

·综述·

噬菌体展示技术在新型冠状病毒肺炎诊治中的应用

陶雪蓉¹ 曹东慧¹ 黄园园² 姜晶¹¹ 吉林大学第一医院临床研究部, 长春 130021; ² 吉林大学第一医院儿科门诊部, 长春 130021

通信作者: 姜晶, Email: jiangjing19702000@jlu.edu.cn

【摘要】 新型冠状病毒肺炎在全球范围内广泛传播, 对公众健康构成严重威胁。快速有效的检测手段对疫情监测与控制具有重要的意义。噬菌体抗体库是基于噬菌体展示技术发展起来的抗体文库, 包含数以亿计的抗体变体, 能够筛选出高特异性、高亲和力的抗体, 已在多个领域中得到广泛应用, 对于开发抗原检测试剂以及抗体治疗药物具有重要意义。本文对噬菌体展示技术及其在新型冠状病毒(SARS-CoV-2)检测与新型冠状病毒肺炎防治中的研究进展进行综述, 为开发新型试剂、优化检测方法提供参考。

【关键词】 SARS-CoV-2; 噬菌体展示技术; 抗体; 检测; 疫苗

基金项目: 吉林省科技发展计划重点研发项目 (20200901026SF); 吉林省教育厅重点项目 (JJKH20211153KJ)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20210520-00106

Application of phage display technology in detection and treatment of COVID-19

Tao Xuerong¹, Cao Donghui¹, Huang Yuanyuan², Jiang Jing¹¹Division of Clinical Research, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China; ²Pediatric Department, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021

Corresponding author: Jiang Jing, Email: jiangjing19702000@jlu.edu.cn

【Abstract】 COVID-19 has spread to the whole world and been a serious threat to public health. It is significant for epidemic surveillance and control by using rapid and effective detection methods. Phage antibody library based on phage display technology contains billions of antibody variants. Antibodies with high specificity and high affinity can be screened from the phage antibody library and have been widely applied in many fields. It is significant to develop antigen detection reagents and antibody therapeutic drugs. The phage display technology and its research progress in detection of SARS-CoV-2 and prevention and treatment of COVID-19 are reviewed in this article, so as to provide references for developing new reagents and optimizing detection methods.

【Key words】 SARS-CoV-2; Phage display technology; Antibody; Detection; Vaccine

Fund program: Key Research Program of Science and Technology Development Plan of Jilin Province (20200901026SF); Key Program of the Education Department of Jilin Province (JJKH20211153KJ)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20210520-00106

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)具有高度传染性, 其引起的新型冠状病毒肺炎(以下简称新冠肺炎)已在全球范围内传播^[1]。目前新冠肺炎的感染和死亡人数仍在持续增加^[2], 因此采取快速准确的检测手段, 及时采取隔离措施, 早诊断、早治疗, 对于该病的管理及控制具有重要意义^[3-4]。噬菌体展示技术作为抗体筛选工具具有独特的优点, 已在多个领域中广泛应用。本文将对噬菌体展示技术在 SARS-CoV-2 检测及新冠肺炎防治中的应用研究进展进行重点介绍, 为开发

新型检测与治疗试剂、优化方法等方面提供研究思路。

一、SARS-CoV-2 常用检测方法

实时荧光定量 PCR 是目前使用最普遍的 SARS-CoV-2 检测方法, 但其操作较繁琐, 需要特定仪器设备且耗时较长, 对样本的采集、保存检测条件等要求较高^[4], 另外对病毒载量低的患者, 检测结果存在假阴性的问题, 因此还需开发灵敏度更高的检测方法。免疫学检测对样本制备要求较低, 检测时间短, 其中胶体金免疫层析法在 15 min 左右即可肉眼观察

到显色结果,无需特定仪器,操作简便^[5],但抗体产生较晚,检测存在窗口期易造成假阴性。

抗原检测与核酸检测一样可用于早期病毒感染检测。侧向流动技术是目前建立 SARS-CoV-2 快速抗原检测的常用方法,无需特定仪器且阳性结果最快在 5 min 内就会出现^[6],但不同的检测研究数据显示抗原检测产品灵敏度变化较大^[7],因此抗原检测需制备更高质量的抗体,提高检测的准确性。

二、噬菌体展示技术

噬菌体展示技术将编码外源多肽或蛋白的基因序列插入到噬菌体外壳蛋白基因中,使其以融合蛋白的形式展示在噬菌体外壳蛋白表面,并且可保持良好的生物活性及原有的生物功能,以利于靶分子的识别和结合,这项技术已被广泛应用到免疫学、肿瘤学和药理学等多个领域中,在病原检测、疾病治疗、疫苗或药物设计等方面具有重要价值^[8-9]。

1. 噬菌体展示系统

目前,已开发的噬菌体展示系统中单链丝状噬菌体展示系统(PⅢ和PⅧ蛋白)较为常用。PⅢ展示系统对插入的片段大小无严格限制,但拷贝数少,每个噬菌体表面与PⅢ融合展示蛋白数限于5个,因此常用于筛选高亲和力配体或构建文库表达抗体等。PⅧ展示系统拷贝数高,可以与PⅧ融合展示蛋白数较多,因此可诱导生物体产生较强的免疫学应答,用于免疫学研究或研制疫苗等^[10]。

2. 噬菌体展示文库

噬菌体展示文库中可包含数以亿计的展示外源多肽或蛋白的噬菌体。常用的噬菌体文库包括随机肽库和抗体库。噬菌体抗体库有免疫或非免疫抗体库^[11],并且可采用的抗体片段形式较多,包括单链可变区片段 scFv,抗原结合 Fab 段,双价抗体片段或重链抗体片段等^[12],可来自人类或羊驼和鸡等动物^[13]。噬菌体抗体库中包含数以亿计的抗体变体适合于高通量测定,并且在筛选过程中,通过几轮的结合、洗脱与扩增,使与靶分子高度特异性结合的噬菌体高度富集,得到高亲和力的抗体,用于病毒检测^[14-15]。早在 2005 年,Liu 等^[16]就利用人单链抗体噬菌体库筛选鉴定出可高特异性结合 SARS 病毒的新型 scFv,为其检测试剂、疫苗和药物的开发提供了思路。

三、噬菌体展示技术在 SARS-CoV-2 检测中的应用

制备与 SARS-CoV-2 特异性结合的抗体,是开发抗原检测产品的关键。噬菌体展示技术作为抗体筛选的强大工具,具有通量高、操作简便等优点,为抗体试剂的开发提供技术支持。最初,Parry 等^[17]利用人源半合成噬菌体库(Tomlinson I)靶向 SARS-CoV-2 的受体结合域(RBD)筛选抗体,鉴定出高亲和力的 scFv-Ⅱ 62,将其进一步设计成 scFv-Fc 和 IgG1 形式,三种形式均显示出对 RBD 的高结合力,这些抗体为开

发基于抗体的检测试剂奠定基础,但目前研究多以更为保守的 N 蛋白为靶标对噬菌体库进行筛选^[18]。

噬菌体展示技术与传统抗体制备技术相比,能在较短时间内发现更多结合不同表位的抗体。为了特异性检测抗原蛋白,有研究通过噬菌体展示文库筛选结合不同表位的配对抗体来建立更高效特异的抗原检测方法,即检测所形成的捕获抗体-抗原-检测抗体夹心复合物。Zhang 等^[19]的研究基于 5 例 SARS-CoV-2 感染者的外周血构建了噬菌体抗体库,以 N 蛋白为靶标,筛选出 16 种抗体的亲和力在 16 nmol/L 至 0.069 nmol/L 范围内,具有较高亲和力,其中 JS08 抗体具有独特的结合位点,有助于了解靶向抗原表位,通过夹心 ELISA 实验发现 JS08 与 JS16 抗体配对良好,可作为一对抗体对来检测 SARS-CoV-2,检测限在 0.78 ng/mL 以下。Kim 等^[20]认为,在抗体对的开发中,高亲和力的抗体用作捕获抗体可提高检测灵敏度。Anderson 等^[21]用重组 N 蛋白对美洲驼进行免疫来制备噬菌体展示文库,将靶向 N 蛋白筛选得到的亲和力最高的 E2 重链抗体作为捕获抗体,并与一同筛选得到的 C2 抗体作为检测抗体构建成异二价体,与磁性微球结合,并放大检测信号,其检测限可达到 50 pg/mL。以上研究对于特异性检测病毒抗原具有重要的价值。

SARS-CoV-2 检测技术中关注简化操作步骤、缩短检测时间、减少检测成本与医疗资源的占用等问题。采用单 B 细胞分选技术分离制备抗体,或使用杂交瘤技术制备单克隆抗体等过程相对繁琐并且对技术设备要求较高^[19]。噬菌体展示技术制备抗体过程相对简单,成本较低,可大规模开发利用。将噬菌体展示技术获得的抗体与侧向流动免疫层析(LFIA)技术结合,可为开发 SARS-CoV-2 快速抗原检测试剂卡或为开发即时检测产品提供技术支持。Kim 等^[20]使用鸡源天然噬菌体 scFv 库靶向 N 蛋白进行筛选,得到结合力最佳的抗体对 12H8-12H1,其基于 LFIA 的病毒检测限为 2 ng/反应和 2.5×10^4 pfu/反应,进一步利用 12H8-12H1 开发基于 LFIA 的生物传感器,20 min 内肉眼可看到结果。此外采用手持式 LFIA 读取器可实现定量和更准确的分析,对于即时检测、床旁检测产品的开发以及患者体内病毒的监测具有重要意义。

四、噬菌体展示技术在新冠肺炎治疗和免疫预防中的应用

SARS-CoV-2 通过 S 蛋白的 RBD 与宿主细胞表面的血管紧张素转换酶 2(ACE2)受体结合而进入细胞,因此研发比 ACE2 与 RBD 结合更紧密的中和抗体,可以阻止病毒进入细胞,达到预防或治疗的目的^[22-23]。噬菌体展示技术可在中和抗体的制备、纳米抗体药物和疫苗的研发方面发挥一定作用。

1. 中和抗体的制备与优化

噬菌体展示技术可作为筛选中和抗体的有效工具。Kim

等^[24]利用恢复期患者 B 细胞构建的噬菌体抗体库进行靶向筛选,经重构得到 CT-P59 中和抗体,欧洲药品管理局对 CT-P59 在轻至中度新冠门诊患者中的安全性和有效性评估后,正在进行 CT-P59 抗体的上市申请评估。由噬菌体展示技术制备的中和抗体 STE90-C11 (COR-101)正处于 I b/II 期临床试验^[25],以评估其在中至重度新冠住院患者中的疗效,该抗体噬菌体库是利用恢复期患者外周淋巴细胞构建的,通过靶向 RBD 进行筛选鉴定出的 IgG,STE90-C11 能与大多数 RBD 突变体结合,但与含有 N501Y 突变的结合减少。

近来已发现许多 SARS-CoV-2 变体,其中一些与免疫逃逸有关^[26],因此研发针对不同表位的中和抗体对于降低逃逸风险至关重要。噬菌体展示技术可更快发现针对不同表位的中和抗体。Qu 等^[27]利用噬菌体库筛选得到 2 种高亲和力抗体 F61 和 H121,结构分析显示 F61 识别 RBD 上与 ACE2 结合位点重叠的表位,H121 识别 RBD 侧面远离 ACE2 结合区的表位,F61 与 H121 通过结合三聚体 S 蛋白中 RBD 而使其处于闭合状态,无法结合 ACE2,这 2 种抗体的混合物对包括 B.1.1.7 和 B.1.351 在内的病毒变体显示出有效的中和活性,并可与 N501Y、E484K 和 L452R 突变发生反应,对降低病毒变体逃逸风险具有重要意义。

相比于免疫动物体内筛选、单 B 细胞分选等方法^[28],噬菌体展示库的优势在于可采用的抗体片段形式较多,并且可作为分离不同中和抗体的可重复使用来源,其产生的抗体中和活性可同单细胞分选产生的抗体中和活性一样达到纳克级^[29-30]。另外,噬菌体展示技术分离出的抗体还可经过快速工程改造显著提高其中和活性。Huo 等^[31]将噬菌体抗体库筛选与基于 PCR 诱导的亲合力成熟法结合,诱导抗体 CDR3 区域突变,获得了亲和力更高的抗体。Ma 等^[32]利用从噬菌体抗体库中筛选分离出的抗体,融合构建了两种异二价抗体,使其亲和力比单价抗体增强 10 倍以上,并且中和效力也显著增强,中和活性达到纳克级。

2. 纳米抗体的制备

利用噬菌体展示技术制备抗 SARS-CoV-2 纳米抗体新型药物的开发研究也逐渐受到关注。纳米抗体来源于骆驼科动物的纯重链抗体,与传统抗体相比,纳米抗体结构简单,组织穿透力更强并且能够靶向传统抗体无法接近的表位^[33]。传统方法获得特异性纳米抗体需要抗原免疫动物,操作繁琐、周期较长,而噬菌体展示技术通过构建纳米抗体噬菌体库靶向特异性抗原进行筛选,降低了免疫动物所需成本,且所需时间短,产率高,适合大规模生产,为快速生产低成本高质量的抗病毒药物提供机会。Ye 等^[34]利用未免疫骆驼科动物 B 细胞构建了天然纳米抗体噬菌体库,以 RBD 为靶标进行筛选,经

与 Fc 标签连接后,得到的高亲和力 Nanosota-1C-Fc 抗体与 RBD 的结合力为 ACE2 与 RBD 的 3 000 倍,并且单剂量注射能有效地预防和治疗仓鼠及 hACE2 转基因小鼠的 SARS-CoV-2 感染。此外,Nanosota-1C-Fc 具有良好的体内稳定性,在小鼠体内注射经 3 d 后,其在血液、肺、心脏、肝脏和脾脏中仍保持高水平。Wu 等^[35]利用纳米抗体噬菌体库得到的 n3088 和 n3130 抗体通过靶向三聚体 S 蛋白隐蔽表位来中和 SARS-CoV-2,其在靶向隐蔽表位方面具有显著优势。

3. 疫苗的开发

由于噬菌体颗粒固有的免疫原性更易诱发机体产生免疫应答,并且具有稳定、低成本等优点,其作为疫苗载体已被广泛研究^[36],因此在新冠疫苗的开发中也具有良好的应用前景。最近,Staquicini 等^[37]报告了基于噬菌体展示的新冠靶向疫苗的开发研究,研究者对 S 蛋白结构分析后选择 6 个抗原表位分别克隆到噬菌体载体 f88-4 基因组的 PⅢ中,其中表位 4 展示噬菌体可诱导小鼠产生持续的特异性体液免疫,并且无其他不良反应,之后研究者还通过噬菌体随机肽库筛选出可与肺气道和肺泡内壁细胞表面结合的肽 CAKSMGDIVC^[38],将其克隆插入到噬菌体载体 fUSE55 的 PⅢ中,构建双展示噬菌体颗粒,相比于表位 4 单独展示噬菌体颗粒可以诱导更强的免疫应答。双展示噬菌体颗粒通过雾化给药靶向肺部使其转运至体循环,可不受首过代谢的影响,对新冠疫苗的开发具有重要意义。

五、结语

鉴于目前检测 SARS-CoV-2 方法的优势与局限性,检测技术间的相互补充,可以缩短病毒检测的窗口期,提高检测的灵敏度和准确度。噬菌体展示技术凭借其高特异性、高通量和低成本等优点,在 SARS-CoV-2 的检测以及新冠肺炎的预防与治疗中具有广阔的应用前景,对实现疑似人群的早期分流和快速管理具有重要意义,但噬菌体展示技术在 SARS-CoV-2 的应用研究中仍需改进,当构建噬菌体抗体库时,若能扩大抗体库的多样性,或许可以获得亲和力更高、性能良好的抗体,另外获得的抗体片段需要进一步对其进行改造,以提高其在实际临床应用中的稳定性以及功能效应。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(3):141-154. DOI: 10.1038/s41579-020-00459-7.
- [2] Tu H, Tu S, Gao S, et al. Current epidemiological and clinical features of COVID-19: a global perspective from China[J]. J Infect, 2020, 81(1):1-9. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.04.011.

- [3] 罗效梅, 王静, 张娅, 等. 全血 SARS-CoV-2 特异性抗体检测对 2019-冠状病毒病的临床应用价值分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42 (3):30–34. DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.03.005.
Luo XM, Wang J, Zhang Y, et al. Detection of specific SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in COVID-19 and its clinical application [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2020, 42(3):30–34. DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.03.005.
- [4] Yuan X, Yang C, He Q, et al. Current and perspective diagnostic techniques for COVID-19 [J]. ACS Infect Dis, 2020, 6 (8):1998–2016. DOI: 10.1021/acsinfecdis.0c00365.
- [5] 罗雪莲, 闫梅英, 吴媛, 等. 新型冠状病毒血清学抗体检测试剂盒现状分析[J]. 疾病监测, 2021, 36(1):29–36. DOI:10.3784/jbjc.202011230392.
Luo XL, Yan MY, Wu Y, et al. Current status of antibody detection kits for SARS-CoV-2[J]. Dis Surveil, 2021, 36(1):29–36. DOI:10.3784/jbjc.202011230392.
- [6] Courtellemont L, Guinard J, Guillaume C, et al. High performance of a novel antigen detection test on nasopharyngeal specimens for diagnosing SARS-CoV-2 infection[J]. J Med Virol, 2021, 93(5): 3152–3157. DOI: 10.1002/jmv.26896.
- [7] Weitzel T, Legarraga P, Iruretagoyena M, et al. Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples[J]. BioRxiv, 2020. DOI: 10.1101/2020.05.27.119255.
- [8] Bratkovic T. Progress in phage display: evolution of the technique and its application[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(5):749–767. DOI: 10.1007/s00018-009-0192-2.
- [9] Sioud M. Phage display libraries: from binders to targeted drug delivery and human therapeutics[J]. Mol Biotechnol, 2019, 61(4): 286–303. DOI: 10.1007/s12033-019-00156-8.
- [10] Kaplan G, Gershoni JM. A general insert label for peptide display on chimeric filamentous bacteriophages[J]. Anal Biochem, 2012, 420(1):68–72. DOI: 10.1016/j.ab.2011.08.050.
- [11] Frenzel A, Schirrmann T, Hust M. Phage display-derived human antibodies in clinical development and therapy[J]. MAbs, 2016, 8 (7):1177–1194. DOI: 10.1080/19420862.2016.1212149.
- [12] Ledsgaard L, Kilstrup M, Karatt-vellatt A, et al. Basics of antibody phage display technology[J]. Toxins (Basel), 2018, 10(6): 236. DOI: 10.3390/toxins10060236.
- [13] Benhar I. Design of synthetic antibody libraries[J]. Expert Opin Biol Ther, 2007, 7(5):763–779. DOI: 10.1517/14712598.7.5.763.
- [14] Pitaksajjakul P, Lekcharoensuk P, Upragarin N, et al. Fab MAbs specific to HA of influenza virus with H5N1 neutralizing activity selected from immunized chicken phage library[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 395 (4):496–501. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.04.040.
- [15] Yu CM, Chen IC, Tung CP, et al. A panel of anti-influenza virus nucleoprotein antibodies selected from phage-displayed synthetic antibody libraries with rapid diagnostic capability to distinguish diverse influenza virus subtypes[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):13318. DOI: 10.1038/s41598-020-70135-6.
- [16] Liu ZX, Yi GH, Qi YP, et al. Identification of single-chain antibody fragments specific against SARS-associated coronavirus from phage-displayed antibody library[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 329(2):437–444. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.02.003.
- [17] Parry HA, Chiranjivi AK, Asthana S, et al. Identification of an anti-SARS-CoV-2 receptor-binding domain-directed human monoclonal antibody from a naive semisynthetic library[J]. J Biol Chem, 2020, 295(36):12814–12821. DOI: 10.1074/jbc.AC120.014918.
- [18] Li C, Zhao C, Bao J, et al. Laboratory diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19)[J]. Clin Chim Acta, 2020, 510:35–46. DOI: 10.1016/j.cca.2020.06.045.
- [19] Zhang L, Zheng B, Gao X, et al. Development of patient-derived human monoclonal antibodies against nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 for coronavirus disease 2019 diagnosis[J]. Front Immunol, 2020, 11:595970. DOI: 10.3389/fimmu.2020.595970.
- [20] Kim HY, Lee JH, Kim MJ, et al. Development of a SARS-CoV-2-specific biosensor for antigen detection using scFv-Fc fusion proteins[J]. Biosens Bioelectron, 2021, 175:112868. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112868.
- [21] Anderson GP, Liu JL, Esparza TJ, et al. Single-domain antibodies for the detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein[J]. Anal Chem, 2021, 93(19):7283–7291. DOI: 10.1021/acs.analchem.1c00677.
- [22] Noy-porat T, Makdasi E, Alcalay R, et al. A panel of human neutralizing mAbs targeting SARS-CoV-2 spike at multiple epitopes[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 4303. DOI: 10.1038/s41467-020-18159-4.
- [23] Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J]. Cell, 2020, 181(2):281–292.e286. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- [24] Kim C, Ryu DK, Lee J, et al. A therapeutic neutralizing antibody targeting receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein[J]. Nat Commun, 2021, 12(1):288. DOI: 10.1038/s41467-020-20602-5.
- [25] Bertoglio F, Fühner V, Ruschig M, et al. A SARS-CoV-2 neutralizing antibody selected from COVID-19 patients binds to the ACE2-RBD interface and is tolerant to most known RBD mutations[J]. Cell Rep, 2021, 36(4):109433. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109433.
- [26] Pan Y, Du J, Liu J, et al. Screening of potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 using convalescent patients-derived phage-display libraries[J]. Cell Discov, 2021, 7(1):57. DOI: 10.1038/s41421-021-00295-w.
- [27] Qu Y, Zhang X, Wang M, et al. Antibody cocktail exhibits broad neutralization activity against SARS-CoV-2 and SARS-CoV-2 variants[J]. Virol Sin, 2021,36(5):934–947. DOI: 10.1007/s12250-021-00409-4.

- [28] 史瑞, 严景华. 抗新型冠状病毒单克隆中和抗体药物研发进展[J]. 中国生物工程杂志, 2021, 41 (6): 129–135. DOI: 10.13523/j.cb.2106007.
- Shi R, Yan JH. Research progress of neutralizing antibody drugs against SARS-CoV-2[J]. Chin Biotechnol, 2021, 41(6):129–135. DOI: 10.13523/j.cb.2106007.
- [29] Hansen J, Baum A, Pascal KE, et al. Studies in humanized mice and convalescent humans yield a SARS-CoV-2 antibody cocktail[J]. Science, 2020, 369 (6506):1010–1014. DOI: 10.1126/science.abd0827.
- [30] Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals[J]. Nature, 2020, 584(7821):437–442. DOI: 10.1038/s41586-020-2456-9.
- [31] Huo J, Le Bas A, Ruza RR, et al. Neutralizing nanobodies bind SARS-CoV-2 spike RBD and block interaction with ACE2[J]. Nat Struct Mol Biol, 2020, 27 (9):846–854. DOI: 10.1038/s41594-020-0469-6.
- [32] Ma H, Zeng W, Meng X, et al. Potent neutralization of SARS-CoV-2 by hetero-bivalent alpaca nanobodies targeting the spike receptor-binding domain[J]. J Virol, 2021, 95(10) :e02438–20. DOI: 10.1128/JVI.02438-20.
- [33] Sokullu E, Gauthier MS, Coulombe B. Discovery of antivirals using phage display[J]. Viruses, 2021, 13(6):1120. DOI: 10.3390/v13061120.
- [34] Ye G, Gallant J, Zheng J, et al. The development of Nanosota-1 as anti-SARS-CoV-2 nanobody drug candidates[J]. Elife, 2021, 10: e64815. DOI: 10.7554/eLife.64815.
- [35] Wu Y, Li C, Xia S, et al. Identification of human single-domain antibodies against SARS-CoV-2[J]. Cell Host Microbe, 2020, 27 (6):891–898.e895. DOI: 10.1016/j.chom.2020.04.023.
- [36] Palma M. Perspectives on passive antibody therapy and peptide-based vaccines against emerging pathogens like SARS-CoV-2[J]. Germs, 2021, 11(2):287–305. DOI: 10.18683/germs.2021.1264.
- [37] Staquicini DI, Tang FHF, Markosian C, et al. Design and proof of concept for targeted phage-based COVID-19 vaccination strategies with a streamlined cold-free supply chain[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(30):e2105739118. DOI: 10.1073/pnas.2105739118.
- [38] Staquicini DI, Barbu EM, Zemans RL, et al. Targeted phage display-based pulmonary vaccination in mice and non-human primates[J]. Med (N Y), 2021, 2(3):321–342. DOI: 10.1016/j.medj.2020.10.005.

(收稿日期:2021-05-20)

欢迎订阅

2022 年《国际流行病学传染病学杂志》