

抗体药物筛选技术的研究进展

纪思佳¹, 张小雪¹, 翟丽丽¹, 董静¹, 李岩异², 常亮^{1*}

1.华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 抗体药物研制国家重点实验室, 抗体药物河北省工程研究中心, 石家庄 052160;

2.华北制药金坦生物技术股份有限公司, 石家庄 050035

摘要: 抗体药物经历了多克隆抗体、单克隆抗体及基因工程抗体三个阶段, 随着人类对抗体药物的不断深入研究, 出现了多克隆抗体技术、杂交瘤抗体技术、抗体文库展示技术以及转基因小鼠技术等多种抗体筛选技术。抗体药物具有非常巨大的发展前景, 针对各种抗体药物筛选技术的特点进行整理归纳, 并讨论了抗体药物研发面临的挑战, 以期后续抗体技术的发展提供参考。

关键词: 抗体文库展示技术; 转基因小鼠技术; 单个B细胞抗体技术; 人工智能

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2024.0149

中图分类号: Q511, R979.1

文献标志码: A

Research Progress of Antibody Drug Screening Technology

Ji Sijia¹, ZHANG Xiaoxue¹, ZHAI Lili¹, DONG Jing¹, LI Yanyi², CHANG Liang^{1*}

1.State Key Laboratory of Antibody Research & Development, Hebei Engineering Research Center of Antibody Medicine, North China Pharmaceutical Group Corporation New Drug Research and Development Co., Ltd., Shijiazhuang 052160, China;

2.NCPC Genetech Biotechnology Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China

Abstract: Antibody drugs have gone through three stages: polyclonal antibody, monoclonal antibody and genetically engineered antibody. With the continuous deepening of human research on antibody drugs, a variety of antibody screening technologies have emerged, such as polyclonal antibody technology, hybridoma antibody technology, antibody library display technology and transgenic mouse technology. Antibody drugs have a very large development prospect. The article summarized the characteristics of various antibody drug screening technologies, and discussed the challenges faced by antibody drug research and development, in order to provide reference for the subsequent development of antibody technology.

Key words: antibody library display technology; transgenic mouse technology; single B cell antibody technique; artificial intelligence

抗体药物因其特异性强、靶向性好、治疗效果显著等优点, 在生物药领域占据着举足轻重的地位。目前, 抗体药物已经成为全球医药产业中发展最快、最具有治疗前景的领域之一^[1]。近年来, 全球获批的抗体药物数量逐年增加, 市场占有率也显著上升。截至2023年, 已有超过160种抗体疗法获监管机构批准上市, 其中全人源化抗体药物所占的比例日益增大^[2-3]。综述归纳整理了多

种抗体筛选技术的原理与优劣势, 并对抗体药物技术未来发展的挑战进行展望。

1 抗体研发技术的发展历程

抗体筛选技术主要经历了四个阶段: 抗血清多克隆抗体技术、杂交瘤单克隆抗体技术、鼠源抗体人源化技术和全人源化抗体技术。1890年, 德

收稿日期: 2024-09-14; 接受日期: 2024-10-14

基金项目: 河北省重点研发计划项目(22372401D)。

联系方式: 纪思佳 E-mail: hbjisijia@163.com; *通信作者 常亮 E-mail: 15511802735@163.com

国科学家 Behring 和 Kitasato^[4]通过将白喉毒素免疫动物,获得了包含可以中和白喉毒素的抗血清,这一成果被称为抗血清多克隆抗体。然而,由于多克隆抗体实际上是多种特异性抗体的混合体,因此难以鉴定其中每一种抗体的具体特性,这极大地限制了其在临床上的应用。此外,多克隆抗体还存在特异性差、批次间差异大、制备受动物限制等缺点。随着科学技术的发展,在 20 世纪 70 年代,人类通过将抗原免疫后的小鼠纯系 B 细胞与肿瘤细胞融合,构建了第一株 B 细胞杂交瘤细胞株,这是单克隆抗体技术的重要里程碑^[5-7]。鼠源杂交瘤技术以其工艺相对成熟、制备的单抗纯度高、成本较低等优势迅速崭露头角,但该技术也存在操作烦琐、周期长以及抗体为鼠源无法直接应用于临床研究等局限性。

由于鼠源抗体免疫原性强,会产生人抗小鼠抗体(human anti-mouse antibody, HAMA)反应^[8-9],因此需要对鼠源抗体进行人源化改造,降低鼠源序列。鼠源抗体人源化技术包括人鼠嵌合和人源化抗体技术。其中,人鼠嵌合抗体技术通过将鼠源抗体的可变区基因与人源抗体恒定区基因融合表达,使得人源序列在抗体中占比达到 70%,从而极大降低了 HAMA 反应的发生^[10]。这种技术路线相对简单,且能保持抗体完整性。然而,由于嵌合抗体中仍含有部分鼠源序列,其可能引发的免疫反应并未完全消除,且获得的抗体活性较低。为了进一步优化人源化抗体,研究人员在人鼠嵌合抗体的基础上进行改造,发展出了人源化抗体技术。该技术通过抗体重构^[11-12]或框架区重构^[13]的方式进一步减少鼠源序列的含量,尽管仍然保留约 10% 的鼠源序列,但相比嵌合抗体已有显著改进。然而,由于结构上的微调,人源化抗体的亲和力可能不如原始的鼠源单抗。全人源化抗体完全由人源基因编码,理论上达到 100% 人源化,更有利于在临床治疗中应用^[14]。因此,全人源化抗体技术是目前应用最广泛、最具有发展潜力的抗体筛选技术^[15]。

2 目前主流的抗体研发技术

单克隆抗体药物已成为主流的抗体药物,广泛应用于临床治疗中,其中以全人源化抗体的使用最为广泛。目前,最常用的全人源化抗体技术包括抗体文库展示技术、转基因小鼠技术、单个 B

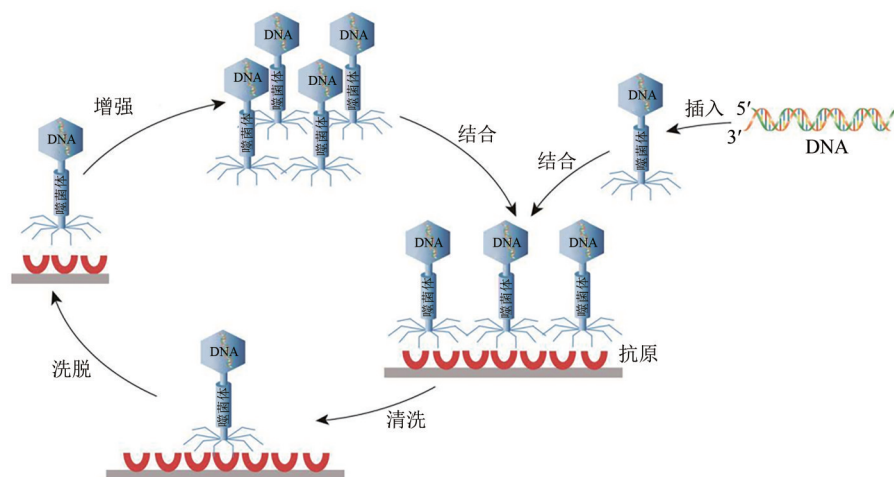
细胞抗体技术和人工智能辅助药物开发技术等。

2.1 抗体文库展示技术

根据抗体文库使用的不同载体,将抗体库技术分为噬菌体展示技术(phage display technique, PDT)、核糖体展示技术(ribosome display technology, RDT)、mRNA 展示技术(mRNA display technology, mRNA-DT)、酵母表面展示技术(yeast surface display technology, YSDT)及哺乳动物细胞展示技术(mammalian cell display technology, MCDT)等,其中噬菌体展示技术应用较广泛。

抗体文库展示技术以其操作简单、可以获得全人源化抗体,以及支持高通量筛选等优势,在抗体药物研发中占据重要地位。然而,这项技术也面临一些挑战。首先,库容量可能成为限制因素,影响着筛选的全面性和准确性。其次,并非所有抗体基因都能在文库中成功表达,可能需要通过优化技术来提高表达效率。此外,抗体库的储存和运输也存在一定困难,需要特殊的条件和技术来确保抗体的活性和稳定性。再者,文库中的重链与轻链可能存在非天然配对情况,这可能影响抗体的特异性和亲和力。最后,由于筛选过程中可能存在偏差,有时容易筛选到非特异性抗体,因此需要通过严格的筛选和验证步骤来避免。

噬菌体展示技术由 George Smith 首次提出,并获得了诺贝尔化学奖^[16]。该技术是以噬菌体为载体,通过将外源抗体基因插入到噬菌体的衣壳蛋白基因中,使抗体能够在噬菌体表面得以展示。随后,经过多轮吸附、洗脱和扩增的精细操作,筛选出目的抗体^[17](图 1)。核糖体展示技术是利用多聚酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增目的基因文库,使翻译产物展示在核糖体表面,形成“mRNA-蛋白质-核糖体”三聚体复合物,加入抗原筛选抗体^[17]。mRNA 展示技术是将蛋白质与其编码 mRNA 共价连接形成 mRNA-蛋白质融合体的技术,其翻译出的蛋白质与 mRNA 连接^[17-19]。酵母细胞表面展示技术以酵母作为载体,将外源基因融合表达达到酵母细胞表面进行筛选的全细胞展示平台^[20]。哺乳动物细胞展示技术是将重组基因导入到哺乳动物细胞,通过细胞分选与富集筛选出目的抗体的技术^[21]。目前,还没有完全开发出一种通用且有效的抗体库展示系统,使该系统能够整合两种或多种方法的优势,以弥补各自不足,从而快速且高效地获得人源化抗

图1 抗体文库展示技术示意图(以噬菌体为例)^[17]Fig. 1 Antibody library display technology diagram (phage as an example)^[17]

体。针对这一挑战,相关研究团队融合了噬菌体展示技术与哺乳动物细胞展示技术的精髓,克服了传统平台的局限性,筛选并制备出了具有高亲和力的抗TIM-3全人源IgG抗体^[22]。

2.2 转基因小鼠技术

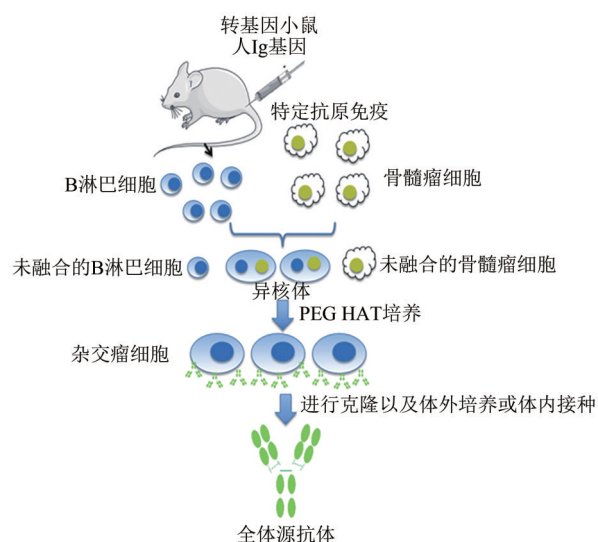
转基因小鼠技术是指将优化后的人抗体基因导入免疫缺陷小鼠的基因组中,抗原免疫后分泌的抗体均由人抗体基因编码,通过进行B细胞杂交瘤细胞培养获得全人源化单克隆抗体^[23-24](图2)。

转基因小鼠技术的发展历经了三代重要变革。第一代技术始于1989年,由Brüggemann等^[25]将编码人IgG基因导入小鼠体内,然而这一阶段

的调控及重排多样性受到限制。随后,第二代技术应运而生,它将完整的人IgG基因分批次导入小鼠体内,从而增加了抗体重排的选择性,但导入的基因片段在一定程度上也影响了抗体的亲和力。第三代技术仅将人IgG基因的可变区V(variable)、多样性区D(diversity)和连接区J(joining)这三个关键区域替换至小鼠IgG基因的相应位置^[26]。这一革命性的改变使得人源化抗体转基因小鼠平台能够产生全人源化的抗体,这些抗体不仅亲和力高,而且免疫反应的风险低。然而,这一技术平台也面临着如免疫耐受性问题、技术门槛较高以及不能排除鼠源抗体产生的潜在挑战。

利用转基因小鼠技术获得的全人源化抗体,降低了在人体内发生不良反应和免疫排斥的风险,其已逐渐成为抗体药物研发及临床疾病预防和治疗应用的主流生物药。在全球新型冠状病毒感染(corona virus disease 2019, COVID-19)流行初期,其展现出极高的发病率和死亡率,病毒中和抗体被认为是预防和治疗此类病原体感染极有前景的策略^[27-28]。利用K18-hACE2转基因小鼠模型进行体内中和试验研究,不仅验证了MD65抗体在治疗新型冠状病毒感染方面的潜在保护作用,还首次证明了人源化单克隆抗体作为治疗严重及致命性COVID-19感染模型的挽救性治疗手段的重要价值^[29]。

耐药性细菌的控制是当前感染病学中最大的挑战之一。有科研团队利用人类免疫组库转基因小鼠(Kymouse平台小鼠)开发针对耐药性细菌的

图2 转基因小鼠技术筛选人源化抗体示意图^[24]Fig. 2 Schematic diagram of transgenic mouse technology screening for humanized antibodies^[24]

保护性单克隆抗体,特别是针对碳青霉烯类耐药的鲍曼不动杆菌,可以预防碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌引起的感染,这对于未来的抗生素替代策略具有重要意义^[30]。此外,还可以利用人源化转基因小鼠模拟人类免疫反应系统,通过构建人源化(truly human X, TruHuX 或 THX)小鼠,THX 小鼠发育了人类淋巴和髓系免疫系统,产生成熟的抗菌和抗病毒中和抗体反应,为研究人类免疫系统和开发人类疫苗和疗法提供了平台^[31]。随着基因编辑技术的发展,构建人源化抗体转基因小鼠平台的精确度和效率得到了显著的提升,从而能够更快地构建出特定的小鼠模型,加速药物研发的进程。

2.3 单个B细胞抗体技术

单个B细胞抗体技术即单细胞测序技术,该技术利用每个B细胞只能产生一种特异性抗体的原理,首先筛选出分泌特异性功能抗体的B细胞,

对其表达的抗体轻链和重链的基因序列进行克隆和表达,从而获得特异性的单克隆抗体(图3)^[32]。相较于传统的抗体制备技术,该技术操作更快速、更高效、产量更高,且可以筛选出具有天然构象的抗体,可用于抗感染性疾病治疗、抗肿瘤治疗、抗自身免疫性疾病治疗、病原微生物相关抗原的抗体开发及病毒跨种传播机制等研究。例如,在新型病毒感染大流行时期,有研究团队使用单个B细胞抗体技术,成功开发了多种针对新型冠状病毒——严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV2)的SARS-CoV-2-受体结合域(SARS-CoV-2-receptor binding domain, SARS-CoV-2-RBD)表位的中和单克隆抗体;同时在活病毒试验中,这些抗体能有效地阻断病毒进入宿主细胞,这对于COVID-19的治疗和预防具有重要意义^[33-34]。

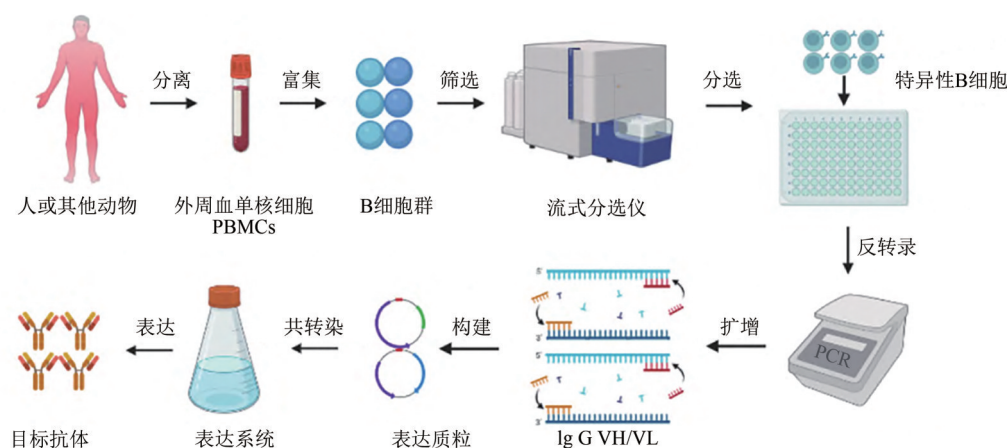


图3 基于单个B细胞抗体技术筛选单克隆抗体的示意图^[32]

Fig. 3 Schematic diagram of monoclonal antibody screening based on single B cell technique^[32]

单个B细胞抗体技术的筛选主要包括流式细胞荧光分选技术和微流控技术两种平台。其中,流式细胞荧光分选技术利用细胞分选平台分离单个B细胞,对其进行培养、测序、克隆及筛选鉴定单克隆抗体。该技术只需要少量的细胞就能够快速筛选出特异性单抗,且产生的单抗保留重链与轻链可变区的天然配对^[35]。然而,这种方法获取的B细胞无法进行功能验证,并且从B细胞获取抗体基因再克隆至表达载体的过程耗时较长,从而限制了筛选的通量。此外,流式细胞术分析中存在较高的假阳性率,更为重要的是它要求抗原为可溶性重组蛋白,因此对于表达纯化困难较大的靶点

而言,该技术难以直接适用。微流控技术是一个集多种先进技术于一体的创新领域,其中主要包括微流控液滴技术(microdroplet-based)、微流控纳米孔技术(microfluidic nanowell-based)以及光驱动微流控腔室技术(microfluidic chamber-based)。这些微流控技术可以处理成千上万个B细胞,提高了筛选的通量,同时借助微流控芯片,实现了细胞的快速分选和功能验证,大大缩短了筛选时间。此外,微流控系统能够精确控制细胞和试剂的流动,确保了实验的重复性和准确性,且由于微流控技术是在微小通道中进行的,能够有效减少试剂和样品的消耗^[33-34]。然而,微流控技术也存在一些不

足,例如微流控系统的构建和操作相对复杂,需要专业技术人员和设备支持,耗材和设备的成本较高,更适合小规模筛选等。最重要的是,高通量筛选对系统的集成度提出了更高要求,这无形中增加了系统故障的风险和系统的复杂性^[36]。

2.4 人工智能辅助药物开发技术

随着计算机技术的快速发展与大数据兴起,人工智能(artificial intelligence, AI)在药物研发领域迎来了新的发展机遇,在全球人工智能医疗市场中药物研发占据的份额最大^[37]。目前, AI在药物研发领域主要聚焦于发现药物新靶点、优化药物结构、筛选药物活性、药物再利用和临床前及临床试验等多个阶段。AI通过改变药物的设计和开发过程,显著提高了精度、缩短了研发周期和降低了研发成本,而且其高性能的算法和AI启用的计算机辅助药物设计(computer-aided drug design, CADD)明显加快了药物筛选的步伐^[37]。

AI设计的药物正在进入临床试验阶段,并显示了早期积极的研发成果。例如,Exscientia公司

宣布了其AI开发的选择性A2A受体拮抗剂EXS-21546 I期试验的初步结果,该药物已经进入实体瘤患者的I b/II期试验阶段^[38]。此外, Jayatunga等^[39]发现AI设计的分子药物在临床试验阶段的成功率高于历史行业平均水平,特别是在I期临床试验中, AI发现的分子成功率为80%~90%,这表明AI在设计和识别药物分子方面有很强大的作用^[39]。目前,基于AI手段的药物再利用策略是加速药物发现的一种高效的途径,例如,在寻求COVID-19治疗药物的过程中应用了AI的三类主要方法,包括基于网络的模型、基于结构的方法和机器/深度学习方法来快速筛选候选治疗药物^[40](图4)。同时, AI在疫苗开发过程中也有重要的作用,包括加速抗原选择、表位预测及佐剂识别等,人工智能驱动的抗原选择与疫苗设计创新,彻底改变了免疫原开发的过程^[41]。AI和大数据的结合有望显著加快新药的开 发,但同时也面临着诸多挑战,比如高质量数据库资源的缺乏、AI算法需要进一步完善、缺乏大量的临床试验数据及解决科研成果保密问题等。

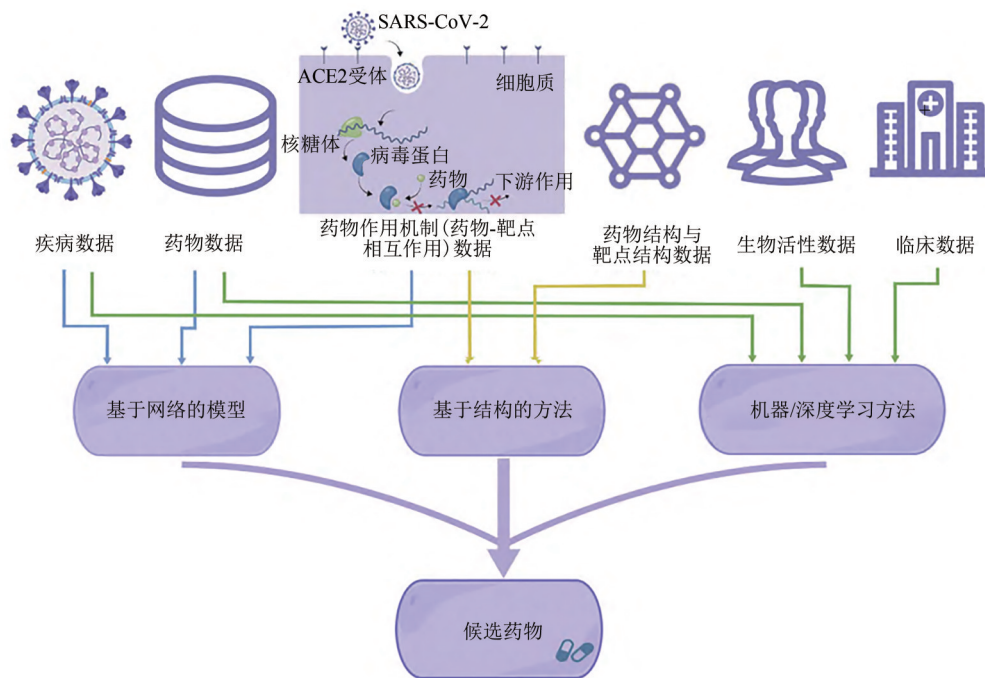


图4 基于人工智能筛选治疗 COVID-19 候选药物的示意图^[40]

Fig. 4 Schematic diagram of AI-based screening of drug candidates for COVID-19^[40]

综上所述,抗体药物筛选技术随着科技的发展出现了突飞猛进的飞跃,不同的抗体技术具有不同的原理和特点,从而适应不同的抗体药物筛选策略。选择合适的筛选技术更有利于进行快速

的药物筛选及临床试验,且能够缩短研发周期和降低研发成本,更好地应用于人类疾病的预防和治疗。表1归纳比较了目前主流的抗体研发技术的优点与不足。

表1 不同类型抗体技术的优点与不足

Table 1 Advantages and disadvantages of different types of antibody technology

抗体筛选技术	优点	不足
抗体文库展示技术	获得全人源化抗体、文库基因来源灵活、筛选周期短	抗体库储存运输困难、重链与轻链非天然配对、易筛选到非特异性抗体
转基因小鼠技术	获得全人源化抗体、速度快、亲和力高	可能存在免疫耐受、不能排除鼠源抗体产生、技术壁垒高
单个B细胞抗体技术	获得全人源化抗体、高通量筛选、周期短,技术较成熟、重链与轻链天然配对	费用较高、操作严格、技术要求高、对抗原质量要求高、抗原特异性细胞的比例较低
AI辅助药物开发技术	获得全人源化抗体、周期短、成本低、成功率高	数据库有待完善、相关数据很难全部整合在一起

3 展望

目前,抗体药物在全球生物药研发领域中占据着举足轻重的地位,且随着抗体筛选技术的不断革新,抗体药物在生物药市场的占有率已实现了显著的提高。资料显示,1997年全球抗体疗法的市场规模仅仅为0.3亿美元,而到了2021年已迅速增至1 860亿美元。据预测,到2028年,全球抗体药物市场规模将达到4 450亿美元^[2],展现出了极其广阔的发展前景与潜力。

全人源化抗体技术是目前主要应用的抗体药物开发技术,主要包括抗体库展示技术、转基因小鼠技术、单个B细胞抗体技术以及人工智能辅助药物设计等。目前,尚缺乏一种既通用又高效的抗体库展示系统,能够完美地将两种或多种展示系统融合为一体。在抗体研发领域,转基因小鼠技术的研发难度大、风险高,且产生的抗体和人体天然抗体存在不完全一致的问题。另一方面,单个B细胞抗体技术同样面临操作复杂、对特定设备和专业知识需求高的挑战,且需要不断革新设备与技术,以减轻筛选与功能验证的工作负担。人工智能技术促进了计算机辅助药物设计的发展,但是很多数据受知识产权的保护,很难把相关数据全部整合在一起,而且AI模型在数据训练上的有效性依赖于大量临床数据和元数据完善的数据库^[37]。此外,聊天生成性预训练转换模型(chat generative pretrained transformer, ChatGPT)的出现和应用,使人类对AI在新药研发中的作用有了更高的期待。综合来看,抗体药物已经展现出蓬勃发展的趋势,随着生物技术的不断革新,人类将会发现越来越多的新靶点,为生物药物的开发与临床应用开拓更广阔的前景。

参 考 文 献

[1] JARASCH A, KOLL H,REGULA J T, *et al.*. Developability assessment during the selection of novel therapeutic antibodies[J]. J. Pharm. Sci., 2015, 104(6): 1885-1898.

[2] LYU X C, ZHAO Q C, HUI J L, *et al.*. The global landscape of approved antibody therapies[J]. Antib. Ther., 2022, 5(4): 233-257.

[3] ZINN S, VAZQUEZ-LOMBARDI R, ZIMMERMANN C, *et al.*. Advances in antibody-based therapy in oncology[J]. Nat. Cancer, 2023, 4: 165-180.

[4] BEHRING E V, KITASATO S. Ueber das zustandekommen der diphtherie-immunität und der tetanus-immunität bei thieren[J]. Dtsch Med. Wochenschr., 1890, 16(49): 1113-1114.

[5] KÖHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity[J]. Nature, 1975, 256: 495-497.

[6] POSNER J, BARRINGTON P, BRIER T, *et al.*. Monoclonal antibodies: past, present and future[J]. Handb. Exp. Pharmacol., 2019, 260: 81-141.

[7] MORAES J Z, HAMAGUCHI B, BRAGGION C, *et al.*. Hybridoma technology: is it still useful?[J]. Curr. Res. Immunol., 2021, 2: 32-40.

[8] HOLLIGER P, HUDSON P J. Engineered antibody fragments and the rise of single domains[J]. Nat. Biotechnol., 2005, 23: 1126-1136.

[9] BAYER V. An overview of monoclonal antibodies[J/OL]. Semin. Oncol. Nurs., 2019, 35(5): 150927[2024-11-29]. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.08.006>.

[10] WOLLINA U, TCHERNEV G, LOTTI T. Chimeric monoclonal antibody cetuximab targeting epidermal growth factor-receptor in advanced non-melanoma skin cancer[J]. Open Access Maced. J. Med. Sci., 2018, 6(1): 152-155.

[11] ROH J, BYUN S J, SEO Y, *et al.*. Generation of a chickenized catalytic anti-nucleic acid antibody by complementarity-determining region grafting[J]. Mol. Immunol., 2015, 63(2): 513-520.

[12] KIM J H, HONG H J. Humanization by CDR grafting and specificity-determining residue grafting[J]. Meth. Mol. Biol., 2012, 907: 237-245.

[13] ALMAGRO J C, FRANSSON J. Humanization of antibodies[J]. Front. Biosci., 2008, 13: 1619-1633.

[14] SAFDARI Y, FARAJNIA S, ASGHARZADEH M, *et al.*. Anti-body humanization methods-a review and update[J]. Biotechnol. Genet. Eng. Rev., 2013, 29(2): 175-186.

- [15] 杨懿祺,张志高,游小龙,等. 抗体药物的发展与应用[J]. 生物技术进展,2022,12(3):358-365.
YANG Y Q, ZHANG Z G, YOU X L, *et al.* Development and application of monoclonal antibody-based drug[J]. Curr. Biotechnol., 2022, 12(3): 358-365.
- [16] SMITH G P. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface[J]. Transfus. Med. Rev., 1985, 228(4705): 1315-1317.
- [17] 陈遥,舒星富,赵钰,等. 单链抗体展示系统研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3681-3694.
CHEN Y, SHU X F, ZHAO Y, *et al.* Single chain antibody fragment display systems: a review[J]. Chin. J. Biotechnol., 2023, 39(9): 3681-3694.
- [18] NAGUMO Y, FUJIWARA K, HORISAWA K, *et al.* PURE mRNA display for *in vitro* selection of single-chain antibodies[J]. J. Biochem., 2016, 159(5): 519-526.
- [19] JOSEPHSON K, RICARDO A, SZOSTAK J W. mRNA display: from basic principles to macrocycle drug discovery[J]. Drug Discov. Today, 2014, 19(4): 388-399.
- [20] CHUN J, BAI J, RYU S. Yeast surface display system for facilitated production and application of phage endolysin[J]. ACS Synth. Biol., 2020, 9(3): 508-516.
- [21] BOWERS P M, HORLICK R A, NEBEN T Y, *et al.* Coupling mammalian cell surface display with somatic hypermutation for the discovery and maturation of human antibodies[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2011, 108(51): 20455-20460.
- [22] JIN Y J, YU D, TIAN X L, *et al.* A novel and effective approach to generate germline-like monoclonal antibodies by integration of phage and mammalian cell display platforms[J]. Acta Pharmacol. Sin., 2022, 43: 954-962.
- [23] GREEN L L. Transgenic mouse strains as platforms for the successful discovery and development of human therapeutic monoclonal antibodies[J]. Curr. Drug Discov. Technol., 2014, 11(1): 74-84.
- [24] 武瑞君,桑晓冬,李治非,等. 抗体技术的研发现状与展望[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2021,35(5):374-381.
WU R J, SANG X D, LI Z F, *et al.* Development and prospect of antibody technology[J]. Chin. J. Pharmacol. Toxicol., 2021, 35(5): 374-381.
- [25] BRÜGGEMANN M, CASKEY H M, TEALE C, *et al.* A repertoire of monoclonal antibodies with human heavy chains from transgenic mice[J]. Clin. Orthop. Relat. Res., 1989, 86(17): 6709-6713.
- [26] MURPHY A J, MACDONALD L E, STEVENS S, *et al.* Mice with megabase humanization of their immunoglobulin genes generate antibodies as efficiently as normal mice[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2014, 111(14): 5153-5158.
- [27] 杨高松,马东杰. 呼吸道传染病治疗中抗体药物的研发进展[J]. 生物技术进展,2020,10(5):441-447.
YANG G S, MA D J. Progress in research and development of antibodies for treatment of respiratory infectious diseases[J]. Curr. Biotechnol., 2020, 10(5): 441-447.
- [28] 王海宁,刘兴健,高新桃,等. SARS-CoV-2 中和性纳米抗体的原核表达及中和活性检测[J]. 生物技术进展, 2022, 12(5): 754-759.
WANG H N, LIU X J, GAO X T, *et al.* Prokaryotic expression and neutralization activity detection of SARS-CoV-2 neutralizing nanobody[J]. Curr. Biotechnol., 2022, 12(5): 754-759.
- [29] ROSENFELD R, NOY-PORAT T, MECHALY A, *et al.* Post-exposure protection of SARS-CoV-2 lethal infected K18-hACE2 transgenic mice by neutralizing human monoclonal antibody[J/OL]. Nat. Commun., 2021, 12: 944[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1038/S41467-021-21239-8>.
- [30] BAKER S, KRISHNA A, HIGHAM S, *et al.* Exploiting human immune repertoire transgenic mice for protective monoclonal antibodies against antimicrobial resistant *Acinetobacter baumannii*[J/OL]. Nat. Commun., 2024, 15: 7979[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1038/S41467-024-52357-8>.
- [31] CHUPP D P, RIVERA C E, ZHOU Y L, *et al.* A humanized mouse that mounts mature class-switched, hypermutated and neutralizing antibody responses[J]. Nat. Immunol., 2024, 25: 1489-1506.
- [32] 杨郑欣,李琰,张晓茜,等. 单个B细胞抗体制备技术研究进展[J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(8): 82-87.
YANG Z X, LI Y, ZHANG X Q, *et al.* Research progress on single B cell antibody preparation technology[J]. Chin. J. Veter. Med., 2023, 59(8): 82-87.
- [33] ZOST S J, GILCHUK P, CHEN R E, *et al.* Rapid isolation and profiling of a diverse panel of human monoclonal antibodies targeting the SARS-CoV-2 spike protein[J]. Nat. Med., 2020, 26: 1422-1427.
- [34] DOU Y, XU K, DENG Y Q, *et al.* Development of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2, using a high-throughput single-B-cell cloning method[J]. Antib. Ther., 2023, 6(2): 76-86.
- [35] CAO Y L, SU B, GUO X H, *et al.* Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells[J]. Cell, 2020, 182(1): 73-84.
- [36] KHAN M, BI Y H, Zhang G Y, *et al.* Microfluidics add-on technologies for single-cell analysis[J/OL]. Trac-Trend Anal. Chem., 2023, 167: 117257[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117257>.
- [37] SINGH S, GUPTA H, SHARMA P, *et al.* Advances in Artificial Intelligence (AI)-assisted approaches in drug screening[J/OL]. Artif. Intell. Chem., 2024, 2: 100039[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117257>.
- [38] ARNOLD C. Inside the nascent industry of AI-designed drugs[J]. Nat. Med., 2023, 29: 1292-1295.
- [39] JAYATUNGA M K P, AYERS M, BRUENS L, *et al.* How successful are AI-discovered drugs in clinical trials? A first analysis and emerging lessons[J/OL]. Drug Discov. Today, 2024, 29(6): 104009[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2024.104009>.
- [40] 单士喆,文博,乔天慈,等. 人工智能在药物再利用治疗新型冠状病毒感染研究中的应用及问题分析[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2024, 38(4): 294-303.
SHAN S Z, WEN B, QIAO T C, *et al.* Application and analysis of problems of artificial intelligence in drug repurposing for Corona Virus Disease 2019(COVID-19)[J]. Chin. J. Pharmacol. Toxicol., 2024, 38(4): 294-303.
- [41] OLAWADE D B, TEKE J, FAPOHUNDA O, *et al.* Leveraging artificial intelligence in vaccine development: a narrative review[J/OL]. J. Microbiol. Methods, 2024, 224: 106998[2024-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2024.106998>.