ANTICUERPOS DE UNIÓN A VISTA A pH ÁCIDO

CAMPO

La presente solicitud se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente al supresor de activación de células T que contiene inmunoglobulina con dominio V (VISTA) a pH ácido y su uso en el tratamiento del cáncer.

ANTECEDENTES Y SÍNTESIS DE LA DIVULGACIÓN

El supresor de la activación de células T que contiene el dominio variable de Ig, o VISTA (por sus siglas en inglés), es un elemento co-inhibidor de la familia B7 de inmunorreceptores expresado por células mielomonocíticas y otros leucocitos. No obstante, se sabe muy poco acerca del mecanismo por el cual VISTA suprime las respuestas inmunitarias.

Los inventores han descubierto que, contrariamente a otros inmunorreceptores conocidos, VISTA se une a sus contrarreceptores y funciona selectivamente a pH ácido, con escasa actividad a pH fisiológico (por ejemplo, 7,3 - 7,4). Por lo tanto, VISTA puede suprimir las respuestas inmunitarias en microentornos ácidos, tales como lechos tumorales o sitios de inflamación, sin perturbar a las células que circulan en la sangre o residen en tejidos no inflamados, no ácidos. Además, los inventores han descubierto que anticuerpos anti-VISTA se pueden modificar genéticamente para unirse selectivamente a VISTA a pH ácido, con escasa o nula unión a pH fisiológico, reflejando la propia selectividad por pH ácido de VISTA. Estos anticuerpos selectivos de pH ácido pueden ofrecer propiedades deseadas para tratar enfermedades, tales como el cáncer, en relación con anticuerpos que se unen a VISTA a pH fisiológico.

La presente divulgación se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente al dominio extracelular (ECD, por sus siglas en inglés) de VISTA, tales como VISTA humano ("hVISTA" o "huVISTA") a pH ácido (por ejemplo, en condiciones ácidas). La presente divulgación también se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente al dominio extracelular (ECD) de VISTA, tal como hVISTA, a pH ácido, con escasa o nula unión a pH neutro o fisiológico. Los inventores han notado en la presente que la secuencia de aminoácidos de hVISTA-ECD incluye un número de residuos de histidina, tanto conservados como no conservados, y que la frecuencia de los residuos de histidina en el ECD de VISTA es excepcionalmente alto en relación con otros miembros de la familia B7 y otros miembros de la Superfamilia de las Inmunoglobulinas. (Véanse las Figs. 1A y 1B). En solución, el aminoácido histidina tiene un pK_a de aproximadamente 6,5, lo cual significa que a pH 6,5 o por debajo de este, los residuos de histidina dentro de las proteínas están a menudo protonados y, por lo tanto, cargados positivamente, mientras que a pH superior a pH 6,5, están crecientemente sin protonar y tienen carga neutra. Los microentornos tumorales y

los tejidos inflamados a menudo son ácidos, y por lo tanto, las proteínas VISTA halladas en estos microentornos pueden estar al menos parcialmente protonadas en sus residos de histidina. Los inventores, como se expone en la presente, sostienen la hipótesis de que la protonación puede afectar la conformación, la estructura superficial, y/o la densidad de la carga de VISTA, lo cual, a su vez, puede crear epítopos pH-específicos o pH-selectivos para la(s) interacción(es) receptor-ligando y la unión del anticuerpo. El direccionamiento a VISTA con anticuerpos que se unen a pH ácido, pero no a pH neutro o fisiológico puede prevenir la disposición del fármaco mediada por la diana por medio de células mielomonocíticas circulantes y residentes en el órgano linfoide, mejorando la PK del anticuerpo, la ocupación del receptor, y la actividad en los microentornos tumorales. Los anticuerpos selectivos de pH ácido también pueden mejorar la especificidad de los anticuerpos VISTA para células diana intratumorales, en vez de circulantes, en los casos de modalidades terapéuticas tales como citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y administración de cargas (conjugados anticuerpo-fármaco).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las solicitudes provisionales estadounidenses de prioridad de las cuales la presente solicitud reivindica beneficio contienen al menos un dibujo presentado a color. En caso de que las solicitudes provisionales se vuelvan disponibles al público más adelante, la Oficina de Marcas y Patentes de Estados Unidos proporcionará copias de los dibujos en colores a solicitud de parte y previo pago del arancel establecido.

Las Figs. 1A-C muestran que el dominio extracelular de VISTA contiene una frecuencia excepcionalmente alta de residuos de histidina, que muchos de estos residuos de histidina están conservados, y que al menos algunos de estos residuos de histidina pueden participar en la unión receptor-ligando. **La Fig. 1A** muestra un gráfico de proteínas que contienen el dominio inmunoglobulina, con el número de residuos de aminoácidos del dominio extracelular para cada proteína graficado sobre el eje x, y la frecuencia de residuos de histidina dentro del dominio extracellar para cada proteína graficado en el eje y. El tamaño de cada punto de datos corresponde al número total de residuos de histidina en cada dominio extracellar de la proteína. **La Fig. 1B** muestra la secuencia de aminoácidos alineada de los dominios extracelulares de VISTA humano, de macaco cynomolgus y murino. Se encuentran marcadas las ubicaciones de las secuencias de dominio transmembrana (TMD) y péptido señal (Sig). Los residuos de histidina conservados en las tres especies se muestran en negrita y subrayados; los residuos de histidina conservados en ser humano y macaco cynomolgus se muestran en negrita solamente. **La Fig. 1C** muestra un modelo de estructura tridimensional del dominio inmunoglobulina de VISTA humano.

Los residuos de histidina se ilustran como trazos de bolas y bastones.

Las Figs. 2A-B muestran un modelo en el cual los residuos de histidina en el dominio extracelular de VISTA confieren selectividad por contrarreceptores para pH ácido en vez de pH fisiológico. **La Fig. 2A** muestra el equilibrio entre la falta y la presencia de protonación del grupo pirrol amonio (NH) en un residuo de histidina. La pKa de la histidina en solución es 6,5, lo que indica que es más probable que los residuos de histidina estén protonados a pH 6,5 y menor, y por lo tanto, cargados positivamente, que a pH más alto. **La Fig. 2B** muestra muestra [sic] un modelo en el cual VISTA se une al ligando glicoproteico para P-selectina 1 (PSGL-1) u otros contrarreceptores y ligandos ("VISTA-R") selectivamente a pH ácido. Por consiguiente, la unión del anticuerpo al dominio extracelular de VISTA a pH ácido en vez de a pH fisiológico puede ser crucial para inhibir o modular la actividad de VISTA.

La Fig. 3 muestra el nivel de expresión superficial de VISTA (intensidad media de fluorescencia (MFI, por sus siglas en inglés) de tinción con anticuerpos anti-VISTA) sobre macrófagos infiltradores de tumores, células dendríticas, netrófilos, células T efectoras CD4+, células T reguladoras CD4+, células T CD8+, células de eliminación naturales (NK), y células B. VISTA se expresa sobre muchos leucocitos infiltradores de tumores, particularmente células mieloides. Los microentornos tumorales a menudo son ácidos, permitiendo que VISTA se una a contrarreceptores y ligandos.

Las Figs. 4A-G muestran que VISTA se une selectivamente a leucocitos y a PSGL-1 a pH ácido, con unión escasa o nula a pH neutro, y que esta unión se puede bloquear mediante un anticuerpo anti-VISTA. **La Fig. 4A** de la izquierda muestra histogramas representativos de multímeros VISTA recombinantes conjugados fluorescentemente que se unen a células T CD4+ humanas activadas. El relleno de los histogramas, de gris oscuro a más claro, ilustra la unión a pH 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 y 6,0. Algunos histogramas están etiquetados con su correspondiente pH. El multímero de control no-VISTA con unión a pH 6,0 se muestra como el histograma sin relleno. A la derecha, se grafica la MFI de multímeros VISTA (círculos) y de control (triángulos) que se unen a células T humanas activadas CD4+ de dos donantes a diferentes pH. **La Fig. 4B** muestra histogramas representativos de multímero VISTA recombinante que se une a células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a pH 6,0 y pH 7,4. El relleno de los histogramas, de color gris oscuro a más claro, ilustra la unión a pH 6,0 a células B CD19+, células T CD4+, células T CD8+, células NK CD56+ y monocitos CD14+. Los histogramas sin relleno, con bordes con línea continua y con línea punteada, ilustran la unión a pH 7,4 a linfocitos y monocitos totales de PBMC, respectivamente. **La Fig. 4C** muestra la unión de multímeros VISTA recombinantes representativos a células T humanas activadas CD4+ en presencia de un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (cuadrados) o de un anticuerpo de control específico no-VISTA coincidente con el

isotipo (círculos). Las concentraciones de anticuerpos se grafican en escala logarítmica. También se muestran las regresiones no lineales. El triángulo ilustra la señal de fondo de células T humanas activadas CD4+ que no se tiñeron con multímeros VISTA recombinantes. **La Fig. 4D** muestra gráficos representativos de citometria de flujo bidimensionales de multímeros VISTA recombinantes que se unen a pH 6,0 a células de ovario de hámster chino (CHO) con deficiencia de heparán sulfato (línea pGSD-677, American Type Culture Collection - Colección Estadounidense de Cultivos Tipo) transfectadas para expresar PSGL-1 humano. La unión a multímero se realizó en presencia y en ausencia del anticuerpo de bloqueo anti-VISTA que se muestra en la Fig. 4C. Las células dejadas sin tinción por los multímeros recombinantes VISTA se muestran como control. La tinción de anticuerpos PSGL-1 se grafica sobre el eje y, y la tinción de multímeros VISTA se grafica sobre el eje x. **La Fig. 4E** muestra histogramas representativos de proteína de fusión VISTA-Fc recombinante murina uniéndose a esplenocitos murinos a pH 6,0 y pH 7,4. El relleno de los histogramas, de color gris oscuro a más claro, ilustra la unión a pH 6,0 a células T CD8+, células mieloides CD11b+ y células T CD4+. Los histogramas sin relleno ilustran la unión a pH 7,4 a esplenocitos totales. Las **Figs. 4F** y **G** muestran que el multímero VISTA se une a monocitos y neutrófilos, respectivamente, y lo hace más fuertemente a pH 6,0 que a pH 7,4.

Las Figs. 5A-D muestran que VISTA media la supresión y la adherencia célula : célula de células T preferentemente a pH ácido, y que ambos efectos se pueden revertir con anticuerpo de bloqueo anti-VISTA. **La Fig 5A** muestra la formación representativa de conjugados célula : célula a pH 6,0 y 7,0 entre células 293T que expresan hVISTA o control vectorial (graficado sobre los ejes y) y células CHO que endógenamente expresan heparán sulfato en la superficie celular sobre los ejes x. **La Fig. 5B** es un gráfico de la frecuencia de conjugados celulares formados a pH 6,0 entre las mismas células en presencia de un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA, un anticuerpo anti-VISTA no bloqueador, o anticuerpos de control específicos no-VISTA coincidentes con el isotipo. **La Fig. 5C** muestra gráficos representativos de la actividad luciferasa generada por células Jurkat (línea de células T humanas) que expresan un reportero de luciferasa NFkB después del co-cultivo a diversos pH con células 293T que expresan h VISTA y un fragmento variable monocatenario del anticuerpo agonista del receptor de células T anti-humanas OKT3 ("células presentadoras de antígeno artificiales"). Se agregó a las células co-cultivadas un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (cuadrados) o un anticuerpo de control específico no-VISTA coincidente con el isotipo (círculos). En la **Fig. 5D**, se grafican los datos que se muestran en la Fig. 5A como las veces en que aumenta la señal de luciferasa con tratamiento con anticuerpo anti-VISTA en relación con el control ("tamaño del efecto").

Las Figs. 6A-G muestran que VISTA se puede hallar en endosomas intracelulares,

particularmente endosomas de reciclaje Rab11+, y que puede reciclarse hacia y desde la superficie celular mediante el tráfico endosómico. **La Fig. 6A** muestra la co-localización de VISTA, Rab5 (marcador endosómico temprano), Rab7 (marcador endosómico tardío) y Rab11 (marcador endosómico de reciclaje) dentro de células 293T que expresan VISTA humano. **La Fig. 6B** muestra la co-localización de VISTA y Rab11 dentro de monocitos humanos. VISTA intracelular está co-localizado con endosomas de reciclaje Rab11+. Un anticuerpo de control de unión a no-VISTA del mismo isotipo que el anticuerpo VISTA ("cAb") no se une de forma detectable a los monocitos. **La Fig. 6C** muestra la unión de tres anticuerpos anti-VISTA a VISTA recombinante a pH 7,4 (negro), 6,7 (gris oscuro) y 6 (gris claro). **La Fig. 6D** muestra la susceptibilidad de una línea celular de leucemia mieloide aguda (AML) que expresa VISTA a la eliminación por los mismos anticuerpos anti-VISTA 1 (triángulos invertidos), 2 (círculos), 3 (cuadrados), o un anticuerpo de control específico no-VISTA (triángulos) que porta ligandos sensibles a catepsina B y cargas citotóxicas. La viabilidad celular (CellTiter-Glo LU) está graficada sobre el eje y y las concentraciones de anticuerpos están graficadas sobre el eje x. **La Fig. 6E** compara la unión a hVISTA de anticuerpos anti-VISTA 3 con la de una variante modificada genéticamente ("VISTA mAb 3c") que no exhibe deterioro en la unión a pH ácido. **La Fig. 6F** muestra un ensayo de conjugado anticuerpo-fármaco que compara la potencia del anticuerpo anti-VISTA 3 (cuadrados) y 3c (rombos). **La Fig. 6G** muestra un esquema del tráfico endosómico, con VISTA reciclándose hacia y desde la superficie celular vía endosomas tempranos y endosomas de reciclaje.

Las Figs. 7A-F muestran cómo se diseñaron y tamizaron genotecas de variantes de anticuerpos anti-VISTA a fin de obtener anticuerpos selectivos de pH ácido. **La Fig. 7A** muestra las sustituciones de aminoácidos que se realizaron en VH CDR 3 del clon de anticuerpo VISTA anti-humano P1-061029 (abreviado '029) para crear una genoteca '029 para tamizaje. Para mejorar potencialmente la unión a regiones VISTA ricas en histidina a pH ácido, las genotecas permitieron sustituciones de los aminoácidos aspartato y glutamato cargados negativamente como así también de histidina sensible a pH. X=H, D o E. Las secuencias entre paréntesis se eliminaron de la síntesis para evitar la introducción de riesgos (liabilities). Se sintetizó un total de 647 secuencias únicas de HCDR3 de P1-061029 con 1-2 mutaciones. **La Fig. 7B** muestra el procedimiento por el cual la genoteca '029 se tamiza y selecciona iterativamente para detectar variantes de anticuerpos selectivos para pH ácido. R denota la ronda de selección. **La Fig. 7C** muestra datos gráficos bidimensionales representativos de citometría de flujo que muestran el grupo de variantes después de 9 rondas de selección. La unión de VISTA está graficada en el eje y, y la expresión del anticuerpo variante está graficada en el eje x. Se muestran datos de unión con diversas concentraciones de anticuerpos y pH. **La Fig. 7D** muestra un diagrama de P1-061029 y los clones de su progenie que se unen a VISTA humano a pH 6,0 y 7,4. **La Fig. 7E** muestra un diagrama de

las velocidades de disociación de P1-061029 y los clones de su progenie a VISTA humano a pH 6,0. **La Fig. 7F** muestra los datos de unión obtenidos mediante SPR (resonancia de plasmón superficial, por sus siglas en inglés) de los anticuerpos P1-068761, P1-068767 y P1-061029 a VISTA humano a pH 6,0 y pH 7,4.

Las Figs. 8A-F muestran la unión celular, el bloqueo y la actividad efectora selectiva para pH ácido de los anticuerpos VISTA P1-068761 y P1-068767. **La Fig. 8A** y la **Fig. 8B** muestran la intensidad media de fluorescencia de los anticuerpos selectivos para pH ácido P1-068761 (**Fig. 8A**) y P1-068767 (**Fig. 8B**) que se unen a células Raji que expresan VISTA humano ectópicamente. Las células se tiñeron aproximadamente a pH 6,0 (círculos; curva más alta en la Fig. 8A), 6,1 (cuadrados; tercera curva más alta), 6,2 (triángulos; segunda curva más alta), 6,4 (triángulos invertidos; cuarta curva más alta próxima a la curva de pH 6,1), 6,6 (rombos; cuarta curva desde la parte inferior), 7,0 (círculos; tercera curva desde la parte inferior), 7,2 (cuadrados; segunda curva desde la parte inferior) y 8,1 (triángulos sin relleno; curva inferior en la Fig. 8A). La unión se detectó con un anticuerpo secundario de IgG anti-humana conjugado fluorescentemente. **La Fig. 8C** muestra la unión de P1-068767 (círculos) y de un anticuerpo control no específico coincidente con el isotipo (triángulos) a células Raji que expresan VISTA humano ectópicamente a 3125 ng/mL a varios pH. "pH_{50}", el pH al cual se pierde el 50 % de la unión de P1-068767, es aproximadamente 6,6. **La Fig. 8D** muestra las intensidades medias de fluorescencia (MFI) de un anticuerpo control no específico coincidente con el isotipo (círculos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0 respectivamente), un mAb (anticuerpo monoclonal, por sus siglas en inglés) 2 anti-VISTA ("control", ver Fig. 6C, cuadrados con y sin relleno a pH 7,0 y 6,0 respectivamente), P1-068761 (triángulos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0, respectivamente) y P1-068767 (triángulos invertidos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0, respectivamente) que se unen a monocitos humanos. La unión se detectó mediante un anticuerpo secundario de IgG anti-humana conjugado fluorescentemente. **La Fig. 8E** muestra el bloqueo comparable del multímero VISTA recombinante que se une a células T humanas activadas CD4+ a pH 6,0 mediante P1-061029 (cuadrados), P1-068761 (triángulos) y P1-068767 (triángulos invertidos), mientras que un anticuerpo de control específico no VISTA (círculos) no bloqueó la unión de VISTA. **La Fig. 8F** muestra la potencia reducida de P1-068761 (triángulos) y P1-068767 (triángulos invertidos) para mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) a pH fisiológico. También se muestran P1-061029 (cuadrados), un anticuerpo de control positivo específico no-VISTA (círculos), y un anticuerpo de control negativo específico no-VISTA (rombos). La lisis específica de células NK de células objetivo como un porcentaje del total de células objetivo se grafica en el eje y, y las concentraciones de anticuerpos se grafican en el eje x. También se muestran las regresiones no lineales.

La Fig. 9 muestra la farmacocinética (PK) mejorada de anticuerpos anti-VISTA selectivos para pH ácido en macacos cynomolgus. La figura muestra las concentraciones de anticuerpos en suero a lo largo del tiempo en macacos cynomolgus tratados con anticuerpo VISTA 2 ("control", círculos, ver Fig. 6C), anticuerpo VISTA 3 ("sensible a pH ácido", cuadrados, ver Fig. 6C), o P1-068767 (triángulos).

Las Figs. 10A y 10B muestran los efectos de unión de mutaciones en los anticuerpos anti-VISTA selectivos para pH ácido '761 y '767. **La Fig. 10A** muestra datos de la cinética de unión de mutantes revertidos de P1-068761 a pH 7,4, pH 6,7 y pH 6,0 y la ubicación de sus mutaciones revertidas en relación con P1-068761. **La Fig. 10B** muestra datos de la cinética de unión de mutantes revertidos de P1-068767 a pH 7,4, pH 6,7 y pH 6,0 y la ubicación de sus mutaciones revertidas en relación con P1-068767.

Las Figs. 11A-C muestran la pre-clasificación y el mapeo de epítopos de varios anticuerpos anti-VISTA. **La Fig. 11A** muestra la competencia del epítopo VISTA por P1-068761 y P1-068767 en comparación con P1-061029 y controles de anticuerpos VISTA. **La Fig. 11B** y la **Fig. 11C** muestran representaciones de los epítopos de todos los residuos para bloquear el anticuerpo hVISTA (Fig. 11B) como se detalla en la Tabla 14 en comparación con un anticuerpo hVISTA no bloqueante (mAb1; Fig. 11C). Los residuos de aminoácidos 66(H) y 162(A) se indican para denotar la orientación de la molécula. Los residuos de histidina aparecen en color gris y los residuos de epítopos en color negro.

Las Figs. 12A-C muestran datos de imágenes de enfoque isoeléctrico capilar (icIEF, por sus siglas en inglés) para los siguientes: **Fig. 12A**: P1-061029, **Fig. 12B**: P1-068761 y **Fig. 12C**: P1-068767. Se indica el punto isoeléctrico de la especie principal (pI principal) como así también los marcadores de pI.

La Fig. 13A y B muestran alineamientos de regiones variables para clones de progenie '029 y '015. **La Fig. 13A** muestra el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de '029 y clones de su progenie. **La Fig. 13B** muestra el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de '015 y clones de su progenie.

La **Fig. 14** muestra un alineamiento de secuencias VH de P1-068761 con o sin las sustituciones K16R y T84A. Los residuos con subrayado doble muestran las posiciones 16 y 84 de las regiones marco y las partes sombreadas muestran las CDR.

Figs. 15A-O: se les implantó a los ratones C57BL6 de tipo salvaje tumores MC38 y se los trató con anticuerpos de control compatibles con isotipos sin unión (cuadrados negros), anticuepo VISTA.10 de bloqueo de VISTA de ratón (triángulos ascendentes), un anticuerpo bloqueador de PD-1 de ratón (cuadrados) o una combinación de anticuerpos VISTA y PD-1 (triángulos descendentes). Todos los anticuerpos fueron isotipo IgG1-D265A de ratón (Fc-inerte). (Véanse las

Figs. 15A-D). Estos datos son representativos de tres experimentos independientes. Las Figs 15A-D muestran los volúmenes tumorales con el paso del tiempo. N = 10 por grupo. "TF" indica ratones que rechazaron los tumores. Las **Figs. 15E** y **F** muestran la frecuencia de células T CD8+ y células T CD4+ 7 días después de empezar el tratamiento. n = 5 por grupo. ANOVA unidireccional con múltiples comparaciones de Dunnett, P = 0.0001. Las Figs. 15G y H muestran resultados para ratones individuales que se muestran en las Figs. 15AD.La **Fig. 15I**: se implantaron tumores MC38 en ratones con inactivación de VISTA y crías de tipo salvaje y se trataron con anticuerpos de control con coincidencia de isotipo no de unión (las dos curvas superiores 0/7 TF y 0/5 TF, marcadas con círculos y triángulos invertidos) o con un anticuerpo de bloqueo de PD-1 de ratón (las dos curvas inferiores 0/5 TF y 5/8 TF, marcadas con cuadrados y triángulos invertidos). El crecimiento tumoral medio y la cantidad de ratones sin tumor (TF) al final del estudio en comparación con la cantidad total de ratones se muestran al lado de cada curva (por ejemplo, 0/7 TF). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. Las barras de error ilustran el rango intercuartílico. Las **Figs. 15J-M** muestran los volúmenes tumorales de ratones con inactivación (KI) de VISTA humana a los que se les implantaron tumores MC38 y que se trataron con anticuerpos de control con coincidencia de isotipo no de unión (**Fig. 15J**), un anticuerpo de bloqueo de PD-1 de ratón (**Fig. 15K**), una combinación de anticuerpo de bloqueo de PD-1 de ratón y el anticuerpo de bloqueo de VISTA humano a pH no selectivo P1-061029 (**Fig. 15L**), o una combinación de anticuerpo de bloqueo de PD-1 de ratón y el anticuerpo de bloqueo de VISTA humano a pH ácido selectivo P1-068767 (**Fig. 15M**). Todos los anticuerpos fueron el isotipo IgG1-D265A de ratón. Se muestran los volúmenes tumorales con el transcurso del tiempo. n = 5-8 por grupo. Estos datos son representativos de un experimento independiente. La **Fig. 15N** muestra concentraciones de anticuerpo en suero de ratón KI VISTA humano y de crías de tipo salvaje (WT) después de inyección intravenosa de 5 mg/kg de P1-061029 (WT, triángulos descendentes; KI, cuadrados) o P1-068767 (WT, triángulos ascendentes; KI, rombos). Los tiempos de permanencia promedio (MRT) en suero calculados para P1-061029 y P1-068767 en ratones KI se calcula que son 4.1 y 71 horas, respectivamente. n = 4 ratones KI y 1-2 ratones WT por anticuerpo. Estos datos son representativos de un único experimento. La **Fig. 15O** muestra concentraciones de anticuerpo en suero de mono Cynomolgus después de la inyección intravenosa de 5 mg/kg de VISTA.4 (círculos) o P1-068767 (cuadrados). Los tiempos de permanencia promedio (MRT) en suero calculados para VISTA.4 y P1-061029 se calcula que son 7.6 horas y 717 horas, respectivamente. n = 1 mono por anticuerpo. Estos datos son representativos de un único experimento. Las barras de error ilustran el error estándar del promedio cuando no se indique lo contrario.

Las **Figs. 16A-C** muestran histogramas representativos de la expresión celular de células T

CD8+ antitumorales de PD-1 (Fig. 16A), LAG-3 (Fig. 16B) y TIM-3 (Fig. 16C) 7 días después del inicio del tratamiento. Las barras de error ilustran el error estándar de la media.

Las **Figs. 17A** y **C** muestran que VISTA se une a PSGL-1 a pH ácido y que esta interacción está bloqueada por los anticuerpos VISTA P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4. La **Fig. 17A** muestra sensogramas de unión a BLI para la unión de P-Selectina-Fc y VISTA-Fc al PSGL1 capturado y pH 6,0 y pH 7,4. La **Fig. 17B** es un histograma que muestra que los anticuerpos P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4 inhiben la unión de PSGL-1 a hVISTA. La **Fig. 17C** muestra el bloqueo de anticuerpo de unión de VISTA-Fc a CHO-PSGL-1 mediante VISTA.4 (triángulos ascendentes) y mediante el anticuerpo anti-PSGL-1 KPL-1 (círculos). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. Las barras de error ilustran el error estándar del promedio.

Las **Figs. 18A-E** muestran representaciones de la estructura de cocristal de P1-068767 Fab y hVISTA o (en Fig. 18E) anticuerpo no bloqueante VISTA.5 y hVISTA. El dominio IgV de VISTA presenta una extensión inusual rica en histidina de su lámina ß central. El dominio IgV de VISTA se cocristalizó con el fragmento de unión a antígenos (Fab) P1-068767. La estructura de cristal del complejo VISTA + P1-068767 se determinó a una resolución de 1,6 Å. La Figura 18A muestra el dominio de IgV de VISTA: estructura de cocristal Fab P1-068767. La Figura 18A muestra la estructura general del dominio IgV de VISTA en complejo con el Fab P1-068767 (cadena pesada, gris oscuro; cadena ligera, gris claro). La Figura 18B muestral una superimposición de los dominios IgV de VISTA y PD-L1. Los residuos de histidina de VISTA se ilustran en representación de barras. La Figura 18B muestra que el dominio de IgV de VISTA posee una extensión de lámina ß rica en histidinas inusual. La Figura 18C muestra la superficie molecular del epítopo P1-068767 (superficie electrostática gris claro) según lo revela la estructura de cristal de VISTA + P1-068767. La Figura 18C muestra que los anticuerpos de bloqueo se unen a la extensión de lámina ß rica en histidinas de VISTA. La Figura 18D muestral una vista ampliada de la interfaz entre VISTA (dibujo de cinta gris, con residuos de epítopos H121, H122 y H123 ilustrados en representación de barras) y P1-068767 (ilustrado como una superficie electrostática con sus residuos E100 y D102 en representación de ramas). La Figura 18D muestra que el P1-068767 pH-selectivo se acopla a histidinas de VISTA con residuos ácidos. La Figura 18E muestra que un anticuerpo no bloqueante VISTA.5 se une en una región diferente de Hvista desde P1-068767.

La Fig. 19 muestra el epítopo de VISTA.4, como se determina mediante MS-HDX (traza de MS).

La **Fig. 20** muestra la ubicación del epítopo de VISTA.4 en la secuencia de aminoácidos de hVISTA en función de los datos de la **Fig. 19**. Los residuos 57-68, 86-97 y 148-165, también

resaltados en la **Fig. 19**, se ilustran en texto gris claro y subrayado en la **Fig. 20**.

Las **Figs. 21A** y **21B** muestran unión de multímero VISTA a linfocitos T CD4+ humanos activados a pH 6,0 en presencia de los anticuerpos VISTA.4 (triángulos), VISTA.5 (cuadrados) y sin unión de VISTA (control, círculos). La Figura 21B muestra la eficacia de bloqueo de cada anticuerpo con respecto a linfocitos T no bloqueados. ANOVA unidireccional con múltiples comparaciones de Dunnett, ***, P < 0,001. Estos datos son representativos de más de cuatro experimentos independientes. Las barras de error ilustran el error estándar del promedio.

La **Fig. 22** muestra que los anticuerpos que bloquean la unión de VISTA a pH ácido son funcionales. Los efectos del anticuerpo de bloqueo VISTA.4 (cuadrados), el anticuerpo VISTA.5 que no es de bloqueo (triángulos), y un anticuerpo que no es de unión de VISTA (control, círculos) en la proliferación (Figura 22A) y producción de interferón gamma (Figura 22B) de linfocitos T CD4+ humanos cultivados conjuntamente con células 293T modificadas genéticamente para expresar VISTA y un agonista de TCR (293T-OKT3-VISTA). ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples de Dunnett, *, P < 0.05. Estos datos son representativos de más de cuatro experimentos independientes.

La Fig. 23 muestra los efectos del bloqueo de VISTA.4 en la activación de linfocitos T de Jurkat (mediante medición de inhibición de NF-kB) luego del cultivo conjunto con células 293T-OKT3-VISTA a distinto pH. Estos datos son representativos de un conjunto de tres experimentos independientes.

La Fig. 24 muestra los efectos de pH en la supresión de VISTA de linfocitos T CD4+ humanos. Las células se estimularon al pH indicado con OKT3 y VISTA-Fc recubiertos en placa en presencia de VISTA.4 (triángulos ascendentes), VISTA.5 (triángulos descendentes), o un anticuerpo que no es de unión de VISTA (anticuerpo de control, círculos). También se muestran las células se estimularon con OKT3 e IgG de control recubiertos en placa (control de VISTA, círculos negros) o sin OKT3 (sin OKT3, rombo gris). Estos datos son representativos de un experimento independiente.

Las FIGs. 25 A-E muestran que la especificidad de unión de VISTA : PSGL-1 se determina mediante los residuos histidina y sulfotirosina. Como se muestra en la Fig 25A, se produjeron proteínas recombinantes 19-mer-Fc de PSGL-1 humano en células con o sin decoración de Lewis X sialilo (SLX+ y SLX-, respectivamente). Las magnitudes de unión de BLI a pH 6,0 (blanco) y 7,4 (negro) se muestran para VISTA-Fc y P-selectina-Fc, como se indica. Los datos son representativos de un único experimento independiente. Como se muestra en la Fig. 25B, los glicopéptidos 19-mer-Fc de PSGL-1 humano producidos con decoración de Lewis X sialilo se separaron en fracciones con sulfatación de tirosina superior al 90 % (rico en sY) y sulfatación de tirosina inferior al 1 % (con poco sY). Las magnitudes de unión de BLI a pH 6,0 (blanco) y 7,4

(negro) se muestran para VISTA-Fc y P-selectina-Fc, como se indica. Estos datos son representativos de un único experimento independiente. Como se proporciona en las Figs. 25C-25D, se produjeron proteínas recombinantes VISTA-Fc humanas con los residuos histidina en las posiciones 153-155 que permanecen intactas (VISTA WT) o se remplazan con alanina (mutante H2A), ácido aspártico (mutante H2D) o arginina (mutante H2R). La Fig. 25C muestra las magnitudes de unión de BLI para proteínas VISTA-Fc de tipo salvaje y mutantes a PSGL-1 captado a pH 6,0 y 7,4. Estos datos son representativos de un único experimento. La Fig. 25D muestra la unión de VISTA-Fc a células CHO-PSGL-1 a pH 6,0 de VISTA WT (círculos), mutante H2A (cuadrados), mutante H2D (triángulos descendentes) y mutante H2R (triángulos ascendentes grises), así como un control (rombos). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. La Fig. 25E muestra un modelo informático del glicopéptido 19-mer PSGL-1 (superior) en complejo con interfaz de ligando rico en histidina de VISTA (cintas grises, inferior). Los residuos VISTA H98, H100, H153 y H154 están marcados. Los residuos PSGL-1 Y46, Y48, E56, T57 y Y58 también están marcados.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. En el contexto de una reivindicación dependiente múltiple, el uso de "o" se refiere a más de una reivindicación independiente o dependiente precedente solo alternativamente. En la presente, las expresiones "que comprende", "que incluye" y "que tiene" se pueden utilizar de modo intercambiable. De acuerdo con la presente invención, una molécula "aislada" es una molécula que ha sido extraída de su entorno natural. Como tal, el término "aislada" no refleja necesariamente el grado en que la molécula ha sido purificada.

El término "polipéptido" se refiere a un polímero de residuos aminoácidos, y no está limitado a una longitud mínima. Una "proteína" puede comprender uno o más polipéptidos. Dichos polímeros de residuos aminoácidos pueden contener residuos aminoácidos naturales o no naturales, e incluir, entre otros, péptidos, oligopéptidos, dímeros, trímeros y multímeros de residuos aminoácidos. La definición abarca tanto proteínas de longitud completa como sus fragmentos. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación, y otras similares. Además, a los fines de la presente invención, un "polipéptido" o una "proteína" se refiere a un polipéptido o una proteína, respectivamente, lo que incluye las modificaciones, tales como, deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservativa), a la secuencia nativa, en tanto que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser

deliberadas, tal como la mutagénesis de sitio dirigido, o pueden ser accidentales, tales como a través de mutaciones de hospederos que producen las proteínas, o a errores debidos a la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés). Una proteína puede comprender uno o más polipéptidos.

"VISTA" es la abreviatura de supresor de la activación de células T que contiene el dominio variable de la inmunoglobulina, que es un miembro de la familia B7 de los reguladores de puntos de control del sistema inmunitario. VISTA también se conoce como el homólogo PD-1 (PD1H), B7-H5, C10orf54, diferenciación de ESC-1 (Dies-1), precursor del receptor plaquetario Gi24, y dominio de muerte 1α (DD1α). En la presente, el término "hVISTA" o "huVISTA" se refiere a la proteína VISTA humana. La secuencia de aminoácidos de hVISTA, que incluye su péptido señal, se proporciona en SEQ ID NO:1, mientras que la secuencia sin el péptido señal se proporciona en SEQ ID NO:2. (Ver la Tabla de Secuencias a continuación). El dominio extracelular o "ECD" de vista o "VISTA-ECD" se refiere a la porción de la proteína VISTA que está ubicada en el espacio extracelular que, en el caso de hVISTA, comprende la secuencia de aminoácidos 1-162 de SEQ ID NO:2. (Ver también la Fig. 1B). La porción "dominio IgV" de hVISTA comprende los residuos 5-135 de SEQ ID NO:2.

La expresión "péptido líder" o "secuencia líder" se refiere a una secuencia de residuos de aminoácidos ubicados en el extremo N terminal de un polipéptido que facilita la secreción de un polipéptido desde una célula de mamífero. Una secuencia líder se puede escindir luego de exportar el polipéptido desde la célula de mamífero, formando una proteína madura. Las secuencias líder pueden ser naturales o sintéticas, y pueden ser heterólogas u homólogas a la proteína a la cual están unidas.

En la presente, el término "anticuerpo" o "Ab" se usa en su sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpos, que incluyen, entre otros, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpos en tanto que estos exhiban la actividad de unión a antígeno deseada. Como se usa en la presente, el término se refiere a una molécula que comprende al menos la región determinante de complementariedad (CDR) 1, CDR2 y CDR3 de una cadena pesada y al menos CDR1, CDR2 y CDR3 de una cadena ligera, donde la molécula es capaz de unirse a antígeno. El término anticuerpo incluye, entre otros, fragmentos que son capaces de unirse a antígeno, tales como Fv, Fv monocatenario (scFv), Fab, Fab' y $(Fab')_2$. El término anticuerpo también incluye, entre otros, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos y anticuerpos de varias especies tales como murino, de mono cinomolgo, etc.

La expresión "cadena pesada" o "HC" se refiere a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena pesada, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones,

una cadena pesada comprende al menos una porción de una región constante de cadena pesada. La expresión "cadena pesada de longitud completa" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada, con o sin una secuencia líder, y con o sin una lisina C-terminal (K).

La expresión "región variable de cadena pesada" o "VH" se refiere a una región que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de cadena pesada, una región estructural (FR) 2, CDR2, FR3 y CDR3 de la cadena pesada. En algunas realizaciones, una región variable de cadena pesada también comprende al menos una porción de una FR1 y/o al menos una porción de una FR4. Como se especifica a continuación, en algunas realizaciones, una CDR1 de cadena pesada comprende los residuos 26-35 de una SEQ ID NO de VH de la presente; una CDR2 de cadena pesada comprende los residuos 50-66 de una SEQ ID NO de VH de la presente, y una CDR3 de cadena pesada comprende los residuos 99-110 de una SEQ ID NO de VH de la presente. En otras realizaciones, si se lo especifica, una CDR1 de cadena pesada corresponde a residuos Kabat 31 a 35; una CDR2 de cadena pesada corresponde a residuos Kabat 50 a 65; y una CDR3 de cadena pesada corresponde a residuos Kabat 95 a 102. Ver, por ejemplo, *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 y 1991, NIH, Bethesda, Md.).* En algunas realizaciones las CDR de cadena pesada son como se especifican en la presente, tal como en la tabla de secuencias a continuación o en la Tabla 2.

La expresión "cadena ligera" o "LC" se refiere a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena ligera, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones, una cadena ligera comprende al menos una porción de una región constante de cadena ligera. La expresión "cadena ligera de longitud completa" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, con o sin una secuencia líder.

La expresión "región variable de cadena ligera" o "VL" se refiere a una región que comprende una CDR1, FR2, HVR2, FR3 y HVR3 de cadena ligera. En algunas realizaciones, una región variable de cadena ligera también comprende una FR1 y/o una FR4. Como se especifica a continuación, en algunas realizaciones, una CDR1 de cadena ligera comprende los residuos 24-35 de una SEQ ID NO de VL de la presente; una CDR2 de cadena ligera comprende los residuos 51-57 de una SEQ ID NO de VL de la presente, y una CDR3 de cadena ligera comprende los residuos 90-98 de una SEQ ID NO de VL de la presente. En otras realizaciones, si se lo especifica, una CDR1 de cadena ligera corresponde a los residuos Kabat 24 a 34; una CDR2 de cadena ligera corresponde a los residuos Kabat 50 a 56; y una CDR3 de cadena ligera corresponde a los residuos Kabat 89 a 97. Ver, por ejemplo, *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 y 1991, NIH, Bethesda, Md.).* En algunas realizaciones las CDR de cadena ligera son como

se especifican en la presente, tal como en la tabla de secuencias.

Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el cual una porción de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie diferente. En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico se refiere a un anticuerpo que comprende al menos una región variable de una primera especie (tal como ratón, rata, mono cinomolgo, etc.) y al menos una región constante de una segunda especie (tal como ser humano, mono cinomolgo, etc.). En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable murina y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable cinomolga y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, todas las regiones variables de un anticuerpo quimérico son de una primera especie y todas las regiones constantes del anticuerpo quimérico son de una segunda especie.

Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo en el cual al menos un aminoácido en la región estructural de una región variable no humana ha sido reemplazado con el aminoácido correspondiente de una región variable humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprende al menos una región constante humana o un fragmento de esta. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado es un Fab, un scFv, un $(Fab')_2$, etc.

Un "anticuerpo humano", como se usa en la presente, se refiere a anticuerpos producidos en seres humanos, anticuerpos producidos en animales no humanos que comprenden genes de inmunoglobulina humana, tal como XenoMouse®, y anticuerpos seleccionados usando métodos in vitro, tal como despliegue en fagos, donde el repertorio de anticuerpos se basa en secuencias de una inmunoglobulina humana.

Un "anticuerpo VISTA" o un "anticuerpo anti-VISTA", como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que se une específicamente a VISTA en al menos algunas condiciones tal como pH ácido. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede ser un "anticuerpo huVISTA" o un "anticuerpo anti-huVISTA" lo que indica que este se une específicamente a la proteína VISTA humana en al menos algunas condiciones tal como pH ácido. Un anticuerpo VISTA que se une específicamente al dominio extracelular (ECD) de VISTA se puede denominar, por ejemplo, "anticuerpo VISTA-ECD".

En algunas realizaciones, un anticuerpo en la presente puede contener una o más "sustituciones conservadoras", en comparación con una secuencia especifica particular. Las "sustituciones de aminoácidos conservadoras" en la presente hacen referencia a sustituciones de un residuo de aminoácido con un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos que tiene cadenas laterales similares incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas

(por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales plares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales ramificadas en beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina), En determinadas realizaciones, un residio de aminoácido no esencial previsto en un anticuerpo en la presente se remplaza con otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadenas laterales (por ejemplo, básica, ácida, ramificada en beta, aromática, polar no cargada). Los métodos para identificar sustituciones conservadoras de aminoácidos y nucléotidos que no eliminan la unión a antígenos se han descrito, por ejemplo, en in Brummell et ál., Biochem. 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et ál. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); y Burks et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 94:412-417 (1997)).

En algunas realizaciones, un anticuerpo se puede unir con más alta afinidad a VISTA a pH ácido que a pH neutro y/o fisiológico. En algunas realizaciones, el anticuerpo se puede unir con más alta afinidad a VISTA a pH ácido y puede unirse solo en muy pequeño grado o de forma no específica a pH neutro y/o fisiológico.

Una "K_D" o "constante de disociación" para la unión de un anticuerpo a una proteína, por ejemplo, la proteína VISTA-ECD es una medida de la afinidad o la unión específica del anticuerpo a la proteína, por ejemplo, la proteína VISTA-ECD. Una K_D baja indica una unión o afinidad mejorada sobre una K_D alta. Una K_D está compuesta por una proporción entre una “tasa de disociación” o k_{off} o k_d y una “velocidad de asociación” o k_{on} o k_a para el anticuerpo y el polipéptido. La velocidad de disociación y la velocidad de asociación son las velocidades a las cuales las dos partes a unirse se asocian y disocian en el sistema. Por lo tanto, una velocidad de disociación más lenta, donde la velocidad de asociación permanece constante en términos generales, lleva a una afinidad general mayor y por lo tanto a una baja K_D. Como se usa en la presente, una k_{off} de un valor en particular "o menor" indica que la k_{off} o "velocidad de disociación" es como se especificó o es más lenta que la velocidad especificada.

Las expresiones "uniéndose específicamente" o "que se une específicamente" o expresiones similares significan que la K_D para la unión de dos polipéptidos, tal como un anticuerpo y su polipéptido objetivo, es menor de lo que sería entre dos polipéptidos aleatorios existentes en las mismas condiciones. En otras palabras, la K_D es menor que la debida a la suma no específica de polipéptidos en el sistema.

En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH o rango de pH en particular. En la presente, un pH "ácido" se refiere en general a un pH menor que 7,0, un pH "básico" se refiere en general a un pH mayor que 7,0 y un pH "neutro" se refiere en general a un pH de aproximadamente 7,0. En la presente, un "pH fisiológico" se refiere a

un pH en condiciones fisiológicas normales (es decir, no cancerosas), por ejemplo, de 7,35 a 7,45 o de 7,3 a 7,4, tal como de aproximadamente 7,4. Frases tales como "que se une en condiciones ácidas" o "que se une en condiciones fisiológicas" y otras similares en la presente, usadas en el contexto de la unión de dos moléculas tales como VISTA y un ligando VISTA o VISTA y una célula T, se refieren a la unión en pH ácido y la unión en pH fisiológico, respectivamente.

Cuando se hace referencia a un anticuerpo que "bloquea la unión de" o "inhibe la unión de" un ligando (o receptor) o un anticuerpo competidor a un receptor (o ligando) solo o en una célula, la unión se bloquea si existe una disminución general que tiene significación estadística en comparación con un control, por ejemplo, una disminución general de 50 % o más, por ejemplo, una disminución general de 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más. Un "anticuerpo de bloqueo anti-VISTA", por ejemplo, es uno que puede bloquear la unión de VISTA a PSGL-1 o a otro ligando VISTA o receptor o proteoglicanos de heparán sulfato en al menos algunas condiciones tales como a pH ácido.

Un "modelo tumoral", como se usa en la presente, se refiere a un ensayo preclínico *in vivo*, que se puede usar para estudiar la actividad biológica de un anticuerpo VISTA-ECD, e incluye sistemas de ensayos de xenoinjerto o tumor murino nativo. En algunos casos, un modelo tumoral puede permitir el seguimiento del tamaño o el crecimiento del tumor luego del tratamiento con el anticuerpo, y/o el seguimiento en presencia de células inmunitarias en el tumor, tales como tipos específicos de células T o células NK, a fin de determinar si un anticuerpo ha desencadenado o aumentado una respuesta inmunitaria.

La expresión "agente de estimulación inmunitaria", como se usa en la presente, se refiere a una molécula que estimula el sistema inmunitario ya sea porque actúa como un agonista de una molécula inmunoestimulante, inclusive una molécula co-estimulante, o porque actúa como un antagonista de una molécula inmunoinhibidora, inclusive una molécula co-inhibidora. La molécula inmunoestimulante o la molécula inmunoinhibidora puede ser un regulador de puntos de control del sistema inmunitario tal como VISTA u otro miembro de la familia B7 u otra molécula según se describe más adelante. Un agente inmunoestimulante puede ser biológico, tal como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, otra proteína, o una vacuna, o puede ser un fármaco de molécula pequeña. Una "molécula inmunoestimulante" incluye un receptor o ligando que actúa para aumentar, estimular, inducir o de otro modo "encender" una respuesta inmunitaria. Las moléculas inmunoestimulantes como se definen en la presente incluyen moléculas co-estimulantes. Una "molécula inmunoinhibidora" incluye un receptor o ligando que actúa para reducir, inhibir, suprimir o de otro modo "apagar" una respuesta inmunitaria. Las moléculas inmunoinhibidoras como se definen en la presente incluyen moléculas co-inhibidoras. Tales moléculas inmunoestimulantes e inmunoinhibidoras pueden ser, por ejemplo, receptores o ligandos hallados en células inmunitarias

tales como células T, o hallados en células que intervienen en la inmunidad innata tales como células NK.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencias de aminoácidos" y "homología" con respecto a una secuencia peptídica, polipeptídica o de anticuerpos se definen como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que es idéntico a los residuos de aminoácidos en la secuencia peptídica o polipeptídica específica, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para alcanzar el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y no considerar ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos se puede lograr de diversas formas que son conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, usando programas de computación disponibles al público tales como BLAST, BLAST-2, ALIGN o MEGALIGNTM (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir la alineación, incluyendo los algoritmos necesarios para alcanzar la máxima alineación en toda la longitud de las secuencias que se están comparando.

Los términos "desencadenar" o "aumentar" se refieren al inicio o el aumento de cualquier evento (tal como la unión de proteína y ligando) o al inicio o el aumento de cualquier actividad biológica (tal como una respuesta inmunitaria) o característica fenotípica o al inicio o el aumento en la incidencia, el grado o la probabilidad de esa actividad o característica. "Desencadenar" o "aumentar" es comenzar o aumentar una actividad, función y/o cantidad en comparación con una referencia. No es necesario que el desencadenamiento o el aumento sea completo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se entiende por "aumentar" la capacidad de causar un aumento general de 20 % o mayor. En otra realización, se entiende por "aumentar" la capacidad de causar un aumento general de 50 % o mayor. En aun otra realización, se entiende por "aumentar" la capacidad de causar un aumento general de 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o mayor.

Los términos "inhibición" o "inhibir" se refieren más generalmente a la disminución o el cese de cualquier evento (tal como la unión proteína ligando) o a una disminución o el cese de cualquier característica fenotípica o a la disminución o el cese de la incidencia, el grado, o la probabilidad de esa característica. "Reducir" o "inhibir" es disminuir, reducir o detener una actividad, función y/o cantidad en comparación con una referencia. No es necesario que la inhibición o la reducción sea completa. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, "reducir" o "inhibir" significa la capacidad de causar una disminución general de 20 % o mayor. En otra realización, "reducir" o "inhibir" significa la capacidad de causar una disminución general de 50 % o mayor. En aun otra realización, "reducir" o "inhibir" significa la capacidad de causar una disminución general de 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o mayor.

"Tratamiento", como se usa en la presente, cubre cualquier administración o aplicación de

una terapéutica para una enfermedad en un ser humano, e incluye inhibir la enfermedad o la progresión de la enfermedad o uno o más síntomas de la enfermedad, inhibir o ralentizar la enfermedad o su progresión o uno o más de sus síntomas, detener su desarrollo, aliviando total o parcialmente la enfermedad o uno o más de sus síntomas, o prevenir la recurrencia de uno o más síntomas de la enfermedad.

Los términos "sujeto" y "paciente" se usan de modo intercambiable en la presente para referirse a un ser humano.

La expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto, tal como aliviar parcial o totalmente uno o más síntomas. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz se refiere a una cantidad eficaz, con las dosis y durante los períodos necesarios para lograr el resultado terapéutico o profiláctico buscado.

El término "cáncer" se usa en la presente para referirse a un grupo de células que exhiben altos niveles anormales de proliferación y crecimiento. Un cáncer puede ser benigno (también denominado tumor benigno), pre-maligno o maligno. Las células cancerosas pueden ser células cancerosas sólidas o células cancerosas leucémicas. La expresión "crecimiento tumoral" se usa en la presente para referirse a la proliferación o el crecimiento de una célula o células que comprenden un cáncer que llevan a un aumento correspondiente en el tamaño o el alcance del cáncer.

Los ejemplos de cánceres aplicables a los métodos de tratamiento de la presente incluyen, entre otros, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Ejemplos no limitantes más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pituitaria, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejido blando, cáncer de pulmón de células no pequeñas (inclusive cáncer de pulmón de células no pequeñas escamoso), adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, cáncer de glándula salival, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer vulvar, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer de cerebro, cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, carcinoma de vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma y varios tipos de cáncer de cabeza y cuello (inclusive carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

Administración "en combinación con" uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye administración simultánea (concurrente) y consecutiva (secuencial) en cualquier orden.

Un "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un relleno sólido, semisólido o

líquido, diluyente, material encapsulante, formulación auxiliar, o portador convencional en la técnica, no tóxico, para usar con un agente terapéutico que en conjunto comprenden una "composición farmacéutica" para administrar a un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable no es tóxico para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas y es compatible con cualquier otro ingrediente de la formulación. El portador farmacéuticamente aceptable es apropiado para la formulación empleada. Por ejemplo, si el agente terapéutico se ha de administrar oralmente, el portador puede ser una cápsula de gel. Si el agente terapéutico se ha de administrar subcutáneamente, el portador ideal es el que no provoca irritación en la piel y no provoca reacción en el sitio de inyección.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos que se pueden administrar en los métodos de la presente incluyen, entre otros, agentes alquilantes tales como tiotepa y Cytoxan® ciclofosfamida; alquil sulfonatos tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas inclusive altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); a camptotecina (inclusive el análogo sintético topotecano); briostatina; calistatina; CC-1065 (inclusive sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (inclusive los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucil, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimnustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, caliqueamicina, especially caliqueamicina gammaII y caliqueamicina omega II (ver, por ejemplo, Agnew, *Chem Intl.* Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); dinemicina, inclusive dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; como así también neocarzinostatina cromóforo, cromóforos de cromoproteína de antibióticos de enedina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorrubicina Adriamycin® (inclusive morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirrubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como

metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de la purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de la pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofuro, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionate de dromostanolona, epitiostanol, mepitiostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reforzador de ácido fólico, tal como ácido fronílico; aceglatona; aldofosfamida glucósido; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetate de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2- etilhidrazida; procarbazina; complejo polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido (“Ara-C”); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel Taxol® (Bristol- Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), Abraxane® libre de Cremofor, formulación de nanopartículas de ingeniería con albúmina de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Illinois), y doxetaxel Taxotere® (Rhône- Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; gemcitabina Gemzar®; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina Navelbine®; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecano (Camptosar, CPT-11) (inclusive el regimen de tratamiento de irinotecano con 5-FU y leucovorina); inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometlilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, inclusive el regimen de tratamiento con oxaliplatino (FOLFOX); inhibidores de alfa PKC, Raf, H-Ras, EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva®)) y VEGF-A que reduce la proliferación cellular y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los mencionados.

Los agentes quimioterapéuticos adicionales ejemplares no limitantes que se pueden administrar en métodos de la presente incluyen agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en cánceres tales como anti-estrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), inclusive, por ejemplo, tamoxifeno (inclusive tamoxifeno Nolvadex®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y toremifeno Fareston®; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa,

que regula la producción de estrógenos en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol Megase®, exemestano Aromasin®, formestano, fadrozol, vorozol Rivisor®, letrozol Femara®, y anastrozol Arimidex®; y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; como así también troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en las vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tal como, por ejemplo, PKC-alfa, Ralf y H-Ras; ribozimas tales como un inhibidor de expresión de VEGF (por ejemplo, ribozima Angiozyme®) y un inhibidor de expresión de HER2; vacunas tales como vacunas para terapia génica, por ejemplo, vacuna Allovectin®, vacuna Leuvectin®, y vacuna Vaxid®; rIL-2 Proleukin®; inhibidor de topoisomerasa 1 Lurtotecan®; rmRH Abarelix®; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los mencionados.

Un "agente anti-angiogénesis" o "inhibidor de angiogénesis" se refiere a una sustancia con pequeño peso molecular, un polinucleótido (inclusive, por ejemplo, un inhibidor de ARN (ARNi o ARNsi)), un polipéptido, una proteína aislada, una proteína recombinante, un anticuerpo, o conjugados o proteínas de fusión de estos, que inhiben la angiogénesis, la vasculogénesis, o la permeabilidad vascular no deseada, ya sea directa o indirectamente. Se deberá entender que el agente anti-angiogénesis incluye aquellos agentes que se unen y bloquean la actividad angiogénica del factor angiogénico o su receptor. Por ejemplo, un agente anti-angiogénesis que se puede administrar en los métodos de la presente pueden incluir un anticuerpo u otro antagonista a un agente angiogénico, por ejemplo, anticuerpos a VEGF-A (por ejemplo, bevacizumab (Avastin®)) o al receptor VEGF-A (por ejemplo, receptor KDR o receptor Flt-1), inhibidores anti-PDGFR tales como Gleevec® (mesilato de imatinib), pequeñas moléculas que bloquean la señalización del receptor VEGF (por ejemplo, PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent®/SU11248 (malato de sunitinib), AMG706, o aquellos descriptos, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO 2004/113304). Los agentes anti-angiogénesis también incluyen inhibidores nativos de angiogénesis, por ejemplo, angiostatina, endostatina, etc. Ver, por ejemplo, Klagsbrun y D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit y Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (por ejemplo, la enumeración de la Tabla 3 de terapia anti-angiogénia en melanoma maligno); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364; Tonini *et al*. (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (por ejemplo, la enumeración en la Tabla 2 de factores anti-angiogénicos conocidos); y Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol*. 8:200-206 (por ejemplo, la enumeración en la Tabla 1 de agentes anti-angiogénicos usados en ensayos clínicos).

Un "agente inhibidor de crecimiento", como se usa en la presente, se refiere a un compuesto o una composición que inhibe el crecimiento de una célula (tal como una célula que

expresa VEGF) ya sea *in vitro* o *in vivo*. Por lo tanto, el agente inhibidor de crecimiento que se puede administrar en los métodos de la presente puede ser uno que reduce significativamente el porcentaje de células (tal como una célula que expresa VEGF) en fase S. Los ejemplos de agentes inhibidores de crecimiento incluyen, entre otros, agentes que bloquean la progresión del ciclo celular (en un lugar distinto de la fase S), tales como agentes que inducen la detención de la fase G1 y detención de la fase M. Los bloqueadores clásicos de la fase M incluyen los inhibidores de vincas (vincristina y vinblastina), taxanos y topoisomerasa II, tales como doxorubicina, epirubicina, daunorubicina, etopósido y bleomicina. Aquellos agentes que detienen G1 también se propagan en la detención de la fase S, por ejemplo, agentes alquilantes de ADN tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluorouracilo y ara-C. Se puede encontrar información adicional en Mendelsohn e Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Capítulo 1, titulado *"Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs"* por Murakami *et al*. (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), por ejemplo, p. 13. Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son fármacos anticáncer, ambos derivados del árbol llamado tejo. Docetaxel (Taxotere®, Rhone-Poulenc Rorer), derivado del tejo europeo, es un análogo semisintético de paclitaxel (Taxol®, Bristol-Myers Squibb). Paclitaxel y docetaxel promueven el ensamble de microtúbulos de dímeros de tubulina y estabilizan microtúbulos al evitar la depolimerización, lo que da por resultado la inhibición de la mitosis en las células.

La expresión "composición anti-neoplásica" se refiere a una composición útil en el tratamiento del cáncer que comprende al menos un agente terapéutico activo. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen, entre otros, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores de crecimiento, agentes citotóxicos, agentes usados en radioterapia, agentes anti-angiogénesis, agentes inmunoterapéuticos contra el cáncer, agentes apoptópicos, agentes anti-tubulina, y otros agentes para tratar el cáncer, tales como anticuerpos anti-HER-2, anticuerpos anti-CD20, un antagonista del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, un inhibidor de tirosina quinasa), inhibidor HER1/EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva®), inhibidores del factor de crecimiento derivados de plaquetas (por ejemplo, Gleevec® (mesilato de imatinib)), un inhibidor COX-2 (por ejemplo, celecoxib), interferones, inhibidores CTLA4 (por ejemplo, anticuerpo anti-CTLA ipilimumab (YERVOY®)), inhibidores PD-1 o PD-L1 (por ejemplo, OPDIVO®, KEYTRUDA®, TECENTRIQ®, BAVENCIO®, IMFINZI®), inhibidores TIM3 (por ejemplo, anticuerpos anti-TIM3), citoquinas, antagonistas (por ejemplo, anticuerpos neutralizadores) que se unen a uno o más de los siguientes objetivos ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, CTLA4, TIM3, o receptor(es) VEGF, TRAIL/Apo2, y otros agentes bioactivos y químicos orgánicos, etc. Sus combinaciones también se incluyen en esta divulgación.

Anticuerpos que se unen específicamene a VISTA-ECD a pH ácido

Debido a que VISTA posee un gran número de residuos de histidina en su dominio extracelular (ECD), su plegamiento y estructura general, como así también la superficie disponible para la unión de ligandos tales como anticuerpos, puede diferir a pH ácido en comparación con pH neutro, en particular, cerca de pH 6,5, que es el pK_a para histidina. Dado que los microentornos tumorales son generalmente ácidos, para la unión a VISTA en esos microentornos, un anticuerpo puede necesitar unirse con especificidad a VISTA a pH ácido donde resulta más probable que al menos algunos de los residuos de histidina superficiales estén protonados.

La Tabla de Secuencias a continuación proporciona la secuencia de aminoácidos de VISTA humano (hVISTA) con o sin péptido señal (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 (hVISTA maduro)), respectivamente. El péptido señal constituye los residuos de aminoácidos 1-32 de SEQ ID NO: 1. El dominio extracelular (ECD) consiste en los residuos de aminoácidos 1-162 de SEQ ID NO: 2). El dominio IgV constituye los residuos de aminoácidos 37-167 de SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 5-135 de SEQ ID NO: 2. La región tallo está en los residuos de aminoácidos 172-194 de SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 136-162 de SEQ ID NO: 2; el dominio transmembrana está en los residuos de aminoácidos 195-216 de SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 163-184 de SEQ ID NO: 2. El residuo de aminoácidos 187 de SEQ ID NO: 1 y 155 de SEQ ID NO: 2 (negrita y subrayado) puede ser D o E, lo que representa un polimorfismo en hVISTA. Ese residuo se muestra en negrita, subrayado. Por consiguiente, SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO:2 abarcan ambos polimorfismos humanos de ese residuo. Los residuos de histidina en ECD de VISTA están sombreados en color gris.

Los anticuerpos (Ab, por sus siglas en inglés) anti-VISTA se pueden unir específicamente a VISTA-ECD o a sus fragmentos, por ejemplo, que comprenden el dominio IgV de VISTA o una región de hVISTA que comprende, por ejemplo, los amino ácidos 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 o 37-125 de SEQ ID NO: 2 a pH ácido. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 7,0. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,8. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,5. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,3. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,0. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,8. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,5. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH

5,3. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,0.

Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 5,0 a pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 5,0 a pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 5,0 a pH 6,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 5,5 a pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 5,5 a pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH comprendido dentro del rango de pH 6,0 a pH 6,5.

También se proporcionan en la presente Ab que se unen a una proteína VISTA-ECD, tal como hVISTA-ECD o sus fragmentos, que comprenden el dominio IgV de VISTA o una región de hVISTA que comprende, por ejemplo, los aminoácidos 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 o 37-125 de SEQ ID NO:2 a un pH de 6,5 o menor, con una K_D de 10^{-6} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-7} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-8} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-9} M. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-10} M o menor. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor.

En la presente también se proporcionan Ab que se unen a la proteína VISTA-ECD dentro de un rango de pH de 6,0 a 6,5 con una K_D de 10^{-6} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-7} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-8} M o menor. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-9} M. En algunas realizaciones, los Ab se unen con una K_D de 10^{-10} M o menor. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor, por ejemplo, dentro de un rango de pH de 6,0 a 6,5, con una K_D de 10^{-7} M o menor. Asimismo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor, por ejemplo, dentro de un rango de pH de 6,0 a 6,5, con una K_D de 10^{-8} M o menor. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor, por ejemplo, dentro de un rango de pH de 6,0 a 6,5, con una K_D de 10^{-9}M o menor.

También se proporcionan en la presente Ab que se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD, tal como hVISTA-ECD o sus fragmentos, que comprenden el dominio IgV de VISTA o una región de hVISTA que comprende, por ejemplo, los aminoácidos 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 o 37-125 de SEQ ID NO:2, por ejemplo, a un pH de 6,5 o menor, con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 2 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 5 10^{-4} s^{-1} o

menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 7 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 2 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 5 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 7 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} tanto a 25°C como a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-1} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. Un Ab se puede unir específicamente a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. Asimismo, un Ab se puede unir específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C.

Se proporcionan en la presente Ab que se unen a una proteína VISTA-ECD, tal como hVISTA-ECD o sus fragmentos que comprenden el dominio IgV de VISTA o una región de hVISTA que comprende, por ejemplo, los aminoácidos 20-95, 20-70 35-70, o 35-95, 35-95, 35-127 o 37-125 de SEQ ID NO:2, por ejemplo, a un pH de 6,5 o menor, con (i) una K_D de 10^{-6} M o menor, 10^{-7} M o menor, 10^{-8} M o menor, 10^{-9} M o menor o 10^{-10} M o menor y (ii) una velocidad k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} (o 2, 5 o 7 10^{-4}) s^{-1} o menor, 10^{-3} (o 2, 5 o 7 10^{-4}) s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puedeunir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor y una velocidad k_{off}de 10^{-3} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-4} (o 2, 5 o 7 10^{-4}) s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-5} (o 2, 5 o 7 10^{-5}) s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor y

una velocidad k_{off} de 10^{-4} (o 2, 5 o 7 10^{-4}) s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor y una velocidad k_{off} de 10^{-5} (o 2, 5 o 7 10^{-5}) s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En la presente se proporcionan Ab que se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD, por ejemplo, a un pH de 6,5 o menor, con una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, los Ab se pueden unir con una k_{on} de 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor. En algunas de tales realizaciones, los Ab se pueden unir con una k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor. En algunas de tales realizaciones, los Ab se pueden unir con una k_{on} de 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir al ECD de hVISTA a un pH de 6,5 o menor con una k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En la presente se proporcionan Ab que se unen a la proteína VISTA-ECD, por ejemplo, a un pH de 6,5 o menor, con (i) una K_D de 10^{-6} M o menor, 10^{-7} M o menor, 10^{-8} M o menor, 10^{-9} M o menor o 10^{-10} M o menor y (ii) una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor y una velocidad k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor y una velocidad k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, un Ab se puede unir a hVISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor y una velocidad k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 2 10^{-5} s^{-1} o menor, 5 10^{-5} s^{-1} o menor, 7 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 2 10^{-4} s^{-1} o menor, 5 10^{-4} s^{-1} o menor, 7 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 2 10^{-3} s^{-1} o menor, 5 10^{-3} s^{-1} o menor, 7 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas de tales realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-10} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o

menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor, como así también con una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor, como así también con una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor, como así también con una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas de tales realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-10} M o menor como así también con una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C, y una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor , 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor , 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, a Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 65 o menor, con una K_D de 10^{-8} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C, y una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor , 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a un pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C, y una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas de tales realizaciones, un Ab se puede unir a la proteína VISTA-ECD a pH de 6,5 o menor con una K_D de 10^{-10} M o menor, como así también con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor, 10^{-4} s^{-1} o menor, 10^{-3} s^{-1} o menor, 10^{-2} s^{-1} o menor, o 10^{-1} s^{-1} o menor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C, y una k_{on} de 10^4 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor, 10^7 M^{-1} s^{-1} o mayor, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

Como se señaló anteriormente, en algunas de las realizaciones mencionadas, la proteína

VISTA-ECD es hVISTA-ECD o es una porción de hVISTA-ECD tal como, por ejemplo, el dominio IgV. En algunas de las realizaciones anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 20-95 de SEQ ID NO:2. En algunas de las realizaciones anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 20-70 de SEQ ID NO:2. En algunas de las realizaciones anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 35-95 de SEQ ID NO:2. En algunas de las realizaciones anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 35-70 de SEQ ID NO:2. En algunas realizaciones anteriores, el epítopo es un epítopo tridimensional que comprende no solo una de las porciones mencionadas de SEQ ID NO:2 de los residuos 20-95, 20-70, 35-95 o 35-70, sino también otra porción de SEQ ID NO:2, tal como los residuos 95-105 de SEQ ID NO:2. En ciertas realizaciones, un Ab se une al epítopo de hVISTA al cual se une un Ab descripto en WO2015/097536. Por ejemplo, un Ab puede competir o competir de forma cruzada para unirse a hVISTA con un Ab divulgado en WO2015/097536. En ciertas realizaciones, un Ab se une a un epítopo conformacional de VISTA humana. En ciertas realizaciones, un Ab se une a un epítopo conformacional que comprende, o está presente dentro de los residuos 103-111 de SEQ ID NO: 2 y 136-146 de SEQ ID NO:2 para VISTA humana. En ciertas realizaciones, un Ab se une a un epítopo conformacional que comprende, o está presente dentro de los residuos 24-36, 54-65 y 100-102 de SEQ ID NO:2 para VISTA humana. En ciertas realizaciones, un Ab se une a un epítopo conformacional que comprende los residuos de aminoácidos en el bucle FG de VISTA humana. En algunas realizaciones, un Ab se une a un polipéptido que comprende los residuos de aminoácidos 35 a 127 y/o 37-125 de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, un Ab se une a un polipéptido VISTA ECD o a una porción de este que comprende los residuos de aminoácidos 350-127 de SEQ ID NO: 2, pero el o los anticuerpos no se unen con afinidad reducida al polipéptido VISTA ECD o a una porción de este que comprende una sustitución de aminoácidos, donde la sustitución (1) es la sustitución de uno de los siguientes residuos de aminoácidos: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 y SEQ ID NO: 2 o (2) es una sustitución de uno de los siguientes residuos de aminoácidos: Y37, T39, R54, F62, Q63, H66, L115, V117, I119, S124 o E125. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA tiene las mismas características de unión (o significativamente las mismas características de unión) que un anticuerpo descripto en la presente, por ejemplo, como se establece en los Ejemplos y/o en las reivindicaciones

Algunos de los anticuerpos mencionados pueden mostrar diferentes afinidades de unión para proteínas VISTA-ECD según el pH. Ciertos Ab que se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, también se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a pH neutro y/o alcalino con similar afinidad (es decir,

son "panligandos"). Por ejemplo, algunos de tales Ab se pueden unir a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-7} M o menor, tanto a pH 6,5 como a pH 7,0 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C) de modo que K_D a pH 6,5 está dentro de 1,5 veces la K_D a pH 7,0. Algunos de tales Ab se pueden unir a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor, tanto a pH 6,5 como a pH 7,0 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C) de modo que K_D a pH 6,5 está dentro de 1,5 veces la K_D a pH 7,0. Algunos de tales Ab se pueden unir a hVISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor, tanto a pH 6,5 como a pH 7,0 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C) de modo que K_D a pH 6,5 está dentro de 1,5 veces la K_D a pH 7,0.

Ciertos Ab que se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, pueden unirse a la proteína VISTA-ECD en condiciones neutras, fisiológicas y/o alcalinas con afinidad más baja ("ligandos sensibles al pH" o "Ab sensibles al pH"). Ciertos Ab que se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, pueden tener una unión insignificante, por ejemplo, casi indetectable a la proteína VISTA-ECD en condiciones neutras, fisiológicas y/o alcalinas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor a pH 6,5 y con una K_D de más de 10^{-8}M a pH 7,0 y/o pH 7,4. En algunas de tales realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor a pH 6,5 y con una K_D a pH 7,0 y/o pH 7,4 que es más que 1,5 veces más alta que a pH 6,5. En ciertas realizaciones, se proporciona un Ab sensible al pH que se une específicamente a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces, o 5.000 veces menor a pH 6,5 que a pH 7,0 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C). Por ejemplo, en algunos casos un Ab se une a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces o 5.000 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0 y/o pH 7,4 o mayor (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C).

En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD con una k_{off} que es menor en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, se proporciona un Ab que se une a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces inferior a pH 6,5 que la k_{off} a pH 7,0 y/o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En otras palabras, la velocidad "off" es más lenta a pH ácido que a pH neutro. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD con una velocidad k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20

veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0 y/o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En ciertas realizaciones, se proporciona un Ab que se une a la proteína VISTA-ECD con una k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces menor a pH 6,5 que la K_{off} a pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En algunas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD con una velocidad k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. En ciertas realizaciones, se proporciona un Ab que se une a la proteína VISTA-ECD con una k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces menor a pH 6,0-6,5 que la k_{off} a pH 7,0-7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En ciertas realizaciones, un Ab que se une específicamente a una proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es mayor en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, se proporciona un Ab que se une a una proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, o 1.000 veces mayor a pH 6,5 que la k_{on} a pH 7,0 y/o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o 1.000 veces mayor a pH 6,0 que a pH 7,0 y/o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD a un pH al cual se protona al menos un residuo de histidina, por ejemplo, His 98 en SEQ ID NO: 1. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD a un pH al cual la mayor parte de los residuos de histidina en el ECD se protonan, que se supone que es pH 6,5 o menor, por ejemplo, entre pH 6,0 y pH 6,5.

La presente también abarca los Ab que se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD con una afinidad que es mayor a pH neutro, fisiológico o alcalino en relación con pH ácido, siempre que la afinidad de unión a pH ácido permanezca elevada. Por ejemplo, los Ab se pueden unir a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor, tanto a pH 6,5 como a pH 7,0, aunque los Ab se unen con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces menor a pH 7,0 que a pH 6,5.

La presente también abarca los Ab que comparten una o varias de las propiedades mencionadas anteriormente en esta sección. Las propiedades mencionadas, tales como K_D, k_{off}, k_{on}, epítopos específicos no han de tratarse aisladamente. Por lo tanto, un Ab se puede unir a un epítopo que comprende una de las regiones de SEQ ID NO:2 descriptas anteriormente, y también

puede tener propiedades tales como ser "pan ligando" o ser sensible al pH o unirse selectivamente al pH, según se describió anteriormente, como lo muestran uno o varios de los comportamientos de sus K_D, k_{off} o k_{on} a diferentes pH.

En cualquiera de las realizaciones precedentes, el Ab puede ser, por ejemplo, un anticuerpo de longitud completa (es decir, que comprende una cadena pesada de longitud completa (con o sin lisina C-terminal) y una cadena ligera de longitud completa), o un fragmento de unión a antígeno tal como un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento $(Fab')_2$, un fragmento scFv, un fragmento Fv, o el Ab puede ser un anticuerpo quimérico, humanizado o humano, o el Ab puede ser un anticuerpo biespecífico o multiespecífico.

La determinación de cuán bien se une un Ab a una proteína VISTA-ECD a un pH dado se puede realizar usando varios métodos diferentes. Por ejemplo, la resonancia de plasmón superficial (SPR), tal como mediante ensayos BIACORE®. Un ejemplo de ensayo SPR comprende capturar uno o varios anticuerpos sobre un chip sensor CM4 con reactivo de captura inmobilizado (por ejemplo, usando el kit de captura Fc antihumano Biacore®, GE Healthcare Nro. de catálogo BR-1008-39, o el kit de captura anti-ratón Biacore®, GE Healthcare Nro. de catálogo BR-1008-39), y haciendo circular el antígeno VISTA como analito en una serie de concentraciones para determinar la cinética de unión y las afinidades en un tampón de corrida a pH deseado. En una realización, se inyecta VISTA con concentraciones de dos a cinco dentro del rango de 0,1 nM a 500 nM (por ejemplo, 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM, 500 nM) con un caudal de 30 uL/min, hasta un tiempo de asociación de cuatro minutos y hasta un tiempo de disociación de diez minutos. Entre los ciclos de unión, se regenera la superficie de captura siguiendo las instrucciones del fabricante para el correspondiente kit de captura. Toda la información es doblemente referenciada usando una celda de flujo de referencia y la inyección de un blanco. La información con cinética simple 1:1 se ajusta a un modelo de unión de Langmuir con transferencia de masa usando el programa de evaluación T200 Biacore®. También se pueden utilizar los métodos SPR descriptos en los Ejemplos.

La afinidad de un Ab por un polipéptido VISTA ECD se puede determinar usando células que expresan un polipéptido VISTA ECD, PSGL-1 o heparán sulfato sobre sus superficies, método que comprende citometría de flujo, y donde se determina la unión de un Ab a VISTA-ECD unida a una célula a un pH dado, por ejemplo, pH 6,5 o menor. Un ejemplo de ensayo de citometría de flujo comprende lo siguiente: Se re-suspenden 293 células T u otras células que expresan ectópicamente hVISTA ECD en un tampón que consiste en HBSS + 1% BSA ajustado al pH deseado, por ejemplo, pH 6,0 con MES o pH 7,4 con HEPES. Los Ab (por ejemplo, IgG humana) contra hVISTA se diluyen en serie desde aproximadamente 20 μg/mL y se incuban con las células re-suspendidas durante 30 minutos a 4 °C. Las células luego se lavan dos veces con los mismos

tampones, manteniendo el pH deseado, por ejemplo, pH a 6,0 o 7,4, y se incuban con un anticuerpo secundario conjugado con fluoróforos que reconoce al anticuerpo primario (por ejemplo, IgG humana) y es estable a pH reducido. Las células luego se lavan como anteriormente y se obtienen inmediatamente, sin fijación, sobre un citómetro de flujo BD Fortessa u otro similar. La afinidad de un Ab por un polipéptido VISTA ECD se puede determinar como se describió en los Ejemplos.

En ciertas realizaciones, los Ab que se unen a hVISTA ECD bloquean la unión de hVISTA con su ligando (por ejemplo, un receptor VISTA), por ejemplo, sobre células. La inhibición del bloqueo puede ser 100% o al menos 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75% o 50%. En ciertas realizaciones, a Ab se une a una proteína VISTA-ECD a pH ácido, por ejemplo, pH 6,5 o menor, e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50%, tal como al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que menor que pH 7,0. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 6,8. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 6,5. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 6,3. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 6,0. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 5,8. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 5,5. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 5,3. En ciertas realizaciones, un Ab se une específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhibe la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH que es menor que pH 5,0.

Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 5,0-pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 5,0-pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 5,0-pH 6,0. Ciertos Ab se unen específicamente a

una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 5,5-pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 5,5-pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD e inhiben la unión de VISTA con su ligando en al menos 50% a un pH dentro de un rango de pH 6,0-pH 6,5. La inhibición de la unión se puede determinar según se describe en los Ejemplos.

Un ligando de VISTA puede ser PSGL-1, tal como PSGL-1 humano. En la presente, las secuencias de isoformas de PSGL-1 humano se proporcionan como SEQ ID NO: 3-10. VISTA se une a PSGL-1 con o sin Lewis X sialilado. Un ligando puede ser proteoglicanos de heparán sulfato, por ejemplo, presentes en ciertas células.

La inhibición de unión a un ligando VISTA se puede determinar midiendo la inhibición de unión de VISTA (o VISTA ECD o dominio IgV VISTA o células VISTA positivas) a células a las cuales se une VISTA, por ejemplo, células T (por ejemplo, células T CD4+, células T CD8+, tanto activadas como no activadas), células NK u otras células a las cuales se une VISTA, en presencia o ausencia del anticuerpo. Un experimento ejemplar que se puede usar para determinar si un anticuerpo inhibe la unión de VISTA a su ligando o a células T que expresan un ligando es un ensayo de citometría de flujo, por ejemplo, un ensayo que comprende lo siguiente: células humanas mononucleares de sangre periférica de sangre de donante, de capa leucoplaquetaria o Leuko Pack se re-suspenden en un tampón que consiste en HBSS + 1% BSA ajustado al pH deseado, por ejemplo, pH 6,0 con MES o pH 7,4 con HEPES. Las células luego se incuban durante 30 minutos a 4 °C con 20 μg/mL de proteína quimérica recombinante que consiste en hVISTA ECD fusionado con IgG1 Fc humana (VISTA-Fc) y con concentraciones variadas de anticuerpos candidatos de bloqueo de VISTA o anticuerpos de control. Las células luego se lavan dos veces en los mismos tampones, manteniendo el pH deseado, por ejemplo, pH a 6,0 o 7,4, y se incuban durante otros 30 minutos a 4 °C con un anticuerpo secundario conjugado con fluoróforos que reconoce VISTA-Fc, pero no los anticuerpos de bloqueo candidatos ni los anticuerpos de control, y que es estable a pH reducido. Las células luego se lavan como anteriormente y se obtienen inmediatamente, sin fijación, sobre un citómetro de flujo BD Fortessa u otro similar. La inhibición de la unión se puede determinar, por ejemplo, según se describe en los Ejemplos.

En realizaciones específicas, los Ab descriptos en la presente pueden desencadenar o aumentar una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria específica a un antígeno. En ciertas realizaciones, los Ab estimulan la actividad de células T, particularmente a pH ácido tal como se encuentra en microentornos tumorales. El estímulo de la actividad de células T se puede medir, por ejemplo, en una reacción linfocitaria mixta (MLR, por sus siglas en inglés) o en un ensayo in vitro con una célula presentadora de antígeno (natural o artificial) y células T. El estímulo

de la actividad de células T también se puede medir usando, por ejemplo, el ensayo de Jurkat descripto en los Ejemplos. La estimulación de la actividad de células T se puede medir también al determinar la secreción de IFN-γ de células T, donde una secreción de IFN-γ mejorada indica la estimulación de células T. La secreción de otras citocinas a partir de las células T activadas se puede medir también. En ciertas realizaciones, se mide la transducción de señales de células T activadas, tal como los niveles de NF-kB. En realizaciones específicas, los Ab descriptos en la presente inhiben la adhesión celular, lo cual se puede medir según se describe en los Ejemplos.

La actividad de Ab anti-VISTA también se puede mostrar en ensayos con monocitos, ensayos ADCC y ensayos ADCP, en particular, a pH acido tal como el que se encuentra en los microambientes tumorales.

En ciertas realizaciones, los Ab anti-VISTA inhiben el crecimiento tumoral en un modelo tumoral, por ejemplo, un modelo de tumor humano knock-in VISTA.

Como se muestra en los Ejemplos en la presente, el reciclado de un Ab anti-VISTA en el endosoma tal como el aumento de las propiedades farmacocinéticas (PK), es decir, la semivida, del anticuerpo, requiere que el anticuerpo anti-VISTA se una a VISTA en condiciones ácidas. Por lo tanto, también se espera que los Ab anti-VISTA que se unen a VISTA a pH bajo, por ejemplo, un pH de 6,5 o más bajo, como se describe en la presente, tengan una semivida aceptable más larga en relación con un anticuerpo VISTA que no se une a VISTA a pH ácido

Ejemplos de Ab que se unen a hVISTA-ECD

En la presente se proporcionan Ab que se unen preferencialmente a hVISTA (ECD) a pH ácido (por ejemplo, en condiciones ácidas) en relación con pH fisiológico o pH neutro.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una región variable de cadena pesada ("VH") que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tal como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-

068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE. Las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cada una de estas especies comprende las posiciones de aminoácidos 26-35 (VH CDR1), 50-66 (VH CDR2) y 99-110 (VH CDR3), de las secuencias de VH para cada una de las especies de anticuerpos anteriores proporcionados en la tabla de secuencias a continuación. Las CDR también están subrayadas y en negrita en cada una de las secuencias VH para las especies de anticuerpos anteriores proporcionadas en la Tabla de Secuencias a continuación.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de uno de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE. Las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de cada una de estas especies comprende las posiciones de aminoácidos 24-35 (VL CDR1), 51-57 (VL CDR2) y 90-98 (VL CDR3), de las secuencias de VL para cada una de las especies de anticuerpos anteriores proporcionados en la Tabla de Secuencias a continuación. Las CDR también están subrayadas y en negrita en cada una de esas secuencias.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tal como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tal como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-

068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE.

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029;

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061015 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061015;

(c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068757 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068757;

(d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068759 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068759;

(e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761;

(f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068763 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068763;

(g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068765 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068765;

(h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767;

(i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068769 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068769;

(j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068771 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068771;

(k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068773 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068773;

(l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068775 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068775;

(m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069059 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069059;

(n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069061 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069061;

(o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069063 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069063;

(p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069065 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069065;

(q) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069067 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069067;

(r) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069069 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069069;

(s) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069071 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069071;

(t) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069073 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069073;

(u) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069075 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069075;

(v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-069077 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-069077;

(w) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068736 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068736;

(x) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068738 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068738;

(y) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068740 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068740;

(z) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068742 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068742;

(aa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068744 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068744;

(bb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068746 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068746;

(cc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068748 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068748;

(dd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068750 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068750;

(ee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3

de VH de P1-068752 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068752;

(ff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068754 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068754;

(gg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E55A;

(hh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_H100G; y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_H100G;

(ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E56N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E56N;

(jj) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E55A_E56N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D;

(ll) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E56N_H100G y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D_H100G y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D_E56N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E100fF;

(qq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3

de VH de P1-068761_E55A_E100fF; y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_H100G_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E56N_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E32Y y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E32Y;

(vv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E32Y_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E32Y_E56N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E30D_E32Y y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E32Y_H100G y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_D52N_D102V y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_D52N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_D52N;

(ccc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_D52N_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E55A_D102V y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_D102V y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_D102V;

(fff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E55A;

(ggg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E30D_D52N y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E30D_D102V y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E30D y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E30D;

(jjj) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las VH CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E30D_E55A y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las VH CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E100fF_D102V y una VL que comprende las VL CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las VH CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E55A_E100fF y una VL que comprende las VL CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las VH CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_D52N_E100fF y una VL que comprende las VL CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las VH CDR1, CDR2 y CDR3 de P1-068767_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de

P1-068767_E100fF;

(ooo) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E30D_E100fF y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029_F100fE_V102D y una VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029_F100fE y una VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029_F100fE;

(rrr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH P1-061029_ V102D y una VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029_ V102D;

(sss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029_Y32E y una VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 061029_Y32E_F100fE y una VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 061029_Y32E_F100fE.

Nuevamente, la Tabla de Secuencias a continuación proporciona las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera y secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa de los anticuerpos enumerados anteriormente con una región constante de cadena pesada IgG1.3 (a menos que en la tabla se indique una región constante HC diferente) e indica las ubicaciones de sus CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL por residuo de aminoácido y con las CDR en negrita y subrayadas en cada secuencia VH y VL. Así, por ejemplo, VH CDR1 de P1-061029 comprende los aminoácidos 26-35 de SEQ ID NO: 67, mientras VH CDR2 comrpende los aminoácidos 50-66 de SEQ ID NO: 67, y VH CDR3 comprende los aminoácidos 99-110 de SEQ ID NO: 67, y así sucesivamente, como lo indican los aminoácidos en negrita y subrayados de SEQ ID NO: 67 que se muestran en la Tabla de Secuencias.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las secuencias de aminoácidos de la VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. Las secuencias VH individuales para una especie de anticuerpo en particular proporcionado en la presente se enumeran en la Tabla de Secuencias. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las secuencias de aminoácidos de la VH de

P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE.

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende la VH de cualquiera de los anticuerpos P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E, or P1-061029_Y32E_F100fE, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia VH tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conversadoras. En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende la VH de cualquiera de los anticuerpos P1-061029 o su progenie tal como, P1-068757, P1-068759, P1-

068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068766, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, pero con una o más sustituciones de reversión de la línea germinal, por ejemplo, una o ambas de las sutituciones de K16R y/o T84A, en las regiones marco de las secuencias de VH que se muestran en la Tabla de secuencias. Las secuencias de VH de ejemplo con dichas sustituciones de aminoácidos se proporcionan en la Tabla de secuencias con los residues 16 y 84 resaltados en negrita y subrayados. Nótese que el P1-061015 contiene R en la posición 16 y A en la posición 84 de sus regiones marco de VH.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente y comprende una VH que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-

068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE. En determinadas realizaciones, la VH del anticuerpo se diferencia de la de las secuencias VH que se muestan en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VH, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones consevadoras, o tal como una o ambas de las sustituciones K16R y/o T84A en P1-061029 o su progenie.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que consiste en las secuencias de aminoácidos de la VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE opcionalmente con una o ambas de las sustituciones K16R y/o T84A

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende las secuencias de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende la

secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente y comprende una VL que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-

068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE. En determinadas realizaciones, la VL del anticuerpo difiere de la de las secuencias de VL que se muestran en la Tabla de secuencias debio a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VL, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que consiste en las secuencias de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende las secuencias de aminoácidos de la VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente y comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas de estas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766,

P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029 o P1-061015.

En determinadas realizaciones, sin embargo, la VH del anticuerpo es la de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VH, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras, y la VL es la de P1-061029 o P1-061015. En ciertas realizaciones, sin embargo, la VH del anticuerpo es la de P1-061029 o su progenie tal como P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068766, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G,

P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, pero con una o ambas de las sustituciones K16R o T84A, y la VL es la de P1-061029 o P1-061015.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH y una VL que comprenden las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, y opcionalmente, donde la VH comprende una o ambas de las sustituciones K16R y/o T84A.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VH de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente como así también una CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente, y también comprende una VH y una VL, cada una de las cuales es al menos 90 %,

al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la VH y la VL correspondiente de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, la VH y la VL del anticuerpo difieren de las secuencias de VH y VL que se muestran en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones en las regiones marco de las secuencias, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras, o tal como una o ambas de las sustituciones K16R y/o T84A en la secuencia de VH.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH y una VL que consisten en las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una VH y una VL cada una de las cuales consiste en las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, y opcionalmente, donde la VH comprende una o ambas de las sustituciones K16R y/o T84A.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029;

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061015 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061015;

(c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068757 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068757;

(d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068759 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068759;

(e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761;

(f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068763 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068763;

(g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068765 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068765;

(h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767;

(i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068769 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068769;

(j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068771 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068771;

(k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068773 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068773;

(l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068775 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068775;

(m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069059 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069059;

(n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069061 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069061;

(o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069063 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069063;

(p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069065 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069065;

(q) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069067 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069067;

(r) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069069 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069069;

(s) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069071 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069071;

(t) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069073 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069073;

(u) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069075 y una VL que

comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069075;

(v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069077 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-069077;

(w) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068736 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068736;

(x) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068738 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068738;

(y) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068740 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068740;

(z) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068742 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068742;

(aa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068744 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068744;

(bb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068746;

(cc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068748 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068748;

(dd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068750 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068750;

(ee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068752 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068752;

(ff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068754 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068754;

(gg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E55A;

(hh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_H100G;

(ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E56N;

(jj) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A_E56N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D;

(ll) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E55A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_H100G y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_H100G y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E56N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E100fF;

(qq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E32Y;

(vv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E55A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E56N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-

068761_E30D_E32Y y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_H100G y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_D102V y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_D52N;

(ccc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E55A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_D102V y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D102V y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_D102V;

(fff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E55A;

(ggg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_D52N y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_D102V y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E30D;

(jjj) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_E55A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-

068767_E100fF_D102V y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E100fF;

(ooo) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE;

(rrr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_V102D;

(sss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E_F100fE y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E_F100fE.

Un anti-hVISTA puede comprender:

(a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029;

(b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068757 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos

de la VL de P1-068757;

(c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068759 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068759;

(d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761;

(e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068763 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068763;

(f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068765 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068765;

(g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767;

(h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068769 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068769;

(i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068771 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068771;

(j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068773 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068773;

(k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068775 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068775;

(l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069059 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069059;

(m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069061 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069061;

(n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069063 modificada

por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069063;

(o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069065 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069065;

(p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069067 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069067;

(q) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069069 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069069;

(r) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069071 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069071;

(s) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069073 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069073;

(t) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069075 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069075;

(u) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-069077 modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-069077;

(v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E55A;

(w) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_H100G;

(x) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N;

(y) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de of P1-068761_E55A_E56N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de of P1-068761_E55A_E56N;

(z) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D;

(aa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E55A;

(bb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_H100G modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N_H100G;

(cc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_H100G modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_H100G;

(dd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E56N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E56N;

(ee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E100fF;

(ff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E55A_E100fF;

(gg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_H100G_E100fF;

(hh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E100fF;

(ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N_E100fF;

(jj) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y;

(kk) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que

comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E55A;

(ll) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E56N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E56N;

(mm) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E32Y modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E32Y;

(nn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_H100G modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_H100G;

(oo) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E100fF;

(pp) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_D102V modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_D102V;

(qq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N;

(rr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_E55A;

(ss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_D102V modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A_D102V;

(tt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D102V modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D102V;

(uu) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A;

(vv) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_D52N modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_D52N;

(ww) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-

068767_E30D_D102V modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_D102V;

(xx) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D;

(yy) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_E55A modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_E55A;

(zz) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E100fF_D102V modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E100fF_D102V;

(aaa) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A_E100fF;

(bbb) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_E100fF;

(ccc) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E100fF;

(ddd) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_E100fF modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_E100fF;

(eee) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(fff) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE;

(ggg) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_V102D;

(hhh) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E;

(iii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E_F100fE modificada por las sustituciones K16R y/o T84A y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E_F100fE.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-061029 y una VL que comprende las CDR VL de P1-061029 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-061029;

(b) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-061015 y una VL que comprende las CDR VL de P1-061015 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-061015;

(c) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068757 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068757 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068757;

(d) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068759 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068759 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068759;

(e) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761;

(f) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068763 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068763 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068763;

(g) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068765 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068765 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068765;

(h) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al

menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767;

(i) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068769 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068769 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068769;

(j) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068771 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068771 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068771;

(k) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068773 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068773 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068773;

(l) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068775 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068775 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068775;

(m) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069059 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069059 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069059;

(n) una VH que comprende las CDR VH de P1-069061 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069061 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069061;

(o) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069063 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069063 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069063;

(p) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069065 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069065 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069065;

(q) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069067 y una VL que comprende las

CDR VL de P1-069067 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069067;

(r) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069069 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069069 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069069;

(s) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069071 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069071 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069071;

(t) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069073 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069073 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069073;

(u) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069075 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069075 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069075;

(v) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-069077 y una VL que comprende las CDR VL de P1-069077 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-069077;

(w) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068736 y una VL que comprende las CDR VL de P1-068736 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068736;

(x) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068738; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068738 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068738;

(y) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068740; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068740 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068740;

(z) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068742; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068742 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068742;

(aa) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068744; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068744 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068744;

(bb) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068746; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068746 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068746;

(cc) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068748; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068748 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068748;

(dd) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068750; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068750 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068750;

(ee) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068752; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068752 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068752;

(ff) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068754; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068754 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068754;

(gg) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E55A; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que

son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E55A;

(hh) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_H100G; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_H100G y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_H100G;

(ii) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E56N y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E56N y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E56N;

(jj) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E55A_E56N y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E55A_E56N y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D;

(ll) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D_E55A; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E56N_H100G y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E56N_H100G y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D_H100G y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D_H100G y secuencias de aminoácidos de

VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D_E56N; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D_E56N y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E100fF;

(qq) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E55A_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E55A_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_H100G_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_H100G_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E56N_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E56N_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E32Y y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E32Y y secuencias de aminoácidos de VH y VL que

son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E32Y;

(vv) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E32Y_E55A y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E32Y_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E32Y_E56N y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E32Y_E56N y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E30D_E32Y y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E30D_E32Y y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E32Y_H100G y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E32Y_H100G y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068761_E32Y_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_D52N_D102V y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_D52N_D102V y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_D52N y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_D52N y secuencias de aminoácidos de VH y VL

que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_D52N;

(ccc) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_D52N_E55A y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_D52N_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E55A_D102V y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E55A_D102V y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_D102V y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_D102V y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_D102V;

(fff) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E55A; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E55A;

(ggg) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E30D_D52N y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E30D_D52N y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E30D_D102V y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E30D_D102V y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E30D y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E30D y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al

menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E30D;

(jjj) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E30D_E55A; y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E30D_E55A y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E100fF_D102V y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E100fF_D102V y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E55A_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E55A_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_D52N_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_D52N_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E100fF y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E100fF; o

(ooo) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-068767_E30D_E100fF. y una VL que comprende las CDR VL de P1-068767_E30D_E100fF y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a la VH y VL de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una VH que comprende las CDR de VH de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y una VL que comprende las CDR de VL CDR de P1-061029_F100fE_V102D y las

secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a la VH y VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una VH que comprende las CDR de VH de la VH de P1-061029_F100fE y una VL que comprende las CDR de VL CDR de P1-061029_F100fE y las secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a la VH y VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(rrr) una VH que comprende las CDR de VH de la VH de P1-061029_V102D y una VL que comprende las CDR de VL CDR de P1-061029_V102D y las secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a la VH y VL de P1-061029_V102D;

(sss) una VH que comprende las CDR de VH de la VH de P1-061029_Y32E y una VL que comprende las CDR de VL CDR de P1-061029_V102D y las secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a la VH y VL de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una VH que comprende las CDR de VH de la VH de P1-061029_Y32E_F100fE y una VL que comprende las CDR de VL CDR de P1-061029_V102D y las secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a la VH y VL de P1-061029_Y32E_F100fE;

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En algunas de las realizaciones anteriores, la VH y/o VL pueden diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (ttt) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustittuciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la VH puede comprender una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 y un VL que consiste en el VL de P1-061029;

(b) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y un VL que consiste en el VL de P1-061015;

(c) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y un VL que consiste en el VL de P1-068757;

(d) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y un VL que consiste en el VL de P1-068759;

(e) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y un VL que consiste en el VL de P1-068761;

(f) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y un VL que consiste en el VL de P1-068763;

(g) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y un VL que consiste en el VL de P1-068765;

(h) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y un VL que consiste en el VL de P1-068767;

(i) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y un VL que consiste en el VL de P1-068769;

(j) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y un VL que consiste en el VL de P1-068771;

(k) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y un VL que consiste en el VL de P1-068773;

(l) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y un VL que consiste en el VL de P1-068775;

(m) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y un VL que consiste en el VL de P1-069059;

(n) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y un VL que consiste en el VL de P1-069061;

(o) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y un VL que consiste en el VL de P1-069063;

(p) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y un VL que consiste en el VL de P1-069065;

(q) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y un VL que consiste en el VL de P1-069067;

(r) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y un VL que consiste en el VL de P1-069069;

(s) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y un VL que consiste en el VL de P1-069071;

(t) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y un VL que

consiste en el VL de P1-069073;

(u) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y un VL que consiste en el VL de P1-069075;

(v) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y un VL que consiste en el VL de P1-069077;

(w) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y un VL que consiste en el VL de P1-068736;

(x) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y un VL que consiste en el VL de P1-068738;

(y) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y un VL que consiste en el VL de P1-068740;

(z) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y un VL que consiste en el VL de P1-068742;

(aa) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y un VL que consiste en el VL de P1-068744;

(bb) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068746 y un VL que consiste en el VL de P1-068746;

(cc) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y un VL que consiste en el VL de P1-068748;

(dd) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y un VL que consiste en el VL de P1-068750;

(ee) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y un VL que consiste en el VL de P1-068752;

(ff) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y un VL que consiste en el VL de P1-068754;

(gg) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E55A;

(hh) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_H100G;

(ii) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N;

(jj) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A_E56N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D;

(ll) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_H100G y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_H100G y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E56N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E100fF;

(qq) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E55A_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_H100G_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E56N_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y;

(vv) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-

068761_E32Y_E56N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E30D_E32Y y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_H100G y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068761_E32Y_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_D102V y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N;

(ccc) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_D102V y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D102V y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D102V;

(fff) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A;

(ggg) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_D52N y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_D102V y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D;

(jjj) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_E55A y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E100fF_D102V y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E55A_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_D52N_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E100fF;

(ooo) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068767_E30D_E100fF y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_F100fE;

(rrr) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_V102D;

(sss) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_Y32E_F100fE y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-061029_Y32E_F100fE;

opcionalmente donde la VH de cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-VISTA comprende cualquiera de las regiones variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descriptos en la presente, tales como:

(1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH de:

(2) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de:

(3) la VH de:

(4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VL de:

(5) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 VL de:

(6) la VH y las VL de:

o

(7) la VL y la VH, con la excepción de una o ambas de las sustituciones K16R y T84A en la VH (en el caso de P1-061029 o su progenie) de:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE; y el Ab anti-VISTA también es un anticuerpo IgG, tal como anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 o una forma modificada de estos como se describe en la sección a continuación. En algunas realizaciones, la región constante tiene una función efectora, y en algunas realizaciones, la región constante no tiene función efectora. En ciertas realizaciones, la región constante es la de IgG1.3.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-VISTA comprende cualquiera de las regiones variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descriptos en la presente, tales como:

(1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH de:

(2) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de:

(3) la VH de:

(4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VL de:

(5) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 VL de:

(6) la VH y las VL de:

o

(7) la VL y la VH, con la excepción de una o ambas de las sustituciones K16R y T84A en la VH (en el caso de P1-061029 y su progenie) de:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE,

y además comprende una o varias de las siguientes características:

- se une específicamente a hVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de SEQ ID NO: 2, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a hVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de SEQ ID NO: 2, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- se une específicamente a cynoVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a cynoVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- tiene unión reducida a hVISTA-ECD con una sustitucióin en uno o varios de los siguentes aminoácidos: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97,

L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 en relación con hVISTA ECD con SEQ ID NO: 2;

- compite en forma cruzada por la unión a hVISTA con P1-061029, P1-068761, P1-068767 y/o P1-061015;
- inhibe la unión de hVISTA a células T humanas que expresan VISTA (por ejemplo, células T activadas o sin tratar a pH ácidopor ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- inhibe la unión de hVISTA a PSGL-1 a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con la SEQ ID NO: 1 y tirosinas PSGL-1 Y46 y Y48), donde PSGL-1 tiene o no tiene Lewis X sialilo, y donde las tirosinas son preferentemente sulfotirosinas;
- un tiempo medio de residencia (MRT) de al menos 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 o 700 horas (por ejemplo, al menos 350 horas) en monos cinomolgos, medidos, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- estimula la activación de células T mediante, por ejemplo, la proliferación de células T; mejora la producción de IFN-γ a partir de células T; y/o estimula la señalización de NF-kB mediada por el receptor de células T;
- inhibe la adhesión célula:célula mediada por VISTA;
- se une específicamente a hVISTA en muestras de células de tumor humano o en muestras de tejido humano inflamado que expresa VISTA;
- contacta hVISTA a través de uno o más (por ejemplo, al menos 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 o todos) residuos de contacto energéticamente importantes Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 o S124, según se determina, por ejemplo, mediante el uso de la visualización de la superficie de levadura y ensayo de NGS descrito en el Ejemplo 15; y donde la numeración es la de hVISTA maduro;
- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 566); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 567); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 568) de hVISTA con la SEQ ID NO: 1, y opcionalmente donde la unión es más fuerte a la Región 2, como se determina mediante MS-HDX como se describe en el Ejemplo 21;
- se une a la extensión de lámina β rica en histidinas de hVISTA, según se determina, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contacta H121, H122 y/o H123 de hVISTA maduro (distancia de 4.0 Ångström (Å) o menos), tal como a través de enlaces de hidrógeno, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contacta hVISTA a través de al menos uno o más de ácido glutámico, ácido aspártico o

residuo de histidina que se ubica en la CDR1, CDR2 o CDR3 de VH; y

cualquier característica adicional que se establece en las reivindicaciones y/o en los Ejemplos.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, como se muestra a continuación en la Tabla de Secuencias, que comprende una región constante de cadena pesada IgG1.3, tal como P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, P1-061029_F100fE.IgG1.3, P1-061029_V102D.IgG1.3, P1-061029_Y32E.IgG1.3 o P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, opcionalmente donde la VH comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente, que comprenden una región constante de cadena pesada IgG1.3, y la secuencia de secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cualquiera de los Ab anti-hVISTA proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab anti-hVISTA comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-

061029 o P1-061015 o su progenie, que comprenden una región constante HC IgG1.3, tal como P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, P1-061029_F100fE.IgG1.3, P1-061029_V102D.IgG1.3, P1-061029_Y32E.IgG1.3 o P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, opcionalmente donde la VH comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029 o P1-061015.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-061015.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068757.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068759.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068763.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068765.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068769.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068771.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068773.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068775.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069059.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069061.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069063.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de

cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069065.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069067.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069069.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069071.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069073.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069075.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069077.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068736.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068738.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068740.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068742.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena

pesada de P1-068744.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068746.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068748.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068750.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068752.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068754.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la

secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de

P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF;

(ooo) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_F100fE_V102D y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_F100fE.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_V102D.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_Y32E.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE;

opcionalmente donde la VH de cualquier de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR HC de la HC de P1-061029 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de P1-061029 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029.IgG1.3, respectivamente;

(b) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-061015 y una LC que comprende las CDR LC de P1-061015 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061015.IgG1.3, respectivamente;

(c) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068757 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068757 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068757.IgG1.3, respectivamente;

(d) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068759 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068759 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068759.IgG1.3, respectivamente;

(e) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761.IgG1.3, respectivamente;

(f) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068763 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068763 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068763.IgG1.3, respectivamente;

(g) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068765 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068765 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-

068765.IgG1.3, respectivamente;

(h) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767.IgG1.3, respectivamente;

(i) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068769 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068769 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068769.IgG1.3, respectivamente;

(j) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068771 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068771 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068771.IgG1.3, respectivamente;

(k) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068773 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068773 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068773.IgG1.3, respectivamente;

(l) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068775 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068775 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068775.IgG1.3, respectivamente;

(m) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069059 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069059 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069059.IgG1.3, respectivamente;

(n) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069061 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069061 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-

069061.IgG1.3, respectivamente;

(o) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069063 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069063 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069063.IgG1.3, respectivamente;

(p) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069065 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069065 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069065.IgG1.3, respectivamente;

(q) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069067 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069067 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069067.IgG1.3, respectivamente;

(r) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069069 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069069 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069069.IgG1.3, respectivamente;

(s) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069071 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069071 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069071.IgG1.3, respectivamente;

(t) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069073 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069073 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069073.IgG1.3, respectivamente;

(u) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069075 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069075 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-

069075.IgG1.3, respectivamente;

(v) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-069077 y una LC que comprende las CDR LC de P1-069077 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-069077.IgG1.3, respectivamente;

(w) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068736 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068736 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068736.IgG1.3, respectivamente;

(x) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068738 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068738 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068738.IgG1.3, respectivamente;

(y) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068740 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068740 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068740.IgG1.3, respectivamente;

(z) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068742 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068742 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068742.IgG1.3, respectivamente;

(aa) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068744 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068744 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068744.IgG1.3, respectivamente;

(bb) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068746 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068746 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de

P1-068746.IgG1.3, respectivamente;

(cc) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068748 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068748 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068748.IgG1.3, respectivamente;

(dd) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068750 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068750 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068750.IgG1.3, respectivamente;

(ee) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068752 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068752 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068752.IgG1.3, respectivamente;

(ff) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068754 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068754 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068754.IgG1.3, respectivamente;

(gg) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E55A.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(hh) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_H100G y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_H100G.IgG1.3, respectivamente;

(ii) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E56N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y

LC de P1-068761_E56N.IgG1.3, respectivamente;

(jj) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E55A_E56N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, respectivamente;

(kk) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D.IgG1.3, respectivamente;

(ll) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(mm) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E56N_H100G y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, respectivamente;

(nn) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D_H100G y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, respectivamente;

(oo) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D_E56N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, respectivamente;

(pp) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las

HC y LC de P1-068761_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(qq) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E55A_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(rr) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_H100G_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(ss) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(tt) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E56N_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(uu) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E32Y.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E32Y y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E32Y.IgG1.3, respectivamente;

(vv) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E32Y_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(ww) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3 y

una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E32Y_E56N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, respectivamente;

(xx) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E30D_E32Y y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, respectivamente;

(yy) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E32Y_H100G y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, respectivamente;

(zz) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068761_E32Y_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(aaa) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_D52N_D102V y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(bbb) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_D52N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_D52N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_D52N.IgG1.3, respectivamente;

(ccc) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_D52N_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(ddd) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3,

y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E55A_D102V y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(eee) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_D102V.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_D102V y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(fff) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E55A.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(ggg) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E30D_D52N y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, respectivamente;

(hhh) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E30D_D102V y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(iii) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E30D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E30D y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E30D.IgG1.3, respectivamente;

(jjj) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E30D_E55A y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(kkk) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-

068767_E100fF_D102V.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E100fF_D102V y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(lll) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E55A_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(mmm) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_D52N_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(nnn) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(ooo) una HC que comprende las CDR HC de la HC de P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR LC de P1-068767_E30D_E100fF y secuencias de aminoácidos HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(ppp) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061029_F100fE_V102D y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, respectivamente;

(qqq) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029_F100fE.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061029_F100fE y las secuencias de

aminoácidos de HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029_F100fE, respectivamente;

(rrr) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029_V102D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061029_V102D.IgG1.3 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029_V102D.IgG1.3, respectivamente;

(sss) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029_Y32E.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061029_Y32E.IgG1.3 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029_Y32E.IgG1.3, respectivamente;

(ttt) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idénticas a las HC y LC de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, respectivamente;

En algunas de las realizaciones anteriores, la HC y/o LC puede diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (ttt) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como, 1, 2, 3, 4, o 5 sustituciones conservadoras. En algunas realizaciones, por ejemplo, la HC de P1-061029 o una de su progenie puede comprender una o ambas de las sustituciones K16R y T84A en la región de VH de la HC (P1-061015 y su progenie ya tienen una R y una A en esas posiciones, respectivamente).

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender:

(a) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-061029.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029;

(b) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-061015.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068757.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de

cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068759.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068763.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068765.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068769.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068771.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068773.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068775.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069059.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069061.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de

P1-069063.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069065.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069067.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069069.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069071.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069073.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069075.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-069077.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068736 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068738.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068740.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068742.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068744.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068746.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068748.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068750.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068752.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068754 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de

aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena

pesada de P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3; y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF o

(ooo) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF.

(ppp) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_F100fE.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de P1-061029_F100fE.IgG1.3;

(rrr) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_V102D.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de P1-061029_V102D.IgG1.3;

(sss) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_Y32E.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de P1-061029_Y32E.IgG1.3; o

(ttt) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3;

donde, opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En algunas realizaciones, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprende:

una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de (a) a (ttt) que se enumeró anteriormente seguidade un residuo de Lys; y

una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de (a) a (ttt) que se enumeró anteriormente;

donde las secuencias de aminoácidos de cadena ligera y cadena pesada se seleccionan de las mismas especies de anticuerpos de entre (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente.

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos VH de las especies de anticuerpos de la presente, pero en vez de una región constante de cadena pesada IgG1.3, como se proporciona en las secuencias HC en la Tabla de Secuencias en la presente (y véase SEQ ID NO: 163), el anticuerpo puede comprender una secuencia de región constante de cadena pesada diferente, tal como una región constante de IgG1 humana de tipo salvaje tal como el alotipo de IgG1 humano f (IgG1f) (SEQ ID NO: 182), o una región constante IgG1 humana modificada tal como IgG1.1f (SEQ ID NO: 183), o una región constante IgG1 humana modificada como IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184). Por consiguiente, las realizaciones de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera

que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF o

(ooo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que comprende (i) the amino acid sequence of the VH of P1-061029_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que comprende (i) the amino acid sequence of the VH of P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que comprende (i) the amino acid sequence of the VH of P1-061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE,

opcionalmente donde la VH en cualquier de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En algunas realizaciones, la LC puede ser como se especifica en (a) a (ttt) anteriormente, pero la HC puede diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (ttt) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como, 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras. En algunas realizaciones, por ejemplo, la HC de of P1-061029 o una se su progenie puede comprender una o ambas de las sustituciones K16R y T84A en la región VH de la HC (P1-061015 y su progenie ya tienen una R en la posición 16 de VH y una A en la posición 84 de VH).

Ciertas realizaciones de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y

(ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-

068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-

068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF;

(ooo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia aminoácidos de la VH of P1-061029_F100fE y (ii) la secuencia aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia aminoácidos de la VH of P1-061029_V102D y (ii) la secuencia aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia aminoácidos de la P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera ligera de P1-061029_Y32E_F100fE,

donde el aminoácido C-terminal de VH y el aminoácido N-terminal de SEQ ID NO: 182 forman un enlace peptídico; y

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las

sustituciones K16R y T84A.

En algunas realizaciones, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprenden:

una cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (ttt) enumerada anteriormente, (ii) la SEQ ID NO: 182, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido de extremo C de la VH y el aminoácido de extremo N de la SEQ ID NO: 182 forma un enlace peptídico y donde el aminoácido de extremo C de la SEQ ID NO: 182 se une al extremo N de la Lys; y

una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de (a) a (ttt) que se enumeró anteriormente;

donde la VH y las secuencias de aminoácidos de cadena ligera se eligen de las mismas especies de anticuerpos entre (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente.

Ciertas realizaciones de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y

(ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena

ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF o

(ooo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-

061029_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE;

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

Ciertas realizaciones de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera

que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF;

(ooo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE;

donde el aminoácido de extremo C de la VH y el aminoácido de extremo N de la SEQ ID NO: 183 forman un enlace peptídico; y

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En algunas realizaciones, la divulgación contempla mAb anti-VISTA que comprenden:

una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (ttt) que se enumeró anteriormente, (ii) SEQ ID NO: 183, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido de extremo C de la VH y el aminoácido de extremo C de la SEQ ID NO: 183 forman un enlace peptídico y donde el aminoácido de extremo C de la SEQ ID NO: 183 se une al extremo N de la Lys; y

una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente;

donde la VH y las secuencias de aminoácidos de cadena ligera se seleccionan de las mismas especies de anticuerpos de entre (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente.

Realizaciones adicionales de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y

(ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una

cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una

cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-

068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF o

(ooo) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-

061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE; y

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

Aún más realizaciones adicionales de esta divulgación incluyen Ab anti-VISTA que comprenden:

(a) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 (SEQ ID NO: 67) y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061015;

(c) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068757;

(d) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068759;

(e) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761;

(f) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068763;

(g) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068765;

(h) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767;

(i) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en

la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068769;

(j) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068771;

(k) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068773;

(l) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068775 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068775;

(m) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069059 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069059;

(n) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069061 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069061;

(o) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069063 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069063;

(p) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069065 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069065;

(q) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069067 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069067;

(r) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069069 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069069;

(s) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069071 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069071;

(t) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069073 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069073;

(u) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069075 y

(ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069075;

(v) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-069077 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-069077;

(w) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068736 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068736;

(x) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068738 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068738;

(y) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068740 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068740;

(z) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068742 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068742;

(aa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068744 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068744;

(bb) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-068746 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068746;

(cc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068748;

(dd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068750;

(ee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068752;

(ff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068754;

(gg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A;

(hh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G;

(ii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N;

(jj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E56N;

(kk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D;

(ll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E55A;

(mm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_H100G;

(nn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_H100G;

(oo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E56N;

(pp) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E100fF;

(qq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_H100G_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E56N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y;

(vv) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E56N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E30D_E32Y y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_H100G y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761_E32Y_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N;

(ccc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_D102V;

(eee) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D102V;

(fff) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A;

(ggg) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D52N y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_D102V;

(iii) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera

que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D;

(jjj) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E55A y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF_D102V y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E55A_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_D52N_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF o

(ooo) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767_E30D_E100fF y (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_F100fE_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_F100fE;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029_V102D y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-

061029_V102D;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E; o

(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH of P1-061029_Y32E_F100fE y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-061029_Y32E_F100fE;

donde el aminoácido C-terminal de VH y el aminoácido N-terminal de SEQ ID NO: 184 forman un enlace peptídico; y

opcionalmente donde la VH en cualquiera de (a) a (ttt) comprende una o ambas de las sustituciones K16R y T84A.

En algunas realizaciones, la divulgación contempla mAb anti-VISTA que comprenden:

una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente, (ii) SEQ ID NO: 184, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido de extremo C de la VH y el aminoácido de extremo C de la SEQ ID NO: 184 forman un enlace peptídico y donde el aminoácido de extremo C de la SEQ ID NO: 184 se une al extremo N de la Lys; y

una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente;

donde la VH y las secuencias de aminoácidos de cadena ligera se seleccionan de las mismas especies de anticuerpos de entre (a) a (ttt) que se enumeraron anteriormente.

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos VH que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la de P1-061029, donde el anticuerpo comprende una CDR1, CDR2, y/o CDR3 VH de P1-061029 en la cual al menos un residuo ha sido sustituido con un D, un E, o una H. En algunas realizaciones, cada CDR1, CDR2 y CDR3 VH de P1-061029 contiene uno, dos o tres residuos sustituidos con un D, un E, o una H. En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos VH que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la de P1-061029, donde el anticuerpo comprende una CDR1 VH que comprende uno o dos residuos D o

E en las posiciones de los aminoácidos 4, 5 o 7 de CDR1, y/o comprende una CDR2 VH con uno, dos o tres residuos D, E o H en las posiciones 3, 5, 6 o 7 de CDR2, y/o una CDR3 VH con uno, dos o tres residuos D, E o H en las posiciones 6, 12 o 14 de CDR 3. (Ver la Tabla 5 a continuación para encontrar ejemplos de anticuerpos incluidos en estas realizaciones). En dichos casos, la región variable de cadena ligera puede comprender las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tal como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE y/o la región variable de cadena ligera puede ser al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la de P1-061029 o P1-061015 o su progenie, tal como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF,

P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE.

En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos VH que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la de P1-061015, donde el anticuerpo comprende una CDR1, CDR2 y/o CDR3 VH de P1-061015 en la cual al menos un residuo ha sido sustituido con un D, un E, o una H. En algunas realizaciones, cada CDR1, CDR2 y CDR3 VH de P1-061015 contiene uno, dos o tres residuos sustituidos con un D, un E, o una H. En algunas realizaciones, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos VH que es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la de P1-061015, donde el anticuerpo comprende una CDR1 VH que comprende uno o dos residuos D, E o H en las posiciones de los aminoácidos 6, 7, 8 y 9 de CDR1, y/o comprende una CDR2 VH con uno, dos o tres residuos D, E o H en las posiciones 1, 2, 4 u 8-11 de CDR2, y/o una CDR3 VH con uno, dos o tres residuos D, E o H en las posiciones 2, 3, 6, 7 o 12 de CDR 3. (Ver la Tabla 6 a continuación para obtener ejemplos de los anticuerpos incluidos en estas realizaciones). En tales casos, la región variable de cadena ligera puede comprender las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de P1-061029 o P1-061015 o de su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE, y/o la región variable de cadena ligera puede ser al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%,

al menos 98% o al menos 99% idéntica a la de P1-061029 o P1-061015 o de su progenie, tales como P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E o P1-061029_Y32E_F100fE.

En algunas realizaciones, dicha progenie modificada anti-hVISTA P1-061029 o P1-061015 posee una o varias de las siguientes características:

- se une específicamente a hVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de SEQ ID NO: 2, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a hVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de SEQ ID NO: 2, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- se une específicamente a cyno VISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a cynoVISTA, por ejemplo, la región rica en histidina del ECD, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- tiene unión reducida a hVISTA-ECD con una sustitucióin en uno o varios de los siguentes aminoácidos: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 en relación con hVISTA ECD con SEQ ID NO: 2;
- compite en forma cruzada por la unión a hVISTA con P1-061029, P1-068761, P1-068767 y/o P1-061015;
- inhibe la unión de hVISTA a células T humanas que expresan VISTA (por ejemplo, células

T activadas o sin tratar) a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;

- inhibe la unión de hVISTA a PSGL-1 a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con la SEQ ID NO: 1 y tirosinas PSGL-1 Y46 y Y48), donde PSGL-1 tiene o no tiene Lewis X sialilo, y donde las tirosinas son preferentemente sulfotirosinas;
- un tiempo medio de residencia (MRT) de al menos 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 o 700 horas (por ejemplo, al menos 350 horas) en monos cinomolgos, medidos, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- estimula la activación de células T mediante, por ejemplo, la mejora de la proliferación de células T; mejora la producción de IFN-γ a partir de células T; y/o estimula la señalización de NF-kB mediada por el receptor de células T;
- inhibe la adesión célula:célula mediada por VISTA;
- se une específicamente a hVISTA en muestras de células de tumor humano o en muestras de tejido humano inflamado que expresa VISTA;
- contacta hVISTA a través de uno o más (por ejemplo, al menos 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 o todos) residuos de contacto energéticamente importantes Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 o S124, según se determina, por ejemplo, mediante el uso de la visualización de la superficie de levadura y ensayo de NGS descrito en el Ejemplo 15; y donde la numeración es la de hVISTA maduro;
- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 566); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 567); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 568) de hVISTA con la SEQ ID NO: 1, y opcionalmente donde la unión es más fuerte a la Región 2, como se determina mediante MS-HDX como se describe en el Ejemplo 21;
- se une a la extensión de lámina β rica en histidinas de hVISTA, según se determina, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contacta H121, H122 y/o H123 de hVISTA maduro (distancia de 4.0 Ångströms (Å) o menos), tal como a través de enlaces de hidrógeno, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contacta hVISTA a través de al menos uno o más de ácido glutámico, ácido aspártico o residuo de histidina que se ubica en la CDR1, CDR2 o CDR3 de VH; y cualquier característica adicional que se establece en las reivindicaciones y/o en los Ejemplos.

Regiones constantes de anticuerpos ejemplares

En algunas realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente comprende una o más regiones constantes humanas. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada

humana es de un isotipo seleccionado entre IgA, IgG e IgD. En algunas realizaciones, la región constante de cadena ligera humana es de un isotipo seleccionado entre κ y λ. En algunas realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente comprende una región constante de IgG humana tal como una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas de tales realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente comprende una mutación S241P en la región constante de IgG4 humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente comprende una región constante de IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

La elección de la región constante de cadena pesada puede determinar si un anticuerpo tendrá o no una función efectora *in vivo*. Dicha función efectora, en algunas realizaciones, incluye citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), y puede resultar en la eliminación de la célula a la cual se une el anticuerpo. En algunos métodos de tratamiento, inclusive en métodos para tratar algunos cánceres, se puede buscar la eliminación de células, por ejemplo, cuando el anticuerpo se une a células que sostienen el mantenimiento o el crecimiento del tumor. Los ejemplos de células que pueden sostener el mantenimiento o el crecimiento de un tumor incluyen, entre otras, las propias células tumorales, células que colaboran en el reclutamiento de vasculatura para el tumor, y células que porporcionan ligandos, factores de crecimiento, o contrarreceptores que sostienen o promueven el crecimiento tumoral o la supervivencia tumoral. En algunas realizaciones, cuando la función efectora es deseable, se selecciona un anticuerpo que comprende una cadena pesada de IgG1 humana o una cadena pesada de IgG3 humana.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente se altera para aumentar o disminuir el grado en que el anticuerpo es glicosilado. La adición o deleción de sitios de glicosilación en un anticuerpo se puede lograr fácilmente alterando la secuencia de aminoácidos de forma tal que se crean o se eliminan uno o varios sitios de glicosilación.

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a esta. Los anticuerpos nativos producidos por células de mamíferos generalmente comprenden un oligosacárido biantenario, ramificado, que generalmente está unido por un enlace N a Asn297 o al dominio CH2 de la región Fc. Ver, por ejemplo, Wright *et al. TIBTECH* 15:26-32 (1997). El oligosacárido puede incluir varios carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetil glucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, como así también una fucosa unida a un GlcNAc en el "tallo" de la estructura del oligosacárido biantenario. En algunas realizaciones, se pueden realizar modificaciones al oligosacárido en un anticuerpo de la invención para crear anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo puede estar afucosilado, por ejemplo, mediante la mutación de residuos tales como Asn297 que normalmente

están glicosilados con glicosilaciones que contienen fucosa, o por otros medios. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente pueden comprender una región constante de IgG1 humana afucosilada.

A los anticuerpos se les proporcionan además oligosacáridos bisectados, por ejemplo, en los que un oligosacárido biantenario unido a la región Fc del anticuerpo es bisectado mediante GlcNAc. Tales anticuerpos pueden tener fucosilación reducida y/o función ADCC mejorada. Los ejemplos de tales anticuerpos están descriptos, por ejemplo, en WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al*.); Patente de los EE.UU. Nro. 6.602.684 (Umana *et al*.); y US 2005/0123546 (Umana *et al*.). También se proporcionan anticuerpos con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Dichos anticuerpos pueden tener una función CDC mejorada. Tales anticuerpos están descriptos, por ejemplo, en WO 1997/30087 (Patel *et al*.); WO 1998/58964 (Raju, S.) y WO 1999/22764 (Raju, S.).

También se proporcionan anticuerpos con extensiones líder amino-terminal. Por ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia líder amino-terminal están presentes en el amino-terminal de una cualquiera o varias de las cadenas pesadas o ligeras del anticuerpo. Un ejemplo de extensión líder amino-terminal comprende o consiste en tres residuos de aminoácidos, VHS, presentes en una o ambas cadenas ligeras de un anticuerpo.

Se puede ensayar, *in vivo* o en suero, la semivida de polipéptidos humanos con alta afinidad de unión a FcRn, por ejemplo, en ratones transgénicos, en seres humanos o en primates no humanos a los cuales se les administran los polipéptidos con una región Fc variante. Ver también, por ejemplo, Petkova *et al*. *International Immunology* 18(12):1759-1769 (2006).

En algunas realizaciones de la invención, un anticuerpo afucosilado interviene en la ADCC en presencia de células efectoras humanas más eficazmente que un anticuerpo original que comprende fucosa. Generalmente, la actividad ADCC se puede determinar usando el ensayo ADCC *in vitro* como se divulga en la presente, pero están contemplados otros ensayos o métodos para determinar la actividad ADCC, por ejemplo, en un modelo animal, etc.

En ciertas realizaciones, la región Fc es alterada al reemplazar al menos un residuo aminoácido con un residuo aminoácido diferente para alterar la(s) funcion(es) efectora(s) del anticuerpo. Por ejemplo, uno o más aminoácidos seleccionados entre los residuos aminoácidos 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 y/o 331 se pueden reemplazar con un residuo aminoácido diferente de modo tal que el anticuerpo tiene una afinidad alterada por un ligando efector pero retiene la capacidad de unión a antígeno del anticuerpo original. El ligando efector al cual se le alteró la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Esta estrategia se describe con mayor detalle en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.624.821 y 5.648.260, ambas de Winter *et al.*

En algunos ejemplos, uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 329, 331 y 322 se pueden reemplazar con un residuo de aminoácido diferente tal que el anticuerpo tenga unión modificada a C1q y/o complemento dependiente de citotoxicidad (CDC) reducido o eliminado. Esta estrategia se describe con mayor detalle en la Patente de los EE.UU. Nro. 6.194.551 de Idusogie *et al.*

En algunos ejemplos, se alteran uno o varios residuos de aminoácidos dentro de las posiciones de aminoácidos 231 y 239 para alterar así la capacidad de anticuerpo de fijarse al complemento. Esta estrategia se describe con mayor detalle en la Publicación PCT WO 94/29351 de Bodmer *et al.* En algunos ejemplos, la región Fc se puede modificar para disminuir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o disminuir la afinidad por un receptor Fcγ al modificar uno o más aminoácidos en las siguientes posiciones: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241 , 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 o 439. Las sustituciones ejemplares incluyen 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D y 332E. Las variantes ejemplares incluyen 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T y 267E/268F7324T. Otras modificaciones Fc que se pueden realizar a los Fc son aquellas que reducen o extirpan la unión a FcγR y/o proteínas del complemento, con lo cual se reducen o extirpan las funciones efectoras mediadas por Fc tales como ADCC, ADCP y CDC. Las modificaciones ejemplares incluyen, entre otras, sustituciones, inserciones y deleciones en las posiciones 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 y/o 331 (por ejemplo, 330 y 331), donde la numeración es acorde con el Índice de la UE. Las sustituciones ejemplares incluyen, entre otras, 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S y 331S (por ejemplo, 330S y 331S), donde la numeración es acorde con el Índice de la UE. Un Fc variante puede comprender 236R/328R. Otras modificaciones para reducir FcγR e interacciones con el complemento incluyen las sustituciones 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331 S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P y 234V, como así también la remoción de glicosilación en la posición 297 por medios mutacionales o enzimáticos o por la producción en organismos tales como bacterias que no glucosinan proteínas. Estas y otras modificaciones se comentan en Strohl 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691. Por ejemplo, la región constante de Fc de IgG1.3 contiene sustituciones L234A, L235E y G237A. La IgG1fa.P238K (o IgG1.P238K) contiene una sustitución P238K. La IgG1.1f comprende sustituciones L234A, L235E, G237A, A330S e P331S.

También se pueden utilizar variantes de Fc que aumentan la afinidad por un receptor

inhibidor FcγRIIb. Tales variantes pueden proporcionar una proteína de fusión Fc con actividades inmunomoduladoras relacionadas con células FcγRIIb, inclusive, por ejemplo, células B y monocitos. En una realización, las variantes de Fc proporcionan selectividad aumentada a FcγRIIb en relación con uno o más receptores activadores. Las modificaciones para alterar la unión a FcγRIIb incluyen una o más modificaciones en una posición seleccionada del grupo que consiste en 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328, 330, 331 y 332, de acuerdo con el Índex de la UE. Las sustituciones ejemplares para aumentar la afinidad por FcγRllb incluyen, entre otras, 234A, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235E, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237A, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y, 330S, 331S y 332E. Las sustituciones ejemplares incluyen 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W y 328Y. Otras variantes de Fc para aumentar la unión a FcγRIIb incluyen 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E y 267E/328F.

Otras modificaciones para aumentar FcγR e interacciones con el complemento incluyen, entre otras, las sustituciones 298 A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051 y 396L. Estas y otras modificaciones se comentan en Strohl 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691. Las modificaciones Fc que aumentan la unión a un receptor Fcγ incluyen modificaciones de aminoácidos en una cualquiera o varias de las posiciones de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439 de la región Fc, donde la numeración de los residuos en la región Fc es la del Índex de la UE como en la Publicación de Patente Nro. WO 00/42072.

Opcionalmente, la región Fc puede comprender un residuo aminoácido de origen no natural en posiciones adicionales y/o alternativas conocidas por el experto en la técnica (ver, por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.624.821; 6.277.375; 6.737.056; 6.194.551; 7.317.091; 8.101.720; Publicaciones de Patente PCX [sic] WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 y WO 06/0201 14).

Las afinidades y propiedades de unión de una región Fc para su ligando se pueden determinar por una variedad de métodos de ensayo *in vitro* (ensayos bioquímicos o con base inmunológica) conocidos en la técnica, inclusive, entre otros, métodos de equilibrio (por ejemplo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), o radioinmunoensayo (RIA)), o mediante cinética (por ejemplo, análisis BIACORE), y otros métodos tales como ensayos de unión indirecta, ensayos de inhibición competitiva, transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), electroforesis en gel y cromatografía (por ejemplo, filtración con gel). Estos y otros

métodos pueden utilizar una etiqueta en uno o varios de los componentes que se examinan y/o emplear una variedad de métodos de detección que incluyen, entre otros, etiquetas cromogénicas, fluorescentes, luminiscentes o isotópicas. Una descripción detallada de las afinidades de unión y la cinética se puede encontrar en Paul, W. E., ed., Fundamental immunology, 4ta. Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), que pone el foco en interacciones anticuerpo-inmunógeno.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es modificado para aumentar su semivida biológica. Diferentes enfoques son posibles. Por ejemplo, esto se puede hacer aumentando la afinidad de unión de la región Fc para FcRn, por ejemplo, se pueden mutar uno o varios de los siguientes residuos: 252, 254, 256, 433, 435, 436, según se describe en la Pat. de los EE.UU. Nro. 6.277.375. Las sustituciones ejemplares específicas incluyen una o varias de las siguientes: T252L, T254S y/o T256F. Alternativamente, para aumentar la semivida biológica, el anticuerpo se puede modificar dentro de la región CH1 o CL para contener un epítopo de unión a receptor salvaje tomado de dos bucles de un dominio CH2 de una región Fc de una IgG, según se describe en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.869.046 y 6.121.022 por Presta *et al.* Otras variantes ejemplares que aumentan la unión a FcRn y/o mejoran las propiedades farmacocinéticas incluyen sustituciones en las posiciones 259, 308, 428 y 434, inclusive, por ejemplo, 2591, 308F, 428L, 428M, 434S, 4341 1. 434F, 434Y y 434X1. Otras variantes que aumentan la unión de Fc a FcRn incluyen: 250E, 250Q, 428 L, 428F, 250Q/428L (Hinton *et al.* 2004, *J. Biol. Chem*. 279(8): 6213-6216, Hinton *et al.* 2006 *Journal of Immunology* 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 31 1A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields *et al*., *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 31 1 S, 433R, 433S, 4331, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall Acqua *et al. Journal of Immunology*, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua *et al.*, 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281:23514-23524). Otras modificaciones para modular la unión a FcRn se describen en Yeung *et al.*, 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671.

En ciertas realizaciones, se pueden usar isotipos híbridos de IgG con características biológicas particulares. Por ejemplo, una variante híbrida IgG1/IgG3 se puede construir al sustituir las posiciones IgG1 en la región CH2 y/o CH3 con los aminoácidos de IgG3 en las posiciones donde difieren los dos isotipos. Así, se puede construir un anticuerpo híbrido de variante de IgG que comprende una o más sustituciones, por ejemplo, 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 4221, 435R y 436F. En algunas realizaciones descriptas en la presente, una variante híbrida IgG1/IgG2 se puede construir al sustituir las posiciones IgG2 en la región CH2 y/o CH3 con los aminoácidos de IgG1 en las posiciones donde difieren los dos isotipos. Por lo tanto, se puede construir un anticuerpo híbrido de variante de IgG que comprende una o varias sustituciones, por ejemplo, una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: 233E, 234L,

235L, -236G (se refiere a la inserción de una glicina en la posición 236) y 327A.

Asimismo, los sitios de unión en IgG1 humana para FcγRI, FcγRII, FcγRIII y FcRn han sido mapeados y se han descripto variantes con unión mejorada (ver Shields, R.L. *et al.* (2001) *J. Biol. Chem*. 276:6591-6604). Se mostró que mutaciones específicas en las posiciones 256, 290, 298, 333, 334 y 339 mejoran la unión a FcγRIII. Adicionalmente, se mostró que los siguientes mutantes de combinación mejoran la unión a FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A y S298A/E333A/K334A, de los que se mostró que exhiben unión mejorada a FcγRIIIa y actividad ADCC (Shields *et al.*, 2001). Se han identificado otras variantes de IgG1 con unión fuertemente aumentada a FcγRIIIa, inclusive variantes con mutaciones S239D/I332E y S239D/I332E/A330L que mostraron el mayor aumento en la afinidad para FcγRIIIa, una disminución en la unión a FcγRIIb, y potente actividad citotóxica en monos cinomolgos (Lazar *et al.*, 2006). La introducción de mutaciones triples en anticuerpos tales como alemtuzumab (específico para CD52), trastuzumab (específico para HER2/neu), rituximab (específico para CD-20), y cetuximab (específico para EGFR) se tradujeron en actividad ADCC *in vitro* aumentada en gran medida, y la variante S239D/I332E mostró una capacidad aumentada para agotar células B en monos (Lazar *et al.*, 2006). Además, se han identificado mutantes de IgG1 que contienen las mutaciones L235V, F243L, R292P, Y300L y P396L que exhibieron unión mejorada a FcγRIIIa y concomitantemente actividad ADCC mejorada, en ratones transgénicos que expresan FcγRIIIa humana en modelos de tumores malignos de células B y cáncer de mama (Stavenhagen *et al.*, 2007; Nordstrom *et al.*, 2011). Otros mutantes de Fc que se pueden usar incluyen: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/ P396L y M428L/N434S.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que tiene unión reducida a FcγRs. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, con unión reducida a FcγR comprende las tres sustituciones de aminoácidos a continuación: L234A, L235E y G237A.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que tiene fijación a complemento reducida. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, con fijación a complemento reducida tiene las dos sustituciones de aminoácidos a continuación: A330S y P331S.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que esencialmente no tiene función efectora, es decir, tiene unión reducida a FcγRs y fijación a complemento reducida. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, que no es efector comprende las cinco mutaciones a continuación: L234A, L235E, G237A, A330S y P331S.

Cuando se usa un dominio constante IgG4, este puede incluir la sustitución S228P, que imita la secuencia bisagra en IgG1 y por lo tanto estabiliza las moléculas de IgG4.

También se pueden usar las modificaciones Fc descriptas en WO 2017/087678 o WO2016081746.

En ciertas realizaciones, se modifica la glicosilación de un anticuerpo. Por ejemplo, se puede realizar un anticuerpo aglicosilado (es decir, el anticuerpo carece de glicosilación). La glicosilación se puede alterar, por ejemplo, para aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Tales modificaciones de carbohidratos se pueden lograr, por ejemplo, alterando uno o varios sitios de glicosilación dentro de la secuencia del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden realizar una o más sustituciones de aminoácidos que resultan en la eliminación de uno o varios sitios de glicosilación de la estructura de las regiones variables para así eliminar la glicosilación en ese sitio. Dicha aglicosilación puede aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Esta estrategia se describe con mayor detalle en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.714.350 y 6.350.861 por Co *et al.*

La glicosilación de la región constante en N297 se puede evitar al mutar el residuo N297 a otro residuo, por ejemplo, N297A, y/o al mutar un aminoácido adyacente, por ejemplo, 298 para así reducir la glicosilación en N297.

Además o alternativamente, se puede hacer un anticuerpo que tiene un tipo de glicosilación alterado, tal como un anticuerpo hipofucosilado que tiene cantidades reducidas de residuos fucosilo o un anticuerpo que tiene estructuras bisectadas por GlcNac aumentadas. Se ha demostrado que tales patrones de glicosilación alterados aumentan la capacidad ADCC de los anticuerpos. Dichas modificaciones de carbohidratos se pueden lograr, por ejemplo, mediante la expresión del anticuerpo en una célula hospedera con maquinaria de glicosilación alterada. Las células con maquinaria de glicosilación alterada se han descripto en la técnica y se pueden usar como células hospederas en las cuales expresar los anticuerpos recombinantes descriptos en la presente para así producir un anticuerpo con glicosilación alterada. Por ejemplo, el documento EP 1.176.195 por Hanai *et al.* describe una línea celular con un gen FUT8 que presenta una alteración funcional, que codifica una fucosil transferasa, de modo que los anticuerpos expresados en tal célula exhiben hipofucosilación. La Publicación PCT WO 03/035835 por Presta describe una variante de línea celular CHO, células Led 3, con capacidad reducida para unir fucosa a carbohidratos ligados a Asn(297), resultando también en la hipofucosilación de los anticuerpos expresados en esas células hospederas (ver también Shields, R.L. *et al.* (2002) *J. Biol. Chem*. 277:26733-26740). La Publicación PCT WO 99/54342 por Umana *et al.* describe líneas celulares modificadas genéticamente para expresar glicosil transferasas que modifican glicoproteínas (por ejemplo, beta(l,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII)) tal que los anticuerpos expresados en las líneas celulares modificadas genéticamente exhiben estructuras aumentadas de GlcNac de bisección lo que resulta en el aumento de la actividad ADCC de los anticuerpos (ver también Umana *et al.* (1999) *Nat. Biotech*. 17: 176-180).

Otra modificación de los anticuerpos descriptos en la presente es la pegilación. Un anticuerpo se puede pegilar, por ejemplo, para aumentar la semivida biológica (por ejemplo, en

suero) del anticuerpo. Para pegilar un anticuerpo, generalmente se hace reaccionar el anticuerpo o un fragmento de este, con polietilenglicol (PEG), tal como un éster reactivo o aldheído derivado de PEG, en condiciones en las que uno o varios grupos PEG quedan unidos al anticuerpo o al fragmento de anticuerpo. En algunas realizaciones, la pegilación se lleva a cabo mediante una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula PEG reactiva (o un polímero reactivo soluble en agua análogo). Como se usa en la presente, se considera que el término "polietilenglicol" abarca cualquiera de las formas de PEG que se han utilizado para derivar otras proteínas, tales como mono (CI-CIO) alcoxi o ariloxi-polietilenglicol o polietilenglicol-maleimida. En ciertas realizaciones, el anticuerpo a pegilar es un anticuerpo aglicosilado. Los métodos para pegilar proteínas son conocidos en la técnica y se pueden aplicar a los anticuerpos descriptos en la presente. Ver, por ejemplo, EP 0 154 316 por Nishimura *et al.* y EP 0 401 384 por Ishikawa *et al.*

En diversas realizaciones, un anticuerpo que se une a VISTA descrito en la presente se modifica para bloquear selectivamente la unión al antígeno en tejidos y entornos donde la unión al antígeno sería perjudicial, pero permite la unión al antígeno donde sería beneficioso ("anticuerpo activable"). En una realización, se genera una "máscara" de péptido de bloqueo que se une específicamente a la superficie de unión al antígeno del anticuerpo e interfiere con la unión al antígeno, cuya máscara se une a cada uno de los brazos de unión del anticuerpo mediante un enlazador escindible de peptidasa. Ver, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 8,518,404 para CytomX. Dichas construcciones son útiles para el tratamiento de cánceres en los que los niveles de proteasa aumentan considerablemente en el microentorno tumoral en comparación con los tejidos no tumorales. La escisión selectiva del enlazador escindible en el microentorno tumoral permite la disociación del péptido de bloqueo/enmascaramiento, permitiendo la unión selectiva en el tumor, en vez de en tejidos periféricos en los que la unión al antígeno puede provocar efectos secundarios no deseados. Los ejemplos de péptidos de bloqueo unidos a anticuerpos se proporcionan en WO 2018/08555.

De manera alternativa, en una realización relacionada, se desarrolla un compuesto de unión bivalente ("ligando de enmascaramiento") que comprende dos dominios de unión que se unen a ambas superficies de unión al antígeno del anticuerpo (bivalente) e interfieren con la unión al antígeno, en el que las dos máscaras de dominios de unión se unen entre sí (pero no al anticuerpo) mediante un enlazador escindible, por ejemplo, escindible mediante una peptidasa. Ver, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente n.º WO 2010/077643 otorgada a Tegopharm Corp. Los ligandos de enmascaramiento pueden comprender o derivarse del antígeno al cual el anticuerpo pretende unirse, o se pueden generar de forma independiente. Dichos ligandos de enmascaramiento son útiles para el tratamiento de cánceres en los que los niveles de proteasa aumentan considerablemente en el microentorno tumoral en comparación con los tejidos

no tumorales. La escisión selectiva del enlazador escindible en el microentorno tumoral permite la disociación de los dos dominios de unión entre sí, por lo que se reduce la avidez de las superficies de unión al antígeno del anticuerpo. La disociación resultante del ligando de enmascaramiento del anticuerpo permite la unión al antígeno de forma selectiva en el tumor, en vez de en los tejidos periféricos en los que la unión al antígeno puede provocar efectos secundarios no deseados.

Ácidos nucleicos y células hospederas

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo o una cadena ligera o pesada de este o una porción de este. En la Tabla de Secuencias se proporcionan ejemplos de ácidos nucleicos. La presente abarca cualquier ácido nucleico que es al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% idéntico a un ácido nucleico en la Tabla de Secuencias. También se incluyen las composiciones que comprenden ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo proporcionado en la presente, como las células que los comprenden y métodos para preparar anticuerpos, que comprenden el cultivo de una célula transformada con un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-VISTA, y aislar el anticuerpo del medio de cultivo o la célula.

Métodos de tratamiento que usan Ab que se unen a VISTA-ECD y composiciones farmacéuticas relacionadas

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA que se une a VISTA a pH bajo y, por ejemplo, carece de unión significativa a pH neutro o fisiológico, puede ser un anticuerpo antagonista de VISTA, es decir, un anticuerpo que inhibe la acción de VISTA, de forma tal que se estimula una respuesta inmunitaria. Tales anticuerpos se pueden usar para tratar enfermedades en las que se busca estimular el sistema inmunitario o una respuesta inmunitaria, tales como enfermedades proliferativas (benignas o malignas), cáncer y enfermedades infecciosas (por ejemplo, infecciones virales).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA que se une a VISTA a pH bajo y, por ejemplo, carece de unión significativa a pH neutro o fisiológico, puede ser un anticuerpo agonista de VISTA, es decir, un anticuerpo que aumenta la acción de VISTA, de forma tal que se inhibe una respuesta inmunitaria. Tales anticuerpos se pueden usar para tratar enfermedades en las que se busca inhibir el sistema inmunitario o una respuesta inmunitaria, tales como enfermedades autoinmunes y afecciones inflamatorias, tales como artritis rematoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad celíaca, síndrome de Sjoigren, enfermedad de Grave, enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, espondilitis anquilosante, enfermedad injerto contra huésped, alergia y asma.

Los anticuerpos descriptos en la presente se pueden usar, por ejemplo, para tratar el

cáncer. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar una cantidad eficas de un anticuerpo descripto en la presente a un paciente. En algunas realizaciones, los Ab pueden desencadenar o aumentar una respuesta inmunitaria en el paciente, tal como una respuesta inmunitaria específica a un antígeno. En algunas realizaciones, los Ab pueden estimular la actividad de las células T. En algunas realizaciones, los Ab pueden inhibir el crecimiento de al menos un tumor en el paciente.

En la presente se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende en administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VISTA descripto en la presente, de modo que el sujeto es tratado. Un anticuerpo anti-VISTA se puede usar solo. Alternativamente, un anticuerpo anti-VISTA se puede usar en conjunción con otro agente, como se describe más adelante.

Los ejemplos de cánceres que se pueden tratar con un Ab que se une específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas como se describe en la presente incluyen, entre otros, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los cánceres que se pueden tratar con un Ab descripto en la presente incluyen cánceres que generalmente responden a la inmunoterapia y aquellos que generalmente no responden a la inmunoterapia. Los cánceres que se pueden tratar también incluyen cánceres VISTA positivos, por ejemplo, cánceres que tienen células VISTA positivas que infiltran un tumor, por ejemplo, linfocitos, células mieloides o monocíticas. Los cánceres pueden ser tumores sólidos o neoplasias hematológicas (tumores líquidos).

Los ejemplos no limitantes de cánceres para tratamiento incluyen carcinoma celular escamoso, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas escamoso (NSCLC), NSCLC no escamoso, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC)), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata refractario a tratamiento hormonal), cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer pancreático, glioblastoma (glioblastoma multiforme), cáncer cervical, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon, y cáncer (o carcinoma) de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T NK, melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico, tal como melamoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer de huesos, cáncer de piel, cáncer de útero, cáncer de la región anal, cáncer testicular, carcinoma de las trompas de falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de glándula paratiroides, cáncer de glándula adrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, tumores sólidos de la infancia,

cáncer de ureter, carcinoma de pelvis renal, neoplasma del sistema nervioso central (CNS),linforma CNS primario, angiogénesis tumoral, tumor de la columna vertebral, cáncer de cerebro, glioma del tronco encefálico, adenoma de glándula pituitaria, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de células T, cánceres inducidos por el medioambiente, inclusive los inducidos por asbestos, cánceres relacionados con virus o cánceres de origen viral (por ejemplo, el virus del papiloma humano (tumores relacionados u originados por HPV)), y neoplasias hematológicas derivadas de los dos principales linajes de células sanguíneas, es decir, la línea celular mieloide (que produce granulocitos, eritrocitos, trombocitos, macrófagos y mastocitos) o la línea celular linfoide (que produce células B, T, NK y plasmáticas), tales como todos los tipos de leucemia, linfomas y mielomas, por ejemplo, leucemia aguda, crónica, linfocítica y/o mielógena, tal como leucemia aguda (ALL), leucemia aguda mielógena (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), AML indiferenciada (MO), leucemia mieloblástica (Ml), leucemia mieloblástica (M2; con maduración celular), leucemia promielocítica (M3 o M3 variante [M3V]), leucemia mielomonocítica (M4 o M4 variante con eosinofilia [M4E]), leucemia monocítica (M5), eritroleucemia (M6), leucemia megacarioblástica (M7), sarcoma granulocítico aislado, y cloroma; linfomas, tales como linfoma de Hodgkin (HL), linfoma no Hodgkin (NHL), neoplasia hematológica de células B, por ejemplo, linfomas de células B, linfomas de células T, linfoma linfoplasmacitoide, linfoma monocitoide de células B, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), linfoma anaplásico de células grandes (por ejemplo, Ki 1+), linfoma/leucemia de células T del adulto, linfoma de células del manto, linfoma de células T angio inmunoblástico, linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de células T, linfoma primario mediastinal de células B, linfoma linfoblástico precursor de céulas T, linfoblástico T; y linfoma/leucemia (T-Lbly/T-ALL), linfoma periférico de células T, linfoma linfoblástico, trastorno linfoproliferativo post-transplante, linfoma histiocítico verdadero, linfoma primario del sistema nervioso central, linfoma efusivo primario, linfoma de células B, linfoma linfoblástico (LBL), tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, leucemia linfoblástica aguda, linfoma difuso de células B grandes, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma histiocítico difuso (DHL), linfoma inmunoblástico de células grandes, linfoma linfoblástico precursor de células B, linfoma cutáneo de células T (CTLC) (también llamado micosis fungoide o síndrome de Sezary), y linfoma linfoplasmacitoide (LPL) con macroglobulinemia de Waldenstrom; mielomas, tales como mieloma de IgG, mieloma de cadena ligera, mieloma no secretor, mieloma latente (también llamado mieloma indolente), plasmocitoma solitario, y mielomas múltiples, leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de células vellosas; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, tumores de origen mesenquimal, inclusive fibrosarcoma y rabdomiosarcoma; seminoma, teratocarcinoma, tumores de los nervios centrales y periféricos, inclusive astrocitoma, schwanomas; tumores de origen mesenquimal, inclusive fibrosarcoma, rabdomiosarcoma y

osteosarcoma; y otros tumores, inclusive melanoma, xeroderma pigmentoso, queratoacantoma, seminoma, cáncer folicular de tiroides y teratocarcinoma, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, por ejemplo, tumores de células T y células B, inclusive, entre otros, trastornos de células T tales como leucemia prolinfocítica de células T (T-PLL), inclusive del tipo de células pequeñas y de células cerebriformes; leucemia de linfocitos grandes granulares (LGL) del tipo células T; linfoma hepatoesplénico NHL de células T a/d; linfoma de células T postímicas/periféricas (subtipos pleomórfico e inmunoblástico); linfoma de células T angiocéntrico (nasal); cáncer de cabeza y cuello, cáncer renal, cáncer rectal, cáncer de la glándula tiroides; linfoma mieloide agudo, como así también cualquier combinación de estos tipos de cáncer. Los métodos descriptos en la presente también se pueden usar para el tratamiento de cánceres metastásicos, no resecables, cánceres refractarios (por ejemplo, cánceres refractarios a inmunoterapia previa, por ejemplo, con un anticuerpo de bloqueo CTLA-4 o PD-1), y/u cánceres recurrentes.

En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar el cáncer, donde los métodos comprenden administrar un anticuerpo aislado que se une específicamente a huVISTA en condiciones ácidas como se describe en la presente a un sujeto con cáncer. En algunas realizaciones, se proporciona el uso de un anticuerpo descripto en la presente para tratar el cáncer.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente se administra a pacientes que tienen un cáncer que han exhibido una respuesta inadecuada, o progresado luego de un tratamiento previo, por ejemplo, un tratamiento previo con un fármaco inmuno-oncológico o para inmunoterapia. En algunas realizaciones, el cáncer es refractario o resistente a un tratamiento previo, ya sea intrínsecamente refractario o resistente (por ejemplo, refractario a un antagonista de la vía PD-1), o con un estado de resistencia o refractario adquirido. Por ejemplo, un anticuerpo descripto en la presente puede administrarse a sujetos que no responden o no responden suficientemente a un primer tratamiento o cuya enfermedad progresa luego del tratamiento, por ejemplo, el tratamiento con un antagonista de la vía anti-PD-1, ya sea solo o en combinación con otra terapia (por ejemplo, con una terapia antagonista de la vía anti-PD-1). En otras realizaciones, un anticuerpo descripto en la presente se administra a pacientes que no han recibido previamente un agente inmuno-oncológico (es decir, no han sido tratados con este), por ejemplo, un antagonista de la vía PD-1.

En ciertas realizaciones, un método para tratar el cáncer en un sujeto comprende determinar en primer lugar la carga mutacional del tumor (TMB) de un tumor en un sujeto, y administrar un anticuerpo anti-VISTA basado en los resultados, por ejemplo, a sujetos en los que se descubre una elevada TMB.

Combinaciones con agentes de estimulación inmunitaria

En algunas realizaciones, un anticuerpo como se describe en la presente, por ejemplo, un anticuerpo antagonista de VISTA descripto en la presente, se administra en combinación con al menos un agente de estimulación inmunitaria. Por ejempolo, la terapéutica se puede infusionar en forma conjunta o injectarse casi al mismo tiempo. En algunas realizaciones, el anticuerpo y el al menos un agente de estimulación inmunitaria se administran secuencialmente. For ejemplo, en algunas realizaciones el anticuerpo se administra secuencialmente antes o después de al menos un agente de estimulación inmunitaria tal que las dos terapéuticas se administran con una separación de 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días o dos semanas.

En algunas realizaciones, se administran al menos una, al menos dos, al menos tres dosis, al menos cinco dosis, o al menos diez dosis del anticuerpo antes de la administración de al menos un agente de estimulación inmunitaria. En algunas realizaciones, se administran al menos una, al menos dos, al menos tres dosis, al menos cinco dosis, o al menos diez dosis de al menos un agente de estimulación inmunitaria antes de la administración del anticuerpo. En algunas realizaciones, la última dosis del agente de estimulación inmunitaria se administra al menos uno, dos, tres, cinco, días o diez, o una, dos, tres, cinco, doce o veinticuatro semanas antes de la primera dosis del anticuerpo. En algunas realizaciones, la última dosis del anticuerpo se administra al menos uno, dos, tres, cinco, días o diez, o una, dos, tres, cinco, doce o veinticuatro semanas antes de la primera dosis del agente de estimulación inmunitaria. En algunas realizaciones, un sujeto ha recibido, o está recibiendo, terapia con al menos un agente de estimulación inmunitaria y se agrega un anticuerpo de unión a VISTA-ECD al régimen terapéutico.

En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de un inhibidor de la activación de células T, mientras que en algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de un estimulador de la activación de células T. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de CTLA4, LAG-3, PD-1, PD-L1, Galectina 1, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGFβ, VEGF, KIR, LAG-3, receptor de adenosina A2A, PI3Kdelta o IDO. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFNα, STING, o un agonista del receptor tipo Toll tal como un agonista TLR2/4. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que se une a otro miembro de la familia B7 de proteínas unidas a membrana tales como B7-1, B7-2, B7-H2

(ICOS-L), B7-H3, B7-H4 y B7-H6. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que se une a un miembro de la familia de receptores TNF o una molécula co-estimulante o co-inhibidora de unión a un miembro de la familia de receptores TNF tales como CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGL/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNFβ, TNFR2, TNFα, 1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY o NGFβ. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que antagoniza o inhibe una citocina que inhibe la activación de células T tal como IL-6, IL-10, TGFβ, VEGF. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de una citocina que estimula la activación de células T tal como IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 e IFNα. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de una quimiocina, tal como CXCR2, CXCR4, CCR2 o CCR4. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un anticuerpo. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria puede comprender una vacuna, tal como una vacuna dirigida a mesotelina o una vacuna contra el cáncer con listeria atenuada tal como CRS-207.

Por ejemplo, un anticuerpo anti-VISTA descripto en la presente se podría administrar con uno o varios de los siguientes agentes:

(1) Un antagonista (inhibidor o agente de bloqueo) de una proteína que inhibe la activación de células T (por ejemplo, reguladores de puntos de control del sistema inmunitario), tal como CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, y LAG-3, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectina-1, TIGIT, CD113, GPR56, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1,TIM-3 y TIM-4; y/o (2) Un agonista de una proteína que estimula la activación de células T, tal como B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 y CD28H.

Los agentes ejemplares que se pueden combinar con anticuerpos anti-VISTA descriptos en la presente para tratar el cáncer incluyen: YERVOY® (ipilimumab) o tremelimumab (para CTLA-4), galiximab (para B7.1), BMS-936558 (para PD-1), MK-3475 (para PD-1), atezolizumab (TECENTRIQ®), Avelumab, Durvalumab, PDR001 (Novartis), AMP224 (para B7DC), BMS-936559 (para B7-H1), MPDL3280A (para B7-H1), MEDI-570 (para ICOS), AMG557 (para B7H2), MGA271 (para B7H3), IMP321 (para LAG-3), BMS-663513 (para CD137), PF-05082566 (para CD137), CDX-1127 (para CD27), anti-OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (para OX40L), Atacicept (para TACI), CP-870893 (para CD40), Lucatumumab (para CD40), Dacetuzumab (para CD40), Muromonab-CD3 (para CD3); anticuerpos anti-GITR MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, o cualquier combinación de estos.

Otras moléculas que se pueden combinar con anticuerpos anti-VISTA para el tratamiento del cáncer incluyen antagonistas de receptores de inhibidores en células NK o agonistas de receptores de activadores en células NK, por ejemplo, antagonistas de KIR (por ejemplo, lirilumab).

La activación de células T también se puede regular mediante citocinas solubles. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-VISTA se pueden administrar en combinación con antagonistas de citocinas que están destinadas a inhibir la activación de células T o agonistas de citocinas que estimulan la activación de células T. Por ejemplo, los anticuerpos anti-VISTA se pueden usar en combinación con (i) antagonistas (o agentes inhibidores o de bloqueo) de proteínas de la familia IgSF o la familia B7 o de la familia TNF que inhiben la activación de células T o antagonistas de citocinas que inhiben la activación de células T (por ejemplo, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "citocinas inmunosupresoras") y/o (ii) agonistas de receptores de estimuladores de la familia IgSF, la familia B7 o la familia TNF o de citocinas que estimulan la activación de células T.

Aún otros agentes para terapias de combinación incluyen agentes que inhiben o agotan macrófagos o monocitos, inclusive, entre otros, antagonistas de CSF-1R tales como anticuerpos antagonistas de CSF-1R que incluyen RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, W013/87699, W013/119716, WO13/132044) o FPA-008 (WO11/140249; W013169264; WO14/036357).

Los anticuerpos anti-VISTA también se pueden administrar con agentes que inhiben la señalización de TGF-β.

Los agentes adicionales que se pueden combinar con un anticuerpo anti-VISTA incluyen agentes que aumentan la presentación del antígeno tumoral, por ejemplo, vacunas con células dendríticas, vacunas con células que secretan GM-CSF (factor estimulante de granulocitos y macrófagos), oligonucleótidos CpG, e imiquimod, o terapias que aumentan la inmunogenicidad de las células tumorales (por ejemplo, antraciclinas).

Inclusive otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo anti-VISTA incluyen terapias que agotan o bloquean células Treg, por ejemplo, un agente que se une específicamente a CD25.

Otra terapia que se puede combinar con un anticuerpo anti-VISTA es una terapia que inhibe una enzima metabólica tal como indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, arginasa u óxido nítrico sintetasa.

Otras clases de agentes que se pueden usar con un anticuerpo anti-VISTA incluyen agentes que inhiben la formación de adenosina, por ejemplo, inhibidores de CD73, o inhiben el receptor de adenosina A2A.

Otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo anti-VISTA para tratar el cáncer incluyen terapias que revierten/previenen la anergia o el agotamiento de células T y terapias que

desencadenan una activación inmunitaria innata y/o inflamación en un sitio tumoral.

Otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo anti-vista para tratar el cáncer incluyen terapias que bloquean IL-8, por ejemplo, con HuMax®-IL8.

Un anticuerpo anti-VISTA se puede combinar con más de un agente inmuno-oncológico, y se puede combinar, por ejemplo, con una estrategia combinatoria destinada a dirigirse a múltiples elementos de la vía inmunitaria, tal como una o varias de las siguientes: una terapia que aumenta la presentación del antígeno tumoral (por ejemplo, vacunas con células dendríticas, vacunas con células que secretan GM-CSF, oligonucleótidos CpG, imiquimod); una terapia que inhibe la regulación inmunitaria negativa, por ejemplo, inhibiendo CTLA-4 y/o la vía PD1/PD1-L1/PD-L2 y/o agotando o bloqueando Tregs u otras células de supresión inmunitaria; una terapia que estimula la regulación inmunitaria positiva, por ejemplo, con agonistas que estimulan la vía CD-137, OX-40 y/o GITR y/o estimulan la función efectora de las células T; una terapia que aumenta sistémicamente la frecuencia de células T antitumorales; una terpaia que agota o inhibe Tregs, tal como Tregs en el tumor, por ejemplo, usando un antagonista de CD25 (por ejemplo, daclizumab) o mediante depleción con perlas anti-CD25 *ex vivo*; una terapia que impacta la función de células mieloides supresoras en el tumor; una terapia que aumenta la inmunogenicidad de las células tumorales (por ejemplo, antraciclinas); transferencia adoptiva de células T o células NK que incluyen células modificadas genéticamente, por ejemplo, células modificadas mediante receptores de antígenos quiméricos (terapia CAR-T); una terapia que inhibe una enzima metabólica tal como indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, arginasa, u óxido nítrico sintetasa ; una terapia que revierte/previene la anergia o el agotamiento de células T; una terapia que desencadena una activación inmunitaria innata y/o inflamación en un sitio tumoral; administración de citocinas estimuladoras de la respuesta inmunitaria; o bloqueo de citocinas inmunosupresoras.

Los anticuerpos anti-VISTA descriptos en la presente se pueden usar conjuntamente con uno o más de los agentes agonistas que ligan receptores coestimuladores positivos, agentes de bloqueo que atenuan la señalización a través de receptores inhibidores, antagonistas, y uno o varios agentes que aumentan sistémicamente la frecuencia de células T anti-tumorales, agentes que combaten distintas vías supresoras inmunitarias dentro del microentorno tumoral (por ejemplo, bloquean la unión con el receptor inhibidor (por ejemplo, interacciones PD-L1/PD-1), agotan o inhiben Tregs (por ejemplo, usando un anticuerpo monoclonal anti-CD25 (por ejemplo, daclizumab) o mediante depleción *ex vivo* con perlas anti-CD25), inhiben enzimas metabólicas tales como IDO, o revierten/previenen la anergia o el agotamiento de células T) y agentes que desencadenan la activación inmunitaria innata y/o la inflamación en sitios tumorales.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se administra a un sujeto conjuntamente con un inhibidor de BRAF si el sujeto es positivo a la mutación BRAF V600.

Adecuadamente los antagonistas de PD-1 para usar en la terapia de combinación descripta en la presente, incluyen, entre otros, ligandos, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y anticuerpos biespecíficos) y agentes multivalentes. En una realización, el antagonista de PD-1 es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión Fc, tal como AMP-244. En una realización, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Un anticuerpo anti-PD-1 ejemplar es nivolumab (BMS-936558) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiones variables de uno de los anticuerpos 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 y 4A11 descriptos en WO 2006/121168. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-1 es MK-3475 (Lambrolizumab) descripto en WO2012/ 145493; AMP-514 descripto en WO 2012/145493; o PDR001. Otros anticuerpos PD-1 conocidos y otros inhibidores de PD-1 incluyen los descriptos en WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, las Patentes de los EE.UU. Nros. 7.635.757 y 8.217.149 y la Publicación de Patente de los EE.UU. Nro. 2009/0317368. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 divulgados en WO2013/173223. También se puede usar en tratamientos de combinación un anticuerpo anti-PD-1 que compite por la unión y/o que se une al mismo epítopo en PD-1, como uno de estos anticuerpos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 útil para la terapia de combinación es BMS-936559 (denominado 12A4 en WO 2007/005874 y en la Patente de los EE.UU. Nro. 7.943.743) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiones variables de 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 y 13G4, que se describe en la Publicación PCT WO 07/005874 y en la Patente de los EE.UU. Nro. 7.943.743. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736 (también conocido como durvalumab y Anti-B7-H1), MPDL3280A (también conocido como atezolizumab y RG7446), MSB0010718C (también conocido como avelumab; WO2013/79174) o rHigM12B7. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, las Patentes de los EE.UU. Nro. 7.635.757 y 8.217.149 y la Publicación de los EE.UU. Nro. 2009. También se puede usar en tratamientos de combinación anticuerpos anti-PD-L1 que compiten por la unión y/o que se unen al mismo epítopo como el de cualquiera de estos anticuerpos.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-VISTA de la divulgación se puede usar con un antagonista de CTLA-4, por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4. En una realización, un anticuerpo anti-CTLA-4 es un anticuerpo seleccionado en el grupo de: YERVOY® (ipilimumab o anticuerpo 10D1, descripto en la Publicación PCT WO 01/14424), tremelimumab (anteriormente ticilimumab, CP-675,206), un anticuerpo monoclonal o anti-CTLA-4 descripto en cualquiera de las siguientes publicaciones: WO 98/42752; WO 00/37504; Patente de los EE.UU. Nro. 6.207.156; Hurwitz *et al.* (1998) *Pro. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 95(17): 10067-10071; Camacho *et al.* (2004) *J. Clin. Oncology*

22(145): Resumen Nro. 2505 (anticuerpo CP-675206); y Mokyr *et al.* (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-CTLA-4 divulgados en WO2013/173223.

En algunas realizaciones, se usa un anticuerpo anti-VISTA de la divulgación en combinación con un antagonista de LAG3. Los ejemplos de anticuerpos anti-LAG3 incluyen los anticuerpos que comprenden las CDR o las regiones variables de los anticuerpos 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 o 17E5, que se describen en la Publicación de Patente de los EE.UU. Nro. US2011/0150892, WO10/19570 y WO2014/008218. En una realización, un anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016. Otros anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la técnica que se pueden utilizar incluyen IMP731 y IMP-321, descriptos en los documentos de los EE.UU. 2011/007023, WO08/132601 y WO09/44273. También se puede usar en tratamientos de combinación anticuerpos anti-LAG-3 que compiten por la unión y/o que se unen al mismo epítopo como el de cualquiera de estos anticuerpos.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA de la divulgación se puede administrar en combinación con un agonista CD137 (4-1BB), tal como un anticuerpo agonista CD137. Los anticuerpos CD137 adecuados incluyen, por ejemplo, urelumab o PF-05082566 (W012/32433).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se puede administrar en combinación con un agonista OX40, tal como un anticuerpo agonista OX40. Los anticuerpos OX40 adecuados incluyen, por ejemplo, MEDI-6383, MEDI-6469 o MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

En una realización, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un agonista de CD40, tal como un anticuerpo agonista de CD40. En ciertas realizaciones, el agente inmuno-oncológico es un antagonista de CD40, tal como un anticuerpo antagonista de CD40. Los anticuerpos CD40 adecuados incluyen, por ejemplo, lucatumumab (HCD122), dacetuzumab (SGN-40), CP-870,893 o Chi Lob 7/4.

En una realización, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un agonista de CD27, tal como un anticuerpo agonista de CD27. Los anticuerpos CD27 adecuados incluyen, por ejemplo, varlilumab (CDX-1127).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-VISTA se administra junto con un anticuerpo anti-GITR, por ejemplo, un anticuerpo que tiene las secuencias CDR de 6C8, por ejemplo, un anticuerpo humanizado que tiene las CDR de 6C8, según se describe, por ejemplo, en WO2006/105021; un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descripto en WO2011/028683; un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descripto en JP2008278814, un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti- GITR descripto en WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 o WO2016/057846 u otro anticuerpo anti- GITR descripto o mencionado en la presente.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con MGA271 (para B7H3) (WO11/109400).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un antagonista KIR, tal como lirilumab.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un antagonista IDO. Los antagonistas IDO adecuados incluyen, por ejemplo, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), indoximod, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) o F001287.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un agonista del receptor tipo Toll, por ejemplo, un agonista TLR2/4 (por ejemplo, Bacillus Calmette-Guerin); un agonista TLR7 (por ejemplo, Hiltonol o Imiquimod); un agonista TLR7/8 (por ejemplo, Resiquimod); o un agonista TLR9 (por ejemplo, CpG7909).

En una realización, un anti-VISTA se administra en combinación con un inhibidor de TGF-β, por ejemplo, GC1008, LY2157299, TEW7197 o IMC-TR1.

En ciertas realizaciones, un agente anti-VISTA, por ejemplo, se administra un anticuerpo con un anticuerpo anti-PSGL-1.

Terapia de combinación adicional

Los Ab en la presente también se pueden proporcionar antes, en forma sustancialmente contemporánea con, o después de otros modos de tratamiento, por ejemplo, cirugía, quimioterapia, terapia de radiación, o la administración de un producto biológico, tal como otro anticuerpo terapéutico. En algunas realizaciones, el cáncer ha recurrido o progresado luego de una terapia seleccionada entre cirugía, quimioterapia y terapia de radiación, o una combinación de estas. Por ejemplo, un anticuerpo anti-VISTA como se describe en la presente podría administrarse como terapia adyuvante cuando existe el riesgo de la presencia de micrometástasis y/o a fin de reducir el riesgo de una recaída.

Para el tratamiento del cáncer, las combinaciones se pueden administrar conjuntamente con uno o varios agentes anti-cancerosos, tales como un agente quimioterapéutico, un agente inhibidor del crecimiento, una vacuna anti-cancerosa tal como una vacuna de terapia génica, un agente anti-angiogénico y/o una composición anti-neoplásica. Los ejemplos no limitantes de agente quimioterapéutico, agente inhibidor del crecimiento, vacuna anti-cancerosa, agente anti-angiogénico y composición anti-neoplásica que se pueden usar en combinación con los anticuerpos de la presente invención se proporcionan en "Definiciones".

En algunas realizaciones, se puede administrar con la combinación un fármaco anti-inflamatorio, tal como un esteroide o un fármaco anti-inflamatorio no esteroide (NSAID). En los

casos en los que es deseable inactivar las células proliferativas aberrantes en forma conjunta o antes del tratamiento con los anticuerpos anti-VISTA, descriptos en la presente, también se pueden administrar al paciente hormonas y esteroides (inclusive análogos sintéticos), tales como 17a-Etinilestradiol, Dietilestilbestrol,Testosterona, Prednisona, Fluoximesterona, Propionato de Dromostanolona, Testolactona, Megestrolacetato, Metilprednisolona, Metil-testosterona, Prednisolona, Triamcinolona, Clorotrianiseno, Hidroxiprogesterona, Aminoglutetimida, Estramustina, Medroxyprogesteronacetato, Leuprolide, Flutamide, Toremifene, ZOLADEX® Cuando se emplean los métodos y las composiciones descriptas en la presente, también se pueden administrar, según se desee, otros agentes usados en la modulación del crecimiento tumoral o la metástasis en la práctica clínica, tales como antimiméticos.

Los anticuerpos descriptos en la presente también se pueden combinar con un agente inmunogénico, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (inclusive proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas inmunoestimulantes (He *et al.,*(2004) *J. Immunol*. 173:4919-28). Los ejemplos no limitantes de vacunas anti-tumorales que se pueden usar incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citocina GM-CSF (sobre la que se expone a continuación).

En los seres humanos, algunos tumores han mostrado ser inmunogénicos, tales como los melanomas. Al bajar el umbral de la activación de células T mediante la inhibición de VISTA, se pueden activar las respuestas tumorales en el huésped, posibilitando el tratamiento de tumores no inmunogénicos o de aquellos que tienen inmunogenicidad limitada.

Un anticuerpo anti-VISTA descripto en la presente, también se puede combinar con un protocolo de vacunación. Se han diseñado numerosas estrategias de vacunación contra tumores (ver Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; ver también Restifo, N. y Sznol, M., Cancer Vaccines, C. 61, pp. 3023-3043 en DeVita *et al.* (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, quinta edición). En una de estas estrategias, se prepara una vacuna usando células tumorales autólogas o alogénicas. Estas vacunas celulares han demostrado ser las más eficaces cuando las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. GM-CSF ha demostrado ser un potente activador de la presentación de antígenos para la vacunación tumoral (Dranoff *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU.* 90: 3539-43).

El estudio de la expresión génica y los patrones de expresión génica a gran escala en diversos tumores ha llevado a la definión de los así llamados antígenos específicos de tumores

(Rosenberg, S A (1999) *Immunity* 10: 281-7). En muchos casos, estos antígenos específicos de tumores son antígenos de diferenciación expresados en los tumores y en la célula de la cual surgió el tumor, por ejemplo, antígenos de melanocitos gp100, antígenos MAGE y Trp-2. Aún más importante, se puede mostrar que muchos de estos antígenos son los objetivos de células T específicas del tumor halladas en el huésped. La inhibición de VISTA se puede usar conjuntamente con una colección de proteínas recombinantes y/o péptidos expresados en un tumor a fin de generar una respuesta inmunitaria a estas proteínas. Estas proteínas normalmente son vistas por el sistema inmunitario como auto antígenos y, por lo tanto, es tolerante a ellas. El antígeno tumoral puede incluir la proteína telomerasa, que se requiere para la síntesis de telómeros de cromosomas y que se expresa en más del 85 % de los cánceres humanos y en solo un número limitado de tejidos somáticos (Kim *et al.* (1994) *Science* 266: 2011-2013). El antígeno tumoral también puede ser "neo-antígenos" expresados en células cancerosas debido a mutaciones somáticas que alteran la secuencia proteica o crean proteínas de fusión entre dos secuencias no relacionadas (es decir, bcr-abl en el cromosoma Filadelfia), o idiotipos de tumores de células B.

Otras vacunas tumorales pueden incluir las proteínas de virus implicados en cánceres humanos tales como los virus del papiloma humano (HPV), los virus de la hepatitis (HBV y HCV) y los virus del herpes causado por el sarcoma de Kaposi (KHSV). Otra forma de antígeno tumoral específico que se puede usar conjuntamente con la inhibición de VISTA son proteínas purificadas con choque térmico (HSP) aisladas del propio tejido tumoral. Estas proteínas de choque térmico contienen fragmentos de proteínas de las células del tumor y estas HSP son altamente eficientes para el suministro de células presentadoras de antígeno para provocar la inmunidad tumoral (Suot & Srivastava (1995) *Science* 269: 1585-1588; Tamura *et al.* (1997) *Science* 278: 117-120).

También se pueden usar virus oncolíticos en combinación con anticuerpos VISTA.

Las células dendríticas (DC) son células presentadoras de antígenos potentes que se pueden usar para iniciar respuestas antigénicas específicas. Las DC se pueden producir *ex vivo* y cargarse con diversas proteínas y antígenos peptídicos como así también con extractos de celulas tumorales (Nestle *et al.* (1998) *Nature Medicine* 4: 328-332). Las DC también se pueden transducir por medios genéticos para expresar también estos antígenos tumorales. Las DC también se han fusionado directamente con células tumorales a los fines de inmunización (Kugler *et al.* (2000) *Nature Medicine* 6:332-336). Como método de vacunación, la inmunización con DC se puede combinar eficazmente con la inhibición de VISTA para activar respuestas anti-tumorales más potentes.

Tratamientos para enfermedades infecciosas

Los métodos descriptos en la presente también se pueden usar para tratar pacientes que han estado expuestos a toxinas o patógenos particulares. Por consiguiente, esta divulgación también contempla métodos para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto que comprende administrar al sujeto un anticuerpo según se describió en la presente, por ejemplo, un anticuerpo antagonista de VISTA, de forma tal que el sujeto recibe tratamiento para la enfermedad infecciosa. De modo similar a su aplicación a tumores como se expuso anteriormente, la inhibición de VISTA mediada por anticuerpos se puede usar sola, o como un adyuvante, en combinación con vacunas, para estimular la respuesta inmunitaria frente a patógenos, toxinas y auto-antígenos. Los ejemplos de patógenos para los que esta estrategia terapéutica podría ser particularmente útil incluyen patógenos para los que no existe actualmente una vacuna eficaz, o patógenos para los que las vacunas convencionales no llegan a ser completamente eficaces. Estos incluyen, entre otros, VIH, hepatitis (A, B y C), influenza, herpes, giardia, malaria, leishmaniasis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa. La inhibición de VISTA puede ser útil frente a infecciones establecidas por agentes tales como VIH que presentan antígenos alterados en el curso de las infecciones.

Algunos ejemplos de virus patógenos que provocan infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen VIH, hepatitis (A, B o C), el virus del herpes (por ejemplo, los virus VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, el virus de Epstein Barr), adenovirus, virus de la influenza, flavivirus, ecovirus, rinovirus, virus coxsackie, coronavirus, virus sincitial respiratorio, virus de la papera, rotavirus, virus del sarampión, virus de la rubeola virus, parvovirus, vaccinia virus, virus HTLV, virus del dengue, papilomavirus, virus del molusco, virus de la poliomielitis, virus de la rabia, virus JC y virus de la encefalitis arboviral.

Algunos ejemplos de las bacterias que provocan infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen clamidia, bacteria de rickettsial, micobacteria, estafilococo, estreptococo, neumococo, meningococo y gonococo, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, difteria, salmonela, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, peste, leptospirosis y bacteria de la enfermedad de Lyme.

Algunos ejemplos de hongos patogénicos causantes de infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Genus Mucorales (mucor, absidia, rhizopus), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* y *Histoplasma capsulatum*.

Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causan infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, Naegleriafowleri, *Acanthamoeba sp*., *Giardia lambia*, *Cryptosporidium sp*., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania*

donovani, *Toxoplasma gondii* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

En todos los métodos mencionados anteriormente, la inhibición de VISTA se puede combinar con otras formas de inmunoterapia, por ejemplo, aquellas descriptas en la presente, tales como tratamiento con citocinas (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2), o terapia con anticuerpos biespecíficos, que pueden proporcionar la presentación mejorada de antígenos tumorales (ver, por ejemplo, Holliger (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak (1994) *Structure* 2: 1121-1123).

Rutas de administración y portadores

En diversas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar *in vivo* por diversas rutas, inclusive, entre otras, oral, intra-arterial, parenteral, intranasal, intramuscular, intracardíaca, intraventricular, intratraqueal, bucal, rectal, intraperitoneal, intradérmica, tópica, transdérmica e intratecal, o de otra forma mediante implantación o inhalación. Las composiciones objeto de la presente se pueden formular en preparaciones en forma sólida, semi-líquida o gaseosa, inclusive, entre otras, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, enemas, inyecciones, inhalantes y aerosoles. Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo se puede recubrir sobre micropartículas y administrarse de forma intradérmica mediante un dispositivo de bombardeo de partículas, o "biolística", según se describe en la bibliografía (ver, por ejemplo, et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). La formulación y la vía de administración apropiadas se pueden seleccionar de acuerdo con la aplicación pretendida.

En diversas realizaciones, las composiciones que comprenden los anticuerpos se proporcionan en formulaciones con una amplia variedad de portadores farmacéuticamente aceptables (ver, por ejemplo, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20ma ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,* 7ma ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients,* 3ra ed., Pharmaceutical Press (2000)). Se encuentran disponibles diversos portadores farmacéuticamente aceptables, que incluyen vehículos, adyuvantes y diluyentes. Asimismo, también se encuentran disponibles diversas sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como ajustadores de pH y agentes de tamponamiento, agentes para ajuste de tonicidad, estabilizantes, agentes humectantes y otros similares. Los ejemplos no limitantes de portadores ejemplares incluyen solución salina, solución tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etano y sus combinaciones.

En diversas realizaciones, las composiciones que comprenden anticuerpos se pueden formular para inyección, inclusive administración subcutánea, disolviéndolas, suspendiéndolas o emulsionándolas en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros aceites,

glicéridos sintéticos de ácidos alifáticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores, o propilenglicol; y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes. En diversas realizaciones, las composiciones se pueden formular para inhalación, por ejemplo, usando propelentes presurizados aceptables tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y otros similares. En diversas realizaciones, las composiciones también se pueden formular en microcápsulas de liberación sostenida, tales como polímeros biodegradables o no biodegradables. Un ejemplo no limitante de formuación biodegradable incluye polímero del ácido glicólico del ácido poliláctico. Un ejemplo no limitante de formuación no biodegradable incluye una poliglicerina del éster del ácido graso. Ciertos métodos para elaborar tales formulaciones se describen, por ejemplo, en EP 1 125 584 A1.

También se proporcionan paquetes y kits farmacéuticos que comprenden uno o varios envases, cada uno de ellos conteniendo una o varias dosis de un anticuerpo o combinación de anticuerpos. En algunas realizaciones, se proporciona una dosis unitaria donde la dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de una composición que comprende un anticuerpo o una combinación de anticuerpos, con o sin uno o varios agentes adicionales. En algunas realizaciones, dicha dosis unitaria se suministra en una jerigna pre-cargada de uso único para inyección. En diversas realizaciones, la composición contenida en la dosis unitaria puede comprender solución salina, sacarosa o similares; un tampón, tal como fosfato, o similares; y/o estar formulada dentro de un rango de pH estable y eficaz. Alternativamente, en algunas realizaciones, la composición se puede proporcionar como un polvo liofilizado que se puede reconstituir luego del agregado de un líquido apropiado, por ejemplo, agua estéril. En algunas realizaciones, la composición comprende una o varias sustancias que inhiben la acumulación de proteínas, inclusive, entre otras, sacarosa y arginina. En algunas realizaciones, una composición de la invención comprende heparina y/o proteoglicano.

Las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento o la profilaxis de la indicación específica. La cantidad terapéuticamente eficaz generalmente depende del peso del sujeto a tratar, su estado físico y de salud, la extensión de la afección a tratar, o la edad del sujeto tratado. En general, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una

cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis.

Las composiciones de anticuerpos se pueden administrar según las necesidades de los sujetos. La determinación de la frecuencia de administración la pueden realizar los expertos en la técnica, por ejemplo, el médico actuante, sobre la base de las consideraciones de la afección tratada, la edad del sujeto tratado, la gravedad de la afección tratada, el estado general de salud del sujeto tratado y otras similares. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo a un sujeto una o más veces. En diversas realizaciones, se administra al sujeto una dosis eficaz de un anticuerpo una vez por mes, menos de una vez por mes, tal como, por ejemplo, cada dos meses o cada tres meses. En otras realizaciones, se administra al sujeto una dosis eficaz de un anticuerpo más de una vez al mes, tal como, por ejemplo, cada tres semanas, cada dos semanas o una vez por semana. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo una vez cada 1, 2, 3, 4 o 5 semanas. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo dos o tres veces por semana. Se administra una dosis eficaz de un anticuerpo al sujeto al menos una vez. En algunas realizaciones, la dosis eficaz de un anticuerpo se puede administrar múltiples veces, inclusive durante períodos de al menos un mes, al menos seis meses o al menos un año.

En ciertas realizaciones, la combinación del anticuerpo anti-VISTA y un segundo agente, como se expuso en la presente, se puede administrar de manera concurrente como una sola composición en un portador farmacéuticamente aceptable, o de manera concurrente como composiciones separadas con el anticuerpo anti-VISTA y el segundo agente en un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, la combinación del anticuerpo anti-VISTA y el segundo agente se pueden administrar secuencialmente. La administración de los dos agentes se puede iniciar en intervalos de, por ejemplo, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días, o una o más semanas, o la administración del segundo agente se puede iniciar, por ejemplo, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días, o una o más semanas después de haber administrado el primer agente.

Métodos para identificar Ab que se unen a hVISTA-ECD a pH bajo

En la presente también se proporcionan métodos para identificar Ab que se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas (o pH bajo). En ciertas realizaciones, un método para identificar un Ab que se une específicamente a una proteína VISTA-

ECD a pH 6,5 o menor comprende poner en contacto un Ab de ensayo o una pluralidad de Ab de ensayo con una proteína VISTA-ECD a pH 6,5 o menor, y seleccionar el Ab de ensayo si este se une al ECD de la proteína VISTA con una K_D de 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M o menor. En algunas realizaciones, el método se realiza a pH 6,5, mientras que en otras se realiza a pH 6,0, o a pH 5,5 o a pH 5,0. En algunas realizaciones, la proteína VISTA-ECD es una proteína hVISTA-ECD, o comprende el dominio IgV hVISTA, o es un polipéptido que comprende los aminoácidos 20-95 de SEQ ID NO:2, o los aminoácidos 20-70, 35-95 o 35-70 de SEQ ID NO:2. En algunas realizaciones, el polipéptido también comprende los aminoácidos 95-105 de SEQ ID NO:2. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende los aminoácidos 35-127 o 37-125 de SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones, el método además comprende ensayar la unión del Ab de ensayo o de la pluralidad de Ab de ensayo a pH neutro, fisiológico o alcalino, tal como a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas realizaciones, el método además comprende seleccionar un anticuerpo si este no solo se une a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M o menor a pH 6,5 o más bajo, sino también si este se une específicamente al polipéptido a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas realizaciones, los Ab de ensayo se seleccionan si estos se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, y también se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a pH neutro y/o alcalino con similar afinidad (es decir, son "panligandos"). Por ejemplo, algunos de tales Ab se pueden unir a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M o menor tanto a pH 6,5 como a pH 7,0 o pH 7,4 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C) de forma tal que la K_D a pH 6,5 está dentro de 1,5 veces la K_D a pH 7,0.

Ciertos Ab se pueden seleccionar si se unen específicamente a una proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, con mayor afinidad que a pH neutro o alcalino ("ligandos sensibles al pH" o "Ab sensibles al pH"). Por ejemplo, en algunas realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor a pH 6,5 y con una K_D de más de 10^{-8}M a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas de tales realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8} M o menor a pH 6,5 y con una K_D a pH 7,0 o pH 7,4 que es más que 1,5 veces más alta que a pH 6,5. En ciertas realizaciones, un Ab sensible al pH se selecciona si este se une específicamente a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces o 5.000 veces menor a pH 6,5 que a pH 7,0 o pH 7,4 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C). Por ejemplo, en algunos casos un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces o 5.000 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0 o pH 7,4 o mayor (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a

37°C).

En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une específicamente a la proteína VISTA-ECD con una k_{off} que es menor en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces menor a pH 6,5 que la k_{off} a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una velocidad k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si se une a la proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es mayor en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces mayor a pH 6,5 que la k_{on} a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, en algunas realizaciones un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces mayor a pH 6,0 que a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

Métodos para modificar la sensibilidad al pH de Ab que se unen a VISTA-ECD

Un Ab que se une a una proteína VISTA-ECD, pero no lo hace a pH 6,5 o menor, o que no lo hace con una alta afinidad a pH 6,5 o menor, se puede modificar genéticamente para aumentar su afinidad de unión a pH 6,5 o menor. Por ejemplo, el parátopo de un Ab se puede mutar, por ejemplo, mediante la sustitución de uno o más residuos de aminoácidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se pueden reemplazar 1 a 8, por ejemplo, 1 a 6, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2 o 1 residuos aminoácidos en la cadena ligera o pesada del Ab que son residuos de contacto con VISTA-ECD (por ejemplo, residuos en una o más de las CDR) con un residuo aminoácido diferente. Luego, el Ab mutado se puede ensayar para determinar su unión a la proteína VISTA-ECD a pH 6,5 o menor y se pueden seleccionar las especies de Ab que se unen con más alta afinidad que el anticuerpo original. Si se lo desea, se pueden repetir los pasos mencionados de forma tal que se realizan dos o más vueltas de mutagénesis y selección sobre el Ab y se seleccionan las uniones con más alta afinidad a pH ácido. En algunas realizaciones, tales selecciones pueden mejorar la eficacia anti-tumoral del anticuerpo obtenido sobre el original.

El método de selección antes mencionado también se puede diseñar para seguir la selección general descripta anteriormente para anticuerpos que se unen específicamente a la

proteína VISTA-ECD. A saber, en ciertas realizaciones, el Ab mejorado se selecciona si este se une al ECD de la proteína VISTA con una K_D de 10^{-8} M o menor a pH 6,5. En algunas realizaciones, la selección se realiza a pH 6,0, o a pH 5,5 o a pH 5,0 en vez de a pH 6,5. En algunas realizaciones, la proteína VISTA-ECD usada para el proceso de selección es una proteína hVISTA-ECD completa, o es un polipéptido que comprende el dominio IgV hVISTA, o es un polipéptido que comprende los aminoácidos 20-95 de SEQ ID NO:2, o los aminoácidos 20-70, 35-95 o 35-70 de SEQ ID NO:2. En algunas realizaciones, el polipéptido también comprende los aminoácidos 95-105 de SEQ ID NO:2. En algunas realizaciones, se usa un polipéptido que comprende los residuos de aminoácidos 35 a 127 de SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones, un método para mejorar la unión de un anticuerpo VISTA a VISTA ECD a pH ácido comprende aumentar el número de residuos de ácido glutámico, ácido aspártico e histidina en una o varias CDR de VH o VL, por ejemplo, CDR1, CDR2 y CDR3 de VH o solamente CDR1 y CDR3 de VH. En ciertas realizaciones, un método comprende aumentar la cantidad de ácido glutámico, ácido aspártco y/o residuos de histidina en áreas del anticuerpo que contact hVISTA según se determina, por ejemplo, mediate cristalografía.

En algunas realizaciones, el método además comprende ensayar la unión del Ab seleccionado a pH neutro, alcalino o fisiológico, tal como a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas realizaciones, el método además comprende seleccionar un anticuerpo si este no solo se une a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8} M o menor a pH 6,5 o menor, sino si este también se une específicamente al polipéptido a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas de tales realizaciones, los Ab se seleccionan si estos se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, y también se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a pH neutro y/o alcalino o fisiológico con similar afinidad (es decir, son "panligandos"). Por ejemplo, algunos de tales Ab se pueden unir a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8} M o menor, tanto a pH 6,5 como a pH 7,0 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C) de modo que K_D a pH 6,5 está dentro de 1,5 veces la K_D a pH 7,0 o a pH 7,4.

Ciertos Ab se pueden seleccionar si se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH 6,5 o menor, con mayor afinidad que a pH neutro, fisiológico o alcalino ("ligandos sensibles al pH" o "Ab sensibles al pH"). Por ejemplo, en algunas realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor a pH 6,5 y con una K_D de más de 10^{-8}M a pH 7,0. En algunas de tales realizaciones, los Ab pueden unirse a la proteína VISTA-ECD con una K_D de 10^{-8}M o menor a pH 6,5 y con una K_D a pH 7,0 que es más que 1,5 veces más alta que a pH 6,5. En ciertas realizaciones, un Ab sensible al pH se selecciona si este se une específicamente a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces,

1.000 veces o 5.000 veces menor a pH 6,5 que a pH 7,0 o pH 7,4 (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C). Por ejemplo, en algunos casos un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una K_D que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces, 300 veces, 500 veces, 1.000 veces o 5.000 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0 o pH 7,4 o mayor (a una temperatura constante, por ejemplo, de 25°C o a 37°C).

En ciertas realizaciones, el método además comprende determinar k_{off} a dos valores de pH. En algunas de tales realizaciones, un Ab se selecciona si este se une específicamente a la proteína VISTA-ECD con una k_{off} que es inferior en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces menor a pH 6,5 que la k_{off} a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una velocidad k_{off} que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces menor a pH 6,0, en relación con pH 7,0, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

En ciertas realizaciones, el método además comprende determinar k_{on} a dos valores de pH. En ciertas de tales realizaciones, un Ab se selecciona si este se une ala proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es mayor en condiciones ácidas en relación con condiciones neutras, fisiológicas o alcalinas. En ciertas realizaciones, un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD en condiciones ácidas con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces mayor a pH 6,5 que la k_{on} a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C. Por ejemplo, en algunas realizaciones un Ab se selecciona si este se une a la proteína VISTA-ECD con una k_{on} que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces mayor a pH 6,0 que a pH 7,0 o pH 7,4, según se mide, por ejemplo, a 25°C o a 37°C.

Los anticuerpos que se unen preferencialmente a huVISTA a pH ácido, frente a pH neutro o fisiológico se pueden identificar mediante el tamizaje positivo de una genoteca de anticuerpos VISTA o Fabs o scFvs para detectar la unión a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o 6,5, y el tamizaje negativo de la genoteca para detectar la falta de unión a pH neutro, por ejemplo, pH 7,0 o pH fisiológico, por ejemplo, pH 7,4. Una genoteca puede estar enriquecida con residuos de ácido glutámico, ácido aspártico e histidina, de manera de seleccionar dominios de unión que pueden estar cargados y es más probable que se unan a VISTA a pH ácido. El tamizaje puede suponer la selección positiva a pH ácido y selecciones negativas a pH neutro o fisiológico. Las selecciones positivas y negativas pueden alternarse.

Por otra parte, un anticuerpo que se une a VISTA a pH neutro y ácido se puede modificar

genéticamente para que carezca de unión a pH neutro y mantener o incluso mejorar a pH ácido. Por ejemplo, una biblioteca puede crearse al sustituir los residuos de aminoácidos de VH y opcionalmente VL, tal como en una o más CDR y evaluar la biblioteca mediante selección positiva para anticuerpos que se unen a hVISTA a pH ácido y selección negativa para anticuerpos que no se unen a VISTA a pH neutro (o fisiológico). Un método similar se puede usar para modificar genéticamente los anticuerpos de unión a VISTA que tienen el perfil de unión a VISTA independiente de pH, dependiente de pH, selectivo de pH deseado.

Realizaciones específicas

Las realizaciones adicionales de esta divulgación incluyen las siguientes:

1. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente al dominio extracelular del supresor de la activación de las células T que contiene el dominio V de inmunoglobulina humana (hVISTA), donde el Ab:
    a. Se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una constante de afinidad (K_D) de 10^{-7} M o menor;
    b. Se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una constante de velocidad para la disociación (k_{off}) de 10^{-3} sec^{-1} o menor; o
    c. Se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor y una k_{off} de 10^{-3} sec^{-1} o menor.
2. El Ab aislado de la realización 1, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-8} M o menor.
3. El Ab aislado de la realización 2, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-9} M o menor.
4. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-3, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una k_{off} de 10^{-4} sec^{-1} o menor.
5. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-4, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 7,0 o mayor con:
    a. una K_D de 10^{-7} M o menor;
    b. una k_{off} de 10^{-3} sec^{-1} o menor; o
    c. una K_D de 10^{-7} M o menor y una k_{off} de 10^{-3} sec^{-1} o menor.
6. El Ab aislado de la realización 5, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 7,0 o mayor con una K_D de 10^{-8} M o menor.
7. El Ab aislado de la realización 6, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 7,0 o mayor con una K_D de 10^{-9} M o menor.
8. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 5-7, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a

pH 7,0 o mayor con una k_{off} de 10^{-4} sec^{-1} o menor.

9. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 5-8, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una afinidad similar a la de pH 7,0.
10. El Ab aislado de la realización 9, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con mayor afinidad que a pH 7,0.
11. El Ab aislado de la realización 10, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una K_D que es al menos 1,5 veces menor que a pH 7,0.
12. El Ab aislado de la realización 11, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una K_D que es al menos 2 veces menor que a pH 7,0.
13. El Ab aislado de la realización 11, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una K_D que es al menos 5 veces menor que a pH 7,0.
14. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 10-13, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una k_{off} que es menor que a pH 7,0.
15. El Ab aislado de la realización 14, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una k_{off} que es al menos 1,5 veces menor que a pH 7,0.
16. El Ab aislado de la realización 15, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una k_{off} que es al menos 2 veces menor que a pH 7,0.
17. El Ab aislado de la realización 16, donde el Ab se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una k_{off} que es al menos 5 veces menor que a pH 7,0.
18. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-17, donde el Ab se une específicamente a hVISTA-ECD en condiciones en las que al menos un residuo de histidina de hVISTA-ECD está protonado.
19. El Ab aislado de la realización 18, donde el Ab se une al dominio IgV de hVISTA-ECD.
20. El Ab aislado de la realización 19, donde el Ab se une a una región ubicada dentro de los aminoácidos 20 y 95 de SEQ ID NO: 2.
21. El Ab aislado de la realización 20, donde el Ab se une a una región ubicada dentro de los aminoácidos 20 y 70 de SEQ ID NO: 2.
22. El Ab aislado de la realización 21, donde el Ab se une a una región ubicada dentro de los aminoácidos 35 y 70 de SEQ ID NO: 2.
23. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 20-22, donde el Ab además se une a otra región del ECD de hVISTA.
24. El Ab aislado de la realización 23, donde la otra región está ubicada dentro de los aminoácidos 95 y 105 de SEQ ID NO: 2.
25. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 18-24, donde la unión se determina mediante intercambio de hidrógeno-deuterio acoplado a espectrometría de masas (HDX-

MS, por sus siglas en inglés).

26. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-25, donde el Ab inhibe la unión de hVISTA a una célula a la cual, de otro modo, hVISTA se habría unido.
27. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-26, donde el Ab desencadena o aumenta una respuesta inmunitaria en un modelo tumoral.
28. El Ab aislado de la realización 27, donde el Ab desencadena o aumenta la actividad de las células T en un modelo tumoral.
29. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-28, donde el Ab inhibe el crecimiento tumoral en un modelo tumoral.
30. El Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-29, donde el Ab inhibe la unión de hVISTA a células T.
31. El Ab de la realización 30, donde el Ab inhibe más fuertemente la unión de hVISTA a células T a pH 6,5 o menor que a pH 7,0 o mayor, tal como donde el anticuerpo inhibe más fuertemente la unión de hVISTA con células T a pH 6,5 que a pH 7,0.
32. Una composición que comprende un Ab aislado de cualquiera de las realizaciones 1-31 y un portador farmacéuticamente aceptable.
33. Un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende administrar al sujeto una composición de la realización 32.
34. Un método para identificar un Ab que se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor, que comprende poner en contacto un Ab de ensayo o una pluralidad de Ab de ensayo con un polipéptido que comprende hVISTA-ECD o un fragmento de este que comprende el dominio IgV de hVISTA-ECD o comprende los aminoácidos 20-95, 20-70, o 35-70 de SEQ ID NO:2 a pH 6,5 o menor, y seleccionar el Ab o los Ab de ensayo que se unen al polipéptido con una K_D de 10^{-7} M o menor.
35. Un método para identificar un Ab que se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una k_{off} de 10^{-3} sec^{-1} o menor, que comprende poner en contacto un Ab de ensayo o una pluralidad de Ab de ensayo con un polipéptido que comprende hVISTA-ECD o un fragmento de este que comprende el dominio IgV de hVISTA-ECD o comprende los aminoácidos 20-95, 20-70, o 35-70 de SEQ ID NO:2 a pH 6,5 o menor, y seleccionar el Ab o los Ab de ensayo que se unen al polipéptido con una k_{off} de 10^{-3} sec^{-1} o menor.
36. Un método para identificar un Ab que se une específicamente a hVISTA-ECD a pH 6,5 con una afinidad similar a la de pH 7,0 que comprende:
    a. poner en contacto un Ab de ensayo o una pluralidad de Ab de ensayo a pH 6,5 con un polipéptido que comprende hVISTA-ECD o un fragmento de este que comprende el dominio IgV de hVISTA-ECD o que comprende los aminoácidos 20-95, 20-70 o

35-70 de SEQ ID NO:2;

b. poner en contacto el Ab de ensayo o la pluralidad de Ab de ensayo a pH 7,0 con el polipéptido de (a); y

c. seleccionar un Ab de ensayo si este se une al polipéptido con una K_D de 10^{-7} M o menor a pH 6,5 y a pH 7,0.

37. Un método para identificar un Ab que se une con mayor afinidad a hVISTA-ECD a pH 6,5 que a pH 7,0 que comprende:

a. poner en contacto un Ab de ensayo o una pluralidad de Ab de ensayo a pH 6,5 con un polipéptido que comprende hVISTA-ECD o un fragmento de este que comprende el dominio IgV de hVISTA-ECD o que comprende los aminoácidos 20-95, 20-70 o 35-70 de SEQ ID NO:2;

b. poner en contacto el Ab de ensayo o la pluralidad de Ab de ensayo a pH 7,0 con el polipéptido de (a); y

c. seleccionar un Ab de ensayo si este se une al polipéptido con una K_D al menos 2 veces menor a pH 6,5 que a pH 7,0.

38. Un método para identificar un Ab que se une específicamente a hVISTA-ECD para usar en el tratamiento del cáncer, que comprende:

a. identificar Ab que se unen específicamente a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor, tal como según los métodos de las realizaciones 32-35; y

b. seleccionar los Ab de (a) que desencadenan o aumentan una respuesta inmunitaria en un modelo tumoral o que inhiben el crecimiento tumoral a pH 6,5 o menor.

39. El método de la realización 38, donde el paso (b) comprende medir la actividad de las células T.

40. El método de la realización 38 o 39, que además comprende medir el efecto anti-tumoral del Ab.

41. Un método para mejorar la eficacia anti-tumoral de un Ab que se une a hVISTA-ECD, que comprende:

a. Proporcionar un Ab que se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una afinidad que es menor que un valor deseado, por ejemplo, con una K_D de 10^{-7} M o más, por ejemplo, 10^{-6} M, 10^{-5} M o más y/o koff de 10^{-2} sec-1 o más;

b. Reemplazar 1 a 5 residuos de aminoácidos en la cadena ligera o pesada del Ab con un residuo de aminoácidos diferente, donde los 1 a 5 residuos de aminoácidos son residuos de contacto con hVISTA-ECD;

c. Determinar si el Ab obtenido en (b) tiene mayor afinidad por hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor en relación con el Ab de (a); y

d. Repetir los pasos (a) - (c), una cantidad de vueltas suficientes para obtener un Ab que se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor.

42. Un método para mejorar la eficacia anti-tumoral de un Ab que se une a hVISTA-ECD, que comprende:

a. Proporcionar un Ab que se une a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una afinidad que es menor que un valor deseado, por ejemplo, con una K_D de 10^{-7} M o más, por ejemplo, 10^{-6} M, 10^{-5} M o más y/o koff de 10^{-2} sec-1 o más;

b. Preparar una genoteca de variantes del Ab de (a), donde cada variante comprende una sustitución de 1 a 5 residuos de aminoácidos en la cadena ligera o pesada del Ab con un residuo de aminoácidos diferente, donde los 1 a 5 residuos de aminoácidos son residuos de contacto con hVISTA-ECD;

c. Seleccionar Ab de la genoteca de variantes de (b) que se unen a hVISTA-ECD a pH 6,5 o menor con una K_D de 10^{-7} M o menor; y opcionalmente,

d. Ensayar la eficacia antitumoral de los Ab de (c) en un modelo tumoral.

43. Un método para mejorar la farmacocinética de un anticuerpo que se une a VISTA ECD humano, que comprende mejorar la capacidad del anticuerpo para unirse a VISTA humano en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH igual o menor que 6,5.

44. Un método para seleccionar un anticuerpo que se une a VISTA humano y tiene una semivida extendida (buenas propiedades farmacocinéticas), donde el método comprende seleccionar un anticuerpo que se une a VISTA humano en condiciones ácidas, por ejemplo, a pH igual o menor que 6,5.

Se proporcionan realizaciones de ejemplo adicionales en las reivindicaciones más adelante.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se exponen a continuación se consideran puramente ejemplares de la invención y no se deberá considerar que limitan la invención en modo alguno. Los ejemplos no están destinados a representar que los experimentos que siguen son la totalidad o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero podrían existir algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está expresada en grados Centígrados, y la presión es presión atmosférica o cercana a esta.

Ejemplo 1: El dominio extracelular de VISTA es excepcionalmente rico en histidinas

Este ejemplo muestra que el dominio extracelular de VISTA es excepcionalmente rico en residuos de histidina, que estos residuos de histinda están conservados evolutivamente, y que pueden contribuir con las interacciones receptor-ligando que involucran VISTA.

Se extrajeron las secuencias de aminoácidos de los dominios extracelulares (ECD) de proteínas que contienen el dominio inmunoglobulina de las bases de datos uniprot y swiss-prot y se analizó el contenido de histidina. La Fig. 1A ilustra los resultados de estos análisis como un gráfico. Para cada proteína, la frecuencia de residuos de histidina como un porcentaje de todos los residuos aminoácidos del dominio extracelular está graficada sobre el eje y, y el número total de residuos aminoácidos del dominio extracelular está graficado sobre el eje x. El diámetro de cada punto de datos corresponde al número total de residuos de histidina en el dominio extracellar de cada proteína. VISTA (marcado) contiene una frecuencia excepcionalmente alta de residuos de histidina en su dominio extracelular.

Luego se evaluó la conservación evolutiva de los residuos de histidina en VISTA. La Fig. B1 muestra que las secuencias de referencia de aminoácidos de VISTA de ser humano, macaco cynomolgus y ratón fueron alineadas, excluyendo los péptidos señal ("Sig"), los dominios transmembrana ("TMD") y los dominios intracelulares. Los residuos de histidina que se conservan a través de las tres especies están en negrita y subrayados. Los residuos de histidina que están conservados a través de VISTA humano y cyno están en negrita sin subrayado. Muchos de los residuos de histidina del dominio extracelular de VISTA están evolutivamente conservados, lo que sugiere un importante rol biológico del alto contenido de histidina de VISTA.

Se creó un modelo tridimensional del dominio IgV de hVISTA sobre la base del análisis de homología de secuencias de las estructuras resueltas disponibles en la base de datos PDB (Banco de Datos de Proteínas, por sus siglas en inglés). El modelo, que se muestra en la Fig. 1C, indica que muchas histidinas en el ECD de VISTA están expuestas en la superficie de la molécula, donde pueden desempeñar un rol en la unión del ligando como así también en el reconocimiento de anticuerpos. Los residuos de histidina se ilustran como bolas y bastones.

Ejemplo 2: La protonación de histidina puede regular la unión receptor-lingando de VISTA y la actividad inmunosupresora en tumores y otros microentornos ácidos.

Este Ejemplo describe la protonación de histidina en respuesta a pH ácido fisiológicamente pertinente, como así también un modelo en el cual las histidinas del dominio extracelular de VISTA confieren al contrarreceptor o al ligando selectividad por pH ácido en vez de pH fisiológico.

La Fig. 2A muestra el equilibrio entre la falta y la presencia de protonación del grupo pirrol amonio (NH) en un residuo de histidina. La pKa de la histidina en solución es 6,5, lo que indica que es más probable que los residuos de histidina estén protonados a pH 6,5 y menor, y por lo tanto, cargados positivamente, que a pH más alto. El aumento de la carga positiva en la superficie del ECD de VISTA como resultado de la protonación puede afectar la unión del ligando o el receptor como así también la estructura y/o la función de VISTA. Por lo tanto, los cambios en el pH también pueden modificar los epítopos de unión al anticuerpo y/o resultar en variadas afinidades de los anticuerpos.

La Fig. 2B muestra muestra [sic] un modelo en el cual VISTA se une al ligando glicoproteico para P-selectina 1 (PSGL-1) u otros contrarreceptores y ligandos ("VISTA-R") selectivamente a pH ácido. A pH fisiológico, tal como en la sangre, es de esperar que los residuos de histidina en el ECD de VISTA no estén protonados. Como resultado, la unión de VISTA a PSGL-1 u otros contrarreceptores y ligandos es despreciable a pH fisiológico. Por el contrario, en ubicaciones que tienden a tener un pH extracelular ácido, tales como microentornos tumorales o sitios de inflamación, el pH ácido puede parcial o totalmente impulsar la protonación de la histidina en VISTA ECD y así permitir la unión de VISTA con PSGL-1 y otros contrarreceptores y ligandos. Por consiguiente, los anticuerpos que se unen fuertemente a las proteínas VISTA-ECD a rangos de pH ácido pueden ser más eficaces para inhibir la actividad de VISTA en tumores.

Ejemplo 3: VISTA se expresa mediante células mielomonocíticas en tumores

Este Ejemplo muestra que VISTA se expresa frecuentemente mediante células mielomonocíticas en tumores, inclusive macrógafos, células dendríticas y granulocitos.

Muestras de carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma renal de células claras, melanoma, carcinoma colorrectal y otras muestras extirpadas quirúrgicamente, se lavaron en PBS helado, se cortaron en piezas de un tamaño de aproximadamente 15 mm^3, y se suspendieron en medio RPMI-1640 helado (Nro. de catálogo Fisher Scientific 11875093) complementado con FBS inactivado por calor 2% y EDTA 2 mM (Fisher Scientific 15575020). Se transfirió cada muestra a un homogeinizador de vidrio de tamaño grande tipo Dounce (Tenbroeck Tissue Grinders) y se trituró hasta que las piezas de tejido estaban visualmente desasociadas. Las suspensiones se filtraron a través de una malla de nailon de 70 μM y se centrifugaron. Se

descartaron los sobrenadantes y los sedimentos celulares ser re-suspendieron en PBS a temperatura ambiente complementado con albúmina de suero bovino 0,1 % y 250 mg/mL de DNasa 1 estérilmente filtrada (grado II, de páncreas bovino, Nro. de catálogo Roche 10104159001) durante 3 minutos a temperatura ambiente. Las células luego se lavaron en RPMI suplementado helado y se resuspendieron en PBS helado. Se agregó un colorante para determinar la viabilidad celular y las células se incubaron sobre hielo en la oscuridad. Después de 20 minutos, se bloqueo la tinción de anticuerpos no específicos agregando sueros de rata normal 4%, sueros de ratón normal 4%, sueros humanos de plasma AB 20%, y TruStain FcX™ Humano diluido 1:125 (Nro. de catálogo Biolegend 422302). Las células se tiñeron con anticuerpos conjugados con fluoróforos anti HLA-DR (BD Biosciences, número de catálogo 564040), CD8 (Fisher Scientific, número de catálogo 46-0087-42), CD14 (Biolegend, número de catálogo 325620), CD45 (Biolegend, número de catálogo 304017), CD4 (BD Biosciences, número de catálogo 563875), CD11c (BD Biosciences, número de catálogo 744439), CD15 (BD Biosciences, número de catálogo 563142), PD-1 (BD Biosciences, número de catálogo 565299), CD3 (BD Biosciences, número de catálogo 565515), CD56 (Fisher Scientific, número de catálogo 61-0567-42), CD19 (BD Biosciences, número de catálogo 564977), y VISTA (anticuerpo VISTA 3 conjugado con AlexaFluor™ 647, Fisher Scientific, número de catálogo A20186) suspendidos en tampón para tinción brillante (BD Biosciences, número de catálogo 562794) durante 30 minutos sobre hielo en la oscuridad. Las células teñidas se lavaron en PBS helado, se fijaron (Fisher Scientific, número de catálogo 00-5523-00), y se adquirieron en un citómetro de flujo. Los datos se analizaron usando el programa FlowJo™ (BD Biosciences). Como se muestra en la Fig. 3, la expresión de VISTA en la superficie de las células fue elevada en macrófagos y granulocitos, moderada en células dendríticas y baja en células T, células asesinas naturales y células B.

Ejemplo 4: La unión celular de VISTA exhibe selectividad por pH ácido

Este Ejemplo muestra que VISTA ECD humano multimerizado se une más eficientemente a células T CD4+ humanas estimuladas y a células mononucleares de sangre periférica humana a pH ácido que a pH neutro o fisiológico, y que esta unión se puede bloquear mediante un anticuerpo de bloqueo VISTA anti-humano. También se muestra la unión de VISTA ECD murino dimerizado selectivo para pH ácido a esplenocitos murinos.

Se enriquecieron células T CD4+ humanas con sangre de donantes sanos de RosetteSep™ (Stemcell, número de catálogo 15062) y se estimularon *in vitro* durante aproximadamente cuatro días con Activador T humano CD3/CD28 Dynabeads™ (Fisher Scientific, número de catálogo 111.32D) e IL-2 humana recombinante (Peprotech, número de catálogo 200-02) en RPMI-1640 complementado con FBS inactivado con calor 10%, Glutamax™ (Fisher

Scientific, número de catálogo 35050061), aminoácidos no esenciales (Fisher Scientific 11140050), piruvato de sodio (Fisher Scientific, número de catálogo 11360070), y 2-mercaptoetanol (Fisher Scientific 21985023). Las células T CD4+ activadas se tiñeron con moléculas hVISTA ECD monobiotiniladas (Phe 33 - Ala 194 (Nro. de acceso AAH20568)-polihistidina; AcroBiosystems, Inc. B75- H82F3) cargadas con una proporción molar 28:1 en dextrámeros de estreptavidina conjugados con ficoeritrina (PE) (número de catálogo DX01-PE) se diluyeron en solución salina tamponada de Hank (HBSS, Fisher Scientific, número de catálogo 14025134) y se acidificaron a diversos pH con mM [sic] MES (Sigma, 1317-100ML) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Como control, se tiñeron células T CD4+ activadas con dextrámeros de estreptavidina conjugados con PE (fosfatidiletanolamina) que no estaban cargados con hVISTA. Las células teñidas se lavaron con HBSS + MES y se adquirieron en un citómetro de flujo. Los datos se analizaron usando el programa FlowJo™ (BD Biosciences). Los resultados, ilustrados en la Fig. 4A, muestran que hVISTA no se unió a las células T CD4+ mejor que el control a pH > 6,5. Por el contrario, hVISTA exhibió progresivamente unión más fuerte a células T CD4+ a pH < 6,5. A la izquierda, de color gris oscuro a más claro, el relleno de los histogramas ilustra la unión a pH 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 y 6,0. Algunos histogramas están etiquetados con su correspondiente pH. El multímero de control no-VISTA con unión a pH 6,0 se muestra como el histograma sin relleno. A la derecha, se grafican las intensidades medias de fluorescencia (MFI) PE de células T CD4+ teñidas con dextrámeros cargados con hVISTA (círculos) o con dextrámeros sin carga (triángulos) a diversos pH.

Se enriquecieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de sangre de donante sano mediante centrifugación por gradiente de ficoll (Ficoll-Paque Plus, GE Life Sciences, número de catálogo 17144003) y se tiñeron con dextrámeros cargados con hVISTA (también denominados multímeros) y se conjugaron con fluoróforo diluido en tampones HBSS + MES como se describió anteriormente. La Fig. 4B muestra histogramas rellenos que ilustran, de color gris oscuro a más claro, ilustra la unión a pH 6,0 a células B CD19+, células T CD4+, células T CD8+, células NK CD56+ y monocitos CD14+. Los histogramas sin relleno, con bordes con línea continua y con línea punteada, ilustran la unión a pH 7,4 a linfocitos y monocitos totales de PBMC, respectivamente. Las Figs. 4F y 4G muestran que VISTA se une tanto a monocitos como neutrófilos, y lo hace más fuertemente a pH 6,0 que a pH 7,4. Los resultados muestran que hVISTA se puede unir a muchos leucocitos a pH ácido pero no a pH fisiológico de manera singificativa.

Se tiñeron células T CD4+ humanas activadas con multímeros hVISTA a pH 6 en presencia de anticuerpo VISTA anti-humano titulado o un anticuerpo específico no-VISTA coincidente con el isotipo. Los resultados, graficados en la Fig. 4C, muestran la MFI del multímero VISTA en relación

con la concentración de anticuerpos. El anticuerpo anti-hVISTA (anticuerpo VISTA 3; cuadrados), pero no el anticuerpo de control específico no-VISTA (círculos), bloqueó la unión de hVISTA a células T CD4+ activadas en una forma dependiente de la concentración. La MFI PE de células T CD4+ que no se tiñeron con multímeros cargados con hVISTA se incluye como control (triángulo solo).

La Fig. 4D muestra gráficos representativos de citometrias de flujo bidimensionales de la tinción del multímero VISTA a pH 6,0 a células de ovario de hámster chino (CHO) mutantes heparán sulfato (línea pGSD-677, American Type Culture Collection) que fueron transfectadas para expresar PSGL-1 humano de longitud completa (SEQ ID NO:3; ácido nucleico NM_003006.4). La tinción se efectuó en presencia o ausencia de un anticuerpo titulado de bloqueo anti-VISTA (mAb 3). Las células dejadas sin tinción por los multímeros VISTA se muestran como control. La tinción de anticuerpos PSGL-1 (BD Biosciences, número de catálogo 562758) se grafica sobre el eje y, y la tinción de multímeros VISTA se grafica sobre el eje x.

Se recolectaron esplenocitos murinos C57BL6/J (Jackson Laboratory, número de catálogo 000664) y se tiñeron con proteínas de fusión quiméricas de Fc (fragmento cristalizable) de IgG humana / mVISTA ECD seguido de anticuerpos secundarios Fc de IgG anti-humana conjugados con fluoróforos (Jackson Immunoresearch, número de catálogo 109-065-098) a pH 6,0 o 7,4. Los resultados, ilustrados mediante el histograma en la Fig. 4E, muestran que mVISTA se une a esplenocitos murinos más eficientemente a pH 6,0 que a pH fisiológico (aproximadamente pH 7,4). El relleno de los histogramas, de color gris oscuro a más claro, ilustra la unión a pH 6,0 a células T CD8+, células mieloides CD11b+ y células T CD4+. Los histogramas sin relleno ilustran la unión a pH 7,4 a esplenocitos totales.

Ejemplo 5: VISTA media la adhesión célula : célula y la supresión inmunitaria selectivamente a pH ácido

Este Ejemplo muestra que VISTA media la adhesión célula : célula y suprime la activación de células T más potentemente a pH ácido que a pH neutro o fisiológico.

Se estableció un ensayo de conjugado célula/célula basado en citometría de flujo compatible con pH ácido. Células 293T (una línea celular de riñón humano embrionario inmortalizadas, número de catálogo ATCC CRL-3216) que expresaban ectópicamente VISTA humano de longitud completa o un vector se etiquetaron con CFSE (éster de succinimidil carboxifluoresceína; Fisher Scientific, número de catálogo C34554). Se marcaron células CHO con Far Red CellTrace™ (Fisher Scientific, número de catálogo C34564). El vector o las células 293T VISTA luego se mezclaron en una proporción 1:1 con células CHO en tampones a pH 7,0 o pH 6,0 y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Mediante citometría de flujo se evaluó la

formación de conjugados célula/célula CHO y 293T. Los resultados que se muestran en las Figs. 5A-B demuestran que las células 293T que expresan VISTA preferentemente se adhieren a células CHO a pH ácido y que la inclusión de un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (VISTA mAb 3; barras blancas) inhibe la adhesión célula/célula mediada por VISTA.

Se estableció un ensayo de supresión de células T compatible con un pH ácido. Células Jurkat (una línea celular de células T humanas inmortalizadas, número de catálogo ATCC TIB-152) que expresan un reportero de luciferasa impulsado por un promotor NFkB se co-cultivaron en tampones HBSS + MES a diversos pH con células 293T (una línea celular de riñón humano embrionario inmortalizadas, número de catálogo ATCC CRL-3216) que expresaban ectópicamente VISTA humano de longitud completa y un fragmento variable monocatenario del clon del anticuerpo agonista del receptor de células T anti-humano OKT3 en una proporción 10 : 1 Jurkat : células 293T. Se agregó a los co-cultivos un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (VISTA mAb 3) o un anticuerpo de control específico no-VISTA coincidente con el isotipo a razón de 10 μg/mL. Después de la incubación, se cuantificó la activación de células T Jurkat midiendo la actividad de luciferasa (1 segundo de intervalo Promega número de catálogo G7940). Los resultados se muestran en las Fig. 5C-D. La Fig. 5C muestra un gráfico de unidades de luciferasa en Jurkats tratadas con anti-VISTA (cuadrados) o anticuerpo de control (círculos) a diferentes pH. La Fig. 5D muestra un gráfico de la señal de luciferasa en co-cultivos tratados con anticuerpo anti-VISTA divididos por la señal de luciferasa en co-cultivos tratados con anticuerpo de control a cada pH ensayado. Los resultados muestran que la supresión de células T mediada por VISTA es más potente a pH ácido.

Ejemplo 6: VISTA circula a través de endosomas intracelulares de reciclaje

Este Ejemplo muestra que VISTA se puede hallar en endosomas intracelulares, particularmente endosomas de reciclaje Rab11+, y que puede reciclarse hacia y desde la superficie celular mediante el tráfico endosómico. La fuerza con la que un anticuerpo anti-VISTA se une a VISTA a pH ácido ejerce influencia sobre su capacidad de permanecer unido a VISTA durante el tráfico endosómico.

Se aislaron monocitos de PBMC mediante clasificación celular activada magnéticamente. Luego, los monocitos y las células 293T se fijaron en paraformaldehído 4 % y se tiñeron intracelularmente para Rab5, Rab7 o Rab11, y con un anticuerpo anti-VISTA o de control. El anticuerpo de control ("cAb"), que es un anticuerpo de unión a no-VISTA del mismo isotipo que el anticuerpo anti-VISTA no se une de forma detectable a los monocitos ni a las células 293T que expresan VISTA humano. Los anticuerpos de control y anti-VISTA se etiquetaron directamente con Alexa488. Los anticuerpos Rab se detectaron usando un anticuerpo secundario Ig anti-conejo

Alexa594. Se realizó una tinción con Hoescht 33342 para identificar los núcleos de las células. Se capturaron las imágenes usando un microscopio confocal de disco giratorio. **La Fig. 6A** muestra la co-localización de VISTA, Rab5 (marcador endosómico temprano), Rab7 (marcador endosómico tardío) y Rab11 (marcador endosómico de reciclaje) dentro de células 293T que expresan VISTA humano. **La Fig. 6B** muestra la co-localización de VISTA y Rab11 dentro de monocitos humanos. VISTA intracelular está co-localizado con endosomas de reciclaje Rab11+.

Para evaluar la capacidad de VISTA para reciclarse a través de endosomas, se realizó un ensayo de eliminación con conjugado fármaco anticuerpo dependiente de endolisosomas con tres anticuerpos anti-hVISTA (VISTA mAb 1, 2 y 3) con propiedades de unión a VISTA variadas a pH fisiológico y ácido. Primero se realizó un ensayo SPR para comparar los perfiles de unión a hVISTA de los tres anticuerpos VISTA a pH 7,4, 6,7 y 6,0. Los anticuerpos VISTA se capturaron sobre un biosensor CM5 Biacore® T100 (GE Healthcare) que contenía Proteína A inmovilizada, luego 100nM de hVISTA-ECD (aminoácidos 32-193 de SEQ ID NO: 1 con una cola 7xHis, es decir, AFKVATPYSL YVCPEGQNVT LTCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENI TAHHHHHHH; SEQ ID NO: 325) se dejaron fluir en tampón de corrida PBST al pH indicado a 37 °C. Los sensogramas, en los que se restó la referencia, se normalizaron al punto de "unión" informado y se graficaron. El anticuerpo VISTA 3, "mAb 3", (Fig. 6C, arriba) exhibió el mayor grado de deterioro de unión a VISTA a pH ácido, seguido por el anticuerpo VISTA 2, "mAb 2" (Fig. 6C, centro) que solo exhibió un deterioro moderado. El anticuerpo VISTA 1, "mAb 1", mantuvo fuerte unión a VISTA en condiciones de pH ácido y fisiológico (Fig. 6C, abajo).

El ensayo de eliminación conjugado fármaco anticuerpo dependiente de endolisosomas se realizó como sigue: Células AML3 (una línea celular monocítica humana inmortalizada, ATCC CRL-9589), que endógenamente expresan VISTA humano, se cultivaron con anticuerpos anti-VISTA titulados o un anticuerpo de control específico no-VISTA y un anticuerpo secundario IgG antihumano que se conjugó con un enlace sensible a catepsina B y una carga de tubulisina citotóxica. Debido a que la catepsina B es predominantemente activa en endosomas y lisosomas tardíos, los anticuerpos anti-VISTA que se reciclan con VISTA a través de endosomas tempranos y endosomas de reciclaje experimentarán bajos niveles de escición del enlace, y como resultado, bajos niveles de liberación de carga citotóxica y muerte celular. Los anticuerpos anti-VISTA que se desasocian de VISTA en endosomas ácidos y clasificados en endosomas y lisosomas tardíos experimentarán niveles más altos de escición del enlace. La viabilidad celular se midió mediante Cell Titer Glo® (Promega, número de catálogo G7573) después de 5 días de cultivo. La Fig. 6D muestra los resultados de este ensayo, donde la viabilidad AML3 (Cell Titer Glo) se grafica sobre

el eje y, y las concentraciones de anticuerpos primarios se grafica sobre el eje x. EC50 calculadas para anticuerpos primarios: Anticuerpo VISTA 1, triángulos invertidos, 0,485 μg/mL; anticuerpo VISTA 2, círculos, 0,092 μg/mL; anticuerpo VISTA 3, cuadrados, 0,006 μg/mL; control, triángulos, 1,085 μg/mL. La potencia de los anticuerpos estuvo inversamente correlacionada con unión de anticuerpos anti-VISTA A pH ácido.

Para confirmar que la unión a pH ácido fue responsable de las diferencias en la potencia, se optimizó la afinidad del anticuerpo VISTA de forma tal que su capacidad de unión a VISTA a pH ácido fue mejorada. La Fig. 6E muestra un ensayo SPR que comprara los perfiles de unión al anticuerpo hVISTA del anticuerpo VISTA 3 con esta variante, el anticuerpo VISTA 3c, usando las condiciones de ensayo descriptas para la Fig. 6C. El anticuerpo VISTA 3 nuevamente exhibió deterioro de la unión a VISTA a pH ácido, mientras que la variante del anticuerpo VISTA 3c exhibió unión a VISTA comparable a pH ácido y fisiológico. La Fig. 6F muestra la actividad del anticuerpo VISTA 3c (rombos) en el ensayo de eliminación descripto para la Fig. 6D. La variante del anticuerpo VISTA 3 optimizada para pH ácido exhibió una potencia 31 veces menor que la del anticuerpo original, lo que indica que la unión deteriorada del anticuerpo anti-VISTA a pH ácido resulta en la pérdida de la unión del anticuerpo durante el reciclaje de VISTA.

Sobre la base de estos hallazgos, se propone un modelo de reciclaje en el cual VISTA se recicla hacia y desde la superficie celular mediante endosomas tempranos y endosomas de reciclaje. Este modelo se ilustra en la Fig. 6G. Los anticuerpos anti-VISTA se pueden reciclar con VISTA a través de estos endosomas, manteniendo la unión con la diana. No obstante, los anticuerpos VISTA con unión a VISTA deteriorada a pH ácido, particularmente aquellos con una velocidad rápida de disociación a pH ácido, pueden desasociarse de VISTA durante el reclicado y quedar atrapados o degradados dentro de las células, lo que resulta en una pobre unión con la diana y el consumo continuo de anticuerpos circulantes. Por el contrario, los anticuerpos que se unen y permanecen unidos a VISTA a pH ácido pueden mantener niveles más altos de unión a diana, particularmente en microentornos ácidos tales como tumores, y exhibir tiempos medios de residencia *in vivo* más prolongados.

Ejemplo 7: Superioridad de anticuerpos VISTA que carecen de unión a pH fisiológico

Los inventores han mostrado que VISTA es un inmunoreceptor selectivo al pH ácido, demostrando la importancia y la utilidad de dirigir a VISTA anticuerpos que se unen bien a pH ácido. Además, los anticuerpos que no se unen o se unen en un grado despreciable a VISTA a pH fisiológico son ventajosos por diversas razones. Primero, debido a la expresión relativamente abundante de VISTA en células mielomonocíticas circulantes, particularmente monocitos y neutrófilos, los anticuerpos que se unen a VISTA a pH fisiológico están sujetos a altos niveles de

disposición de fármaco mediada por la diana (TMDD, por sus siglas en inglés) en la sangre. Este efecto es exacerbado por la propensión de VISTA a reciclarse a través de endosomas intracelulares, lo que lleva a la internalización y degradación del anticuerpo anti-VISTA. Este efecto secundario es particularmente problemático para los anticuerpos que tienen unión deteriorada a pH ácido, como se puede observar para anticuerpos que se unen a la interfaz ligando de VISTA rica en histidina. Ambos efectos reducirán la cantidad de anticuerpos anti-VISTA en circulación, reduciendo la cantidad de anticuerpos que alcanzarán el tumor y así la actividad biológica a la que está destinado el anticuerpo. En segundo lugar, los anticuerpos que se unen a VISTA a pH fisiológico y que poseen funciones efectoras tales como inducción de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), o entrega de una carga inmunomoduladora someterán a las células mielomonocíticas circulantes a esas funciones efectoras, resultando potencialmente en efectos indeseables tales como el agotamiento o la activación de neutrófilos circulantes. Por lo tanto, los inventores descubrieron que los anticuerpos que se unen a huVISTA a pH ácido, pero de forma despreciable a pH fisiológico, tienen la doble ventaja de (1) una mejor exposición en sitios pertinentes tales como tumores y (2) toxicidades reducidas en el caso de anticuerpos con funciones efectoras tales como ADCC, ADCP o entrega de una carga inmunomoduladora. Adicionalmente, debido a VISTA en sí mismo es un inmunoreceptor selectivo de pH ácido, el bloqueo de la interfase ligando de VISTA a pH fisiológico probablemente sea innecesaria para modular la actividad receptor-ligando VISTA. Por lo tanto, los anticuerpos que se unen a huVISTA a pH ácido, pero no de forma significativa a pH fisiológico se generaron como se describe a continuación:

Ejemplo 8: Aislamiento de anticuerpos anti-VISTA que se unen preferentemente a VISTA humano a pH ácido en vez de pH fisiológico

Este Ejemplo describe la generación de anticuerpos que se unen preferentemente a VISTA humano a pH bajo (ácido) en relación con pH neutro o fisiológico.

Una genoteca de fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno anti-VISTA se construyó y se tamizó como sigue. Se crearon genotecas de anticuerpos usando material genético aislado de HuMab murino inmunizado con VISTA humano de longitud completa (hVISTA). Estos anticuerpos se formatearon como scFV y se seleccionaron frente a hVISTA de longitud completa con unión a pH bajo (pH 6,0) vía presentación de mRNA (Xu L et al. (2002) *Chemistry & Biology* 9: 933; Roberts RW y JW Szostak (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297; Kurz et al. (2000) *Nucleic Acids Res.* 28(18):E83). El resultado de la selección se analizó mediante secuenciación de segunda generación (NGS, por sus siglas en inglés), y se identificaron los elementos de la genoteca que demostraron un enriquecimiento de la unión a VISTA a pH bajo, se formatearon

como IgG 1.3 (una región constante de IgG1 no efectora que consiste en una IgG1 Fc que tiene las mutaciones de aminoácidos L234A, L235E y G237A), y se tamizaron para determinar la unión a VISTA mediante SPR.

Se realizó el análisis de resonancia de plasmón superficial (SPR) para medir las velocidades de asociación (definidas como ka o k_{on}, unidades 1/Ms), las velocidades de disociación (definidas como kd o k_{off}, unidades s^{-1}) y las constantes de afinidad (definidas como K_D, unidades M) para Ab VISTA a pH ácido y fisiológico usando un instrumento Biacore® T200 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 6.000 RU (unidades de respuesta, por sus siglas en inglés) de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 37 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 20 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 50 segundos. Se preparó una serie de concentraciones de 50 - 0,2 nM hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 235) en tampones de corrida a pH 7,4 y 6,0, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad k_a (k_{on}) y k_d (k_{off}) se derivaron de sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación T200 v.2.0 Biacore®. Se calculó para cada anticuerpo VISTA la proporción k_{off} a pH 6 / k_{off} a pH 7,4 para identificar anticuerpos que exhibían velocidades off lentas a pH ácido y velocidades off rápidas a pH fisiológico.

Seis anticuerpos, reformateados como anticuerpos IgG1.3, demostraron afinidad casi equivalente tanto a pH 6 como a pH 7,4. En particular, dos anticuerpos tuvieron velocidad de disociación más lenta a pH 6,0 que a pH 7,4 (es decir, k_{off} más rápida a pH 7,4 que a pH 6,0). Las regiones variables de estos dos anticuerpos huVISTA se denominan P1-061015 y P1-061029 y los anticuerpos que comprenden estas regiones variables y formateados como anticuerpos IgG1.3 se denominan P1-061015.IgG1.3 y P1-061029.IgG1.3, respectivamente. Las velocidades k_{off} de P1-061015.IgG1.3 y P1-061029.IgG1.3 se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1: k_{off} de anticuerpos seleccionados a pH 6,0 y pH 7,0

Nombre del anticuerpo	pH 6 k_{off} (s^{-1})	pH 7 k_{off} (s^{-1})	pH 6/pH 7 k_{off}
P1-061015.IgG1.3	$1,4 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-3}$	0,6
P1-061029.IgG1.3	$4,8 \times 10^{-3}$	$9,1 \times 10^{-3}$	0,5

Las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera y pesada de P1-061015 y P1-061029 se proporcionan en la Tabla 2 a continuación y también se exponen en la Tabla de Secuencias que sigue a la sección de Ejemplos de esta divulgación.

Tabla 2: Secuencias de aminoácidos de anticuerpos huVISTA que se unen a huVISTA preferentemente a pH 6,0 en vez de pH 7,4

ID P1	Gen VH	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
P1-061015.IgG1.3	3-33	GFTFSSYAMH (SEQ ID NO: 95 Residuos 26-35)	IIWYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 95 Residuos 50-66)	DSGFYSSYYFDY (SEQ ID NO: 95 Residuos 99-110)
P1-061029.IgG1.3	3-09	GFTLDDYAMH (SEQ ID NO: 67 Residuos 26-35)	GINWNSANIGYADSVKG (SEQ ID NO: 67 Residuos 50-66)	VPGYSGGWIDAFDV (SEQ ID NO: 67 Residuos 99-112)
	Gen VL	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
P1-061015.IgG1.3	L6	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 96 Residuos 24-35)	DASNRAT (SEQ ID NO: 96 Residuos 51-57)	QQYNSYPYT (SEQ ID NO: 96 Residuos 90-98)
P1-061029.IgG1.3	A27	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 68 Residuos 24-35)	GASSRAT (SEQ ID NO: 68 Residuos 51-57)	QQYGSSPFT (SEQ ID NO: 68 Residuos 90-98)

Ejemplo 9: Modificación genética adicional de los Ab anti-VISTA P1-061015 y P1-061029 para desarrollar anticuerpos selectivos para pH ácido

Este Ejemplo describe la modificación genética adicional de las regiones variables de P1-061015 y P1-061029 identificadas en el Ejemplo 2 para obtener regiones variables anti-huVISTA que tengan una proporción k_{off} más elevada en la unión a pH 6,0 en relación con pH 7,4.

Se construyeron dos genotecas mediante la introducción de mutaciones específicas en las

VH CDR de P1-061015 y P1-061029, respectivamente. Las genotecas permitieron solo las sustituciones de los aminoácidos de los que fuera más probable que mejoraran la unión a pH bajo, es decir, aspartato, glutamato e histidina. La genoteca también permitió sustituciones de aminoácidos simples y dobles en cada CDR y recombinaciones entre las CDR (un máximo de 6 sustituciones de aminoácidos por cadena). La Fig. 7A muestra las mutaciones que se introdujeron en las secuencias de aminoácidos de CDR3 de cadena pesada de P1-061029 para formar la genoteca de P1-061029. La figura indica que se excluyeron secuencias específicas para evitar introducir riesgos (por ejemplo, DG).

Las genotecas '029 y '015 se tamizaron en varias rondas de unión a hVISTA de cadena completa a pH 6,0 mediante despliegue en la superficie de levaduras. Se realizaron rondas adicionales de selección alternando entre selecciones positivas (unión a huVISTA a pH 6,0) y negativas (unión a huVISTA a pH 7,4) (se muestran en la Fig. 7B), donde los elementos de las genotecas que no se unieron a VISTA a pH 7,4 se recolectaron en las rondas de selección negativa. El resultado de la selección se analizó mediante NGS. Los elementos de la genoteca '029 que se unieron a huVISTA a pH 6,0 después de la ronda de selección 9 se analizaron para determinar la unión a VISTA humano a pH 6,0 y pH 7,4 mediante citometría de flujo. La Fig. 7C muestra gráficos bidimensionales representativos de citometría de flujo que muestran el grupo de variantes después de 9 rondas de selección. La unión de VISTA está graficada en el eje y, y la expresión del anticuerpo variante está graficada en el eje x. Se muestran datos de unión con diversas concentraciones de anticuerpos y pH. Los resultados demostraron una unión muy fuerte a VISTA humano selectiva a pH 6, particularmente a 20 nM.

Se aislaron clones adicionales de la progenie de '029 de la genoteca '029 usando un método diferente. Algunos clones fueron los mismos identificados con el primer método, y se aislaron nueve clones adicionales.

Los 19 clones aislados de la genoteca '029 seleccionados para análisis ulterior se reformatearon como anticuerpos IgG1.3. Las diferencias de aminoácidos en las CDR de cadena pesada de estos clones en relación con aquellos de las CDR '029 se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Secuencias de aminoácidos de VH CDR1, CDR2 y CDR3 (separadas por un guión bajo) de anticuerpos derivados del anticuerpo '029 original

NOMBRE	**CDR1 (pos 26-35)**	**CDR2 (pos 50-66)**	**CDR3 (pos 99-110)**	**SEQ ID NO**
P1-061029	GFT**LD**D**Y**AMH	GI**N**WNS**AN**IGYADSVKG	VPGYS**G**GWIDA**F**D**V**	67
P1-068757	----E-E---	------EE---------	----------E-D	71
P1-068759	----E-E---	--D---E----------	----------E-D	87
P1-068761	----E-E---	------EE---------	-----H-----E—-	51

P1-068763 ----E-----_--D---E----------_-----H-----E-- 91
P1-068765 ---DE-----_------EE---------_----------E-D 63
P1-068767 ----E-----_--D---E----------_----------E-D 55
P1-068769 ----E-E---_------DH---------_----------E-D 83
P1-068771 ----E-E---_------HE---------_----------E-D 75
P1-068773 ----E-----_--D---D----------_----------E-D 59
P1-068775 ----E-E---_--D---EE---------_-----H-----E-D 79
P1-069059 ----E-----_------DH---------_----------E-D 11
P1-069061 ----E-----_-------E---------_----------E-D 15
P1-069063 ----E-----_-------E---------_----------D-E 19
P1-069065 ----E-E---_------DD---------_---------- 23
P1-069067 ----------_------EE---------_----------D-E 27
P1-069069 ----------_------EE---------_----------D-- 31
P1-069071 ----E-E---_-------D---------_-----E-------- 35
P1-069073 ----E-----_--D---D----------_----------E-D 39
P1-069075 ----E-----_----D--E---------_-----H-----E-- 43
P1-069077 ----E-E---_------DE---------_---------- 47

Las uniones de varias preparaciones de cada uno de los clones de la progenie '029 y de los anticuerpos originales '029, formateados como anticuerpos IgG1.3, a VISTA humano a pH 6,0 y 7,4 se midieron mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). El análisis SPR se realizó para medir koff y k_D de las mediciones de afinidad para Ab VISTA a pH ácido y neutro usando un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 2.000 RU de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 37 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween® 20 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 60 segundos. Se preparó una serie de concentraciones de 50 - 5 nM hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en tampones de corrida a pH 7,4 y 6,0, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad ka (k_{on}) y kd (k_{off}) se derivaron de sensogramas en los que se restó la

celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación T200 v.2.0 Biacore®. La constante de afinidad, K_D se calculó como la proporción entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA.

La máxima respuesta de unión a VISTA humano (o magnitud) se define como la respuesta del punto de "unión" informado, al que se le restó la referencia, al final de la inyección de 50 nM de VISTA para cada anticuerpo, y se informa en unidades de respuesta (RU). En la Fig. 7D se grafica la respuesta máxima de unión a VISTA humano (RU) a cada anticuerpo. Se grafica la respuesta de unión promedio (entre dos y cuatro anticuerpos replicados), y las barras de error representan la desviación estándar. Los resultados indican que los clones de la progenie seleccionados de '029 se unen a hVISTA a pH 6,0, pero no a pH 7,4 (los círculos sin relleno que representan la unión a pH 7,4 están ubicados en la parte inferior del gráfico excepto para el clon '029 original).

Las velocidades k_{off} a pH 6,0 de '029 y su progenie se determinaron mediante SPR usando el método descripto anteriormente, y se representan en la Fig. 7E. La línea de puntos en la figura representa la velocidad k_{off} de '029, y los clones a la derecha de la línea de puntos tienen una velocidad k_{off} más lenta a pH 6,0 en relación con la del anticuerpo original '029, mientras que aquellos a la derecha tienen una velocidad k_{off} más rápida a pH 6,0 en relación con la del anticuerpo original '029.

En la Fig. 7F se muestran sensogramas SPR representativos de la unión de hVISTA a los anticuerpos '029, '761 y '767 a pH neutro y ácido. Se grafican los sensogramas de huVISTA 50 nM y 5 nM en los que se restó la referencia. A pH neutro, se observó una señal de unión a VISTA de <10 RU para '761 y '767, por lo cual, a fin de medir adecuadamente y comparar la k_{off} y la K_D para '761 y '767 con '029, se requirió un ensayo de cinética SPR utilizando μM concentraciones de VISTA a pH fisiológico.

Para este ensayo, '029, '761 y '767 se reformatearon como isotipo hIgG1f y fueron expresados tanto como hIgG1f estándar y en formatos hIgG1f afucosilados para comparar con el Fc hIgG1.3f. El análisis de cinética SPR se realizó para medir koff y k_D de las mediciones de afinidad para Ab VISTA a pH ácido y fisiológico usando un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 μg/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 2.000 RU de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 37 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 45 segundos. Se prepararó una serie de concentraciones de 1600 -

0,78 nM (pH 7,4) y 100 - 0,78 nM (pH 6,0) hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en tampones de corrida y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad ka (k_{on}) y kd (k_{off}) se derivaron de sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación T200 v.2.0 Biacore®. La constante de afinidad, K_D se calculó como la proporción entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las proporciones entre k_{off} y K_D a pH 7,4 / pH 6,0 para comparar la velocidad de disociación y la mejora de la afinidad a pH ácido en relación con pH fisiológico. Mientras que las constantes de velocidad de unión a pH neutro no se pudieron determinar previamente para '761 y '767 usando 50 nM hVISTA (Figs. 7D y 7F), el aumento del rango de concentración de VISTA a pH neutro a 1,6 μM resultó en respuestas de unión (> 10 RU) para estos clones que se ajustan a un modelo de unión 1:1. Los datos cinéticos para estos anticuerpos VISTA selectivos para ácido se muestra en la Tabla 6. Los ‘029 originales exhiben k_{off} equivalente a ambos pH, mientras que ‘761 y ‘767 exhiben una selectividad más de 10 veces superior para pH 6 sobre pH 7,4 en k_{off} y una selectividad más de 2.000 veces superior para pH 6 sobre pH 7,4 en K_D. Las constantes de velocidad de unión a VISTA humano se conservan a través de las variantes de los isotipos hIgG1.3f, hIgG1f y hIgG1f afucosilado.

Tabla 6: Características de unión de anticuerpos VISTA según se determina mediante SPR

Anticuerpo	**Isotipo**	**pH 7,4**			**pH 6,0**			**proporción kd (7,4/6)**	**proporción KD (7,4/6)**
		ka (1/Ms)	**kd (1/s)**	**KD (M)**	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**		
P1-061029	hIgG1.3f	1,6E+05	6,8E-03	4,2E-08	1,1E+06	7,9E-03	7,2E-09	0,9	5,8
	hIgG1f	1,7E+05	7,4E-03	4,2E-08	1,1E+06	8,0E-03	7,1E-09	0,9	5,9
	hIgG1f afucosilado	1,7E+05	7,2E-03	4,1E-08	1,1E+06	7,8E-03	6,9E-09	0,9	5,9
P1-068761	hIgG1.3f	3,8E+03	4,2E-02	1,1E-05	3,7E+05	1,6E-03	4,3E-09	26,3	2.558,1
	hIgG1f	1,2E+03	4,2E-	3,5E-	3,6E+05	1,5E-	4,2E-	28,0	8.333,3

			02	05		03	09		
	hIgG1f afucosilado	5,1E+03	4,2E-02	8,2E-06	3,7E+05	1,5E-03	4,1E-09	28,0	2.000,0
P1-068767	hIgG1.3f	1,9E+03	3,6E-02	1,9E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,8E-09	13,8	2.435,9
	hIgG1f	1,5E+03	3,2E-02	2,2E-05	3,2E+05	2,6E-03	8,0E-09	12,3	2.750,0
	hIgG1f afucosilado	1,3E+03	3,3E-02	2,4E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,9E-09	12,7	3.038,0
α-VISTA sensible a pH ácido	hIgG1.3f	2,2E+05	7,8E-04	3,6E-09	2,8E+06	9,0E-02	3,2E-08	0,01	0,1

La cinética de unión a VISTA humano de P1-061029 (“‘029”), P1-068761 (“‘761”) y P1-068767 (“‘767”) (como anticuerpos IgG1.3) se midió a valores de pH entre pH 7,4 y pH 6,0, es decir, a pH 6,9 y pH 6,45 usando un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 2.000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4, 6,9, 6,45 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 45 segundos. Se prepararó una serie de concentraciones de 100 - 0,78 nM hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en tampones de corrida a pH 7,4, 6,9, 6,45 y 6,0, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad ka (k_{on}) y kd (k_{off}) se derivaron de sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación T200 v.2.0 Biacore®. La constante de afinidad, K_D se calculó como la proporción entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las proporciones de k_{off} y K_D a cada pH en relación con pH 6,0 para evaluar cómo k_{off} y K_D VISTA cambian cuando el pH del tampón cambia a fisiológico, y se muestran en la Tabla 7. El

'029 original exhibió k_{off} consistente a cada pH ensayado, mientras que la progenie '761 y '767 exhibió una k_{off} VISTA al menos 10 veces más rápida y una K_D VISTA 100 veces más débil a pH 6,9 en comparación con pH 6,0. A medida que el pH del tampón cambia de ácido a fisiológico, tanto k_{off} como K_D VISTA se debilitan para '761 y '767. Para la comparación de los datos de pH fisiológico '761 y '767 se hace referencia a la Tabla 7 y se indican con un asterisco (*).

Tabla 7: Características cinéticas de unión de anticuerpos '029, '761 y '767 a diferentes valores de pH

Anticuerpo	**pH**	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**	**proporción koff a pH 6,0**	**proporción KD a pH 6,0**
P1-061029 (original)	6,0	2,9E+06	5,7E-03	2,0E-09	1,0	1,0
	6,45	7,4E+05	4,0E-03	5,3E-09	0,7	2,7
	6,9	4,1E+05	5,7E-03	1,4E-08	1,0	7,1
	7,4	2,5E+05	6,4E-03	2,6E-08	1,1	13,2
P1-068761	6,0	6,0E+05	6,6E-04	1,1E-09	1,0	1,0
	6,45	1,1E+05	2,1E-03	2,0E-08	3,2	18,4
	6,9	4,8E+04	8,9E-03	1,9E-07	13,4	170
	7,4 *	3,8E+03	4,2E-02	1,1E-05	~ 63,6	~10.000
P1-068768	6,0	5,6E+05	1,9E-03	3,4E-09	1,0	1,0
	6,45	1,3E+05	4,8E-03	3,8E-08	2,5	11,0
	6,9	7,4E+04	2,9E-02	4,0E-07	15,3	115,1
	7,4 *	1,9E+03	3,6E-02	1,9E-05	~ 19,0	~ 5.000

La información en la Tabla 7 indica una afinidad de unión al menos 10 veces más baja de '761 y '767 a hVISTA a pH 6,45 en comparación con pH 6,0; una afinidad de unión al menos 100 veces más baja de '761 y '767 a hVISTA a pH 6,9 en comparación con pH 6,0; y una afinidad de unión al menos 1.000 veces más baja de '761 y '767 a hVISTA a pH 7,4 en comparación con pH 6,0.

La genoteca '015 también demostró una ligera preferencia por unión a VISTA selectiva a pH 6. Las diferencias de aminoácidos de los clones de progenie relativos a las VH CDR '015 se muestran en la Tabla 8. La unión de diversas preparaciones de cada uno de los clones de progenie '015 y del '015 original (todas como anticuerpos IgG1.3) a VISTA humano a pH 6,0 y 7,4 se midieron mediante SPR usando un método idéntico al descripto para el análisis de '029 referido anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Secuencias de aminoácidos de VH CDR1, CDR2 y CDR3 (separadas por un guión bajo) de anticuerpos derivados del anticuerpo '015 original

NOMBRE	CDR1 (pos 26-35)	CDR2 (pos 50-66)	CDR3 (pos 99-110)	SEQ ID NO
P1-061015	GFTFS**S**YA**M**H	IIW**Y**DGS**NKYY**ADSVKG	DSGFY**SS**YYFDY	95
P1-068736	-----E----	-D-------	D-------	107
P1-068738	-----E—-	H--	---D----H--------	131
P1-068740	-----D----	-------	D-D-------	115
P1-068742	-----D----	-------	D-D-------	119
P1-068744	-----E----	H---------	E------	103
P1-068746	----------	--------	HH-------	123
P1-068748	-----HH---	--------	DD-------	99
P1-068750	-----D-D--	E--D----------	-EE---------	127
P1-068752	----------	E--------	D-------	111
P1-068754	-----D-D--	E--D----------	----H-D-----	135

En las Tablas 9 y 10 se muestra una síntesis de la cinética de unión de '029 y '015 y los clones de su progenie a huVISTA y pH 6,0 y 7,4, según se determinó mediante SPR.

Tabla 9: Síntesis de la cinética de huVISTA y las secuencias VH CDR del clon '029 y su progenie

ID	Prom. 7,4 ka (1/Ms)	Prom. 7,4 kd (1/s)	Prom. 7,4 KD (M)	Prom. 6,0 ka (1/Ms)	Prom. 6,0 kd (1/s)	Prom. 6,0 KD (M)	VH CDR 1 (pos 26-35)	VH CDR (pos 50-66)
P1-069077	6,0E+04	1,9E-03	3,1E-08	6,3E+05	1,2E-04	1,9E-10	....E.E...	......DE.....
P1-069065	5,9E+04	2,3E-03	3,9E-08	5,7E+05	2,2E-04	3,8E-10	....E.E...	......DD.....
P1-069075	1,3E+05	2,3E-03	1,8E-08	1,3E+06	2,9E-04	2,2E-10	....E.....	....D..E.....
P1-069071	4,3E+04	4,0E-03	9,3E-08	7,0E+05	5,1E-04	7,3E-10	....E.E...	.......D.....
P1-069061	kd débil, rápido			4,3E+05	1,1E-03	2,5E-09	....E.....	.......E.....
P1-069069	9,0E+04	7,5E-03	8,4E-08	1,4E+06	1,2E-03	8,6E-10	.....	......EE.....
P1-068761	kd débil, rápido			3,8E+05	1,4E-03	3,8E-09	....E.E...	......EE.....
P1-069059	kd débil, rápido			3,4E+05	1,6E-03	4,8E-09	....E.....	......DH.....
P1-068767	kd débil, rápido			3,4E+05	2,6E-03	7,6E-09	....E.....	..D...E.....
P1-068773	kd débil, rápido			3,0E+05	2,9E-03	9,4E-09	....E.....	..D...D.....
P1-069063	1,2E+05	2,7E-02	2,3E-07	1,9E+06	4,4E-03	2,4E-09	....E.....	.......E.....

ID	Prom. 7,4 ka (1/Ms)	Prom. 7,4 kd (1/s)	Prom. 7,4 KD (M)	Prom. 6,0 ka (1/Ms)	Prom. 6,0 kd (1/s)	Prom. 6,0 KD (M)	VH CDR 1 (pos 26-35)	VH CDR (pos 50-66)
P1-069067	1,0E+05	2,7E-02	2,9E-07	1,7E+06	4,5E-03	2,7E-09	.....	.....EE.....
P1-069073	kd débil, rápido			6,1E+05	5,8E-03	9,4E-09	....E.E...	.....E.....
P1-061029	2,9E+05	5,6E-03	1,9E-08	1,6E+06	5,8E-03	3,6E-09	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADS
P1-068765	Sin unión			3,7E+05	7,0E-03	1,9E-08	...DE.....	.....EE.....
P1-068757	Sin unión			8,9E+05	1,7E-02	1,9E-08	....E.E...	.....EE.....
P1-068771	Sin unión			7,6E+05	1,8E-02	2,5E-08	....E.E...	.....HE.....
P1-068769	Sin unión			8,1E+05	4,0E-02	5,5E-08	....E.E...	.....DH.....
P1-068775	Sin unión			1,8E+06	4,7E-02	2,3E-08	....E.E...	..D...EE.....
P1-068759	Sin unión			1,3E+06	8,0E-02	6,0E-08	....E.E...	..D...E.....

Tabla 10: Síntesis de la cinética de huVISTA y las secuencias VH CDR del clon '015 y su progenie

Clon	Prom. 7,4 ka (1/Ms)	Prom. 7,4 kd (1/s)	Prom. 7,4 KD (M)	Prom. 6,0 ka (1/Ms)	Prom. 6,0 kd (1/s)	Prom. 6,0 KD (M)	Secuencia HCDR (pos 26-35) (pos 50-6
P1-061015	**2,3E+05**	**2,0E-03**	**8,8E-09**	**1,8E+06**	**9,5E-04**	**5,4E-10**	**GFTFSSYAMH_IIWYD**
P1-068748	**Sin unión**			**1,4E+06**	**1,5E-03**	**1,0E-09**	**.....HH..._.....DD.....**
P1-068744				**1,3E+06**	**1,8E-03**	**1,3E-09**	**.....E...._H.....E....._.**
P1-068736				**8,4E+06**	**9,5E-03**	**1,1E-09**	**.....E...._.D.....D....._.**
P1-068752				**6,1E+06**	**3,4E-02**	**5,6E-09**	**....._E.....D....._...**
P1-068740				**Demasiado rápido**	**4,7E-02**	**ND**	**.....D...._.....D.D....._.**
P1-068742				**Demasiado rápido**	**>1E-02**	**ND**	**.....D...._.....D.D....._.**
P1-068746				**Demasiado rápido**	**>1E-02**	**ND**	**....._.....HH....._..**
P1-068750				**Débil**			**.....D.D.._E..D.....**

Por lo tanto, se identificaron varios clones de la progenie '029 que mantuvieron o mejoraron la k_{off} a VISTA-ECD a pH 6,0 en comparación con el '029 original, y también demostraron k_{off} más débil o pérdida de unión a VISTA a pH fisiológico. La progenie '015 exhibió unión a VISTA-ECD selectiva a pH ácido, sin unión a VISTA detectada a pH neutro, pero toda la progenie '015 ensayada produjo una k_{off} más rápida a pH 6,0 en comparación con el '015 original.

Ejemplo 10: La progenie '029 selectiva a pH ácido demostró unión celular dependiente de pH ácido y función efectora mientras mantenía la actividad bloqueadora de VISTA

Se midió la unión dependiente de pH de los clones '761 y '767 a células Raji modificadas genéticamente para expresar ectópicament VISTA humano de longitud completa (SEQ ID NO: 1 con sustitución D187E). Para este experimento, '761 y '767 se formatearon como anticuerpos IgG1.3, y se midió la unión mediante un anticuerpo secundario IgG anti-humano (Jackson Immunoresearch, número de catálogo 109-065-098). Los resultados, que se muestran en las Figs. 8A-8B, indican que los clones '761 (Fig. 8A) y '767 (Fig. 8B) se unen escasamente a pH 7,2 y 8,1, pero mejor a pH ácido, particularmente a pH 6,0, 6,1, 6,2 y 6,4. Las MFI de unión están graficadas sobre el eje y, y las concentraciones de anticuerpos primarios están graficadas sobre el eje x en escala logarítmica. También se muestran las regresiones no lineales.

La Fig. 8C muestra los datos del experimento descripto en las Figs. 8A-B que mide la unión de P1-068767 (círculos) y de un anticuerpo control no específico coincidente con el isotipo (triángulos) a células Raji que expresan VISTA humano a 3.125 ng/mL a varios pH. "pH50", el pH al cual se pierde el 50% de la unión de P1-068767, es aproximadamente 6,6. Las MFI de unión están graficadas sobre el eje y, y el pH del tampón está graficado sobre el eje x. También se muestran las regresiones no lineales.

La Fig. 8D muestra las MFI de un anticuerpo control no específico coincidente con el isotipo (círculos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0 respectivamente), un mAb 2 anti-VISTA ("control", ver Fig. 6C, cuadrados con y sin relleno a pH 7,0 y 6,0 respectivamente), P1-068761 (triángulos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0, respectivamente) y P1-068767 (triángulos invertidos con y sin relleno para pH 7,0 y 6,0, respectivamente) que se unen a monocitos humanos. La unión fue detectada según se describe en las Figs. 8A-B. El anticuerpo de control VISTA no selectivo a pH (mAb 2) se une a monocitos a ambos pH. Ambos anticuerpos modificados genéticamente selectivos a pH ácido se unieron bien a monocitos a pH 6,0, pero no se unieron mejor que el control no específico coincidente con el isotipo a pH 7,0. Por lo tanto, los clones '761 y '767 tienen unión débil o no se unen a VISTA a pH neutro, y en cambio se unen a VISTA en células selectivamente a pH ácido.

La Fig. 8E muestra el bloqueo comparable del multímero VISTA recombinante que se une a

células T humanas activadas CD4+ a pH 6,0 mediante '029 (cuadrados), '761 (triángulos) y '767 (triángulos invertidos), mientras que un anticuerpo de control específico no VISTA (círculos) no bloqueó la unión de VISTA. Este ensayo de bloqueo se realizó como se describe en el Ejemplo 4. Estos datos muestran que anticuerpos VISTA selectivos a pH ácido modificados genéticamente aún son capaces de bloquear la unión receptor-ligando VISTA a pH ácido.

La lisis específica de células NK de células diana (las mismas células Raji que expresan VISTA humano descriptas en las Figs. 8A-B) mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) a pH fisiológico se midió para los anticuerpos P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, un anticuerpo específico no-VISTA y un anticuerpo de control negativo específico no-VISTA, todos expresados como anticuerpos IgG1 afucosilados. Las células NK se enriquecieron a partir de PBMC mediante selección de perlas negativas (StemCell Technologies, número de catálogo 19055) y se cultivaron toda la noche en medio Myelocult™ (StemCell Technologies, número de catálogo 05150) complementado con hidrocortisona 1 μM (StemCell Technologies, número de catálogo 07904) y 500 U/mL IL-2 humana recombinante (Peprotech, número de catálogo 200-02). El día del ensayo, las células Raji que expresan ectópicamente VISTA humano (descriptas en la Fig. 8A-B) se etiquetaron con Calcein AM (Life Technologies, número de catálogo C3100MP) y se co-cultivaron con las células NK cutivadas en una proporción 10:1 NK : célula diana y con anticuerpos P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, un anticuerpo específico no-VISTA y un anticuerpo de control negativo específico no-VISTA durante 2 horas a pH fisiológico. La lisis específica se interpoló de la señal fluorescente del sobrenadante (lector de placas EnVision™). La señal de lisis espontánea obtenida del co-cultivo con anticuerpos, y la señal de lisis máxima se determinaron mediante lisis de células diana con tampón de lisis Delfia® (PerkinElmer, número de catálogo 4005-0010). La lisis específica de anticuerpos se calculó como el porcentaje de lisis observada dividido por (la señal de lisis máxima menos la señal de lisis espontánea).

Los resultados, que se proporcionan en la Fig. 8F, muestran la potencia reducida de P1-068761.IgG1f y P1-068767.IgG1f, en relación con P1-061029 y el control positivo para mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) a pH fisiológico.

Ejemplo 11: PK cyno de anticuerpos VISTA

Macacos cynomolgus que nunca habían recibido anticuerpos humanos fueron inyectados en forma intravenosa con una única dosis de 5 mpk de un anticuerpo VISTA que se une de forma comparable a pH ácido y neutro ("control"; mAb2), un anticuerpo VISTA con unión deteriorada a pH ácido ("sensible a pH ácido", mAb3), o el anticuerpo selectivo a pH ácido '767, para determinar

la PK cyno de estos anticuerpos.

La cinética de unión SPR de los anticuerpos usados en este Ejemplo se proporciona en la Tabla 11, y se determinó como sigue a continuación. Se evaluó la reactividad cruzada cyno VISTA para anticuerpos selectivos a pH y anti-VISTA control a pH ácido y neutro. Las mediciones de afinidad de unión para Ab VISTA se realizaron usando un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 2.000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos (formateados como anticuerpos IgG1.3) se diluyeron a 25 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 45 segundos. Se preparó una serie de concentraciones de 1.600 - 0,78 nM (pH 7,4) y 100 - 0,78 nM (pH 6,0) de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) y cynoVISTA-ECD (AFKVATLYSL YVCPEGQNVT LTCRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENI TAHHHHHHH; (SEQ ID NO: 326) en tampón de corrida, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad ka (k_{on}) y kd (k_{off}) se derivaron de sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación v.2.0 Biacore® T200. La constante de afinidad, K_D se calculó como la proporción entre las constantes de velocidad koff/kon para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las proporciones entre k_{off} y K_D a pH 7,4 / pH 6,0 para comparar la velocidad de disociación y las diferencias en la afinidad a pH ácido en relación con pH neutro, y se muestran en la Tabla 11. Todos los anticuerpos anti-VISTA ensayados exhibieron parámetros cinéticos de unión para VISTA humano y ciano comparables (dentro de 2 veces) a ambos pH ensayados, confirmando la reactividad cruzada con ciano VISTA. Ambos anticuerpos control anti-VISTA exhibieron kd mejorada y K_D más fuertes a pH fisiológico en comparación con pH ácido, y el control sensible a pH ácido exhibió una kd VISTA más rápida a pH ácido en comparación con el anticuerpo de control.

Tabla 11: Cinética de unión SPR de anticuerpos VISTA a cynoVISTA

Anticuerpo	VISTA	pH 7,4			pH 6,0			proporción kd (7,4/6)	proporción KD (7,4/6)
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)		
P1-061029	humano	1,2E+05	7,5E-03	6,2E-08	9,8E+05	6,6E-03	6,8E-09	1.1	9.1
	cino	1,4E+05	6,7E-03	4,7E-08	6,2E+05	6,2E-03	1,0E-08	1.1	4.7
P1-068761	humano	4,3E+03	3,7E-02	8,7E-06	3,5E+05	1,4E-03	4,1E-09	26.4	2122.0
	cino	6,5E+03	3,6E-02	5,5E-06	2,1E+05	1,7E-03	7,9E-09	21.2	696.2
P1-068767	humano	1,6E+03	3,5E-02	2,3E-05	3,2E+05	2,4E-03	7,5E-09	14.6	3066.7
	cino	1,3E+03	3,4E-02	2,6E-05	1,9E+05	2,5E-03	1,3E-08	13.6	2000.0
α-VISTA control (mAb 3)	humano	4,4E+05	1,3E-03	3,0E-09	9,6E+05	6,0E-03	6,2E-09	0.2	0.5
	cino	4,9E+05	1,7E-03	3,4E-09	5,5E+05	7,1E-03	1,3E-08	0.2	0.3
α-VISTA sensible a pH ácido (mAB 2)	humano	1,8E+05	7,8E-04	4,3E-09	1,8E+06	5,0E-02	2,8E-08	0.02	0.2
	cino	1,9E+05	6,8E-04	3,5E-09	1,2E+06	5,2E-02	4,4E-08	0.01	0.08

Macacos cynomolgus que nunca habían recibido anticuerpos humanos fueron inyectados en forma intravenosa con una única dosis de 5 mpk de un anticuerpo VISTA mAb2 ("control"), o VISTA mAb3 ("sensible a pH ácido"), o P1-068767.IgG1.3. La concentración en suero de cada anticuerpo luego de la inyección se muestra en la Fig. 9. Los tiempos promedio de residencia para P1-068767.IgG1.3 y el anticuerpo anti-VISTA de control fueron 717 y 22 horas respectivamente, lo que indica que la selectividad por pH ácido redujo en gran medida la Disposición de fármacos mediada por la diana (TMDD) del anticuerpo VISTA. Aunque el anticuerpo de control (mAb 2) y el anticuerpo sensible a pH ácido (mAb 3) se unen a VISTA de forma comparable a pH fisiológico, el anticuerpo sensible a pH ácido tuvo un tiempo de residencia promedio más bajo de 7,6 horas, lo que demuestra la importancia de la unión a pH ácido al anticuerpo VISTA que se recicla como se describe en los Ejemplos 6 y 7. Los resultados muestran que los anticuerpos selectivos a pH ácido tienen una PK superior y, por lo tanto, logran más fácilmente el objetivo de unión en tumores u otros microentornos.

Ejemplo 12: la progenie '029 selectiva a pH no se une de forma no específica a proteínas con pI (punto isoeléctrico, por sus siglas en inglés) alto

Se evaluó la especificidad de unión de los clones ‘029, ‘761 y ‘767 a VISTA y a otras

proteínas con pI alto mediante SPR a pH neutro y ácido usando un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizaron en las celdas de flujo de un biosensor CM3 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 800 RU de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 25 °C usando tampón de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos (formateados como anticuerpos IgG1.3) se diluyeron a 50 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 60 segundos. Una serie de concentraciones de 100 - 10 nM hvVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325), avidina (ThermoFisher Scientific, número de catálogo 21128), citocromo C (Sigma, número de catálogo C2867), BSA (Calbiochem, número de catálogo 126593), y antígeno de control monovalente ("Ag") se prepararon en tampones de corrida a pH 7,4 y 6,0, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 50 ul/min para evaluar la especificidad de unión. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Los sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM se inspeccionaron usando el programa de evaluación T200 v.2.0 Biacore®. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Unión de clones VISTA a proteínas con alto pI

Muestra	Punto isoel. (pI)	‘029		‘761		‘767		Anti-Ag		PBS (sin Ab)	
		pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4
huVISTA-His	6,9										
Avidina	10										
Cito-cromo C	10,7										
BSA	4,7										
Ag-His	6,5										

En la Tabla 12, la unión específica, definida como respuestas de unión >10 RU SPR al final de la inyección de la muestra se indica con celdas con relleno gris. "Anti-Ag" es un Ab de control

de unión a VISTA. El clon '029 era específico para VISTA a pH ácido y neutro. Los clones de la progenie '029 '761 y '767 eran específicos para VISTA a pH ácido, mientras que el anticuerpo de control también mantenía especificidad por el antígeno. No se observó en este ensayo la unión no específica ("NSB") de las proteínas de control pI a la superficie de referencia de la Proteína A.

Por lo tanto, los aminoácidos cargados introducidos en las VH CDR de '761 y '767 no hicieron que estos anticuerpos se unieran electrostáticamente a otras proteínas con alto pI, tales como avidina y citocromo C, o proteínas con bajo pI, tales como BSA.

Ejemplo 13: Inhibición de la activación de células T por los anticuerpos '761 y '767

Este Ejemplo describe un ensayo que se puede realizar para determinar la capacidad de los anticuerpos '761 y '767 para bloquear la inhibición de hVISTA de la activación de células T Jurkat.

Se usa el mismo ensayo descripto en el Ejemplo 5. Sucintamente, células Jurkat (línea de células T humanas) que expresaban un reportero de luciferasa NFkB se co-cultivaron a diversos pH con células 293T que expresaban VISTA humano y un fragmento variable monocatenario del anticuerpo agonista del receptor de células T antihumano OKT3. Se agregaron a las células co-cultivadas anticuerpos anti-VISTA '761 y '767 o un anticuerpo de control específico no-VISTA coincidente con el isotipo. La activación de las células Jurkat se muestra como unidades de luciferasa y como las veces en que aumentó la señal de luciferasa con tratamiento anti-VISTA en relación con el control.

Ejemplo 14: El análisis mutacional identificó residuos clave que confieren propiedades de unión dependientes de pH a los anticuerpos VISTA

Los anticuerpos P1-068761.IgG1.3 y P1-068767.IgG1.3 contienen 5-6 mutaciones de P1-061029 (Tabla 7). Se realizó un análisis mutacional a fin de identificar los residuos clave que son importantes para conferir las propiedades dependientes de pH a los anticuerpos VISTA De tal modo, un panel de variantes N-1 (reversión de aminoácido 1 a P1-061029) y N-2 (reversión de aminoácido 2 a P1-061029) de P1-068761 y P1-068767 se sintetizó, se expresó como IgG1.3, y se analizó para determinar su unión a huVISTA a pH 6, pH 6,7 y pH 7,4.

Se midió la cinética de unión usando un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en 10mM de acetato de sodio pH 4,5 y se inmovilizó en las celdas de flujo de un biosensor CM5 siguiendo el protocolo de acoplamiento de amina del fabricante (GE Healthcare), dirigido a una densidad de inmovilización de 2.000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C usando tampón de

corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, tampón fosfato 10 mM, Tween 20 0,05 %) a pH 7,4, 6,7 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST pH 7,4, y se capturaron a través de celdas de flujo activas del biosensor a 5 ul/min durante 40 segundos. Se preparó una serie de concentraciones de 100 - 10 nM hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en tampones de corrida a pH 7,4, 6,7 y 6,0, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 ul/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad ka (kon) y kd (koff) se derivaron de sensogramas en los que se restó la celda de flujo de referencia y el blanco 0 nM, y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 en el Programa de Evaluación T200 v.2.0 Biacore®.

La constante de afinidad, K_D se calculó como la proporción entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA. Se calculó el %Rmax para comparar cómo el pH afecta la capacidad de unión de un anticuerpo para VISTA, y representa la respuesta máxima medida de unión a VISTA en relación con la respuesta máxima esperada de unión a VISTA. El %Rmax se define como la proporción entre la respuesta del punto de "unión" informado al que se le restó la referencia al final de la inyección de 100 nM VISTA para cada anticuerpo (Rmax) y la respuesta esperada de unión a VISTA (Resp). Rexp se calcula como Rexp = [(peso molecular VISTA-ECD / peso molecular mAb) x (respuesta del punto informado de "captura" mAb (RU)] x 2 sitios de unión por mAb.

Los resultados SPR obtenidos para las variantes revertidas P1-068761 se muestran en la Fig. 10A, que está ordenada por la koff pH 6,0, de más lenta a más rápida. En la tabla, los anticuerpos que exhibieron una unión débil o no dieron respuesta de unión (< 10 RU) a 100 nM hVISTA se categorizaron como sin unión (NB, por sus siglas en inglés). Los resultados indican que E en las posiciones 32 (es decir, el residuo aminoácido 7 en VH CDR1 de '761) y 100f (el residuo aminoácido 12 en VH CDR3 de '761) son requeridos para mantener la selectividad por pH ácido, dado que estas reversiones a la secuencia original P1-061029 permitieron una significativa unión a hVISTA a pH fisiológico (%Rmax > 10). Análisis ulteriores revelaron que las variantes con la reversión E55A (residuo aminoácido 6 en VH CDR2 de '761) mantuvieron selectividad por pH ácido y exhibieron cinéticas de unión comparables dentro de 2 veces la de P1-068761. Por el contrario, mientras que las variantes con reversiones H100G, E56N y E30D (residuos aminoácidos 12 de VH CDR3, 7 de VH CDR2 y 4 de VH CDR1 de '761, respectivamente) mantuvieron selectividad por pH ácido, estos mAb también exhibieron una k_{off} ~3 veces más rápida a pH ácidos en comparación con P1-068761, llevando las velocidades off de estos mutantes a pH ácido cercanas a las de P1-061029 original. Por lo tanto, el agregado de las mutaciones G100H, N56E

y/o D30E al clon de P1-061029 original contribuyó a mejorar la afinidad de VISTA por pH ácido observada en el clon P1-068761 selectivo para pH ácido.

Los resultados SPR obtenidos para las variantes revertidas P1-068767 se muestran en la Fig. 10B, que está ordenada por la k_{off} pH 6,0, de más lenta a más rápida. Los resultados indican que D en la posición 102 (residuo aminoácido 14 en VH CDR3 de '767) se requirió para mantener la selectividad por pH ácido, y la reversión D102V a la secuencia original P1-061029 permitieron una significativa unión a hVISTA a pH neutro (%Rmax > 10). Análisis ulteriores revelaron que las variantes con las reversiones E30D, D52N y E55A (residuos aminoácidos 4 de VH CDR1, 3 de VH CDR2 y 6 de VH CDR3 de '767, respectivamente) mantuvieron selectividad por pH ácido y exhibieron cinéticas de unión comparables a pH 6,0 dentro de 2 veces la de P1-068767. Por el contrario, las variantes con reversión E100fF (residuo aminoácido 12 de VH CDR3 de '767) mantuvieron selectividad por pH ácido, aunque con k_{off} 3 veces más rápida a pH ácido en comparación con P1-068767. Notablemente, las variantes con la reversión E100fF exhibieron k_{off} aún más rápida a pH ácido en comparación con el mAb original P1-061029.

Los datos de unión cinética confirmatorios se obtuvieron (usando la metodología descrita en el Ejemplo 9) con algunos de los mutantes de revesión y los datos se muestran en las Tablas 22 y 23.

Por lo tanto, una síntesis de los mutantes revertidos de P1-068761 y P1-068767 (selectivos para pH ácido) en relación con P1-061029 (tolerante a pH) es como sigue en la Tabla 13 (HCDR1, HCDR2 y HCDR3 están separadas por un guión bajo).

Tabla 13:

		Id. sec.
P1-061029	GFTLDDYAMH_GINWNSANIGYADSVKG_VPGYSGGWIDAFDV	**67**
P1-068761	....E.**E**..._.....EE....._.....H.....**E**..	**51**
P1-068767	....E....._..D...E....._.....E.**D**	**55**
aa pos.	**26-35 50-66 99-110**	

Las secuencias VH CDR mencionadas para P1-061029, P1-068761 y P1-068767 en la Tabla 13 están en los aminoácidos ("aa pos.") 26-35, 50-66 y 99-110 de SEQ ID NO: 67, 51, 55, respectivamente. Las mutaciones clave requeridas para la selectividad por pH ácido se indican en negrita, y las mutaciones con un impacto mayor a 3 veces sobre k_d pH 6,0 en comparación con P1-068761 y P1-068767 están subrayadas.

A continuación, se introdujeron las mutaciones F100fE, V102D y Y32E en ‘029 solas o juntas para determinar si estas sustituciones de aminoácidos son suficientes para transformar ‘029

en pH selectivo. Se crearon los siguientes anticuerpos P1-061029_F100fE_V102D (P1-072000); P1-061029_F100fE (P1-072002); P1-061029_V102D (P1-072004); P1-061029_Y32E (P1-072006) y P1-061029_Y32E_F100fE (P1-072008), y sus cinéticas de unión se determinaron como se describe en el Ejemplo 9. Las secuencias de aminoácidos de sus CDR se muestran en la Tabla 23. Los resultados, que se muestran en la Tabla 22, indican que V102D es suficiente para elaborar '029 pH selectivo, pero las cinéticas de unión se mejoran si F100fE también está presente. Sin embargo, F100fE o Y32E por sí solos no se transforman en '029 pH selectivo.

Ejemplo 15: Mapeo de epítopos de anticuerpo VISTA

Los epítopos hVISTA de ‘015, ‘029, ‘761 y ‘767, formateados como anticuerpos IgG1.3, se determinaron por 2 métodos diferentes: Competencia BLI (interferometría de bio-capa) y despliegue en la superficie de levaduras.

Se realizaron ensayos BLI competitivos para pre-clasificación de epítopos para evaluar si los anticuerpos VISTA selectivos por pH ácido P1-068761 y P1-068767 retenían epítopos similares o superpuestos sobre VISTA en comparación con el P1-061029 original, P1-061015 y los anticuerpos pertinentes de control VISTA 1, 2 y 3. Se realizaron ensayos de pre-clasificación con formato emparedado y en tándem en un instrumento OctetRed384 BLI (PALL/ForteBio). Todos los pasos del ensayo se realizaron a 30 °C con una velocidad de agitación de 1.000 rpm, y el tampón usado fue PBST (137 mM cloruro de sodio, 2,7 mM cloruro de potasio, 10 mM tampón fosfato, 0,05% Tween 20) ácido (pH 6,0) o neutro (pH 7,4). Para el formato emparedado, los sensores IgG-Fc anti-humana (AHC, PALL/ForteBio) capturaron primero el panel del anticuerpo VISTA a pH 7,4, luego los sensores de captura anti-humana fueron bloqueados con IgG humana total (Jackson Nro. 009-000-002). A continuación se capturó VISTA-ECD humano a pH 6,0, y finalmente se evaluó la competencia para todas las combinaciones posibles de anticuerpos a pH 6,0. En el ensayo con formato en tándem, los biosensores recubiertos con estreptavidina (SAX, PALL/ForteBio) primero capturaron hVISTA-ECD biotinilado a pH 7,4, luego los sensores capturaron el panel de anticuerpos VISTA completo a pH 6,0, asegurando la saturación de unión completa de cada anticuerpo en VISTA antes de evaluar la competencia con todas las combinaciones posibles de anticuerpos a pH 6,0.

Los resultados de los ensayos BLI competitivos para pre-clasificación de epítopos se sintetizan mediante una matriz de competencia, Figura 11A. En esta figura, el primer anticuerpo capturado se menciona en las filas, y su actividad de unión o bloqueo hacia los (segundos) anticuerpos competidores se muestra en cada columna. La matriz de competición fue idéntica para ambos formatos de ensayo. Para el ensayo emparedado, la unión (gris claro) del anticuerpo

competidor se definió mediante una señal comprendida entre 0,4 - 1,2 nm, y los anticuerpos bloqueados (negro) no exhibieron señal de unión < 0,1 nm. Para el ensayo en tándem, la unión del anticuerpo competidor se definió mediante una señal comprendida entre 0,3 - 0,8 nm, y los anticuerpos bloqueados no exhibieron señal de unión < 0,2 nm. Mientras que "mAb 3 VISTA" exhibió una rápida disociación a pH ácido de hVISTA-ECD mediante SPR a 37 °C (Figura 6C), este no se disoció rápidamente en ninguno de los formatos del ensayo BLI (realizado a 30 °C). Estos ensayos competitivos indicaron que P1-061015, P1-061029, los anticuerpos selectivos por pH ácido P1-068761 y P1-068767 y los anticuerpos VISTA 2 y 3 compitieron entre sí por epítopos similares o superpuestos sobre VISTA. No obstante, el anticuerpo VISTA 1 se une a un epítopo separado y diferente. Por lo tanto, las mutaciones de aminoácidos cargados introducidas en las VH CDR de P1-061029 para generar los clones con selectividad por pH ácido P1-068761 y P1-068767 no alteraron de modo significativo el epítopo de unión a VISTA.

Los epítopos de los anticuerpos ‘029, ‘015, ‘761 y ‘767 también se mapearon usando despliegue en la superficie de levaduras y NGS de acuerdo con el método de Chao *et al.* (2004) *J. Mol. Biol.* 342:539-550, Oliphant *et al.* (2006) *J. Virol.* 80:12149–12159, y Kowalsky *et al.* (2015) *J. Biol. Chem.* 290:26457–26470. Sucintamente, se generó una genoteca de mutagénesis por saturación de mutantes de punto único del ECD de VISTA y se expuso en la superficie de levadura. Se clasificaron y secuenciaron los mutantes VISTA que perdieron la unión al anticuerpo que se estaba mapeando pero retuvieron la unión a un anticuerpo no bloqueante (mAb1). Dado que retuvieron la unión al mAb1, es probable que estos mutantes estuvieran correctamente plegados, y que la pérdida de unión observada al anticuerpo que se estaba mapeando se debiera probablemente a la pérdida de un residuo de contacto energéticamente importante. Las posiciones de estas mutaciones se designaron como residuos energéticamente importantes en el epítopo del anticuerpo y se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Residuos de huVISTA que se identificaron como residuos de epítopos de mAb anti-VISTA

mAb	T 35	Y 37	K 38	T 39	Y 41	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	I 119	H 121	H 122
P1-061015		x	x	x		x		x	x	x	x				x	x	x	x		
P1-061029		x		x	x	x	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x		
P1-068761	x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	x		x	x	x		
P1-068767		x		x	x	x	x	x	x	x	x					x	x	x	x	x

La Tabla 15 incluye información detallada de la Tabla 14, y enumera los residuos de aminoácidos de hVISTA que probablemente reducen la unión de cada anticuerpo enumerado, sobre la base de la frecuencia de residuos observada en el método de despliegue en superficie de levaduras/NGS.

Tabla 15: Sustituciones de aminoácidos VISTA que probablemente reducen la unión de los anticuerpos enumerados

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
T35					P, Y, W	
Y37	P, G, A, S, T, K, R, H, N, D, E, Q	P, G, S, N, D, E Q	Y, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, Q	P, G, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	G, T, V, L, I, M, K, R, N, Q
K38	P, G, A, S, V					
T39	G, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	M, K, R, H, F, Y, W, D, E, Q	G, A, S, M, Y, W, N, D, E, Q	G, A, S, V, L, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	G, Y, D, E	G, A, S, H, Y, W, N, D, E, Q
Y41				A, S, T, I, M		P, I, M, H
R54	L, M, F, Y, E	M, E	P, A, T, V, I, M, F, Y, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, H, F, Y, W, N, D, E, Q	A, T, V, L, I, M, K, F, Y, E, Q	P, A, S, T, V, L, I, M, F, Y, W, D, E, Q
T61			G, L, R, H, F, Y, D, E, Q	V, L, K, R, H, F, Y	G, V, H, Y, D	L, R, H, F, Y, D, E
F62	G, A, S, M, K, R, N, D, E,	G, K, R, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, I, M, H, Y, W, D,	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, H,	P, G, A, S, T, V, M, H, Y,	P, G, A, S, T, V, L, M, H,

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
	Q		E, Q	Y, W, N, D, E, Q	W, D, E, Q	Y, W, N, D, E, Q
Q63	G, R, W, D, E	W, D, E	G, A, S, T, V, K, R, H, Y, W, N, D, E	P, G, S, T, L, M, K, R, H, F, Y, W, N, D, E	G, S, T, K, H, Y, N, D, E	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, H, F, Y, W, N, D, E
L65	P, G, A, S, T, K, R, H, W, N, D, E, Q	P, G, S, K, W, D, E, Q	G, T, Y, D, E, Q	P, G, A, S, T, H, Y, W, N, D, E, Q,		P, G, S, H, D, E, Q
H66	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	T, V, L, I, Y, D, E, Q	G, S, T, V, L, I, M, K, R, W, N, D, E, Q	T, I, K, W, D	T, V, I, K, W, D, E
L67					G, A	
H68			L, I, M, F, E	L, I, E	G, T, V, L, I, Y, W, D, E, Q	
F97	G, D, E					
L115	R, W		A, T, K, N, Q	A, T, K, F, N, Q	A, T, M, K, F, N	A, T, K, F, N, Q
V117	M, K, N, D	M, K, R, W, E	T, M, K, R, W, E	T, L, I, M, K, R, W, E	T, I, M, K, W	T, L, I, M, K, R, W, E
I119	F, P	P, N	P, M, E	P, M, E	M, H	P, M, H, F, N, E
H121						V, E, Q

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
H122						P, Y, N, D
S124	P, V, L, I, K, F, D, E	L, I, M, H, W, Q	L, I, M, H, W, Q		L, I, M, Q	L, I, M
E125	A, S, T, L, M, K, H, Y, D	A, T, V, I, M, K, H, F, Y, W, N, D	T, V, I, M, H, F, Y, W	G, T, K, H, Y, W, N, D	V, I, H, N	T, V, I, F, Y, W, N
R127			S, V, M, H	P, S, V, M, K, H, N	P, V, M, N	P, S, V, M, H, N

La Fig. 11B y la Fig. 11C muestran una representación de un epítopo que abarca todos los residuos para bloquear el anticuerpo hVISTA como se detalla en la Tabla 14 (Fig. 11B) en comparación con el epítopo de un anticuerpo hVISTA no bloqueante (mAb1; Fig. 11C). Los residuos de aminoácidos 66(H) y 162(A) se indican para denotar la orientación de la molécula. Los residuos de histidina aparecen en color gris y los residuos de epítopos en color negro. Notablemente, todos los mAb de bloqueo anti-VISTA ocupan la misma región del epítopo, en consonancia con los datos de pre-clasificación del octeto (mostrando que compiten entre sí), con sutiles diferencias de residuos entre los anticuerpos consultados. Por el contrario, el anticuerpo que no bloquea hVISTA (mAb1) ocupa una región distinta del epítopo en la molécula hVISTA, y esto está además respaldado por los datos de pre-clasificación del octeto lo que muestra que ninguno de los mAb de bloqueo compitió con mAb1.

Ejemplo 16: Propiedades biofísicas de '761 y '767

Las propiedades físicas y químicas de P1-068761 y P1-068767 se compararon con las del P1-061029 original (todos con una región constante IgG1.3) mediante las siguientes técnicas analíticas y biofísicas.

Se obtuvieron datos analíticos mediante SEC (cromatografía por exclusión de tamaño, por sus siglas en inglés) usando un instrumento para HPLC (cromatografía líquida de alta resolución, por sus siglas en inglés) Agilent 1260 usando una columna KW403-4F Shodex™ (4,6mmID x 300mmL), en un tampón que contenía fosfato de sodio 100mM, cloruro de sodio 150mM, a pH 7,3 (filtro 0,2 um) con un caudal de 0,30 mL/min. Los datos se recolectaron con un detector de matriz de diodos Agilent 1260 Infinity configurado para recolección a 280nm y se analizaron mediante el programa de computación Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara CA).

Se obtuvieron datos de imágenes mediante enfoque isoeléctrico capilar (icIEF) en un instrumento iCE3 ProteinSimple con muestreador automático Alcott 720NV. Las muestras de anticuerpos se mezclaron con una mezcla de separación para brindar concentraciones finales de anticuerpo 0,2 mg/ml, metil celulosa 0,35%, urea 2,0 M, farmalito 1% v/v pI 5-8, y farmalito 3 % v/v pI 8-10,5. Estas muestras se analizaron usando un tiempo de pre-enfoque de 1 min a 1.500V, y un tiempo de enfoque de 10 min a 3.000V, en un cartucho ProteinSimple cIEF recubierto con FC (producto nro. 101701). Los datos se enalizaron usando el programa informático iCE CFR V4.3.1.5352.

El tamaño hidrodinámico de los anticuerpos se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) y la estabilidad térmica se caracterizó mediante espectroscopia fluorescente y dispersión de luz estática (SLS, por sus siglas en inglés) usando un instrumento de caracterización molecular UNcle (Unchained Labs). Los anticuerpos P1-061029,

P1-068761 y P1-068767 se prepararon con una concentración de 2 mg/ml en tampón PBS 1X, y luego se diluyeron 1:1 con Tris 40 mM en PBS 1X o con citrato 40 nM en PBS 1X, a diferentes pH para proporcionar muestras finales de 1 mg/ml de anticuerpo, ya sea en Tris 20 mM / PBS 1X, o citrato 20 mM / PBS 1X, a pH 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 o 9,0. Estas muestras se cargaron en un cartucho cubeta UNi y se analizaron en el transcurso de 1 hora desde la dilución en las diferentes formulaciones de pH. Los datos de DLS se recolectaron a 25 °C, usando 4 adquisiciones de 5 s cada una. Las funciones de autocorrelación de intensidad se ajustaron usando el programa informático de análisis UNcle versión V2.0. Los datos de desnaturalización térmica se obtuvieron mediante el escaneo de las muestras a una temperatura comprendida entre 25 °C y 90 °C con una velocidad de escaneo de 0,50/min, con excitación a 266 nm y 473 nm. Los datos de fluorescencia se obtuvieron dentro de un rango de 250 nm - 720 nm. Los datos de SLS y fluorescencia se analizaron usando el programa informático de análisis UNcle versión V2.0.

La viscosidad aparente de los anticuerpos P1-061029, P1-068761 y P1-068767 se midió en un instrumento de caracterización molecular UNcle (Unchained Labs), usando un método de DLS basado en perlas que mide la velocidad de difusión de perlas de poliestireno en presencia de las soluciones de los anticuerpos formuladas, según las recomendaciones del protocolo de Unchained Labs. Sucintamente, se preparó una solución 10 % de 100 nm, de perlas de poliestireno (Thermo Scientific, número de catálogo 3100A) en tampón de formulación que contenía Tween 80 0,5 %). Se agregaron 3 ul de esta mezcla de perlas de poliestireno a 30 ul de anticuerpo formulado (diversas concentraciones de Ab en histidina 20 mM, sacarosa 260 mM pH 6,0) y la mezcla obtenida de proteína/perlas se cargó en 3 divisiones de un cartucho cubeta UNi (9 ul en cada división) para análisis por triplicado. Los datos se analizaron usando el programa informático de análisis UNcle versión V2.0, usando una viscosidad de referencia de 1,3 cP.

La estabilidad física de los anticuerpos P1-061029, P1-068761 y P1-068767 se estudió en condiciones de estrés acelerado preparando 50 mg/ml de muestras de anticuerpos en histidina 20 mM, sacarosa 260 mM pH 6,0 y exponiéndolas a estrés térmico de 40 °C durante 4 semanas. Se extrajeron las alícuotas inmediatamente antes de la incubación a 40 °C (tiempo cero = t0), como así también después de 1 semana (1 s) y 4 semanas (4 s) de estrés térmico, y las muestras se diluyeron a 2 mg/ml usando el tampón de formulación y se analizaron mediante aSEC (SEC analítica). Los datos de aSEC se obtuvieron usando un instrumento para HPLC Agilent 1260 usando una columna KW403-4F Shodex (4,6mmID x 300mmL), en un tampón que contenía fosfato de sodio 100mM, cloruro de sodio 150mM, a pH 7,3 (filtro 0,2 um) con un caudal de 0,30 mL/min. Los datos se recolectaron con un detector de matriz de diodos Agilent 1260 Infinity configurado para recolección a 280nm y se analizaron mediante el programa de computación Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara CA).

Los resultados son los siguientes: Los datos de la cromatografía analítica por exclusión de tamaño (aSEC) mostraron que los tres anticuerpos pudieron ser purificados a pureza más alta, consistiendo cada muestra de anticuerpo en más de 99,3 % de monómero (pico principal), menos de 0,7 % de especies con alto peso molecular (HMW), y niveles no detectables de especies con bajo peso molecular (LMW), Tabla 16.

Tabla 16: Datos de SEC analítica para anticuerpos anti-VISTA, que muestran el porcentaje de especies con alto peso molecular (%HMW), el porcentaje de principales especies monoméricas (%Main) y porcentaje de especies con bajo peso molecular (%LMW).

Nombre de la muestra	**%HMW**	**%Main**	**%LMW**
P1-061029	0,4	99,6	0,0
P1-068761	0,6	99,4	0,0
P1-068767	0,5	99,5	0,0

El perfil de variantes de carga según se determinó mediante imágenes de enfoque isoeléctrico capilar (icIEF) para el anticuerpo P1-061029 mostró la presencia de especies principales (69,4%) con punto isoeléctrico (pI) de 8,56, y 30,6 % de especies ácidas. (Fig. 12A-C). P1-068761 demostró especies principales (66,4 %) con pI de 6,69 y 33,6 % de especies ácidas. P1-068767 demostró especies principales (61,4 %) con pI de 6,63 y 38,6 % de especies ácidas. Por lo tanto, la distribución de especies ácidas, básicas y principales es similar para los tres anticuerpos, pero los anticuerpos modificados genéticamente P1-068761 y P1-068767 tienen un punto isoeléctrico significativamente más bajo que el anticuerpo P1-061029 original.

El estado oligomérico de P1-061029, P1-068761 y P1-068767 se determinó en un rango de pH de 3-9 usando dispersión de luz dinámica (DLS) en tampones con diferentes pH. Todos los valores de radio hidrodinámico (Rh) para cada anticuerpo estuvieron comprendidos dentro del rango de 4,8 - 5,7 nM, que es típico para muestras de anticuerpos monoméricos, Tabla 17. Esto sugiere que estos anticuerpos no forman niveles detectables de especies agrupadas con alto peso molecular a 1 mg/ml dentro de la primera hora transcurrida después de la dilución en formulaciones que tienen pH entre 3 - 9.

Tabla 17: Radio hidrodinámico determinado mediante DLS para muestras de anticuerpos anti-VISTA de 1 mg/ml dentro del rango de pH3 - pH9.

pH	**Tampón**	**Rh (nm) P1-061029**	**Rh (nm) P1-068761**	**Rh (nm) P1-068767**

9	20mM Tris / 1 X PBS	5,2	4,8	5,2
8	20mM Tris / 1 X PBS	5,2	5,2	5,2
7	20mM Tris / 1 X PBS	4,8	5,2	5,2
7	20mM citrato / 1 X PBS	4,8	5,2	5,7
6	20mM citrato / 1 X PBS	5,2	5,2	4,8
5	20mM citrato / 1 X PBS	5,2	4,8	5,2
4	20mM citrato / 1 X PBS	4,8	4,8	5,2
3	20mM citrato / 1 X PBS	5,2	5,2	5,2

Se midió la estabilidad térmica de P1-061029, P1-068761 y P1-068767 dentro del rango de pH 3-9 mediante el control de fluorescencia y dispersión de luz estática como función de la temperatura en tampones a diferentes pH, Esta primera transición de desnaturalización térmica (Tm1) que generalmente representa la desnaturalización del dominio CH2 de los anticuerpos IgG1 se determinó mediante fluorescencia y se muestra en la Tabla 18, y la aparición de agregados (Tagg) que generalmente representa la desnaturalización del dominio FAB de anticuerpos IgG1 se midió mediante dispersión de luz estática y se muestra en la Tabla 19, A pH neutro (pH 7,0) en la formulación Tris/PBS los valores Tm1 para los tres anticuerpos fueron P1-061029 (67,4 ºC), P1-068761 (67,0 ºC), y P1-068767 (65,3 ºC), con valores Tagg de P1-061029 (67,8 ºC), P1-068761 (67,5 ºC), y P1-068767 (65,8 ºC), Los valores de Tm1 para cada anticuerpo en la formulación Citrato/PBS al mismo pH neutro 7,0 o pH ligeramente más ácido de 6,0 estuvieron todos dentro de 0,7º de los valores Tris/PBS a pH 7,0, No obstante, los valores Tm1 fueron ligeramente más bajos (entre 0,3º - 1,1º más bajos) a pH más básico de 8-9, y significativamente más bajos a pH más ácido de 3-5, para cada anticuerpo, En comparación con pH neutro, el Tagg para P1-061029 estuvo dentro de 0,1º del valor a pH 7,0 a pH más básico 8,0 - 9,0, fue 1,0º más bajo a pH 5,0, y mucho más bajo (6,1º - 19,6º) en las condiciones más ácidas de pH a pH 3,0 - 4,0, Los Tagg para P1-068761 y P1-068767 también fueron significativamente más bajos a pH 3,0 - 4,0, No obstante, a pH 5,0 el Tagg para P1-068761 fue solo 0,2º más bajo que el Tagg a pH 6,0, mientras que el Tagg para P1-068767 fue 2,2º más bajo a pH 5,0 que a pH 6,0, lo que demuestra algunas diferencias en Tagg para cada anticuerpo, Tabla 19,

Tabla 18: Estabilidad térmica (valores Tm1) para P1-061029, P1-068761, P1-068767 en todo el

rango de pH de pH3 - pH 9 determinada mediante espectroscopia fluorescente

pH	Tampón	Tm1 (ºC) P1-061029	Tm1 (ºC) P1-068761	Tm1 (ºC) P1-068767
9	20mM Tris / 1 X PBS	66,6	65,9	65,0
8	20mM Tris / 1 X PBS	67,0	66,5	64,8
7	20mM Tris / 1 X PBS	67,4	67,0	65,3
7	20mM citrato / 1 X PBS	67,2	66,9	64,8
6	20mM citrato / 1 X PBS	67,6	67,5	65,0
5	20mM citrato / 1 X PBS	64,4	64,7	62,1
4	20mM citrato / 1 X PBS	51,8	52,0	50,8
3	20mM citrato / 1 X PBS	30,7	28,1	28,7

Tabla 19: Estabilidad térmica (valores Tagg) para P1-061029, P1-068761, P1-068767 en todo el rango de pH de pH3 - pH 9 determinada mediante dispersión de luz estática

pH	Tampón	Tagg (ºC) P1-061029	Tagg (ºC) P1-068761	Tagg (ºC) P1-068767
9	20mM Tris / 1 X PBS	67,7	67,1	66,0
8	20mM Tris / 1 X PBS	67,8	67,5	65,8
7	20mM Tris / 1 X PBS	67,8	68,2	65,9
7	20mM citrato / 1 X PBS	67,8	68,1	65,7
6	20mM citrato / 1 X PBS	68,1	68,9	65,6
5	20mM citrato / 1 X PBS	66,8	68,7	63,7
4	20mM citrato / 1 X PBS	61,7	63,6	56,9
3	20mM citrato / 1 X PBS	48,2	48,8	41,0

La viscosidad aparente de P1-061029, P1-068761 y P1-068767 se midió usando un método de DLS basado en perlas que mide la velocidad de difusión de perlas de poliestireno en presencia de las soluciones de los anticuerpos formuladas, La comparación de los tres anticuerpos a 44 mg/ml muestra viscosidad similar para ambos anticuerpos modificados genéticamente, como el anticuerpo original en estas condiciones, Tabla 20, En un segundo estudio adicional se concentró material proteico de P1-068761 y P1-068767 a altas concentraciones para analizar la viscosidad a 136 mg/ml, 100 mg/ml y 50 mg/ml, Estos datos muestran un incremento en la viscosidad aparente a concentraciones de anticuerpos más elevadas, con una viscosidad aparente máxima de 5,7 ± 0,7

para P1-068761 y 5,3 ± 0,6 para P1-068767 a 136 mg/ml,

Tabla 20: Viscosidad a parente (en cP) para anticuerpos en histidina 20 mM, sacarosa 260 nM a pH 6,0 a 25 ºC determinada mediante el método DLS basado en perlas, Los valores representan el promedio y la desviación estándar de los datos de tres divisiones UNi

Anticuerpo	**Viscosidad aparente (cP) a 136 mg/ml**	**Viscosidad aparente (cP) a 100 mg/ml**	**Viscosidad aparente (cP) a 50 mg/ml**	**Viscosidad aparente (cP) a 44 mg/ml**
P1-061029				1,6 ± 0,1
P1-068761	5,7 ± 0,7	3,1 ± 0,0	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,4
P1-068767	5,3 ± 0,6	3,0 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2

Se estudió la estabilidad física de muestras de 50 mg/ml de P1-061029, P1-068761 y P1-068767 en histidina 20 mM, sacarosa 260 mM pH 6,0 en condiciones de estrés térmico acelerado de 40 °C durante 4 semanas, El estado oligomérico de los anticuerpos se monitoreó mediante aSEC en muestras inmediatamente después de la incubación a 40º (tiempo cero = t0), como así también después de 1 semana (1s) y 4 semanas (4s) de estrés a 40ºC, Estos datos muestran que los tres anticuerpos permanecen mónoméricos en más de 96 % después de 4 semanas a 40ºC, con bajos niveles de especies HMW (< 1,6 % HMW) y bajos niveles de especies LMW (< 2,0 % LMW), Tabla 21,

Tabla 21: Datos de aSEC para muestras de anticuerpos anti-VISTA con estabilidad acelerada, que muestran el porcentaje de especies con alto peso molecular (%HMW), el porcentaje de principales especies monoméricas (%Main) y porcentaje de especies con bajo peso molecular (%LMW), para muestras t0, 1s y 4s.

Anticuerpo	**Muestra**	**% HMW**	**% Main**	**% LMW**
P1-061029	t0	0,4	99,7	0,0
	1s	0,5	99,4	0,2
	4s	0,8	97,2	2,0
P1-068761	t0	0,6	99,4	0,0
	1s	0,9	98,8	0,3
	4s	1,6	96,4	2,0
P1-068767	t0	0,5	99,5	0,0

	1s	0,8	98,9	0,3
	4s	1,6	96,4	2,0

Ejemplo 17: Generación de anticuerpos anti-VISTA con sustituciones de regiones marco de cadena pesada de línea germinal

Se prepararon los anticuerops anti-VISTA P1-061029 o la progenie de estos, específicamente P1-068761, P1-068767, P1-068761_E55A (P1-070868), P1-068767_D52N (P1-070906), P1-068767_E55A (P1-070908) y P1-068767_D52N_E55A (P1-070916), en los que las regiones marco de la región variable de cadena pesada se modificaron por una o ambas de las sustituciones K16R y T84A. (En otras palabras, el anticuerpo P1-070868 tiene las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL del anticuerpo P1-068761 E55A, pero con las sustituciones K16R y T84A en la región marco de cadena pesada). Estas sustituciones se hicieron de manera que los anticuerpos se asemejan más a la secuencia de línea germinal de la región marco de cadena pesada, que comprende los residuos 16R y 84A. La Fig. 14 proporciona un alineamiento que muestra la ubicación de cada uno de estos residuos de aminoácidos a la VH de P1-068761 y sus secuencias CDR. Las sustituciones K16R y T84A en la VH de P1-068761 y otros anticuerpos se ilustran en la Tabla de Secuencias.

Estas sustituciones alteran los residuos de aminoácidos en esas dos posiciones de manera que estas contiene los mismos aminoácidos que aquellos en la línea germinal de la que deriva la cadena pesada de ‘029. Los residuos 16R y 84A también están presentes en las regiones marco de VH P1-61015 (Ver la SEQ ID NO: 95).

La unión a hVISTA de estos anticuerpos se midió como se describe en el Ejemplo 9. Los resultados se proporcionan en la Tabla 22 y las sustituciones de aminoácidos de los anticuerpos se muestran en la Tabla 23. Los resultados indican que K16R y T84A no afectan considerablemente la cinética de unión de la progenie de '029.

Por lo tanto, cualquiera de los anticuerpos anti-hVISTA descritos en la presente puede comprender K16R y/o T84A. Los anticuerpos P1-061029_F100fE_V102D (P1-072000); P1-061029_F100fE (P1-072002); P1-061029_V102D (P1-072004); P1-061029_Y32E (P1-072006) y P1-061029_Y32E_F100fE (P1-072008) con K16R y/o T84A se construirán y su unión se probará como se describe en la presente.

Tabla 22: Cinética de unión de Ab seleccionados a hVISTA

ID	Descripción	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	1.3E+05	5.9E-03	4.5E-08	8.1E+05	5.9E-03	7.3E-09
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (revertiente directo)	1.3E+05	6.0E-03	4.6E-08	8.0E+05	5.9E-03	7.4E-09
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (revertiente directo)	1.5E+05	6.0E-03	4.0E-08	8.7E+05	6.0E-03	6.9E-09
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.9E+05	1.4E-03	4.9E-09
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.8E+05	1.4E-03	5.0E-09
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			3.1E+05	1.6E-03	5.1E-09
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.4E+05	2.6E-03	1.1E-08
P1-071771	P1-068767_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.5E+05	2.6E-03	1.1E-08
P1-071773	P1-068767_HC_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.7E+05	2.6E-03	9.8E-09
P1-071775	P1-070868_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.5E+05	1.7E-03	6.9E-09
P1-071777	P1-070868_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.7E+05	1.7E-03	6.4E-09
P1-071779	revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.6E+05	1.8E-03	7.0E-09
P1-071781	P1-070906_HC_K16R_T84	Ninguna unión a 100nM			2.2E+05	1.7E-03	7.7E-09

ID	Descripción	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)
	A (revertiente directo)						
P1-071783	P1-070906_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.2E+05	1.7E-03	7.6E-09
P1-071785	P1-070906_HC_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.5E+05	1.7E-03	6.7E-09
P1-071787	P1-070908_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.1E+05	2.7E-03	1.3E-08
P1-071789	P1-070908_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.1E+05	2.6E-03	1.3E-08
P1-071791	P1-070908_HC_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.4E+05	2.7E-03	1.1E-08
P1-071793	P1-070916_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.1E+05	1.7E-03	8.1E-09
P1-071795	P1-070916_HC_K16R (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.1E+05	1.7E-03	8.1E-09
P1-071797	P1-070916_HC_T84A (revertiente directo)	Ninguna unión a 100nM			2.2E+05	1.7E-03	7.7E-09
P1-072000	P1-061029_F100fE_V102D	Ninguna unión a 100nM			2.0E+05	2.3E-03	1.2E-08
P1-072002	P1-061029_F100fE	4.4E+04	8.5E-03	1.9E-07	6.5E+05	1.6E-03	2.5E-09
P1-072004	P1-061029_V102D	Ninguna unión a 100nM			1.4E+05	2.5E-02	1.8E-07
P1-072006	P1-061029_Y32E	1.2E+04	6.3E-03	5.4E-07	3.4E+05	1.2E-03	3.5E-09
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	Ninguna unión a 100nM			2.7E+05	2.4E-02	8.8E-08
P1-	P1-068767_D52N_E55A	Ninguna unión a 100nM			2.3E+05	1.7E-	7.4E-

ID	Descripción	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)
070916						03	09
P1-070908	P1-068767_E55A	Ninguna unión a 100nM			2.2E+05	2.5E-03	1.1E-08
P1-070906	P1-068767_D52N	Ninguna unión a 100nM			2.4E+05	1.6E-03	6.7E-09
P1-070868	P1-068761_E55A	Ninguna unión a 100nM			2.6E+05	1.8E-03	7.0E-09
P1-0687677	'767 progenie selecitva de pH ácido	Ninguna unión a 100nM			2.6E+05	2.6E-03	1.0E-08
P1-0687617	'761 progenie selecitva de pH ácido	Ninguna unión a 100nM			2.8E+05	1.5E-03	5.5E-09
P1-0610296	GI original	1.8E+05	6.4E-03	3.6E-08	7.8E+05	5.8E-03	7.4E-09

Tabla 23: Secuencias de aminoácidos de las CDR de VH de los anticuerpos de la Tabla 22

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (revertiente directo)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (revertiente directo)	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.E...	......EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (revertiente directo)	....E.E...	......EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (revertiente directo)	....E.E...	......EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.....	..D...E.....	..........E.D	.....	.....	.....
P1-071771	P1-068767_HC_K16R (revertiente directo)	....E.....	..D...E.....	..........E.D	.....	.....	.....
P1-071773	P1-068767_HC_T84A (revertiente directo)	....E.....	..D...E.....	..........E.D	.....	.....	.....
P1-071775	P1-070868_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.E...	.......E.....	.....H.....E..	.....	.....	.....

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071777	P1-070868_HC_K16R (revertiente directo)	....E.E...	.....E.....	.....H..... E..	....	.....	..... .
P1-071779	P1-070868_HC_T84A (revertiente directo)	....E.E...	.....E.....	.....H..... E..	....	.....	..... .
P1-071781	P1-070906_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.....	.....E.....	.....E .D	....	.....	..... .
P1-071783	P1-070906_HC_K16R (revertiente directo)	....E.....	.....E.....	.....E .D	....	.....	..... .
P1-071785	P1-070906_HC_T84A (revertiente directo)	....E.....	.....E.....	.....E .D	....	.....	..... .
P1-071787	P1-070908_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.....	..D.....	.....E .D	....	.....	..... .
P1-071789	P1-070908_HC_K16R (revertiente directo)	....E.....	..D.....	.....E .D	....	.....	..... .
P1-071791	P1-070908_HC_T84	....E.....	..D.....	.....E .D	....	.....	..... .

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
	A (revertiente directo)						
P1-071793	P1-070916_HC_K16R_T84A (revertiente directo)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071795	P1-070916_HC_K16R (revertiente directo)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071797	P1-070916_HC_T84A (revertiente directo)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-072000	P1-061029_F100fE_V102D	.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-072002	P1-061029_F100fE	.....	.....	.....E..	.....	.....	.....
P1-072004	P1-061029_V102D	.....	.....	.....D	.....	.....	.....
P1-072006	P1-061029_Y32E	.....E...	.....	.....	.....	.....	.....
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	.....E...	.....	.....E..	.....	.....	.....
P1-070916	P1-068767_D52N_E55A	.....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-070908	P1-068767_E55A	.....E.....	..D.....	.....E. D	....	.....	..... .
P1-070906	P1-068767_D52N	.....E.....	.....E.....	.....E. D	....	.....	..... .
P1-070868	P1-068761_E55A	.....E.E...	.....E.....	....H..... E..	....	.....	..... .
P1-0687677	'767 progenie selectiva de pH ácido	.....E.....	..D...E....	.....E. D	....	.....	..... .
P1-0687617	'761 progenie selectiva de pH ácido	.....E.E...	.....EE...	....H..... E..	....	.....	..... .
P1-0610296	GI original	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV	RASQSVSSSYLA	GASSRAT	QQYGSSPFT

Por lo tanto, este Ejemplo identificó anticuerpos VISTA anti-humanos que se unen a VISTA humano con 200-10.000 veces mayor afinidad a pH ácido que a pH fisiológico. En los ensayos de unión de células, estos anticuerpos VISTA selectivos de pH mostraron un punto de inflexión en la intensidad de unión a aproximadamente pH 6,5, similar a lo que se observó para la unión de VISTA a células T.

Ejemplo 18: el anticuerpo anti-VISTA y el anticuerpo anti-PD1 actúan sinergísticamente para provocar el rechazo tumoral

Para caracterizar los efectos de bloquear la interfaz de ligandos selecitvos de pH ácido de VISTA en un tumor, se produjo un anticuerpo sustituto de ratón, VISTA.10., que bloquea la unión de VISTA de ratón a las células T de ratón a pH ácido. (VISTA.10 también se une a mVISTA a pH fisiológico). Para evitar el acoplamiento del receptor Fc y cualquier función efectora, VISTA.10 se convirtió en un isótopo de IgG1 con una mutación puntual, D265A, para evitar el acoplamiento del receptor Fc y las funciones efectoras {Clynes, 2000}. Se implantaron tumores MC38 de forma subcutánea en ratones, y cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 70 mm^2, se administraron los siguientes tratamientos cada tres días a los ratones: Grupo 1: 4 dosis de anti-

KLH mIgG1-D265A a 30 mpk; Grupo 2: dos dosis de anti-PD-1 mIgG1-D265A a 5 mg/kg; Grupo 3: 4 dosis de anti-VISTAmIgG1-D265A a 30 mg/kg; y Grupo 4: combinación de anti-PD-1 + anti-VISTA. El tratamiento de combinación de VISTA.10 y anticuerpo de bloqueo de PD-1 provocó rechazo tumoral en la mayoría de los ratones a los que se les implantaron tumores de adenocarcinoma colorrectal MC38 (Figura 15A-D) anti-PD-1 y VISTA.10, los tratamientos con agentes únicos se retrasaron de forma modesta pero no evitaron el avance tumoral (Figura 15A-D).

Consistente con estos resultados, el análisis *ex vivo* de tumores a partir de ratones tratados mostraron aumentos de 5 y 10 veces en las frecuencias de células T CD8+ y células T CD4+ infiltrantes de tumores, respectivamente, en ratones tratados con VISTA.10 y anti-PD-1 (Figura 15E-F). Otros subconjuntos de leucocitos no se vieron afectados en gran medida. La terapia de combinación también dio lugar a una expresión considerablemente más baja de PD-1, LAG-3 y TIM-3, todos los marcadores de disfunción y agotamiento de células T, en células T CD8+ infiltrantes de tumores (Figura 15E). El tratamiento con anticuerpos PD-1 o VISTA solos tuvo solamente efectos modestos en las frecuencias y fenotipo de células T (Figuras 15E-F). Las frecuencias de subconjuntos de células mieloides intratumorales, que incluyen aquellas de los macrófagos, las células mieloides supresoras monocíticas (MDSC), y MDSC granulocíticas, en general no se vieron afectadas por el tratamiento con anticuerpo VISTA.

Para contextualizar la actividad del anticuerpo VISTA, a los ratones con inactivación de VISTA se les implantaron tumores MC38 y se los trató con anticuerpos de control o bloqueo PD-1. Como se muestra en la Fig. 15I, en los grupos de tratamiento de control, los tumores MC38 crecieron de forma comparable en ratones con inactivación de VISTA y sus crías de tipo salvaje. Los ratones con inactivación de VISTA mostraron mayor capacidad de respuesta a anti-PD-1, lo que recuerda la eficacia de la combinación de VISTA y PD-1. Esta capacidad de respuesta se correlacionó nuevamente con las células T CD4+ y CD8+ intratumorales aumentadas. Estos datos indican que los anticuerpos que bloquean la unión de VISTA a pH ácido son suficientes para revertir la supresión inmunológica mediada por VISTA.

Dado que VISTA funciona selectivamente a pH ácido, planteamos la hipótesis de que la supresión mediada por VISTA de las respuestas antitumorales tiene lugar predominantemente dentro de los propios lechos tumorales. Analizamos la actividad del anticuerpo de bloqueo de VISTA humano a pH ácido selectivo P1-068767 (’767) y su anticuerpo original a pH no selectivo P1-061029 (’029) en ratones transgénicos que expresan el dominio extracelular de VISTA humano en lugar del dominio extracelular de VISTA endógeno (ratones con inactivación de VISTA humano, genOway). De acuerdo con los experimentos de inactivación de combinación y VISTA descritos anteriormente, P1-061029 y P1-068767 provocaron eficacia comparable junto con un anticuerpo

de bloqueo de PD-1 de ratón (Fig 15J-M).

Se midió la semivida de P1-068767 y P1-061029 en ratones con inactivación de VISTA humano. Como se muestra en la Fig. 15N, P1-068767 presentó un tiempo de permanencia promedio (MRT) de casi 20 veces más que P1-061029, lo que indica la unión débil a VISTA a pH 7,4 y, por consiguiente, redujo TMDD (71 horas y 4,1 horas, respectivamente).

Para evaluar la unión del anticuerpo de VISTA periférico en un modelo no transgénico, tratamos monos cynomolgus con P1-068767 y un anticuerpo con pH preferido neutro denominado VISTA.4 (una familia de solicitudes de patente distinta de los mismos solicitantes proporciona una descripción adicional de VISTA.4) de la siguiente manera. Se evaluaron VISTA.4 y P1-068767 luego de infusiones intravenosas durante 10 minutos en monos cynomolgus sin contacto con la proteína a una dosis de 5 mg/kg (n = 1 por anticuerpo). Se recogieron muestras de sangre en serie a 0,17, 0,5, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 168, 216, 240, 336 horas después de la infusión. Posteriormente, se obtuvieron muestras de suero para el análisis de la concentración de anticuerpo usando un ensayo de unión al ligando que empleó VISTA recombinante como agente de captura y un mAb Fc de IgG anti-humano como agente de detección. El límite de cuantificación inferior para el ensayo fue 1 ng/mL. Los tiempos de permanencia promedio se calcularon mediante análisis no compartimental de los datos de concentración-tiempo de mAb en suero usando el software Kinetica (Versión 5.0, Thermo Fisher Scientific). Los resultados muestran que P1-068767 mostró nuevamente un MRT mucho mayor (717 horas y 7,6 horas, respectivamente, Fig 6O). Estos resultados sugieren que el bloqueo de VISTA en el microentorno tumoral, en lugar de en los tejidos no ácidos y en la sangre, impulsa la eficacia antitumoral.

Ejemplo 19: VISTA.4 inhibe la unión de VISTA a PSGL-1

Se identificó previamente el ligando de glicoproteína de P-selectina de inmunoreceptor (PSGL-1) como un ligando VISTA (ver, WO2018132476). El PSGL-1 es un receptor para selectinas, particularmente, la P-selectina y la unión a su ligando primario. La P-selectina es un facilitador bien caracterizado de interacciones de adhesión entre leucocitos, plaquetas y células endoteliales (Carlow, D.A., et al., PSGL-1 function in immunity and steady state homeostasis. Immunol Rev, 2009. 230(1): págs. 75-96, y Abadier, M. y K. Ley, P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. Curr Opin Hematol, 2017. 24(3): págs. 265-273. 18). El PSGL-1 se ha identificado también como un regulador negativo de respuestas de células T en contextos de infección viral crónica, inmunidad tumoral y algunas enfermedades autoinmunes (Angiari, S., et al., Regulatory T cells suppress the late phase of the immune response in lymph nodes through P-selectin glycoprotein ligand-1. J Immunol, 2013. 191(11): págas. 5489-500; Matsumoto, M., M. Miyasaka, y T. Hirata, P-selectin glycoprotein ligand-1 negatively regulates T-cell immune responses. J Immunol, 2009.

183(11): págs. 7204-11; Nunez-Andrade, N., et al., P-selectin glycoprotein ligand-1 modulates immune inflammatory responses in the enteric lamina propria. J Pathol, 2011. 224(2): págs. 212-21; Perez-Frias, A., et al., Development of an autoimmune syndrome affecting the skin and internal organs in P-selectin glycoprotein ligand 1 leukocyte receptor-deficient mice. Arthritis Rheumatol, 2014. 66(11): págs. 3178-89; Tinoco, R., et al., PSGL-1 Is an Immune Checkpoint Regulator that Promotes T Cell Exhaustion. Immunity, 2016. 44(5): págs. 1190-203). Esta función inmunosupresora parace ser independiente de los ligandos PSGL-1 conocidos (Tinoco, R., et al., PSGL-1: A New Player in the Immune Checkpoint Landscape. Trends Immunol, 2017. 38(5): págs. 323-335).

En ensayos basados en células, el PSGL-1 recombinante y la P-selectina recombinante demostraron ser ambos capaces de bloquear la unión de multímero de VISTA a las células T CD4+ humanas activadas. La eliminación del PSGL-1 de las células T CD4+ activadas mediante CRISPR también extirpó la unión de multímeros de VISTA. Además, la expresión ectópica de PSGL-1 demostró ser suficiente para permitir la unión de VISTA a células CHO a pH ácido, y la expresión de VISTA fue suficiente para permitir la unión de PSGL-1 a las células 293T a pH ácido.

Este Ejemplo muestra que PSGL-1 se unió a la P-selectina comparablemente a pH ácido y fisiológico, pero se unió a VISTA solo a pH ácido (Figura 17A). El experimento se realizó usando ensayos de biosensor Octet con VISTA, P-selectina y glicopétido de PSGL-1 mínimo (aminoácidos 1-19, con ambas modificaciones postraduccionales de carbohidrato de Lewis X siliado y sulfotirosina) que previamente demostraron apoyar la unión de P-selectina de alta afinidad (Sako, D., et al., A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. Cell, 1995. 83(2): págs. 323-319).

La interfaz de ligandos de PSGL-1 depende de las modificaciones postraduccionales de Lewis X siliado y sulfotirosina con carga negativa que se unen a la P-selectina con gran afinidad (Sako et al. 1995 Cell 83(2): págs. 323-319), y células T sin tratar, lo cual expresa PSGL-1 decorado con Lewis X siliado, son, por consiguiente, incapaces de acoplar la P-selectina de forma eficaz. El PSGL-1 decorado con Lewis X siliado se expresa de forma constitutiva en monocitos y neutrófilos circulantes y se expresa de forma inducible en células T activadas, consistente con una gran unión de VISTA a estos tipos de células a pH ácido. Sin embargo, se descubrió que VISTA se une a células T activadas o sin tratar lo que sugiere que a diferencia de la P-selectina, VISTA se une a PSGL-1 independientemente de Lewis X sialiado. En ensayos de biosensores Octet adicionales, se descubrió que, mientras que VISTA y P-selectina se unieron ambos preferencialmente a los glicopéptidos de PSGL-1 con la decoración de Lewis X siliado, solamente VISTA se unió a glicopéptidos de PSGL-1 sin Lewis X siliado. Además, PSGL-1 se produjo en células que no expresan las enzimas glucosaminil (N-acetil) transferasa (GCNT1) y las enzimas

alfa (1,3)-fucosiltransferasa-7 (FUT7) carecen de decoración de Lewis X sialilo y se unen de forma escasa a P-selectina (Fig 25A). Por el contrario, PSGL-1 se unió a VISTA independientemente de Lewis X sialilo (Fig 25A). Este resultado concuerda con la unión de VISTA, pero no de P-selectina, a los linfocitos T sin tratamiento previo que carecen de Lewis X sialilo.

También de forma similar a P-selectina, VISTA se unió moderadamente a heparán sulfato a pH ácido.

Adicionalmente, los anticuerpos de PSGL-1 que bloquean la unión de P-selectina no bloquearon la unión de VISTA. Estos datos indican que VISTA se une a la interfaz de PSGL-1 que es similar pero distinta a la que se une por P-selectina.

Este Ejemplo muestra además que los anticuerpos P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4, los cuales bloquean la unión de VISTA a las células T, también bloquean la unión de VISTA al glicopéptido de PSGL-1.

Se realizaron ensayos de octetos competitivos para evaluar si los anticuerpos VISTA selectivos de pH ácido P1-068761 y P1-068767, el original independiente de pH de P1-061029 y VISTA.4 sensible a pH ácido bloqueó la unión de VISTA a PSGL1. Se realizaron ensayos de unión en un instrumento (PALL/ForteBio) de interferometría (BLI) de biocapas OctetRed384. Todas las etapas de ensayos se realizaron a 30 °C a una velocidad de agitación de 1000 rpm y el amortiguador utilizado fue PBST, pH 6,0 (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2.7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 0,05 %). Se diluyó VISTA-Fc humano (R&D Systems # 7126-B7) en 400 nM en PBST pH 6,0 y se mezcló previamente durante 30 minutos con una serie de titulación 0 nM, 40 Nm y 400 nM de P1-068761, P1-068767, P1-061029 y VISTA.4. La proteína 19-mer-huFc de PSGL1 humana, que consiste en los aminoácidos 19 de extremo amino del PSGL1 maduro fusionados con el Fc humana, se capturó en sensores de IgG-Fc anti-humanos (AHC, PALL/ForteBio). Los sensors de captura anti-humanos se bloquearon a continuación con IgG humana total (Jackson #009-000-002). La unión del PSGL1 capturado a la mezcla de anticuerpos VISTA-Fc/α-VISTA se midió a continuación para evaluar si los anticuerpos α-VISTA evitaron la unión de VISTA a PSGL1. Para cada serie de titulación de anticuerpos, la magnitud de la unión de VISTA a PSGL1 (cambio nm) se normalizó con la respuesta de VISTA:PSGL1 no bloqueada 0 nM, establecida en 100 %. Los resultados de este ensayo se resumen en la Figura 17B. En este ensayo, las concentraciones 400 nM de P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4 demostraron todas actividad de bloqueo. Se evitó que la proteína VISTA-Fc se una a la proteína PSGL1-19-mer-huFc humana capturada, como se indica mediante la unión de VISTA reducida que se observó.

De manera adicional, se demostró que la unión de VISTA a células CHO-PSGL-1 se bloqueó mediante el anticuerpo PSGL-1 de bloqueo de VISTA.4 y P-selectina KPL-1 (Fig. 17C). En los

ensayos de bloqueo de anticuerpo PSGL-1, las células se preincubaron con KPL-1 (BD Biosciences o Biolegend) o PL2 (MBL) los anticuerpos indicados antes del etiquetado con multímeros VISTA cargados con 32 nM o proteínas quiméricas VISTA-Fc. La unión de VISTA-Fc se detectó mediante anticuerpos anti-IgG (Jackson ImmunoResearch) o anti-6xhis (Columbia Biosciences). Las células se adquirieron mediante citometría de flujo o fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF).

Ejemplo 20: estructura de cristal de P1-068767 unida a Hvista

Para caracterizar la estructura de VISTA y los dominantes moleculares de la unión de anticuerpos VISTA, se elaboró un cocristal del dominio de IgV de hVISTA con la unión al antígeno del fragmento (Fab) P1-068767. La estructura del complejo resultante se determinó a la resolución de 1.6 Å (Figura 18). El dominio de IgV de VISTA es generalmente característico de su familia, con algún parecido a PD-L1 (Figura 18B). Sin embargo, a diferencia de PD-L1 y la mayoría de otros miembros de la superfamilia de inmunoglobulina o familia B7, las dos cadenas ß de extremo C del dominio de IgV de VISTA contienen múltiples residuos adicionales, lo que da lugar a una lámina β central rica en histidinas e inusualmente alargada (Figura 18B). El P1-068767, un anticuerpo de bloqueo, se une a VISTA en esta extensión de lámina β (Figura 18C), mientras que el anticuerpo VISTA.5 no bloqueador se une a una región diferente (Figura 18E). La extensión de lámina β de VISTA está cubierta por tres residuos de histidina: H121, H122 y H123. Los residuos E110 y D112 de P1-068767 forman enlaces de hidrógeno con residuos de VISTA H121 y H122 respectivamente (Figura 18D). Estas interacciones se ajustan bien con los descubrimientos descritos en los Ejemplos previos que los residuos E110 y D112 de P1-068767 son necesarios y suficienes para la selectividad de pH. En el cocristal, el residuo H123 de VISTA interactúa con una molécula de sulfato del precipitante y forma un puente de sal con el residuo E1 de P1-068767; aunque es posible que H123 de VISTA puede formar un enlace de hidrógeno auténtico con P1-068767 en ausencia del sulfato (Figura 18D). Se proporcionan interacciones adicionales en la Tabla 24. Estos datos sugieren que la extensión de lámina β rica en histidinas inusual del dominio de IgV de VISTA es un componente clave de la interfaz de ligando-receptor selectivo de pH ácido de VISTA.

La Tabla 24 detalla las distancias en Ångström (Å), entre átomos de HC Fab ‘767 dentro de 4 Å de átomos de VISTA.

##	'767 Fab HC	Dist.	VISTA

1 | H:GLU 1 [OE1] | 3.1 | V:HIS 123 [NE2]
2 | H:VAL 2 [N] | 3.2 | V:HIS 123 [O]
3 | H:GLY 26 [O] | 3.1 | V:GLU 125 [N]
4 | H:GLU 30 [O] | 3.3 | V:ARG 54 [NH2]
5 | H:GLU 30 [OE1] | 3.8 | V:ARG 127 [NE]
6 | H:GLU 30 [OE1] | 3.2 | V:ARG 127 [NH2]
7 | H:GLU 30 [OE2] | 3.4 | V:ARG 127 [NH1]
8 | H:GLU 30 [OE2] | 3.5 | V:ARG 127 [NH2]
9 | H:ASP 31 [OD1] | 2.8 | V:ARG 54 [NH1]
10 | H:ASP 31 [OD1] | 2.7 | V:ARG 54 [NH2]
11 | H:ASP 31 [OD1] | 2.8 | V:ARG 127 [NH1]
12 | H:ASP 31 [OD2] | 3.8 | V:ARG 127 [NE]
13 | H:ASP 31 [OD2] | 3.1 | V:ARG 127 [NH1]
14 | H:TYR 32 [OH] | 2.6 | V:GLU 125 [OE1]
15 | H:GLU 110 [OE2] | 2.8 | V:HIS 122 [N]
16 | H:GLU 110 [OE1] | 2.7 | V:HIS 121 [ND1]
17 | H:GLU 110 [OE2] | 3.8 | V:HIS 121 [ND1]
18 | H:GLU 110 [OE2] | 3.5 | V:HIS 122 [ND1]
19 | H:ASP 111 [OD1] | 3.6 | V:HIS 122 [NE2]
20 | H:ASP 112 [OD1] | 3.5 | V:HIS 122 [ND1]
----'----------'-------'----------

Ejemplo 21: Mapeo de epítopos de VISTA.4

Se usó VISTA.4 en el ensayo de clasificación de epítopos de BLI competitivo descrito previamente en el Ejemplo 15. Los resultados indican que VISTA.4 compite por la unión a VISTA humano con los anticuerpos descritos anteriormente P1-061015, P1-061029, P1-068761 y P1-068767, y, por lo tanto, pertenece al mismo grupo de epítopos que estos anticuerpos (Grupo A). VISTA.4 no compite por la unión a VISTA humano con mAb 1 de VISTA (ver la Fig. 11A).

El epítopo de VISTA.4 también se mapeó usando la exposición en la superficie de la levadura y NGS, como se describe en el Ejemplo 15 para los anticuerpos P1-061015, P1-061029, P1-068761 y P1-068767. Se clasificaron y secuenciaron los mutantes de VISTA que perdieron la unión al anticuerpo que se mapeó pero conservaron la unión a un anticuerpo que no es de bloqueo (mAb1). Dado que conservaron la unión a mAb1, estos mutantes probablemente se plegaron de forma correcta, y la pérdida de unión observada con el anticuerpo que se mapeó probablemente se

debió a la pérdida de un residuo de contacto energéticamente importante. Las posiciones de las mutaciones que generaron la pérdida de unión, y que se designaron como residuos energéticamente importantes en el epítopo de anticuerpo, se muestran en la Tabla 31, junto con los residuos de contacto energéticamente importantes de los anticuerpos P1-061015, P1-061029, P1-068761 y P1-068767 (que también se muestran en la Tabla 14 anterior).

Tabla 31: Residuos de contacto energéticamente importantes de los anticuerpos VISTA.4, ‘029, ‘015, ‘761 y ‘767

mAb	V 34	T 35	Y 37	K 38	T 39	Y 41	S 52	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	E 118	I 119	R 120	H 121
VISTA.4	x	x	x		x	x	x	x		x		x	x		x			x	x		x	x	x
‘015			x	x	x			x		x	x	x	x				x	x	x		x		
‘029			x		x	x		x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x		
‘761		x	x		x			x	x	x	x		x	x	x	x		x	x		x		
‘767			x		x	x		x	x	x	x	x	x					x	x		x		x

Se utilizó espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno/deuterio (HDX-MS) para analizar los epítopos de unión de VISTA humano con mAb VISTA.4. HDX-MS analiza la conformación proteica y la dinámica conformacional en solución al controlar la velocidad y el alcance del intercambio de deuterio de los átomos de hidrógeno y amida de la estructura principal (Huang y Chen (2014) Analytical and Bioanalytical Chemistry 406, 6541-6558; Wei, et ál. Drug Discovery Today (2014) 19, 95-102). El nivel de HDX depende de la accesibilidad del solvente de los átomos de hidrógeno y amida de la estructura principal y los enlaces de hidrógeno de la proteína. El aumento de masa de la proteína luego de HDX se puede medir de manera precisa mediante MS. Cuando esta técnica se empareja con digestión enzimática, se pueden resolver las características de estructura a nivel peptídico, lo que permite la diferenciación de los péptidos expuestos en la superficie de aquellos plegados en el interior, o de aquellos captados en la interfaz de un complejo entre proteínas. Comúnmente, se realizan experimentos posteriores de templado y etiquetado con deuterio, seguidos de digestión enzimática, separación de péptidos y análisis MS.

Antes de los experimentos de mapeo de epítopos, se llevaron a cabo experimentos no deuterados para generar una lista de péptidos comunes para VISTA humano recombinante (15 µM) y complejos proteicos de VISTA con mAb VISTA.4 (relación molar 1:1). En el experimento HDX-MS, se diluyeron 5 µL de cada muestra (VISTA o VISTA con mAb VISTA.4) en 55 µL de amortiguador D_2O (10 mM de amortiguador de fosfato, D_2O, pH7,0) para comenzar las reacciones de etiquetado. Las reacciones se llevaron a cabo durante distintos períodos de tiempo: 1 min, 10 min y 240 min. Al final de cada período de reacción de etiquetado, se inactivó la reacción mediante la adición del amortiguador de inactivación (100 mM de amortiguador de fosfato con 4M GdnCl y 0.4M TCEP, pH 2,5, 1:1, v/v) y se inyectaron 50 µL de muestra inactivada en el sistema Waters HDX-MS para el análisis. Se controlaron los niveles de absorción de deuterio de péptidos pépticos comunes en ausencia/presencia de VISTA.4. La cobertura de secuencia obtenida fue de 82 %.

Los experimentos de HDX-MS proporcionaron 85 % de cobertura de secuencia para VISTA humano. Como se muestra en la Figura 19, los datos del análisis HDX-MS sobre VISTA.4 en VISTA humano indican que el epítopo de VISTA.4 está compuesto por tres regiones de VISTA humano, donde la región 2 es el epítopo principal (los números de residuo corresponden a la secuencia de VISTA humano natural, Figura 20):

Región 1: ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 566)

Región 2: ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} (SEQ ID NO: 567)

Región 3: ^{148}VVEIRHHHSEHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO: 568)

El anticuerpo VISTA.4 se unió correctamente tanto a pH ácido como neutro. Rondas adicionales de selección proporcionaron una variante que se unió a VISTA con afinidad 200 veces más alta a pH 6.0 que a pH 7.4. Esfuerzos similares con los anticuerpos de bloqueo de VISTA

produjeron variantes con hasta 10.000 veces más selectividad para pH 6,0 con respecto a pH 7,4. Usamos estos anticuerpos para mapear la interfaz de unión al ligando receptor de VISTA a pH ácido y neutro. Los anticuerpos de bloqueo VISTA independientes del pH, a pH neutro selectivo y a pH ácido selectivo se unieron a epítopos casi idénticos, lo que sugiere que la protonación de histidina sola, sin cambios conformacionales marcados, controla la capacidad de VISTA de unirse a su contrarreceptor a pH ácido. (VISTA.4 se describe de manera adicional en otra familia de solicitudes de los mismos solicitantes.)

Ejemplo 22: VISTA.4 inhibe la unión de VISTA a linfocitos T a pH ácido

Este ejemplo muestra que VISTA.4 y otros anticuerpos en el grupo de epítopos A bloqueó la unión de VISTA a linfocitos T a pH ácido, mientras que VISTA.5 (mAb1) y otros anticuerpos en el grupo de epítopos B no (Figura 21A y B).

Este ejemplo se llevó a cabo básicamente como se describe en el Ejemplo 4.

Ejemplo 23: VISTA.4 potencia la proliferación de linfocitos T y la producción de IFN-γ

Este ejemplo muestra que los Abs de bloqueo VISTA (grupo de epítopos A) potenciaron la proliferación de linfocitos T y la producción de IFN-γ (Fig. 22). VISTA.5 (mAb1), que no es un anticuerpo de bloqueo, no potenció la proliferación de linfocitos T ni la producción de IFN-γ. VISTA.4 no tuvo efecto cuando los linfocitos T se cultivaron conjuntamente con células 293T-OKT3 que no expresaron VISTA.

Este experimento se llevó a cabo mediante la adición de anticuerpos VISTA a linfocitos T CD4+ cultivados conjuntamente con células 293T modificadas genéticamente para expresar VISTA humano y un fragmento variable de cadena simple del anticuerpo agonista del receptor de linfocitos T OKT3 (293T-OKT3-VISTA).

Ejemplo 24: VISTA suprimió la señalización de NF-kB mediada por el receptor de linfocitos T

Este ejemplo se llevó a cabo para evaluar de manera adicional los efectos del pH en la función de VISTA, y muestra que VISTA suprimió la señalización de NF-kB mediada por el receptor de linfocitos T de manera más fuerte a pH ácido que a pH neutro (Figura 23A). La supresión máxima se alcanzó por debajo de pH 6,5, de manera similar a la unión de VISTA : linfocitos T (Figura 23A y Figura 4A).

Se midió la señalización de NF-kB usando linfocitos T Jurkat que informan NFkB, básicamente como se describe en los Ejemplos 5 y 13. Las células Jurkat se modificaron genéticamente para expresar luciferasa bajo el control de un promotor inducible por NF-kB. Estas células de NFkB-luciferasa Jurkat se cultivaron conjuntamente con células 293T-OKT3-VISTA no

irradiadas en una relación de 4:1 en HBSS (ThermoFisher) acidificadas a varios pH con MES y anticuerpos VISTA anti-humanos humanos durante 4 horas. Se midió la activación de células Jurkat mediante el ensayo de sustrato de luciferasa (Promega).

La supresión mediada por VISTA fue más fuerte a pH ácido, si bien se mantuvo un nivel moderado de actividad a pH 7,0 y superior. De manera similar, VISTA recombinante suprimió la fosforilación de NFkB de linfocitos T a pH ácido más que a pH 7,4 (Fig 23B). Estos resultados indican que VISTA suprime los linfocitos T preferentemente a pH ácido, y que esta actividad se revierte mediante los anticuerpos que bloquean la unión de linfocitos T a pH ácido.

Por lo tanto, estos datos sugieren que el bloqueo de la interfaz del receptor-ligando a pH ácido selectivo de VISTA podría revertir la inmunosupresión.

Ejemplo 25: Se determina la especificidad de unión de VISTA : PSGL-1 mediante residuos histidina y sulfotirosina

Para caracterizar la especificidad de unión de PSGL-1, además de la proporcionada por Lewis X sialilo (que se describe en el Ejemplo 19), examinamos las modificaciones postraduccionales de la sulfatación de tirosina que contribuyen a la unión de P-selectina. Para analizar la función de la sulfatación de tirosina, se dividieron los glicopéptidos de PSGL-1 en picos ricos en sulfotirosina (> 90 %) y con poca sulfotirosina (< 1 %) mediante cromatografía líquida de intercambio de aniones. Ni VISTA ni P-selectina se unió de forma detectable a PSGL-1 con poca sulfotirosina (Fig. 25B). VISTA tampoco pudo unirse a los glicopéptidos de PSGL-1 en los cuales las tirosinas se sustituyeron con alaninas (no se muestra en las figuras). Estos resultados indican que los residuos sulfotirosina son mediadores clave de la unión de PSGL-1 a VISTA.

Planteamos la hipótesis de que la especificidad de unión de VISTA está mediada por los mismos residuos histidina que se encuentran dentro del epítopo del anticuerpo de bloqueo VISTA: H153, H154 y H155 (ver el Ejemplo 20). El remplazo de estos residuos histidina con alanina no cargado o ácido aspártico negativamente cargado redujo significativamente la unión de VISTA a PSGL-1 recombinante y células CHO-PSGL-1 (Figs. 25C-D). Las proteínas VISTA-Fc con los residuos H153, H154 y H155 mutados a alanina, ácido aspártico o arginina se produjeron mediante transfección transitoria de células Expi293. Estos mutantes tampoco pudieron suprimir de manera funcional los linfocitos T (que no se muestran en las figuras). Por el contrario, el remplazo con residuos arginina positivamente cargados conservó la función y unión de VISTA (Fig. 25C-D). Los anticuerpos de bloqueo VISTA.4 y P1-068767 se unieron correctamente a VISTA mutante de alanina y arginina, pero de manera escasa a VISTA mutante de ácido aspártico (no se muestra). El anticuerpo no de bloqueo VISTA.5 se unió de manera comparable a las proteínas VISTA mutantes y de tipo salvaje (no se muestra).

Luego, usamos las estructuras resueltas de PSGL-1 unido a P-selectina y VISTA unido a P1-068767 Fab (Fig. 18) para desarrollar un modelo informático del glicopéptido 19-mer PSGL-1 acoplado a VISTA (Fig. 25E). En este modelo, los residuos tirosina de PSGL-1 Y46 y Y48 hacen interacciones iónicas con residuos histidina VISTA H153 y H154 (distancias de 2.5 – 3.0 Å). PSGL-1 Y51 es más distante de VISTA (~ 4.5 Å), pero puede interactuar de forma significativa con VISTA H100. PSGL-1 E56 también forma interacciones iónicas con VISTA H98 y H100. El grupo hidroxilo de PSGL-1 T57, que se puede decorar con Lewis X sialilo, a algunos puntos de distancia de VISTA, lo que concuerda con la influencia insignificante de Lewis X sialilo en la unión de VISTA : PSGL-1. En conjunto, estos datos y modelo sugieren que la unión de VISTA a PSGL-1 a pH ácido se impulsa principalmente con los residuos histidina VISTA y H153, H154 y H155, y con los residuos tirosina sulfatados de PSGL-1 Y46 y Y48.

Tabla de secuencias

La que sigue a continuación es una tabla de ciertas secuencias a las que se hace referencia en esta solicitud, En SEQ ID NO: 2, la posición del aminoácido 187 puede ser tanto una D como una E,

En las secuencias de anticuerpos a continuación, las secuencias VH CDR1, CDR2 y CDR3 están ubicadas en las posiciones aminoacídicas que comprenden los aminoácidos 26-35, 50-66, y 99-110, respectivamente, y las secuencias VL CDR1, CDR2 y CDR3 están ubicadas en las posiciones aminoacídicas que comprenden los aminoácidos 24-35, 51-57, y 90-98, respectivamente, La VH CDR1 está numerada de acuerdo con AbM (AA 26-35; Abhinandan y Martin (2008) Mol, Immunol, 45:3832-3839; Swindells et al, (2017) J, Mol, Biol, 429:356-364) y todas las otras CDR (VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1-3) están numeradas según Kabat, Las secuencias CDR de especies particulares de anticuerpos están en negrita y subrayadas debajo en sus secuencias VH y VL,

SEQ ID NO	**Nombre**	**Secuencia**
1	hVISTA (con secuencia líder)	MGVPTALEAG SWRWGSLLFA LFLAASLGPV AAFKVATPYS LYVCPEGQNV TLTCRLLGPV DKGHDVTFYK TWYRSSRGEV QTCSERRPIR NLTFQDLHLH HGGHQAANTS HDLAQRHGLE SASDHHGNFS ITMRNLTLLD SGLYCCLVVE IRHHHSEHRV HGAMELQVQT GKDAPSNCVV YPSSSQ**D**SEN ITAAALATGA CIVGILCLPL ILLLVYKQRQ AASNRRAQEL VRMDSNIQGI ENPGFEASPP AQGIPEAKVR HPLSYVAQRQ

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PSESGRHLLS EPSTPLSPPG PGDVFFPSLD PVPDSPNFEV I
2	hVISTA (sin secuencia líder)	FKVATPYSLY VCPEGQNVTL TCRLLGPVDK GHDVTFYKTW YRSSRGEVQT CSERRPIRNL TFQDLHLHHG GHQAANTSHD LAQRHGLESA SDHHGNFSIT MRNLTLLDSG LYCCLVVEIR HHHSEHRVHG AMELQVQTGK DAPSNCVVYP SSSQ[D/E]SENIT AAALATGACI VGILCLPLIL LLVYKQRQAA SNRRAQELVR MDSNIQGIEN PGFEASPPAQ GIPEAKVRHP LSYVAQRQPS ESGRHLLSEP STPLSPPGPG DVFFPSLDPV PDSPNFEVI
3	Precursor PSGL-1 humano isoforma 2, con péptido señal	MPLQLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISSLLP DGGEGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
4	PSGL-1 humano isoforma 2, sin péptido señal	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISSLLP DGGEGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
5	ECD PSGL-1 humano isoforma 2, con péptido señal	MPLQLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQT
6	ECD PSGL-1 humano isoforma 2, sin péptido señal	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQT
7	ECD PSGL-1 humano (posiciones N-terminal 42 a 295 de un PSGL-1 humano de longitud completa Nro, de acceso AAC50061)	QATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSV
8	Precursor	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	humPSGL-1 isoforma 1, sin péptido señal NP_001193538	GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTEMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
9	PSGL-1 humano, sin péptido señal	LQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTEMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
10	ECD PSGL-1 humano, con péptido señal	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QT
11	P1-069059 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDHIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
12	P1-069059 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
13	P1-069059 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
14	P1-069059 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	P1-069061 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RF

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
16	P1-069061 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
17	P1-069061 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	P1-069061 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
19	P1-069063 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDADDE**WGQGTMVTVSS
20	P1-069063 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		IK
21	P1-069063 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDADDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	P1-069063 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
23	P1-069065 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDDIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
24	P1-069065 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
25	P1-069065 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSDDIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
26	P1-069065 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
27	P1-069067 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDADDE**WGQGTMVTVSS
28	P1-069067 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
29	P1-069067 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDADDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	P1-069067 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
31	P1-069069 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDADDV**WGQGTMVTVSS
32	P1-069069 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
33	P1-069069 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDADDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
34	P1-069069 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
35	P1-069071 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSADIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSE GWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
36	P1-069071 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
37	P1-069071 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSADIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSEG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	P1-069071 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GEC
39	P1-069073 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
40	P1-069073 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
41	P1-069073 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
42	P1-069073 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	P1-069075 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWDSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
44	P1-069075 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
45	P1-069075 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWDSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	P1-069075 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
47	P1-069077 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
48	P1-069077 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
49	P1-069077	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	IgG1,3 HC	WVRQAPGKGLEWVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
50	P1-069077 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
51	P1-068761 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
52	P1-068761 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
53	P1-068761 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	P1-068761 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
55	P1-068767 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
56	P1-068767 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
57	P1-068767 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	P1-068767 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
59	P1-068773 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSDNIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
60	P1-068773 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
61	P1-068773 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSDNIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	P1-068773 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
63	P1-068765 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTDEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
64	P1-068765 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
65	P1-068765 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTDEDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	P1-068765 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
67	P1-061029 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM**

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		HWVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
68	P1-061029 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
69	P1-061029 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
70	P1-061029 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
71	P1-068757 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
72	P1-068757 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
73	P1-068757 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
74	P1-068757 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
75	P1-068771 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSHEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
76	P1-068771 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
77	P1-068771 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
78	P1-068771 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
79	P1-068775 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
80	P1-068775 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
81	P1-068775 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
82	P1-068775 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
83	P1-068769 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDHIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
84	P1-068769 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
85	P1-068769 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
86	P1-068769 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
87	P1-068759 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
88	P1-068759 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
89	P1-068759 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	P1-068759 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
91	P1-068763 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
92	P1-068763 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
93	P1-068763 IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	P1-068763 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
95	P1-061015 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAM H**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNKYYADSVKG**RF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFY**

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		SSYYFDYWGQGTLVTVSS
96	P1-061015 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
97	P1-061015 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAM HWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNKYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY SSYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	P1-061015 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
99	P1-068748 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSHHAM H**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNDDYADSVKG**RF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFY DSYYFDY**WGQGTLVTVSS
100	P1-068748 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
101	P1-068748 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHHAM HWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNDDYADSVKGRF

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY DSYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	P1-068748 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
103	P1-068744 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAM H**WVRQAPGKGLEWVA**HIWYDGSNKYEADSVKG**R FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGF YESYYFDE**WGQGTLVTVSS
104	P1-068744 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
105	P1-068744 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAM HWVRQAPGKGLEWVAHIWYDGSNKYEADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY ESYYFDEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
106	P1-068744 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
107	P1-068736 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAM H**WVRQAPGKGLEWVA**IDWYDGSNKDYADSVKG**R FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGF YDSYYFDD**WGQGTLVTVSS
108	P1-068736 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
109	P1-068736 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAM HWVRQAPGKGLEWVAIDWYDGSNKDYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGF YDSYYFDDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
110	P1-068736 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
111	P1-068752 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAM H**WVRQAPGKGLEWVA**EIWYDGSNKDYADSVKG**R FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGF YDSYYFDE**WGQGTLVTVSS
112	P1-068752 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
113	P1-068752 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAM HWVRQAPGKGLEWVAEIWYDGSNKDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY DSYYFDEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
114	P1-068752 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
115	P1-068740 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSDKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYYFDD**WGQGTLVTVSS
116	P1-068740 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
117	P1-068740 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYFDDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
118	P1-068740 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	P1-068742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSDKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYEDYYFDY**WGQGTLVTVSS
120	P1-068742 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
121	P1-068742 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAM HWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY EDYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
122	P1-068742 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
123	P1-068746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAM H**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNHHYADSVKG**RF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFY DSYYFDY**WGQGTLVTVSS
124	P1-068746 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
125	P1-068746 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAM HWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNHHYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY DSYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
126	P1-068746 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
127	P1-068750 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDM H**WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**R FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DEEFY SSYYFDY**WGQGTLVTVSS
128	P1-068750 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
129	P1-068750 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDM HWVRQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEEFYS SYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	P1-068750 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
131	P1-068738 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAH H**WVRQAPGKGLEWVA**IIWDDGSNHYYADSVKG**RF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFY EDYYFDY**WGQGTLVTVSS
132	P1-068738 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
133	P1-068738 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAH HWVRQAPGKGLEWVAIIWDDGSNHYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFY EDYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
134	P1-068738 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
135	P1-068754 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDM H**WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**R FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGF HSDYYFDY**WGQGTLVTVSS
136	P1-068754 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**W YQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
137	P1-068754 IgG1,3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDM HWVRQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFH SDYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
138	P1-068754 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
139	P1-069293 VH (P1-068761,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH**

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GWIDAEDVWGQGTMVTVSS
140	P1-069293 VL (P1-068761,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
141	P1-069293 HC (P1-068761,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
142	P1-069293 LC (P1-068761,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
143	P1-069298 VH (P1-068767,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
144	P1-069298 VL (P1-068767,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
145	P1-069298 HC (P1-068767,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
146	P1-069298 LC (P1-068767,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
147	P1-069302 VH (P1-061029,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
148	P1-069302 VL (P1-061029,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
149	P1-069302 HC (P1-061029,IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
150	P1-069302 LC (P1-061029,IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
151	P1-069312 VH (P1-068761,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
152	P1-069312 VL (P1-068761,IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
153	P1-069312 HC (P1-068761,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
154	P1-069312 LC (P1-068761,IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
155	P1-069309 VH (P1-068767,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
156	P1-069309 VL (P1-068767,IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
157	P1-069309 HC (P1-068767,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
158	P1-069309 LC (P1-068767,IgG1f	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	afucosilado)	FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
159	P1-069307 VH (P1-061029,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
160	P1-069307 VL (P1-061029,IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
161	P1-069307 HC (P1-061029,IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
162	P1-069307 LC (P1-061029,IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
163	Región constante de cadena pesada de IgG1,3 (o IgG1,3f) (L234A, L235E, G237A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
164	Región constante de cadena ligera ejemplar	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
165	VISTA humano NP_071436,1 (Fig, 1B)	Ver Fig, 1B
166	Cino VISTA XP_005565644,1 (Fig, 1B)	Ver Fig, 1B
167	VISTA murino NP_083008,1 (Fig, 1B)	Ver Fig, 1B
168	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWIDAFDV
169	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**XX**GYSGGWIDAFDV
170	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**P**X**YSGGWIDAFDV
171	P1-061029 HDR3	**X**PG**X**SGGWIDAFDV

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	chip oligo (Fig, 7A)	
172	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGY**X**GGWIDAFDV
173	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYS**X**GWIDAFDV
174	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSG**X**WIDAFDV
175	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGG**X**IDAFDV
176	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGW**X**DAFDV
177	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWI**X**AFDV
178	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWID**X**FDV
179	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWIDA**X**DV
180	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWIDAF**X**V
181	P1-061029 HDR3 chip oligo (Fig, 7A)	**X**PGYSGGWIDAFD**X**
182	Región constante	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	de cadena pesada de IgG1f (humana tipo salvaje alotipo f)	PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
183	IgG1,1f Región constante de cadena pesada (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
184	Región constante de cadena pesada de IgG1fa,P238K (o IgG1,P238K)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
185	P1-070864 P1-068761_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**<u>GFTLDDEAM H</u>**WVRQAPGKGLEWVS**<u>GINWNSEEIGYADSVKG</u>**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**<u>VPGYSH GWIDAEDV</u>**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
186	P1-070864 P1-068761_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
187	P1-070864 P1-068761_E30D IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
188	P1-070864 P1-068761_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
189	P1-070866 P1-068761_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
190	P1-070866 P1-068761_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
191	P1-070866	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	P1-068761_E32Y IgG1,3 HC	WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
192	P1-070866 P1-068761_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
193	P1-070868 P1-068761_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
194	P1-070868 P1-068761_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
195	P1-070868 P1-068761_E55A IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
196	P1-070868 P1-068761_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
197	P1-070870 P1-068761_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
198	P1-070870 P1-068761_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
199	P1-070870 P1-068761_E56N IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
200	P1-070870 P1-068761_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
201	P1-070872 P1-068761_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
202	P1-070872 P1-068761_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
203	P1-070872 P1-068761_H100G IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
204	P1-070872 P1-068761_H100G	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	LC	KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
205	P1-070874 P1-068761_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
206	P1-070874 P1-068761_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
207	P1-070874 P1-068761_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
208	P1-070874 P1-068761_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
209	P1-070876	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM**

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	P1-068761_E30D_E32Y VH	**H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
210	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
211	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
212	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
213	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM****H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	VH	
214	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
215	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
216	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
217	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
218	P1-070880 P1-	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	068761_H100G_E100fF VL	DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
219	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
221	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
222	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
223	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
224	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
225	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
226	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
227	P1-070884 P1-068761_E32Y_E	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	56N IgG1,3 HC	WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
228	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
229	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
230	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
231	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
232	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
233	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
234	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
235	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
236	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
237	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
238	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
239	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
240	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
241	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
242	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
243	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
244	P1-070892 P1-	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	068761_E30D_E56N LC	FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
245	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
246	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
247	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
248	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
249	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
250	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
251	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
252	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
253	P1-070898	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM**

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	P1-068761_E55A_E100fF VH	**H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
254	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
255	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
256	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
257	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	VH	
258	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
259	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
260	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
261	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSH GWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
262	P1-070902 P1-	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	068761_E56N_E100fF VL	DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
263	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
264	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
265	P1-070904 P1-068767_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
266	P1-070904 P1-068767_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
267	P1-070904 P1-068767_E30D	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	IgG1,3 HC	SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
268	P1-070904 P1-068767_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
269	P1-070906 P1-068767_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
270	P1-070906 P1-068767_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
271	P1-070906 P1-068767_D52N IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
272	P1-070906 P1-068767_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
273	P1-070908 P1-068767_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
274	P1-070908 P1-068767_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
275	P1-070908 P1-068767_E55A IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
276	P1-070908 P1-068767_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
277	P1-070910 P1-068767_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDD**WGQGTMVTVSS
278	P1-070910 P1-068767_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
279	P1-070910 P1-068767_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
280	P1-070910 P1-068767_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
281	P1-070912 P1-068767_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
282	P1-070912 P1-068767_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
283	P1-070912 P1-068767_D102V IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
284	P1-070912 P1-068767_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
285	P1-070914 P1-	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	068767_E30D_D52N VH	TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
286	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
287	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
288	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
289	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
290	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
291	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
292	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
293	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDD**WGQGTMVTVSS
294	P1-070918 P1-068767_E55A_E	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	100fF VL	IK
295	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
296	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
297	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM HW**VRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDV**WGQGTMVTVSS
298	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
299	P1-070920	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	P1-068767_E100fF_D102V IgG1,3 HC	WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
300	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
301	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDD**WGQGTMVTVSS
302	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
303	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	IgG1,3 HC	STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
304	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
305	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDD**WGQGTMVTVSS
306	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYL**AW YQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDI K
307	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
308	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
309	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAEDV**WGQGTMVTVSS
310	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
311	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
312	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
313	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAFDD**WGQGTMVTVSS
314	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
315	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
316	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
317	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAM H**WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYS GGWIDAED**VWGQGTMVTVSS
318	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA** WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVD IK
319	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
320	P1-070930 P1-068767_D52N_D	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	102V LC	KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
321	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWIDAED**VWGQGTMVTVSS
322	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
323	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V IgG1,3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
324	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GEC
325	hVISTA-ECD etiqueta 6-His	AFKVATPYSL YVCPEGQNVT LTCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENI TAHHHHHHH
326	cino VISTA-ECD etiqueta 6-His	AFKVATLYSL YVCPEGQNVT LTCRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENI TAHHHHHHH
327	ADN P1-069059 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAC CATATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
328	ADN P1-069059 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
329	ADN P1-069061 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
330	ADN P1-069061 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
331	ADN P1-069063 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGACGATGAAT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
332	ADN P1-069063 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
333	ADN P1-069065 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAC GACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
334	ADN P1-069065 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
335	ADN P1-069067 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGACGATGAAT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
336	ADN P1-069067 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
337	ADN P1-069069 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGACGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
338	ADN P1-069069 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
339	ADN P1-069071 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGAAGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
340	ADN P1-069071 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
341	ADN P1-069073 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
342	ADN P1-069073 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
343	ADN P1-069075 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGGACAGTGCT GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
344	ADN P1-069075 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
345	ADN P1-069077 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAC GAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
346	ADN P1-069077 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
347	ADN P1-068761 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
348	ADN P1-068761 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
349	ADN P1-068767 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
350	ADN P1-068767 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
351	ADN P1-068773 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
352	ADN P1-068773 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
353	ADN P1-068765 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCGATGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
354	ADN P1-068765 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
355	ADN P1-061029 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
356	ADN P1-061029 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
357	ADN P1-068757 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
358	ADN P1-068757 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
359	ADN P1-068771 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTCAT GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
360	ADN P1-068771 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
361	ADN P1-068775 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
362	ADN P1-068775 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
363	ADN P1-068769 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
364	ADN P1-068769 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
365	ADN P1-068759 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
366	ADN P1-068759 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
367	ADN P1-068763 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
368	ADN P1-068763 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
369	ADN P1-061015 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAA GTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGG TTTTTACTCCTCGTACTACTTTGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
370	ADN P1-061015 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
371	ADN P1-068748 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTCACCATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAA GTAATGACGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
372	ADN P1-068748 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAGCTGGAGATCAAA
373	ADN P1-068744 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCACATATATGGTATGATGGAA GTAATAAATACGAGGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTTACGAATCGTACTACTTTGACGAGTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
374	ADN P1-068744 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
375	ADN P1-068736 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTGATTGGTATGATGGAA GTAATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGG TTTTTACGACTCGTACTACTTTGACGACTGGGGC CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
376	ADN P1-068736 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
377	ADN P1-068752 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAGAGATATGGTATGATGGA AGTAATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACGAGTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
378	ADN P1-068752 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
379	ADN P1-068740 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAA GTGATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACGACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
380	ADN P1-068740 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
381	ADN P1-068742 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAA GTGATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTTACGAAGATTACTACTTTGACTACTGGGGC CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
382	ADN P1-068742 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
383	ADN P1-068746 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGTATGATGGAA GTAATCACCACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGG TTTTTACGACTCGTACTACTTTGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
384	ADN P1-068746 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
385	ADN P1-068750 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGAC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAGAGATATGGGATGATGGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGAG GAATTTTACTCCTCGTACTACTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
386	ADN P1-068750 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
387	ADN P1-068738 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCC CATCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAATTATATGGGATGATGGAA GTAATCACTACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGG TTTTTACGAAGATTACTACTTTGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
388	ADN P1-068738 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
389	ADN P1-068754 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGT GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGAC ATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGG CTGGAGTGGGTGGCAGAGATATGGGATGATGGA AGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTG GTTTTCACTCCGATTACTACTTTGACTACTGGGGC CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
390	ADN P1-068754 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCA CTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT GGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAA CAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
391	ADN P1-070864 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
392	ADN P1-070864 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
393	ADN P1-070866 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
394	ADN P1-070866 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
395	ADN P1-070868 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
396	ADN P1-070868 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
397	ADN P1-070870 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
398	ADN P1-070870 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
399	ADN P1-070872 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
400	ADN P1-070872 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
401	ADN P1-070874 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
402	ADN P1-070874 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
403	ADN P1-070876 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
404	ADN P1-070876 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
405	ADN P1-070878 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
406	ADN P1-070878 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
407	ADN P1-070880 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
408	ADN P1-070880 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
409	ADN P1-070882 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
410	ADN P1-070882 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
411	ADN P1-070884 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
412	ADN P1-070884 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
413	ADN P1-070886 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
414	ADN P1-070886 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
415	ADN P1-070888 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
416	ADN P1-070888 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
417	ADN P1-070890 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
418	ADN P1-070890 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
419	ADN P1-070892 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
420	ADN P1-070892 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
421	ADN P1-070894 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
422	ADN P1-070894 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
423	ADN P1-070896 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
424	ADN P1-070896 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
425	ADN P1-070898 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
426	ADN P1-070898 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
427	ADN P1-070900 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
428	ADN P1-070900 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
429	ADN P1-070902 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
430	ADN P1-070902 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
431	ADN P1-070904 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
432	ADN P1-070904 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
433	ADN P1-070906 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
434	ADN P1-070906 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
435	ADN P1-070908 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
436	ADN P1-070908 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
437	ADN P1-070910 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
438	ADN P1-070910 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
439	ADN P1-070912 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
440	ADN P1-070912 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
441	ADN P1-070914 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
442	ADN P1-070914 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
443	ADN P1-070916 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
444	ADN P1-070916 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
445	ADN P1-070918 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
446	ADN P1-070918 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
447	ADN P1-070920 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
448	ADN P1-070920 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
449	ADN P1-070922 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
450	ADN P1-070922 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
451	ADN P1-070924 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
452	ADN P1-070924 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
453	ADN P1-070926 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
454	ADN P1-070926 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
455	ADN P1-070928 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
456	ADN P1-070928 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
457	ADN P1-070930 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
458	ADN P1-070930 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
459	ADN P1-070932 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
460	ADN P1-070932 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAA
461	ADN de región constante de cadena pesada de IgG1,3	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC CCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGC GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCG TGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ATAGCAAGCTCACCGTGGCGTCGACCAAGGGCC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCC GAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAA AACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGG TTGA
462	ADN de región constante de cadena ligera ejemplar	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCA GAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT CAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
463	P1-068761 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
464	P1-068761 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
465	P1-068761 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
466	P1-068761 K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA GAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGA CACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGG TATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
467	P1-061029 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDVWGQGTMVTVSS
468	P1-061029 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDVWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
469	P1-061029 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSS
470	P1-061029 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
471	P1-068767 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
472	P1-068767 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
473	P1-068767 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
474	P1-068767 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
475	P1-070868 (P1-068761_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
476	P1-070868 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
477	P1-070868 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSHG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
478	P1-070868 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
479	P1-70906 (P1-068767_D52N) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
480	P1-70906 VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	K16R	WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
481	P1-70906 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
482	P1-70906 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAA AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
483	P1-70908 (P1-068767_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
484	P1-70908 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
485	P1-70908 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
486	P1-70908 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
487	P1-70916 (P1-068767_D52N_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
488	P1-70916 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
489	P1-70916 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
490	P1-70916 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
491	P1-72000 (P1-061029_F100fE_	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	V102D) VH	SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
492	P1-72000 (P1-061029_F100fE_ V102D) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
493	P1-72000 (P1-061029_F100fE_ V102D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
494	P1-72000 (P1-061029_F100fE_ V102D) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
495	P1-72000 (P1-061029_F100fE_ V102D) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
496	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
497	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAG CGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAG TCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
498	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
499	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDDWGQGTMVTVSS
500	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDDWGQGTMVTVSS
501	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
502	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGACT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
503	P1-72002 (P1-	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	061029_F100fE) VH	WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
504	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
505	P1-72002 (P1-061029_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
506	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
507	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
508	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
509	P1-72002 (P1-061029_F100fE) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAG CGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAG TCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
510	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
511	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDVWGQGTMVTVSS
512	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDVWGQGTMVTVSS
513	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDDWGQGTMVTVSS
514	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
515	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSS
516	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
517	P1-72004 (P1-061029_ V102D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
518	P1-72004 (P1-061029_ V102D) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
519	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
520	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
521	P1-72004 (P1-061029_ V102D) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGC GTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC CGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
522	P1-72004 (P1-061029_ V102D) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
523	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDDWGQGTMVTVSS
524	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDDWGQGTMVTVSS
525	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDDWGQGTMVTVSS
526	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGACTG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
527	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSS
528	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
529	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
530	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
531	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
532	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
533	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGC GTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC CGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCA AATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
534	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
535	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDVWGQGTMVTVSS
536	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAFDVWGQGTMVTVSS
537	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAFDVWGQGTMVTVSS
538	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
539	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
540	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI K
541	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
542	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
543	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
	VH DNA	GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
544	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAA
545	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGAC ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAG CGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAG TCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
546	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAG CAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTG GGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC TGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAG
547	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDVWGQGTMVTVSS
548	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAM HWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYS GGWIDAEDVWGQGTMVTVSS
549	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMH WVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGG WIDAEDVWGQGTMVTVSS
550	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCT AACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAgCTGAGGAC

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		ACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGT ATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCT GGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
551	VISTA.4 VH 41F11 With signal sequence, which is underlined	MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGG SLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYI SNSGSPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSS
552	VISTA.4 VK1 VL 41F11 With signal sequence, which is underlined	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSASGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNNWPRTFGQGTKVEIK
553	VISTA.4 VK2 VL 41F11 With signal sequence, which is underlined	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK
554	VISTA.4 VK3 VL 41F11 With signal sequence, which is underlined	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
555	VISTA.4 VH DNA 41F11 With signal sequence, which is underlined	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTTGTTG CTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTCAGGTGCAGTT GGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGG AGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTCACCTTCAGTGACTATTACATGAGCTGGATCC GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTT CATACATTAGTAATAGTGGTAGTCCCATATACTAC GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTA

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		TTACTGTGCGAGAGATCTCCCGGGCTGGTACTTC GATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTC TCCTCA
556	VISTA.4 VK1 VL DNA With signal sequence, which is underlined	ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGC TACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGT GTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCC AGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACC AACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCA GCCAGGTTCAGTGCCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAG ATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAACAAC TGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTG GAAATCAAA
557	VISTA.4.A64G VK1 VL With signal sequence, which is underlined	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNNWPRTFGQGTKVEIK
558	VISTA.4.A64G LC With signal sequence, which is underlined	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
559	VISTA.5 VH	AVQLQESGPGLVRPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAW NWIRQFPGSKLEWLGFIGYSGNTNYNPSLESRISIT RHTSKNQFFLHLNSMTTEDTATYYCARSLYGGSHW YFDVWGAGTTVTVSS
560	VISTA.5 VK1, VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRGSESVEYYGTILM QWYQQKPGQPPKLLIYGASNVESGVPARFSGSGS

SEQ ID NO	Nombre	Secuencia
		GTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGT KLEIK
561	VISTA.5 VH DNA	GCTGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTG GTGAGACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCACTGACTACTCAATCACCAGTGATTATGC CTGGAACTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAGCAAA CTGGAGTGGCTGGGCTTCATAGGCTACAGTGGT AACACTAACTACAACCCATCTCTCGAAAGTCGAAT CTCTATCACTCGACACACATCCAAGAACCAGTTC TTCCTGCACTTGAATTCTATGACTACTGAGGACAC AGCCACATATTACTGTGCAAGATCCCTCTACGGT GGTAGTCACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
562	VISTA.5 VK1, VL DNA	GACATTGTGCTCACCCAATCTCCAGCTTCTTTGG CTGTGTCTCTAGGGCAGAGAGCCACCATCTCCTG CAGAGGCAGTGAAAGTGTTGAATATTATGGCACA ATTTTAATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGAC AGCCACCCAAACTCCTCATCTATGGTGCATCCAA CGTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTAGTGG CAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATC CATCCTGTGGAGGAGGATGATATTGCAATGTATT TCTGTCAGCAAAGTAGGAAGGTTCCGTGGACGTT CGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA