

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年11月18日(18.11.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/227138 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/10 (2006.01) *C12N 15/50* (2006.01)
C07K 14/165 (2006.01) *C12N 15/70* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/092957

(22) 国际申请日: 2020年5月28日(28.05.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
PCT/CN2020/089494
2020年5月9日(09.05.2020) CN

(71) 申请人: 江苏省疾病预防控制中心
(江苏省公共卫生研究院) (JIANGSU
PROVINCIAL CENTER FOR DISEASE CONTROL
AND PREVENTION (PUBLIC HEALTH RESEARCH
INSTITUTE OF JIANGSU PROVINCE)) [CN/CN];

中国江苏省南京市鼓楼区江苏路172号, Jiangsu 210009 (CN)。

(72) 发明人: 朱凤才(ZHU, Fengcai); 中国江苏省南京市鼓楼区江苏路172号, Jiangsu 210009 (CN)。张黎(ZHANG, Li); 中国江苏省南京市鼓楼区江苏路172号, Jiangsu 210009 (CN)。潘红星(PAN, Hongxing); 中国江苏省南京市鼓楼区江苏路172号, Jiangsu 210009 (CN)。郭喜玲(GUO, Xiling); 中国江苏省南京市鼓楼区江苏路172号, Jiangsu 210009 (CN)。

(74) 代理人: 北京预立生科知识产权代理有限公司(BEIJING PREINTELL IP CO., LTD); 中国北京市大兴区荣华南路10号荣华鑫泰大厦3号楼1210室, Beijing 100176 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,

(54) Title: MONOCLONAL ANTIBODY FOR NOVEL CORONAVIRUS, OR ANTIGEN BINDING PART THEREOF

(54) 发明名称: 针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分

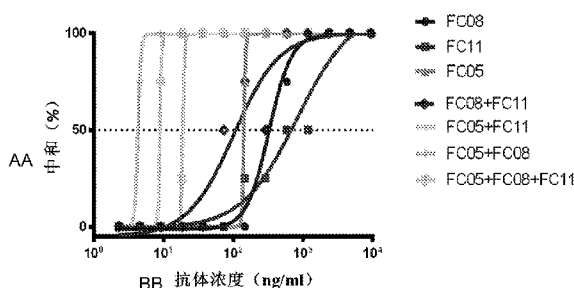


图 5

AA NEUTRALIZATION (%)
BB ANTIBODY CONCENTRATION (NG/ML)

(57) Abstract: A monoclonal antibody for a novel coronavirus, or an antigen binding part thereof. The monoclonal antibody specifically binds to an S protein of the novel coronavirus. The monoclonal antibody contains a heavy chain variable region comprising amino acid sequences as shown in SEQ ID NO. 1-3, SEQ ID NO. 9-11, and SEQ ID NO. 17-19, and a light chain variable region comprising amino acid sequences as shown in SEQ ID NO. 5-7, SEQ ID NO. 13-15, and SEQ ID NO. 21-23. The monoclonal antibody can be used for detecting the existence of the novel coronavirus. In addition, the monoclonal antibody has neutralizing activity, and therefore can be used for the development of drugs for preventing or treating novel coronavirus infection.

(57) 摘要: 针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分, 所述单克隆抗体特异性结合新型冠状病毒S蛋白。单克隆抗体包含含有SEQ ID NO.1-3、SEQ ID NO.9-11、SEQ ID NO.17-19的氨基酸序列的重链可变区, 以及含有SEQ ID NO.5-7、SEQ ID NO.13-15、SEQ ID NO.21-23的氨基酸序列的轻链可变区。单克隆抗体可用于检测新型冠状病毒的存在。另外, 单克隆抗体具有中和活性, 故可用于预防或治疗新型冠状病毒感染的药物的开发。

CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

本国际公布:

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

针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分

5 技术领域

本发明属于细胞免疫学、分子生物学领域，涉及针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分。

背景技术

国际病毒分类委员会将新型冠状病毒命名为 SARS-CoV-2，世界卫生组织将
10 感染此病毒引起的肺炎称为 COVID-19。此病毒传染性强，传播途径广。该病毒能迅速适应人体环境，感染后在潜伏期即具有传播能力，同时还有一些无症状感染者报道，甚至在多种动物体内也检测到病毒核酸。这些因素使得对该病毒的防控变的非常复杂，而且目前没有有效治疗药物及疫苗上市。

SARS-CoV-2 属于冠状病毒属，为单股正链 RNA 病毒，大小约 30 kb，与
15 SARS-CoV 相似性为 79%，与蝙蝠体内分离的冠状病毒（Coronavirus, CoV）相似性最高约 88%。SARS-CoV-2 具有典型的冠状病毒特征，病毒包膜上有典型的棘突，形似日冕。Spike 蛋白（刺突蛋白）是冠状病毒最重要的表面膜蛋白，决定了病毒的宿主范围和特异性，是宿主中和抗体的重要位点以及疫苗设计的关键靶点。

20 由于特异性治疗药物及有效疫苗尚未研发成功，目前已有恢复期病人血浆用于治疗重症患者的尝试，且具有明显的效果。由于血浆及血浆制品成分复杂，且可能具有潜在的危险因素。病毒的中和性抗体，特别是全人源单克隆的在病毒诊断及治疗方面显得尤为重要。单克隆抗体能够识别病毒的单一抗原表位，有些具有中和作用的单克隆抗体能够通过结合在病毒特异性位点，例如受体结合部位，
25 蛋白酶切位点，膜融合部位的附件，从而感染病毒生命周期中的粘附宿主细胞，利用膜融合及表面蛋白水解等机制而起到中和作用。其中从恢复期病人体内获得的全人源单克隆抗体更具有成药潜能。首先因为恢复期患者体内的免疫系统经过充分的免疫应答，B 细胞经过充分的体细胞高频突变，使抗体亲和力得到最大程

度的成熟。其次因为人体免疫系统全人源抗体不产生免疫应答，人源抗体成药更具安全性。因此，高亲和力和高中和活性的人源抗体对新型冠状病毒疫情控制和重症患者治疗方面都具有重大的应用价值。

发明内容

5 本发明提供了针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分，其包含重链可变区中的一个或多个 CDR，和/或轻链可变区的一个或多个 CDR；

其中，重链可变区的 CDR 包含选自 SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19 中的至少一个所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；

10 轻链可变区的 CDR 包含选自 SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23 中的至少一个所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。

进一步，所述重链可变区的 CDR1 包含选自 SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.17 所示的氨基酸序列。

15 进一步，所述重链可变区的 CDR2 包含选自 SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.18 所示的氨基酸序列。

进一步，所述重链可变区的 CDR3 包含选自 SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.19 所示的氨基酸序列。

20 进一步，所述轻链可变区的 CDR1 包含选自 SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.21 所示的氨基酸序列。

进一步，所述轻链可变区的 CDR2 包含选自 SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.22 所示的氨基酸序列。

进一步，所述轻链可变区的 CDR3 包含选自 SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.23 所示的氨基酸序列。

25 在本发明的具体实施例中，本发明的针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.1 所示的 CDR1、SEQ ID NO.2 所示的 CDR2、SEQ ID NO.3 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.5 所示的 CDR1、SEQ ID NO.6 所示的 CDR2、SEQ ID NO.7 所示的 CDR3。

优选地，重链可变区包含与 SEQ ID NO.4 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.8 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列。

5 更优选地，重链可变区包含 SEQ ID NO.4 所示的氨基酸序列；轻链可变区包含 SEQ ID NO.8 所示的氨基酸序列。

在本发明的具体实施例中，本发明的针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.9 所示的 CDR1、SEQ ID NO.10 所示的 CDR2、SEQ ID NO.11 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.13 所示的 CDR1、SEQ ID NO.14 所示的 CDR2、SEQ ID NO.15 所示的 CDR3。

10 优选地，重链可变区包含与 SEQ ID NO.12 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.16 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列。

更优选地，重链可变区包含 SEQ ID NO.12 所示的氨基酸序列；轻链可变区包含 SEQ ID NO.16 所示的氨基酸序列。

15 在本发明的具体实施例中，本发明的针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分的重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.17 所示的 CDR1、SEQ ID NO.18 所示的 CDR2、SEQ ID NO.19 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.21 所示的 CDR1、SEQ ID NO.22 所示的 CDR2、SEQ ID NO.23 所示的 CDR3。

20 优选地，重链可变区包含与 SEQ ID NO.20 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.24 所示的氨基酸序列至少 80% 同源的氨基酸序列。

更优选地，重链可变区包含 SEQ ID NO.20 所示的氨基酸序列；轻链可变区包含 SEQ ID NO.24 所示的氨基酸序列。

25 本发明还提供了双特异性分子，其包含与第二功能性模块相连的前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，该第二功能性模块具有与所述单克隆抗体或其抗原结合部分不同的结合特异性。

本发明还提供了组合物，其含有本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分，或双特异性分子。

本发明还涵盖编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分的核酸分子，以及包含此类核酸的表达载体和包含此类表达载体的宿主细胞。

本发明的核酸分子，包含 SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29、或 SEQ ID NO.30 所示的序列。

5 “抗体”指包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白。每条重链由重链可变区(本文中简称为 VH)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个结构域，CH1、CH2 和 CH3 构成。每条轻链由轻链可变区(本文中简称为 VL)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域，CL 构成。VH 和 VL 区可以进一步细分为高变性区域，称为互补决定区(CDR)，其散布在更保守的区域中，称为框架区(FR)。每条 VH 和 VL 由三个 CDR 和四个 FR 构成，其从氨基端到羧基端以下列顺序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白对宿主组织或因子的结合，其包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

15 术语“抗原结合部分”在用于本文时指一个或多个保留了与抗原特异性结合的能力的抗体片段。已显示抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段行使。术语抗体的“抗原结合部分”所涵盖的结合片段的实例包括(i)Fab 片段，由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段；(ii)F(ab')₂ 片段，包含通过较链区二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段；(iii)Fd 片段，由 VH 和 CH1 结构域组成；
20 (iv)Fv 片段，由抗体单臂的 VL 和 VH 结构域组成；(v)dAb 片段(Ward 等人(1989)Nature 341:544-546)，由 VH 结构域组成；和(vi)分离的互补决定区(CDR)。此外，虽然 Fv 片段的两个结构域，VL 和 VH 由分开的基因编码，但是可以使用重组方法通过合成的接头将它们连接，从而使它们能够制备成单个蛋白链，其中 VL 和 VH 区配对形成单价分子(称为单链 Fv (scFv)；参见例如 Bird 等人
25 (1988)Science 242:423-426；和 Huston 等人(1988)Proc .Natl .Acad .Sci .USA 85:5879-5883)。此类单链抗体也意图涵盖在术语抗体的“抗原结合部分”中。这些抗体片段可使用本领域技术人员公知的常规技术获得，可以以与完整抗体相同的方式对片段筛选功用。

“分离的单克隆抗体”在用于本文时意图指基本没有具有不同抗原特异性的

其它抗体的抗体。此外，分离的抗体可以基本没有其它细胞材料和/或化学药品。

“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”在用于本文时指单一分子组合物的抗体分子的制备物。单克隆抗体组合物展现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力。

5 同源抗体

本发明抗体包含的重链和轻链可变区所包含的氨基酸序列与本文所述的优选抗体的氨基酸序列同源，且其中所述抗体保留了本发明抗新型冠状病毒抗体的期望的功能特性。

例如，本发明提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合部分，其包含重链可变区和轻链可变区，其中：

(a)所述重链可变区包含与 SEQ ID NO.4 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列；

(b)所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO.8 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列。

15 在其它实施方式中，VH 和/或 VL 氨基酸序列可以与上述序列具有 85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的同源性。VH 和 VL 区与上述序列的 VH 和 VL 区具有高(即 80%或更高)同源性的抗体可以通过诱变(例如定点诱变或 PCR 介导的诱变)编码氨基酸序列的核酸分子获得。

20 在用于本文时，两氨基酸序列之间的百分比同源性等于两序列之间的百分比同一性。两序列间的百分比同一性为序列共有的相同位置数的函数(即%同源性 = 相同位置数/位置总数 x 100)，其中需考虑产生两序列的最优比对需要引入的缺口数和每个缺口的长度。如下述非限制性实施例所示，可以使用数学算法完成序列的比较和两序列间百分比同一性的测定。

25 可以使用 E .Meyers 和 W .Miller 的算法(Comput .Appl .Biosci .,4:11-17 (1988))测定两氨基酸序列间的百分比同一性，该算法已收入到 ALIGN 程序 (版本 2 .0)中，其使用 PAM120 残基权重表，缺口长度罚分为 12，缺口罚分为 4。此外，可以使用 Needleman 和 Wunsch 的算法(J .Mol .Biol .48:444-453 (1970))测定两氨基酸序列间的百分比同一性，该算法已掺入到 GCG 软件包 (可在 www .gcg .com 获得)中的 GAP 程序中，其使用 Blossum 62 矩阵或 PAM250 矩阵，缺口权重为

16、14、12、10、8、6 或 4，长度权重为 1、2、3、4、5 或 6。

另外/或者，本发明的蛋白质序列可以进一步用作“查询序列”对公用数据库进行搜索以例如鉴定相关序列。此类搜索可以使用 Altschul 等人(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10 的 XBLAST 程序(版本 2.0)进行。可以采用 XBLAST 程序以得分=50，词长=3 进行 BLAST 蛋白质搜索以获得与本发明抗体分子同源的氨基酸序列。为获得用于比较的含缺口的比对结果，如 Altschul 等人(1997) *Nucleic Acids Res.* 25 (17) :3389-3402 所述使用 Gapped BLAST。当使用 BLAST 和 Gapped BLAST 程序时，可以使用各程序(例如 XBLAST 和 NBLAST)的缺省参数。(参见 www.ncbi.nlm.nih.gov)。

10 具有保守修饰的抗体

在某些实施方式中，本发明的抗体包含含有 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重链可变区和含有 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的轻链可变区，其中这些 CDR 序列中的一个或多个包含基于本文所述优选抗体的特定氨基酸序列或其保守修饰，且其中所述抗体保留了本发明抗新型冠状病毒抗体的期望的功能特性。

15 在用于本文时，术语“保守序列修饰”意图指氨基酸修饰不会显著影响或改变含有该氨基酸序列的抗体的结合特征。此类保守修饰包括氨基酸的取代、添加和缺失。修饰可以通过本领域已知的标准技术，例如定点诱变和 PCR 介导的优点引入到本发明的抗体中。保守氨基酸取代指氨基酸残基用具有类似侧链的氨基酸残基替换。本领域中对具有类似侧链的氨基酸残基家族已有详细说明。这些家族包括具有碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、 β -分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。因此，
20 可以用来自同一侧链家族的其他氨基酸残基替换本发明抗体 CDR 区中的一个或多个氨基酸残基。

工程改造的和修饰的抗体

本发明的抗体进一步可以使用具有一个或多个本文所公开的 VH 和/或 VL 序列的抗体作为起始材料来工程改造修饰后的抗体进行制备，其中所述修饰后的抗

体可以具有与起始抗体不同的特性。抗体可以通过修饰一个或全部两个可变区(即 VH 和/或 VL)中,例如一个或多个 CDR 区中和/或一个或多个框架区中的一个或多个残基来进行工程改造。另外/或者,抗体可以通过修饰恒定区中的残基以例如改变抗体的效应器功能来进行工程改造。

5 可以进行的一类可变区工程改造是 CDR 嫁接。抗体与靶抗原相互作用主要是通过位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基。因为这个原因,抗体个体间 CDR 中的氨基酸序列的差异比 CDR 外序列的大。因为 CDR 序列负责大部分抗体-抗原相互作用,所以有可能通过构建表达载体来表达模拟特定天然存在抗体性质的重组抗体,该表达载体包含来自特定天然存在抗体的 CDR 序列,其嫁接到来自具有不同特性的不同抗体的框架序列上(参见例如
10 Riechmann ,L .等人(1998)Nature 332:323-327; Jones ,P .等人(1986) Nature 321:522-525; Queen ,C .等人(1989)Proc .Natl .Acad .See .U .S .A . 86:10029-10033; Winter 的美国专利 No .5 ,225 ,539 及 Queen 等人的美国专利 Nos .5 ,530 ,101; 5 ,585 ,089; 5 ,693 ,762 和 6 ,180 ,370)。

15 另一类可变区修饰是突变 VH 和/或 VK CDR1、CDR2 和/或 CDR3 区中的氨基酸残基以改进目的抗体的一种或多种结合特性(例如亲和力)。可以通过定点诱变或 PCR 介导的诱变来导入突变。优选导入(如上所述的)保守修饰。突变可以是氨基酸的取代、添加或缺失,但是优选为取代。此外,CDR 区中残基变化通常不超过一个、两个、三个、四个或五个。

20 本发明的工程改造的抗体包括那些 VH 和/或 VK 中框架残基进行了修饰以例如改进抗体特性的抗体。通常进行此类框架修饰以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是“回复突变(backmutate)”一个或多个框架残基为相应的种系序列。更具体的说,发生体细胞突变的抗体可以含有与衍生该抗体的种系序列不同的框架残基。可以通过比较抗体框架序列和衍生该抗体的种系序列来鉴定此类残基。

25 在框架区或 CDR 区中进行的修饰的另外的或可选的,可以工程改造本发明的抗体以在 Fc 区中包含修饰,这通常用于改变抗体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/或抗体依赖性细胞的细胞毒性。此外,本发明的抗体可以进行化学修饰(例如在抗体上附着一个或多个化学模块)或者进行修饰以改变其糖基化,再次用于改变抗体的一种或多种功能特性。Fc 区中

残基的编号方式为 Kabat 的 EU 索引的编号方式。

在一实施方式中，修饰 CH1 的铰链区以使铰链区中半胱氨酸残基的数目改变，例如增加或减少。该方法进一步记载于 Bodmer 等人的美国专利 No . 5 ,677 ,425 中。改变 CH1 铰链区中半胱氨酸残基的数目以例如便于轻链和重链的组装或提高或降低抗体的稳定性。

在另一实施方式中，突变抗体的 Fc 铰链区以缩短抗体的生物学半衰期。更具体的说，向 Fc 铰链片段的 CH2-CH3 结构域界面区引入一个或多个氨基酸突变，从而使得抗体具有相对于天然 Fc 铰链结构域 SpA 结合而言削弱了的葡萄球菌蛋白 A(SpA)结合。该方法进一步详细记载于 Ward 等人的美国专利 No .6 ,165 ,745 中。

在另一实施方式中，修饰抗体以延长其生物学半衰期。有多种方法是可行的。例如，如 Ward 的美国专利 No .6 ,277 ,375 中所述，引入一个或多个下述突变：T252L、T254S、T256F。或者，如 Presta 等人的美国专利 Nos .5 ,869 ,046 和 6 ,121 ,022 中所述，为延长生物学半衰期，抗体可以在 CH1 或 CL 区中进行改变以包含补救受体(salvage receptor)结合表位，该表位取自 IgG 的 Fc 区的 CH2 结构域的两个环。

在又一实施方式中，修饰抗体的糖基化。例如可以制备无糖基化的 (aglycoslated)抗体(即抗体缺少糖基化)。可以改变糖基化以例如提高抗体对抗原的亲合力。此类碳水化合物修饰可以通过例如改变抗体序列中的一个或多个糖基化位点来实现。例如，进行一个或多个氨基酸的取代以除去一个或多个可变区框架糖基化位点，进而除去该位点的糖基化。此类无糖基化可以提高抗体对抗原的亲合力。该方法进一步详细记载于 Co 等人的美国专利 Nos. 5,714 ,350 和 6 ,350 ,861 中。

本发明所设想的本文抗体的另一修饰是 PEG 化。抗体可以 PEG 化以例如延长抗体的生物学(例如血清)半衰期。为 PEG 化抗体，通常在使得一个或多个 PEG 基团附着于抗体或抗体片段的条件下将抗体或其片段与聚乙二醇 (PEG)，诸如 PEG 的反应性酯或醛衍生物进行反应。优选的是，PEG 化可以通过与反应性 PEG 分子(或类似的反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷化反应进行。在用于本文时，术语“聚乙二醇”意图包括任何形式的已经用于衍生化其它蛋白质的 PEG，诸

如单(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施方式中，待 PEG 化的抗体是无糖基化的抗体。PEG 化蛋白质的方法是本领域已知的，可以用于本发明的抗体。参见例如 Nishimura 等人的 EP 0 154 316 和 Ishikawa 等人的 EP 0 401 384。

5 编码本发明抗体的核酸分子

本发明的另一方面涉及编码本发明的抗体的核酸分子。核酸可以存在于完整的细胞中、存在于细胞溶胞物中、或者以部分纯化或基本纯的形式存在。当通过标准技术，包括碱/SDS 处理、CsCl 分带(banding)、柱层析、琼脂糖凝胶电泳和本领域众所周知的其它技术纯化除去其它细胞组分或其它污染物，例如其它细胞核酸或蛋白质时，核酸是“分离的”或“使得基本纯的”。参见 F .Ausubel 等人
10 (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience ,New York。本发明的核酸可以是例如 DNA 或 RNA，而且可以含有或不含有内含子序列。在一优选的实施方式中，核酸是 cDNA 分子。

可以使用标准分子生物学技术来获得本发明的核酸。一旦获得编码 VH 和
15 VL 区段的 DNA 片段，进一步通过标准重组 DNA 技术操作这些 DNA 片段，以例如将可变区基因转变为全长抗体链基因、Fab 片段基因或 scFv 基因。在这些操作中，将编码 VL 或 VH 的 DNA 片段可操作的连接至编码另一蛋白质，诸如抗体恒定区或柔性接头的另一 DNA 片段。术语“可操作的连接”在用于本文时意图表示连接两 DNA 片段从而使得这两个 DNA 片段所编码的氨基酸序列保持
20 在同一读码框中(in-frame)。

通过将编码 VH 的 DNA 可操作的连接至编码重链恒定区(CH1、CH2 和 CH3)的另一 DNA 分子可以将编码 VH 区的分离的 DNA 转变为全长重链基因。人重链恒定区基因的序列是本领域已知的。

通过将编码 VL 的 DNA 可操作的连接至编码轻链恒定区 CL 的另一 DNA 分
25 子可以将编码 VL 区的分离的 DNA 转变为全长轻链基因(以及 Fab 轻链基因)。人轻链恒定区基因的序列是本领域已知的。

双特异性分子

本发明包含本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分的双特异性分子。

本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分可以进行衍生化或连接至另一功能

性分子上，例如另一种肽或蛋白质(例如受体的另一种抗体或配体)以生成与至少两种不同结合位点或靶分子结合的双特异性分子。本发明的抗体事实上可以进行衍生化或连接至一个以上其它功能性分子以生成与两个以上不同结合位点和/或靶分子结合的多特异性分子；此类多特异性分子还意图为本文中所使用的术语“双特异性分子”所涵盖。为创建本发明的双特异性分子，可以将本发明的抗体在功能上连接(例如通过化学偶联、基因融合、非共价结合或其它方式)至一种或多种其它结合分子，诸如另一种抗体、抗体片段、肽或结合模仿物，从而产生双特异性分子。

本发明还提供了包含前面所述的核酸分子的表达载体。

10 本发明还提供了包含前面所述的表达载体的宿主细胞。

本发明还提供了包含前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分的组合物。

作为组合物的实例，所述组合物可以是偶联物，所述偶联物是将前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分与其他物质偶联而成，所述其他物质可以是治疗剂或诊断剂。治疗剂可以包括细胞毒素、药物、放射性毒素。

15 细胞毒素或细胞毒剂包括对细胞有害(例如杀伤细胞)的任何试剂。实例包括紫杉醇、松胞菌素 B、短杆菌肽 D、溴化乙啶、依米丁、丝裂霉素，依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙素、多柔比星、柔红霉素、二羟基炭疽菌素二酮、米托蒽醌、光神霉素、放线菌素 D、1-去氢睾酮、糖皮质激素类、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔和嘌呤霉素，及其类似物或同系物。

20 治疗剂还包括例如抗代谢物类(例如甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶、达卡巴嗪(decarbazine)、烷化剂类(例如双氯乙基甲胺、塞替派(thioepa)、苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀(BSNU)和洛莫司汀(CCNU)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安、二溴甘露醇、链唑霉素、丝裂霉素 C、和顺式二氯二胺铂(II)(DDP)顺铂)、蒽环类抗生素(例如柔红霉素(以前称为道诺霉素)和多柔比星)、抗生素类(例如放线菌素 D(以前称为放线菌素)、博来霉素、光神霉素、和氨基霉素(AMC))、和抗有丝分裂剂(例如长春新碱和长春碱)。duocarmycin、加利车霉素、美登素和 auristatin，及其衍生物。

25 利用本领域现有的接头技术可以将细胞毒素偶联至本发明的抗体。已经用于将细胞毒素偶联至抗体的接头类型的实例包括但不限于脞、硫醚、酯、二硫化物

和含肽的接头。

本发明的抗体还可以与放射性同位素偶联以生成细胞毒性放射性药物。可以与抗体偶联以用于诊断或治疗的放射性同位素的实例包括但不限于碘¹³¹、铟¹¹¹、钷⁹⁰和镱¹⁷⁷。

5 诊断剂

可用于本发明的所述诊断剂包括：放射性核素、造影剂、荧光剂、化学发光剂、生物发光剂、顺磁性离子、酶和光敏诊断剂。

放射性核素包括¹¹⁰In、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、¹⁸F、⁵²Fe、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、^{94m}Tc、⁹⁴Tc、^{99m}Tc、¹²⁰I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I、¹⁵⁴⁻¹⁵⁸Gd、³²F、¹¹C、¹³N、¹⁵O、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁵¹Mn、^{52m}Mn、⁵⁵Co、⁷²As、⁷⁵Br、⁷⁶Br、^{82m}Rb、⁸³Sr
10 或其它 γ 发射体、 β 发射体或正电子发射体。

顺磁性离子包括：铬(III)、锰(II)、铁(III)、铁(II)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、钆(III)、钇(III)、镱(III)、钆(III)、钒(II)、铽(III)、镨(III)、钇(III)和铟(III)。

15 荧光标记化合物包括异硫氰酸荧光素、罗丹明、藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、邻苯二甲醛和荧光胺。

化学发光标记化合物包括鲁米诺、异鲁米诺、芳族吖啶酯、咪唑、吖啶盐和草酸酯。

生物发光化合物包括荧光素、荧光素酶和水母发光蛋白。

20 作为组合物的实例，所述组合物可以是药物组合物，其包含本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分，与药剂学可接受载体配制在一起。药物组合物也可以包含前面所述的偶联物或双特异性分子。

本发明的药物组合物还可以以联合疗法施用，即联合其它药剂。

25 在用于本文时，“药剂学可接受载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、等等生理学相容的载体。优选的是，载体适于静脉内、肌肉内、皮下、胃肠外、脊髓或表皮施用(例如通过注射或输注)。根据施用路径，活性成分(抗体或其抗原结合部分、偶联物或双特异性分子)，可以包被在一种物质中，以保护活性成分不受酸和可以使该活性成分失活的其它天然条件的作用。

药物组合物在生产和贮存条件下通常必须是无菌的和稳定的。可以将药物组合物配制成溶液、微乳液、脂质体、或适于高药物浓度的其它有序结构。载体可以是包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、和液体聚乙二醇等等)及其合适混合物的溶剂或分散介质。

5 例如通过使用涂层诸如卵磷脂，在分散体的情况中通过维持期望颗粒大小，及通过使用表面活性剂，可以保持适当的流动性。在许多情况中，优选在组合物中包含等渗剂，例如糖类、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、或氯化钠。通过在组合物中包含延迟吸收的试剂，例如单硬脂酸盐和明胶，可以造成可注射组合物的延长吸收。

10 本发明提供了一种新型冠状病毒的检测产品，其含有前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分。

进一步，所述产品包括利用酶联免疫吸附法、免疫荧光检测法、放射免疫法、发光免疫测定法、胶体金免疫层析法、凝集法、免疫比浊法检测抗原抗体结合的产品。

15 本发明还提供了产生抗体的方法，所述方法包括在适合于产生抗体的条件下，在培养基中培养前面所述的宿主细胞。

本发明还提供了根据前面所述的方法产生的抗体。

20 本发明还提供了预防或治疗新型冠状病毒感染的方法，所述方法包括给予个体前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，或前面所述的双特异性分子，或前面所述的组合物。

所述给予个体的所述单克隆抗体或其抗原结合部分，或所述双特异性分子，或所述组合物用于被动免疫接种。

25 本发明还提供了预防或治疗新型冠状病毒感染的疾病的方法，所述方法包括给予个体前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，或前面所述的双特异性分子，或前面所述的组合物。

所述给予个体的所述单克隆抗体或其抗原结合部分，或所述双特异性分子，或所述组合物用于被动免疫接种。

本发明还提供了检测新型冠状病毒的方法，所述方法包括如下步骤：

(1) 提供怀疑存在新型冠状病毒的样品；

(2) 将样品与前面所述的单克隆抗体或抗原结合部分接触；

(3) 检测包含所述单克隆抗体或抗原结合部分与抗原的复合物的形成，存在复合物则指示样品中含有新型冠状病毒。

本发明还提供了诊断新型冠状病毒感染的方法，所述方法包括如下步骤：

5 (1) 提供来自怀疑感染新型冠状病毒的个体的样品；

(2) 将样品与前面所述的单克隆抗体或抗原结合部分接触；

(3) 检测包含所述单克隆抗体或抗原结合部分与抗原的复合物的形成，存在复合物则指示该个体感染了新型冠状病毒。

10 本发明还提供了前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分在制备新型冠状病毒检测产品中的应用。

本发明还提供了前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分在制备新型冠状病毒感染诊断产品中的应用。

本发明还提供了前面所述的组合物在制备新型冠状病毒的检测产品或诊断产品中的应用。

15 本发明还提供了前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分在制备预防或治疗新型冠状病毒感染的药物中的应用。

本发明还提供了前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分在制备预防或治疗新型冠状病毒感染导致的疾病的药物中的应用。

20 本发明还提供了前面所述的组合物在制备预防或治疗新型冠状病毒感染的药物中的应用。

本发明还提供了前面所述的组合物在制备预防或治疗新型冠状病毒感染导致的疾病的药物中的应用。

25 前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，以及前面所述的组合物的预防作用是通过它们可以在体内引发免疫反应从而产生针对新型冠状病毒抗体来实现的。

前面所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，以及前面所述的组合物的治疗作用可以通过单克隆抗体或其抗原结合部分的中和活性抑制新型冠状病毒来实现的。

附图说明

图1显示利用间接ELISA检测本发明的抗体与重组S-ECD特异性结合的结果图；

图2显示利用间接ELISA检测本发明的抗体与重组S-RBD特异性结合的结果图；

图3显示利用免疫沉淀检测本发明的抗体与S-RBD与S-ECD结合的蛋白电泳图；

- 5 图4显示利用SPR实验检测本发明的抗体与S-RBD与S-ECD亲和力的结果图，其中，
A: FC05; B: FC08; C: FC11;

图5显示利用体外中和实验检测本发明的抗体的中和活性的结果图。

具体实施方式

- 下面通过实施例进一步说明本发明。应该理解的是，本发明的实施例是用于
10 说明本发明而不是对本发明的限制。根据本发明的实质对本发明进行的简单改进
都属于本发明要求保护的范围。

实施例 1 抗体筛选

一、噬菌体文库构建

1、采集 COVID-19 患者恢复期外周血，从外周血中分离单个核细胞(PBMC)

- 15 本项目于2020年2月14日，经过知情同意，从江苏省某市采集5位 COVID-19
确诊患者出院前外周血各 20ml。5 位患者为同一传播链，其中一人为武汉归来人
员，经过在酒店浴室共浴感染另外 3 位患者，第 5 位患者与共浴的 3 位患者其中
之一为同事关系。5 人均非重症，经过治疗后分别与 2 月 15 日-22 日出院居家隔
离。使用 GE 的 Ficoll-Paque PLUS，经密度梯度离心法，分离 20ml 肝素抗凝血
20 中的单个核细胞 (PBMC)。

2、PBMC 中 RNA 的提取和 cDNA 的合成

使用 QIAGEN 的 RNeasy Mini Kit 提取 PBMC 细胞 RNA，然后使用罗氏公
司的第一链合成试剂盒 (Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit, Roche,
Cat No.: 04896866001) 将 RNA 反转录成 cDNA。

- 25 3、PCR 扩增 VK, VL 和 VH (EX Taq, Takara, Cat No.: DRR001A)

(1) 扩增 VK&VL 体系如表 1 所示。

表 1 扩增 VK&VL 体系

溶液或组分	体积(μL)
cDNA	1
EX Buffer (10x)	5
dNTPs (10 mM each)	4
P1(10 μM)	2
P2 (10 μM)	2
EX Taq 1U/ μl	0.3
dH ₂ O	35.7

(2) 扩增重链 Fd 段体系如表 2 所示。

表 2 扩增重链 Fd 段体系

溶液或组分	体积(μL)
cDNA	2
EX Buffer (10x)	10
dNTPs (10 mM each)	8
P1(10 μM)	2
P2 (10 μM)	2
EX Taq 1U/ μl	0.6
dH ₂ O	75.4

(3) 反应程序如表 3 所示。

5

表 3 反应程序

温度	时间	循环数
94°C	3min	
94°C	30s	35 个循环
52°C	1 min	
72°C	1 min	
72°C	10 min	

PCR 产物过 2%琼脂糖凝胶电泳，回收 750bp 左右的片段。

4、轻链克隆（将 VK 和 VL 克隆入 pComb3H 载体）

VK 和 VL 经 Xba I 和 Sac I 酶切后与同样经 Xba I 和 Sac I 酶切的 pComb3H 载体连接后，回收连接产物，然后电转 XL1-Blue 感受态细胞。

5 电击菌液涂 15cm 大平皿，次日刮菌，提质粒即为轻链库。此时重组质粒为 pComb3H-VK 和 pComb3H-VL。

5、重链克隆（将 VH 基因克隆入 pComb3H-VK 和 pComb3H-VL 轻链库中）

将轻链库 pComb3-L 和 Fd 片段分别经 XhoI 和 SpeI 双酶切，与同样经 XhoI 和 SpeI 双酶切的 pComb3H-VK 和 pComb3H-VL 连接，然后电转即得到抗体文库。

10 6、抗体库的包装

(1)从-80℃冰箱取出抗体库，冰上融化后取 1ml 加入 10ml A+(20μg/ml) 2YT 培养基中，37℃ 200rpm 摇 1 小时；

(2)加 100ml A+(100μg/ml), T+(20μg/ml) 2YT 培养基，200 rpm 摇 1 小时；

(3) 加 10^{12} pfu 的 VCSM13 辅助噬菌体，37℃静置 20min，200rpm 摇 2 小
15 时；

(4) 加终浓度 70μg/ml 卡那 30℃ 200rpm 摇过夜；

(5) 次日 6000rpm 离心 20min，倒出上清，加入 4% PEG8000 (4g) 和 3% NaCl(3g)，混匀，置于冰上 30min 以上；

(6) 分装于 50ml 离心管中 9000rpm 离心 25min，弃去上清，控干，沉淀用
20 1ml PBS 重悬即为包装文库。

二、噬菌体文库筛选

1、将重组 SARS-CoV-2 刺突蛋白胞外区(extra cellular domain of spike protein, S-ECD, 购自南京巴傲得生物科技有限公司, 货号 NCP0030P) 包被于免疫管中，按 50μg/管包被 3 管，于 4℃放置过夜，次日用 2%脱脂牛奶封闭免疫管 1h。

25 2、向免疫管中加 1.75ml 含 2%脱脂牛奶的 PBS 和 250μl 噬菌体文库，37℃ 摇 1h，再 37℃静置 1h。

- 3、倒去噬菌体文库，用 PBST 洗 20 次，每次摇 5min。
 - 4、用 1ml pH=2.2 的 Gly-HCl 洗脱免疫管，室温静置 5min，再 37℃ 摇 5min，然后吸至 1.5ml EP 管中，加入 57μl 2M Tris 中和至 pH=7。
 - 5、将洗脱液转移至一个新的 50ml 离心管中，立即加入 10ml OD=1 的新鲜 XL1-Blue，混匀后 37℃ 孵育 30min，加入 10ml 2YT(Amp 100μg/ml, Tet 20μg/ml)。
 - 6、取 10μl 菌液用来测洗脱库容量，剩下 20ml 培养基倒入 500ml 三角瓶，230rpm 摇 1h。
 - 7、加入 130ml 2YT(Amp 100ug/ml, Tet 20μg/ml)，230rpm 摇 1h。
 - 8、加入 MOI=2.0 的辅助噬菌体，37℃ 静置孵育 30min。
 - 10 9、3000g 10min 离心，重悬沉淀至 150ml 2YT(Amp 100μg/ml, Tet 20μg/ml) 中，37℃，230rpm 摇 2h。
 - 10、加入 110μl 70mg/ml 卡那霉素，30℃ 230rpm 过夜。次日再加 1/5 体积的 PEG-NaCl(40ml)，混匀后冰浴至少 1h，然后 10000g 4℃ 离心 20min，沉淀重悬于 2-3ml PBS 中，瞬时离心去除杂菌，过 0.45μm 滤器后用于下一轮筛选。
 - 15 11、重复上述筛选步骤 3 次，以达到对噬菌体文库富集筛选的目的。
 - 12、第三轮富集完以后，挑选 2*96 个克隆。经 IPTG 诱导后，次日进行 ELISA 检测。
- 三、ELISA 检测 2*96 个克隆的结合特异性
- 1、分别包被 2 块抗人 Fab 抗体 (1:3000)、2 块 S-ECD 蛋白 (2μg/ml)，于 4℃ 包被过夜。
 - 20 2、次日用 3% 脱脂牛奶封闭 1h，然后加入 50μl 诱导上清和 50μl 脱脂牛奶，37℃ 孵育 1h，PBST 洗涤。
 - 3、4 块板均加入 HRP 标记的抗人 Fab 抗体 (1:3000)，37℃ 孵育 1h，PBST 洗涤后，TMB 显色。
- 25 经筛选获得 159 株能与 S-ECD 蛋白结合的噬菌体抗体片段，抗体片段为人源的 Fab 段，包括轻链全长及重链的 Fd 段。将 159 个单菌落扩增后送测序，获得轻重链齐全的合格序列。

实施例 2 间接 ELISA 检测抗体与 S-RBD 及 S-ECD 的结合特异性

从筛选获得的 159 株抗体中选定 3 株人源抗体, 构建成 IgG 形式人源全分子抗体 (三株抗体分别命名为 FC05、FC08、FC11), 并在 293F 细胞中表达, 用
5 Protein A 纯化后备用。

FC05 抗体序列如下所示:

重链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.1 所示、重链可变区 CDR2 的序列如 SEQ ID NO.2 所示、重链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.3 所示; 轻链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.5 所示、轻链可变区的 CDR2 序列如 SEQ ID
10 NO.6 所示、轻链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.7 所示。重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.4 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.25 所示; 轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.8 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.26 所示。

FC08 抗体序列如下所示:

重链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.9 所示、重链可变区 CDR2 的序列
15 如 SEQ ID NO.10 所示、重链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.11 所示; 轻链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.13 所示、轻链可变区的 CDR2 序列如 SEQ ID NO.14 所示、轻链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.15 所示。重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.12 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.27 所示; 轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.16 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.28 所示。

20 FC11 抗体序列如下所示:

重链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.17 所示、重链可变区 CDR2 的序列如 SEQ ID NO.18 所示、重链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.19 所示; 轻链可变区的 CDR1 序列如 SEQ ID NO.21 所示、轻链可变区的 CDR2 序列如 SEQ ID NO.22 所示、轻链可变区的 CDR3 序列如 SEQ ID NO.23 所示。重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.20 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.29 所示; 轻链可变
25 区的氨基酸序列如 SEQ ID NO.24 所示, 核苷酸序列如 SEQ ID NO.30 所示。

将重组 SARS-CoV-2 刺突蛋白受体结合区 (Receptor binding domain of spike

protein, S-RBD, 购自南京巴傲得生物科技有限公司, 货号 NCP0029P) 及重组 S-ECD 用 PBS 按 1 μ g/ml 浓度包被 ELISA 板, 将所有抗体浓度稀释到 1mg/ml, 然后从 1:2500 开始倍比稀释 8 个稀释度, 使用病人血清作为阳性对照, 用健康成人血清作为阴性对照, 从 1:100 开始稀释 8 个梯度。标本稀释以后, 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min, 然后 PBST 洗 3 次, 加入 HRP 标记的抗人 Fc(1:5000), 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min 后 PBST 洗 3 次, 用 TMB 显色, 终止后读取 OD450 吸光度值。在同等条件下重复 3 批, 每孔吸光度值取平均数后用 GraphPad 软件分析。

与重组 S-ECD 的间接 ELISA 结果如图 1 所示, FC05、FC08 和 FC11 均能与重组 S-ECD 特异性结合。以 1mg/mL 为起始浓度, 将 cutoff 值定义为 $\bar{X}+2SD$, 抗体滴度可分别达到 1:320000, 1:320000 和 1:40000, 说明该 3 株抗体均能与 S-ECD 特异性结合。

与重组 S-RBD 的间接 ELISA 结果如图 2 所示, 只有 FC08 和 FC11 与 S-RBD 结合活性比较高, 其中 FC08 抗体与 S-RBD 明显强于 FC11, FC05 与 S-RBD 蛋白不结合。

此结果说明, FC05, FC08 和 FC11 均能识别 S-ECD, 其中 FC08 和 FC11 识别的 S-ECD 中的 RBD 区, 而 FC05 则结合在 RBD 以外的区域。

实施例 3 抗体与 S-RBD 及 S-ECD 的免疫沉淀实验

前期用 Western Blot 检测 3 株抗体与 S-RBD 及 S-ECD 的结合特异性, 发现该 3 株抗体均不与经 SDS-PAGE 后的 S-RBD 及 S-ECD 反应, 预示三株抗体均为构象表位。因此, 采用免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP) 方法检测抗体与目的蛋白的结合特异性, 方法如下:

将 FC05, FC08 和 FC11 三株抗体与 20 μ L Protein A beads 室温结合 2min, 然后用 20mM 磷酸钠洗去未结合的抗体。再将 20 μ g 的靶抗原 (S-RBD 和 S-ECD) 加入抗体与 Protein A 凝胶混合物中, 室温结合 2min。用 20mM 磷酸钠洗去未结合抗原, 用 30 μ l Gly-HCl 缓冲液 (pH 3.0) 洗脱抗原抗体复合物, 加 1 μ L 1M Tris (pH 9.0) 中和体系至中性, 洗脱物加入 SDS-PAGE Loading Buffer 煮沸 10min 后进行 SDS-PAGE 分析。

IP 结果如图 3 所示, FC05 能结合 ECD, 在 Line 1 中可见约 140kDa 大小的 ECD 蛋白条带, 以及抗体的重链 (58kDa) 及轻链 (28kDa), 而在 Line 2 中只有抗体的两条带, 没有 RBD 蛋白条带。FC08 和 FC11 根据前期 ELISA 结果, 认为即能和 RBD 结合又能和 ECD 结合, Line 3, 5 显示此两株抗体均能结合 ECD, Line 4, 6 为结合 RBD 泳道, 由于 RBD 分子量大小与抗体轻链大小相似均在 28kDa 左右, 在 Lin4, 6 道可见抗体轻链与 RBD 重叠后的弥散条带。注: 图中 M: 蛋白 marker; 1, 3, 5 为 3 株抗体与 ECD 蛋白结合的泳道; 2, 4, 6 为 3 株抗体与 RBD 蛋白结合的泳道。

10 实施例 4 SPR 测定抗体与 S-ECD 的亲合力

亲和力测定由 Biacore 8K 工作站完成, 首先使用 NHS/EDC 方法将标有链霉素的重组 S-ECD 蛋白固定于 CM5 芯片上并使响应值 (Response units, RUs) 达到 600 左右。系列稀释的抗体由 125nM~7.8nM 依次进样; 带有 HIS tag 的 ACE2 蛋白进样浓度依次为 500nM~31.25nM。在竞争实验中, 首先将第一个样品以 20 μ l/min 流经芯片 120 s, 然后将第二个样品以同样的速度和时间注入芯片中, 收集响应信号, 并用 BIAevaluation (版本 4.1) 软件全局拟合曲线来获得结合亲和力。

SPR 结果如图 4 所示, SPR 结果表明, FC05 和 FC08 和 FC11 抗体均能高效结合 S-ECD 蛋白, 其亲和力分别为 0.1 nM, 0.8 nM 和 0.5nM。FC08 和 FC11 能够高亲和力结合病毒的 RBD 区, 可以通过影响病毒与受体的结合而发挥中和作用。FC05 不与 RBD 结合, 但是与 ECD 的亲和力可以达到 0.1nM。

实施例 5 抗体中和活性鉴定

1、病毒来源

25 病毒来源于 SARS-CoV-2 江苏分离株, GISAID 号: EPI_ISL_411953, 毒株名: BetaCoV/JS03/human/2020

2、稀释抗体

5 份血清从 1:10 开始稀释(100 μ l 血清+900 μ lPBS);

3 株抗体从 1:80 开始稀释(15 μ l 抗体+1185 μ lPBS)

3、准备细胞

5 将 Vero E6 细胞以 1×10^4 /孔传至 96 孔板中, 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 放置过夜, 次日细胞长至单层后即可使用。

4、准备病毒和抗体混合物

1)取一 96 孔板, 在 A1-H1 孔加 100 μ l 抗体(或血清), 其他孔均加 50 μ l PBS, 然后用排枪从左至右倍比稀释, 每个抗体做 4 个复孔。

10 2) 将病毒稀释至 100TCID₅₀/50 μ l 的浓度, 向所有孔中加入 50 μ l 病毒液 (即加入 100TCID₅₀ 的病毒), 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。

3) 将 96 孔板中 Vero E6 细胞换液, 每孔加入病毒抗体复合物 100 μ l, 放 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱中, 持续观察细胞病变直至 5 天 (120h) 后。

4) 每次需做 100TCID₅₀, 10 TCID₅₀, 1TCID₅₀, 0.1TCID₅₀ 病毒对照孔, 同时需做一个阳性血清对照, 一次正常细胞对照。

15 5、结果

表 4 显示本发明的抗体或患者血清的中和滴度信息。

表 4 抗体中和滴度信息

序号	克隆号	浓度	混合比例	结合位点	中和滴度
1	FC08	1.5mg/mL		RBD	640-1280
2	FC11	1.5mg/mL		RBD	320
3	FC05	1.5mg/mL		ECD	2560
4	FC05+ FC08	1.5mg/mL	1+1		40960
5	FC05+ FC11	1.5mg/mL	1+1		20480
6	FC05+ FC08+ FC11	1.5mg/mL	1+1/2+1/2		20480-40960
7	FC08+ FC11	1.5mg/mL	1+1		1280
8	患者 1				320
9	患者 2				160
10	患者 3				320-
11	患者 4				20
12	患者 5				320

统计结果见表5和图5。

表5 抗体的IC50值

抗体	IC50 (ng/ml)
FC08	325
FC11	818
FC05	142
FC05+ FC08	4
FC05+ FC11	19
FC08+ FC11	102
FC05+ FC08+ FC11	9

三株单克隆抗体的IC50值在142-818ng/mL之间，其中FC05中和活性最高，可达142ng/mL。将三种抗体互相组合形成鸡尾酒制剂后，表现出了更强的协同效应。其中两株RBD区的抗体（FC08和FC11）混合后IC50为102ng/mL，比单独的单抗平均值高5.6倍，具有一定的协同效应。如将S-ECD区的FC05和S-RBD区的两株抗体混合后，中和效果出现了协同效应。FC05，FC11组合的IC50值为19 ng/mL，FC05与FC08组合的IC50值为4 ng/mL，三株抗体混合后的IC50值为9 ng/mL。从结果中可以发现，非RBD区的抗体FC05的中和活性高于2株RBD区抗体，RBD区中和抗体与另外一株非RBD区抗体组合成鸡尾酒以后，混合物的中和效果可以提高约100倍。此揭示SARS-CoV-2病毒的中和位点除了RBD区以外，还有其他更加重要的中和位点。

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

权 利 要 求 书

1、针对新型冠状病毒的单克隆抗体或其抗原结合部分，其包含重链可变区中的一个或多个 CDR，和/或轻链可变区的一个或多个 CDR；

5 其中，重链可变区的 CDR 包含选自 SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19 中的至少一个所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；

轻链可变区的 CDR 包含选自 SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.22、
10 SEQ ID NO.23 中的至少一个所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。

2、根据权利要求 1 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.1 所示的 CDR1、SEQ ID NO.2 所示的 CDR2、SEQ ID NO.3 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.5 所示的 CDR1、SEQ ID NO.6 所示的 CDR2、SEQ ID NO.7 所示的 CDR3。

15 3、根据权利要求 2 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区包含与 SEQ ID NO.4 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.8 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列。

4、根据权利要求 1 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.9 所示的 CDR1、SEQ ID NO.10 所示的 CDR2、
20 SEQ ID NO.11 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.13 所示的 CDR1、SEQ ID NO.14 所示的 CDR2、SEQ ID NO.15 所示的 CDR3。

5、根据权利要求 4 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区包含与 SEQ ID NO.12 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.16 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列。

25 6、根据权利要求 1 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.17 所示的 CDR1、SEQ ID NO.18 所示的 CDR2、SEQ ID NO.19 所示的 CDR3；轻链可变区的 CDR 包含 SEQ ID NO.21 所示的 CDR1、SEQ ID NO.22 所示的 CDR2、SEQ ID NO.23 所示的 CDR3。

7、根据权利要求 6 所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，其特征在于，重链可变区包含与 SEQ ID NO.20 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列；轻链可变区包含与 SEQ ID NO.24 所示的氨基酸序列至少 80%同源的氨基酸序列。

8、双特异性分子，其包含与第二功能性模块相连的权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，该第二功能性模块具有与所述单克隆抗体或其抗原结合部分不同的结合特异性。

9、分离的核酸分子，其编码权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分。

10、根据权利要求 9 所述的核酸分子，其包含 SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29、或 SEQ ID NO.30 所示的序列。

11、包含权利要求 9 或 10 所述的核酸分子的表达载体。

12、包含权利要求 11 所述的表达载体的宿主细胞。

13、包含权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，或权利要求 8 所述双特异性分子的组合物。

14、根据权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物是偶联物；所述偶联物是将权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分与其他物质偶联而成，所述其他物质包括治疗剂，或诊断剂。

15、根据权利要求 14 所述的组合物，其特征在于，所述治疗剂包括细胞毒素、药物、放射性毒素。

16、根据权利要求 14 所述的组合物，其特征在于，所述诊断剂包括放射性核素、造影剂、荧光剂、化学发光剂、生物发光剂、顺磁性离子、酶、光敏诊断剂。

17、根据权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物是药物组合物，所述药物组合物包括药剂学可接受载体。

18、一种新型冠状病毒的检测产品，其含有权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分。

19、根据权利要求 18 所述的组合物，其特征在于，所述产品包括利用酶联免疫吸附法、免疫荧光检测法、放射免疫法、发光免疫测定法、胶体金免疫层析法、凝集法、免疫比浊法检测抗原抗体结合的产品。

20、产生抗体的方法，其特征在于，所述方法包括在适合于产生抗体的条件下，在培养基中培养权利要求12所述的宿主细胞。

21、通过权利要求20所述的方法产生的抗体。

22、预防或治疗新型冠状病毒感染的方法，其特征在于，所述方法包括给予
5 个体权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，或权利要求8所述的双特异性分子，或权利要求13-17任一项所述的组合物。

23、权利要求27所述的方法，其特征在于，所述给予个体的所述单克隆抗体或其抗原结合部分，或所述双特异性分子，或所述组合物用于被动免疫接种。

24、预防或治疗新型冠状病毒感染的疾病的方法，其特征在于，所述方法包
10 括给予个体权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分，或权利要求8所述的双特异性分子，或权利要求13-17任一项所述的组合物。

25、权利要求24所述的方法，其特征在于，所述给予个体的所述单克隆抗体或其抗原结合部分，或所述双特异性分子，或所述组合物用于被动免疫接种。

26、检测新型冠状病毒的方法，其特征在于，所述方法包括如下步骤：

- 15
- (1) 提供怀疑存在新型冠状病毒的样品；
 - (2) 将样品与权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或抗原结合部分接触；
 - (3) 检测包含所述单克隆抗体或抗原结合部分与抗原的复合物的形成，存在复合物则指示样品中含有新型冠状病毒。

27、诊断新型冠状病毒感染的方法，其特征在于，所述方法包括如下步骤：

- 20
- (1) 提供来自怀疑感染新型冠状病毒的个体的样品；
 - (2) 将样品与权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或抗原结合部分接触；
 - (3) 检测包含所述单克隆抗体或抗原结合部分与抗原的复合物的形成，存在复合物则指示该个体感染了新型冠状病毒。

28、一种应用，其包含以下任一项所述的应用：

- 25
- (1) 权利要求1-7中任一项所述的单克隆抗体或抗原结合部分在制备新型冠状病毒检测产品或诊断产品中的应用；

(2) 权权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或抗原结合部分在制备预防或治疗新型冠状病毒感染的药物中的应用；

(3) 权利要求 1-7 中任一项所述的单克隆抗体或抗原结合部分在制备预防或治疗新型冠状病毒感染导致的疾病的药物中的应用；

5 (4) 权利要求 13-16 中任一项所述的组合物在制备新型冠状病毒检测产品或诊断产品中的应用；

(5) 权利要求 13-17 中任一项所述的组合物在制备预防或治疗新型冠状病毒感染的药物中的应用；

10 (6) 权利要求 13-17 中任一项所述的组合物在制备预防或治疗新型冠状病毒感染导致的疾病的药物中的应用。

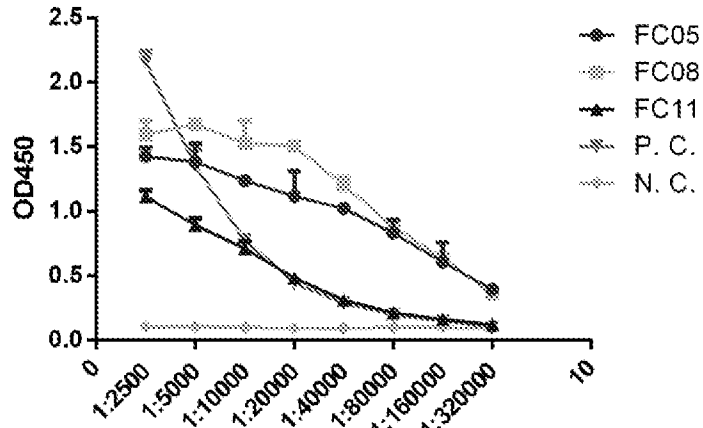


图 1

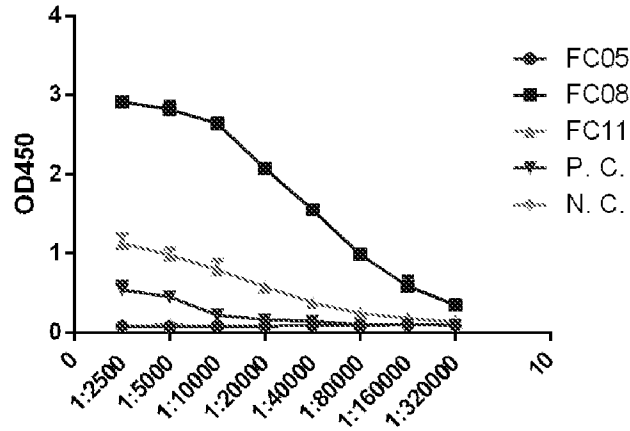


图 2

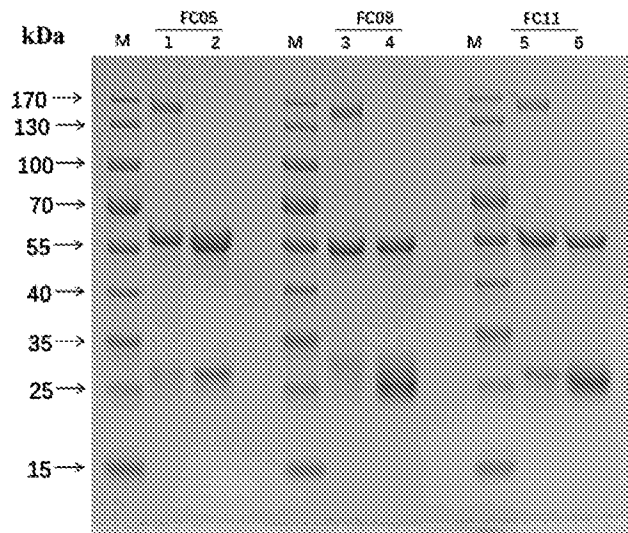


图 3

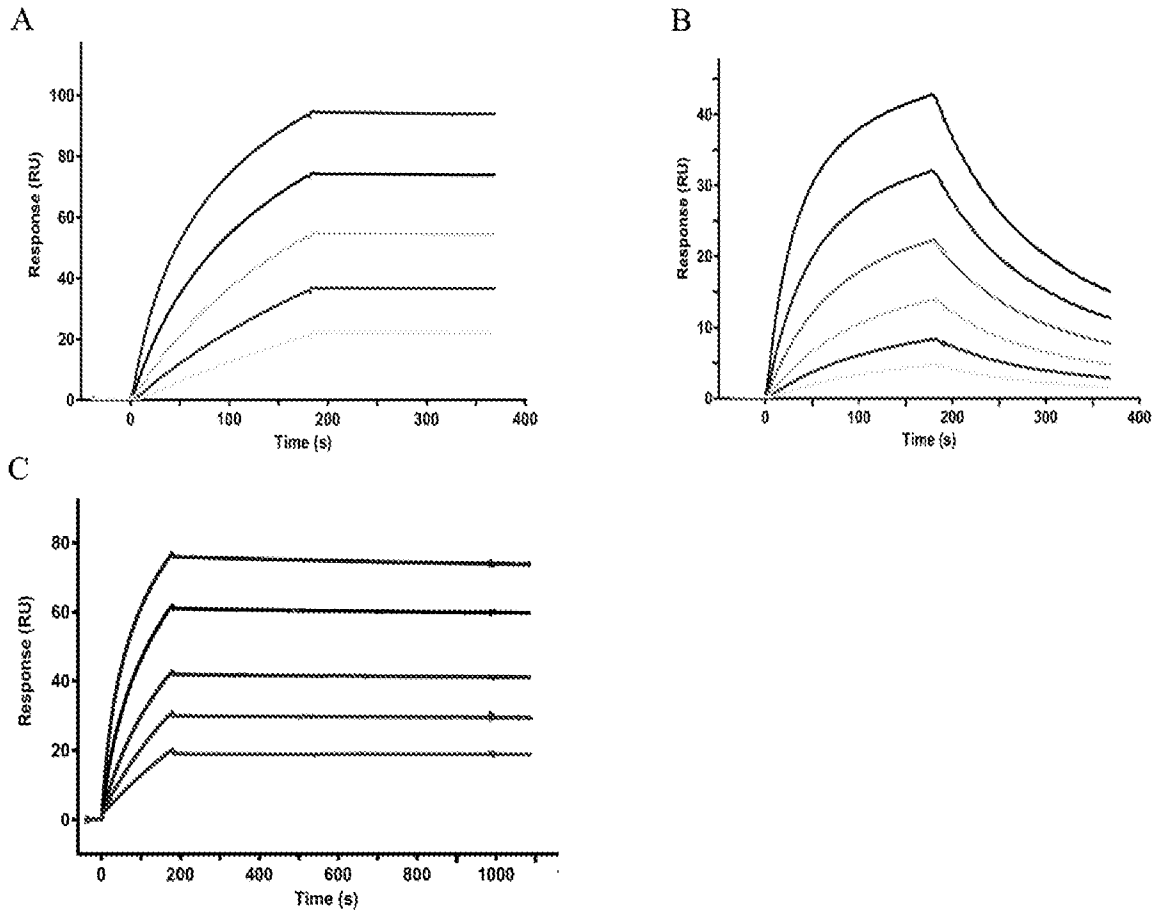


图 4

5

10

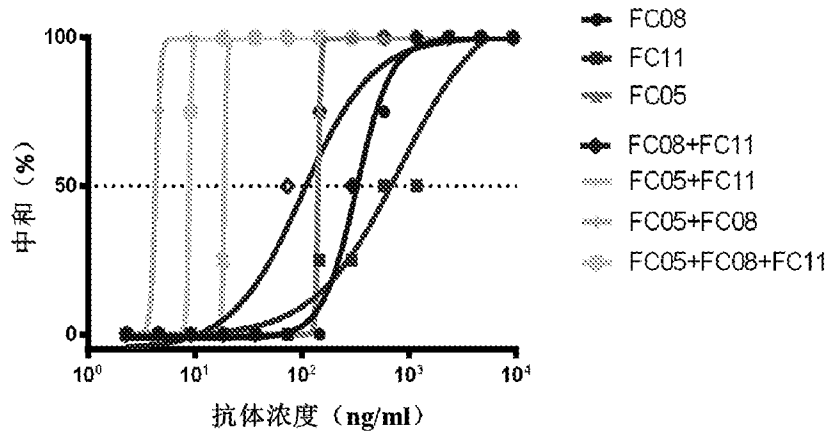


图 5

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/092957

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/10(2006.01)i; C07K 14/165(2006.01)i; C12N 15/50(2006.01)i; C12N 15/70(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNABS, SIPOABS, DWPI, NCBI, CNKI, baidu, patentics, 江苏省疾病预防控制中心, 江苏省公共卫生研究院, 朱凤才, 张黎, 潘红星, 郭喜玲, 新型冠状病毒, 单克隆抗体, 重链可变区, 轻链可变区, 双特异性分子, 第二功能性模块, 结合特异性, 表达载体, 宿主细胞, 偶联物, 治疗剂, 诊断剂, 细胞毒素, 放射性毒素, 放射性核素, 造影剂, 荧光剂, 发光剂, 顺磁性离子, 酶, 光敏诊断剂, 酶联免疫吸附, 免疫荧光检测, 放射免疫, 发光免疫, 胶体金免疫层析, 凝集, 免疫比浊法, SEQ ID NO.1-30, CDR, SARS-CoV, CoV, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, COVID, COVID-19, anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibody, heavy chain variable region, light chain variable region.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WANG, C. Y. et al. "A Human Monoclonal Antibody Blocking SARS-CoV-2 Infection." <i>Nature Communications</i> , Vol. 11, 04 May 2020 (2020-05-04), article no. 2251, pages 1-6	1, 8, 9, 11-28
Y	CN 110423278 A (SHANGHAI BOJIN BIO-TECH CO., LTD.) 08 November 2019 (2019-11-08) entire document	1, 8, 9, 11-28
Y	CN 1081716 A (MERCK & CO INC.) 09 February 1994 (1994-02-09) entire document	1, 8, 9, 11-28
A	AHSAN, W. et al. "Treatment of SARS-CoV-2: How Far Have We Reached." <i>Drug Discoveries & Therapeutics.</i> , Vol. 14, No. 2, 25 April 2020 (2020-04-25), pp. 67-72	1-28
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
29 October 2020		27 January 2021
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHANMUGARAJ, B. et al. "Perspectives on Monoclonal Antibody Therapy as Potential Therapeutic Intervention for Coronavirus Disease-19 (COVID-19)." <i>Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology</i> , Vol. 38, No. 1, 31 March 2020 (2020-03-31), pp. 10-18	1-28
A	BARLOW, A. et al. "Review of Emerging Pharmacotherapy for the Treatment of Coronavirus Disease 2019." <i>Pharmacotherapy</i> , Vol. 40, No. 5, 06 May 2020 (2020-05-06), pp. 416-437	1-28
A	MARTINEZ, M. A. "Compounds with Therapeutic Potential against Novel Respiratory 2019 Coronavirus." <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i> , Vol. 64, No. 5, 21 April 2020 (2020-04-21), article no. e00399-20, pages 1-7	1-28

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

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

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

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

1. Claims Nos.: **22-25**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claims 22-25 relate to a method of treatment of the human or animal body by therapy, and a search and comment is made for the corresponding pharmaceutical use.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/092957

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110423278	A	08 November 2019	CN	110423278	B	17 July 2020
CN	1081716	A	09 February 1994	MX	9301858	A	31 March 1994
				JP	H06217791	A	09 August 1994
				CZ	9402396	A3	12 July 1995
				NO	943653	L	30 November 1994
				BG	99074	A	30 November 1995
				ZA	9302308	A	30 September 1994
				ZA	932308	B	30 September 1994
				NO	943653	A	30 November 1994
				FI	944561	A0	30 September 1994
				AU	658987	B2	04 May 1995
				NO	943653	D0	30 September 1994
				SK	116294	A3	06 November 1996
				KR	957000761	A	20 February 1995
				CA	2093099	A1	02 October 1993
				HU	9402824	D0	28 November 1994
				RU	94045907	A	10 November 1996
				NZ	251582	A	27 July 1997
				EP	0577243	A3	02 November 1994
				YU	22693	A	08 January 1997
				KR	950700761	A	20 February 1995
				IL	105145	D0	08 July 1993
				WO	9319785	A1	14 October 1993
				EP	0577243	A2	05 January 1994
				HU	T70461	A	30 October 1995
				CZ	239694	A3	12 July 1995
				AU	3563093	A	07 October 1993
				AU	3928593	A	08 November 1993
				FI	944561	A	30 September 1994

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/10(2006.01)i; C07K 14/165(2006.01)i; C12N 15/50(2006.01)i; C12N 15/70(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K C12N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, SIPOABS, DWPI, NCBI, CNKI, baidu, patentics, 江苏省疾病预防控制中心, 江苏省公共卫生研究院, 朱凤才, 张黎, 潘红星, 郭喜玲, 新型冠状病毒, 单克隆抗体, 重链可变区, 轻链可变区, 双特异性分子, 第二功能性模块, 结合特异性, 表达载体, 宿主细胞, 偶联物, 治疗剂, 诊断剂, 细胞毒素, 放射性毒素, 放射性核素, 造影剂, 荧光剂, 发光剂, 顺磁性离子, 酶, 光敏诊断剂, 酶联免疫吸附, 免疫荧光检测, 放射免疫, 发光免疫, 胶体金免疫层析, 凝集, 免疫比浊法, SEQ ID NO.1-30, CDR, SARS-CoV, CoV, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, COVID, COVID-19, anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibody, heavy chain variable region, light chain variable region.</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>WANG, C.Y.等. "A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection." nature communications., 第11卷, 2020年 5月 4日 (2020 - 05 - 04), 第2251篇, 第1-6页</td> <td>1、8-9、11-28</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 110423278 A (上海博懂生物科技有限公司) 2019年 11月 8日 (2019 - 11 - 08) 全文</td> <td>1、8-9、11-28</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 1081716 A (麦克公司) 1994年 2月 9日 (1994 - 02 - 09) 全文</td> <td>1、8-9、11-28</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>AHSAN, W.等. "Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached." Drug Discoveries & Therapeutics., 第14卷, 第2期, 2020年 4月 25日 (2020 - 04 - 25), 第67-72页</td> <td>1-28</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	WANG, C.Y.等. "A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection." nature communications., 第11卷, 2020年 5月 4日 (2020 - 05 - 04), 第2251篇, 第1-6页	1、8-9、11-28	Y	CN 110423278 A (上海博懂生物科技有限公司) 2019年 11月 8日 (2019 - 11 - 08) 全文	1、8-9、11-28	Y	CN 1081716 A (麦克公司) 1994年 2月 9日 (1994 - 02 - 09) 全文	1、8-9、11-28	A	AHSAN, W.等. "Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached." Drug Discoveries & Therapeutics., 第14卷, 第2期, 2020年 4月 25日 (2020 - 04 - 25), 第67-72页	1-28
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
Y	WANG, C.Y.等. "A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection." nature communications., 第11卷, 2020年 5月 4日 (2020 - 05 - 04), 第2251篇, 第1-6页	1、8-9、11-28															
Y	CN 110423278 A (上海博懂生物科技有限公司) 2019年 11月 8日 (2019 - 11 - 08) 全文	1、8-9、11-28															
Y	CN 1081716 A (麦克公司) 1994年 2月 9日 (1994 - 02 - 09) 全文	1、8-9、11-28															
A	AHSAN, W.等. "Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached." Drug Discoveries & Therapeutics., 第14卷, 第2期, 2020年 4月 25日 (2020 - 04 - 25), 第67-72页	1-28															
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>																	
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 10月 29日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2021年 1月 27日</p>															
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>朱宁</p> <p>电话号码 86-(10)-53961936</p>															

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	SHANMUGARAJ, B. 等. "Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19)." Asian Pac J Allergy Immunol., 第38卷, 第1期, 2020年 3月 31日 (2020 - 03 - 31), 第10-18页	1-28
A	BARLOW, A. 等. "Review of Emerging Pharmacotherapy for the Treatment of Coronavirus Disease 2019." Pharmacotherapy., 第40卷, 第5期, 2020年 5月 6日 (2020 - 05 - 06), 第416-437页	1-28
A	MARTINEZ, M. A. "Compounds with Therapeutic Potential against Novel Respiratory 2019 Coronavirus." Antimicrob Agents Chemother., 第64卷, 第5期, 2020年 4月 21日 (2020 - 04 - 21), 第e00399-20篇, 第1-7页	1-28

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

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

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 22-25
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求22-25属于PCT实施细则39.1(iv)所述的预防或治疗人体或动物体的疗法，针对相应的制药用途进行检索和评述。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/092957

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110423278	A	2019年 11月 8日	CN	110423278	B	2020年 7月 17日
CN	1081716	A	1994年 2月 9日	MX	9301858	A	1994年 3月 31日
				JP	H06217791	A	1994年 8月 9日
				CZ	9402396	A3	1995年 7月 12日
				NO	943653	L	1994年 11月 30日
				BG	99074	A	1995年 11月 30日
				ZA	9302308	A	1994年 9月 30日
				ZA	932308	B	1994年 9月 30日
				NO	943653	A	1994年 11月 30日
				FI	944561	A0	1994年 9月 30日
				AU	658987	B2	1995年 5月 4日
				NO	943653	D0	1994年 9月 30日
				SK	116294	A3	1996年 11月 6日
				KR	957000761	A	1995年 2月 20日
				CA	2093099	A1	1993年 10月 2日
				HU	9402824	D0	1994年 11月 28日
				RU	94045907	A	1996年 11月 10日
				NZ	251582	A	1997年 7月 27日
				EP	0577243	A3	1994年 11月 2日
				YU	22693	A	1997年 1月 8日
				KR	950700761	A	1995年 2月 20日
				IL	105145	D0	1993年 7月 8日
				WO	9319785	A1	1993年 10月 14日
				EP	0577243	A2	1994年 1月 5日
				HU	T70461	A	1995年 10月 30日
				CZ	239694	A3	1995年 7月 12日
				AU	3563093	A	1993年 10月 7日
				AU	3928593	A	1993年 11月 8日
				FI	944561	A	1994年 9月 30日