(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
2023 年 11 月 30 日 (30.11.2023)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2023/227033 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 19/02* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/096076

(22) 国际申请日: 2023 年 5 月 24 日 (24.05.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210599888.X 2022年5月25日 (25.05.2022) CN
202211318610.7 2022年10月26日 (26.10.2022) CN

(71) 申请人: 映恩生物制药（苏州）有限公司 (**DUALITY BIOLOGICS (SUZHOU) CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区樱花路868号1106室, Shanghai 201204 (CN)。

(72) 发明人: 李曦 (**LI, Xi**); 中国上海市浦东新区樱花路868号1106室, Shanghai 201204 (CN)。花海清 (**HUA, Haiqing**); 中国上海市浦东新区樱花路868号1106室, Shanghai 201204 (CN)。朱忠远 (**ZHU, Zhongyuan**); 中国上海市浦东新区樱花路868号1106室, Shanghai 201204 (CN)。

(74) 代理人:北京市中咨律师事务所 (**ZHONGZI LAW OFFICE**); 中国北京市西城区平安里西大街26号新时代大厦7层, Beijing 100034 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。
— 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(54) **Title:** ANTI-BDCA2 ANTIBODY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗BDCA2抗体及其用途

(57) **Abstract:** The present invention provides an antibody or antigen-binding fragment thereof specifically binding to BDCA2, and a composition comprising the antibody or antigen-binding fragment thereof. The present invention further provides a nucleic acid molecule encoding the antibody or antigen-binding fragment thereof of the present invention, a vector for expressing the antibody or antigen-binding fragment thereof of the present invention, and a host cell, and a treatment and diagnosis method and use of the antibody or antigen-binding fragment thereof of the present invention.

(57) 摘要: 本发明提供了与BDCA2特异性结合的抗体或其抗原结合片段和包含其的组合物。还提供了编码本发明抗体或其抗原结合片段的核酸分子，用于表达本发明抗体或其抗原结合片段的载体和宿主细胞，以及本发明抗体或其抗原结合片段的治疗和诊断方法和用途。

WO 2023/227033 A1

抗 BDCA2 抗体及其用途

技术领域

本发明涉及单克隆抗体和/或工程化抗体领域，具体地，本发明提供了与 BDCA2 特异性结合的抗体或其抗原结合片段和包含其的组合物。还提供了编码本发明抗体或其抗原结合片段的核酸分子，用于表达本发明抗体或其抗原结合片段的载体和宿主细胞，以及本发明抗体或其抗原结合片段的治疗和诊断/检测方法和用途。

背景技术

随着医学研究的深入，已经发现多种疾病与免疫系统的功能失调相关，对于免疫系统的研究有助于进一步了解其发病机制并寻求效果更优的治疗方案。

免疫系统是由许多细胞类型组成的高度复杂的系统，包括但不限于 T 细胞，B 细胞，自然杀伤细胞，抗原呈递细胞，树突状细胞，单核细胞和巨噬细胞。这些细胞拥有复杂而微妙的系统来控制其相互作用和响应。细胞利用激活和抑制机制以及反馈回路来保持反应的控制，并且尽可能防止不受控制的免疫反应（例如，自身免疫疾病）带来的负面后果。在与免疫相关的多条信号通路之中，有大量信号分子及其相互作用的参与。

血液树突细胞抗原 2(Blood DC Antigen 2，BDCA2)是一种在人浆细胞样树突细胞(plasmacytoid dendritic cell，pDC)上表达的 C 型凝集素(Dzioneketal.,J.Immunol.,165:6037-6046(2000))。BDCA2 由在其 C 端的单个胞外碳水化合物识别域(CRD)(其属于 II 类 C 型凝集素组)、从第 45 位天冬酰胺残基至第 213 位异亮氨酸残基的跨膜区和在其 N 端的短胞质尾区(其不含信号基序)组成。BDCA2 通过相关的跨膜衔接子 FcεRIγ 传播胞内信号，并诱导 B 细胞受体(BCR)样信号传导级联。

发明内容

本发明提供了抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，其具有针对人和食蟹猴 BDCA2 的高亲和力和高特异性等优势。本发明提供的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段可作为独立的疗法或与其它疗法/或其他药剂联合，用于诸如炎症性病症/疾病的治疗。

本文所述的抗 BDCA2 抗体抑制人浆细胞样树突细胞(pDC)产生和/或分泌炎性细胞因子和趋化因子。此外，本文所述的抗 BDCA2 抗体可以下调 pDC 的表面上 CD32a 和/或 CD62L 的水平。另外，本公开的抗 BDCA2 抗体可介导 BDCA2 从 pDC 的表面的内吞。此外，本文描述的抗 BDCA2 抗体可用于通过 ADCC 或 CDC 消耗 pDC 并且可用于治疗或预防免疫病症，例如炎性病症和自身免疫性病症。

在一个方面，本发明提供了一种抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，其中所述抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和/或轻链可变区：

所述重链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示的 HCDR1、

HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:46 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:46 和 SEQ ID NO:47 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VII) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:50 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:50 和 SEQ ID NO:47 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(IX) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:37 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:37 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和/或

所述轻链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:48 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:48 和 SEQ ID NO:49 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VII) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:51 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:51 和 SEQ ID NO:49 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IX) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I) 重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 所示的 HCDR1、HCDR2，如 SEQ ID NO:27 或 SEQ ID NO:37 所示的 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(V)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VI)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:46 或 50 所示的 HCDR2 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:48 或 SEQ ID NO:51 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR3；或

(VII) 重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14 或 SEQ ID NO:86 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:15 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区：

(I) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:61 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:62 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:65 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:66 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:67 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:68 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(IV) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:69 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:70 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(V) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:71 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:68 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VI) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:72 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 72 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:73 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 73 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VII) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:76 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述

轻链可变区包含如 SEQ ID NO:77 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VIII) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:80 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 80 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:79 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 79 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(IX) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:82 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 82 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:83 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:87-110 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 87-110 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:135-158 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 135-158 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:111-134 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:111-134 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:159-182 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:159-182 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

（III）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:89 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:137 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 137 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

（IV）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:106 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 106 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:154 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 154 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

（V）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:114 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 114 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:162 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 162 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:87-110 中任一项所示的氨基酸序列，和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:135-158 中任一项所示的氨基酸序列；或

(II)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:111-134 中任一项所示的氨基酸序列，和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:159-182 中任一项所示的氨基酸序列；或

（III）所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:89 所示的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:137 所示的氨基酸序列；

（IV）所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:106 所示的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:154 所示的氨基酸序列；

（V）所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:114 所示的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:162 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人抗体。在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体为人源化抗体。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、scFv 和 sdAb。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段是任何 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，优选为 IgG1 亚型。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 183 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链；或

(II) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 184 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链；或

（III）氨基酸序列如 SEQ ID NO: 185 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO:188 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 183 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示的轻链；或

(II) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 184 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示的轻链；或

（III）氨基酸序列如 SEQ ID NO: 185 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO:188 所示的轻链。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I)与 SEQ ID NO: 183 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示的轻链；或

(II)与 SEQ ID NO: 184 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示的轻链；或

(III)与 SEQ ID NO: 185 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 188 所示的轻链。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 191、SEQ ID NO: 192 或 SEQ ID NO: 193 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示的轻链；或

(II) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 194、SEQ ID NO: 195 或 SEQ ID NO: 196 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示的轻链。

在一些实施方式中，本发明所述的抗体或其抗原结合片段，其为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、或全人抗体，或其抗原结合片段。

在一些实施方式中，本发明所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗原结合片段为 Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、scFv 或 sdAb。

在一些实施方式中，本发明所述的抗体或其抗原结合片段，其中抗体或其抗原结合片段是任何 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，优选为 IgG1 亚型或 IgG4 亚型。

在另一个方面，本发明提供了一种分离的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，其具有以下特性中的一种或多种：

(1)与本发明的任何一种抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段结合相同或者完全或部分重叠的人 BDCA2 蛋白的表位；

(2)与本发明的任何一种抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段竞争结合人 BDCA2 蛋白的表位。

在一些实施方式中，本发明的抗体或其抗原结合片段，其具有以下特性中的一种或多种：

(1)以高亲和力与人/食蟹猴 BDCA2 蛋白结合，例如，表现出 1.0×10^{-6} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-10} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-10} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-10} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-11} M 或更低的 K_D 值或 2.5×10^{-11} M 或更低的 K_D 值；

(2) 抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα，例如，使得靶细胞的 IFNα 的产生减少了至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%；

(3) 在与 BDCA2 结合后促进 BDCA2 从细胞表面的内吞，例如，使得细胞表面至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%的 BDCA2 分子发生内吞。

在一些实施方式中，本发明所述的抗体是单克隆抗体。

本发明还提供了一种多特异性抗体，包含本文所述抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和重链可变区。

本发明还提供了一种单链抗体，包含本文所述抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和重链可变区。

本发明还提供了一种免疫缀合物，其包含与治疗剂或诊断剂缀合的本文所述抗体或其抗原结合片段，优选地，治疗剂或诊断剂是抗炎药或免疫抑制剂。

在又一个方面，本发明提供了多核苷酸分子，其编码本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了表达载体，其包含本文所述的多核苷酸分子，优选地，所述载体为真核表达载体。

在又一个方面，本发明提供了宿主细胞，其包含本文所述的多核苷酸分子或本文所述的表达载体，优选地，所述宿主细胞是真核细胞，更优选哺乳动物细胞。

在又一个方面，本发明提供了制备本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下在本文所述的宿主细胞中表达所述抗体或其抗原结合片段，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了药物组合物，其包含本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，和药学上可接受的载体或赋形剂。

在又一个方面，本发明提供了药物组合，其包含如本文所述的抗体或其抗原结合片段或药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂。

在又一个方面，本发明提供了一种抑制受试者免疫细胞释放细胞因子 IFNα 的方法，所述方法包括将本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段或药物组合物接触受试者免疫细胞，优选地，所述免疫细胞为 CpG-A 刺激的 PBMC 细胞。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合在制备用于治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病的药物中的用途，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合，其用于治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、表皮性红斑狼疮、狼疮性肾炎、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗或预防有效量的本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合，优选其进一步包括给药装置。

在又一个方面，本发明提供了一种使用本文所述的抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物检测 BDCA2 在样品中的存在的方法。

附图说明

图 1 所示为 FACS 法检测杂交瘤抗体与表达人 BDCA2 分子的人 CHOK1-hBDCA2 稳定转染细胞结合测定的结果。小图 a-e 分别涉及来自不同杂交瘤的抗体，如图例所标注。

图 2 所示为 FACS 法检测杂交瘤抗体与表达食蟹猴 BDCA2 分子的 293F-cynoBDCA2 稳定转染细胞结合。测定的结果。小图 a-e 分别涉及来自不同杂交瘤的抗体，如图例所标注。

图 3 所示为 FACS 法检测抗 BDCA2 嵌合抗体与人 CHOK1-hBDCA2 细胞结合测定的结果。小图 a-c 分别涉及来自不同的嵌合抗体，如图例所标注。

图 4 所示为人源化抗体内吞能力检测。小图 a 为 hu005 组人源化抗体以 100nM 浓度进行测定的结果。小图 b 为 hu005 组人源化抗体以 10nM 浓度进行测定的结果。小图 c 为 hu033 组人源化抗体以 100nM 浓度进行测定的结果。小图 d 为 hu033 组人源化抗体以 10nM 浓度进行测定的结果。

图 5 所示为 FACS 法检测 Fc 改造后抗体与细胞结合能力。小图 a 为与 CHOK1-Human hBDCA2 细胞结合测定的结果。小图 b 为与 293-Cyno BDCA2 细胞结合测定的结果。

图 6 所示为 FACS 检测 Fc 改造后人源化抗体内吞能力。小图 a 为人源化抗体以 100nM 浓度进行测定的 MFI 结果。小图 b 为人源化抗体以 10nM 浓度进行测定的 MFI 结果。小图 c 为人源化抗体以 1nM 浓度进行测定的 MFI 结果。小图 d 为人源化抗体以 100nM 浓度进行测定的表面信号百分比。小图 e 为人源化抗体以 10nM 浓度进行测定的表面信号百分比。小图 f 为人源化抗体以 1nM 浓度进行测定的表面信号百分比。

图 7 所示为 Fc 改造后人源化抗体对 SLE-IC 引起的 PBMC 分泌 IFNa 抑制作用。

具体实施方式

定义

除非另有说明，本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术，这些都在本领域的技术范围内。

为了可以更容易地理解本发明，某些科技术语具体定义如下。除非本文其它部分另有明确定义，否则本文所用的科技术语或表述都具有本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义。

关于本领域的定义及术语，专业人员至少部分地可以具体参考 Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel)。氨基酸残基的缩写遵循本领域中所用的指代 20 个常用 L-氨基酸之一的标准 3 字母和/或 1 字母代码。本文（包括权利要求书）所用单数形式包括其相应的复数形式，除非文中另有明确规定。

术语“约”在与数字数值联合使用时意为涵盖具有比指定数字数值小 5%的下限和比指定数字数值大 5%的上限的范围内的数字数值，包括但不限于±5%、±2%、±1%和±0.1%，因为这些变化适于进行所公开的方法。

术语“和/或”应理解为意指可选项中的任一项或可选项中的任意两项或更多项的组合。

如本文所用，术语“或”应被理解为与如上定义的“和／或”具有相同的含义。例如，当分离列表中的项目时，“或”或“和／或”应被解释为包容性的，即，包括数量或元素列表中的至少一个，但也包括多于一个，以及任选地，额外的未列出的项目。只有明确指出相反的术语下，例如“只有一个”或“的确一个”或者在权利要求中使用“由．．．组成”时，将指的是仅列出的一个数字或列表的一个元素。

除非上下文明确指出相反的情况，否则如本文所用，词“一”和“一个”应理解为“至少一个”。

本文中的术语“BDCA2”是在 pDC 上特异性表达的 II 型 C-型凝集素 BDCA2，由 C-端的单个胞外糖类识别域(CRD)、从第 45 位天冬酰胺残基至第 213 位异亮氨酸残基的跨膜区和 N-端短的胞质尾区(不具有信号基序)组成。BDCA2 通过相关的跨膜衔接子 FcεRIγ 发送胞内信号。抗体介导的 BDCA2 的结合导致脾酪氨酸激酶(SYK)募集到 FcεRIγ 的基于磷酸化免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。Syk 的活化导致 B 细胞连接体(BLNK)，Bruton 酪氨酸激酶(BTK)和磷脂酶 Cγ2(PLCγ2)的激活，从而导致 Ca^{2+}的流动。

术语“BDCA2”包括人 BDCA2 的变体、亚型、物种同源物或其他物种的 BDCA2 和具有 BDCA2 的至少一个共同表位的类似物，除非另有说明。该术语包括未处理的全长 BDCA2 以及由于在细胞中处理而产生的任何形式的 BDCA2。该术语涵盖“全长”未加工的 BDCA2 以及由细胞内加工产生的任何形式的 BDCA2 或其任何片段，例如剪接变体或等位基因变体。在一个实施方式中，BDCA2 是指来自人或食蟹猴 BDCA2 全长或其片段（诸如其缺乏信号肽的成熟片段）。

术语“免疫应答”是指由例如淋巴细胞、抗原呈递细胞、吞噬细胞、粒细胞和由上述细胞或肝产生可溶性大分子（包括抗体、细胞因子和补体）的作用，该作用导致从人体选择性损害、破坏或清除侵入的病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或者在自体免疫或病理性炎症的情况下的正常人细胞或组织。

术语“人浆细胞样树突细胞（pDC）”是一种响应 toll 样受体(TLR)配体而分泌 I 型干扰素(IFN)的骨髓衍生细胞的特化群体。pDC 是细胞免疫的关键环节，涉及免疫应答和抗原耐受的诱导和启动。pDC 与普通 DC 不同，例如它们通过受体介导的内吞作用获取抗原，等等。通过模式识别受体激活的 pDC 产生的 I 型干扰素，还可以呈递抗原，从而将固有免疫应答和获得性免疫应答相关联。与此同时，pDC 的过度激活也可能对兑免疫应答过程产生负面影响，例如可能导致自身免疫病。

术语“信号转导途径”或“信号转导活性”是指通常由蛋白质间相互作用诸如生长因子对受体的结合启动的生化因果关系，所述关系导致信号从细胞的一部分传递至细胞的另一部分。一般地，传递包括引起信号转导的系列反应中的一种或多种蛋白质上的一个或多个酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸残基的特定磷酸化。倒数第二过程通常包括细胞核事件，从而导致基因表达的变化。

术语“活性”或“生物活性”，或术语“生物性质”或“生物特征”此处可互换使用，包括但不限于表位/抗原亲和力和特异性、在体内或体外中和或拮抗 BDCA2 活性的能力、IC_{50}、抗体的体内稳定性和抗体的免疫原性质。本领域公知的抗体的其它可鉴定的生物学性质或特征包括，例如，交叉反应性(即通常与靶定肽的非人同源物，或与其它蛋白质或组织的交叉反应性)，和保持哺乳动物细胞中蛋白质高表达水平的能力。使用本领域公知的技术观察、测定或评估前面提及的性质或特征，所述技术包括但不局限于 ELISA、FACS 或 BIACORE 等离子体共振分析、不受限制的体外或体内中和测定、受体结合、细胞因子或生长因子的产生和/或分泌、信号转导和不同来源(包括人类、灵长类或任何其它来源)的组织切片的免疫组织化学。

术语“抗体”是指具有所需生物活性的任何形式的抗体。因此，其以最广义使用，具体包括但不限于单克隆抗体（包括全长单克隆抗体）、多克隆抗体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、人源化抗体、全人抗体、嵌合抗体和骆驼源化单结构域抗体。

术语“分离的抗体”是指结合化合物的纯化状态，且在这种情况下意指该分子基本不含其它生物分子，例如核酸、蛋白质、脂质、糖或其它物质例如细胞碎片和生长培养基。术语“分离（的）”并非意指完全不存在这类物质或不存在水、缓冲液或盐，除非它们以明显干扰本文所述结合化合物的实验或治疗应用的量存在。

术语“单克隆抗体”是指获自基本均质抗体群的抗体，即组成该群的各个抗体除可少量存在的可能天然存在的突变之外是相同的。单克隆抗体是高度特异性的，针对单一抗原表位。相比之下，常规（多克隆）抗体制备物通常包括大量针对不同表位（或对不同表位有特异性）的抗体。修饰语“单克隆”表明获自基本均质抗体群的抗体的特征，且不得解释为需要通过任何特定方法产生抗体。

术语“全长抗体”，是指在天然存在时包含至少四条肽链的免疫球蛋白分子：两条重(H)链和两条轻(L)链通过二硫键互相连接。每一条重链由重链可变区（在本文中缩写为 VH)和重链恒定区（在本文中缩写为 CH)组成。重链恒定区由 3 个结构域 CH1、CH2 和 CH3 组成。每一条轻链由轻链可变区（在本文中缩写为 VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。VH 和 VL 区可被进一步细分为具有高可变性的互补决定区（CDR)和其间隔以更保守的称为框架区（FR)的区域。每一个 VH 或 VL 区由按下列顺序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 从氨基末端至羧基末端排列的 3 个 CDR 和 4 个 FR 组成。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白对宿主组织或因子（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（Clq))的结合。

术语抗体（“亲代抗体”）的“抗原结合片段”包括抗体的片段或衍生物，通常包括亲代抗体的抗原结合区或可变区（例如一个或多个 CDR)的至少一个片段，其保持亲代抗体的至少一些

结合特异性。抗体的结合片段的实例包括但不限于本领域所熟知的 Fab，Fab'，$F(ab')_2$ 和 Fv 片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子，例如 sc-Fv；由抗体片段形成的纳米抗体（nanobody)和多特异性抗体。在本发明的一些优选实施方案中，本发明的抗原结合片段选自 Fab，Fab'，$F(ab')_2$ 和 Fv 片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子，例如 sc-Fv；由抗体片段形成的纳米抗体（nanobody)和多特异性抗体。当抗原的结合活性在摩尔浓度基础上表示时，结合片段或衍生物通常保持其抗原结合活性的至少 10%。优选结合片段或衍生物保持亲代抗体的抗原结合亲和力的至少 20%、50%、70%、80%、90%、95%或 100%或更高。还预期抗体的抗原结合片段可包括不明显改变其生物活性的保守或非保守氨基酸取代（称为抗体的“保守变体”或“功能保守变体”）。术语“结合化合物”是指抗体及其结合片段两者。

术语“单链 Fv”或“scFv”抗体是指包含抗体的 VH 和 VL 结构域的抗体片段，其中这些结构域存在于单条多肽链中。Fv 多肽一般还包含 VH 和 VL 结构域之间的多肽接头，其使 scFv 能够形成用于抗原结合的所需结构。

术语“结构域抗体”是只含有重链可变区或轻链可变区的免疫功能性免疫球蛋白片段。在某些情况下，两个或更多个 VH 区与肽接头共价连接形成二价结构域抗体。二价结构域抗体的 2 个 VH 区可靶向相同或不同的抗原。

术语“二价抗体”包含 2 个抗原结合部位。在某些情况下，2 个结合部位具有相同的抗原特异性。然而，二价抗体可以是双特异性的。

术语“双抗体”是指具有两个抗原结合部位的小抗体片段，所述片段包含在同一多肽链（VH-VL 或 VL-VH)中与轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域（VH)。通过使用短得不允许在同一链的两个结构域之间配对的接头，迫使该结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合部位。

术语“鼠源抗体”或“杂交瘤抗体”在本公开中为根据本领域知识和技能制备的抗 BDCA2 的单克隆抗体。制备时用 BDCA2 抗原注射试验对象，然后分离表达具有所需序列或功能特性的抗体的杂交瘤。杂交瘤技术是通过融合两种细胞，并且同时还保持两者的主要特征。这两种细胞分别是经抗原免疫的小鼠脾细胞和小鼠骨髓瘤细胞。被特异性抗原免疫的小鼠脾细胞(B 淋巴细胞)的主要特征是它的抗体分泌功能，但不能在体外连续培养，小鼠骨髓瘤细胞则可在培养条件下无限分裂、增殖，即具有所谓永生性。在选择培养基的作用下，只有 B 细胞与骨髓瘤细胞融合的杂交细胞才能具有持续培养的能力，形成同时具备抗体分泌功能和保持细胞永生性两种特征的细胞克隆。在一些实施方案中，本发明通过使用 BDCA2 蛋白免疫小鼠，再获取小鼠的脾细胞和骨髓瘤细胞融合，获得能够表达阳性抗体的杂交瘤细胞。

术语“嵌合抗体”是具有第一抗体的可变结构域和第二抗体的恒定结构域的抗体，其中第一抗体和第二抗体来自不同物种。通常，可变结构域获自啮齿动物等的抗体（“亲代抗体”），而恒定结构域序列获自人抗体，使得与亲代啮齿动物抗体相比，所得嵌合抗体在人受试者中诱导不良免疫应答的可能性较低。在本发明的一些实施方案中，所述啮齿动物是小鼠或大鼠。在本发明的一些优选的实施方案中，嵌合抗体对抗原的亲和力不低于或几乎不低于亲本鼠抗体。

术语“人源化抗体”是指含有来自人和非人（例如小鼠、大鼠）抗体的序列的抗体形式。一

般而言，人源化抗体包含基本所有的至少一个、通常两个可变结构域，其中所有或基本所有的超变环相当于非人免疫球蛋白的超变环，而所有或基本所有的构架（FR)区是人免疫球蛋白序列的构架区。人源化抗体任选可包含至少一部分的人免疫球蛋白恒定区（Fc)。

术语“全人抗体”是指只包含人免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如在小鼠中、在小鼠细胞中或在来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有鼠糖链。同样，“小鼠抗体”是指仅包含小鼠免疫球蛋白序列的抗体。或者，如果在大鼠中、在大鼠细胞中或在来源于大鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有大鼠糖链。同样，“大鼠抗体”是指仅包含大鼠免疫球蛋白序列的抗体。

“同种型”抗体是指由重链恒定区基因提供的抗体种类（例如，IgM、IgE、IgG 诸如 IgGl、IgG2 或 IgG4)。同种型还包括这些种类之一的修饰形式，其中修饰已被产生来改变 Fc 功能，例如以增强或减弱效应子功能或对 Fc 受体的结合。

本文术语“Fc 区”用于定义包含至少一部分恒定区的免疫球蛋白重链的 C 端区域。该术语包括天然序列 Fc 区和变异 Fc 区。在一些实施方案中，人 IgG 重链 Fc 区从 Cys226 或 Pro230 延伸至重链的羧基末端。但是，Fc 区的 C 端赖氨酸（Lys447）可能存在或不存在（此段中的编号是根据 EU 编号系统，也称为 EU 索引，如 Rabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991）。

术语“表位”指能够与抗体特异性结合的蛋白质决定簇。表位通常由各种化学活性表面分子诸如氨基酸或糖侧链组成，并且通常具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。构象性表位和非构象性表位的区别在于在变性溶剂存在下，与前者而非与后者的结合丧失。

本文中所描述的术语“交叉反应”指的是对人类、猴、和/或鼠源(小鼠或大鼠)相同靶分子的抗原片段的结合。因此，“交叉反应”应被理解为抗原结合分子（例如，抗体）与在不同物种中表达的同类分子（例如，BDCA2）的种属间反应。识别人 BDCA2、猴、和/或鼠 BDCA2(小鼠或大鼠)的单克隆抗体的交叉反应特异性可通过 FACS 分析确定。

“亲和力”或“结合亲和力”指反映结合对子的成员之间相互作用的固有结合亲和力。分子 X 对其配偶物 Y 的亲和力可以通常由平衡解离常数(K_D)代表，平衡解离常数是解离速率常数和结合速率常数(分别是 k_{dis} 和 k_{on})的比值。亲和力可以由本领域已知的常见方法测量。在本发明的一些实施方案中，利用表面等离子共振（SPR）技术测量亲和力，例如本发明的抗体与抗原之间的亲和力。在本发明的一些优选的实施方案中，用于测量亲和力的一个具体方法是本文中的 BIAcore 法。

术语“不结合”蛋白或细胞是指，不与蛋白或细胞结合，或者不以高亲和力与其结合，即结合蛋白或细胞的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更高，更优选 1.0×10^{-5} M 或更高，更优选 1.0×10^{-4} M 或更高、1.0×10^{-3} M 或更高，更优选 1.0×10^{-2} M 或更高。

术语“高亲和性”对于 IgG 抗体而言，是指对于抗原的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更低，优选 5.0×10^{-8} M 或更低，更优选 1.0×10^{-8} M 或更低、5.0×10^{-9} M 或更低，更优选 1.0×10^{-9} M 或更低。对于其他抗体亚型，“高亲和性”结合可能会变化。例如，IgM 亚型的“高亲和性”结合是指 K_D 为 10^{-6} M 或更低，优选 10^{-7} M 或更低，更优选 10^{-8} M 或更低。

术语“抗体依赖的细胞毒性”、“抗体依赖的细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞介导的免疫防御，其中免疫系统效应细胞主动地将细胞膜表面抗原与抗体结合的靶细胞裂解。

术语“补体依赖的细胞毒性”或“CDC”是指 IgG 和 IgM 抗体的效应功能，当与表面抗原结合时引发典型的补体途径，包括形成膜攻击复合体以及靶细胞裂解。。

术语“核酸”、“多核苷酸”、“核酸分子”以及“多核苷酸分子”在本文中可互换地使用（除非上下文另有指明），并且是指脱氧核糖核酸（DNA)或核糖核酸（RNA)及其呈单链或双链形式的聚合物。除非明确地限制，否则术语包括具有与参照核酸相似的结合性质并且以与天然存在的核苷酸相似的方式被代谢的含有已知的天然核苷酸的类似物的核酸(参见，属于 Kariko 等人的美国专利 No. 8,278,036，其公开了尿苷被假尿苷替代的 mRNA 分子，合成所述 mRNA 分子的方法以及用于在体内递送治疗性蛋白的方法）。除非另有所指，否则特定核酸序列还隐含地包括其保守修饰的变体（例如，简并密码子取代）、等位基因、直系同源物、SNP 和互补序列以及明确指出的序列。具体地，简并密码子取代可通过生成其中一个或多个选择的（或全部）密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现（Batzer 等人，Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991)；Ohtsuka 等人，J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985);和 Rossolini 等人，Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994))。

“构建体”是指任何重组多核苷酸分子(诸如质粒、粘粒、病毒、自主复制多核苷酸分子、噬菌体或线性或环状单链或双链 DNA 或 RNA 多核苷酸分子），其可衍生自任何来源，能够与基因组整合或自主复制，其中包含已经以功能操作的方式连接（即，可操作地连接)的一或多个多核苷酸分子。在本发明的一些优选的实施方案中，重组构建体包含可操作地连接至转录起始调节序列的本发明的多核苷酸，这些序列会驱动和/或导引本发明的多核苷酸在宿主细胞中的转录。可使用异源及非异源(即，内源)启动子两者驱动和/或导引本发明的多核苷酸的表达。

“载体”是指任何重组多核苷酸构建体，该构建体可用于转化的目的（即将异源 DNA 引入到宿主细胞中）。一种类型的载体为“质粒”，是指环状双链 DNA 环，可将额外 DNA 区段连接至该环中。另一类型的载体为病毒载体，其中可将额外 DNA 区段连接至病毒基因组中。某些载体能够在被引入到的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体及游离型哺乳动物载体）。在引入到宿主细胞中后，其他载体(例如，非游离型哺乳动物载体) 整合至宿主细胞的基因组中，且因此与宿主基因组一起复制。此外，某些载体能够导引被操作性连接的基因的表达。本文将此类载体称为“表达载体”。

本文所用术语“表达载体”是指能够在转化、转染或转导至宿主细胞中时复制及表达目的基因的核酸分子。表达载体包含一或多个表型选择标记及复制起点，以确保维护载体及以在需要的情况下于宿主内提供扩增。在本发明的一些优选的实施方案中，本发明的表达载体包含本发明的构建体和/或本发明的多核苷酸。

用于细胞或受体的操作“活化”、“刺激”和“处理”可具有相同含义，例如细胞或受体用配体活化、刺激或处理，除非上下文另外或明确规定。“配体”包括天然和合成配体，例如细胞因子、细胞因子变体、类似物、突变蛋白和来源于抗体的结合化合物。“配体”还包括小分子，例如细

胞因子的肽模拟物和抗体的肽模拟物。“活化”可指通过内部机制以及外部或环境因素调节的细胞活化。“应答/反应”，例如细胞、组织、器官或生物体的应答，包括生化或生理行为（例如生物区室内的浓度、密度、粘附或迁移、基因表达速率或分化状态）的改变，其中改变与活化、刺激或处理有关，或者与例如遗传编程等内部机制有关。

如本文中所用，术语“BDCA2 介导的疾病”是指在起病、进展或迁延等过程中有 BDCA2 的参与的疾病，例如涉及 BDCA2 的激活（例如，异常激活或过度激活），并且 BDCA2 的参与直接或间接产生了如下影响中的至少一种：疾病起始/发生；疾病的病理改变增加/加深；疾病影响的部位/范围扩大；疾病带来的机体损伤加重；疾病产生的痛苦增加；疾病对治疗措施不敏感/抵抗；疾病的自愈倾向下降和疾病的预后变差。在本发明的一些实施方案中，BDCA2 介导的疾病是炎症性疾病；在本发明的一些具体的实施方案中，所述 BDCA2 介导的疾病是全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和/或多肌炎。

如本文中所用，术语任何疾病或病症的“治疗”或“医治”在一个实施方式中是指改善疾病或病症（即，减缓或阻止或减少疾病的进展或其临床症状的至少一个）。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”是指缓解或改善至少一个身体参数，包括可能不能被患者辨别出的那些物理参数。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”是指在身体上（例如，可辨别的症状的稳定）、生理上（例如，身体参数的稳定）或在这两方面调节疾病或病症。除非在本文中明确描述，否则用于评估疾病的治疗和/或预防的方法在本领域中通常是已知的。

“受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。如本文中所用，术语“cyno”或“食蟹猴”是指食蟹猴或源自食蟹猴的。

“联合”一种或多种其它治疗剂的施用包括同时(共同)施用和任意次序的连续施用。

“治疗有效量”、“治疗有效剂量”和“有效量”是指本发明的 BDCA2 抗体或其抗原结合片段当单独或与其它治疗药物组合给予细胞、组织或受试者时，有效预防或改善一种或多种疾病或病况的症状或该疾病或病况的发展的量。治疗有效剂量还指足以导致症状改善的抗体或其抗原结合片段的量，例如治疗、治愈、预防或改善相关医学病况或者提高这类病况的治疗、治愈、预防或改善的速度的量。当对个体施用单独给予的活性成分时，治疗有效剂量仅是指该成分。当组合施用时，治疗有效剂量是指引起治疗效果的活性成分的综合量，不论是组合、依次给予还是同时给予。治疗剂的有效量将导致诊断标准或参数提高至少 10%，通常至少 20%，优选至少约 30%，更优选至少 40%，最优选至少 50%。

“药学上可接受的载体”是指药物制剂或组合物中除活性成分以外的对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂，赋形剂，稳定剂或防腐剂。

抗 BDCA2 抗体

在一个方面，本发明提供了特异性结合BDCA2的抗体或其抗原结合片段。术语“抗BDCA2抗体”、“抗 BDCA2”、“BDCA2 抗体”或“结合 BDCA2 的抗体”是指能够以足够的亲合力结合 BDCA2 蛋白或其片段以致所述抗体可以用作靶向 BDCA2 的诊断剂和/或治疗剂。

在一些实施方案中，本发明抗体结合人或食蟹猴 BDCA2 蛋白。在一些实施方案中，本发明抗体结合 CHOK1-humanBDCA2 细胞或 293F-cynoBDCA2 细胞。在一些实施方案中，本发明抗体抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα。在一些实施方案中，本发明抗体具有较强的内吞能力。

可采用用于产生抗体的任何合适方法来产生本发明的抗体。任何合适形式的 BDCA2 都可用作产生抗体的免疫原（抗原）。通过举例而非限制，任何 BDCA2 变体或其片段都可用作免疫原。在一些实施方式中，产生鼠源的单克隆抗 BDCA2 抗体的杂交瘤细胞可通过本领域公知的方法产生。

来源于啮齿动物（如小鼠）的抗体在体内用作治疗药物时可能引起不需要的抗体免疫原性，重复使用导致人体产生针对治疗性抗体的免疫应答，这类免疫应答至少导致丧失治疗功效，而严重的则导致潜在致死过敏反应。降低啮齿动物抗体的免疫原性的一种方法包括嵌合抗体的产生，其中将小鼠可变区与人恒定区融合（Liu 等（1987)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 :3439-43)。然而，嵌合抗体中的完整啮齿动物可变区的保留仍可能在患者中引起有害的免疫原性。将啮齿动物可变结构域的互补决定区（CDR)环移植到人构架上（即人源化）已被用于进一步将啮齿动物序列减至最低（Jones 等（1986)Nature 321 :522；Verhoeyen 等（1988)Science 239:1534）。在一些实施方案中，本发明的抗体是嵌合抗体。在一些优选的实施方案中，本发明的抗体是人源化抗体。在本发明的一些优选的实施方案中，本发明的鼠源抗体、嵌合抗体和/或人源抗体与抗原人 BDCA2 或食蟹猴 BDCA2 的亲和力体现为 1.0×10^{-6} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-7} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-8} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-9} M 或更低的 K_D 值、5.0×10^{-10} M 或更低的 K_D 值、2.5×10^{-10} M 或更低的 K_D 值、1.0×10^{-10} M 或更低的 K_D 值。

本发明抗 BDCA2 鼠源抗体的轻链和重链可变区及 CDR 的氨基酸序列如表 2 所示。

在一些实施方式中，本发明的嵌合或人源化抗体可基于所述制备的鼠单克隆杂交瘤抗体的序列来制备。编码重链和轻链免疫球蛋白的 DNA 可以从目标鼠杂交瘤中获得，并且使用标准分子生物学技术进行工程改造以包含非鼠（例如人）免疫球蛋白序列。

在一些实施方式中，本发明所述的嵌合 BDCA2 抗体，可使用本领域已知的方法将杂交瘤来源的免疫球蛋白重链和轻链可变区与人 IgG 恒定区有效连接（参见例如属于 Cabilly 等人的美国专利 No.4,816,567)，获得嵌合型重链和嵌合型轻链来制备。在一些实施方式中，本发明的嵌合抗体包含的恒定区可选自任何人 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，优选 IgG1。

在一些实施方式中，本发明的嵌合 BDCA2 抗体可由嵌合型轻链与嵌合型重链表达质粒“混合和匹配”转染表达细胞获得，此类“混合和匹配”的抗体的 BDCA2 结合可使用上述结合测定和其它常规结合测定（例如，ELISA)来进行测试。

本发明的所述抗体的可变区 CDR 的精确氨基酸序列边界可使用许多公知的方案的任何方案来确定，包括基于抗体的三维结构和 CDR 环的拓扑学的 Chothia(Chothia 等人.(1989)Nature 342:877-883；Al-Lazikani 等人,“Standard conformations for the canonical structures of

immunoglobulins",Journal of Molecular Biology,273,927-948(1997))、基于抗体序列可变性的Kabat(Kabat 等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 4 版，U.S. Department of Health and Human Services,National Institutes of Health(1987))，AbM(University of Bath)，Contact(University College London)，国际 ImMunoGeneTics database(IMGT) (1999 Nucleic Acids Research,27,209-212)，以及基于利用大量晶体结构的近邻传播聚类(affinity propagation clustering)的 North CDR 定义。

除非另有说明，否则本发明抗体的 CDR 可以由本领域的技术人员根据本领域的任何方案(例如不同的指派系统或组合)确定边界。

应该注意，基于不同的指派系统获得的同一抗体的可变区的 CDR 的边界可能有所差异。即不同指派系统下定义的同一抗体可变区的 CDR 序列有所不同。因此，在涉及用本发明定义的具体 CDR 序列限定抗体时，所述抗体的范围还涵盖了这样的抗体，其可变区序列包含所述的具体 CDR 序列，但是由于应用了不同的方案(例如不同的指派系统或组合)而导致其所声称的 CDR 边界与本发明所定义的具体 CDR 边界不同。

具有不同特异性(即，针对不同抗原的不同结合位点)的抗体具有不同的 CDR。然而，尽管 CDR 在抗体与抗体之间是不同的，但是 CDR 内只有有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。使用 Kabat,Chothia、AbM、Contact 和 North 方法中的至少两种，可以确定最小重叠区域，从而提供用于抗原结合的"最小结合单位"。最小结合单位可以是 CDR 的一个子部分。正如本领域技术人员明了，通过抗体的结构和蛋白折叠，可以确定 CDR 序列其余部分的残基。因此，本发明也考虑本文所给出的任何 CDR 的变体。例如，在一个 CDR 的变体中，最小结合单位的氨基酸残基可以保持不变，而根据 Kabat 或 Chothia 定义的其余 CDR 残基可以被保守氨基酸残基替代。

本发明将各种嵌合型重链和轻链表达质粒混合配对转染表达细胞，其抗 BDCA2 嵌合抗体。

本发明所述的人源化抗体，可以使用本领域已知的方法将鼠源 CDR 区插入人种系框架区。参见 Winter 等人的美国专利 No.5,225,539 及 Queen 等人的美国专利 No.5,530,101；5,585,089；5,693,762 和 6,180,370。

本发明抗 BDCA2 人源化抗体 Hu033-03、Hu033-20 和 Hu005-04 的轻链和重链氨基酸序列如下所示。其余人源化抗体 LC 和 HC 的可变区外的序列与 Hu033-03、Hu033-20 和 Hu005-04 的相应序列相同。

Hu033-03-HC-IgG1：SEQ ID NO:183（HCDR1-HCDR3 分别为 SEQ ID NO:52、39 和 53）

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN

VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-03-LC：SEQ ID NO:186（LCDR1-LCDR3 分别为 SEQ ID NO:54、55 和 42）

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Hu033-20-HC-IgG1：SEQ ID NO:184（HCDR1-HCDR3 分别为 SEQ ID NO:52、39 和 53）

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-20-LC：SEQ ID NO:187（LCDR1-LCDR3 分别为 SEQ ID NO:54、55 和 42）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Hu005-04-HC-IgG1：SEQ ID NO:185（HCDR1-HCDR3 分别为 SEQ ID NO:11、12 和 13）

QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTD
YDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu005-04-LC：SEQ ID NO:188（LCDR1-LCDR3 分别为 SEQ ID NO:86、15 和 16）

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

在一些实施方式中，氨基酸变化包括氨基酸缺失、插入或置换。在一些实施方式中，本发明的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段包括具有已通过氨基酸缺失、插入或置换突变的，但仍与上述抗体（特别地在上述序列中描绘的 CDR 区中）有至少约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列的那些抗体。在一些实施方式中，本发明的抗体与具体序列中描绘的 CDR 区相比较时，在 CDR 区中已通过氨基酸缺失、插入

或置换的氨基酸突变不超过 1、2、3、4 或 5 个。在一些实施方式中，本发明的抗体与具体序列中框架区相比较时，在框架区中已通过氨基酸缺失、插入或置换的氨基酸突变不超过 1、2、3、4 或 5 个。

在一些实施方式中，本发明人源化抗体 Hu033-03 和 Hu033-20 的 Fc 区进行突变，包括 S239D/I332E、G236A/S239D/I332E 和 G236A/I332E，产生以下抗体：Hu033-03-T1、Hu033-03-T2、Hu033-03-T3、Hu033-20-T1、Hu033-20-T2、Hu033-20-T3，其轻链和重链氨基酸序列如下所示：

Hu033-03-T1-HC：SEQ ID NO:191

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-03-T2-HC：SEQ ID NO:192

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-03-T3-HC：SEQ ID NO:193

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-03-T1/T2/T3-LC：SEQ ID NO:186

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Hu033-20-T1-HC：SEQ ID NO:194

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-20-T2-HC：SEQ ID NO:195

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-20-T3-HC：SEQ ID NO:196

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Hu033-20-T1/T2/T3-LC：SEQ ID NO:187

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

术语“百分比(%)氨基酸序列同一性”或简称“同一性”定义为在将氨基酸序列进行比对(并在必要时导入空位)以获取最大百分比序列同一性，且不将任何保守取代视为序列同一性的部分之后，候选氨基酸序列中的氨基酸残基与参比氨基酸序列中的相同氨基酸残基的百分比。可使用本领域各种方法进行序列比对以便测定百分比氨基酸序列同一性，例如，使用公众可得到的计算机软件如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 MEGALIGN(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定测量比对的适宜参数，包括对所比较的序列全长获得最大比对所需的任何算法。

因此，在一些实施方案中，本发明的抗体包含如下表 A 任一组合所示的 HCDR1、HCDR2、

HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

表 A

组合#	HCDR1，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成	HCDR2，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成	HCDR3，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成	LCDR1，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成	LCDR2，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成	LCDR3，其包含或由以下序列（或与其具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列）组成
1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6
2	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:6
3	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16
4	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16
5	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:24
6	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:30
7	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:32	SEQ ID NO:33	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:36
8	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:37	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:30
9	SEQ ID NO:38	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:41	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:42
10	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:43	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:44	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:30
11	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:49
12	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:49
13	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49
14	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49

15	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49
16	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49
17	SEQ ID NO:52	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:53	SEQ ID NO:54	SEQ ID NO:55	SEQ ID NO:42
18	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:49
19	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16
20	SEQ ID NO:52	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:53	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16
21	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:54	SEQ ID NO:55	SEQ ID NO:42

在一些实施方案中，本发明的抗体包含如下表 B 任一组合所示的 VH 和 VL。

表 B

组合#	VH，其包含或由以下序列（或与其具有至少 95%同一性的序列）组成	VL，其包含或由以下序列（或与其具有至少 95%同一性的序列）组成
1	SEQ ID NO:61	SEQ ID NO:62
2	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:66
3	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:68
4	SEQ ID NO:69	SEQ ID NO:70
5	SEQ ID NO:71	SEQ ID NO:68
6	SEQ ID NO:72	SEQ ID NO:73
7	SEQ ID NO:76	SEQ ID NO:77
8	SEQ ID NO:80	SEQ ID NO:79
9	SEQ ID NO:82	SEQ ID NO:83
10	SEQ ID NO:87-110 中任一项	SEQ ID NO:135-158 中任一项
11	SEQ ID NO:111-134 中任一项	SEQ ID NO:159-182 中任一项
12	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137
13	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154
14	SEQ ID NO:114	SEQ ID NO:162

在一些实施方案中，本发明的抗体包含如下表 C 任一组合所示的 VH 和 VL。

表 C

组合	VH，其包含或由以下序列（或与其	VL，其包含或由以下序列（或与其	组合	VH，其包含或由以下序列（或与其	VL，其包含或由以下序列（或与其

#	具有至少 95%同一性的序列）组成	具有至少 95%同一性的序列）组成	#	具有至少 95%同一性的序列）组成	具有至少 95%同一性的序列）组成
15	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:135	39	SEQ ID NO:111	SEQ ID NO:159
16	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:136	40	SEQ ID NO:112	SEQ ID NO:160
17	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137	41	SEQ ID NO:113	SEQ ID NO:161
18	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:138	42	SEQ ID NO:114	SEQ ID NO:162
19	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:139	43	SEQ ID NO:115	SEQ ID NO:163
20	SEQ ID NO:92	SEQ ID NO:140	44	SEQ ID NO:116	SEQ ID NO:164
21	SEQ ID NO:93	SEQ ID NO:141	45	SEQ ID NO:117	SEQ ID NO:165
22	SEQ ID NO:94	SEQ ID NO:142	46	SEQ ID NO:118	SEQ ID NO:166
23	SEQ ID NO:95	SEQ ID NO:143	47	SEQ ID NO:119	SEQ ID NO:167
24	SEQ ID NO:96	SEQ ID NO:144	48	SEQ ID NO:120	SEQ ID NO:168
25	SEQ ID NO:97	SEQ ID NO:145	49	SEQ ID NO:121	SEQ ID NO:169
26	SEQ ID NO:98	SEQ ID NO:146	50	SEQ ID NO:122	SEQ ID NO:170
27	SEQ ID NO:99	SEQ ID NO:147	51	SEQ ID NO:123	SEQ ID NO:171
28	SEQ ID NO:100	SEQ ID NO:148	52	SEQ ID NO:124	SEQ ID NO:172
29	SEQ ID NO:101	SEQ ID NO:149	53	SEQ ID NO:125	SEQ ID NO:173
30	SEQ ID NO:102	SEQ ID NO:150	54	SEQ ID NO:126	SEQ ID NO:174
31	SEQ ID NO:103	SEQ ID NO:151	55	SEQ ID NO:127	SEQ ID NO:175
32	SEQ ID NO:104	SEQ ID NO:152	56	SEQ ID NO:128	SEQ ID NO:176
33	SEQ ID NO:105	SEQ ID NO:153	57	SEQ ID NO:129	SEQ ID NO:177
34	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154	58	SEQ ID NO:130	SEQ ID NO:178
35	SEQ ID NO:107	SEQ ID NO:155	59	SEQ ID NO:131	SEQ ID NO:179
36	SEQ ID NO:108	SEQ ID NO:156	60	SEQ ID NO:132	SEQ ID NO:180
37	SEQ ID NO:109	SEQ ID NO:157	61	SEQ ID NO:133	SEQ ID NO:181
38	SEQ ID NO:110	SEQ ID NO:158	62	SEQ ID NO:134	SEQ ID NO:182

在一些实施方案中，BDCA2 抗体是 IgG 抗体，例如 IgG1，IgG2，IgG3 或 IgG4 抗体或其修饰形式，如以下部分所述。

在一些实施方式中，可在本文中所提供抗体的 Fc 区中引入一个或多个氨基酸修饰，以此产生 Fc 区变体。Fc 区变体可包含在一或多个氨基酸位置处包含氨基酸修饰(例如置换)的人 Fc 区序列(例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 区)。

在一些实施方式中，可能需要产生经半胱氨酸工程改造的抗体，例如“硫代 MAb”，其中抗体的一或多个残基经半胱氨酸残基置换。

在一些实施方式中，本文中所提供的抗体可进一步经修饰为含有本领域中已知且轻易获得的其他非蛋白质部分。适合抗体衍生作用的部分包括，但不限于，水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括，但不限于，聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1，3-二烷、聚-1，3，6-三烷、乙烯/马来酸酐共聚物、

聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、及葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇、及其混合物。

抗体表达

在又一个方面，本发明提供了一种多核苷酸分子，其编码本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段。所述多核苷酸分子可以包含编码抗体的轻链可变区和/或重链可变区的氨基酸序列的多核苷酸分子，或包含编码抗体的轻链和/或重链的氨基酸序列的多核苷酸分子。

在一些实施方式中，编码本发明抗体的多核苷酸分子包括已通过核苷酸缺失、插入或置换突变的，但仍然与上文中所述的序列中描绘的 CDR 对应编码区具有至少约 60、70、80、90、95 或 100%同一性的多核苷酸分子。

在又一个方面，本发明提供了一种表达载体，其包含如本文所述的多核苷酸分子，优选地，所述载体为真核表达载体。在一些实施方式中，如本文所述的多核苷酸分子包含在一个或多个表达载体中。

在又一个方面，本发明提供了一种宿主细胞，其包含如本文所述的多核苷酸分子或如本文所述的表达载体，优选地，所述宿主细胞是真核细胞，更优选哺乳动物细胞。

在又一个方面，本发明提供了一种用于制备如本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下在本文所述的宿主细胞中表达所述抗体或其抗原结合片段，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

本发明提供用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞，包括可获自美国典型培养物保藏中心（ATCC)的许多永生化细胞系。这些尤其包括中国仓鼠卵巢（CHO)细胞、NS0、SP2/0 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾（BHK)细胞、猴肾细胞（COS)、人肝细胞癌细胞、A549 细胞、293T 细胞和许多其它细胞系。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、狗、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞。通过测定哪种细胞系具有高表达水平来选择特别优选的细胞系。

在一个实施方式中，本发明提供制备抗 BDCA2 抗体的方法，其中所述方法包括，将表达载体导入哺乳动物宿主细胞中时，通过将宿主细胞培养足够的一段时间，以允许抗体在宿主细胞中表达，或者更优选抗体分泌到宿主细胞生长的培养基中,来产生抗体。

可采用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。如本文所述制备的抗体分子可以通过已知的现有技术如高效液相色谱、离子交换层析、凝胶电泳、亲和层析、大小排阻层析等纯化。用来纯化特定蛋白质的实际条件还取决于净电荷、疏水性、亲水性等因素，并且这些对本领域技术人员是显而易见的。可以通过多种熟知分析方法中的任一种方法确定本发明的抗体分子的纯度，所述熟知分析方法包括尺寸排阻层析、凝胶电泳、高效液相色谱等。

很可能由不同细胞系表达或在转基因动物中表达的抗体彼此具有不同的糖基化。然而，由本文提供的核酸分子编码的或包含本文提供的氨基酸序列的所有抗体是本发明的组成部分，而不论抗体的糖基化如何。同样，在某些实施方式中，非岩藻糖基化抗体是有利的，因为它们通常在体外和体内具有比其岩藻糖基化对应物更强力的功效，并且不可能是免疫原性的，因为它们的糖结构是天然人血清 IgG 的正常组分。

药物组合物和药物制剂

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含如本文所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的表达载体或本文所述的宿主细胞，和药学上可接受的载体或赋形剂。应理解，本发明提供的抗 BDCA2 抗体或其药物组合物可以整合制剂中合适的运载体、赋形剂和其他试剂以联合给药，从而提供改善的转移、递送、耐受等。

术语“药物组合物”指这样的制剂，其允许包含在其中的活性成分的生物学活性有效的形式存在，并且不包含对施用所述制剂的受试者具有不可接受的毒性的另外的成分。

可以通过将具有所需纯度的本发明的抗 BDCA2 抗体与一种或多种任选的药用辅料(Remington' s Pharmaceutical Sciences，第 16 版，Osol, A.编辑(1980))混合来制备包含本文所述的抗 BDCA2 抗体的药物制剂，优选地以水溶液或冻干制剂的形式。

本发明的药物组合物或制剂还可以包含一种或多种其它活性成分，所述活性成分是被治疗的特定适应症所需的，优选具有不会不利地影响彼此的互补活性的那些活性成分。在一些实施方式中，其它的活性成分为免疫检查点抑制剂、生长抑制剂，所述活性成分以对于目的用途有效的量合适地组合存在。在一些实施方式中，本发明的药物组合物还包含编码抗 BDCA2 抗体的多核苷酸分子的组合物。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合，其包含本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物。

医药用途及治疗方法

本文提供的任何抗 BDCA2 抗体或相应的免疫缀合物均可用于治疗方法。还应当理解，在讨论“抗体”时，也包括包含抗体的组合物。本发明的抗 BDCA2 抗体可以治疗有效量或预防有效量用于本发明任一实施方案所述的治疗或预防方法中。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合在制备用于治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病的药物中的用途，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合，其用于治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗或预防有效量的本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所

述的药物组合物或本文所述的药物组合，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

在一些实施方式中，本发明给药方式包括但不限于口服、静脉内、皮下、肌内、动脉内、关节内(例如在关节炎关节中)、通过吸入、气雾剂递送或病灶局部给予等。

术语“治疗”指意欲改变正在接受治疗的个体中疾病之天然过程的临床介入。想要的治疗效果包括但不限于防止疾病出现或复发、减轻症状、减小疾病的任何不良感受或直接或间接病理学后果、降低病情进展速率、改善或缓和疾病状态，以及缓解或改善预后。对于本发明的抗体而言，能够从一个或多个方面降低病情的严重程度，即发挥治疗作用。在某些实施方案中，表现为以下情形中的一项或多项：患者的平均寿命(存活期)延长；疾病进展延迟；对医疗照护的需求下降。

本发明还提供了向受试者联合施用治疗有效量的一种或多种疗法(例如治疗方式和/或其它治疗剂)。可以单独或与疗法中的其它治疗剂组合使用本发明的抗体。在一些实施方式中，本发明抗体与至少一种另外的治疗剂共施用。

用于诊断和检测的方法

在又一个方面，本发明提供了一种使用本文所述的抗体或其抗原结合片段检测 BDCA2 在样品中的存在的方法。术语“检测”用于本文中时，包括定量或定性检测。在一些实施方式中，所述样品是生物样品。在某些实施方式中，生物样品是血、血清或生物来源的其他液体样品。在某些实施方式中，生物样品包含细胞或组织。在某些实施方案中，BDCA2 是人 BDCA2 或食蟹猴 BDCA2。所述方法包括使本文所述的抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物与样品接触的步骤，以及检测是否存在所述抗体或其抗原结合片段与 BDCA2 结合产生的结合物或结合信号的步骤。用于检测用途时，本文所述的抗体或其抗原结合片段可被标记，以指示是否形成了所述结合物。在某些实施方案中，方法可以是体外或体内方法。

在一些实施方案中，在治疗之前，例如，在起始治疗之前或在治疗间隔后的某次治疗之前检测 BDCA2。在一个实施方案中，提供用于诊断或检测方法的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段。

本发明的积极进步效果在于：

本发明的靶向 BDCA2 的抗体具有以下一种或多种优势：

1. 相比现有技术中的抗 BDCA2 抗体 BIIB059，本发明抗体与 CHOK1-humanBDCA2 细胞和/或 293F-cynoBDCA2 细胞的活性结合更强；

2. 相比现有技术中的抗 BDCA2 抗体 BIIB059，本发明抗体对 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 具有更好的抑制作用；

3. 本发明抗体在表达 BDCA2 的细胞上具有更高的内化效率；

4. 相比现有技术中的抗 BDCA2 抗体 BIIB059，本发明人源化抗体对人 BDCA2 抗原具有更高的亲和力。

5. BDCA2 基因不在小鼠，大鼠和兔等非灵长类动物中表达，而 BDCA2 抗体治疗的主要疾病(如表皮性红斑狼疮和全身性红斑狼疮)在灵长类动物中无成功建立的药效检测模型。根据抗体 BIIB059 的体外和临床的研究，其在体外实验中表现出诱导 BDCA2 内化和对 PBMC 分泌 I 型干扰素功能的抑制效果，同时在针对表皮性红斑狼疮和全身性红斑狼疮的临床实验研究中表现出缓解症状的疗效（Werth VP et al. N Engl J Med 2022;387:321-31. Furie RA et al. N Engl J Med 2022;387:894-904.），推测本发明抗 BDCA2 抗体在临床上对于上述疾病或病症有更好的治疗效果。

本发明包括所述特定实施方式的所有组合。本发明的进一步实施方式及可应用性的完整范畴将自下文所提供的详细描述变得显而易见。然而，应理解，尽管详细描述及特定实施例指示本发明的优选实施方式，但仅以说明的方式提供这些描述及实施例，因为本发明的精神及范畴内的各种改变及修改将自此详细描述对熟悉此项技术者变得显而易见。出于所有目的，包括引文在内的本文所引用的所有公开物、专利及专利申请将以引用的方式全部并入本文。本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

本发明至少采用了下述缩略词：

his-tag 代表组氨酸标签；

Fc tag 代表可结晶片段标签；

ECD 代表胞外结构域；

PEI 代表聚乙烯亚胺；

BSA 代表牛血清白蛋白；

PBS 代表磷酸缓冲盐溶液；

FBS 代表胎牛血清；

CFSE 代表羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺酯；

APC 代表异位藻蓝蛋白；

NA-PE 代表藻红蛋白标记的中性亲和素；

PE 代表藻红蛋白；

TMB 代表 3,3',5,5'-四甲基联苯胺；

HEPES:羟乙基哌嗪乙硫磺酸缓冲液；

DTT：二硫苏糖醇。

实施例

通过以下实施例对本发明进行说明，但并不旨在对本发明作出任何限制。本文已经详细描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式。对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进将是显而易见的。

实施例 1、用于抗 BDCA2 抗体活性检测的重组蛋白的制备

编码人源 BDCA2(hBDCA2 或 human BDCA2)胞外结构域(Asn45-Ile213)的 cDNA 序列按照 Genbank 参考序列由 Genscript 公司合成。利用常规的克隆技术，将扩增片段克隆到自主构建的包含人源 Fc （hIgG1）片段真核表达质粒系统（pCP-EF1a-CMV-FcεRIγ）中，从而产生重组融合蛋白表达质粒 Human BDCA2 Fc （pCP-EF1a-BDCA2-CMV-FcεRIγ）。利用表达细胞 293E 表达并利用尺寸排阻色谱柱纯化获取 Human BDCA2 Fc 重组蛋白（Fc 区位于 BDCA2 胞外结构域的 N 端方向，通过 linker 融合），通过聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定。

编码食蟹猴 BDCA2(Cyno BDCA2)胞外结构域 (Asn45-Ile212)的 cDNA 序列按照 Genbank 参考序列由 Genscript 公司合成，且在 cDNA 的 N 端添加 6 个 His 表达序列。利用常规的克隆技术，将片段克隆到自主构建的真核表达质粒系统（pCP-EF1a-CMV-FcεRIγ），从而产生重组融合蛋白表达质粒 Cyno BDCA2 His （pCP-EF1a-Cyno BDCA2-CMV-FcεRIγ）。利用表达细胞 293E 表达并利用尺寸排阻色谱柱纯化获取 Cyno BDCA2 His 重组蛋白，通过聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定。

经鉴定，所获得两种蛋白浓度、总量和内毒素含量均适于后续应用。

Human BDCA2 Fc 氨基酸序列见 SEQ ID NO:189， Human BDCA2 蛋白序列所用 NCBI 登录号 Q8WTT0，Cyno BDCA2 His 氨基酸序列见 SEQ ID NO:190，Cyno BDCA2 蛋白序列所用 NCBI 登录号 A0A2K5UWP4-1，用于本发明抗体的活性检测。

BDCA2 特异结合的参照抗体 BIIB059 序列来源于专利 US9902775B2，其中重链序列对应专利序列 No.4，轻链序列对应专利序列 No.3.，使用常规重组抗体生产工艺生产得到。

实施例 2、用于抗 BDCA2 抗体活性检测的 BDCA2 表达细胞株构建

编码人源 BDCA2 的 cDNA 序列按照 Genbank 参考序列由 Genscript 公司合成。利用常规的克隆技术，将扩增片段克隆到自主构建的慢病毒包装质粒系统（PLvx-EF1a-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro）中，从而产生慢病毒包装质粒 Human BDCA2（PLvx-EF1a-hBDCA2-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro）。

编码食蟹猴 Cyno BDCA2 的 cDNA 序列按照 Genbank 参考序列由 Genscript 公司合成。利用常规的克隆技术，将扩增片段克隆到自主构建的慢病毒包装质粒质粒系统（PLvx-EF1a-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro）中，从而产生慢病毒包装质粒 Cyno BDCA2（PLvx-EF1a-cynoBDCA2-CMV-cynoFcεRIγ-IRES-puro）

以 293T 为宿主细胞，用瞬转方法将 PLvx-EF1a-hBDCA2-CMV-hFcεRIγ-IRES-puro 质粒或 PLvx-EF1a-cynoBDCA2-CMV-cynoFcεRIγ-IRES-puro 转到 293T 细胞。收集转染后 48 小时和 72 小时含有 human BDCA2 或 Cyno BDCA2 表达病毒的细胞培养上清，将浓缩至 1E8 EU/mL。

将提前培养至对数生长期的 CHOK1 细胞消化处理好，以 1E5/孔 铺至 6 孔细胞培养板，过夜培养待细胞贴壁。随后，将浓缩得到的 human BDCA2 病毒以逐次递增的感染用量（100μl, 200μl）加入提前贴壁的 6 孔板细胞内，感染后的细胞经用含有嘌呤霉素（puromycin）的培养

基进行筛选后进行抗原表达量流式细胞术检测，并对细胞做亚克隆处理。流式细胞术使用参照抗体 BIIB059 检测，结果表明，相对于对照 hIgG，检测到 BDCA2 的显著结合。挑选抗原表达量高的单克隆，扩大培养作为后期实验细胞株。

将提前培养至对数生长期的 293F 细胞消化处理好，以 1E5/孔 铺至 6 孔细胞培养板，过夜培养待细胞贴壁。随后，将浓缩得到的 Cyno BDCA2 病毒以逐次递增的感染用量（100μl, 200μl）加入提前贴壁的 6 孔板细胞内，感染后的细胞经用含有嘌呤霉素（puromycin）的培养基进行筛选后进行抗原表达量流式细胞术检测，并对细胞做亚克隆处理。流式细胞术使用参照抗体 BIIB059 检测，结果表明，相对于对照 hIgG，检测到 BDCA2 的显著结合。挑选抗原表达量高的单克隆，扩大培养作为后期实验细胞株。

实施例 3、小鼠杂交瘤细胞的制备

3.1. 小鼠免疫与血清效价检测

3.1.1. 小鼠免疫方案

采用 2 种免疫途径，一共免疫 3 组小鼠（每组 5 只），每次免疫时间间隔 14 天。第 1 组 5 只 Balb/c 小鼠（购自 SLAC，雌性 BALB/c，8 周），第 2 组 5 只 SJL 小鼠（购自 SLAC，雌性 BALB/c，8 周），采用基因枪 (pCP-EF1a-BDCA2-CMV-FcεRIγ) 加蛋白 (humanBDCA2 Fc) 混合方案共 5 次：前 4 次基因枪免疫，剂量 4μg/次；第 5 次蛋白免疫，剂量 25μg/只。第 3 组 5 只 SJL 小鼠（购自 SLAC，雌性 8 周）采用纯蛋白(humanBDCA2 Fc)免疫，总共免疫 3 次，首次免疫剂量 50μg/只，后两次 25μg/只。参见表 1。

表 1 小鼠免疫方案

免疫原	动物分组	品系	途径	剂量(μg/动物)	佐剂
质粒+蛋白混合	G1 (9731,9732,9733,9734,9735)	Balb/c	Gene gun	4/4/4/4; 25	GM-CSF & FLT3L
	G2 (9736,9737,9738,9739,9740)	SJL			
BDCA2-Fc 蛋白	G3 (9946,9947,9948,9949,9950)	SJL	I.P.	50/25/25	CFA/IFA /IFA

3.1.2. 小鼠免疫效价检测

设定多个时间点收集到免疫小鼠的血清样本，分别进行 ELISA 和 FACS 检测。根据数次检测的结果（以最后一次小鼠血清检测（TB）结果为主要参考因素，详细结果未展示），共挑选 4 只小鼠，做了 2 个融合：融合#F0223 挑选的是 G1 组荧光强度最高的 Balb/c#9735 和 G2 组荧光强度最高的 SJL#9740 两只小鼠；融合#F0511 挑选的是 G3 组荧光强度最高的 SJL#9947 和 SJL#9948 两只小鼠。

3.2. 细胞融合

在最后一针加强免疫后第四天，处死小鼠后收集脾细胞，在生理盐水中碾磨后取富含淋巴细胞的悬浮液，按常规电转方法将其与小鼠骨髓瘤细胞 Sp2/0 混合，采用高效电融合进行细胞融合。

将融合后细胞稀释到含有 HT（次黄嘌呤、胸腺嘧啶核苷）的 DMEM 培养基中，按比例铺到 96 孔板，放入 5% CO_2、37℃ 培养箱中过夜培养，24 小时后加入含有 2*HAT 含有次黄嘌呤、氨甲蝶呤和胸腺嘧啶核苷)的 DMEM 培养基。以筛选成功融合的细胞(杂交瘤细胞)。

DMEM 完全培养基配比是：15%FBS(胎牛血清)+1:50 L-谷氨酰胺+100U/mL 青链霉素+1:100 OPI（草酰乙酸、丙酮酸和胰岛素），培养箱条件是 8% CO_2，37 ℃。

实施例 4、小鼠杂交瘤细胞的筛选和抗 BDCA2 鼠源抗体纯化

融合细胞培养筛选 10 天左右后用 Acumen 激光细胞检测仪检测上清中 BDCA2 抗体的表达，用于检测的阳性细胞是 CHOK1-humanBDCA2，阴性细胞是 CHOK1-blank，阳性对照抗体为参照抗体 BIIB059。根据 Acumen 结果，挑选出阳性的克隆转至 24 孔板扩大培养，培养 3 天后取 24 孔板中扩大培养的上清用以下方法检测：1）FACS 检测与 CHOK1-humanBDCA2 细胞和 293F-cynoBDCA2 细胞的结合活性；2）ELISA 检测与 humanBDCA2 Fc 蛋白和 cynoBDCA2 His 蛋白的结合活性；3）检测在 CpG-A 刺激 PBMC 产生细胞因子 IFNα 的实验中的抑制能力（抑制 IFNα 产生）。

在 F0223 融合得到的多克隆杂交瘤细胞中，通过结合 Acumen，筛选出 189 株杂交瘤细胞，其分泌的抗体可与 hBDCA2 特异地结合。在这 189 株结合阳性的杂交瘤细胞中，进一步扩大至 24 孔板复筛，有 28 株杂交瘤细胞表达的抗体可以在 ELISA 检测中结合 hBDCA2 和 cyno BDCA2，可在 FACS 中结合表达在细胞表面的 hBDCA2 和 cyno BDCA2，在 IFNα 阻断实验中，上述的 28 个多克隆细胞株可以抑制 CpG 对 PBMC 细胞 IFNα 分泌的诱导。将此 28 株杂交瘤细胞进行了亚克隆。通过亚克隆筛选得到 18 株阻断型单克隆细胞株，编号为 mAb001-mAb018。

在 F0511 融合得到的多克隆杂交瘤细胞中，通过结合 Acumen，筛选出 168 株杂交瘤细胞，其分泌的抗体可与 hBDCA2 特异地结合。在这 168 株结合阳性的杂交瘤细胞中，进一步扩大至 24 孔板复筛，有 35 株杂交瘤细胞表达的抗体可以在 ELISA 检测中结合 hBDCA2 和 cyno BDCA2，可在 FACS 中结合表达在细胞表面的 hBDCA2 和 cyno BDCA2，在 IFNα 阻断实验中，上述的 35 个多克隆细胞株可以抑制 CpG 对 PBMC 细胞 IFNα 分泌的诱导。将此 35 株杂交瘤细胞进行了亚克隆。通过亚克隆筛选得到 16 株阻断型单克隆细胞株，编号为 mAb019-mAb034。

通过 2 个融合及筛选，最终共得到 34 个阳性单克隆。将其分泌的抗体进行了纯化和分析，其浓度、质量、纯度和内毒素含量均符合后续实验要求。

实施例 5、抗 BDCA2 鼠源抗体性能测定

所得鼠源抗体都能够与 humanBDCA2 Fc 蛋白有很好的结合活性， 通过 ELISA 检测结合力为 EC_{50}<0.3nM。鼠源抗体与 cynoBDCA2 His 蛋白有较好结合能力，大部分抗体经 ELISA 检测结合力 EC_{50}< 0.5nM。

所有鼠源抗体与 CHOK1-humanBDCA2 细胞均有结合（结果参见图 1a-1e），其 EC_{50} 优

于对照抗体 BIIB059 或与其相当。大部分鼠源抗体与 293F-cynoBDCA2 细胞都有结合（结果参见图 2a-2e），其 EC_{50} 优于对照抗体 BIIB059 或与其相当。

对与 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞都有结合的 32 个抗体，检测其在 CpG-A 刺激 PBMC 实验中抑制细胞因子 IFNα 释放的能力。抗体都有一定的抑制活性。其中 mAb005、mAb019、mAb020、mAb021、mAb022、mAb024、mAb027、mAb030、mAb033 抑制细胞因子释放的 IC_{50} 分别为 0.08667 nM、0.003323 nM、0.006146 nM、0.004047 nM、0.006232 nM、0.002744 nM、0.07004 nM、0.004762 nM 和 0.004083 nM。

上述实验方法如下所示。其中，mAb001- mAb034 为本发明的鼠源抗体，BIIB059 为如前所描述的参照抗体，hIgG1 为人 IgG1 阴性对照，mIgG1 为鼠 IgG1 阴性对照。

5.1. ELISA 检测鼠源抗体与蛋白的结合活性

用 PBS 稀释 HumanBDCA2 Fc 蛋白或 cynoBDCA2 His 蛋白至 1μg/mL，以 100μL/孔加入 ELISA 微孔板，4℃过夜孵育。用 ELISA 封闭液（含 1%BSA，pH7.4 的 PBS 磷酸缓冲液，所述百分比为质量百分比）于 37℃封闭两小时。加入依次 10 倍梯度稀释的抗体，共 8 个浓度点（0.0001nM-100nM，包括 0 点对照）。100μL/孔，37℃温育 1 小时。洗板 3 次，加入 anti-mouse IgG(Fab specific)-HRP(Sigma, A3682; 1:5000 稀释) 二抗，100μL/孔，37℃孵育 1 小时。洗板 3 次，加入 100μL/孔 TMB 显色液（湖州英创生物科技，EL0009），37℃孵育 10 分钟后，加入 50μL 1N 盐酸终止显色反应。用 ELISA 读板机读取 OD450nm 值，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算 EC_{50} 值。

5.2. FACS 检测鼠源抗体与细胞的结合活性

用 TrypLE 胰酶消化培养至对数生长期的 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100μL 每孔加入 3799 细胞板（Corning），300g 离心后弃上清。抗体用 FACS buffer 梯度稀释（同上），将稀释后的抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育一个小时。孵育后的细胞 300g 离心 5min，并用 FACS buffer 洗两遍。加入 100μL Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody- Alexa Fluor 488 (Invitrogen, A21202; 1:1000) 二抗，4℃孵育一个小时后 FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS (BD FACS CantoTM II)仪器分析，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算 EC_{50} 值。

5.3. 鼠源抗体抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 的能力

1) 复苏冻存的人 PBMC 细胞，用完全培养基（1640+10%FBS+1×NEAA+1×L-Glutamine）过夜培养 18 小时。第二天，收集 PBMC 细胞，用 600g 离心 8 分钟，弃上清。细胞用培养基（1640+10%FBS）重悬至 8x10^6/mL，100 μL 每孔加入 3799 细胞培养板。待测抗体用培养基（1640+10%FBS）10 级梯度稀释（终浓度，0.0001nM－10nM），将稀释后的抗体按 50μL/孔加入 PBMC 中。将细胞重悬后放在 37℃孵育 6 小时。每孔加入 50μL 培养基（1640+10%FBS）稀释的 2μM CpG-A （Invitrogen，tlrl-2216-5），混匀后继续在 37℃孵育 20 小时。第三天，将细胞培养板以 400g 离心 5 分钟，收集细胞培养上清并检测上清当中细胞因子 IFNα。

2) ELISA 方法检测细胞因子 IFNα

用 PBS 稀释抗体 MT1/3/5 （Mabtech，3425-1H-20）至 4μg/mL，以 100μL 每孔加入 CORNING ELISA 板，4℃过夜孵育包板。之后，弃掉包板抗体，以 300μL 每孔向板中加入封闭液（PBS+1% BSA），4℃过夜孵育。待测上清用封闭液稀释至合适浓度（根据情况在 1:3-1:7 中选择），按 100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。IFNα 检测标准品用封闭液以 2 倍梯度稀释（最高浓度 1000pg/mL，8 个浓度点，最后 1 个点为 0），100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。放置 ELISA 板 37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入检测抗体 MT2/4/6（1:1000），37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入第二抗体 SA-HRP（1:1000）后 37℃培养箱孵育 0.5 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入 TMB 显色液，显色至合适时间以 50μL 每孔加入 1M HCl 终止反应。用 ELISA 读板机读取 OD450nm 读数，计算抑制率并用 GraphPad Prism6 作拟合曲线，计算 IC_{50} 值。

实施例 6、抗 BDCA2 鼠源杂交瘤（单克隆抗体）的可变区序列的测定（根据 Kabat 表示）

根据鼠源抗体在蛋白水平和细胞水平与抗原的结合能力和在 PBMC 体系中抗体对于 CpG-A 刺激引起的细胞因子 IFNα 释放的抑制能力结果选择 16 个杂交瘤单克隆进行 VH/VL 序列测定。

用基于简并引物 PCR 的方法，测定抗 BDCA2 鼠源抗体的可变区对应的 DNA 编码序列。培养候选杂交瘤细胞，1000 rpm 离心收集细胞，并以 Trizol 提取总 RNA。以此为模板合成第一链 cDNA，之后以第一链 cDNA 作为后续模板，PCR 扩增对应的可变区 DNA 编码序列。扩增反应中所使用的引物序列与抗体的可变区第一框架区和恒定区互补(Larrick，J.W.等, 1990, Scand. J. Immunol., 32, 121-128 和 Coloma, J.J.等, (1991)BioTechniques, 11, 152-156)。在 50 μl 反应体系中，分别加入 cDNA 1 μl，10×PCR 缓冲液 5 μl，上游及下游引物各 1 μl (25 pmol)，dNTP 1 μl，25 mmol PL $MgCl_2$ 1μl，H_2O 39 μl，95℃预变性 10 min，加 Taq 酶 1 μl，进入温度循环，进行 PCR 扩增。反应条件为 94℃变性 1 min，58℃退火 1 min，72℃延伸 15 s，共 32 个循环，然后 72℃保温 10 min。回收并纯化 PCR 产物。对扩增产物测序，得到抗 BDCA2 鼠源抗体的重链可变区和轻链可变区氨基酸序列。

用 NCBI Ig-Blast(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/)在种系和重排 Ig 可变区序列数据库中搜索共有序列。基于 Kabat（Wu,T.T 及 Kabat, E.A. 1970 J. Exp. Med., 132:211-250）及 IMGT 系统（Lefranc M.-P.等人，1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212），藉由序列批注及藉由基于因特网的序列分析（http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest 与 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)鉴定互补决定区（CDR）氨基酸序列。

经选择的抗 BDCA2 鼠源抗体的轻链和重链可变区及 CDR 的氨基酸序列如表 2 所示。并且进行了多序列比对及进化树分类，根据结果将 16 个单克隆抗体序列重链可变区 VH 主要分为 5 大类：1）mAb020, 022, 026; 2) mAb021, 027, 028, 030, 032, 034; 3) mAb019, 024, 033; 4)mAb001, 002; 5) mAb005, 016，其中 mAb028 和 mAb030 重链可变区只有 2 个氨基酸不同，mAb028 和 mAb032 只有 1 个氨基酸不同。轻链可变区 VL 可分为 3 大类：1）mAb019; 2)

mAb021, 027, 028, 030, 032, 034; 3）其他抗体。其中 mAb028, 030, 032 轻链可变区序列相同。

表 2 抗 BDCA2 鼠源抗体的 CDR 和可变区氨基酸序列（KABAT 方案）

鼠源抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
mAb001	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:57	SEQ ID NO:58
mAb002	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:59	SEQ ID NO:60
mAb005	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:61	SEQ ID NO:62
mAb016	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:63	SEQ ID NO:64
mAb019	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:24	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:66
mAb020	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:68
mAb021	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:32	SEQ ID NO:33	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:36	SEQ ID NO:69	SEQ ID NO:70
mAb022	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:37	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:71	SEQ ID NO:68
mAb024	SEQ ID NO:38	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:41	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:42	SEQ ID NO:72	SEQ ID NO:73
mAb026	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:43	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:44	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:74	SEQ ID NO:75
mAb027	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:76	SEQ ID NO:77
mAb028	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:78	SEQ ID NO:79
mAb030	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:80	SEQ ID NO:79
mAb032	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:81	SEQ ID NO:79

mAb033	SEQ ID NO:52	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:53	SEQ ID NO:54	SEQ ID NO:55	SEQ ID NO:42	SEQ ID NO:82	SEQ ID NO:83
mAb034	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:84	SEQ ID NO:85

实施例 7、抗 BDCA2 嵌合抗体的构建

根据序列检测结果，两个融合共挑选 12 条单克隆抗体序列，进行人鼠嵌合抗体构建，质粒构建过程中选择 hIgG1 Fc 段序列作为人恒定区序列。前述抗 BDCA2 鼠源抗体的重链和轻链可变区编码序列由 Genscript 公司合成。选用 expi 293F 为宿主细胞进行抗体表达。所得嵌合抗体分别为：mab001c、mab002c、mab005c、mab016c、mab019c、mab020c、mab021c、mab022c、mab024c、mab027c、mab030c 和 mab033c。

并对表达后的嵌合抗体进行各项表征。

实施例 8、嵌合抗体的筛选

8.1. ELISA 方法检测抗 BDCA2 嵌合抗体与蛋白的结合活性

用 PBS 稀释 HumanBDCA2 Fc 蛋白或 cynoBDCA2 His 蛋白至 1μg/mL，以 100μL/孔加入 ELISA 微孔板，4℃过夜孵育。包被完成后，用 ELISA 封闭液（含 1%BSA，pH7.4 的 PBS 磷酸缓冲液，所述百分比为质量百分比）37℃封闭两小时。加入 10 倍梯度稀释的抗体，共 8 个浓度点（0.0001nM－100nM，包括 0 点对照）。100μL/孔，37℃温育 1 小时。洗板 3 次，加入 Anti-Human IgG (Fab specific)−Peroxidase antibody (Sigma, A0293; 1:5000 稀释度)二抗，100μL/孔，37℃孵育 1 小时。洗板 3 次，加入 100μL/孔 TMB 显色液（湖州英创生物科技，EL0009），37℃孵育 10 分钟后，加入 50μL 1N 盐酸终止显色反应。用 ELISA 读板机读取 OD450nm 值，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算 EC_{50} 值。

结果如下：所测嵌合抗体与 humanBDCA2 Fc 蛋白和 cynoBDCA2 His 蛋白都有结合，与 humanBDCA2-Fc 蛋白结合的 EC_{50} 为 0.1~0.2 nM；大部分嵌合抗体以小于 0.6 nM 的 EC_{50} 值与 cynoBDCA2 His 蛋白都有结合。

8.2. FACS 方法检测嵌合抗体与细胞的结合活性

用 TrypLE 胰酶消化培养至对数生长期的 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100μL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清。抗体用 FACS buffer 梯度稀释，将稀释后的抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4 度孵育一个小时。孵育后的细胞 300g 离心 5min，并用 FACS buffer 洗两遍。加入 100μL Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488（Sigma, A11013; 1:1000）二抗，4 抗孵育一个小时后 FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS (BD FACS CantoTM II)仪器分析，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算 EC_{50} 值。

如图 3（3a-3c）所示，所检测嵌合抗体都与 CHOK1-humanBDCA2 细胞有结合，其 EC_{50}

优于对照抗体 BIIB059 或与其相当。同时，所检测嵌合抗体都和 293F-cynoBDCA2 细胞结合，其 EC_{50} 约为 0.3-2nM，优于对照抗体 BIIB059 或与其相当。

8.3. 检测嵌合抗体抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 的能力

复苏冻存的人 PBMC 细胞，用完全培养基（1640+10%FBS+1×NEAA+1×L-Glutamine）过夜培养 18 小时。第二天，收集 PBMC 细胞，用 600g 离心 8 分钟，弃上清。细胞用培养基（1640+10%FBS）重悬至 8x10^6/mL，100 μL 每孔加入 3799 细胞培养板。待测抗体用培养基（1640+10%FBS）以 10 倍梯度稀释（终浓度 0.0001nM – 10nM），将稀释后的抗体按 50μL/孔加入 PBMC 中。将细胞重悬后放在 37℃孵育 6 小时。每孔加入 50μL 培养基（1640+10%FBS）稀释的 2μM CpG-A （Invivogen，tlrl-2216-5），混匀后继续在 37℃孵育 20 小时。第三天，将细胞培养板以 400g 离心 5 分钟，收集细胞培养上清并检测上清当中细胞因子 IFNα。

用 PBS 稀释抗体 MT1/3/5 （Mabtech，3425-1H-20）至 4μg/mL，以 100μL 每孔加入 CORNING ELISA 板，4℃过夜孵育。弃掉包板抗体，以 300μL 每孔向板中加入封闭液（PBS+1% BSA），4℃过夜孵育。待测上清用封闭液稀释至合适浓度（一般在 1:3-1:7），100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。IFNα 检测标准品用封闭液以 2 倍梯度稀释（最高浓度 1000pg/mL，8 个浓度点，最后 1 个点为 0），100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。ELISA 板放置 37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入检测抗体 MT2/4/6 （1:1000），37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入第二抗体 SA-HRP （1:1000）。 37℃培养箱孵育 0.5 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入 TMB 显色液，显色至合适时间以 50μL 每孔加入 1M HCl。 用 ELISA 读板机读取 OD450nm 读数，计算抑制率并用 GraphPad Prism6 作拟合曲线，计算 IC_{50}。

在 CpG-A 刺激 PBMC 释放细胞因子实验中，所检测 12 个嵌合抗体都能抑制细胞因子 IFNα 分泌，其中，mab005c、mab019c、mab020c、mab021c、mab022c、mab024c、mab027c、mab030c 和 mab033c 的 IC_{50} 分别为：0.008359nM、0.01493 nM、0.01853 nM、0.01268 nM、0.03239 nM、0.01677 nM、0.008976、nM、0.01645 nM 和 0.008331 nM。

8.4. 嵌合抗体内吞能力检测

用 TrypLE 胰酶消化培养至对数生长期的 CHOK1-humanBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100μL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清，细胞放置冰盒降温。用 FACS buffer 梯度稀释抗体（设置 3 个浓度：100nM，10nM，1nM；以及各 3 组：0 小时对照； 4℃ 1 小时； 37℃ 1 小时），稀释后放置冰盒降温 15 分钟，15 分钟后将抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育 40 分钟。孵育后的细胞 300g 离心 5 分钟，并用 FACS buffer 洗两遍。0h 组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍；另外两组细胞用 100μL FACS buffer 重悬后分别放置 4℃和 37℃孵育 1h。将 4℃ 1 小时和 37℃ 1 小时 两组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍。3 组条件下的细胞同时加入 100μL 二抗 Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody-Alexa Fluor 488 （Sigma, A11013; 1:1000），4℃孵育一个小时。FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS 仪器分析，并计算表面信号百分率。

嵌合抗体在 100nM, 10nM, 和 1nM 浓度下都出现内吞情况，12 个嵌合抗体介导内吞能力相差不大，且略优于阳性对照抗体 BIIB059。抗体浓度 100nM 时，经 37℃内吞 1 小时，细胞表面信号值在 50%~60%。

实施例 9、抗体可变区的人源化改造

对于抗体可变区的人源化改造，首先在 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/) 网站中的人类免疫球蛋白基因数据库搜寻与鼠抗体的 cDNA 序列同源的人类种系 IgG 基因，再藉由 Kabat 编号系统或 IMGT 编号系统定义可变区 CDR 的氨基酸序列及其精确边界。原则上将与鼠源抗体具有高同源性的人类 IGHV 选为人源化模板，藉由 CDR 嫁接实施抗体可变区的人源化。

从上述获得的鼠源抗体的序列中选择 mAb005 和 mAb033 进行人源化改造。人源化改造过程步骤如下：A、把鼠源抗体的基因序列与人胚系抗体基因序列进行比对，找出同源性高的序列；B、分析考察 HLA-DR 亲和性，选出亲和力低的人胚系框架序列；C、利用计算机模拟技术，应用分子对接分析可变区及其周边的框架氨基酸序列，考察其空间立体结合方式。通过计算静电力，范德华力，亲疏水性和熵值，分析得到鼠源抗体基因序列中可与人 BDCA2 作用以及维护空间构架的关键氨基酸个体，将其嫁接回已经选择的人胚系基因框架，并在此基础上标配出必须保留的框架区氨基酸位点，合成人源化抗体。在此基础上得到了多种人源化抗体可变区序列，将设计的人源化抗 BDCA2 抗体可变区进行各种组合，获得人源化抗 BDCA2 抗体，其可变区氨基酸序列具体见表 3。

Hu005 系列人源化抗体可变区的 CDR(KABAT 方案)如下所示：

HCDR1：NYGVH（SEQ ID NO:11）

HCDR2：VIWSGESTDYDAAFIS（SEQ ID NO:12）

HCDR3：RRSHYYGYVMDY（SEQ ID NO:13）

LCDR1：KASQSIDYDAIGYLN（SEQ ID NO:86）

LCDR2：AASNLES（SEQ ID NO:15）

LCDR3：QQSNEDPPT（SEQ ID NO:16）

Hu033 系列人源化抗体可变区的 CDR(KABAT 方案)如下所示：

HCDR1：SYGMS（SEQ ID NO:52）

HCDR2：TISSGDSYTYYPDSVKG（SEQ ID NO:39）

HCDR3：QIYYDYAYYFDF（SEQ ID NO:53）

LCDR1：RASESVSFRTSHLMH（SEQ ID NO:54）

LCDR2：GASNLES（SEQ ID NO:55）

LCDR3：QQSIEDPPT（SEQ ID NO:42）

表 3 抗 BDCA2 人源化抗体的可变区氨基酸序列

抗体	VH	VL	抗体	VH	VL	抗体	VH	VL

Hu033-01	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:135	Hu033-17	SEQ ID NO:103	SEQ ID NO:151	Hu005-09	SEQ ID NO:119	SEQ ID NO:167
Hu033-02	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:136	Hu033-18	SEQ ID NO:104	SEQ ID NO:152	Hu005-10	SEQ ID NO:120	SEQ ID NO:168
Hu033-03	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137	Hu033-19	SEQ ID NO:105	SEQ ID NO:153	Hu005-11	SEQ ID NO:121	SEQ ID NO:169
Hu033-04	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:138	Hu033-20	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154	Hu005-12	SEQ ID NO:122	SEQ ID NO:170
Hu033-05	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:139	Hu033-21	SEQ ID NO:107	SEQ ID NO:155	Hu005-13	SEQ ID NO:123	SEQ ID NO:171
Hu033-06	SEQ ID NO:92	SEQ ID NO:140	Hu033-22	SEQ ID NO:108	SEQ ID NO:156	Hu005-14	SEQ ID NO:124	SEQ ID NO:172
Hu033-07	SEQ ID NO:93	SEQ ID NO:141	Hu033-23	SEQ ID NO:109	SEQ ID NO:157	Hu005-15	SEQ ID NO:125	SEQ ID NO:173
Hu033-08	SEQ ID NO:94	SEQ ID NO:142	Hu033-24	SEQ ID NO:110	SEQ ID NO:158	Hu005-16	SEQ ID NO:126	SEQ ID NO:174
Hu033-09	SEQ ID NO:95	SEQ ID NO:143	Hu005-01	SEQ ID NO:111	SEQ ID NO:159	Hu005-17	SEQ ID NO:127	SEQ ID NO:175
Hu033-10	SEQ ID NO:96	SEQ ID NO:144	Hu005-02	SEQ ID NO:112	SEQ ID NO:160	Hu005-18	SEQ ID NO:128	SEQ ID NO:176
Hu033-11	SEQ ID NO:97	SEQ ID NO:145	Hu005-03	SEQ ID NO:113	SEQ ID NO:161	Hu005-19	SEQ ID NO:129	SEQ ID NO:177
Hu033-12	SEQ ID NO:98	SEQ ID NO:146	Hu005-04	SEQ ID NO:114	SEQ ID NO:162	Hu005-20	SEQ ID NO:130	SEQ ID NO:178
Hu033-13	SEQ ID NO:99	SEQ ID NO:147	Hu005-05	SEQ ID NO:115	SEQ ID NO:163	Hu005-21	SEQ ID NO:131	SEQ ID NO:179
Hu033-14	SEQ ID NO:100	SEQ ID NO:148	Hu005-06	SEQ ID NO:116	SEQ ID NO:164	Hu005-22	SEQ ID NO:132	SEQ ID NO:180
Hu033-15	SEQ ID NO:101	SEQ ID NO:149	Hu005-07	SEQ ID NO:117	SEQ ID NO:165	Hu005-23	SEQ ID NO:133	SEQ ID NO:181
Hu033-16	SEQ ID NO:102	SEQ ID NO:150	Hu005-08	SEQ ID NO:118	SEQ ID NO:166	Hu005-24	SEQ ID NO:134	SEQ ID NO:182

实施例 10、人源化抗 BDCA2 抗体的筛选

10.1. 人源化抗体与 BDCA2 的结合活性

用 TrypLE 胰酶消化培养至对数生长期的 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。重悬后的细胞以 100μL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清。将待测抗体用 FACS buffer 5 倍梯度稀释（终浓度 0.012nM-200nM），将稀释后的抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育一个小时。孵育后的细胞 300g 离心 5min，并用 FACS buffer 洗两遍。加入 100μL Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488（Sigma, A11013; 1:1000）二抗，4℃孵育一个小时后 FACS buffer 洗两遍。PBS 重悬细胞后用 FACS (BD FACS CantoTM II)仪器分析结合细胞表面抗体荧光信号，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算抗体结合 BDCA2 抗原的 EC_{50} 值。其中，选择 BIIB059 抗体为阳性对照，hIgG1 为阴性对照。

由 mAb033 序列人源化改造后得到的候选抗体，其对于 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞结合的活性优于阳性对照 BIIB059 抗体,结果见表 4。使用 SPR 测定抗体与 human BDCA2 亲和力，所选择抗体与 human BDCA2 亲和力强于阳性对照 BIIB059 抗体。

表 4 mAb033 系列人源化抗体与 BDCA2 的结合活性

抗体编号	CHOK1-hBDCA2 EC_{50}（nM）	293F-cynoBDCA2 EC_{50}（nM）
BIIB059	1.30	1.63
hIgG1	-	-
mAb033c	0.26	0.56
Hu033-02(BM2)	0.44	1.20
Hu033-03(BM3)	0.50	1.40
Hu033-04(BM0)	0.61	1.33
Hu033-06(BM3)	0.62	1.41
Hu033-08(BM2)	0.62	1.53
Hu033-10(BM4)	0.51	1.27
Hu033-12(BM2)	0.45	1.07
Hu033-13(BM4)	0.68	1.13
Hu033-15(BM2)	0.76	1.27
Hu033-16(BM4)	0.63	1.37
Hu033-20(BM3)	0.64	1.22

Hu033-23(BM3)	0.79	1.24

注："-"表示未检出。

由 mAb005 序列人源化改造后得到的候选抗体，其对于 CHOK1-humanBDCA2 细胞结合的 EC_{50} 值优于阳性对照 BIIB059 抗体，结果见表 5。同时，由 mAb005 序列人源化改造后得到的候选抗体对于 293F-cynoBDCA2 细胞也有较好的结合活性。

表 5 mAb005 系列人源化抗体与 BDCA2 的结合活性

抗体编号	CHOK1-hBDCA2 EC_{50}（nM）
mAb005c	2.2
BIIB059	3.1
hu005-03(BM4)	2.1
hu005-04(BM6)	2.3
hu005-07(BM5)	2.0
hu005-08(BM7)	2.3
hu005-24(BM6)	1.9

10.2. 人源化抗体抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 的能力

挑选一系列人源化后的候选抗体分子进行抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 的功能检测。复苏冻存的人 PBMC 细胞，用完全培养基（1640+10%FBS+1×NEAA+1×L-Glutamine）过夜培养 18 小时。第二天，收集 PBMC 细胞，用 600g 离心 8 分钟，弃上清。细胞用培养基（1640+10%FBS）重悬至 8x10^6/mL，100 μL 每孔加入 3799 细胞培养板。待测抗体用培养基（1640+10%FBS）10 倍梯度稀释（0.0001nM-10nM，以及 0 点对照），将稀释后的抗体按 50μL/孔加入 PBMC 中。将细胞重悬后放在 37℃孵育 6 小时。每孔加入 50μL 培养基（1640+10%FBS）稀释的 2μM CpG-A （Invitrogen，tlrl-2216-5），混匀后继续在 37℃孵育 20 小时。第三天，将细胞培养板以 400g 离心 5 分钟，收集细胞培养上清并检测上清当中细胞因子 IFNα。选择 BIIB059 抗体为阳性对照，hIgG1 为阴性对照。

用 PBS 稀释抗体 MT1/3/5 （Mabtech，3425-1H-20）至 4μg/mL，以 100μL 每孔加入 CORNING ELISA 板，4℃过夜孵育包板。之后弃掉包板抗体，以 300μL 每孔向板中加入封闭液（PBS+1% BSA），4℃过夜孵育。封闭完成后，待测上清用封闭液稀释至合适浓度（一般在 1:3-1:7），100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。IFNα 检测标准品用封闭液以 2 倍梯度稀释（最高浓度 1000pg/mL，8 个浓度点，最后 1 个点为 0），100μL 每孔加入包好的 ELISA 板。ELISA 板放置 37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入检测抗体 MT2/4/6（1:1000），37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入第二抗体 SA-HRP（1:1000）。37℃培养箱孵育 0.5 小时。洗板 3 次，以 100μL 每孔加入 TMB 显色液，显色至合适时间以 50μL 每孔加入 1M HCl。 用 ELISA 读板机读取 OD450nm 读数，并用 GraphPad Prism6 作拟

合曲线。选择 10nM 抗体浓度对应 OD 值，按照抑制率= （OD(IgG1)- OD(Ab)）/ OD（IgG1）计算最大抑制率。

在 CpG-A 刺激 PBMC 释放细胞因子实验中，所检测人源化抗体都能抑制细胞因子 IFNα 分泌，EC_{50} 值小于阳性对照抗体 BIIB059，结果进一步参见表 6。

表 6 人源化抗体抑制 CpG-A 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα

抗体编号	EC_{50}（nM）
BIIB059	0.04
hIgG1	-
mAb033c	0.02
Hu033-02(BM2)	0.02
Hu033-03(BM3)	0.01
Hu033-04(BM0)	0.03
Hu033-06(BM3)	0.02
Hu033-08(BM2)	0.02
Hu033-10(BM4)	0.01
Hu033-12(BM2)	0.02
Hu033-13(BM4)	0.01
Hu033-15(BM2)	0.02
Hu033-16(BM4)	0.01
Hu033-20(BM3)	0.01
Hu033-23(BM3)	0.03

注：“-”表示未检出。

10.3. 人源化抗体内吞能力检测

用 TrypLE 胰酶消化培养至对数生长期的 CHOK1-humanBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100μL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清，细胞放置冰盒降温。用 FACS buffer 梯度稀释抗体（设置 2 个浓度：100nM，10nM；以及各 3 组：0 小时； 4℃ 1 小时； 37℃ 1 小时），稀释后放置冰盒降温 15 分钟，15 分钟后将抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育 40 分钟。孵育后的细胞 300g 离心 5 分钟，并用 FACS buffer 洗两遍。0h 组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍；另外两组细胞用 100μL FACS buffer 重悬后分别放置 4℃和 37℃ 孵育 1h。将 4℃ 1 小时和 37℃ 1 小时 两组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍。3 组条件下的细胞同时加入 100μL 二抗 Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary

Antibody-Alexa Fluor 488 （Sigma, A11013; 1:1000），4℃下孵育一个小时。FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS 仪器分析，并计算表面信号百分率。

结果如图 4 所示，Hu005 和 Hu033 两组人源化抗体在 100nM 和 10nM 浓度下都出现内吞情况，人源化抗体介导内吞的能力与阳性对照抗体 BIIB059 相当。

10.4. 人源化抗体亲和力检测

本发明的人源化抗体通过 BIAcore 实验测定亲和力：用 1:1 混合的 50 mM NHS 和 200 mM EDC（NHS 和 EDC 来自氨基偶联试剂盒）活化 CM5 芯片通道表面，注射 Anti-human IgG (Fc)抗体（稀释在 pH5.0 的醋酸钠溶液中，浓度 25 μg/mL) 420 秒。然后以 10 μL/min 流速注射 1 M 乙醇胺，时间 420 秒，封闭芯片上多余的有活性羧基。使用运行缓冲液将人源化抗体稀释至 1ug/mL 后，向检测通道流动池注射，流速 10 μL/min，进样 60s，进行捕获。用 1×HBS-EP+ (pH 7.4) 将重组 Human BDCA2 稀释至 50 或 100nM，并 1：2 梯度稀释至 0.39nM。以 30 μL/min 流速分别向检测通道注射各个浓度梯度的待测样品 hBDCA2， 2 个 0 浓度样品用于去除背景信号。抗原抗体的结合和解离时间分别为 180 和 400 秒。利用 Biacore Insight Evaluation Software（Version 2.0.15.12933）进行数据分析。扣除参比通道（流动池 1）以及 0 浓度的信号后，选择用 1:1 结合模型进行曲线拟合并计算动力学参数。测定所得结果如下表 7 所示。

表 7 人源化抗体亲和力

抗体编号	SPR		
Ab NO.	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
BIIB059	1.67E+05	1.79E-04	1.07E-09
hIgG1			
mAb033c	6.98E+05	7.67E-05	1.10E-10
Hu033-02(BM2)	7.07E+05	1.69E-04	2.39E-10
Hu033-03(BM3)	5.76E+05	1.36E-04	2.36E-10
Hu033-04(BM0)	5.98E+05	1.93E-04	3.23E-10
Hu033-06(BM3)	7.33E+05	1.25E-04	1.70E-10
Hu033-08(BM2)	7.40E+05	1.69E-04	2.29E-10
Hu033-10(BM4)	5.89E+05	1.18E-04	2.00E-10
Hu033-12(BM2)	5.27E+05	1.49E-04	2.83E-10
Hu033-13(BM4)	4.54E+05	1.53E-04	3.38E-10
Hu033-15(BM2)	4.87E+05	2.27E-04	4.67E-10
Hu033-16(BM4)	5.69E+05	1.08E-04	1.91E-10
Hu033-20(BM3)	5.56E+05	1.49E-04	2.68E-10
Hu033-23(BM3)	4.66E+05	2.07E-04	4.44E-10

实施例 11 人源化抗 BDCA2 抗体的 Fc 突变和抗体筛选

对实施例 10 中得到的人源化抗体 Hu033-03 和 Hu033-20，选择 Fc 位点进行突变，增加其 Fc 与 FcγRIIA 亲和力。总共设计得到人源化抗体 Hu033-03-T1、Hu033-03-T2、Hu033-03-T3、Hu033-20-T1、Hu033-20-T2 和 Hu033-20-T3，得到的重链和轻链编码序列由 Genscript 公司合成。重链和轻链氨基酸序列见表 8。选用 293F 为宿主细胞进行抗体表达，并对表达纯化后的抗体进行各项表征测试。

表 8：突变的抗 BDCA2 人源化抗体的可变区、全长氨基酸序列

抗体	VH	VL	HC	LC
Hu033-03-T1	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137	SEQ ID NO:191	SEQ ID NO:186
Hu033-03-T2	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137	SEQ ID NO:192	SEQ ID NO:186
Hu033-03-T3	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:137	SEQ ID NO:193	SEQ ID NO:186
Hu033-20-T1	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154	SEQ ID NO:194	SEQ ID NO:187
Hu033-20-T2	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154	SEQ ID NO:195	SEQ ID NO:187
Hu033-20-T3	SEQ ID NO:106	SEQ ID NO:154	SEQ ID NO:196	SEQ ID NO:187

11.1. Fc 突变增加抗体对 FcγRIIA 亲和力

使用 BIAcore 8K 以及新鲜固定了 biotinylated human FcγRIIA(R167) / FcγRIIA(H167) 的 SA 芯片来测定抗体动力学或亲和力参数，实验运行在 25℃，运行缓冲液为 1×HBS-EP++ (10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% Surfactant P20)。将抗体

用运行缓冲液以 1:2 的比例稀释成 5000nM, 2500nM, 1250nM, 625nM, 321.5nM, 156.25nM, 78.13nM, 39.06nM, 19.53nM 或 9.77nM 浓度，以 30 μL/min 流速分别向流动池 1 和流动池 2 注射各浓度梯度的待测抗体，抗体的结合和解离时间分别为 60 和 90 秒。2 个 0 浓度样品用于去除背景信号。样品以多循环方式进样，每个循环结束分析物都能充分从芯片表面解离下来，因此没有应用再生步骤。利用 Biacore Insight Evaluation Software（Version 2.0.15.12933）进行数据分析。扣除参比通道（流动池 1）以及两个 0 浓度的信号后，亲和力分析选择用 1:1 结合模型或稳态模型分析进行曲线拟合并计算动力学参数。

与野生型 Fc 相比，突变后的抗体对人 FcγRIIA(R167) 或 FcγRIIA(H167) 亚型的亲和力都显著提高。结果见表 9-1 和表 9-2。

表 9-1 抗 BDCA2 人源化抗体对人 FcγRIIA(H167)的亲和力(1:1 binding)

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	亲和力倍数
Hu033-03-T1	4.70E+05	2.30E-01	4.90E-07	2.3
Hu033-03-T2	5.70E+05	5.85E-02	1.03E-07	10.0
Hu033-03-T3	5.51E+05	8.94E-02	1.62E-07	7.3
Hu033-03	3.61E+05	3.39E-01	9.41E-07	-
Hu033-20-T1	4.94E+05	2.42E-01	4.89E-07	2.5
Hu033-20-T2	6.04E+05	5.77E-02	9.55E-08	12.1
Hu033-20-T3	5.63E+05	8.70E-02	1.54E-07	8.7
Hu033-20	4.39E+05	4.31E-01	9.81E-07	-

表 9-2 抗 BDCA2 人源化抗体对人 FcγRIIA(R167)的亲和力(1:1 binding)

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	亲和力倍数
Hu033-03-T1	7.50E+05	2.32E-01	3.10E-07	4.0
Hu033-03-T2	1.96E+06	8.99E-02	4.58E-08	13.7
Hu033-03-T3	7.41E+05	2.25E-01	3.03E-07	4.4
Hu033-03	1.53E+06	7.82E-01	5.10E-07	=
Hu033-20-T1	7.98E+05	2.49E-01	3.12E-07	5.1
Hu033-20-T2	2.00E+06	8.21E-02	4.11E-08	17.7
Hu033-20-T3	6.83E+05	1.91E-01	2.79E-07	6.3
Hu033-20	1.45E+06	8.38E-01	5.78E-07	=

11.2. Fc 突变后的抗体对 BDCA2 结合力不变

对于 Fc 突变后的抗体通过 FACA 检测其与 human BDCA2 和 Cyno BDCA2 表达细胞的结合能力。

实验方法如下。

用 TrypLE 消化 CHOK1-humanBDCA2 和 293F-cynoBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS） 重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100uL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清。抗体用 FACS buffer 按照 200nM 起始浓度，按照 1:5 梯度稀释，将稀释后的抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育一个小时。孵育后的细胞 300g 离心 5min，并用 FACS buffer 洗两遍。加入 100uL Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody- Alexa Fluor 488 (Invitrogen, A21202; 1:1000) 二抗，4℃孵育一个小时后 FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS (BD FACS CantoTM II)仪器分析，并用 GraphPad Prism6 拟合曲线，计算 EC50 值。

Fc 突变后的抗体与 human BDCA2 的结合能力略优于野生型 Fc，且显著优于参照抗体 BIIB059。Fc 突变后的抗体与 Cyno BDCA2 的结合能力优于野生型 Fc 和 BIIB059。结果见图 5a、图 5b、表 10。

表 10 抗 BDCA2 人源化抗体对人 BDCA2 的结合能力

抗体	EC_{50} humanBDCA2	EC_{50} Cyno BDCA2
Hu033-03-T1	1.625	3.321
Hu033-03-T2	1.542	3.064
Hu033-03-T3	1.422	2.728
Hu033-03	1.823	4.002
Hu033-20-T1	1.695	2.808
Hu033-20-T2	1.718	2.861
Hu033-20-T3	1.708	2.711
Hu033-20	1.858	3.201
BIIB059	3.811	4.382
HIgG1	~146.6	~364250

11.3. Fc 突变后抗体内吞能力不变

使用 FACS 检测各抗体的内吞能力。

用 TrypLE 消化 CHOK1-humanBDCA2 细胞。收集细胞后，将细胞用 FACS buffer（PBS+2%FBS）重悬至 2x10^6/mL。将细胞以 100uL 每孔加入 3799 细胞板，300g 离心后弃上清，细胞放置冰盒降温。用 FACS buffer 梯度稀释抗体至 1nM，10nM 或 100nM（每个抗体浓度设置 5 组检测条件：0 小时；4℃，1 小时；37℃，1 小时；4℃，4 小时；37℃，4 小时），稀释后放置冰盒降温 15 分钟，15 分钟后将抗体加入离心后的细胞中，将细胞重悬。4℃孵育 40 分钟。孵育后的细胞 300g 离心 5 分钟，并用 FACS buffer 洗两遍。0h 组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍；另外四组细胞用 100uL FACS buffer 重悬后分别放置 4℃和 37℃孵育 1h 或 4h。在设定时间将对应 4℃和 37℃ 两组细胞用多聚甲醛室温固定 10 分钟，FACS buffer 洗两遍。5 组条件下的细胞同时加入 100uL 二抗 Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody-Alexa Fluor 488 （Sigma, A11013; 1:1000），4℃孵育一个小时。FACS buffer 洗两遍，用 PBS 重悬后用 FACS 仪器分析，并计算表面信号百分率。

测定 Fc 突变抗体在 100nM, 10nM, 和 1nM 浓度下都有内吞。3 种 Fc 改造后对抗体内吞没有影响。具体见图 6a-6f。

11.4. Fc 突变抗体更强抑制抗体复合物 SLE-IC 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα

对 Fc 改造后的抗体进行抑制抗体复合物刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα 的功能检测。复苏冻存的人 PBMC 细胞，用完全培养基（1640+10%FBS+1×NEAA+1×L-Glutamine）过夜培养 18 小时。第二天，收集 PBMC 细胞，用 600g 离心 8 分钟，弃上清。细胞用培养基（1640+10%FBS）重悬至 8x10^6/mL，100 μL 每孔加入 3799 细胞培养板。待测抗体用培养基（1640+10%FBS）5 倍梯度稀释（0.0032nM-10nM，以及 0 点对照），将稀释后的抗体按 50μL/孔加入 PBMC 中。将细胞重悬后放在 37℃孵育 6 小时。每孔加入 50μL 培养基（1640+10%FBS）稀释的 SLE-IC (2.5μl Sm/RNP-antigen (AROTEC, ART01-10) 混合 10μl anti-RNP antibody (RayBiotech, MD-14-0513))，混匀后继续在 37℃孵育 20 小时。第三天，将细胞培养板以 400g 离心 5 分钟，收集细胞培养上清并检测上清当中细胞因子 IFNα。选择 BIIB059 抗体为阳性对照，hIgG1 为阴性对照。

检测上清中细胞因子 IFNα, 用 PBS 稀释抗体 MT1/3/5（Mabtech，3425-1H-20）至 4ug/mL，以 100uL 每孔加入 CORNING ELISA 板，4℃过夜孵育。弃掉包板抗体，以 300uL 每孔向板中加入封闭液（PBS+1% BSA），4℃过夜孵育。待测上清用封闭液稀释至合适浓度（一般在 1:3-1:7），100uL 每孔加入包好的 ELISA 板。IFNα 检测标准品用封闭液以 2 倍梯度稀释（最高浓度 1000pg/mL，8 个浓度点，最后 1 个点为 0），100uL 每孔加入包好的 ELISA 板。ELISA 板放置 37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100uL 每孔加入检测抗体 MT2/4/6（1:1000）, 37℃培养箱孵育 1 小时。洗板 3 次，以 100uL 每孔加入第二抗体 SA-HRP（1:1000）。37℃培养箱孵育 0.5 小时。洗板 3 次，以 100uL 每孔加入 TMB 显色液，显色至合适时间以 50uL 每孔加入 1×HCl。 用 ELISA 读板机读取 OD_{450nm} 读数，并用 GraphPad Prism6 作拟合曲线计算上清中 IFNα 浓度。

相比较于野生型 Fc 抗体和 BIIB059 抗体，Fc 改造后的抗体在 SLE-IC 刺激条件下具有更

强的 IFNα 抑制效果，在 0.016nM 实现了完全的 IFNα 分泌抑制。具体见图 7 和表 11。

表 11 突变的人源化抗体抑制 SLE-IC 刺激人 PBMC 细胞释放细胞因子 IFNα

抗体浓度(nM)	Hu033-03-T3	Hu033-03-T2	Hu033-03-T1	Hu033-03	Hu033-20-T2	Hu033-20-T3	Hu033-03-T1	Hu033-20	BIIB059	hIgG1
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	182±38
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150±31.6
0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	162.4±8.5
0.08	-	-	-	33±19.6	-	-	-	11.2±15.8	-	N.A.
0.016	-	-	-	27±20.5	-	-	-	27.8±39.3	17.7±25	N.A.
0.0032	92.6±21	40.6±1	71.5±10.1	119.8±26.5	33.8±0.9	59.8±34.3	86.8±1	127±20	113.1±39.7	N.A.

注：“-”表示低于检测限；“N.A.”表示未检测。

本发明所述方法和系统的多种修改和变化对于本领域技术人员将显而易见，而不脱离本发明的范围和精神。虽然已经联系具体的优选实施方案描述本发明，应当理解如要求的本发明不应不当地受限于此类具体的实施方案。实际上，用于实施本发明的所述模式的多种修改，对于分子生物学、免疫学或相关领域的技术人员显而易见，意在属于所附权利要求的范围内。

序列列表（均为氨基酸序列，序列的定义/说明参见本文前述部分）：

序列编号	序列
SEQ ID NO:1	DFSMH
SEQ ID NO:2	WINTETGEPTYADDFKG
SEQ ID NO:3	GGDGHPYWYFAV
SEQ ID NO:4	RASQSVSTSSYSYMH
SEQ ID NO:5	YASILES
SEQ ID NO:6	QHSWEIPFT
SEQ ID NO:7	DYSMH
SEQ ID NO:8	GGDGFPYWYFNV
SEQ ID NO:9	RASQSVSTSSNSYIH
SEQ ID NO:10	YASNLDS
SEQ ID NO:11	NYGVH
SEQ ID NO:12	VIWSGESTDYDAAFIS
SEQ ID NO:13	RRSHYYGYVMDY
SEQ ID NO:14	KASQSIDYDGIGYLN
SEQ ID NO:15	AASNLES
SEQ ID NO:16	QQSNEDPPT
SEQ ID NO:17	SYGVH
SEQ ID NO:18	KASQSVDYDGVGYLN
SEQ ID NO:19	DYYMY
SEQ ID NO:20	YISYSGDSTYYPDTVKG
SEQ ID NO:21	HSPSFPYYFDY
SEQ ID NO:22	SASSSVSYMH

SEQ ID NO:23	EISKLAS
SEQ ID NO:24	QLWNYPLIT
SEQ ID NO:25	SGYYWN
SEQ ID NO:26	YISFDGTYNYNPSLKD
SEQ ID NO:27	GVDYPNAIDW
SEQ ID NO:28	RASESVSMHVTHLIH
SEQ ID NO:29	VASNLES
SEQ ID NO:30	QQSFEDPWT
SEQ ID NO:31	SAYYWN
SEQ ID NO:32	YITYDGNNYYSPSLKN
SEQ ID NO:33	GGDYDDGGFAF
SEQ ID NO:34	RASGNIHNYLA
SEQ ID NO:35	NAKSLVD
SEQ ID NO:36	QHFWIVPYT
SEQ ID NO:37	GVDYPKAMDW
SEQ ID NO:38	SFGMS
SEQ ID NO:39	TISSGDSYTYYPDSV
SEQ ID NO:40	QIYYDYAYYFDY
SEQ ID NO:41	RASESVSFRSSHLMH
SEQ ID NO:42	QQSIEDPPT
SEQ ID NO:43	YISYDGSNNYNPSLKN
SEQ ID NO:44	RASESVSIHGTHLMH
SEQ ID NO:45	VASYLES
SEQ ID NO:46	YITYDGSNNYNPSLKN
SEQ ID NO:47	GGDYDDGGFAY
SEQ ID NO:48	NAKTLVD
SEQ ID NO:49	QHFWIIPYT
SEQ ID NO:50	YISYDGSNYYNPSLKN
SEQ ID NO:51	NAKTLAD
SEQ ID NO:52	SYGMS
SEQ ID NO:53	QIYYDYAYYFDF
SEQ ID NO:54	RASESVSFRTSHLMH
SEQ ID NO:55	GASNLES
SEQ ID NO:56	YITYDGSNNYNPSLKD
SEQ ID NO:57	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDFSMHWVKQAPGKGLKW MGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAFLQINNLKNDDTTTYFC SRGGDGHPYWYFAVWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:58	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPK LLIKYASILESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPF TFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:59	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCRASGYSFTDYSMHWVKQAPGKGLKW VGWINTETGEPTYADDFKGRFALSLETSATSAYLQINNLKNEDTATYFC ARGGDGFPYWYFNVWGAGTTVTVSS
SEQ ID NO:60	DIVLTQSPTSLAVSLGQRTNISCRASQSVSTSSNSYIHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLDSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTSTYYCQHSWEIPF TFGSGTKLEIK

SEQ ID NO:61	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSGESTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDSAIYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:62	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSIDYDGIGYLNWYQHKPGQPPK LLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP PTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:63	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSGESTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFRMNSLQADDSAIYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:64	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGVGYLNWYQHKPGQPP KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNED PPTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO:65	EVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEW VAYISYSGDSTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMSRLKSEDTAMYY CARHSPSFPYYFDYWGQGTALTVSS
SEQ ID NO:66	EIVLTQSPAITAASLGQKVTITCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKPWIYEI SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAAIYYCQLWNYPLITFGGG TNLEIK
SEQ ID NO:67	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSIASGYYWNWIRQFPGNKLEW MGYISFDGTYNYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGVDYPNAIDWWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:68	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSMHVTHLIHWYQQKPGQPPK LLIYVASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDP WTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:69	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLEC MGYITYDGNNYYSPSLKNRISITRDTSKNQFFLNLNSVTTEDTATYFCAR GGDYDDGGFAFWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:70	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYHQKQGKSPQLLV YNAKSLVDGVPSRFSGSGSGTQYSLRINSLQPEDFGSYYCQHFWIVPYT FGGGTKLEII
SEQ ID NO:71	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEW MGYISFDGTYNYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGVDYPKAMDWWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO:72	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSFGMSWVRQTPDKRLDW VATISSGDSYTYYPDSVKGRFSISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO:73	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRSSHLMHWYRQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPP TFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:74	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGHKLEW MGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYHCA RGVDYPNAIDWWGQGTSLTVSS
SEQ ID NO:75	DIVLTQSPTSLTVSLGQRATISCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPK LLIYVASYLESGVPARFSGSGSETDFSLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDP WTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:76	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWVRQFPGNQLEC MGYITYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCV RGGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:77	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKTLVDGVPSRFSGSGSGTEYSLKINSLQPEDFGIYFCQHFWIIPYTFG

	GGTKLEIR
SEQ ID NO:78	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:79	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKTLADGVPSRFSGSGSETQYSLKINSLQPEDFGNYFCQHFWIIPYTF GGGTKLEIK
SEQ ID NO:80	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:81	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:82	EVQMVESGGDLVKPGDSLKLSCAASGFTFRSYGMSWVRQTPDKRLEW VATISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTALYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO:83	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPP TFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:84	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYITYDGSNNYNPSLKDRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGGDYDDGGFAYWGHGTLVTVSA
SEQ ID NO:85	DIQMTQSPVSLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKSLVDGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYCQHFWIIPYTF GGGTKLEIK
SEQ ID NO:86	KASQSIDYDAIGYLN
SEQ ID NO:87	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:88	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:89	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:90	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:91	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:92	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:93	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:94	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:95	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:96	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:97	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:98	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:99	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:100	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:101	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:102	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:103	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:104	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:105	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:106	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:107	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:108	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:109	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:110	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:111	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:112	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:113	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:114	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:115	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:116	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:117	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:118	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:119	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:120	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:121	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:122	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:123	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:124	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:125	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:126	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:127	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:128	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:129	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:130	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:131	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:132	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:133	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:134	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:135	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:136	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:137	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:138	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:139	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:140	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:141	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:142	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:143	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:144	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:145	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK

SEQ ID NO:146	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:147	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:148	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:149	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:150	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:151	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:152	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:153	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:154	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:155	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:156	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:157	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:158	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:159	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:160	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:161	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:162	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:163	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:164	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:165	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:166	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:167	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:168	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:169	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:170	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:171	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:172	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:173	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:174	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:175	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:176	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:177	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:178	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:179	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK

SEQ ID NO:180	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:181	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:182	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:183	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:184	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:185	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:186	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:187	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:188	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

	QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:189	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKIEGRNFMYSKTVKRLSKLREYQQYHPSLTCVMEGKDI EDWSCCPTPWTSFQSSCYFISTGMQSWTKSQKNCSVMGADLVVINTRE EQDFIIQNLKRNSSYFLGLSDPGGRRHWQWVDQTPYNENVTFWHSGEP NNLDERCAIINFRSSEEWGWNDIHCHVPQKSICKMKKIYI
SEQ ID NO:190	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCHHHHHHNFMYSKTVKRLSKLQEYQ QYYPSLTCVMEGKDMEDWSCCPTPWTSFQSSCYFISTVMQSWTKSQNN CSVMGADLVVINTKEEQDFITQNLKINSAYFLGLSDPKGWRHWQWVD QTPYNKNVTFWHSGEPNSPDERCAIINFRSEEWGWNDVHCHVPQKSIC KMKKIYI
SEQ ID NO:191	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:192	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:193	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:194	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

	KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:195	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:196	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

权利要求

1．一种抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，其中所述抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和/或轻链可变区：

所述重链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:46 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:46 和 SEQ ID NO:47 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VII) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:50 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:50 和 SEQ ID NO:47 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(IX) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:37 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或与 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:37 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

和/或

所述轻链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:48 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:48 和 SEQ ID NO:49 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VII) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:51 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:51 和 SEQ ID NO:49 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IX) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或与 SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

2．如权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:53 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 所示的 HCDR1、HCDR2，如 SEQ ID NO:27 或 SEQ ID NO:37 所示的 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID

NO:33 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(V)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39 和 SEQ ID NO:40 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:42 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(VI)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:46 或 50 所示的 HCDR2 和 SEQ ID NO:47 所示的 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:48 或 SEQ ID NO:51 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:49 所示的 LCDR3；或

(VII)重链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和轻链可变区，其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14 或 SEQ ID NO:86 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:15 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR3。

3．如权利要求 1 或 2 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区：

(I) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:61 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:62 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:65 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:66 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:67 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:68 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(IV) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:69 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:70 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(V) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:71 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:68 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VI) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:72 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 72

所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:73 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 73 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VII) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:76 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:77 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VIII) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:80 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 80 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:79 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 79 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(IX) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:82 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 82 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:83 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

4．如权利要求 1 或 2 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:87-110 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 87-110 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:135-158 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 135-158 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II)重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:111-134 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:111-134 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:159-182 中任一项所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:159-182 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

（III）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:89 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:137 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 137 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

（IV）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:106 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 106 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:154 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 154 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

（V）重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:114 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 114

所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:162 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 162 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(VI) 重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区和轻链可变区包含如表 C 中任一组合所示的氨基酸序列。

5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人抗体。

6. 如权利要求 1-4 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab')2、Fv、scFv 和 sdAb。

7. 如权利要求 1-4 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段是任何 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，优选为 IgG1 亚型。

8. 如权利要求 4 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 183 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链；或

(II) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 184 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链；或

（III）氨基酸序列如 SEQ ID NO: 185 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO:188 所示或与其具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的轻链。

9. 如权利要求 8 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I)与 SEQ ID NO: 183 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示的轻链；或

(II)与 SEQ ID NO: 184 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示的轻链；或

(III)与 SEQ ID NO: 185 所示的氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 188 所示的轻链。

10. 如权利要求 8 所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体包含以下序列或由其组成：

(I) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 191、SEQ ID NO: 192 或 SEQ ID NO: 193 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 186 所示的轻链；或

(II) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 194、SEQ ID NO: 195 或 SEQ ID NO: 196 所示的重链，和氨基酸序列如 SEQ ID NO: 187 所示的轻链。

11. 多核苷酸分子，其编码如权利要求 1-10 中任一项所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段。

12．表达载体，其包含如权利要求 11 所述的多核苷酸分子，优选地，所述表达载体为真核表达载体。

13．宿主细胞，其包含如权利要求 11 所述的多核苷酸分子或如权利要求 12 所述的表达载体，优选地，所述宿主细胞是真核细胞，更优选哺乳动物细胞。

14．制备如权利要求 1-10 中任一项所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下在权利要求 13 所述的宿主细胞中表达所述抗体或其抗原结合片段，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

15. 免疫缀合物，其包含如权利要求 1-10 中任一项所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段与至少一种治疗剂或诊断剂缀合，优选地，抗炎药或免疫抑制剂。

16．药物组合物，其包含如权利要求 1-10 中任一项所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段、权利要求 11 所述的多核苷酸分子、权利要求 13 所述的表达载体、权利要求 11 所述的宿主细胞、权利要求 13 的免疫缀合物，和药学上可接受的载体或赋形剂。

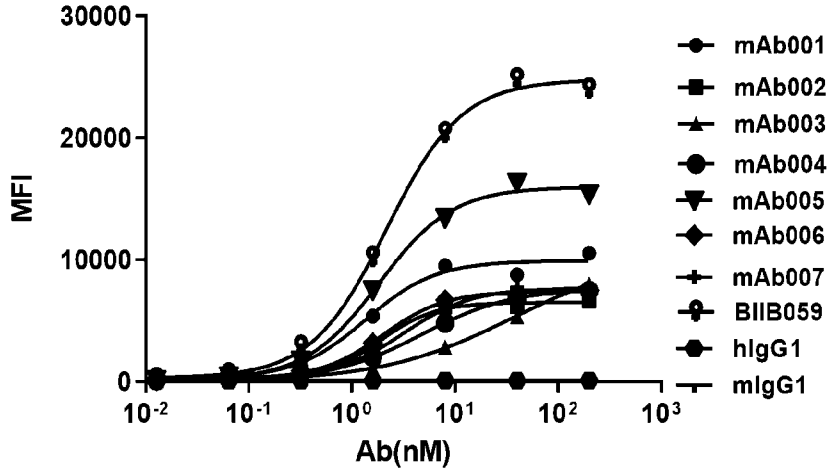
17．一种抑制受试者免疫细胞释放细胞因子超出的方法，所述方法包括将权利要求 1-10 中任一项所述的抗 BDCA2 抗体或其抗原结合片段、权利要求 15 的免疫缀合物或权利要求 16 所述的药物组合物接触受试者免疫细胞，优选地，所述免疫细胞为 CpG-A 刺激的 PBMC 细胞。

18．如权利要求 1-10 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 15 的免疫缀合物或权利要求 16 所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 BDCA2 介导的疾病的药物中的用途，优选所述疾病为炎症性疾病；更优选地，所述炎症性疾病选自全身性红斑狼疮、盘状狼疮、狼疮性肾炎、表皮性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠疾病、全身性硬化症(硬皮病)、银屑病、I 型糖尿病、皮肌炎和多肌炎。

19．试剂盒，其包括如权利要求 1-10 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 15 的免疫缀合物或权利要求 16 所述的药物组合物。

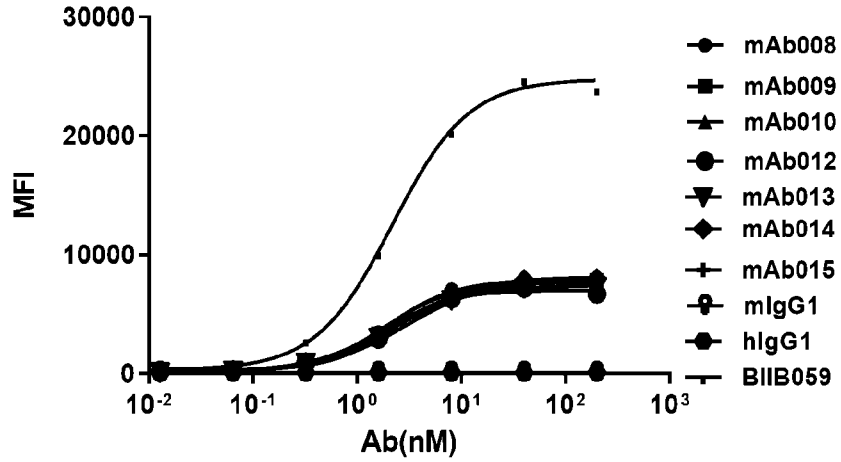
20．使用如权利要求 1-10 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物检测 BDCA2 在样品中的存在的方法，包括使所述抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物与所述样品接触的步骤。

a. **Purified Antibody binding affinity with CHOK1-hBDCA2(1B2)**



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	1.369	1.893	37.11	4.791	1.827	1.985	3.113	2.174

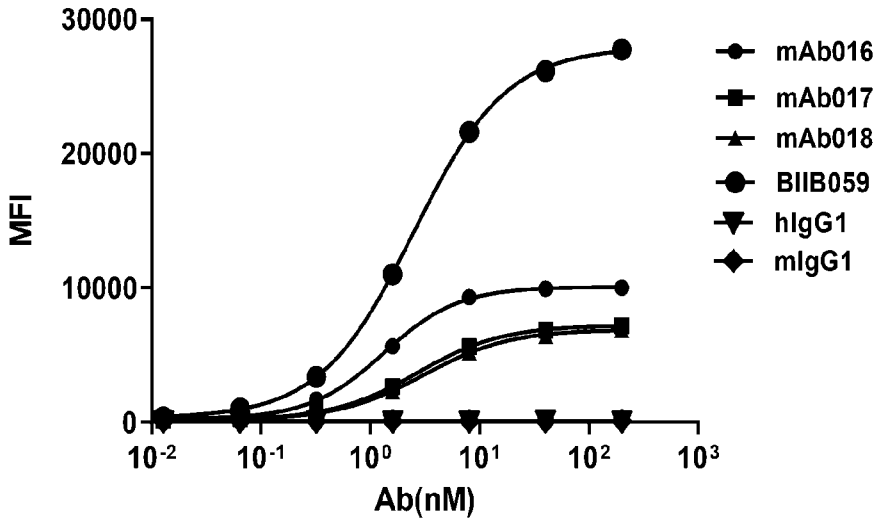
b. **Purified Antibody binding affinity with CHOK1-hBDCA2**



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	1.941	2.091	1.866	2.055	2.192	2.573	2.979	2.174

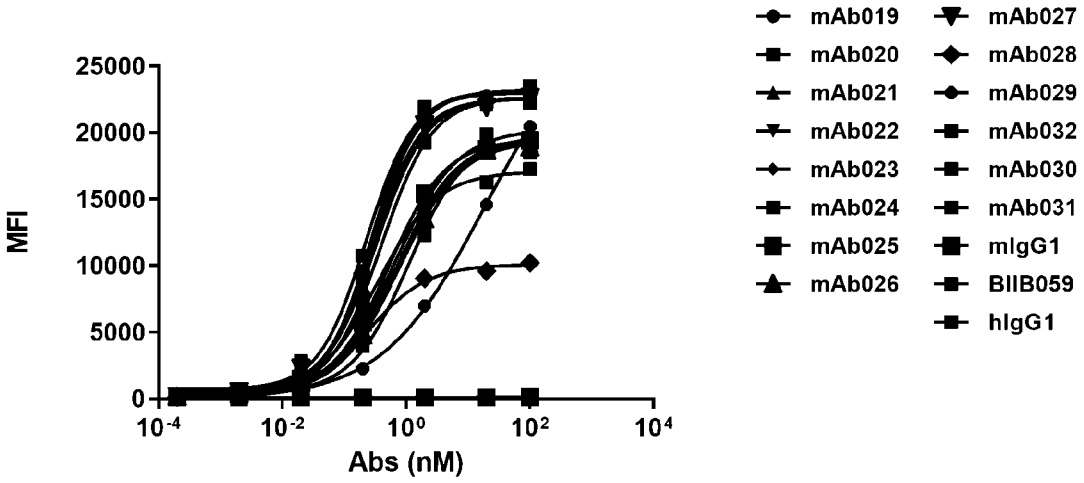
图 1

c. Purified Antibody binding affinity with CHOK1-hBDCA2(1B2)



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.328	2.705	3.089	2.480

d. Purified Antibody binding affinity with CHOK1-hBDCA2

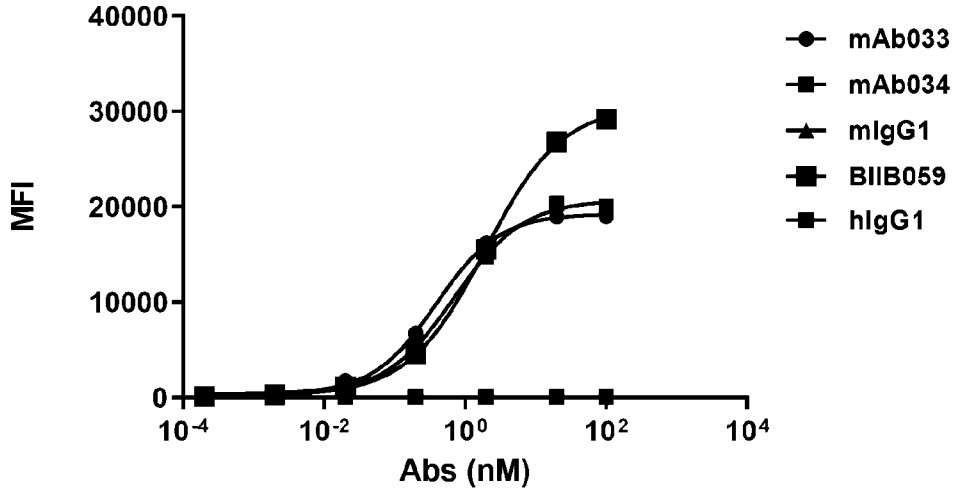


	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.2710	0.7070	0.3284	0.7227	0.6618	0.3430	0.5204

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	0.7726	0.3020	0.2507	18.29	0.2928	0.3990	0.2249	1.090

图 1（续）

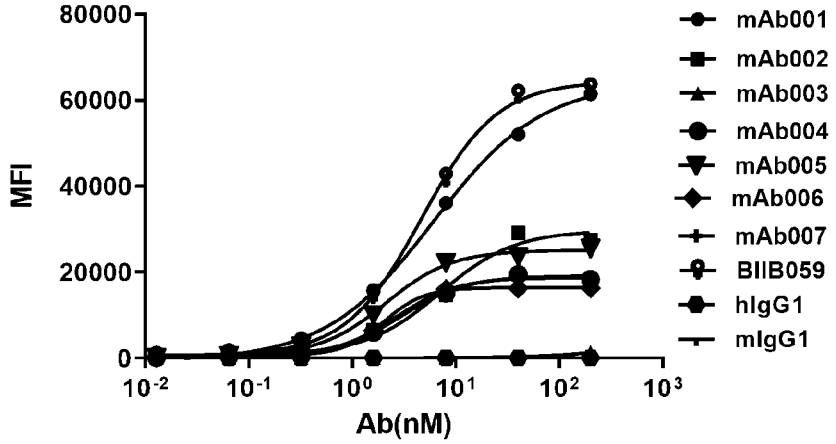
e. Purified Antibody binding affinity with CHOK1-hBDCA2



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	0.3882	0.7047	~ 175684	1.910	~ 4.327e-062

图 1（续）

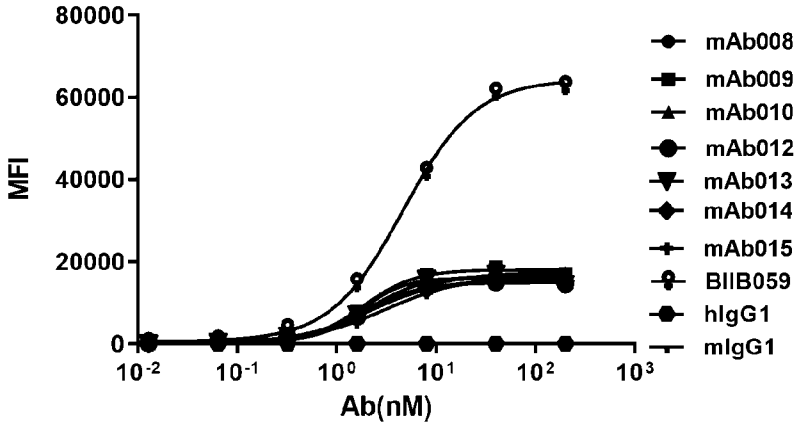
a. Purified Antibody binding affinity with 293F-cynoBDCA2



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	6.076	7.047	345248	2.961	2.106	2.019	2.649	4.651

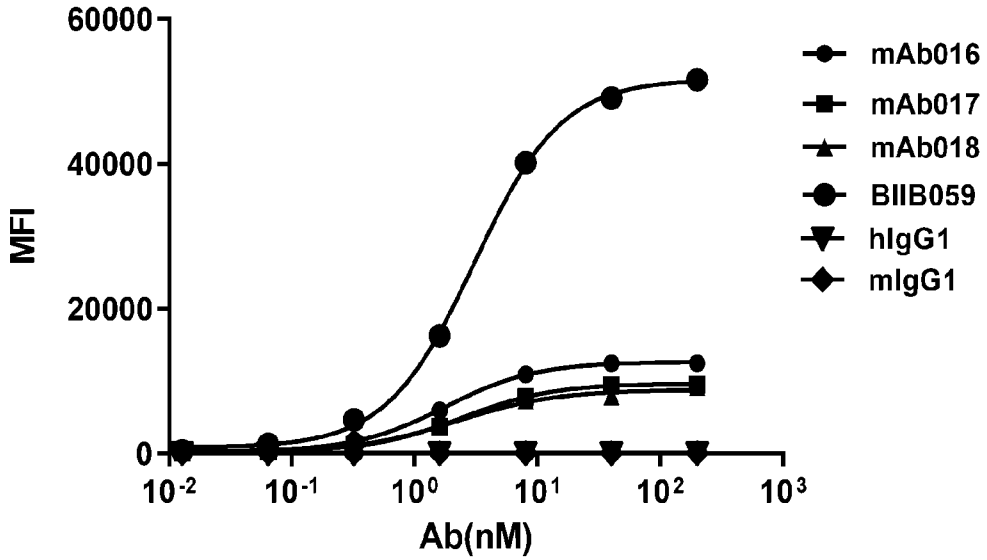
图 2

b. Purified Antibody binding affinity with 293F-cynoBDCA2



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	2.054	1.868	2.489	1.874	1.804	2.117	3.050	4.651

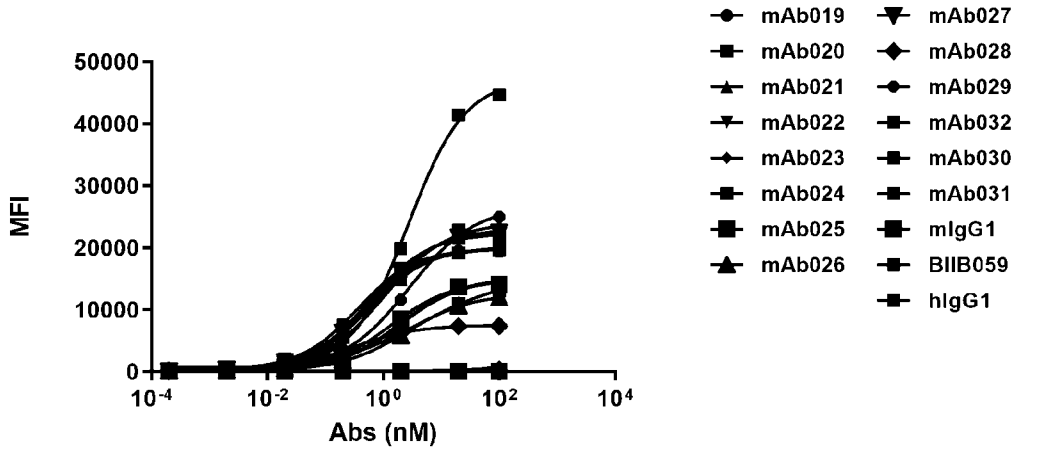
c. Purified Antibody binding affinity with 293F-cynoBDCA2



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.781	2.439	2.202	3.047

图 2（续）

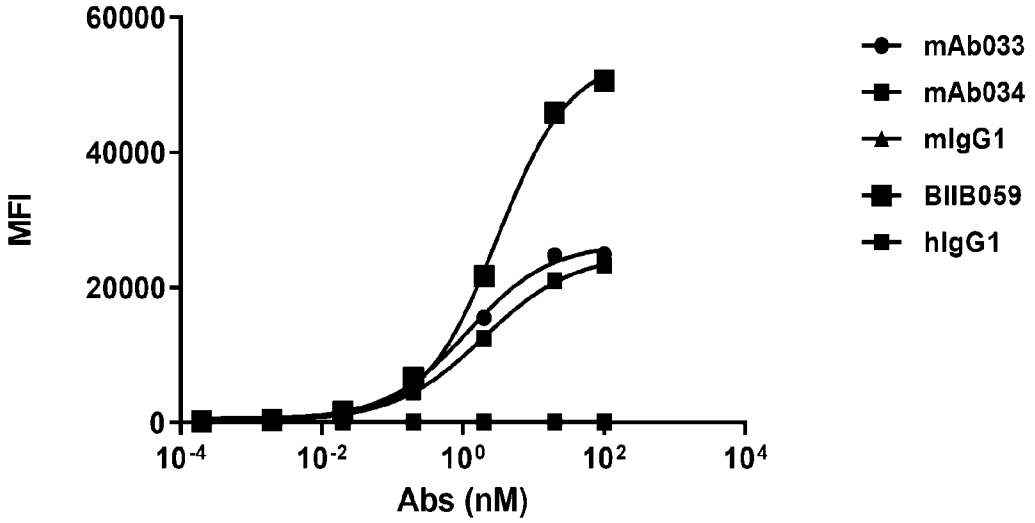
d. Purified Antibody binding affinity with 293F-cynoBDCA2



	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.4853	1.902	0.5662	1.964	101373	1.040	1.352

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	2.487	0.6805	0.2795	2.802	0.5662	4.144	0.3593	2.742

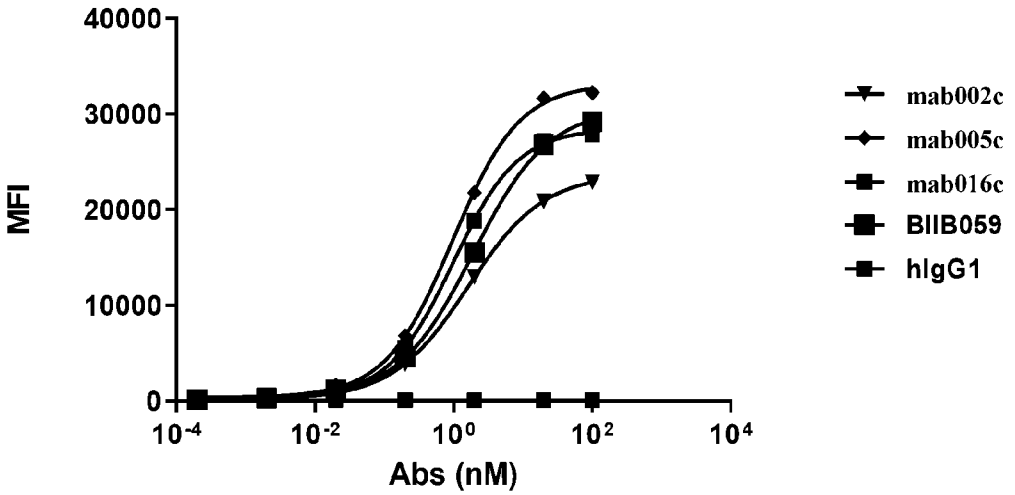
e. Purified Antibody binding affinity with 293F-cynoBDCA2



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	**1.176**	**1.961**	**20.63**	**3.067**	**~ 21.75**

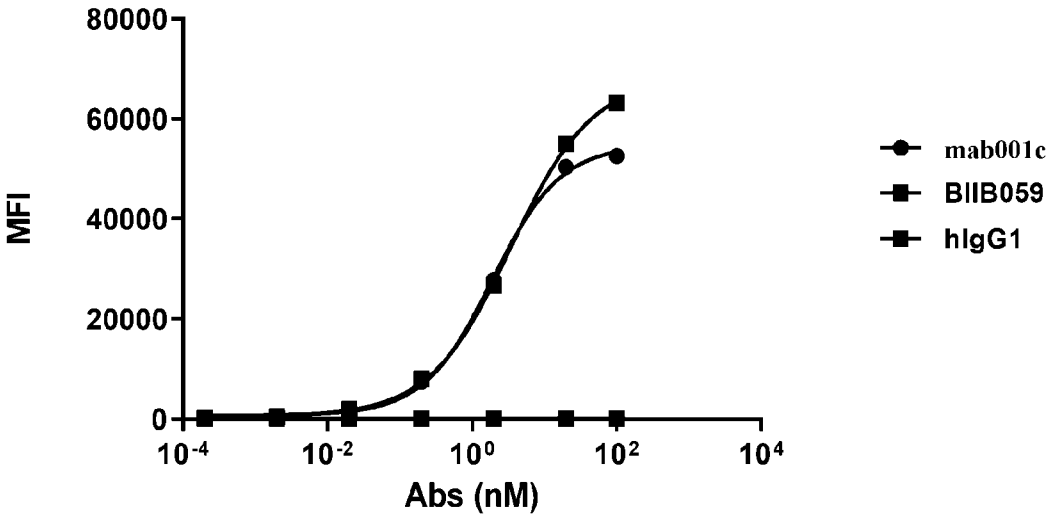
图 2（续）

a. FACS Binding of purified Abs to CHOK1-hBDCA2



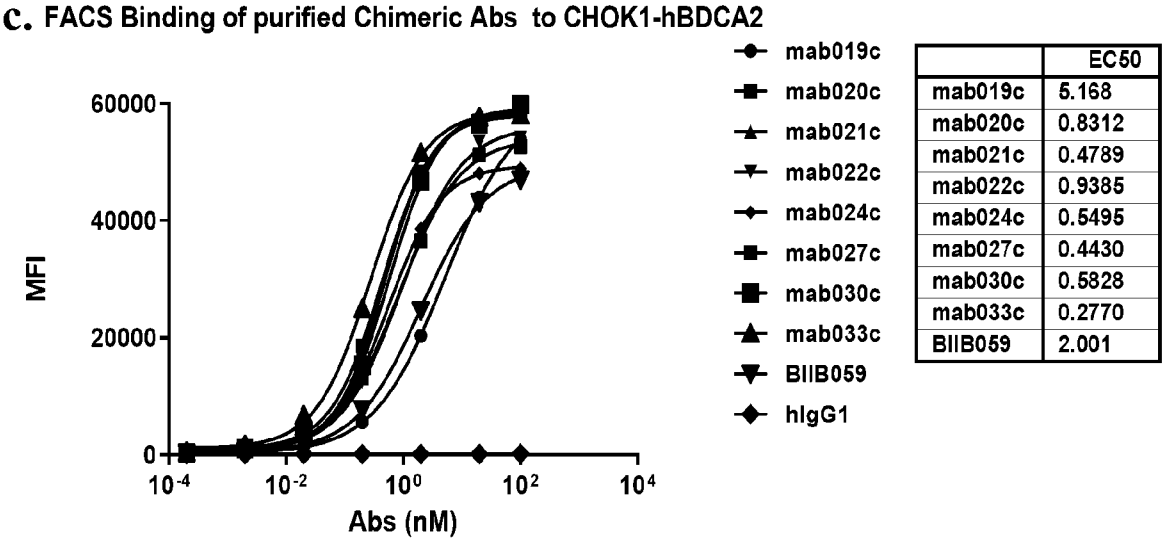
	mab002c	mab005c	mab016c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.612	0.9639	0.9772	1.910	~ 4.327e-062

b. FACS Binding of purified Abs to CHOK1-hBDCA2



	mab001c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.897	3.450	~ 61.26

图 3



	EC50
mab019c	5.168
mab020c	0.8312
mab021c	0.4789
mab022c	0.9385
mab024c	0.5495
mab027c	0.4430
mab030c	0.5828
mab033c	0.2770
BIIB059	2.001

图 3（续）

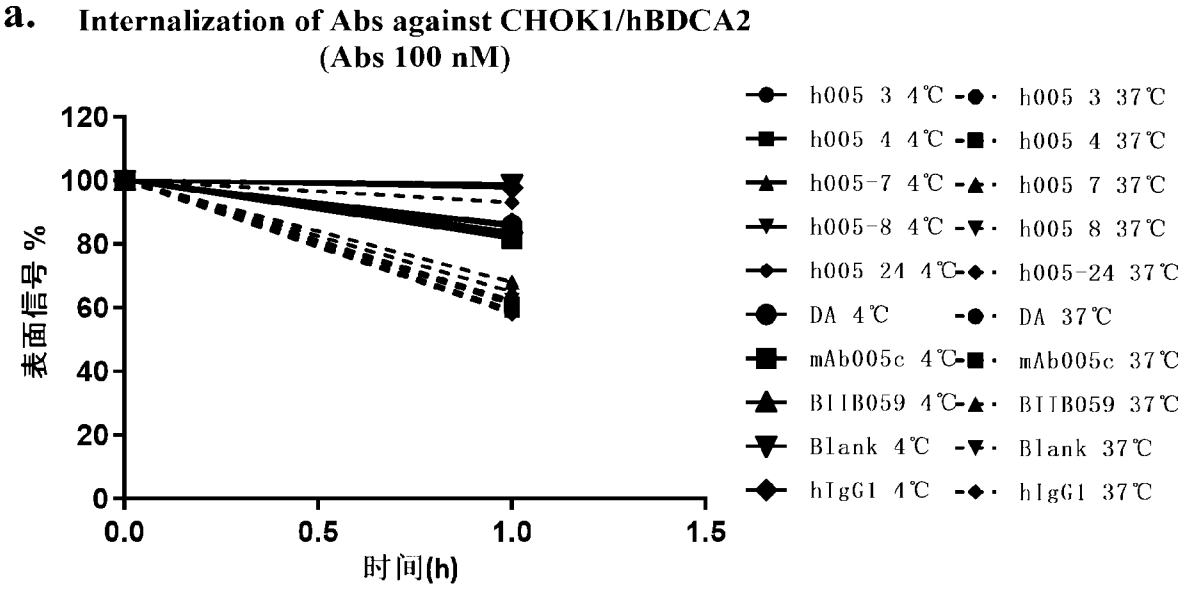
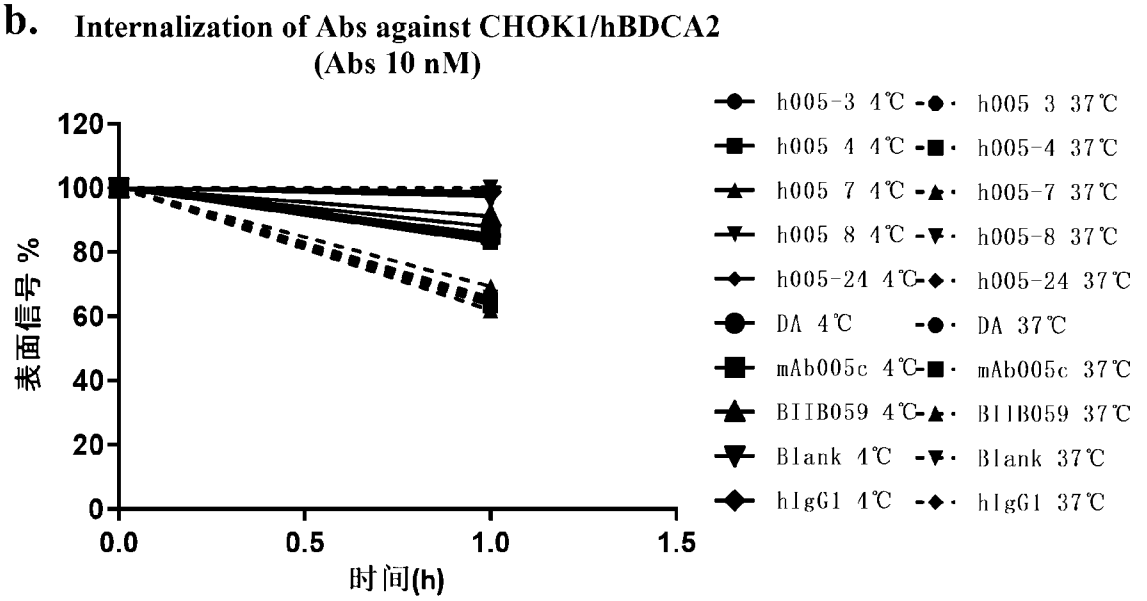


图 4


b.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 10 nM)
表面信号 %
时间(h)
h005-3 4℃
h005 3 37℃
h005 4 4℃
h005-4 37℃
h005 7 4℃
h005-7 37℃
h005 8 4℃
h005-8 37℃
h005-24 4℃
h005-24 37℃
DA 4℃
DA 37℃
mAb005c 4℃
mAb005c 37℃
BIIB059 4℃
BIIB059 37℃
Blank 4℃
Blank 37℃
hIgG1 4℃
hIgG1 37℃

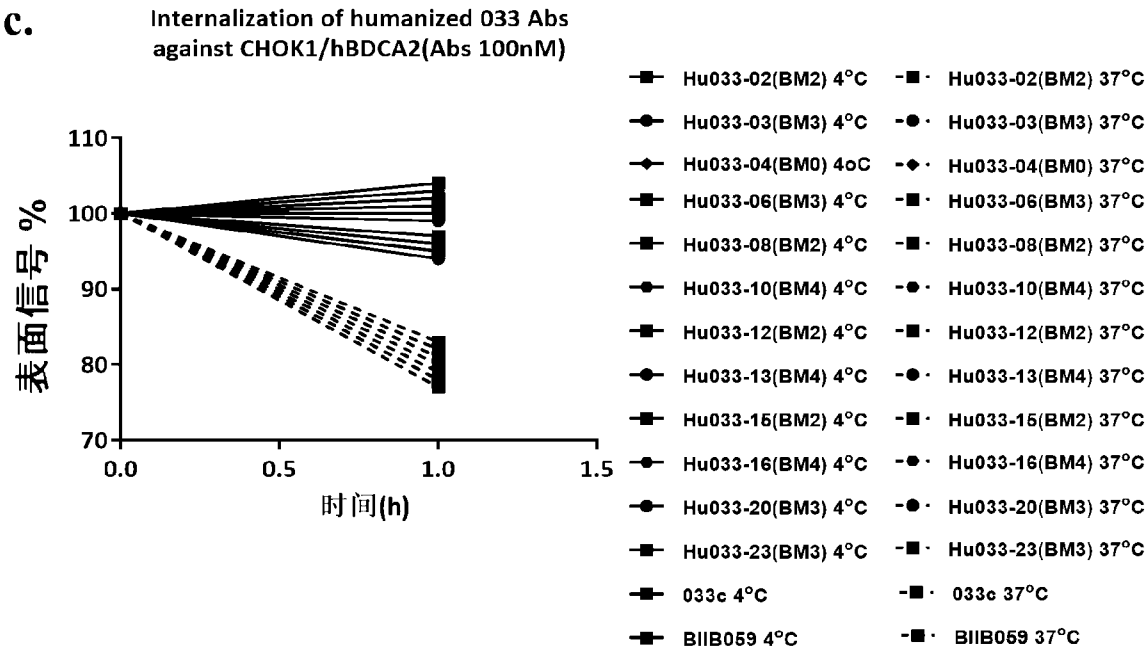

c.
Internalization of humanized 033 Abs
against CHOK1/hBDCA2(Abs 100nM)
表面信号 %
时间(h)
Hu033-02(BM2) 4°C
Hu033-02(BM2) 37°C
Hu033-03(BM3) 4°C
Hu033-03(BM3) 37°C
Hu033-04(BM0) 4oC
Hu033-04(BM0) 37°C
Hu033-06(BM3) 4°C
Hu033-06(BM3) 37°C
Hu033-08(BM2) 4°C
Hu033-08(BM2) 37°C
Hu033-10(BM4) 4°C
Hu033-10(BM4) 37°C
Hu033-12(BM2) 4°C
Hu033-12(BM2) 37°C
Hu033-13(BM4) 4°C
Hu033-13(BM4) 37°C
Hu033-15(BM2) 4°C
Hu033-15(BM2) 37°C
Hu033-16(BM4) 4°C
Hu033-16(BM4) 37°C
Hu033-20(BM3) 4°C
Hu033-20(BM3) 37°C
Hu033-23(BM3) 4°C
Hu033-23(BM3) 37°C
033c 4°C
033c 37°C
BIIB059 4°C
BIIB059 37°C

图 4（续）

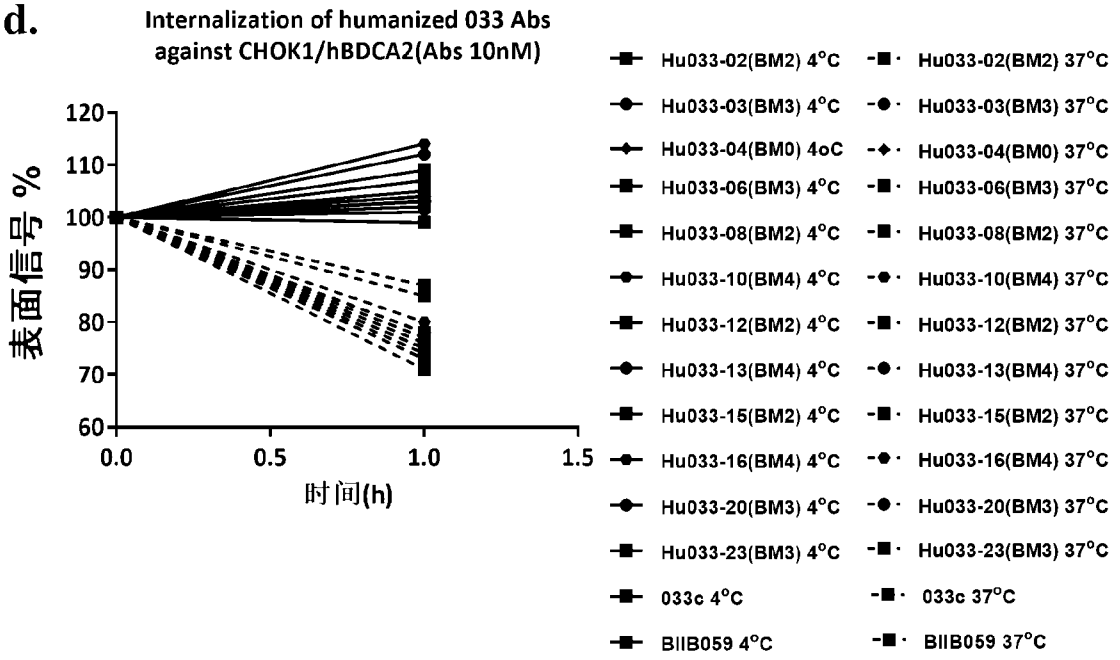

d.
Internalization of humanized 033 Abs against CHOK1/hBDCA2(Abs 10nM)
表面信号 %
120
110
100
90
80
70
60
0.0
0.5
1.0
1.5
时间(h)
Hu033-02(BM2) 4°C
Hu033-02(BM2) 37°C
Hu033-03(BM3) 4°C
Hu033-03(BM3) 37°C
Hu033-04(BM0) 4oC
Hu033-04(BM0) 37°C
Hu033-06(BM3) 4°C
Hu033-06(BM3) 37°C
Hu033-08(BM2) 4°C
Hu033-08(BM2) 37°C
Hu033-10(BM4) 4°C
Hu033-10(BM4) 37°C
Hu033-12(BM2) 4°C
Hu033-12(BM2) 37°C
Hu033-13(BM4) 4°C
Hu033-13(BM4) 37°C
Hu033-15(BM2) 4°C
Hu033-15(BM2) 37°C
Hu033-16(BM4) 4°C
Hu033-16(BM4) 37°C
Hu033-20(BM3) 4°C
Hu033-20(BM3) 37°C
Hu033-23(BM3) 4°C
Hu033-23(BM3) 37°C
033c 4°C
033c 37°C
BIIB059 4°C
BIIB059 37°C

图 4（续）

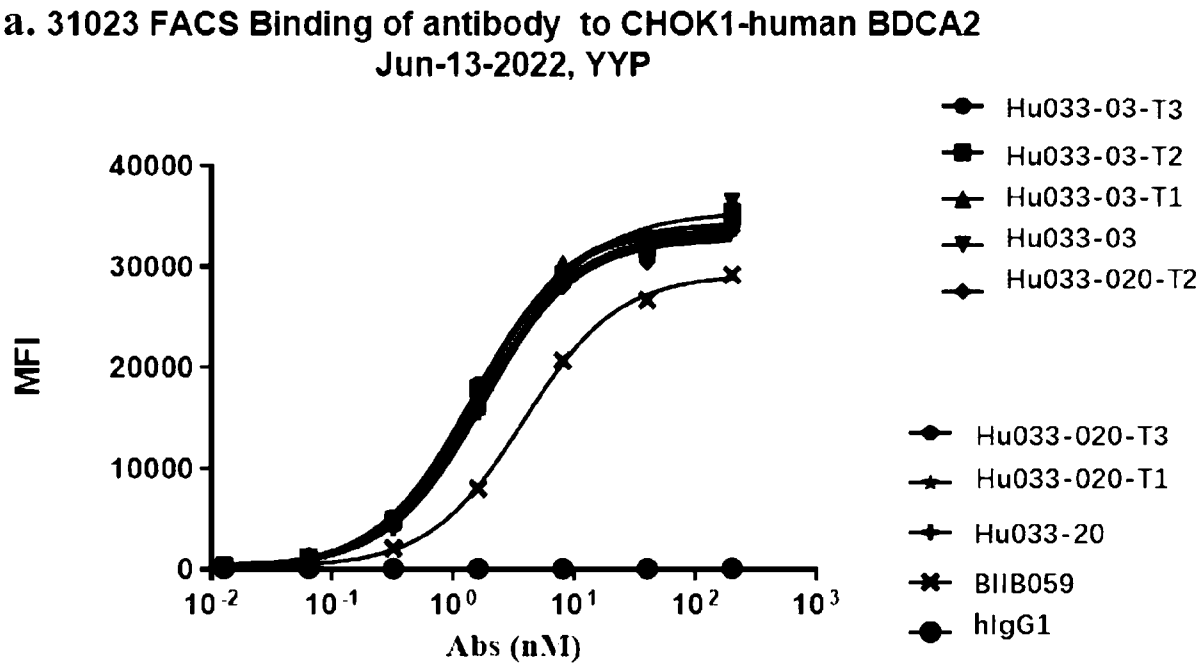

a. 31023 FACS Binding of antibody to CHOK1-human BDCA2
Jun-13-2022, YYP
MFI
40000
30000
20000
10000
0
10 -2
10 -1
10 0
10 1
10 2
10 3
Abs (nM)
Hu033-03-T3
Hu033-03-T2
Hu033-03-T1
Hu033-03
Hu033-020-T2
Hu033-020-T3
Hu033-020-T1
Hu033-20
BIIB059
hIgG1

图 5

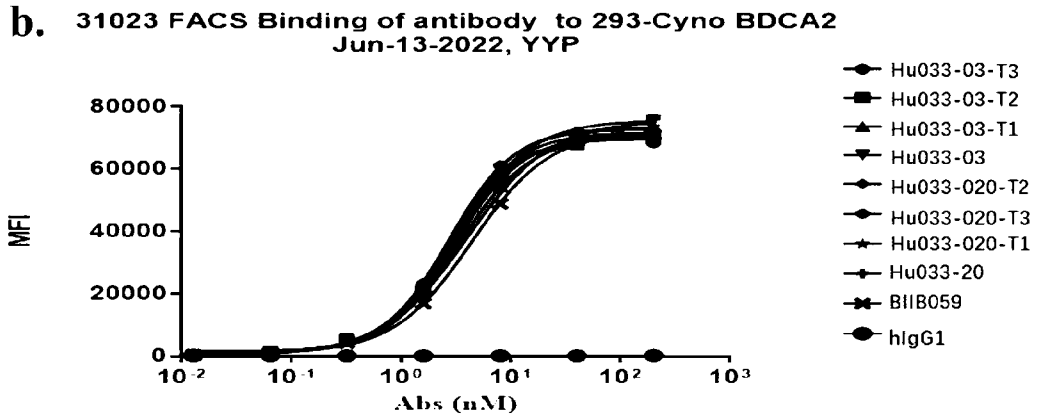

b.
31023 FACS Binding of antibody to 293-Cyno BDCA2
Jun-13-2022, YYP
MFI
80000
60000
40000
20000
0
10-2
10-1
100
101
102
103
Abs (nM)
Hu033-03-T3
Hu033-03-T2
Hu033-03-T1
Hu033-03
Hu033-020-T2
Hu033-020-T3
Hu033-020-T1
Hu033-20
BIIB059
hIgG1

图 5（续）

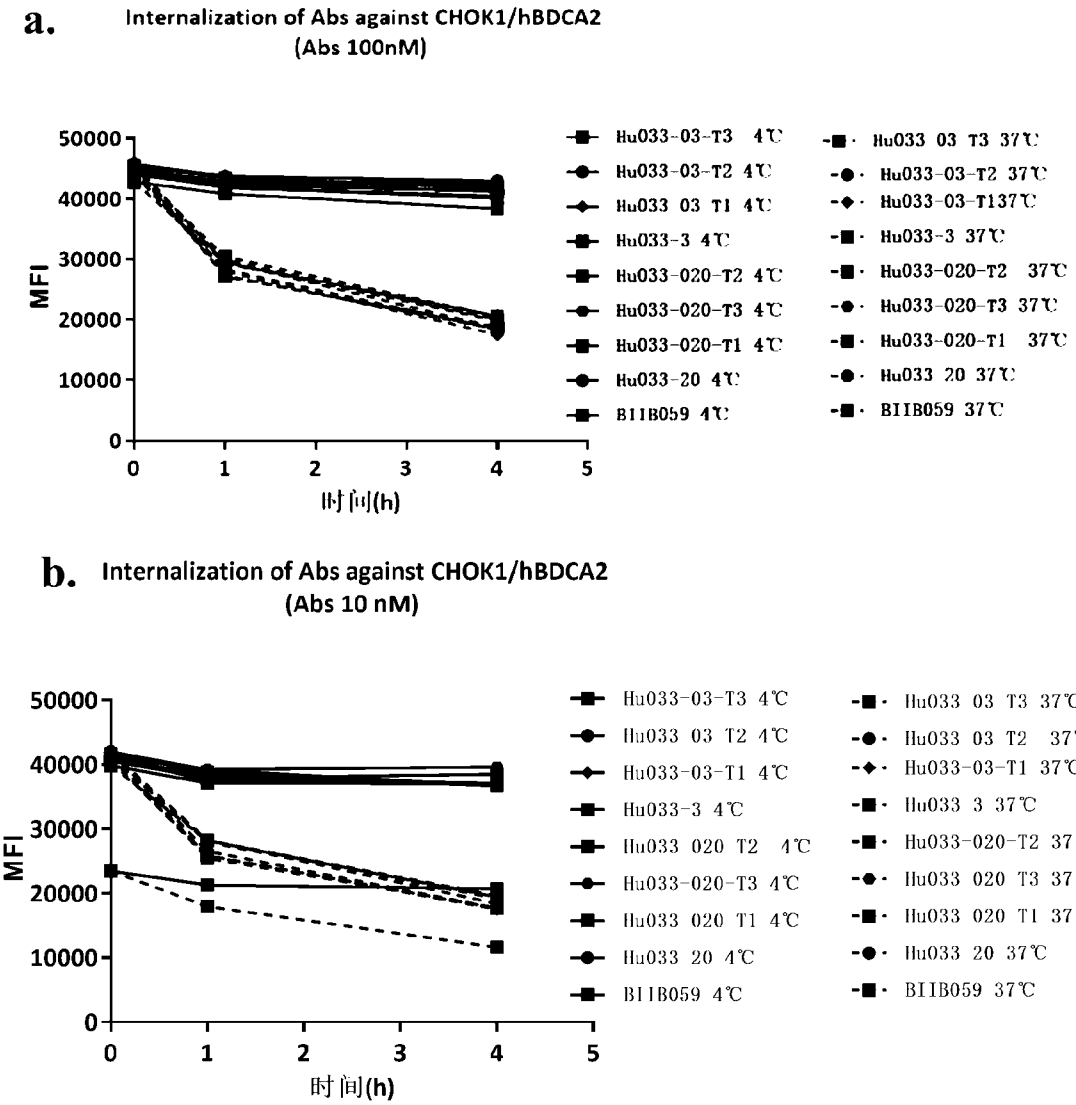
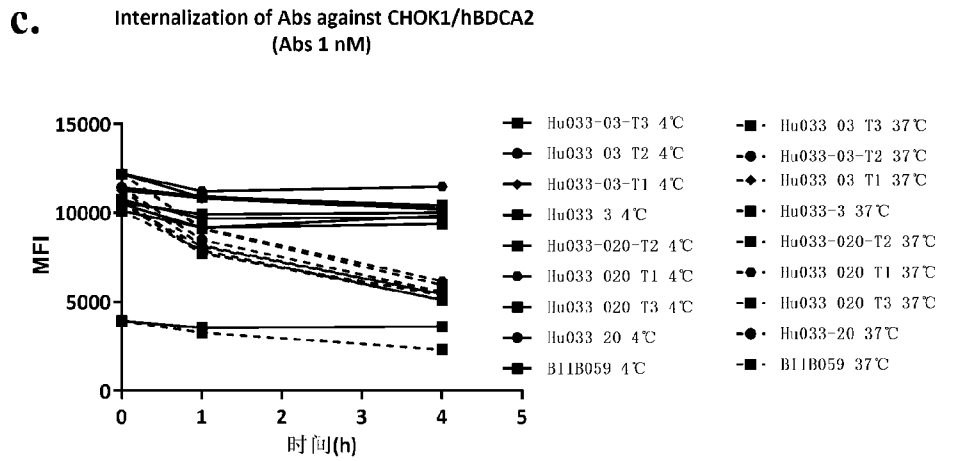
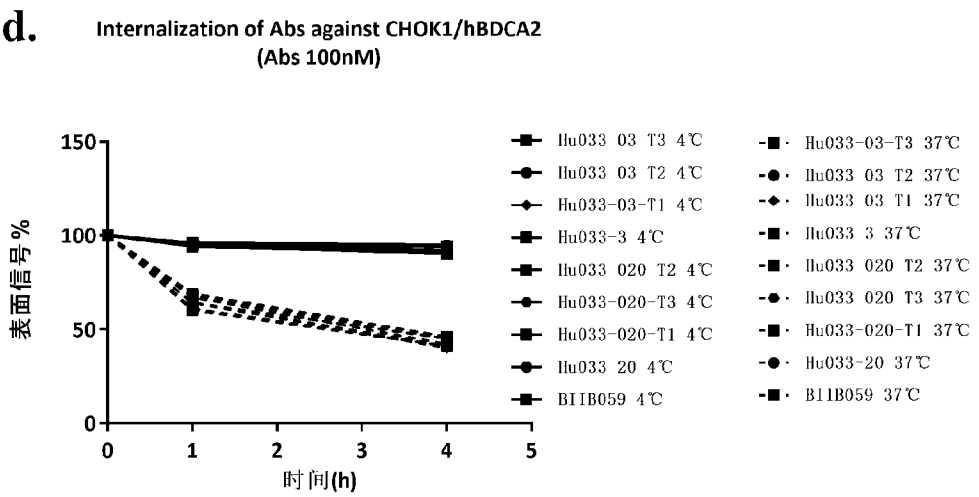

a.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 100nM)
MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033-03-T3 4℃
Hu033-03-T2 4℃
Hu033 03 T1 4℃
Hu033-3 4℃
Hu033-020-T2 4℃
Hu033-020-T3 4℃
Hu033-020-T1 4℃
Hu033-20 4℃
BIIB059 4℃
Hu033 03 T3 37℃
Hu033-03-T2 37℃
Hu033-03-T137℃
Hu033-3 37℃
Hu033-020-T2 37℃
Hu033-020-T3 37℃
Hu033-020-T1 37℃
Hu033 20 37℃
BIIB059 37℃
b.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 10 nM)
MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033-03-T3 4℃
Hu033 03 T2 4℃
Hu033-03-T1 4℃
Hu033-3 4℃
Hu033 020 T2 4℃
Hu033-020-T3 4℃
Hu033 020 T1 4℃
Hu033 20 4℃
BIIB059 4℃
Hu033 03 T3 37℃
Hu033 03 T2 37℃
Hu033-03-T1 37℃
Hu033 3 37℃
Hu033-020-T2 37℃
Hu033 020 T3 37℃
Hu033 020 T1 37℃
Hu033 20 37℃
BIIB059 37℃

图 6


c.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 1 nM)
MFI
15000
10000
5000
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033-03-T3 4℃
Hu033 03 T2 4℃
Hu033-03-T1 4℃
Hu033 3 4℃
Hu033-020-T2 4℃
Hu033 020 T1 4℃
Hu033 020 T3 4℃
Hu033 20 4℃
BIIB059 4℃
Hu033 03 T3 37℃
Hu033-03-T2 37℃
Hu033 03 T1 37℃
Hu033-3 37℃
Hu033-020-T2 37℃
Hu033 020 T1 37℃
Hu033 020 T3 37℃
Hu033-20 37℃
BIIB059 37℃


d.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 100nM)
表面信号%
150
100
50
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033 03 T3 4℃
Hu033 03 T2 4℃
Hu033-03-T1 4℃
Hu033-3 4℃
Hu033 020 T2 4℃
Hu033-020-T3 4℃
Hu033-020-T1 4℃
Hu033 20 4℃
BIIB059 4℃
Hu033-03-T3 37℃
Hu033 03 T2 37℃
Hu033 03 T1 37℃
Hu033 3 37℃
Hu033 020 T2 37℃
Hu033 020 T3 37℃
Hu033-020-T1 37℃
Hu033-20 37℃
BIIB059 37℃

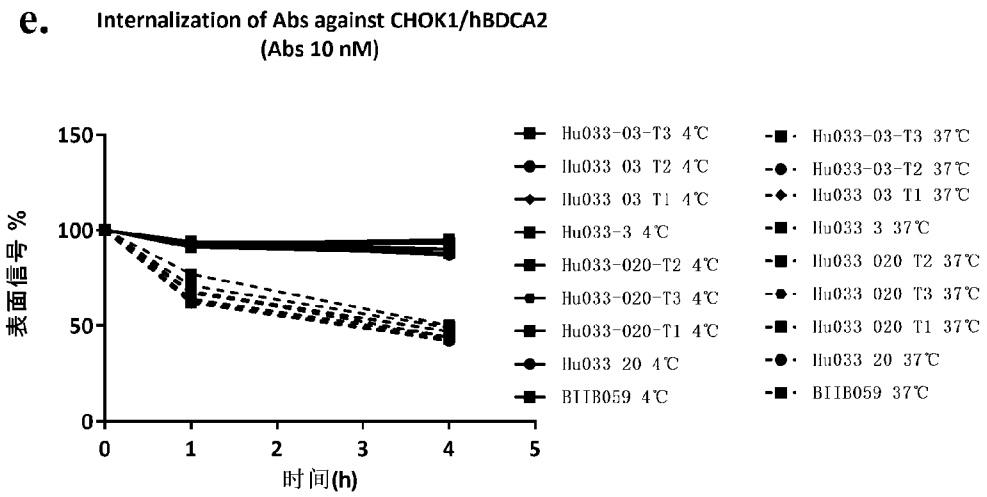

e.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 10 nM)
表面信号 %
150
100
50
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033-03-T3 4℃
Hu033 03 T2 4℃
Hu033 03 T1 4℃
Hu033-3 4℃
Hu033-020-T2 4℃
Hu033-020-T3 4℃
Hu033-020-T1 4℃
Hu033 20 4℃
BIIB059 4℃
Hu033-03-T3 37℃
Hu033-03-T2 37℃
Hu033 03 T1 37℃
Hu033 3 37℃
Hu033 020 T2 37℃
Hu033 020 T3 37℃
Hu033 020 T1 37℃
Hu033 20 37℃
BIIB059 37℃

图 6（续）

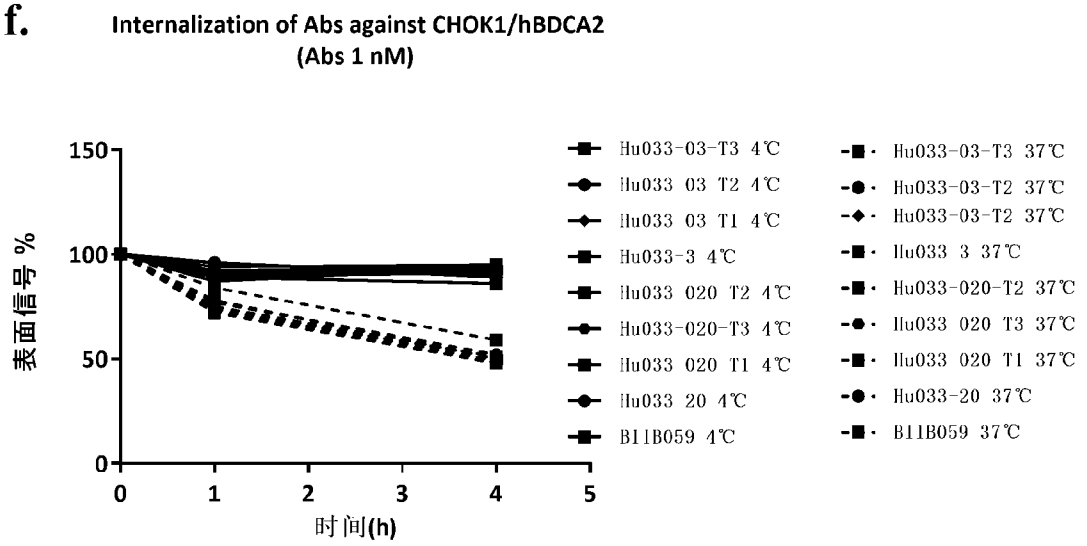

f.
Internalization of Abs against CHOK1/hBDCA2
(Abs 1 nM)
表面信号 %
150
100
50
0
0
1
2
3
4
5
时间(h)
Hu033-03-T3 4℃
Hu033 03 T2 4℃
Hu033 03 T1 4℃
Hu033-3 4℃
Hu033 020 T2 4℃
Hu033-020-T3 4℃
Hu033 020 T1 4℃
Hu033 20 4℃
B11B059 4℃
Hu033-03-T3 37℃
Hu033-03-T2 37℃
Hu033-03-T2 37℃
Hu033 3 37℃
Hu033-020-T2 37℃
Hu033 020 T3 37℃
Hu033 020 T1 37℃
Hu033-20 37℃
B11B059 37℃

图 6（续）

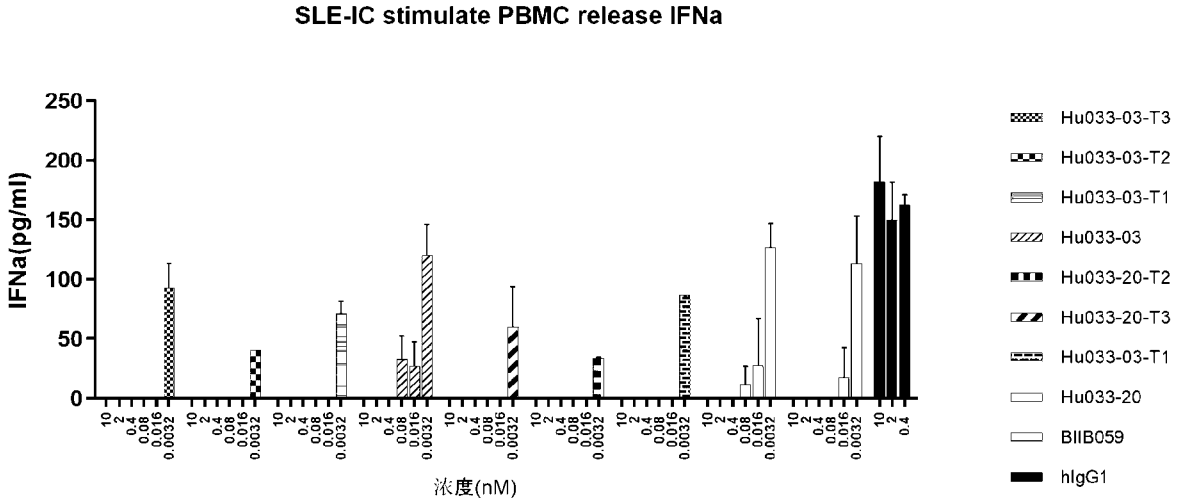

SLE-IC stimulate PBMC release IFNa
IFNa(pg/ml)
250
200
150
100
50
0
浓度(nM)
Hu033-03-T3
Hu033-03-T2
Hu033-03-T1
Hu033-03
Hu033-20-T2
Hu033-20-T3
Hu033-03-T1
Hu033-20
BIIB059
hIgG1

图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K16/28(2006.01)i; C12N15/13(2006.01)i; C12N15/63(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61P3/10(2006.01)i; A61P37/02(2006.01)i; A61P29/00(2006.01)i; A61P19/02(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)

IPC: C07K, C12N, A61K, A61P

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, CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, OETXT, VEN, VCN, WPABS, WPABSC, CNKI, 万方资源数据库, WANFANG RESOURCE DATABASE, Web of Science, Pubmed and keywords: BDCA2, 血液树突状细胞抗原2, 抗体, antibody; 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System, STN, Genbank, EMBL and searched sequences: SEQ ID NOs: 11-13, 14-16.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105452295 A (BIOGEN MA INC.) 30 March 2016 (2016-03-30) claims 1-38	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	CN 109475623 A (BIOGEN MA INC.) 15 March 2019 (2019-03-15) claims 1-129	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	US 2020283499 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 10 September 2020 (2020-09-10) claims 1-28	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	CN 111961134 A (BIOGEN MA INC.) 20 November 2020 (2020-11-20) claims 1-14	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	US 2020353003 A1 (MILTENYI BIOTEC B.V. & CO. KG) 12 November 2020 (2020-11-12) claims 1-15	1-16 (in part), 18-20 (in part)

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
30 August 2023	**10 September 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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.: **17**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

PCT Rule 39.1(iv) – methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy.

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).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Invention 1: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 11-13 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 14-16, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 11-13 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 14-16.

Invention 2: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 19-21 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 22-24, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 19-21 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 22-24.

Invention 3: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 25-27 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 28-30, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 25-27 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 28-30.

Invention 4: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31-33 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34-36, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31-33 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34-36.

Invention 5: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 38-40 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 41, 15

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

and 42, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 38-40 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 41, 15 and 42.

Invention 6: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31, 46 and 47 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34, 48 and 49, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31, 46 and 47 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34, 48 and 49.

Invention 7: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31, 50 and 47 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34, 51 and 49, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31, 50 and 47 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34, 51 and 49.

Invention 8: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 52, 39 and 53 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 54, 55 and 42, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 52, 39 and 53 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 54, 55 and 42.

Invention 9: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 25, 26 and 37 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 86, 15 and 16, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 25, 26 and 37 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 86, 15 and 16.

The same or corresponding technical feature among the nine inventions is an anti-BDCA2 antibody. However, the prior art, such as CN 105452295 A (publication date: 30 March 2016), discloses an antibody against BDCA2 and an antibody fragment. Therefore, the same or corresponding technical feature is disclosed in the prior art, is no longer a technical feature that contributes to the prior art, and thus cannot be used as a special technical feature. Therefore, the technical solutions of the nine inventions of the present application do not belong to a single general inventive concept due to the lack of a same and corresponding special technical feature, and thus claims 1-20 do not comply with the requirement of unity of invention (PCT Rule 13.1).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☑ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **Invention 1: 1-16 (in part), 18-20 (in part)**

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/096076

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	105452295	A	30 March 2016	EP	3686218	A1	29 July 2020
				JP	2019146567	A	05 September 2019
				JP	6889741	B2	18 June 2021
				CA	2893375	A1	19 June 2014
				NZ	708033	A	27 March 2020
				HUE	047874	T2	28 May 2020
				AU	2013359419	A1	04 June 2015
				AU	2013359419	B2	15 March 2018
				HK	1216027	A1	07 October 2016
				JP	2016505556	A	25 February 2016
				JP	6490591	B2	27 March 2019
				LT	2928923	T	25 February 2020
				IL	238804	A0	30 June 2015
				IL	238804	B	31 August 2021
				KR	20150094658	A	19 August 2015
				EA	201591113	A1	30 September 2015
				EA	034757	B1	17 March 2020
				WO	2014093396	A1	19 June 2014
				BR	112015012942	A2	12 September 2017
				KR	20200130468	A	18 November 2020
				KR	102344907	B1	28 December 2021
				ZA	201503881	B	28 November 2018
				US	2015299325	A1	22 October 2015
				US	9902775	B2	27 February 2018
				DK	2928923	T3	17 February 2020
				PL	2928923	T3	16 November 2020
				MX	2015007034	A	11 February 2016
				MX	363407	B	22 March 2019
				HRP	20200174	T1	29 May 2020
				US	2018362652	A1	20 December 2018
				JP	2021130677	A	09 September 2021
				IL	285475	A	30 September 2021
				RS	60084	B1	29 May 2020
				EP	2928923	A1	14 October 2015
				EP	2928923	B1	22 January 2020
				ES	2780398	T3	25 August 2020
				PT	2928923	T	27 March 2020
				SI	2928923	T1	31 March 2020
CN	109475623	A	15 March 2019	JP	2019520316	A	18 July 2019
				JP	7045327	B2	31 March 2022
				EA	201892443	A1	30 April 2019
				WO	2017189827	A1	02 November 2017
				JP	2022084782	A	07 June 2022
				AU	2017258191	A1	15 November 2018
				BR	112018072125	A2	19 March 2019
				US	2019284281	A1	19 September 2019
				CO	2018012506	A2	14 December 2018
				KR	20220028150	A	08 March 2022
				KR	20190002563	A	08 January 2019
				KR	102366547	B1	23 February 2022

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/096076

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				IL	262514	A	31 December 2018
				MA	44763	A	06 March 2019
				CA	3022116	A1	02 November 2017
				EP	3448425	A1	06 March 2019
				PH	12018502278	A1	09 September 2019
				MX	2018012945	A	06 March 2019
US	2020283499	A1	10 September 2020	US	7030228	B1	18 April 2006
				US	2012276065	A1	01 November 2012
				US	2006233840	A1	19 October 2006
				US	8183039	B2	22 May 2012
				US	2012276556	A1	01 November 2012
				US	10407486	B2	10 September 2019
				US	2012277413	A1	01 November 2012
CN	111961134	A	20 November 2020		None		
US	2020353003	A1	12 November 2020	US	11701387	B2	18 July 2023
				WO	2019134950	A1	11 July 2019
				EP	3735425	A1	11 November 2020

国际检索报告

国际申请号 PCT/CN2023/096076

A. 主题的分类

C07K16/28(2006.01)i；C12N15/13(2006.01)i；C12N15/63(2006.01)i；A61K39/395(2006.01)i；A61P3/10(2006.01)i；A61P37/02(2006.01)i；A61P29/00(2006.01)i；A61P19/02(2006.01)i

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

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC：C07K，C12N，A61K，A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

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）)

CNABS，CNTXT，DWPI，ENTXT，ENTXTC，OETXT，VEN，VCN，WPABS，WPABSC，CNKI，万方资源数据库，Web of Science，Pubmed和关键词：BDCA2、血液树突状细胞抗原2、抗体、antibody；中国专利生物序列检索系统，STN，Genbank，EMBL和检索的序列：SEQ ID NO：11-13、14-16。

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	CN 105452295 A (比奥根MA公司) 2016年3月30日 (2016-03-30) 权利要求1-38	1-16（部分），18-20（部分）
A	CN 109475623 A (比奥根MA公司) 2019年3月15日 (2019-03-15) 权利要求1-129	1-16（部分），18-20（部分）
A	US 2020283499 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 2020年9月10日 (2020-09-10) 权利要求1-28	1-16（部分），18-20（部分）
A	CN 111961134 A (比奥根MA公司) 2020年11月20日 (2020-11-20) 权利要求1-14	1-16（部分），18-20（部分）
A	US 2020353003 A1 (MILTENYI BIOTEC BV & CO KG) 2020年11月12日 (2020-11-12) 权利要求1-15	1-16（部分），18-20（部分）

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“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

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年8月30日	2023年9月10日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 李颖 电话号码 (+86) 010-62412262

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

第I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表进行的：

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的：

b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交（细则13之三.1(a)），

☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下，考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列，在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见：

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

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： 17
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

PCT细则39.1（iv）——处置人体或者动物体的外科手术方法或治疗方法。

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。

第III栏　缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

发明1：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.11-13所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.14-16所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.11-13所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.14-16所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明2：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.19-21所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.22-24所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.19-21所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.22-24所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明3：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.25-27所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.28-30所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.25-27所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.28-30所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明4：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31-33所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34-36所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31-33所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34-36所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明5：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.38-40所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.41、15、42所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.38-40所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.41、15、42所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明6：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31、46、47所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34、48、49所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31、46、47所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34、48、49所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

第III栏　缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

发明7：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31、50、47所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34、51、49所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31、50、47所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34、51、49所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明8：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.52、39、53所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.54、55、42所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.52、39、53所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.54、55、42所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明9：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.25、26、37所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.86、15、16所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.25、26、37所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.86、15、16所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

上述9项发明间相同或相应的技术特征为抗BDCA2抗体。然而现有技术，如CN105452295A（公开日为2016年3月30日）已经公开了抗BDCA2的抗体和抗体片段。因此上述相同或相应的技术特征已经被现有技术公开，不再是对现有技术做出贡献的技术特征，也就不能作为特定技术特征，因此本申请9项发明的技术方案之间由于缺乏相同和相应的特定技术特征而不属于一个总的发明构思，权利要求1-20不符合专利法第三十一条第一款有关单一性的规定。

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：

4. ☑ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是： 发明1：1-16（部分），18-20（部分）

对异议的意见

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/096076

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	105452295	A	2016年3月30日	EP	3686218	A1	2020年7月29日
				JP	2019146567	A	2019年9月5日
				JP	6889741	B2	2021年6月18日
				CA	2893375	A1	2014年6月19日
				NZ	708033	A	2020年3月27日
				HUE	047874	T2	2020年5月28日
				AU	2013359419	A1	2015年6月4日
				AU	2013359419	B2	2018年3月15日
				HK	1216027	A1	2016年10月7日
				JP	2016505556	A	2016年2月25日
				JP	6490591	B2	2019年3月27日
				LT	2928923	T	2020年2月25日
				IL	238804	A0	2015年6月30日
				IL	238804	B	2021年8月31日
				KR	20150094658	A	2015年8月19日
				EA	201591113	A1	2015年9月30日
				EA	034757	B1	2020年3月17日
				WO	2014093396	A1	2014年6月19日
				BR	112015012942	A2	2017年9月12日
				KR	20200130468	A	2020年11月18日
				KR	102344907	B1	2021年12月28日
				ZA	201503881	B	2018年11月28日
				US	2015299325	A1	2015年10月22日
				US	9902775	B2	2018年2月27日
				DK	2928923	T3	2020年2月17日
				PL	2928923	T3	2020年11月16日
				MX	2015007034	A	2016年2月11日
				MX	363407	B	2019年3月22日
				HRP	20200174	T1	2020年5月29日
				US	2018362652	A1	2018年12月20日
				JP	2021130677	A	2021年9月9日
				IL	285475	A	2021年9月30日
				RS	60084	B1	2020年5月29日
				EP	2928923	A1	2015年10月14日
				EP	2928923	B1	2020年1月22日
				ES	2780398	T3	2020年8月25日
				PT	2928923	T	2020年3月27日
				SI	2928923	T1	2020年3月31日
CN	109475623	A	2019年3月15日	JP	2019520316	A	2019年7月18日
				JP	7045327	B2	2022年3月31日
				EA	201892443	A1	2019年4月30日
				WO	2017189827	A1	2017年11月2日
				JP	2022084782	A	2022年6月7日
				AU	2017258191	A1	2018年11月15日
				BR	112018072125	A2	2019年3月19日
				US	2019284281	A1	2019年9月19日
				CO	2018012506	A2	2018年12月14日
				KR	20220028150	A	2022年3月8日
				KR	20190002563	A	2019年1月8日
				KR	102366547	B1	2022年2月23日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/096076

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）
				IL	262514	A	2018年12月31日
				MA	44763	A	2019年3月6日
				CA	3022116	A1	2017年11月2日
				EP	3448425	A1	2019年3月6日
				PH	12018502278	A1	2019年9月9日
				MX	2018012945	A	2019年3月6日
US	2020283499	A1	2020年9月10日	US	7030228	B1	2006年4月18日
				US	2012276065	A1	2012年11月1日
				US	2006233840	A1	2006年10月19日
				US	8183039	B2	2012年5月22日
				US	2012276556	A1	2012年11月1日
				US	10407486	B2	2019年9月10日
				US	2012277413	A1	2012年11月1日
CN	111961134	A	2020年11月20日		无		
US	2020353003	A1	2020年11月12日	US	11701387	B2	2023年7月18日
				WO	2019134950	A1	2019年7月11日
				EP	3735425	A1	2020年11月11日