

DOI:10.13350/j.cjpb.241101

• 论著 •

抗大别班达病毒人源单克隆抗体 Fab 片段的噬菌体展示文库构建^{*}

徐家馨,王静静,王琳,徐睿杰,吴玉龙,李波清^{**},乔媛媛^{**}

(滨州医学院基础医学院病原生物学教研室,山东烟台 264003)

【摘要】 目的 构建具有潜在中和活性的人源抗大别班达病毒(SFTSV)抗体 Fab 片段的噬菌体展示文库。 **方法** 从具有交叉中和活性的 SFTS 恢复期患者血液样本中分离外周血单个核细胞(PBMC)并提取总 RNA,逆转录 PCR 得到 cDNA。以 cDNA 为模板进行第一轮 PCR 扩增,分别获得抗体重链可变区(VH)和轻链可变区(V κ 和V λ)序列。以 pComb3XTT、pComb3X λ 质粒为模板,分别获得抗体重链恒定区(CH₁)和轻链恒定区(C κ 、C λ)序列。第二轮通过重叠延伸 PCR(SOE-PCR)扩增 VH 和 CH₁ 得到 Fd 重链,同样扩增 V κ 和 C κ 、V λ 和 C λ 得到完整的 κ 和 λ 抗体轻链。第三轮以上述扩增产物为模板再次进行 SOE-PCR,得到完整的抗体 Fab 基因片段。将 Fab 基因片段插入到 pComb3XSS 噬菌粒中,构建噬菌体展示抗体文库。 **结果** 通过三轮 PCR 扩增出抗体 Fab 片段的序列,成功构建库容量为 1.875×10^9 的噬菌体展示抗体文库。 **结论** 利用具有交叉中和活性的 SFTS 恢复期患者血源建立了人源抗 SFTSV Fab 片段的噬菌体展示抗体文库,为下一步筛选特异性单克隆中和抗体建立了可靠的前期基础。

【关键词】 SFTSV;噬菌体展示抗体文库;库容量;人源单克隆抗体

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)11-1251-04

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Nov.;19(11):1251-1254,1259.]

Construction of phage display antibody library of human monoclonal Fab antibody against Dabie Bandavirus

XU Jiabin, WANG Jingjing, WANG Lin, XU Ruijie, WU Yulong, LI Boqing, QIAO Yuanyuan
(Department of Pathogen Biology, College of Basic Medicine, Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong, China)

【Abstract】 Objective To construct a phage display antibody library of human anti-Dabie bandavirus (SFTSV) Fab fragment with potentially neutralizing activity. **Methods** Peripheral blood specimens of patients recovering from SFTS were collected, and peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from the specimens with cross-neutralization activity. Then PBMCs were subjected to extract total RNA, and cDNA was obtained by reverse transcription PCR (RT-PCR) using these total RNAs as template. The first round PCR amplification of sequences of heavy chain variable region (VH) and light chain variable region (V κ and V λ) was finished using cDNA as template, similarly, heavy chain constant (CH₁) and light chain constant (C κ , C λ) were obtained using pComb3XTT and pComb3X λ as templates. The second round PCR amplification of heavy chain (Fd), light chains (κ and λ) was finished by splicing overlap extension (SOE-PCR). The complete Fab gene was obtained by SOE-PCR using the second round amplified products as the template. After inserting into pComb3XSS phage plasmid, a phage display Fab fragment of antibody library against SFTSV was constructed. **Results** The antibody Fab fragment sequences were amplified by three rounds of PCR, and a phage display antibody library with storage capacity of 1.875×10^9 was successfully constructed. **Conclusion** A phage display antibody library was successfully constructed using blood specimens from SFTS convalescent patients with cross-neutralizing antibodies, which provided a reliable basis for further screening of specific neutralizing antibodies.

【Keywords】 SFTSV; phage display antibody library; storage capacity; human monoclonal antibody

^{***}严重发热伴血小板减少综合征(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)是由大别班达病毒(Dabie bandavirus, severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, SFTSV)引起,由于疫情蔓延速度快、致死率高,缺乏特效药物和预防疫苗,该病对公众健康和安全构成巨大威胁^[1]。目前针

^{*} **【基金项目】** 山东省自然科学基金项目(No. ZR2020MH169)。

^{**} **【通讯作者】** 乔媛媛, E-mail: qiaoyuanyuan_888@163.com
李波清, E-mail: sdliboqing@163.com

【作者简介】 徐家馨(1999-),女,河南南阳人,在读硕士,主要从事噬菌体抗体库构建研究。E-mail: xu15393721613@163.com
徐家馨和王静静为共同第一作者。

对 SFTS 的有效抗病毒药物仍然有限^[2],疫苗和新药的研发生成热点。有研究显示 SFTS 患者恢复期血清中的中和抗体呈阳性,提示特异性中和抗体具有潜在的治疗价值^[3]。

噬菌体展示抗体技术是一种体外单克隆抗体筛选技术,该技术不依赖于体内的免疫反应,可避免使用实验动物^[4],并可用于发现针对几乎所有类型抗原及单个靶点多表位的抗体。基于噬菌体展示抗体技术原理,研究人员通常在丝状噬菌体上构建抗体文库来筛选抗原特异性单克隆抗体^[5]。该技术利用 PCR 扩增出抗体的基因序列,将其插入到噬菌体外壳蛋白结构基因中,抗体分子 Fab 或单链抗体(scFv)与噬菌体的外壳蛋白形成融合蛋白,并随着子代噬菌体的重新组装展示在噬菌体表面,同时又可以保持相对的空间结构和生物活性^[6]。这种技术将表型与基因型联系在一起,利用噬菌体的生物学特征,将抗体识别抗原的能力与噬菌体扩增的能力相结合,是一项较为高效的表达与筛选体系,在生物领域应用广泛^[7]。

人源特异性抗 SFTSV 的 Fab 抗体片段属于重组蛋白,是一种基因工程抗体形式。Fab 片段为抗体重链(Fd)的 VH+CH₁ 与一条完整分子的轻链组成的异二聚体,中间由一个链间二硫键连接^[8]。Fab 的分子量大于 scFv,形式更接近于完整抗体,其抗原结合能力比 scFv 强且在噬菌体展示中具有较高的结构稳定性^[9],在制备基因工程抗体药物具有广泛应用前景。

本研究利用具有交叉中和活性的 SFTS 恢复期患者的血液样本,构建人源特异性抗 SFTSV 抗体 Fab 片段的噬菌体展示文库,为后期筛选高特异性、治疗性中和抗体奠定了可靠的前期基础。

材料与方法

1 材料

1.1 临床样本及质粒 3 名 SFTS 恢复期患者外周血样本由烟台市某医院提供,构建噬菌体展示抗体文库所用质粒 pComb3XSS、pComb3XTT、pComb3Xλ 均购自森灵生物。所用样本经滨州医学院伦理委员会论证通过。

1.2 主要试剂 人淋巴细胞分离液购自索莱宝生物科技有限公司,SfiI 限制性内切酶、T4 连接酶购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,琼脂糖凝胶回收试剂盒购自德国 QIAGEN 公司,逆转录试剂盒购自思科捷生物科技有限公司,Fast pfu DNA 聚合酶购自北京全式金生物技术有限公司,XL1-Blue 大肠埃希菌购自庄盟生物。

2 方法

2.1 引物设计及合成 根据噬菌体展示抗体文库实

验手册设计合成人源抗体重链可变区(VH)、轻链可变区(VL,包括 Vκ 和 Vλ)、重链恒定区、轻链恒定区以及 SOE-PCR 引物^[10]。其中 12 对 VH 的引物,4 对 Vκ 的引物,9 对 Vλ 的引物,各 1 对重链恒定区 CH₁、轻链恒定区 Cκ、轻链恒定区 Cλ 的引物,4 对 SOE-PCR 的引物,引物由青岛擎科生物公司合成。

2.2 恢复期患者 PBMC 分离及总 RNA 提取 将收集到的 SFTS 恢复期患者外周血与 Hank's 液按照体积 1:1 混匀,沿管壁缓缓加入到等体积的淋巴细胞分离液中,2 000 r/min 离心 20 min,吸取云雾层 PBMC,使用 Hank's 液洗涤细胞 2 次。TRIzol 法提取总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书将提取的 RNA 逆转录成 cDNA。

2.3 人源抗体可变区及恒定区基因序列的扩增 以上述 cDNA 为模板,第一轮 PCR 扩增人源抗体可变区基因序列 VH、Vκ 和 Vλ,将所有 VH、Vκ 和 Vλ 的 PCR 产物分别混匀,2%琼脂糖凝胶回收。CH₁、Cκ 以 pComb3XTT 为模板,Cλ 以 pComb3Xλ 为模板扩增重链和轻链恒定区,同样 2%琼脂糖凝胶回收。PCR 反应条件参照 Taq 酶反应说明书。

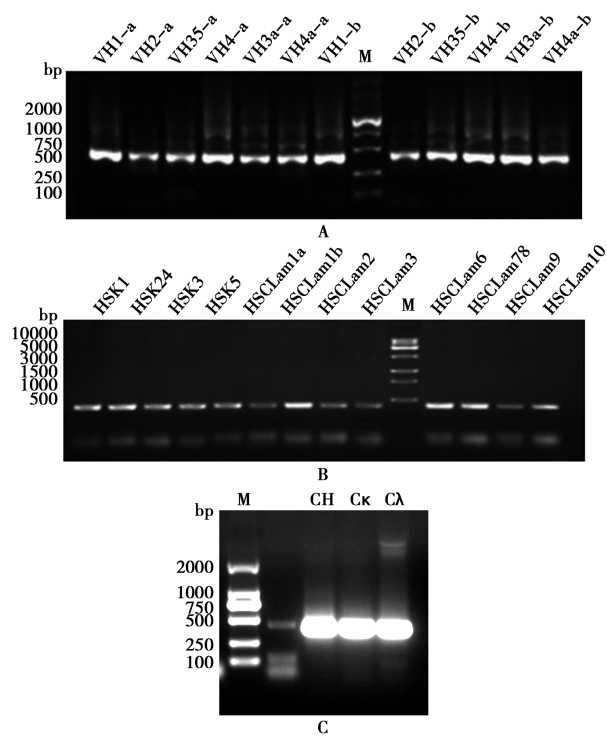
2.4 抗体重链和轻链基因随机拼接 第二轮 PCR 将重链可变区 VH 与恒定区 CH₁,轻链可变区 Vκ 与恒定区 Cκ,轻链可变区 Vλ 与恒定区 Cλ 分别以质量比 1:1 混合进行第一轮重叠 PCR(splicing overlap extension,SOE-PCR)。第三轮 PCR 将重链 VHCH 与 VκCκ、重链 VHCH 与 VλCλ 分别以质量比 1:1 混合进行第二轮 SOE-PCR。将第三轮 PCR 产物 VHCH-VκCκ 和 VHCH-VλCλ 混合并进行切胶回收。使用 SfiI 分别酶切 pComb3XSS 噬菌粒载体及纯化的 PCR 产物,回收后将二者混合 16 °C 连接过夜。

2.5 构建 SFTSV 人源抗体 Fab 噬菌体展示文库 将纯化后的上述连接产物与 XL1-Blue 感受态细胞混匀后电转,立即加入 10 mL 37 °C 预热的 SOC 培养基,37 °C 振荡培养 1 h,再加入 5 mL 37 °C 预热的含 Amp 和 Tet 抗生素的 SB 培养基(3 μL 100 mg/mL Amp, 30 μL 5 mg/mL Tet),37 °C 培养 1 h 后,再加入 4.5 μL 100 mg/mL Amp,37 °C 振荡培养 1 h。加入辅助噬菌体 VCSM13 混匀后,再加入 183 mL SB 培养基(92.5 μL Amp,370 μL Tet),37 °C 振荡培养 2 h 后加入 Kana 抗生素至 70 μg/mL 振荡培养过夜。次日离心收集上清,加入 8 g PEG-8000,6 g NaCl 37 °C 摇 5 min,置冰上孵育 30 min。4 °C 15 000 g 离心 15 min 后,弃上清,倒置 10 min。再使用 2 mL 的 1% BSA 重悬沉淀,转入 2 mL 离心管中,4 °C 全速离心 15 min,0.2 μm 细菌滤器过滤上清。分装后置于-80 °C 长期保存。

结 果

1 PCR 扩增人源抗体序列

第一轮 PCR 以 cDNA 为模板扩增抗体重链可变区序列,得到 12 种 VH 的 PCR 产物,PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳显示相对分子量大小约 450 bp,与预期片段大小一致(图 1A)。以 cDNA 为模板扩增抗体轻链(V κ 、V λ)可变区序列,分别得到 4 种 V κ 的 PCR 产物和 9 种 V λ 的 PCR 产物,PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳显示相对分子量大小约 450 bp,与预期片段大小一致(图 1B)。以 pComb3XTT 为模板扩增抗体重链和轻链 κ 恒定区序列,以 pComb3X λ 为模板扩增抗体轻链 λ 恒定区序列,PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳显示相对分子量大小约 450 bp,与预期片段大小一致(图 1C)。



A VH 基因的 PCR 扩增产物 M DNA 标志物 2000 B V κ 、V λ 基因的 PCR 扩增产物 M DNA 标志物 10000 C 抗体恒定区基因 PCR 扩增产物 M DNA 标志物 2000

图 1 人源抗体可变区和恒定区基因的鉴定

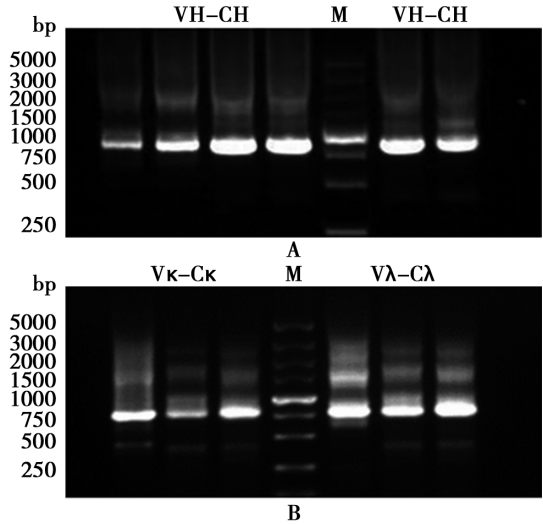
A PCR amplification product of VH gene M DNA marker 2000 B PCR amplification products of V κ and V λ genes M DNA marker 10000 C PCR amplification products of antibody constant region genes M DNA marker 2000

Fig. 1 Identification of variable and constant region genes of human antibody

2 SOE-PCR 扩增 Fab 产物

第二轮 PCR 分别以重链可变区 VH 与恒定区 CH₁ 基因、轻链可变区 V κ 与恒定区 C κ 基因、轻链可变区 V λ 与恒定区 C λ 基因为模版,进行第一轮 SOE-PCR,得到重链 Fd 和完整的 κ 轻链和 λ 轻链,相对分子量大小约 750 bp,与预期相符(图 2)。利用第一轮

SOE-PCR 产物 VH-CH、V κ -C κ 和 V λ -C λ 为模版,进行第二轮 SOE-PCR,得到相对分子量大小约 1 500 bp Fab 产物 VHCH-V κ C κ 和 VHCH-V λ C λ ,与预期片段大小相符(图 3)。

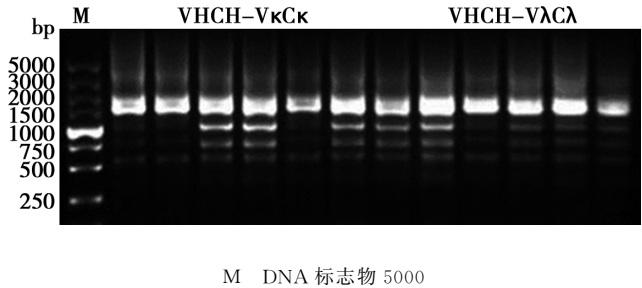


A 重链 Fd 基因的 PCR 产物 M DNA 标志物 5000 B 轻链基因的 PCR 产物 M DNA 标志物 5000

图 2 SOE-PCR 产物琼脂糖凝胶电泳分析

A PCR product of heavy chain Fd gene M DNA marker 5000 B PCR products of light chain genes M DNA marker 5000

Fig. 2 SOE-PCR products by agarose gel electrophoresis



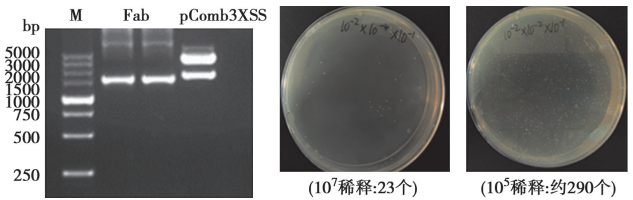
M DNA 标志物 5000

图 3 Fab 基因的鉴定

Fig. 3 Identification of Fab gene

3 SFTSV 人源 Fab 噬菌体展示抗体文库的构建

上述分子量为 1 500 bp 的 SOE-PCR 产物和 pComb3XSS 载体分别经 SfiI 酶切后(图 4A),通过 T4 连接酶过夜连接,连接产物经纯化后,电转感受态细胞,计算得出库容量为 2.5×10^9 (图 4B)。



A SfiI 酶切结果 M DNA 标志物 5000 B 电转化结果

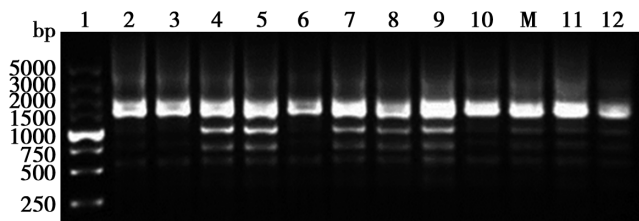
图 4 Fab 噬菌体抗体展示文库的构建

A Results of SfiI enzyme digestion M DNA marker 5000 B Results of electrical transformation

Fig. 4 Construction of Fab phage antibody library

4 噬菌体展示 Fab 抗体文库容量的鉴定

为了进一步确认抗体文库的质量,从输出平板上随机挑取 12 个单克隆,过夜摇菌并提取质粒,经 SfiI 酶切鉴定,12 个单克隆中 9 个正确条带,可初步认为 Fab 抗体文库的插入率为 75%。因此,我们成功构建了库容量为 1.875×10^9 的噬菌体展示抗体文库。



M DNA 标志物 5000 1~12 SfiI 酶切产物

图 5 Fab 片段插入率鉴定

M DNA marker 5000 1-12 SfiI digestion products

Fig. 5 Identification of Fab fragment insertion rate

讨 论

2010-2021 年我国大陆地区有 27 个省份累计报告 SFTS 病例 1.8 万余例,平均病死率为 5.1%^[11],其中合并多脏器功能衰竭及中枢神经系统受累的患者病死率高达 44.7%。既往有基础疾病的老年患者,或出现神经症状、有明显出血倾向、出现低钠血症等症状的患者易发展为重症患者,且预后较差^[12]。目前没有专门针对 SFTS 的特异性防治措施,临床上主要采用对症治疗和支持治疗^[13-14],因此开发人源抗体治疗 SFTS 是一个有前途的手段。前期我们筛选了一批具有中和活性的 SFTS 血源,利用其中 3 个恢复期患者的血源建立了噬菌体展示抗体文库^[15-16]。

噬菌体展示抗体文库技术正逐渐用于制备那些难以从杂交瘤技术中得到的抗体^[17],该技术可极大地缩短抗体制备周期,使得大规模体外制备抗体成为可能。高质量的噬菌体展示抗体文库,是制备高特异性抗体的保证^[18],如今,噬菌体展示文库被用作发现和改良基于肽或者蛋白的药物以及靶向分子的强大工具,特别是单克隆抗体及其片段(即 scFv, Fab 或二价 F(ab')₂)。该技术可以筛选出具有高亲和力、强特异性和针对各种靶标效应功能的抗体片段(scFv/Fab)^[19]。

用于构建文库的大肠埃希菌感受态须含有 F' 因子编码形成的菌毛,丝状噬菌体通过这些菌毛感染大肠埃希菌,我们使用的大肠埃希菌 XL1-Blue 基因型 *recA* *endA* *lac* *gyl* *pro* *AB* *lacI* *q* *Z* Δ *M15*: *Tn10* (*tet*^r),该菌株能保证高拷贝质粒复制的稳定性,*recA* 和 *endA* 位点的突变有利于增加插入 DNA 的稳定性和提取到高纯度的质粒;*hsdR17* 位点突变导致 EcoK 核酸内切酶系统缺失,增强了外源 DNA 的稳

定性,该菌株具有四环素抗性,适用于抗体展示文库的构建。

噬菌体展示抗体文库的库容量受很多因素影响,例如电转化条件、感受态的转化效率、连接产物的纯度、PCR 的扩增效率等,库容量达到 10^9 以上更能保证文库中抗体的多样性,有利于后期筛选到有价值的单克隆抗体。因此建库所用的感受态的转化效率十分重要,本研究使用的感受态经过检测,转化效率最高能达到 10^{10} ,满足建库需求。除此之外,合适的电转化条件也至关重要,经过多次探索,使用 2 mm 电转杯,电压为 2.5 kV 时,转化效率最高。电转前需要彻底清洗电转杯,电转时应避免出现水雾,产物分多次电转,尽量保证所有连接产物充分转入到感受态中。为了提高产物的连接效率,经过反复摸索发现,采用小体积连接体系,载体与片段摩尔比为 1:5,16 °C 过夜连接效果最好。

本研究利用具有交叉中和活性的 SFTS 恢复期患者血源,构建了库容量为 1.875×10^9 的人源抗 SFTSV Fab 片段的噬菌体展示抗体文库,为后续筛选出具有临床治疗价值的高特异性单克隆中和抗体奠定了可靠的前期基础。

【参考文献】

- [1] Ren YT, Tian HP, Xu JL, et al. Extensive genetic diversity of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus circulating in Hubei Province, China, 2018-2022 [J]. Plos Neglect Trop D, 2023, 17(9): e0011654.
- [2] Park JY, Chandran S, Hewawaduge C, et al. Development and evaluation of a mouse model susceptible to severe fever with thrombocytopenia syndrome virus by rAAV-based exogenous human DC-SIGN expression [J]. Microb Pathogenesis, 2023, 178: 106079.
- [3] Zhan JB, Wang Q, Cheng J, et al. Current status of severe fever with thrombocytopenia syndrome in China [J]. Virol Sin, 2017, 32(1): 51-62.
- [4] Pansri P, Jaruseranee N, Rangnoi K, et al. A compact phage display human scFv library for selection of antibodies to a wide variety of antigens [J]. BMC Biotechnol, 2009, 9: 1-16.
- [5] 王加利, 和似琦, 康子茜, 等. 噬菌体抗体展示技术及其在抗新冠病毒抗体发现中的应用 [J]. 生物技术通报, 2022, 38(5): 248-256.
- [6] Fu YF, Li SB, Zhang Z, et al. Phylogeographic analysis of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus from Zhoushan Islands, China: implication for transmission across the ocean [J]. Sci Rep-Uk, 2016, 6: 19563.
- [7] Zhang Y. Evolution of phage display libraries for therapeutic antibody discovery [J]. Mabs-Austin, 2023, 15(1): 2213793.
- [8] McGuinness BT, Walter G, Fitzgerald K, et al. Phage diobody repertoires for selection of large numbers of bispecific antibody fragments [J]. Nat Biotechnol, 1996, 14(9): 1149-1154.

(下转 1259 页)

- [2] 黄燕,王明英,冯军艳,等. 妊娠期B族溶血性链球菌感染的影响因素研究[J]. 中国全科医学,2022,25(9):1118-1122.
- [3] Yuan XY,Liu HZ,Liu JF,et al. Pathogenic mechanism,detection methods and clinical significance of group B *Streptococcus* [J]. Future Microbiol,2021,16(1):671-685.
- [4] 云红叶,程虹,于欣荣,等. 阴道微环境改变和高迁移率蛋白A2水平变化与HPV感染及宫颈病变的关系研究[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(8):955-959.
- [5] Ravi D,Ntinopoulou E,Guetta N,et al. Dysregulated monocyte-derived macrophage response to Group B *Streptococcus* in newborns[J]. Front Immunol,2023,14(1):1268804-1268811.
- [6] Coleman M,Orvis A,Brokaw A,et al. GBS hyaluronidase mediates immune suppression in a TLR2/4- and IL-10-dependent manner during pregnancy-associated infection[J]. mBio,2023,14(5):4923-4926.
- [7] Castro-Leyva V,Arenas-Huertero F,Espejel-Nuñez A,et al. miR-21 differentially regulates IL-1 β and IL-10 expression in human decidual cells infected with *Streptococcus* B[J]. Reprod Biol,2022,22(1):100604-100608.
- [8] 蒋玉,潘珂,尚志容,等. 妊娠晚期女性B族链球菌感染状态与阴道微生态及妊娠结局的相关性分析[J]. 中国病案,2020,21(3):103-107.
- [9] Menichini D,Chiossi G,Monari F,et al. Supplementation of probiotics in pregnant women targeting group b *Streptococcus* colonization: A systematic review and meta-analysis [J]. Nutrients,2022,14(21):4520-4526.
- [10] Kurian NK,Modi D. Mechanisms of group B *Streptococcus*-mediated preterm birth:lessons learnt from animal models[J]. Reprod Fertil,2022,3(3):109-120.
- [11] 乔益梦,范倩倩,张小妹,等. 妊娠期糖尿病阴道微生态与不良围产结局的研究进展[J]. 医学研究与战创伤救治,2023,36(7):780-784.
- [12] 钱琳玉,梁卫芳,唐思晨. 妊娠糖尿病患者 NLRP3、CTRP6 和 IL-1 β 检测的临床意义[J]. 检验医学,2023,38(10):936-940.
- [13] Mitchell K,Brou L,Bhat G,et al. Group B *Streptococcus* colonization and higher maternal IL-1 β concentrations are associated with early term births[J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2013,26(1):56-61.
- [14] Zhang W,Wan Y,Zhang Y,et al. Vaginal microecological imbalance and expression of serum inflammatory factors in pregnant women with group B *Streptococcus* infection and pregnancy outcome[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand),2023,69(15):148-153.
- [15] Saxton RA,Tsutsumi N,Su LL,et al. Structure-based decoupling of the pro- and anti-inflammatory functions of interleukin-10[J]. Science,2021,371(6535):8433-8436.
- [16] 谭诗,余华,李秋红,等. 母体血清 IL-10 和 RANTES 预测早产发生的研究[J]. 中国妇幼保健,2019,34(14):3179-3181.
- [17] 卢霞,何晓丽,玛依努尔古丽·热西提,等. 妊娠期糖尿病患者血清 HGF、IL-10 对不良妊娠结局预测价值[J]. 疑难病杂志,2023,22(2):182-186,192.
- [18] 雷焕,何娅,曾楚迪,等. 未足月胎膜早破合并羊膜腔感染危险因素及外周血 miR-182、miR-200、miR-21 的预测价值[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(13):2056-2060.
- [19] 吴小妹,王丽,邢增丽. 妊娠期 HPV 感染对阴道微生态及母儿结局的影响[J]. 中南大学学报(医学版),2021,46(5):497-502.
- 【收稿日期】 2024-04-08 【修回日期】 2024-07-01

(上接 1254 页)

- [9] 刘碧霞,刘媛,谢静,等. 噬菌体展示技术在全人源性抗体发现中的应用 [J]. 免疫学杂志,2023,39(10):910-915.
- [10] By Carlos F,Barbas DRB,Jamie K,et al. Phage display: A laboratory manual [M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press Bookstore,2001:736
- [11] Casel MA, Park SJ, Choi YK. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus:emerging novel phlebovirus and their control strategy [J]. Exp Mol Med,2021,53(5):713-722.
- [12] Li J,Li S,Yang L,et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: a highly lethal bunyavirus [J]. Crit Rev Microbiol,2021,47(1):112-125.
- [13] Liu W,Lu QB,Cui N,et al. Case-fatality ratio and effectiveness of ribavirin therapy among hospitalized patients in China who had severe fever with thrombocytopenia syndrome [J]. Clin Infect Dis,2013,57(9):1292-1299.
- [14] Oh WS,Heo ST,Kim SH,et al. Plasma exchange and ribavirin for rapidly progressive severe fever with thrombocytopenia syndrome [J]. Int J Infect Dis,2014,18:84-86.
- [15] 曹卫友,王欣,刘硕,等. 发热伴血小板减少综合征患者血清内抗体 IgG 中和活性及其影响因素分析[J]. 病毒学报,2022,38(1):123-128.
- [16] Xu JX,Liu YN,Zhang F,et al. Analysis of cross neutralizing activity of antibodies from sera of severe fever with thrombocytopenia syndrome patients to deal with different genotype strains [J]. Front Microbiol,2022,13:1020545.
- [17] 潘博,童贻刚. 噬菌体抗体库技术及其应用研究进展[J]. 生物技术通讯,2010,21(4):581-585,589.
- [18] 张文帅,曾晓燕,迟莹,等. 严重发热血小板减少综合征病毒(SFTSV)人源性单抗抗体文库的构建[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2018,34(5):390-394.
- [19] Tohidkia MR,Barar J,Asadi F,et al. Molecular considerations for development of phage antibody libraries [J]. J Drug Target,2012,20(3):195-208.
- 【收稿日期】 2024-05-11 【修回日期】 2024-08-01