56处,并且Chothia CDR-L3环存在于轻链氨基酸89至97处。Chothia CDR-H1环的末端在利用Kabat编号惯例编号时在H32与H34之间变化,这取决于环的长度(这是因为Kabat编号方案将插入放在H35A和H35B处;如果35A和35B都不存在,那么环端点在32;如果只存在35A,那么环端点在33;如果35A和35B都存在,那么环端点在34)。

[0141] 在一些方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合并且包含表1中列出抗体的Chothia VH和VL CDR的抗体及其抗原结合片段。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含一个或多个CDR,其中Chothia和Kabat CDR具有相同的氨基酸序列。在一些方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合并且包含Kabat CDR和Chothia CDR的組合的抗体及其抗原结合片段。

[0142] 在一些方面,可以根据如Lefranc M-P,(1999)The Immunologist[免疫学家]7:132-136和Lefranc M-P等人,(1999)Nucleic Acids Res[核酸研究]27:209-212中所述的IMGT编号系统来确定抗体或其抗原结合片段的CDR。根据IMGT编号方案,VH-CDR1处于位置26至35,VH-CDR2处于位置51至57,VH-CDR3处于位置93至102,VL-CDR1处于位置27至32,VL-CDR2处于位置50至52,并且VL-CDR3处于位置89至97。在一些方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合并且包含表1中列出抗体的IMGT VH和VL CDR的抗体及其抗原结合片段,例如,如Lefranc M-P(1999)同上和Lefranc M-P等人,(1999)同上所述)。

[0143] 在一些方面,可以根据MacCallum RM等人,(1996)J Mol Biol[分子生物学杂志] 262:732-745确定抗体或其抗原结合片段的CDR。另请参见例如Martin A. “Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[抗体可变结构域的蛋白质序列和结构分析],”在Antibody Engineering[抗体工程]中,Kontermann和Dübel编辑,第31章,第422-439页,柏林斯普林格出版社(Springer-Verlag,Berlin) (2001)。在一些方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合并且包含如通过MacCallum RM等人的方法确定的表1中列出抗体的VH和VL CDR的抗体及其抗原结合片段。

[0144] 在一些方面,可以根据AbM编号方案确定抗体或其抗原结合片段的CDR,AbM编号方案是指代表Kabat CDR和Chothia结构环之间折衷的AbM高变区,并且被牛津分子的AbM抗体建模软件(牛津分子集团有限公司(Oxford Molecular Group,Inc.))使用。在一些方面,本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合并且包含如通过AbM编号方案确定的表1中列出抗体的VH和VL CDR的抗体及其抗原结合片段。

[0145] 在一些方面,本文提供了包含重链和/或轻链的抗体。人恒定区序列的非限制性实例已在本领域中描述,例如参见美国专利号5,693,780和Kabat EA等人,(1991)同上。

[0146] 关于重链,在一些方面,本文所述的抗体的重链可以是alpha (α)、delta (δ)、epsilon (ϵ)、gamma (γ) 或mu (μ) 重链。在一些方面,所述抗体的重链可包含人alpha (α)、delta (δ)、epsilon (ϵ)、gamma (γ) 或mu (μ) 重链。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体包含重链,其中VH结构域的氨基酸序列包含表1中所列的氨基酸序列并且其中重链的恒定区包含人gamma (γ) 重链恒定区(例如人IgG1重链恒定区)的氨基酸序列。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体包含重链,其中VH结构域的氨基酸序列包含表1中所列的序列,并且其中重链的恒定区包含本文所述的或本领域已知的人重链的氨基酸。

[0147] 如本领域已知的,重链C-末端赖氨酸可以例如在细胞培养中被去除。虽然C-末端赖氨酸在所有人IgG亚类(即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)的重链基因中是保守的,但此残基通常不存在于血清中发现的IgG中。还已知从抗体加工和切割C-末端赖氨酸是在细胞培养过程中最常检测到的产物电荷异质性来源之一。重组IgG的重链C-末端的赖氨酸残基可以在细胞培养过程中被哺乳动物宿主细胞内源性的羧肽酶去除。因此,在一些方面,本文提供的抗体或抗原结合片段包含具有C-末端赖氨酸的重链。在一些方面,本文提供的抗体或抗原结合片段包含不具有C-末端赖氨酸的重链。

[0148] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段的轻链是人 κ 轻链或人 λ 轻链。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体包含轻链,其中VL结构域的氨基酸序列包含表1中所列的序列,并且其中轻链的恒定区包含人 κ 或 λ 轻链恒定区的氨基酸序列。

[0149] 在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段包含轻链,其中VL结构域的氨基酸序列包含表1中所列的序列,并且其中轻链的恒定区包含人 κ 轻链恒定区的氨基酸序列。人 κ 轻链恒定区的氨基酸序列可以包含以下氨基酸序列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
[0150] ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:64)。

[0151] 在一些方面,本文所述的抗体的轻链是 λ 轻链。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体包含轻链,其中VL结构域的氨基酸序列包含表1中所列的序列,并且其中轻链的恒定区包含人 λ 轻链恒定区的氨基酸序列。人 κ 轻链恒定区的氨基酸序列可以包含以下氨基酸序列

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD
[0152] SSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT
HEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:65)。

[0153] 在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体包含含有本文所述的任何氨基酸序列的VH结构域和VL结构域,并且其中恒定区包含IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子或人IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子的恒定区的氨基酸序列。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体包含含有本文所述的任何氨基酸序列的VH结构域和VL结构域,并且其中恒定区包含IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子的任何类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或任何亚类(例如IgG2a和IgG2b)的恒定区的氨基酸序列。在一些方面,恒定区包含人IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY免疫球蛋白分子的任何类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或任何亚类(例如IgG2a和IgG2b)的恒定区的氨基酸序列。

[0154] Fc区工程化在本领域中用于例如延长治疗性抗体及其抗原结合片段的半衰期并避免体内降解。在一些方面,可以修饰IgG抗体或抗原结合片段的Fc区,以便增加IgG分子对新生儿Fc受体(FcRn)的亲和力,从而介导IgG分解代谢并避免IgG分子降解。合适的Fc区氨基酸取代或修饰是本领域已知的并且包括例如三取代M252Y/S254T/T256E(称为“YTE”),根据如Kabat中的EU索引编号(参见例如美国专利7,658,921;美国专利申请公开2014/0302058;和Yu等人,Antimicrob.Agents Chemother.[抗微生物制剂与化疗],61(1):e01020-16(2017))。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或抗原结合片段(例如,单克隆抗体或片段)包含含有YTE突变的Fc区。

[0155] 重链恒定区中的三突变(TM)L234F/L235E/P331S(根据欧盟编号惯例;Sazinsky等人Proc Natl Acad Sci USA[美国国家科学院院刊],105:20167-20172(2008))可以显著降低IgG效应物功能。

[0156] 在一些方面,包含YTE突变和TM突变的IgG1 CH1-CH3序列包含以下氨基酸序列:

[0157]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:66)。

[0158] 在一些方面,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸取代)引入本文所述的抗体或其抗原结合片段的Fc区中(例如,引入CH2结构域(人IgG1的残基231-340)和/或CH3结构域(人IgG1的残基341-447)和/或铰链区中,根据Kabat编号系统(Kabat中的EU索引)进行编号),以改变抗体或其抗原结合片段的一种或多种功能特性,诸如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。

[0159] 在一些方面,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸取代)引入Fc区(CH1结构域)的铰链区,使得铰链区中半胱氨酸残基的数目改变(例如增加或减少),如例如美国专利号5,677,425中所述。可以改变CH1结构域的铰链区中半胱氨酸残基的数量,以例如促进轻链和重链的组装,或改变(例如增加或减少)抗体或其抗原结合片段的稳定性。

[0160] 在一些方面,将一个、两个或更多个突变(例如,氨基酸取代)引入本文所述的抗体或其抗原结合片段的Fc区(例如,CH2结构域(人IgG1的残基231-340)和/或CH3结构域(人IgG1的残基341-447)和/或铰链区,根据Kabat编号系统(Kabat中的EU索引)进行编号),以增加或降低抗体或其抗原结合片段对效应细胞表面上的Fc受体(例如,活化Fc受体)的亲和力。Fc区中降低或增加对Fc受体的亲和力的突变以及将这样的突变引入Fc受体或其片段中的技术是本领域技术人员已知的。在例如Smith P等人,(2012)PNAS[美国国家科学院院刊]109:6181-6186,美国专利号6,737,056以及国际公开号WO 02/060919、WO 98/23289和WO 97/34631(将其通过援引并入本文)中描述了可以在Fc受体中进行突变以改变抗体或其抗原结合片段对Fc受体的亲和力的实例。

[0161] 在一些方面,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,取代、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选Fc或铰链-Fc结构域片段)中以改变(例如,减少或增加)体内抗体或其抗原结合片段的半衰期。参见例如,国际公开号WO 02/060919;WO 98/23289;和WO 97/34631;以及美国专利号5,869,046、6,121,022、6,277,375和6,165,745的突变实例,这些突变将改变(例如,减少或增加)体内抗体或其抗原结合片段的半衰期。在一些方面,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,取代、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选Fc或铰链-Fc结构域片段)中以减少体内抗体或其抗原结合片段的半衰期。在一些方面,将一个、两个或更多个氨基酸突变(即,取代、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段(优选Fc或铰链-Fc结构域片段)中以增加体内抗体或其抗原结合片段的半衰期。在一些方面,抗体或其抗原结合片段可以在第二恒定(CH2)结构域(人IgG1的残基231-340)和/或第三恒定(CH3)结构域(人IgG1的残基341-447)中具有一个或多个氨基酸突变(例如,取代),根据Kabat中的EU索引编号(Kabat EA等人,(1991)同上)。在一些方面,根

据如同Kabat中的EU索引编号,IgG1的恒定区包含在位置252处的蛋氨酸(M)至酪氨酸(Y)取代,在位置254处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)取代,以及在位置256处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)取代。参见美国专利号7,658,921,其通过援引并入本文。已经证实这种类型的突变体IgG(称为“YTE突变体”)与相同抗体的野生型形式相比会展示出增加四倍的半衰期(参见Dall’Acqua WF等人,(2006)J Biol Chem[生物化学杂志]281:23514-24)。在一些方面,抗体或其抗原结合片段包含的IgG恒定结构域包含在根据如同Kabat中的EU索引进行编号的位置251-257、285-290、308-314、385-389和428-436处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸取代。

[0162] 在一些方面,将一个、两个或更多个氨基酸取代引入IgG恒定结构域Fc区中,以改变抗体或其抗原结合片段的一个或多个效应子功能。例如,选自根据如同Kabat中的EU索引进行编号的氨基酸残基234、235、236、237、297、318、320和322的一个或多个氨基酸可以被不同的氨基酸残基置换,使得该抗体或其抗原结合片段对效应配体的亲和力改变,但保留了亲本抗体的抗原结合能力。对其的亲和力改变的效应配体可以是例如Fe受体或补体的C1组分。这种方法在美国专利号5,624,821和5,648,260中有更详细的描述。在一些方面,恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他手段)可减少循环的抗体或其抗原结合片段的Fc受体结合,从而增加肿瘤定位。对于使恒定结构域缺失或失活从而增加肿瘤定位的突变的描述,参见例如美国专利号5,585,097和8,591,886。在一些方面,可以将一个或多个氨基酸取代引入Fc区以去除Fc区上的潜在糖基化位点,从而可以减少Fc受体结合(参见例如Shields RL等人,(2001)J Biol Chem[生物化学杂志]276:6591-604)。

[0163] 在一些方面,选自恒定区中的氨基酸残基322、329和331中的一个或多个氨基酸(根据如同Kabat中的EU索引进行编号)可以被不同的氨基酸残基替代,使得该抗体或其抗原结合片段具有改变的C1q结合和/或降低的或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。这种方法在美国专利号6,194,551(Idusogie等人)中有更详细的描述。在一些方面,改变CH2结构域的N端区域中的氨基酸位置231至238内的一个或多个氨基酸残基,从而改变抗体固定补体的能力。这种方法在国际公开号W0 94/29351中有进一步描述。在一些方面,通过在以下位置使一个或多个氨基酸突变(例如,引入氨基酸取代)来修饰Fc区以增加抗体或其抗原结合片段介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或增加抗体或其抗原结合片段对Fc γ 受体的亲和力:238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、309、312、315、320、322、324、326、327、328、329、330、331、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438或439,根据如同Kabat中的EU索引进行编号。这种方法在国际公开号W0 00/42072中有进一步描述。

[0164] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含在根据如同Kabat中的EU索引进行编号的位置267、328或其组合处具有突变(例如,取代)的IgG1的恒定结构域。在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含具有选自由S267E、L328F及其组合组成的组的突变(例如,取代)的IgG1的恒定结构域。在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含具有S267E/L328F突变(例如,取代)的IgG1的恒定结构域。在一些方面,包含具有S267E/L328F突变(例如,取代)的IgG1的恒定结构域的本文所述的抗体或其抗原结合片段对Fc γ RIIA、Fc γ RIIB或Fc γ RIIA和Fc γ RIIB具有增加的结合亲和力。

[0165] 工程化的糖型可用于多种目的,包括但不限于增强或降低效应子功能。在本文所述的抗体或其抗原结合片段中产生工程化糖型的方法包括但不限于以下中披露的那些:例如Umaña P等人,(1999)Nat Biotechnol[自然·生物技术]17:176-180;Davies J等人,(2001)Biotechnol Bioeng[生物技术与生物工程]74:288-294;Shields RL等人,(2002)J Biol Chem[生物化学杂志]277:26733-26740;Shinkawa T等人,(2003)J Biol Chem[生物化学杂志]278:3466-3473;Niwa R等人,(2004)Clin Cancer Res[临床癌症研究]1:6248-6255;Presta LG等人,(2002)Biochem Soc Trans[生化学会会刊]30:487-490;Kanda Y等人,(2007)Glycobiology[糖生物学]17:104-118;美国专利号6,602,684;6946292;和7,214,775;美国专利公开号US 2007/0248600;2007/0178551;2008/0060092;和2006/0253928;国际公开号WO 00/61739;WO 01/292246;WO 02/311140;和WO 02/30954;Potillegent™技术(新泽西州普林斯顿市宝万有限公司(Biowa, Inc. Princeton, N.J.));以及GlycoMAb®糖基化工程技术(瑞士苏黎世格黎卡特生物技术股份公司(Glycart biotechnology AG, Zurich, Switzerland))。另请参见例如Ferrara C等人,(2006)Biotechnol Bioeng[生物技术与生物工程]93:851-861;国际公开号WO 07/039818;WO 12/130831;WO 99/054342;WO 03/011878;和WO 04/065540。

[0166] 在一些方面,可以将本文所述的任何恒定区突变或修饰引入本文所述的具有两个重链恒定区的抗体或其抗原结合片段的一个或两个重链恒定区。

[0167] 在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段中和SARS-CoV-2。在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段中和SARS-CoV-2假病毒。在一些方面,该抗体或其抗原结合片段中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2δ和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC50为100ng/mL或更低(例如,EC50为约1ng/mL至约100ng/mL或约2.5ng/mL至约100ng/mL)。

[0168] 竞争结合测定法可用于确定两种抗体是否与重叠表位结合。竞争性结合可以在一种测定法中确定,在该测定法中,测试的免疫球蛋白抑制参考抗体与常见抗原(诸如SARS-CoV-2的刺突蛋白或SARS-CoV-2)的特异性结合。已知许多类型的竞争性结合测定法,例如:octet竞争性结合测定、固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心竞争测定(参见Stahli C等人,(1983)Methods Enzymol[酶学方法]9:242-253);固相直接生物素-亲和素EIA(参见Kirkland TN等人,(1986)J Immunol[免疫学杂志]137:3614-9);固相直接标记测定、固相直接标记夹心测定(参见Harlow E和Lane D,(1988)Antibodies: A Laboratory Manual[抗体:实验室手册],Cold Spring Harbor Press[冷泉港出版社]);使用I-125标记的固相直接标记RIA(参见Morel GA等人,(1988)Mol Immunol[分子免疫学]25(1):7-15);固相直接生物素-亲和素EIA(Cheung RC等人,(1990)Virology[病毒学]176:546-52);以及直接标记RIA(Moldenhauer G等人,(1990)Scand J Immunol[斯堪的纳维亚免疫学杂志]32:77-82)。典型地,这种测定法涉及使用与载有以下任一个的固体表面或细胞结合的纯化抗原:未标记的测试免疫球蛋白以及标记的参考免疫球蛋白。竞争性抑制可以通过在测试免疫球蛋白的存在下测定与固体表面或细胞结合的标记的量来测量。通常测试免疫球蛋白过量存在。通常,当竞争性抗体过量存在时,它将以至少50%-55%、55%-60%、60%-65%、65%-70%、70%-75%或更高抑制参考抗体与共同抗原的特

异性结合。可以使用标记的抗原或标记的抗体以多种不同形式配置竞争结合测定法。在该测定法的常见形式中,将抗原固定在96孔板上。然后使用放射性标记或酶标记来测量未标记的抗体阻断标记的抗体与抗原结合的能力。更多详情,参见例如,Wagener C等人,(1983) J Immunol[免疫学杂志]130:2308-2315;Wagener C等人,(1984) J Immunol Methods[免疫学方法杂志]68:269-274;Kuroki M等人,(1990) Cancer Res[癌症研究]50:4872-4879;Kuroki M等人,(1992) Immunol Invest[免疫学研究]21:523-538;Kuroki M等人,(1992) Hybridoma[杂肿瘤]11:391-407;以及Antibodies:A Laboratory Manual[抗体:实验室手册],Harlow E和Lane D编辑,同上,第386-389页。本文在实例15中提供了一种竞争性结合测定。

[0169] 在一些方面,竞争性地抑制另一种抗体或其抗原结合片段的结合的抗体或其抗原结合片段在octet竞争性结合测定(例如,如本文实例15中提供的octet竞争性结合测定)中竞争性地抑制结合。

[0170] 在一些方面,使用表面等离子共振(BIAcore®),例如通过“串联方法”,诸如Abdiche YN等人,(2009) Analytical Biochem[分析生物化学]386:172-180描述的方法来进行竞争测定法,从而将抗原固定在芯片表面,例如CM5传感器芯片上,然后使抗体或抗原结合片段在芯片上运行。为了确定抗体或其抗原结合片段是否和与如本文所述的SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体竞争,首先使抗体或其抗原结合片段在芯片表面上运行以达到饱和,然后添加潜在的竞争性抗体。然后可以相对于非竞争性对照确定和定量竞争性抗体或其抗原结合片段的结合。

[0171] 在另一方面,本文提供了竞争性抑制(例如,以剂量依赖性方式)所述抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白或与SARS-CoV-2的结合的抗体,如使用本领域技术人员已知的或本文所述的测定法(例如,ELISA竞争性测定法或悬浮阵列或表面等离子共振测定法)所确定的。

[0172] 在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的如本文所述的抗原结合片段选自自由Fab、Fab'、F(ab')₂和scFv组成的组,其中Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白或与SARS-CoV-2特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区序列和重链可变区序列。Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv可以通过本领域技术人员已知的任何技术产生,包括但不限于本文中讨论的那些技术。在一些方面,Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv进一步包含延长体内抗体半衰期的部分。该部分也称为“半衰期延长部分”。可以使用本领域技术人员已知的用于延长体内Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv的半衰期的任何部分。例如,半衰期延长部分可包括Fc区、聚合物、白蛋白或白蛋白结合蛋白或化合物。聚合物可包括天然或合成的、任选经取代的直链或支链的聚亚烷基、聚亚烯基、聚氧化烯、多糖、聚乙二醇、聚丙烯二醇、聚乙烯醇、甲氧基聚乙二醇、乳糖、直链淀粉、葡聚糖、糖原或其衍生物。取代基可包括一个或多个羟基、甲基或甲氧基基团。在一些方面,可以通过添加一个或多个用于附接半衰期延长部分的C端氨基酸来修饰Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv。在一些方面,半衰期延长部分是聚乙二醇或人血清白蛋白。在一些方面,Fab、Fab'、F(ab')₂或scFv与Fc区融合。

[0173] 可以将与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段与可检测标记或物质融合或缀合(例如,共价或非共价连接)。可检测标记或物质的实例包括酶标记物,诸如葡萄糖氧化酶;放射性同位素,诸如碘(¹²⁵I、¹²¹I)、碳(¹⁴C)、硫(³⁵S)、氚(³H)、铟(¹²¹In)和钨

(⁹⁹Tc);发光标记,诸如鲁米诺;以及荧光标记,诸如荧光素和若丹明,以及生物素。这样的标记的抗体或其抗原结合片段可用于检测SARS-CoV-2的刺突蛋白或SARS-CoV-2。参见例如下文第7.6.2节。

[0174] 7.3抗体及其抗原结合片段的组合

[0175] 本文提供了与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的组合,例如,与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第一抗体或其抗原结合片段和与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第二抗体或其抗原结合片段。在一些方面,组合中的第一和第二抗体或其抗原结合片段在单一组合物中。在一些方面,组合中的第一和第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中。当组合中的第一和第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中时,可以将第一和第二抗体或其抗原结合片段同时或依序施用。

[0176] 本文还提供了组合物,例如药物组合物,该组合物包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段,例如与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第一抗体或其抗原结合片段和与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第二抗体或其抗原结合片段。这样的组合物包含第一抗体或其抗原结合片段和第二抗体或其抗体结合片段。

[0177] 在一些方面,本文提供的组合或组合物包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第一抗体或其抗原结合片段和与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第二抗体或其抗原结合片段。在一些方面,本文提供的方法使用与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的组合或组合物,例如包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第一抗体或其抗原结合片段和与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的第二抗体或其抗原结合片段的组合或组合物。

[0178] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一和第二抗体或其抗原结合片段结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的非重叠表位。在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一和第二抗体或其抗原结合片段可以同时结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的RBD。

[0179] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含表1中提供的抗体的6个CDR序列和/或第二抗体或其抗原结合片段包含表1中提供的抗体的6个CDR序列。

[0180] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43-GL-H-L01抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含西加韦单抗抗体的6个CDR。

[0181] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的6个CDR。

[0182] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二

抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的6个CDR。

[0183] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的6个CDR。

[0184] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的6个CDR。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的6个CDR。

[0185] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的6个CDR,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的6个CDR。

[0186] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含表1中提供的抗体的VH和/或VL序列和/或第二抗体或其抗原结合片段包含表1中提供的抗体的VH和/或VL序列。

[0187] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43-GL-H-L01抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含西加韦单抗抗体的VH和VL。在一些方面,该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0188] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ20、RQ20-GL-LH或RQ20-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗

体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的VH和VL。

[0189] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ29或RQ29-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的VH和VL。

[0190] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ33、RQ33-GL-H、RQ33-GL-H-L01或RQ33-GL-H-L01抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的VH和VL。

[0191] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的VH和VL。第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ40或RQ40-GL-LH抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的VH和VL。

[0192] 第一抗体或其抗原结合片段可以包含RQ41、RQ41-GL-LH、RQ41-GL-LH-L01或RQ41-L01抗体的VH和VL,并且第二抗体或其抗原结合片段可以包含RQ43、RQ43-GL-H、RQ43-GL-H-L01、RQ43-GL-L、RQ43-GL-LH或RQ43-GL-LH-L01抗体的VH和VL。

[0193] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合,以及第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0194] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,以及第二抗体或其抗原结合片

段同包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链 (VL) 的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

[0195] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3,以及第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:69、70、71、73、74和75的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0196] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链 (VL),以及第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的可变轻链 (VL)。在一些方面,该第二抗体包含含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的轻链。

[0197] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链 (VL) 的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合,以及第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链 (VL) 的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL;或含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL;或含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的VL。

[0198] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链 (VL) 的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,以及第二抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链 (VL) 的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

[0199] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3,以及第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:31、32、37、34、35和36的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0200] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链 (VL),以及第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的可变重链 (VH) 和含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的可变轻链 (VL)。

[0201] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段竞争

性地抑制包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合,以及第二抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体与SARS-CoV-2的刺突蛋白的结合。在一些方面,该第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL;含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL;或含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的VL。在一些方面,该第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL;或含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的VL。

[0202] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位,以及第二抗体或其抗原结合片段同包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)的抗体结合SARS-CoV-2的刺突蛋白的相同表位。

[0203] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17和18的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3,以及第二抗体或其抗原结合片段包含分别具有SEQ ID NO:20、21、22、23、67和24的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。

[0204] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,第一抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的可变轻链(VL),以及第二抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的可变重链(VH)和含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的可变轻链(VL)。

[0205] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2假病毒。在一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低(例如,EC₅₀为约1ng/mL至约75ng/mL或约2.5ng/mL至约75ng/mL)。在一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1和/或SARS-CoV-2 BA.2假病毒,其EC₅₀为25ng/mL或更低(例如,EC₅₀为约1ng/mL至约25ng/mL或约2.5ng/mL至约25ng/mL)。在一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低(例如,EC₅₀为约1ng/mL至约75ng/mL;约2.5ng/mL至约75ng/mL;约10ng/mL至约75ng/mL;或约20ng/mL至约75ng/mL)。在一些方面,该组合或组合物(i)中和SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA1.1和/或SARS-CoV-2 BA.2假病毒,其EC₅₀为25ng/mL或更低(例如,EC₅₀为约1ng/mL至约25ng/mL或约2.5ng/mL至约25ng/mL)以及(ii)中和SARS-CoV-2 δ 和/或SARS-CoV-2 D614G假病毒,其EC₅₀为75ng/mL或更低(例如,EC₅₀为约1ng/mL至约75ng/mL;约2.5ng/mL至约75ng/mL;约10ng/mL至约75ng/mL;或约20ng/mL至约75ng/mL)。

[0206] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2病毒。在一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 D614G、SARS-CoV-2 α 、SARS-CoV-2 δ +T51I+T95I、SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA.1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2

BA.2.12.1和/或SARS-CoV-2 BA.5,其IC₅₀为75ng/mL或更低(例如,IC₅₀为约1ng/mL至约75ng/mL、约2.5ng/mL至约75ng/mL或约5ng/mL至约75ng/mL)。在一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 D614G、SARS-CoV-2 α 、SARS-CoV-2 δ +T51I+T95I、SARS-CoV-2 BA.1、SARS-CoV-2 BA.1.1、SARS-CoV-2 BA.2、SARS-CoV-2 BA.2.12.1和/或SARS-CoV-2 BA.5,其IC₅₀为60ng/mL或更低(例如,IC₅₀为约1ng/mL至约60ng/mL、约2.5ng/mL至约60ng/mL或约5ng/mL至约60ng/mL)。

[0207] 在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 BA.2.12.1病毒。在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 BA.2.12.1病毒,其IC₅₀为25ng/mL或更低(例如,IC₅₀为约1ng/mL至约25ng/mL、约5ng/mL至约25ng/mL、约10ng/mL至约25ng/mL或约15ng/mL至约25ng/mL)。在本文提供的组合、组合物或方法的一些方面,该组合或组合物中和SARS-CoV-2 BA.2.12.1病毒,其IC₅₀为20ng/mL或更低(例如,IC₅₀为约1ng/mL至约20ng/mL、约5ng/mL至约20ng/mL、约10ng/mL至约20ng/mL或约15ng/mL至约20ng/mL)。

[0208] 在本文提供的组合和方法的一些方面,第一和第二抗体或其抗原结合片段在相同的组合物中。在本文提供的组合和方法的一些方面,第一和第二抗体或其抗原结合片段在分开的组合物中。

[0209] 7.4抗体产生

[0210] 与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的抗体及其抗原结合片段可以通过本领域已知的用于合成抗体及其抗原结合片段的任何方法,例如通过化学合成或通过重组表达技术来产生。除非另有说明,否则本文所述的方法采用分子生物学、微生物学、遗传分析、重组DNA、有机化学、生物化学、PCR、寡核苷酸合成和修饰、核酸杂交以及本领域技术范围内相关领域的常规技术。这些技术例如在本文引用的参考文献中有描述并且在文献中对其进行了充分解释。参见例如,Sambrook J等人,(2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manual[分子克隆:实验室手册],Cold Spring Harbor Laboratory Press[冷泉港实验室出版社],Cold Spring Harbor,NY[纽约冷泉港];Ausubel FM等人,Current Protocols in Molecular Biology[分子生物学实验指南],约翰·威利父子公司(John Wiley&Sons)(1987年和年度更新);Current Protocols in Immunology[免疫学实验指南],约翰·威利父子公司[John Wiley&Sons](1987年和年度更新)Gait(编辑)(1984)Oligonucleotide Synthesis:A Practical Approach[寡核苷酸合成:实用方法],IRL出版社[IRL Press];Eckstein(编辑)(1991)Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach[寡核苷酸合成:实用方法],IRL出版社[IRL Press];Birren B等人,(编辑)(1999)Genome Analysis:A Laboratory Manual[基因组分析:实验室手册],Cold Spring Harbor Laboratory Press[冷泉港实验室出版社]。

[0211] 在一些方面,本文提供了制备与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的抗体或抗原结合片段的方法,该方法包括培养本文所述的细胞或宿主细胞。在一些方面,本文提供了制备与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的抗体或其抗原结合片段的方法,该方法包括使用本文所述的细胞或宿主细胞(例如,包含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸的细胞或宿主细胞)表达(例如,重组表达)该抗体或其抗原结合片段。在一些方面,该细胞是分离的细胞。在一些方面,已将外源多核苷酸引入细胞中。在一些方面,该方法

进一步包括分离或纯化从细胞、宿主细胞或培养物中获得的抗体或抗原结合片段的步骤。

[0212] 用于产生多克隆抗体的方法是本领域已知的(参见,例如,第11章:Short Protocols in Molecular Biology[分子生物学简明方案],(2002)第5版,Ausubel FM等人编辑,John Wiley and Sons[约翰威利父子公司],纽约)。

[0213] 可以使用本领域已知的多种多样的技术来制备单克隆抗体或其抗原结合片段,这些技术包括使用杂交瘤、重组以及噬菌体展示技术、基于酵母的呈递技术或其组合。例如,可以使用杂交瘤技术产生单克隆抗体或其抗原结合片段,这些杂交瘤技术包括本领域已知的并且例如在以下文献中教导的那些技术:Harlow E和Lane D,Antibodies:A Laboratory Manual[抗体:实验室手册],(冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press),1988年第2版);Hammerling GJ等人,在:Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas[单克隆抗体和T细胞杂交瘤]563681(纽约爱思唯尔出版社(Elsevier,N.Y.),1981),或如Kohler G和Milstein C(1975)Nature[自然]256:495中所述。可用于选择和生成本文所述的抗体的基于酵母的呈递方法的实例包括例如WO 2009/036379A2、WO 2010/105256和WO 2012/009568中披露的那些,将其各自通过援引以其全文并入本文。

[0214] 在一些方面,单克隆抗体或抗原结合片段是由克隆细胞(例如,产生重组抗体或抗原结合片段的杂交瘤或宿主细胞)产生的抗体或抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合,例如通过ELISA或本领域已知的其他抗原结合测定法所确定的。在一些方面,单克隆抗体或其抗原结合片段可以是人抗体或其抗原结合片段。在一些方面,单克隆抗体或其抗原结合片段可以是Fab片段或F(ab')₂片段。本文所述的单克隆抗体或其抗原结合片段可以例如通过如Kohler G和Milstein C(1975)Nature[自然]256:495中所述的杂交瘤方法制备,或者可以例如使用如本文所述的技术从噬菌体文库中分离。制备克隆细胞系和由其表达的单克隆抗体及其抗原结合片段的其他方法是本领域熟知的(参见例如Short Protocols in Molecular Biology[精编分子生物学实验指南](2002)第5版中第11章,Ausubel FM等人,同上)。

[0215] 本文所述的抗体的抗原结合片段可以通过本领域技术人员已知的任何技术生成。例如,本文所述的Fab和F(ab')₂片段可以通过使用酶诸如木瓜蛋白酶(用于产生Fab片段)或胃蛋白酶(用于产生F(ab')₂片段)对免疫球蛋白分子进行蛋白水解裂解来产生。Fab片段对应于四聚抗体分子的两条相同臂之一,并且含有与重链的VH和CH1结构域配对的完整轻链。F(ab')₂片段含有四聚抗体分子的两条抗原结合臂,这两条抗原结合臂通过铰链区中的二硫键连接。

[0216] 此外,还可以使用本领域已知的各种噬菌体展示和/或基于酵母的呈递方法来生成本文所述的抗体或其抗原结合片段。在噬菌体展示方法中,将蛋白质展示在噬菌体颗粒的表面上,这些颗粒携带对其进行编码的多核苷酸序列。特别地说,编码VH和VL结构域的DNA序列是从动物cDNA文库(例如,受感染组织的人或鼠类cDNA文库)来扩增。通过PCR将编码这些VH和VL结构域的DNA与scFv接头重组在一起,并且克隆至噬粒载体中。将该载体以电穿孔转至大肠杆菌中,并且用辅助噬菌体对该大肠杆菌进行感染。这些方法中所使用的噬菌体典型地是包括fd和M13的丝状噬菌体,并且VH和VL结构域通常重组融合至噬菌体基因III或基因VIII。表达与特定抗原结合的抗体或其抗原结合片段的噬菌体可以用抗原来选择或鉴定,例如,使用标记的抗原或结合或捕获于固体表面或珠粒上的抗原。可以用于制备

本文所述的抗体或片段的噬菌体展示方法的实例包括在以下文献中披露的那些:Brinkman U等人,(1995) *J Immunol Methods* [免疫学方法杂志] 182:41-50;Ames RS等人,(1995) *J Immunol Methods* [免疫学方法杂志] 184:177-186;Kettleborough CA等人,(1994) *Eur J Immunol* [欧洲免疫学杂志] 24:952-958;Persic L等人,(1997) *Gene* [基因] 187:9-18;Burton DR和Barbas CF (1994) *Advan Immunol* [高级免疫学] 57:191-280;PCT申请号PCT/GB91/001134;国际公开号WO 90/02809、WO 91/10737、WO 92/01047、WO 92/18619、WO 93/11236、WO 95/15982、WO 95/20401和WO 97/13844;以及美国专利号5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743和5,969,108。

[0217] 7.4.1多核苷酸

[0218] 在一些方面,本文提供了包含编码与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,可变轻链区和/或可变重链区)的核苷酸序列的多核苷酸,和载体,例如包含这样的多核苷酸以在宿主细胞(例如,大肠杆菌(*E. coli*)和哺乳动物细胞)中重组表达的载体。

[0219] 在一些方面,本文提供了多核苷酸,多核苷酸包含编码以下的核苷酸序列:与SARS-CoV-2的刺突蛋白免疫特异性结合并且包含如本文所述的氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段,以及与这样的抗体或抗原结合片段竞争结合SARS-CoV-2(例如,以剂量依赖性方式)或同这样的抗体或抗原结合片段结合相同表位的抗体或抗原结合片段。

[0220] 本文还提供编码与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸,这些多核苷酸例如通过密码子/RNA优化、异源信号序列置换和消除mRNA不稳定元件而得以优化。通过引入密码子变化(例如,由于遗传密码的简并性而编码相同氨基酸的密码子变化)和/或消除mRNA中的抑制区来生成编码与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,重链、轻链、VH结构域或VL结构域)的优化核酸以进行重组表达的方法可以通过相应地采用例如美国专利号5,965,726;6,174,666;6,291,664;6,414,132和6,794,498中描述的优化方法来进行。

[0221] 可以使用本领域熟知的方法(例如PCR和其他分子克隆方法)从来自合适的来源(例如杂交瘤)的核酸生成编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或其结构域的多核苷酸。例如,使用可与已知序列的3'和5'末端杂交的合成引物进行的PCR扩增可以使用从产生目标抗体的杂交瘤细胞获得的基因组DNA进行。这样的PCR扩增方法可以用于获得包含编码抗体或其抗原结合片段的轻链和/或重链的序列的核酸。这样的PCR扩增方法可以用于获得包含编码抗体或其抗原结合片段的可变轻链区和/或可变重链区的序列的核酸。可将扩增的核酸克隆到载体中以在宿主细胞中表达并进一步克隆,例如以生成嵌合抗体和人源化抗体或其抗原结合片段。

[0222] 本文提供的多核苷酸可以例如呈RNA的形式或呈DNA的形式。DNA包括cDNA、基因组DNA和合成DNA,并且DNA可以是双链的或单链的。如果是单链的,则DNA可以是编码链或非编码(反义)链。在一些方面,多核苷酸是缺少一个或多个内源内含子的cDNA或DNA。在一些方面,多核苷酸可以是非天然存在的多核苷酸。在一些方面,多核苷酸是重组产生的。在一些方面,多核苷酸是分离的。在一些方面,多核苷酸是基本上纯的。在一些方面,多核苷酸是从天然组分中纯化的。

[0223] 7.4.2细胞和载体

[0224] 在一些方面,本文提供了包含多核苷酸的载体(例如,表达载体),这些多核苷酸包含编码与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体及其抗原结合片段或其结构域的核苷酸序列,以在宿主细胞中,例如在哺乳动物细胞中重组表达。本文还提供了细胞,例如宿主细胞,这些细胞包含这样的载体以重组表达与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,人抗体或其抗原结合片段)。在一个特定的方面,本文提供了产生本文所述的抗体或其抗原结合片段的方法,这些方法包括在宿主细胞中表达这种抗体或其抗原结合片段。

[0225] 在一些方面,与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,本文所述的重链或轻链)的重组表达涉及含有编码该抗体或其抗原结合片段或其结构域的多核苷酸的表达载体的构建。一旦获得了编码本文所述的抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,重链或轻链可变结构域)的多核苷酸,就可以通过重组DNA技术,使用本领域熟知的技术来产生用于产生该抗体或其抗原结合片段的载体。因此,本文描述了通过表达含有编码抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,轻链或重链)的核苷酸序列的多核苷酸来制备蛋白质的方法。可以使用本领域技术人员熟知的方法来构建含有抗体或其抗原结合片段或其结构域(例如,轻链或重链)的编码序列及适当的转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法包括例如体外重组DNA技术、合成技术以及体内基因重组。还提供了可复制的载体,这些载体包含可操作地连接至启动子的编码本文所述的抗体或其抗原结合片段、重链或轻链、重链或轻链可变结构域或重链或轻链CDR的核苷酸序列。这样的载体可以例如包括编码抗体或其抗原结合片段的恒定区的核苷酸序列(参见例如,国际公开号WO 86/05807和WO 89/01036;以及美国专利号5,122,464),并且可以将抗体或其抗原结合片段的可变结构域克隆到这种载体中以用于表达整个重链、整个轻链或者整个重链和轻链两者。

[0226] 可以通过常规技术将表达载体转移至细胞(例如,宿主细胞)中,然后通过常规技术培养所得的细胞以产生本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的六个CDR、VH、VL、VH和VL、重链、轻链或重链和轻链的抗体或其抗原结合片段)或其结构域(例如,表1中提供的抗体的VH、VL、VH和VL、重链或轻链)。因此,本文提供了含有编码本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的六个CDR、VH、VL、VH和VL、重链、轻链或重链和轻链的抗体或其抗原结合片段)或其结构域(例如,表1中提供的抗体的VH、VL、VH和VL、重链或轻链)的多核苷酸的宿主细胞,该多核苷酸与启动子可操作地连接以在宿主细胞中表达这样的序列。在用于表达双链抗体或其抗原结合片段的一些方面,可以将单独编码重链与轻链两者的载体在宿主细胞中共表达,以用于表达整个免疫球蛋白,如下所详述。在一些方面,宿主细胞含有载体,该载体包含编码本文所述抗体的重链和轻链(例如,表1中提供的抗体的重链和轻链)或其结构域(例如,表1中提供的抗体的VH和VL)的多核苷酸。在一些方面,宿主细胞含有两种不同的载体,第一载体包含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的重链或重链可变区的多核苷酸,而第二载体包含编码本文所述的抗体(例如,包含表1中提供的抗体的六个CDR的抗体)的轻链或轻链可变区或其结构域的多核苷酸。在一些方面,第一宿主细胞包含第一载体,第一载体包含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的重链或重链可变区的多核苷酸,并且第二宿主细胞包含第二载体,第二载体包

含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的六个CDR的抗体或其抗原结合片段)的轻链或轻链可变区的多核苷酸。在一些方面,由第一细胞表达的重链/重链可变区与第二细胞的轻链/轻链可变区缔合以形成本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的六个CDR的抗体或其抗原结合片段)。在一些方面,本文提供了包含这种第一宿主细胞和这种第二宿主细胞的宿主细胞群。

[0227] 在一些方面,本文提供了载体群,该载体群包含:第一载体,第一载体包含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段的轻链/轻链可变区的多核苷酸,和第二载体,第二载体包含编码本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的CDR的抗体或其抗原结合片段)的重链/重链可变区的多核苷酸。替代性地,可以使用编码并且能够表达重链多肽和轻链多肽两者的单个载体。

[0228] 可以利用多种宿主表达载体系统来表达本文所述的抗体及其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的CDR的抗体或其抗原结合片段)(参见,例如美国专利号5,807,715)。这样的宿主表达系统代表着可以产生并随后纯化目标编码序列的媒介物,而且还代表当用适当的核苷酸编码序列转化或转染时,原位表达本文所述的抗体或其抗原结合片段的细胞。这些包括但不限于微生物,诸如用含有抗体编码序列的重组噬菌体DNA、质粒DNA或粘粒DNA表达载体转化的细菌(例如大肠杆菌和枯草杆菌(*B. subtilis*));用含有抗体编码序列的重组酵母表达载体转化的酵母(例如,酵母属(*Saccharomyces*)、毕赤酵母属(*Pichia*));用含有抗体编码序列的重组病毒表达载体(例如,杆状病毒)转化的昆虫细胞系统;用重组病毒表达载体(例如花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)感染或用含有抗体编码序列的重组质粒表达载体(例如,Ti质粒)转化的植物细胞系统(例如,比如莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的绿藻类);或带有含衍生自哺乳动物细胞基因组的启动子(例如,金属硫蛋白启动子)或衍生自哺乳动物病毒的启动子(例如,腺病毒晚期启动子;牛痘病毒7.5K启动子)的重组表达构建体的哺乳动物细胞系统(例如,COS(例如COS1或COS)、CHO、BHK、MDCK、HEK 293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa和NIH 3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20和BMT10细胞)。在一些方面,用于表达本文所述的抗体及其抗原结合片段(例如,包含表1中提供的抗体的CDR的抗体或其抗原结合片段)的细胞是CHO细胞,例如来自于CHO GS System™(龙沙(Lonza))的CHO细胞。在一些方面,用于表达本文所述的抗体的细胞是人细胞,例如人细胞系。在一些方面,哺乳动物表达载体是pOptiVEC™或pcDNA3.3。在一些方面,尤其用于表达完整重组抗体分子的细菌细胞(诸如大肠杆菌)或真核细胞(例如,哺乳动物细胞)用于表达重组抗体分子。例如,哺乳动物细胞诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,与载体诸如来自人巨细胞病毒的主要立即早期基因启动子元件相结合是抗体的有效表达系统(Foecking MK和Hofstetter H(1986)Gene[基因]45:101-105;和Cockett MI等人,(1990)Biotechnology[生物技术]8:662-667)。在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段是由CHO细胞或NS0细胞产生的。

[0229] 另外,可选择调节所插入序列的表达、或以所希望的特定方式来修饰并且加工基因产物的宿主细胞株。蛋白质产物的这样的修饰(例如糖基化)和加工(例如裂解)可有助于蛋白质的功能。为此,可以使用具有用于初级转录物的正确加工、基因产物的糖基化和磷酸化的细胞机器(cellular machinery)的真核宿主细胞。这样的哺乳动物宿主细胞包括但不限于CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20和T47D、

NS0 (不内源产生任何免疫球蛋白链的鼠类骨髓瘤细胞系)、CRL7030、COS (例如,COS1或COS)、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10和HsS78Bst细胞。在一些方面,在哺乳动物细胞诸如CHO细胞中产生与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的本文所述的抗体或其抗原结合片段。

[0230] 一旦本文所述的抗体或其抗原结合片段已经通过重组表达产生,就可以通过本领域已知的用于免疫球蛋白分子的纯化的任何方法将其纯化,例如,通过色谱法(例如,离子交换色谱法、亲和色谱法(特别是通过对于蛋白质A纯化后的特异性抗原的亲和色谱法)以及尺寸排阻色谱法)、离心、差别溶解度,或者通过用于蛋白质的纯化的任何其他标准技术。此外,本文所述的抗体或其抗原结合片段可以融合至本文所述的或者本领域中另外已知的异源多肽序列,以便促进纯化。

[0231] 在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段是分离或纯化的。通常,分离的抗体或其抗原结合片段是基本上不含具有与分离的抗体或其抗原结合片段不同的抗原特异性的其他抗体或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段。例如,在一些方面,本文所述的抗体或其抗原结合片段的制剂基本上不含细胞材料和/或化学前体。

[0232] 7.5 药物组合物

[0233] 本文提供了组合物,这些组合物包含在生理上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂中的具有所希望的纯度的本文所述的抗体或其抗原结合片段或本文所述的抗体或其抗原结合片段的组合(Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学](1990)宾夕法尼亚州伊斯顿马克出版有限公司(Mack Publishing Co.,Easton,PA))。载剂、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量及浓度下对接受者无毒。

[0234] 在一些方面,将包含至少一种与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的组合物与药学上可接受的载剂在配制品中进行提供(参见,例如,Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus[雷明顿:具有事实与比较的药学科学与实践:药品详情+],第20版(2003); Ansel等人,Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems[药物剂型和药物递送系统],第7版,利平科特威廉姆斯和威尔金斯出版公司(Lippencott Williams and Wilkins)(2004); Kibbe等人,Handbook of Pharmaceutical Excipients[药用辅料手册],第3版,医药出版社(Pharmaceutical Press)(2000)。在一些方面,本文所述的药物组合物包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的两种抗体或抗原结合片段,例如与SARS-CoV-2的刺突蛋白的不同表位结合的两种抗体或其抗原结合片段。在一些方面,本文所述的药物组合物包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白的受体结合结构域(RBD)的不同表位结合的两种抗体或抗原结合片段。在一些方面,本文所述的药物组合物包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白的RBD的非重叠表位结合的两种抗体或抗原结合片段。在一些方面,本文所述的药物组合物包含可以同时与SARS-CoV-2结合的两种抗体或抗原结合片段。

[0235] 本文所述的药物组合物可用于中和SARS-CoV-2。

[0236] 本文所述的药物组合物可用于预防和/或治疗患者中的SARS-CoV-2感染或与患者中的SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症。在一些方面,患者可能已经暴露于SARS-CoV-2。可以根据本文所述的方法预防和/或治疗的SARS-CoV-2感染或与SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症的实例包括但不限于发烧、咳嗽、疲劳、呼吸短促、呼

吸困难、肌肉痛、发冷、肌肉痛、发冷、咽喉痛、味觉或嗅觉丧失、头痛、胸痛、恶心、呕吐和腹泻。可以根据本文所述的方法治疗的患者中与SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症的其他实例包括但不限于心脏并发症、呼吸系统并发症、糖尿病并发症、器官衰竭和血凝块。在一些方面,本文提供的药物组合物可在具有SARS-CoV-2感染的一种或多种风险因素的患者中用于治疗或预防SARS-CoV-2感染或与本文所述的SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症。在一些方面,风险因素包括但不限于:年满65岁或以上,免疫功能受损,并患有慢性肺部疾病、哮喘或糖尿病中的一种或多种。

[0237] 在一些方面,本文所述的药物组合物用作药物。在一些方面,本文所述的药物组合物用作诊断剂,例如以检测从患者(例如,人类患者)获得的样品中SARS-CoV-2的存在。

[0238] 本文提供的组合物可以被配制用于肌内(IM)施用,例如IM注射。

[0239] 本文提供的用于体内施用的组合物可以是无菌的。这容易通过例如经无菌滤膜过滤而实现。

[0240] 7.6用途和方法

[0241] 7.6.1治疗用途和方法

[0242] 在一些方面,本文提供了预防和/或治疗患者中的SARS-CoV-2感染或患者中的与SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症的方法。治疗或预防SARS-CoV-2感染的方法可包括向有需要的患者(例如,人类患者)施用与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的一种或多种抗体或其抗原结合片段。

[0243] 在一些方面,本文提供了降低处于获得SARS-CoV-2感染风险中的受试者中的感染可能性的方法。降低处于获得SARS-CoV-2感染风险中的受试者中的感染可能性的方法可以包括施用与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的一种或多种抗体或其抗原结合片段。

[0244] 在一些方面,本文提供了预防和/或治疗SARS-CoV-2感染或与SARS-CoV-2感染有关的一种或多种病状或并发症的方法。与SARS-CoV-2感染有关的病状或并发症包括但不限于发烧、咳嗽、疲劳、呼吸短促、呼吸困难、肌肉痛、发冷、肌肉痛、发冷、咽喉痛、味觉或嗅觉丧失、头痛、胸痛、恶心、呕吐和腹泻。在一些方面,本文提供了预防和/或治疗具有SARS-CoV-2感染的一种或多种风险因素的患者中的SARS-CoV-2感染的方法。在一些方面,风险因素包括但不限于年满65岁或以上,免疫功能受损,患有慢性肺部疾病、哮喘或糖尿病中的一种或多种,和/或免疫功能受损。在一些方面,这样的方法包括向有需要的患者(例如,人类患者)施用本文提供的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段,或本文中包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

[0245] 在一些方面,这样的方法包括向有需要的患者(例如,人类患者)施用本文提供的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的两种抗体或其抗原结合片段,或本文中包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的两种抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

[0246] 在一些方面,这样的方法包括向有需要的患者(例如,人类患者)施用包含本文中包含与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的一种或多种抗体或其抗原结合片段的组合物。在一些方面,患者存在包括但不限于以下方面的风险因素:年满65岁或以上,免疫功能受损,并患有慢性肺部疾病、哮喘或糖尿病中的一种或多种。

[0247] 在一些方面,将与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的一种或多种抗体或其抗原结合片段、或药物组合物施用于处于获得SARS-CoV-2的风险中的受试者(例如,人类受试者)。

[0248] 在一些方面,将与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的一种或多种抗体或其抗原结合片段肌内施用,例如通过肌内注射。

[0249] 通常,患者是人,但是也可以治疗非人哺乳动物,包括转基因哺乳动物。

[0250] 在一些方面,本发明涉及本文提供的抗体或其抗原结合片段、抗体或其抗原结合片段的组合或药物组合物,用作药物。在一些方面,本发明涉及本文提供的抗体或其抗原结合片段、抗体或其抗原结合片段的组合或药物组合物,用于在预防或治疗SARS-CoV-2感染的方法中使用。在一些方面,本发明涉及本文提供的抗体或其抗原结合片段、抗体或其抗原结合片段的组合或药物组合物,用于在治疗受试者中的SARS-CoV-2感染的方法中使用,该方法包括向受试者施用有效量的本文提供的抗体或其抗原结合片段、抗体或其抗原结合片段的组合或药物组合物。

[0251] 在病状的治疗中将会有效的抗体或其抗原结合片段或组合物的量将取决于疾病的性质。组合物中采用的精确剂量也将取决于施用途和疾病的严重性。

[0252] 7.6.2检测和诊断用途

[0253] 本文所述的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段(参见例如,第7.2节)可用于使用本领域技术人员已知的经典方法测定生物样品中的SARS-CoV-2蛋白水平或SARS-CoV-2水平,这些方法包括免疫测定法(诸如酶联免疫吸附测定法(ELISA))、免疫沉淀或蛋白质印迹法。合适的抗体测定标记是本领域已知的,并且包括酶标记,诸如葡萄糖氧化酶;放射性同位素,诸如碘(^{125}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟(^{121}In)和锝(^{99}Tc);发光标记,诸如鲁米诺;以及荧光标记,诸如荧光素和若丹明,以及生物素。这样的标记可用于标记本文所述的抗体或其抗原结合片段。替代性地,可以标记识别本文所述的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的第二抗体或其抗原结合片段,并且和与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段组合使用以检测SARS-CoV-2蛋白水平。

[0254] 测定SARS-CoV-2蛋白的表达水平旨在包括直接地(例如,通过测定或估计绝对蛋白水平)或相对地(例如,通过与第二生物样品中的疾病相关多肽水平比较)定性或定量测量或估计第一生物样品中的SARS-CoV-2蛋白水平。可测量或估计第一生物样品中的SARS-CoV-2蛋白表达水平,并与标准SARS-CoV-2蛋白水平比较,该标准取自从没有该病症的个体获得的第二生物样品,或者通过求取来自没有该病症的个体群体的水平的平均值而确定。

[0255] 如本文所用,术语“生物样品”是指从潜在地表达SARS-CoV-2的受试者、细胞系、组织、或其他细胞来源获得的任何生物样品。用于从动物(例如,人)获得组织活检物和体液的方法是本领域熟知的。

[0256] 本文所述的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段可以携带可检测或功能性标记。当使用荧光标记时,可以利用当前可用的显微镜术和荧光激活细胞分选分析(FACS)或本领域已知的两种程序的组合来鉴定和定量特异性结合成员。本文所述的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段可以携带荧光标记。示例性的荧光标记包括例如反应性探针和缀合探针,例如,氨基香豆素(Aminocoumarin)、荧光素和德克萨斯红(Texas red)、Alexa Fluor染料、Cy染料和DyLight染料。与SARS-CoV-2的刺突蛋白特异性结合的抗体或其抗原结合片段可以携带放射性标记,诸如同位素 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{117}Lu 、 ^{121}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{198}Au 、 ^{211}At 、 ^{213}Bi 、

^{225}Ac 和 ^{186}Re 。当使用放射性标记时,可以利用本领域已知的当前可用的计数程序来鉴定和定量与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段的特异性结合。在标记是酶的情况下,可以通过本领域已知的目前利用的比色、分光光度、荧光分光光度、安培或气体定量技术中的任何一种来完成检测。这可以通过在允许抗体或抗原结合物与SARS-CoV-2的刺突蛋白之间形成复合物的条件下,使样品或对照样品和与SARS-CoV-2刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段接触来实现。抗体或抗原结合片段与SARS-CoV-2的刺突蛋白之间形成的任何复合物都可在样品中被检测到并且进行比较(任选地和对照进行比较)。鉴于本文所述的与SARS-CoV-2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段对SARS-CoV-2的特异性结合,可以使用这些抗体或其抗原结合片段来特异性检测SARS-CoV-2(例如,在受试者中)。

[0257] 本文还包括一种测定系统,该测定系统可以以测试试剂盒的形式制备,用于定量分析例如SARS-CoV-2刺突蛋白的存在程度。该系统或测试试剂盒可以包含标记的组分,例如标记的抗体或抗原结合片段,以及一种或多种其他免疫化学试剂。有关试剂盒的更多信息,参见例如下文第7.7节。

[0258] 在一些方面,本文提供了体外检测样品中的SARS-CoV-2刺突蛋白的方法,包括使样品与抗体或其抗原结合片段接触。在一些方面,本文提供了本文提供的抗体或其抗原结合片段用于体外检测样品中的SARS-CoV-2刺突蛋白的用途。一方面,本文提供了在检测受试者或获自受试者的样品中的SARS-CoV-2刺突蛋白中使用的本文提供的抗体或其抗原结合片段或药物组合物。一方面,本文提供了用作诊断剂的本文提供的抗体或其抗原结合片段或药物组合物。在一些方面,该抗体包含可检测标记。在一些方面,该受试者是人。

[0259] 7.7试剂盒

[0260] 本文提供了包含本文所述的一种或多种抗体或其抗原结合片段的试剂盒。在一些方面,本文提供了一种药物包装或试剂盒,该药物包装或试剂盒包括填充有本文所述的药物组合物的成分,诸如本文提供的一种或多种抗体或其抗原结合片段的一个或多个容器。任选地,与这样一个或多个容器相关联的可以由管理药物或生物制品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的公告,该公告反映该机构针对人类施用,对制造、使用或销售的许可。

[0261] 本文还提供了可在诊断方法中使用的试剂盒。在一些方面,试剂盒在一个或多个容器中包含本文所述的抗体或其抗原结合片段,例如纯化的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,本文所述的试剂盒含有可以用作对照的基本上分离的SARS-CoV-2刺突蛋白抗原。在一些方面,本文所述的试剂盒进一步包括不与SARS-CoV-2刺突蛋白抗原反应的对照抗体或其抗原结合片段。在一些方面,本文所述的试剂盒含有一种或多种用于检测抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2刺突蛋白抗原的结合的要素(例如,抗体或其抗原结合片段可以与可检测底物(诸如荧光化合物、酶底物、放射性化合物或发光化合物)缀合或识别第一抗体或其抗原结合片段的第二抗体或其抗原结合片段可与可检测底物缀合)。在一些方面,本文提供的试剂盒可包括重组产生的或化学合成的SARS-CoV-2刺突蛋白抗原。试剂盒中提供的SARS-CoV-2刺突蛋白抗原还可附接到固体支撑体上。在一些方面,以上所述试剂盒的检测装置包括SARS-CoV-2刺突蛋白抗原所附接到其上的固体支撑体。这种试剂盒还可以包括未附接的报告因子标记的抗人抗体或其抗原结合片段或抗小鼠/大鼠抗体或其抗原结合片段。在这方面,可以通过报告因子标记的抗体或其抗原结合片段的结合来检测与SARS-CoV-

2的刺突蛋白结合的抗体或其抗原结合片段与SARS-CoV-2刺突蛋白抗原的结合。

[0262] 以说明的方式而不是以限制的方式提供以下实例。

[0263] 8.实例

[0264] 该实例章节(即,第8节)中的实例是以说明的方式而不是以限制的方式提供的。

[0265] 8.1实例1:抗体和蛋白质产生

[0266] 将抗体VH和VLDNA片段克隆到CMV驱动的哺乳动物表达质粒中,该质粒含有具有YTE血清半衰期延长修饰和TM效应物功能消除修饰的人IgG1 Fc。通过Sanger测序对质粒进行序列验证。根据制造商的说明,使用293Fectin (Gibco#12347019) 在HEK293F细胞中瞬时表达抗体,并使其在Freestyle培养基 (Gibco#12338018) 中生长6天。在第6天,通过离心澄清培养基,过滤,并使用MabSelect SuRe树脂 (Cytiva#11-0034-94) 纯化。如下所述,使用HP-SEC测定抗体纯度,并通过质谱法验证抗体的正确质量。表1中提供了示例性抗体的序列。

[0267] 将SARS-CoV-2 RBD(残基334-526)与N-末端CD33前导序列和C-末端GSSG接头、AviTag、GSSG接头和8xHisTag一起克隆,在FreeStyle 293细胞(赛默飞世尔公司(Thermo Fisher))中表达,并通过亲和色谱法使用HisTrap柱(GE医疗集团(GE Healthcare))分离,随后通过尺寸排阻色谱法用Superdex200柱(GE医疗集团(GE Healthcare))分离。通过SDS-PAGE分析纯化的蛋白质,以确保纯度和适当的分子量。使用Charles River Endosafe®筒(查士利华公司(Charles River))测量内毒素水平,并发现其低于1EU/mg。

[0268] 8.2实例2:HP-SEC

[0269] 使用HP-SEC分析抗体样品,以测定聚集体、单体和片段的水平。将样品(100µg在PBS缓冲液中)注入安捷伦公司1200系列高效液相色谱(HPLC)仪器,并使用TSKgel G3000SWx1尺寸排阻柱(东曹生命科学事业部(Tosoh Bioscience)#08541)进行分离。流动相为100mM磷酸钠(pH6.8),样品流速为1mL/min。紫外(UV)检测在280nm下进行。结果示于表2中。

[0270] 8.3实例3:杆状病毒ELISA

[0271] 杆状病毒颗粒(BVP)ELISA基本上如前所述进行(Hotzel I, Theil FP, Bernstein LJ, Prabhu S, Deng R, Quintana L, 等人 A strategy for risk mitigation of antibodies with fast clearance[快速清除抗体的风险缓解策略]. MAbs[单克隆抗体] 2012;4:753-60),但有一些修改。简而言之,将50mM碳酸钠缓冲液(pH 9.6)中的1%杆状病毒(BV)悬浮液用于在4°C下包被一半96孔ELISA板(Nunc Maxisorp)过夜,同时使ELISA板的另一半未包被以测试抗体的板结合。随后的所有步骤在室温下进行。第二天,用Dulbecco's PBS(DPBS)洗涤孔,然后与封闭缓冲液(含0.5%BSA的Dulbecco's PBS)一起孵育1h,然后用DPBS洗涤三次。接下来,将封闭缓冲液中100nM和10nM抗体加入BVP包被和未包被孔中并孵育1h,然后用DPBS洗涤三次。接下来,将封闭缓冲液中的山羊抗人IgG-HRP二抗(1:5000稀释度,西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)#A0170)加入孔中,并孵育1h,然后用DPBS洗涤三次。最后,将TMB底物(SeraCare#5120-0075)加入每个孔中并孵育2分钟。通过向每个孔中加入等体积的0.2M硫酸来终止反应。在450nm下读取吸光度。通过将吸光度归一化到没有测试抗体的对照孔来确定BVP得分和板结合。结果示于表2中。

[0272] 8.4实例4:HEK结合测定

[0273] 使用Mirrorball荧光细胞仪(SPT Labtech)测量非特异性HEK细胞结合。首先,将10uL在Mirrorball缓冲液(含0.5%BSA的Hanks平衡盐溶液)中稀释至16nM的Alexa Fluor 647山羊抗人IgG(H+L)抗体(英杰公司(Invitrogen) #A-21445)加入384孔透明底板的孔中。接下来,将10uL在Mirrorball缓冲液中连续稀释的测试抗体加入孔中。最后,将20uL在Mirrorball缓冲液中稀释至250,000个细胞/mL的HEK293f细胞加入孔中。将板在室温下孵育2h,并使用Mirrorball荧光细胞仪测量每个孔的荧光。结果示于表2中。

[0274] 8.5实例5:AC-SINS

[0275] AC-SINS基本上如前所述进行(Geng SB,Wu J,Alam ME,Schultz JS,Dickinson CD,Seminer CR,等人Facile Preparation of Stable Antibody-Gold Conjugates and Application to Affinity-Capture Self-Interaction Nanoparticle Spectroscopy[稳定的抗体-金缀合物的简易制备及在亲和捕获自相互作用纳米颗粒光谱学中的应用].Bioconjug Chem[生物共轭化学]2016;27:2287-300),但有一些修改。简而言之,将全山羊IgG(杰克逊免疫研究公司(Jackson ImmunoResearch) #005-000-003) (非捕获)和多克隆山羊抗人IgG Fc(杰克逊免疫研究公司(Jackson ImmunoResearch) #109-005-098) (捕获)抗体透析到20mM乙酸钾(pH 4.3)缓冲液中,然后以捕获抗体:非捕获抗体的3:2比率缀合至20nm金纳米颗粒(英诺华生物科学公司(Innova Biosciences) #3201-0100)。将抗体与金纳米颗粒以9:1的比率在室温下孵育1h,然后通过添加0.1μM聚-(乙二醇)甲基醚硫醇(2000MW,西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich) #729140)封闭1h。通过离心将包被和封闭的纳米颗粒浓缩12.5倍,并储存在4℃下。为了评估自缔合,将5μL纳米颗粒与45μL在PBS,pH 7.2或缓冲液中50ug/mL的纯化抗体在384孔板中混合。纳米颗粒仅与缓冲液(无抗体)混合作为对照。在SPECTROstar Nano UV/vis平板读数器上测量490至700nm的吸光度。在MARS数据分析软件中计算峰吸光度的波长,并用于确定与仅纳米颗粒对照相比的波长偏移。结果示于表2中。

[0276] 8.6实例6:加速稳定性热应激研究

[0277] 对于加速稳定性测试,将样品在PBS(pH 7.2)中稀释至1mg/mL,并在4℃或45℃下孵育2周。然后,如本文所述,通过HP-SEC肽作图和DELFI结合测定分析第0、7和14天的样品。使用HPLC ChemStation软件(安捷伦公司)基于曲线积分计算每个样品的单体、聚集体和片段百分比。单体、聚集体和片段含量的变化是通过在45℃和4℃下孵育的每个样品之间的差异计算的。结果示于表3中。

[0278] 8.7实例7:光稳定性测定

[0279] 对于光稳定性测试,将抗体以2.5mg/mL在PBS(pH 7.2)中配制,装入1cc Schott玻璃小瓶中,塞住/密封,并置于ICH顺应性光稳定性室(Caron型号6545-2)中。样品在1周内暴露于3000勒克斯的冷白光下,总暴露时间为大约500000勒克斯小时。如那些章节中所述,通过HP-SEC和肽作图分析样品。结果示于表3中。

[0280] 8.8实例8:血清稳定性测定

[0281] 将抗体在血清(西格玛公司(Sigma))中稀释至0.5mg/ml,并在37℃下孵育14天。取第0天对照样品并在-80℃冷冻直至测试。在14天时,也将孵育的样品在-80℃下冷冻,直到可以对所有样品进行测试。如本文所述,通过针对RBD的DELFI结合测定评估应激和非应激样品的结合。结果示于表3中。

[0282] 8.9实例9:DSC

[0283] 通过使用Microcal VP差示扫描量热系统(宾夕法尼亚州马尔文(Malvern,PA))测定热熔融转变。将单克隆抗体溶液在最终缓冲液中稀释至1mg/ml,并在使用90℃/h的温度梯度将样品从20℃加热到95℃时测量热容量(C_p)的变化。减去缓冲液空白并归一化到单克隆抗体浓度后,获得归一化热容量数据。使用Microcal LLC origin软件分析数据,以计算与不同结构域的展开相关的热熔融转变。结果示于表2中。

[0284] 8.10实例10:粘度

[0285] 将浓缩的抗体溶液在配制品中稀释至100mg/mL。在23℃下,使用CP20-1锥板系统(Anton Parr,部件3274)在MCR301流变仪上使每个样品经受1000s⁻¹的旋转剪切应力。在数据收集过程中,每分钟进行5次测量,并取平均值以提供粘度值。结果示于表2中。

[0286] 8.11实例11:DLS

[0287] 将抗体组重新配制到替代性缓冲液中。Z平均表观扩散系数测量使用配备有激光源833nm波长的Dynapro平板读数器(加利福尼亚州圣巴巴拉怀雅特技术公司(Wyatt technology,Santabarbara,CA))进行。散射光以角度153°以反向散射模式收集。对于每种抗体,将各自浓度为2、4、6、8和10mg/ml的40ul一式三份分配到低体积384孔板(马萨诸塞州特克斯伯里康宁公司(Corning,Tewksbury,MA))中,用石蜡膜覆盖,并以3000RPM旋转1分钟以去除任何气泡。在测量之前,将样品室平衡1h,并收集10次10秒的数据,并对每个孔取平均值。Z-平均平移扩散系数由自相关函数的累积量分析确定,并建模为:

[0288] $D=D_0(1+kDC)$ 以获得“kD”扩散病毒系数(相互作用参数)。

[0289] 结果示于表2中。

[0290] 8.12实例12:肽作图

[0291] 基于制造建议进行还原胰蛋白酶肽作图。简而言之,将100μg抗体样品在37℃下在盐酸胍缓冲液中用二巯苏糖醇(DTT,20291,赛默科技公司(Thermo Scientific))变性并还原30分钟。然后将样品用碘乙酰胺(IAM,786-078,G-Biosciences)在黑暗中在室温下烷基化30分钟。随后,将样品混合物透析到6M尿素中,然后用Tris pH 7.5缓冲液稀释以进行胰蛋白酶消化。将胰蛋白酶(V5280,普洛麦格公司(Promega))以1:20蛋白酶:蛋白质比率加入,并在37℃下孵育4h。通过加入三氟乙酸(TFA,T6508,西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))将反应淬灭。使用与AQUITY超高效液相色谱仪(UPLC;沃特斯公司(Waters))连接的Fusion Orbitrap质谱仪(美国马萨诸塞州沃尔瑟姆赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA))分析样品的消化物。使用AQUITY UPLC BEH300 C18柱(1.7μm,2.1×150mm;沃特斯公司(Waters))进行分离。将柱温维持在55℃。流动相A是在水中的0.02%TFA,并且流动相B是在乙腈中的0.02%TFA。用0-35%线性梯度从柱上洗脱消化的肽,并通过使用220nm的UV吸光度和MS监测色谱图。MS数据由BiopharmaFinder 3.0(赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific))处理。结果示于表3中。

[0292] 8.13实例13:DELFI结合测定

[0293] 使用DELFI[®](珀金埃尔默公司(PerkinElmer))方法测量热应激前后抗体与SARS-CoV-2刺突蛋白的受体结合结构域(RBD)的结合。将Nunc MaxiSorp[™] 96孔板用纯化的RBD Omicron(奥密克戎)蛋白包被过夜。然后用1X TBS-Tween缓冲液(珀金埃尔默公司(PerkinElmer))洗涤测定板,并用牛血清白蛋白(西格玛公司(Sigma))封闭。将抗体样品连

续稀释并添加至板中持续1h。用 DELFIA® 镧-N1 抗人 IgG (珀金埃尔默公司 (PerkinElmer)) 检测结合抗体,并在 Envision 平板读数器 (珀金埃尔默公司 (PerkinElmer)) 上经由时间分辨荧光对信号进行定量。使用 GraphPad Prism v8.0 通过四参数逻辑 (4PL) 曲线计算 IC_{50} 。将应激样品的 IC_{50} 与参考样品进行比较,以产生相对效力百分比。

[0294] 8.14 实例14:FcRn亲和色谱法

[0295] 使用 Agilent HPLC 将约 40 μ g/40 μ L 抗体加载到 1ml huFcRN 偶联的琼脂糖亲和柱上,然后进行从缓冲液 A (20mM MES, 150mM NaCl, pH 5.5) 至 40% 缓冲液 B (20mM tris+150mM NaCl, pH 8.8) 的 3CV 线性梯度,以及从 40% 至 100% 缓冲液 B 的 18CV 线性梯度。在室温下以 0.5ml/min 的流速进行实验,使用 Agilent-DAD 测量洗脱曲线的 A280。使用以下公式并使用 WT 和 YTE 格式的表现良好的对照抗体 NIP228 将保留时间归一化为相对保留时间:

[0296] 相对 RT = ([样品 RT - NIP228 RT] / [NIP228-YTE RT - NIP228 RT])。结果如表 3 所示。

[0297] 8.15 实例15:Octet结合竞争

[0298] 使用 Octet 型号 QK384 生物层干涉测量仪器 (FortéBio) 进行结合竞争。首先将链霉亲和素尖端在 1x 动力学缓冲液中浸泡 10 分钟,随后在 1x 动力学缓冲液中进行基线信号测量 60 秒。然后将在动力学缓冲液中稀释至 4nM 的生物素化 SARS-CoV-2 刺突 RBD 加载到尖端上 300 秒。然后将含抗原的尖端添加到含有 1 μ M 第一 mAb (mAb1) 作为 mAb1 参考抗体的孔中,并测量缔合 300 秒。然后将尖端浸入含有 1 μ M 第二 mAb (mAb2) 的孔中,并测量第二缔合 300 秒。根据平衡时最后 10 秒的数据点对每个步骤结束时的结合信号取平均值,以确定信号的变化。如果加入 mAb2 后信号增加大于 0.5nm,则确定 mAb 不竞争。结果如表 4 所示,并表明 RQ40 和 RQ43 不与 RQ33 竞争。

[0299] 8.16 实例16:与具有点突变的 RBD 结合

[0300] 使用 Octet 型号 QK 384 生物层干涉测量仪器 (FortéBio) 评估 mAb 与 SARS-CoV-2 刺突 RBD (wt 和点突变体) 结合的动力学速率 (k_a 、 k_d 和 K_D)。首先将抗 Penta-His (HIS1K) 尖端在 1x 动力学缓冲液中浸泡 10 分钟,随后在 1x 动力学缓冲液中进行基线信号测量 60 秒。然后将在动力学缓冲液中稀释至 5 μ g/ml 的 His 标记的 SARS-CoV-2 刺突 RBD 加载到尖端上 240 秒。然后将含抗原的尖端以 200nM 的起始浓度添加到含有 mAb 的孔中,随后稀释 2 倍,并测量缔合 300 秒。然后在 1x 动力学缓冲液中测量解离 300 秒。将数据减去参考值,并使用 Octet 数据分析软件 12.0 拟合到 1:1 结合模型。(使用 Biacore 软件将收集的数据拟合到单位点结合方程,以获得结合动力学测量值。)结果如表 5 所示,并表明 RQ33 和 RQ43 对 K444A 和 F486A RBD 突变不敏感。

[0301] 8.17 实例17:假病毒中和测定法

[0302] 接种 Freestyle 293X 细胞,并用表达荧光素酶的第三代基于人免疫缺陷病毒 (HIV) 的慢病毒载体连同编码以下的包装质粒转染:具有 C-末端 19 个氨基酸缺失、Rev 和 Gag-pol 的 SARS-CoV-2 刺突蛋白。48 小时后收获病毒上清液。通过低速离心去除细胞碎片并使上清液通过 0.45 μ m 过滤装置。通过超速离心将上清液浓缩 100 倍,以产生用于该测定的原液病毒。

[0303] 在 384 孔微量滴定板中制备 mAb 的连续稀释液,并在 37 $^{\circ}$ C 下与假病毒预孵育 1 小时,向其中添加稳定表达人 ACE2 的 Ad293 细胞。将板放回 37 $^{\circ}$ C 培养箱中 48 小时,并在 EnVision

2105多模式酶标仪(珀金埃尔默(Perkin Elmer))上,使用Bright-Glo™荧光素酶测定系统(普洛麦格(Promega))根据制造商的建议测量荧光素酶活性。相对于单独的假病毒对照计算抑制百分比,并使用GraphPad Prism软件版本8.1.0通过非线性回归确定效力(IC₅₀值)。由最少2个独立实验测定每种mAb的平均IC₅₀值。假病毒中和测定的结果如图1和2所示。AZD7442在测试mAb组合的中和测定中用作对照。AZD7442是两种抗体(替沙格韦单抗(AZD8895)和西加韦单抗(AZD1061))的组合,来源于SARS-CoV-2病毒后恢复期患者捐赠的B细胞。

[0304]

表 2

抗体	计算机模拟 (+pI)								
	滴度 (CHO 小规模, NIP228 的%)	单体含量	单体保留时间 (对比 NIP228)	自缔合 (AC-SINS PBS/缓冲液)	BVP (HEK 细胞结合)	DSC-TmOnset, °C	DSC-Tm Fab 第一次转变, °C	DLS kD (g/ml)	150 mg/mL 下的粘度, (cP)
RQ33 (TM-YTE)	17	98.62	-0.004	1.9/2.6	1.01 (无)	45.1	79.3	19.9	4.6
RQ33-GL-H (TM-YTE)		98.32	-0.024	1.6/1.6	0.96 (无)				
RQ33-GL-H-LO1 (TM-YTE)	46.2	98.3	0.04	2.1/1.6	0.97 (无)	46.1	77.3	17.4	5.1
RQ40 (TM-YTE)	Cys 环**	92.9; 90	0.078	1.6/2.4	0.95 (无)	47.9	75	13.9	
RQ40-GL-LH (TM-YTE)	Cys 环	97.4	0.08	0.5/0.5	1.23 (无)	47.2	75.2	11.7	7.2
RQ41 (TM-YTE)	整联蛋白 BS***	28	-0.009	2.1/2.1	1.11 (无)	46.6	61.9	7	5.5
	整联蛋白								
RQ41-GL-LH (TM-YTE)	BS	36.1	0.003	1.1/1.1	1 (No)				5.5
RQ41-GL-LH-LO1 (TM-YTE)		99.26	-0.016						
RQ41-LO1 (TM-YTE)		99.25	-0.017						

[0305]

RQ43 (TM-YTE)	整联蛋白 BS	69.5	99.35	0.043	1.9/1.1	1.08 (无)	47.6	61.8	5.8	8
RQ43-GL-L (TM-YTE)	整联蛋白 BS		98.7	0.021	1.4/1.6	0.92 (无)				
RQ43-GL-H (TM-YTE)	整联蛋白 BS		99.3	0.014	1.6/0.9	0.84 (无)	45.7	65.5		
RQ43-GL-LH (TM-YTE)	整联蛋白 BS		99.17	-0.007	1.1/0.0	0.7 (无)			1.2	
RQ43-GL-LH-LO1 (TM-YTE)			98.6	0.008						
RQ43-GL-H-LO1 (TM-YTE)		51.15	97.6	0.03	0.5/0.5	1.21 (无)	45.1	60.9	2.5	6.8

*DP =可能潜在地引起片段化的“DP” 氨基酸序列

**Cys 环= CDR 中的二硫环

*** 整联蛋白 BS =整联蛋白结合位点

表 3

抗体	加温 7 天聚集 (片段化)	加温 7 天结合	加温 14 天聚集 (片段化)	加温 14 天结合	光 7 天聚集 (片段化)	光 7 天结合	血清稳定性 7 天结合	血清稳定性 14 天结合	应温前/后的 FcRn 柱结合	联作图
	0.03 (0.26)	102%	0.20 (0.65)	109%	0.04 (0.16)	94%	98%	95%	通过	CDRH1 脱酰胺; CDRH3 异构化
RQ33 (TM-YTE)										

[0306]

[illegible]

表 4

[0307]

mAb1 (下) // mAb2 (右)	RQ33	RQ40	RQ41	RQ43
RQ33		非竞争对	竞争对	非竞争对
RQ40	非竞争对		竞争对	竞争对
RQ41	竞争对			竞争对
RQ43	非竞争对	竞争对	竞争对	

表 5：对 RBD 点突变体的亲和力

	KD (M) 值		
mAb	RBD-wt	K444A*	F486A**
RQ33	3.65E-09	3.13E-09	3.28E-09
RQ40	<1.0E-12	<1.0E-12	4.71E-08
RQ43	<1.0E-12	<1.0E-12	<1.0E-12

- [0308] 8.18实例18:RQ33的发散中和曲线
- [0309] RQ33、RQ43-GL-H-L01和组合 (RQ33+RQ43-GL-H-L01) 在中和测定中进行评估,以测

量它们对SARS-CoV-2关注变体 (VOC) 的抗病毒活性。以剂量依赖性方式观察到抗病毒活性, 导致抗体浓度与大多数VOC的中和百分比之间的S形关系。然而, 当测量真实SARS-CoV-2病毒的BA.2.12.1变体的中和时, 在低浓度RQ33下观察到负性中和 (即感染增强) (图3)。这观察结果与RQ43-GL-H-L01和组合 (RQ33+RQ43-GL-H-L01) 的观察结果相反, 其中低浓度抗体导致低中和或无中和, 但不是负性中和 (即感染增强)。这种感染增强的观察结果仅在测定真实BA.2.12.1病毒时观察到, 而使用假病毒 (图4) 和来自其他变体的真实病毒都没有观察到。

[0310] 在低浓度RQ33下观察到真实BA.2.12.1病毒的感染增强, 这与在暴露前预防环境中应预防SARS-CoV-2疾病的单克隆抗体产品的目标产品曲线不一致。因此, 评价西加韦单抗 (代替RQ33) 与RQ43-GL-H-L01组合。西加韦单抗和RQ43-GL-H-L01在生物化学上是相容的, 因为使用BA.2RBD通过Octet竞争测定显示RQ43-GL-H-L01不与西加韦单抗竞争 (图5)。通过比较RQ43 (RQ43-GL-H-L01的亲本) 和西加韦单抗在RBD表面上的结合足迹 (图6) 也证明了这点。此外, 西加韦单抗和RQ43-GL-H-L01一起提供了对所有测试的关注变体的广泛且有效的覆盖 (表6)。

[0311] 表6: 通过真实病毒中和测定的RQ43-GL-H-L01和西加韦单抗的SARS-CoV-2抗病毒活性

mAb 名称	真实病毒中和 IC50 (ng/ml)							
	D614G	α	δ +T51I +T95I	BA.1	BA.1.1	BA.2	BA.2.1 2.1	BA.5
[0312] 西加韦单抗	66	6	14	3779	>10000	21	29	131
RQ43-GL-H-L01	99	60	21	11	7	31	28	17
RQ43-GL-H-L01+ 西加韦单抗	58	7	24	29	16	18	20	24

[0313] 注意: 表中的IC50值由2个独立重复的平均值计算, 每个重复两次。

[0314] IC50, 半最大抑制浓度; mAb, 单克隆抗体; SARS-CoV-2, 严重急性呼吸综合征冠状病毒2。

[0315] ***

[0316] 本发明的范围不受本文描述的方面的限制。实际上, 除了本文描述的那些之外, 根据前面的描述和附图, 本发明的各种修改对于本领域技术人员将变得显而易见。这样的修改旨在落入所附权利要求书的范围内。

[0317] 本文援引的所有参考文献 (例如, 出版物或专利或专利申请) 通过援引以其全文并入本文并用于所有目的, 其程度如同特别和单独指示各个参考文献 (例如, 出版物或专利或专利申请) 通过援引以其全文并入以用于所有目的一样。

[0318] 一些方面在以下权利要求书的范围内。

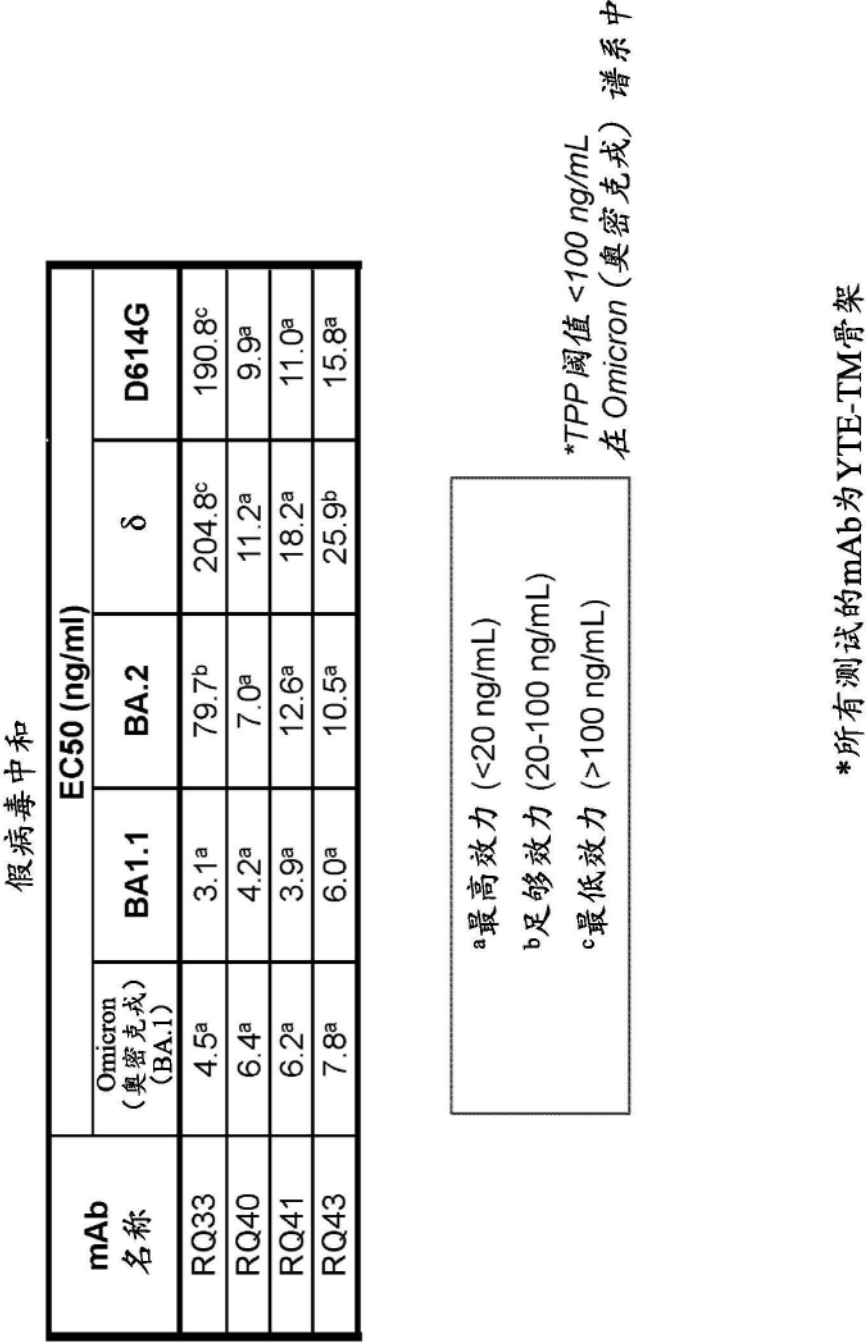


图1

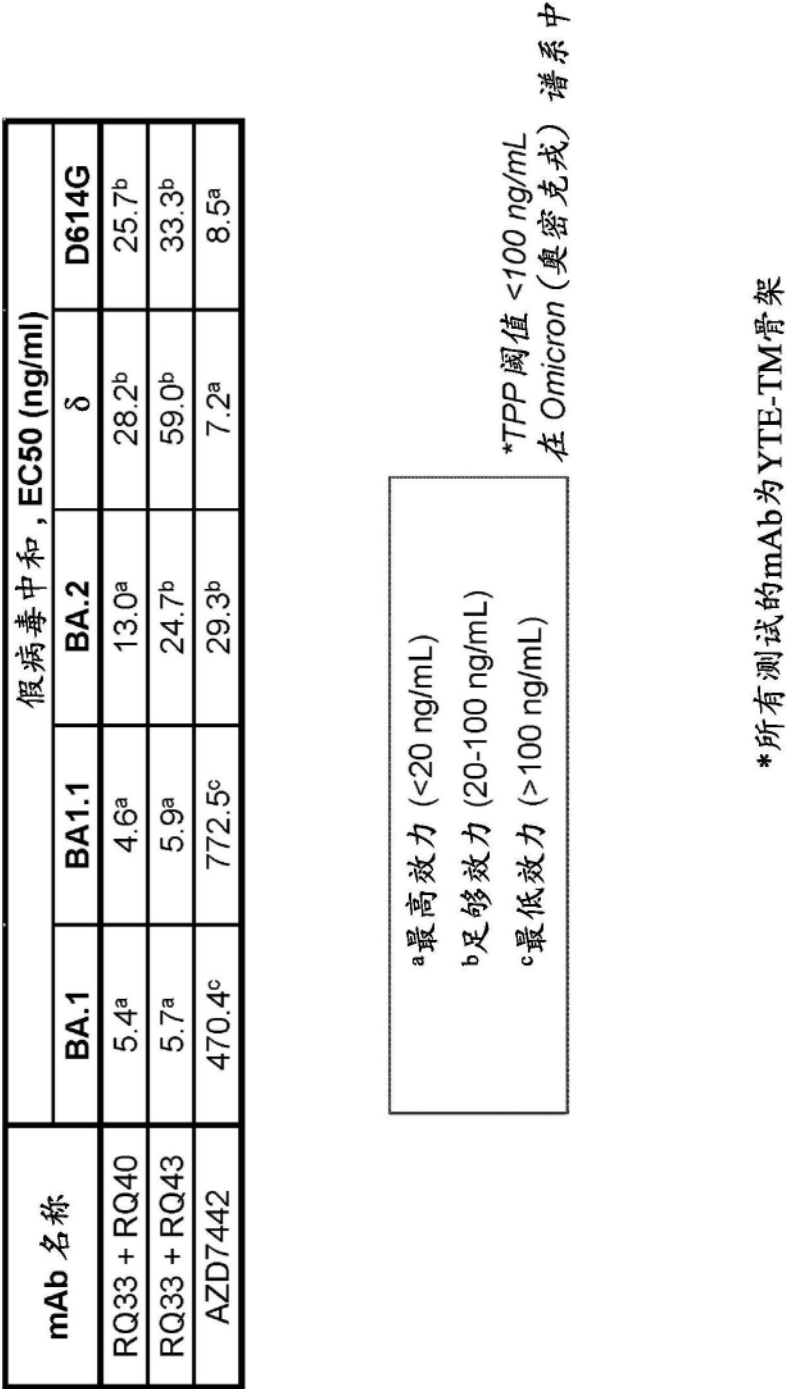


图2

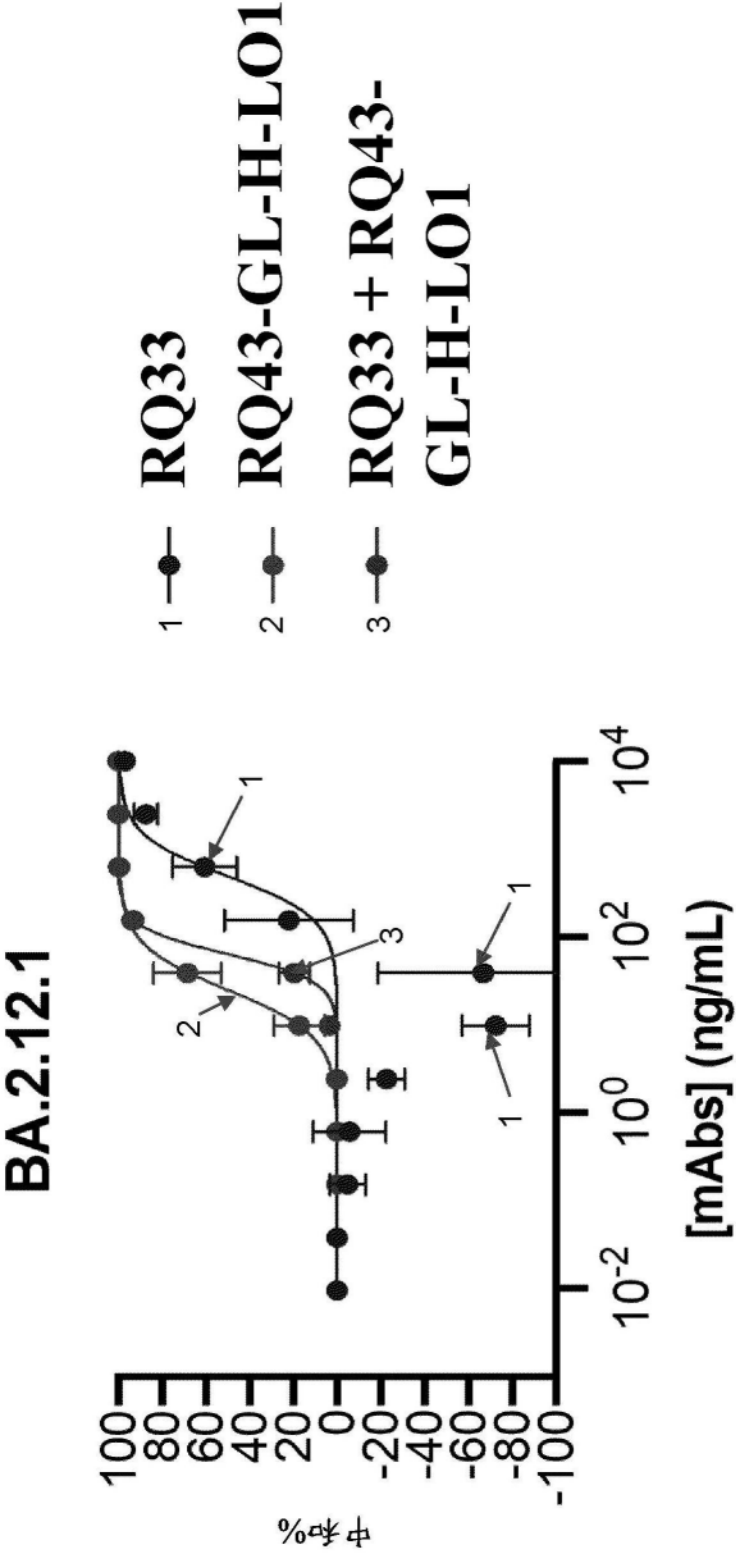


图3

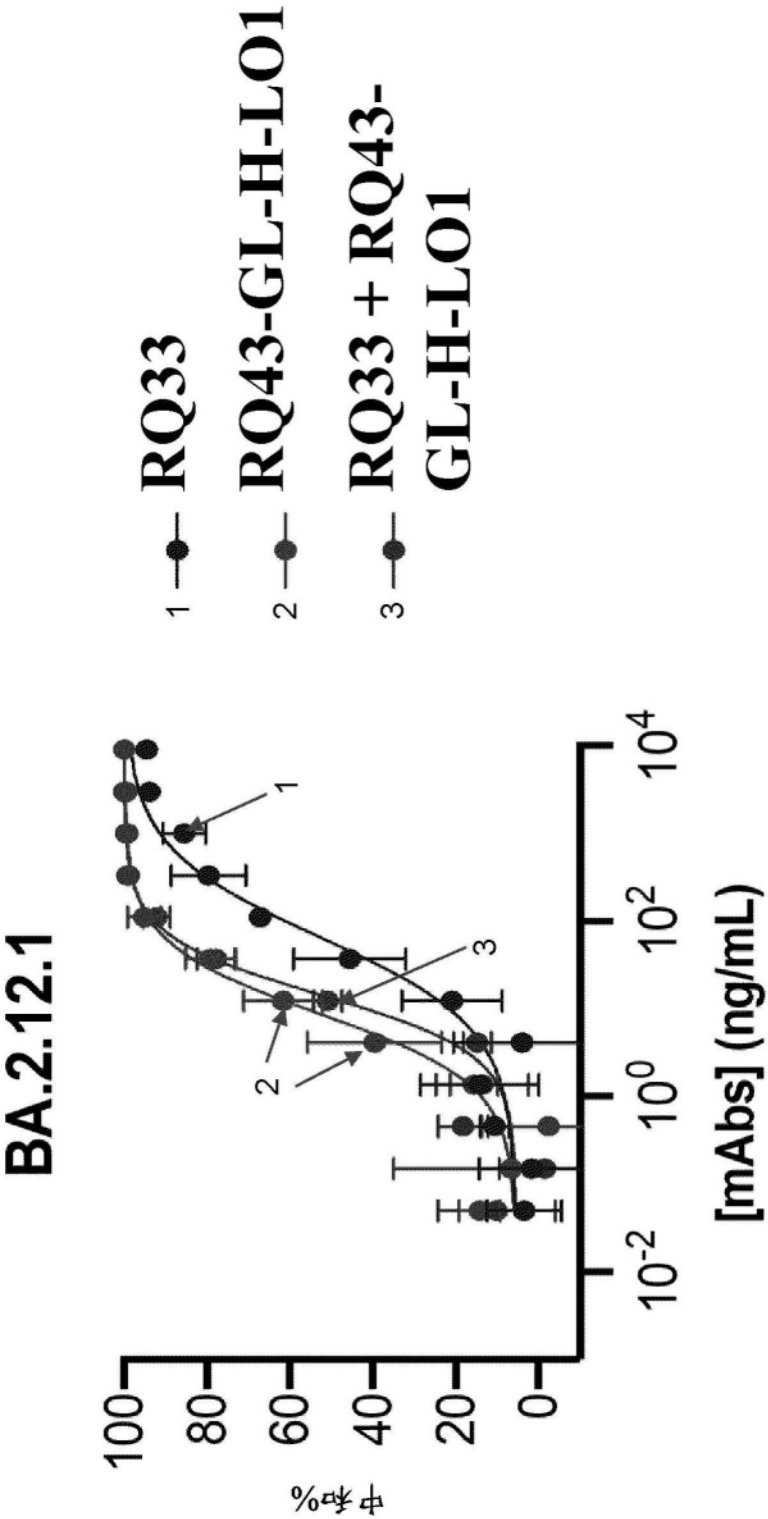


图4

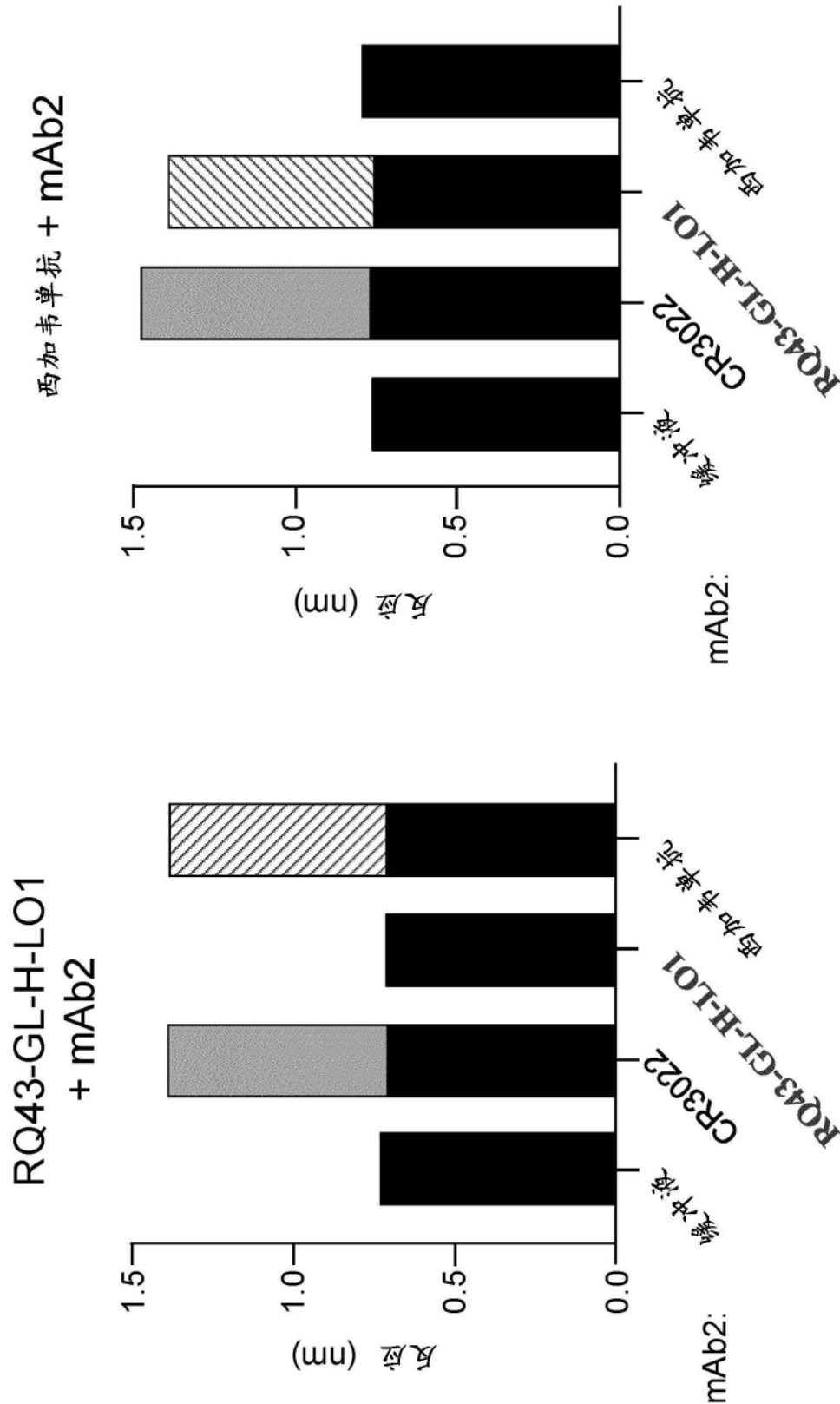


图5

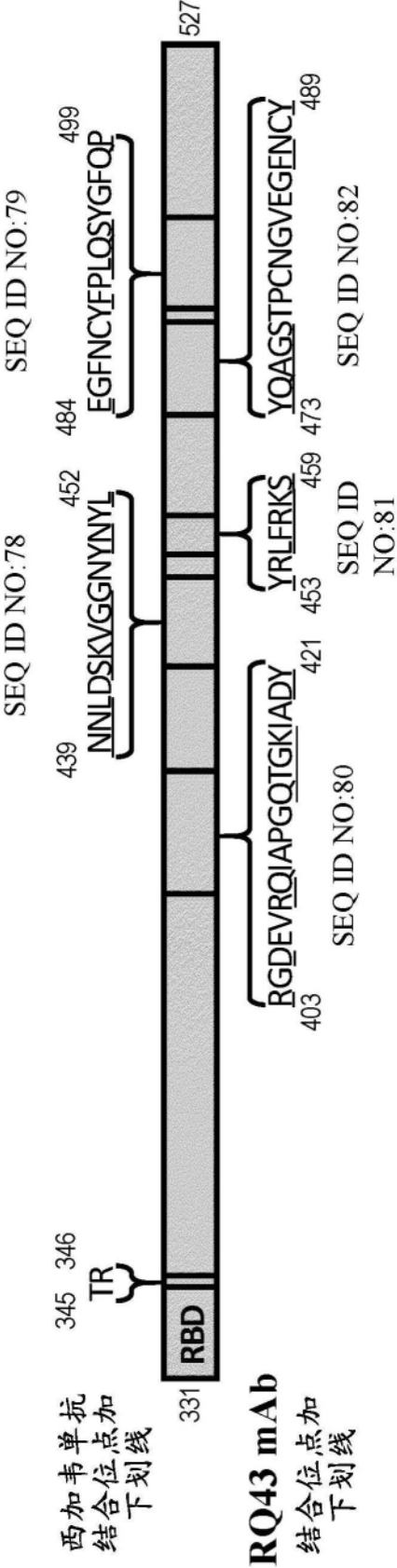


图6