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 linfocitos T que contiene inmunoglobulina con dominio V (VISTA, por sus siglas en inglés) a pH ácido y su uso en el tratamiento del cáncer.

ANTECEDENTES Y SÍNTESIS DE LA DESCRIPCIÓN

El supresor de la activación de linfocitos T que contiene el dominio variable de Ig, o VISTA, es un elemento coinhibidor 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 descripción 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 descripción 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 alta en relación con otros miembros de la familia B7 y otros miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas (ver 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 residuos 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 específicos para pH o selectivos para pH para la o las interacciones 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 el objetivo 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 objetivo 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

Se proporcionaron en la presente versiones de colores de varias de las figuras a la Oficina de Marcas y Patentes de Estados Unidos, con la presentación de las solicitudes provisionales de prioridad de EE.UU. Se presume que, una vez que la presente solicitud se haya publicado y las aplicaciones provisionales estén disponibles públicamente, la Oficina de Marcas y Patentes de los EE. UU. proporcionará los dibujos a color, previa solicitud y pago de la tarifa necesaria.

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 extracelular 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 extracelular 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 para 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 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, neutrófilos, linfocitos T efectores CD4+, linfocitos T reguladores CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos citolíticos naturales (NK), y linfocitos B. VISTA se expresa sobre muchos leucocitos infiltradores de tumores, particularmente células mieloides. Los microentornos tumorales a menudo son ácidos, lo que permite 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 linfocitos T CD4+ humanos activados. 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 marcados con su pH correspondiente. El multímero de control que no es 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 linfocitos T CD4+ humanos activados 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 linfocitos B CD19+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos 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 linfocitos T CD4+ humanos activados en presencia de un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (cuadrados) o de un anticuerpo de control específico que no es 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 linfocitos T CD4+ humanos activados que no se tiñeron con multímeros VISTA recombinantes. La **Fig. 4D** muestra gráficos representativos de citometría de flujo bidimensionales de multímeros VISTA recombinantes que se unen a pH 6,0 a células de ovario de hámster chino (CHO, por sus siglas en inglés) 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 teñir con 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 la unión de la proteína de fusión VISTA-Fc recombinante murina 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 linfocitos T CD8+, células mieloides CD11b+ y linfocitos T CD4+. Los histogramas sin relleno ilustran la unión a pH 7,4 a esplenocitos totales. Las **Figs. 4F** y **G** muestran histogramas representativos de la tinción del multímero VISTA a pH 6,0 en monocitos de sangre periférica humana (Fig. 4F) y neutrófilos (Fig. 4G). Las células teñidas a pH 7,4, con multímeros que no contienen VISTA, o que se dejan sin tinción, se incluyen como controles.

Las **Figs. 5A-D** muestran que VISTA media la supresión y la adherencia entre células de linfocitos 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 bloqueante, o anticuerpos de control específicos que no son VISTA coincidentes con el isotipo. La **Fig. 5C** muestra gráficos representativos de la actividad luciferasa generada por células Jurkat (línea de linfocitos T humanos) que expresan un indicador de luciferasa NFkB después del cocultivo a diversos pH con células 293T que expresan hVISTA y un fragmento variable monocatenario del anticuerpo agonista del receptor anti-linfocitos T humanos OKT3 ("células presentadoras de antígenos artificiales"). Se agregó a las células cocultivadas un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (cuadrados) o un anticuerpo de control específico que no es VISTA coincidente con el isotipo (círculos). En la **Fig. 5D**, se grafican los datos que se muestran en la Fig. 5A como aumentos múltiplo de 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 colocalización 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 colocalización de VISTA y Rab11 dentro de monocitos humanos. VISTA intracelular está colocalizado con endosomas de reciclaje Rab11+. Un anticuerpo de control de unión a que no es 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, por sus siglas en inglés) que expresa VISTA a ser eliminada por los mismos anticuerpos anti-VISTA 1 (triángulos invertidos), 2 (círculos), 3 (cuadrados), o un anticuerpo de control específico que no es VISTA (triángulos) que porta ligandos sensibles a catepsina B y cargas citotóxicas. La viabilidad celular (CellTiter-Glo LU) está graficada sobre el eje 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 consultaron 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 CDR3 DE VH del clon de anticuerpo VISTA anti-humano P1-061029 (abreviado '029) para crear una genoteca '029 para consulta. Para mejorar potencialmente la unión a regiónes VISTA con alto contenido de 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. 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 consulta 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 anti-IgG 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 anti-IgG humana conjugado fluorescentemente. La **Fig. 8E** muestra el bloqueo comparable del multímero VISTA recombinante que se une a linfocitos T CD4+ humanos activados 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 a 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 que no es VISTA (círculos), y un anticuerpo de control negativo específico que no es VISTA (rombos). La lisis específica de linfocitos 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 preclasificación 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 regiónes variables para clones de progenie ‘029 y ‘015. La **Fig. 13A** muestra el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de las regiónes variables de ‘029 y clones de su progenie. La **Fig. 13B** muestra el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de las regiónes variables de ‘015 y clones de su progenie.

Las **Fig. 14A y B** muestran las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de 41F11 o VISTA.4 VH, donde se muestra la ubicación de las CDR.

Las **Fig. 15A y B** muestran las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de 41F11 o VISTA.4 VK1, donde se muestra la ubicación de las CDR.

Las **Fig. 16A y B** muestran las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de 41F11 o VISTA.4 VK2, donde se muestra la ubicación de las CDR.

Las **Fig. 17A y B** muestran las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de 41F11 o VISTA.4 VK3, donde se muestra la ubicación de las CDR.

La **Fig. 18A** muestra la unión celular del anticuerpo de bloqueo VISTA.4 (pH 6,0, triángulos anaranjados descendientes; pH 7,0, cuadrados rojos), el anticuerpo VISTA.5 no bloqueante (pH 6,0, rombos verdes; pH 7,0, círculos azules) y un anticuerpo que no es de unión a VISTA (pH 6,0, círculos sin rellenar; pH 7,0, triángulos ascendentes sin relleno) a células Raji que expresan VISTA de forma ectópica. Los datos son representativos de más de cuatro experimentos independientes. Las **Fig. 18B y 18C** muestran sensogramas SPR de unión a VISTA humano para el anticuerpo de bloqueo VISTA.4 (**Fig. 18B**; pH 6,0, rojo claro; pH 6,7, rojo; pH 7,4, rojo oscuro) y el anticuerpo VISTA.5 no bloqueante (**Fig. 18C**; pH 6,0, celeste; pH 6,7, azul; pH 7,4, azul oscuro). Los sensogramas superpuestos son respuestas de unión a VISTA 100 nM, normalizados al punto de “unión” informado. Estos datos son representativos de más de cuatro experimentos independientes.La **Fig. 18D** muestra el agrupamiento de epítopos del anticuerpo VISTA a través del bloqueo cruzado de VISTA.4 y VISTA.5. Cada fila representa un clon único, y para cada clon, el sombreado en gris claro indica una falta de bloqueo cruzado y el sombreado en gris oscuro indica un bloqueo cruzado. También se describe la capacidad de unión a pH 6,0 con relación a la capacidad de unión a pH 7,4, con un sombreado de color gris oscuro que indica un deterioro mayor a 3

veces la Kd a pH 6,0. Estos datos son representativos de un experimento.

Las **Figs. 19A-C** muestran sensogramas SPR de unión a VISTA (series de 100 – 0,2 nM) para VISTA.4 (pH 6,0, punteado; pH 7,4, liso) (**Figura 19A**), una variante independiente del pH de VISTA.4 (pH 6,0, punteado; pH 7,4, liso) (**Figura 19B**) y una variante de VISTA.4 selectiva para pH ácido (pH 6,0, punteado; pH 7,4, liso) (**Figura 19C**). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes.

Las **Figs. 20A y 20B** muestran el epítopo de VISTA.4 según se determina mediante MS-HDX (traza de MS en Fig. 20A y secuencia en Fig. 20B).

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. 22A-D** 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). La proliferación se midió como el porcentaje de células que mostraban dilución de CellTrace™ Violet. ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples de Dunnett, *, $P < 0,05$. Estos datos son representativos de tres experimentos independientes. La **Figura 22C** muestra histogramas representativos de la dilución de CellTrace™ Violet en células T CD4+ de PBMC cocultivadas con células 293T-OKT3-VISTA como se describe en la Figura 22A. Las células se cocultivaron en presencia en VISTA.4, VISTA.5, un anticuerpo no coincidente con el isotipo de unión a VISTA, o sin células 293T-OKT3-VISTA (rellenas de gris). Como se muestra en la figura, las trazas de control y VISTA.5 se superponen estrechamente, mientras que la traza de VISTA.4, en comparación, se desplaza hacia arriba y hacia la izquierda. Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. La **Figura 22D** muestra los resultados de dos experimentos independientes, en los que se añadió VISTA.4 o un anticuerpo de control de unión a VISTA sin emparejamiento de isotipo a las células T CD4+ de PBMC humanas co-cultivadas con células 293T-OKT3 o 293T-OKT3-VISTA, como es descrito en la Figura 22A. La frecuencia de las células T en proliferación

después del cocultivo se representa en la figura. Prueba t pareada, ***, P <0,0001.

La **Fig. 23A-D** muestra los efectos del bloqueo de VISTA y VISTA.4 en la activación de linfocitos T de Jurkat (mediante medición de inhibición de NF-kB). La **Fig. 23A** muestra los efectos del pH en las células T Jurkat reporteras de luciferasa NFkB cocultivadas con células 293T-scOKT3-VISTA. Las barras de error representan el error estándar del promedio. Estos datos son un conjunto de tres experimentos independientes. La **Fig. 23B** muestra la señal de luciferasa NF-kB en células Jurkat NFkB-luciferasa que se cocultivaron con células 293T-OKT3-VISTA como se describe en la Figura 23 (círculos). Las Jurkats no cocultivadas (triángulos ascendentes) se incluyeron como controles. Los datos son representativos de dos experimentos independientes. Las barras de error representan el error estándar del promedio. La **Fig. 23C** muestra los efectos del pH en la supresión de VISTA de las células T CD4+ humanas. Las células se estimularon al pH indicado con OKT3 recubierto con placa y VISTA-Fc en presencia de VISTA.4 (triángulos ascendentes), VISTA.5 (triángulos descendentes) o un anticuerpo que no se une a VISTA (control de anticuerpos, cuadrados). También se muestran las células estimuladas con OKT3 recubierto con placa e IgG de control (control VISTA, círculos negros) o sin OKT3 (sin OKT3, rombo gris). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. La **Fig. 23D** muestra los efectos del pH en la supresión de VISTA de células T CD8+ humanas. Las células se estimularon al pH indicado con OKT3 recubierto con placa y VISTA-Fc en presencia de VISTA.4 (triángulos ascendentes), VISTA.5 (triángulos descendentes) o un anticuerpo que no se une a VISTA (control de anticuerpos, cuadrados). También se muestran las células estimuladas con OKT3 recubierto con placa e IgG de control (control VISTA, círculos) o sin OKT3 (sin OKT3, rombo gris). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes.

En la **Fig. 24A-R** 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), anticuerpo VISTA.10 de bloqueo de VISTA de ratón (triángulos ascendentes), un anticuerpo bloqueante de PD-1 de ratón (cuadrados) o una combinación de anticuerpos VISTA y PD-1 (triángulos descendentes violetas) (ver las Figs. **24A-D**). Todos los anticuerpos fueron isotipo IgG1-D265A de ratón (Fc-inerte). Estos datos son representativos de tres experimentos independientes. Las Figs. **24A-D** muestran los volúmenes tumorales con el paso del tiempo. n = 10 por grupo. “TF” indica ratones que rechazaron los tumores. Las **Figs. 24E-F** muestran la frecuencia de linfocitos T CD8+ (Fig. 24E) y linfocitos T CD4+ (Fig. 24F) 7 días después de empezar el tratamiento. n = 5 por grupo. ANOVA unidireccional con múltiples comparaciones de Dunnett, P = 0,0001. Las Figs. **24G y 24H** muestran el

promedio del volumen tumoral en el tiempo en cada grupo de ratones (control de isotipo: círculos; anti-PD1 D265A: cuadrados; anti-VISTA D265A: triángulos apuntando hacia arriba; combinación de anti-PD-1 D265A y anti-VISTA D265A: triángulos apuntando hacia abajo). **Fig. 24I**: 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). Se muestra al lado de cada curva el promedio del crecimiento tumoral y la cantidad de ratones sin tumor (TF) al final del estudio en comparación con la cantidad total de ratones (por ejemplo, 0/7 TF). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. Las barras de error ilustran el intervalo intercuartílico. Las **Figs. 24J-M** muestran los volúmenes tumorales de ratones con activación (KI) de VISTA humano a los que se les implantaron tumores MC38 y que se trataron con anticuerpos de control con coincidencia de isotipo que no es de unión (**Fig. 24J**), un anticuerpo de bloqueo de PD-1 de ratón (**Fig. 24K**), 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. 24L**), 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. 24M**). Todos los anticuerpos fueron del 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. 24N** muestra concentraciones de anticuerpo en suero de ratón con activación (KI) de VISTA humano y de crías de tipo salvaje (WT) después de la inyección intravenosa de 5 mg/kg de P1-061029 (“VISTA.16”) (WT, triángulos descendentes; KI, cuadrados) o P1-068767 (“VISTA.18”) (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. 24O** 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 (“VISTA.18”) (cuadrados). Se estima que los tiempos de permanencia promedio (MRT) en suero calculados para VISTA.4 y P1-068767 son 7,6 horas y 717 horas, respectivamente. n = 1 macaco 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. 24P y Q** muestran falta de actividad del agente único del anticuerpo VISTA en ratones con activación de VISTA humano. Se implantaron ratones

con activación de VISTA humano con tumores MC38 y se trataron como se describe en las Figs. 24J-M. La **Fig. 24R** muestra la concentración en sangre del anticuerpo en ratones de tipo salvaje, que se trataron con una inyección intravenosa única de 200 µg de un anticuerpo VISTA anti-ratón (triángulos descendentes) o un anticuerpo de control de isotipo coincidente (cuadrados). n = 2 por anticuerpo. Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. Las barras de error representan el error estándar del promedio.

Las **Figs. 25A-C** muestran histogramas representativos de la expresión celular de linfocitos T CD8+ antitumorales de PD-1 (Fig. 25A), LAG-3 (Fig. 25B) y TIM-3 (Fig. 25C) 7 días después del inicio del tratamiento. Las barras de error ilustran el error estándar del promedio. En cada subparte, los picos principales de control, anti-PD-1 y anti-VISTA se superponen estrechamente en el lado derecho de cada panel, mientras que el pico principal de combinación aparece a la izquierda.

Las **Figs. 26A-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. 26A** 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 Figura 26B 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. 26C** 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. 27A-E** muestran representaciones de la estructura cocristalina de P1-068767 Fab y hVISTA, o (en la Fig. 27E) el anticuerpo VISTA.5 no bloqueante y hVISTA. El dominio IgV de VISTA presenta una extensión inusual con alto contenido de 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 27A muestra el dominio de IgV de VISTA : estructura cocristalina Fab P1-068767. La Figura 27A 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 27B muestral una superposición de los dominios IgV de VISTA y PD-L1. Los residuos de histidina de VISTA se ilustran en representación de barras. La Figura 27B muestra que el dominio de IgV de VISTA posee una extensión inusual de lámina ß con alto contenido de histidinas. La Figura 27C muestra la superficie molecular del epítopo P1-068767 (superficie electrostática gris claro) según lo revela la estructura cristalina de VISTA + P1-068767. La Figura 27C muestra que los anticuerpos de bloqueo se unen a la extensión

de lámina ß con alto contenido de histidinas de VISTA. La Figura 27D 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 barras). La Figura 27D muestra que el P1-068767 pH-selectivo se acopla a histidinas de VISTA con residuos ácidos. La Figura 27E muestra que el anticuerpo VISTA.5 no bloqueante se une en una región distinta de hVISTA que P1-068767.

Las **Figs. 28A-K** muestran que la especificidad de unión de VISTA : PSGL-1 se determina mediante los residuos histidina y sulfotirosina. Como se muestra en la **Fig 28A**, se produjeron proteínas recombinantes 19-mer-Fc de PSGL-1 humano en células con o sin decoración de sialilo de Lewis X (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. 28B**, los glucopéptidos 19-mer-Fc de PSGL-1 humano producidos con decoración de sialilo de Lewis X se separaron en fracciones con sulfatación de tirosina superior al 90 % (con alto contenido de 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. 28C-28D**, se produjeron proteínas recombinantes VISTA-Fc humanas con los residuos histidina en las posiciones 153-155 que permanecen intactos (VISTA WT) o se remplazan con alanina (mutante H2A), ácido aspártico (mutante H2D) o arginina (mutante H2R). La **Fig. 28C** muestra las magnitudes de unión a 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. 28D** 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. 28E** muestra un modelo informático del glucopéptido 19-mer PSGL-1 (superior) en complejo con interfaz de ligando con alto contenido de 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. La **Fig. 28F** muestra la supresión de VISTA-Fc de la activación de las células T primarias a pH 6,8 según lo determinado por el nivel de fósforo-NFkB, en donde VISTA-Fc es VISTA de tipo salvaje (segunda línea), VISTA H2A mutante (con His 153-155 mutado a alanina; tercera línea), VISTA H2D mutante (que tiene His 153-155

mutado a ácido aspártico; cuarta línea) y VISTA H2R mutante (que tiene His 153-155 mutado a arginina; quinta línea). Estos datos son representativos de dos experimentos independientes. La **Fig. 28G y H** muestran las magnitudes de unión de BLI para VISTA.5 capturada (un anticuerpo no bloqueante), la **Fig. 28G**) y P1-061029 (un anticuerpo de bloqueo), la **Fig. 28H**) se une al tipo salvaje capturado (WT, barras del extremo izquierdo), histidina a mutante alanina (H2A, barra segunda de la izquierda), histidina al ácido aspártico mutante (H2D, segunda de la derecha) e histidina a la arginina mutante (H2R, extrema derecha) proteínas VISTA-Fc al pH indicado. Estos datos son representativos de un experimento independiente. La **Fig. 28I** muestra las magnitudes de unión BLI del clon KPL1 de anti-PSGL-1 al total capturado, pobre en sulfotirosina y fracciones ricas en sulfotirosina de PSGL-1 19-mer-Fc a pH 6.0 (barras de la izquierda) y pH 7.4 (barras de la derecha). Estos datos son representativos de un experimento independiente. La **Fig. 28J** muestra las magnitudes de unión BLI del PSGL-1 19-mer-Fc de tipo salvaje (WT, izquierda) y el mutante de la alanina PSGL-1 19-mer-Fc (Y2A, derecha) para capturar VISTA-Fc al pH indicado. Estos datos son representativos de un experimento independiente. La **Fig. 28K** muestra otra vista del modelo computacional de la **Fig. 28E** del glicopéptido PSGL-1 19-mer (arriba) en complejo con la interfaz del ligando rico en histidina de VISTA (cintas grises, abajo).

La **Fig. 29** es una tabla que muestra la cinética de unión de la proteína hVISTA mutada con hPSGL-1 o anticuerpos anti-VISTA.

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), de 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 linfocitos 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 humano. 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 la SEQ ID NO:2 (ver la tabla de secuencias que figura más adelante). El dominio extracelular o “ECD” de vista o “VISTA-ECD” se refiere a la parte 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 la SEQ ID NO:2 (ver también la Fig. 1B). La parte “dominio IgV” de hVISTA comprende los residuos 5-135 de la 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, por ejemplo, “fragmentos de unión al antígeno” o “fragmentos de anticuerpo”, 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, mono cynomolgus, 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 modalidades, una cadena pesada comprende al menos una parte 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 en el extremo C (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 modalidades, una región variable de cadena pesada también comprende al menos una parte de una FR1 y/o al menos una parte de una FR4. Como se especifica a continuación, en algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades 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 modalidades, una cadena ligera comprende al menos una parte 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 modalidades, una región variable de cadena ligera también comprende una FR1 y/o una FR4. Como se especifica a continuación, en algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 parte 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 modalidades, un anticuerpo quimérico se refiere a un anticuerpo que comprende al menos una región variable de una primera especie (tal como ratón, rata, mono cynomolgus, etc.) y al menos una región constante de una segunda especie (tal como ser humano, mono cynomolgus, etc.). En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable murina y al menos una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de cynomolgus y al menos una región constante humana. En algunas modalidades, todas las regiónes variables de un anticuerpo quimérico son de una primera especie y todas las regiónes 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 modalidades, un anticuerpo humanizado comprende al menos una región constante humana o un fragmento de esta. En algunas modalidades, 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 con 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 modalidades, el anticuerpo puede ser un “anticuerpo huVISTA” o un “anticuerpo anti-huVISTA”, lo que indica que este se une específicamente a la proteína VISTA humano 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 modalidades, un anticuerpo se puede unir con más alta afinidad a VISTA a pH ácido que a pH neutro y/o fisiológico. En algunas modalidades, 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 relación entre una “tasa de disociación”, k_{off} o k_d y una “velocidad de asociación”, 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 menor que la velocidad especificada.

Las expresiones “uniéndose específicamente”, “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 modalidades, los anticuerpos se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH o intervalo 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 alrededor de 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 alrededor de 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 un linfocito 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” 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 mayor. 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 natural. 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 linfocitos T o linfocitos 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, lo que incluye una molécula coestimulante, o porque actúa como un antagonista de una molécula inmunoinhibidora, lo que incluye una molécula coinhibidora. La molécula inmunoestimulante o la molécula inmunoinhibidora puede ser un regulador de puntos de control del sistema inmunitario tal como VISTA, 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 coestimulantes. 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 coinhibidoras. Tales moléculas inmunoestimulantes e inmunoinhibidoras pueden ser, por ejemplo, receptores o ligandos hallados en células inmunitarias tales como linfocitos T, o hallados en células que intervienen en la inmunidad innata tales como

linfocitos 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 son idénticos 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 sin considerar ninguna sustitución conservadora 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, con 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, lo que incluye 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 modalidades, se entiende por “aumentar” la capacidad de causar un aumento general de 20 % o mayor. En otra modalidad, se entiende por “aumentar” la capacidad de causar un aumento general de 50 % o mayor. En aun otra modalidad, 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 de proteína y 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 modalidades, “reducir” o “inhibir” significa la capacidad de causar una disminución general de 20 % o mayor. En otra modalidad, “reducir” o “inhibir” significa la capacidad de causar una disminución general de 50 % o mayor. En aun otra modalidad, “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 evolución de la enfermedad o uno o más síntomas de la enfermedad, inhibir o ralentizar la enfermedad o su evolución o uno o más de sus síntomas, detener su desarrollo, aliviar de forma total o parcial 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 el alivio parcial o total de uno o más síntomas. En algunas modalidades, una cantidad eficaz se refiere a una cantidad eficaz para lograr el resultado terapéutico o profiláctico buscado con las dosis y durante los períodos necesarios.

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), premaligno 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. Los ejemplos no taxativos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pituitaria, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejido blando, cáncer de pulmón no microcítico (incluso cáncer de pulmón no microcítico 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 glándulas salivales, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, 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 (incluso 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, auxiliar de formulación o portador no tóxico convencional en la técnica 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 que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); a camptotecina (incluso el análogo sintético topotecano); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluso sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluso 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, incluso 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® (incluso 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; antimetabolitos 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; antiadrenales 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; acetato 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® sin 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) (incluso el régimen 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, incluso el régimen de tratamiento con oxaliplatino (FOLFOX); inhibidores de PKC-alfa, Raf, H-Ras, EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva®)) y VEGF-A que reduce la proliferación celular y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Otros ejemplos de agentes quimioterapéuticos no taxativos que se pueden administrar en métodos de la presente incluyen agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en cánceres tales como antiestrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM, por sus siglas en inglés), que incluyen, 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 antiandrógenos 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 anteriores.

Un “agente anti-angiogénesis” o “inhibidor de angiogénesis” se refiere a una sustancia con pequeño peso molecular, un polinucleótido (incluso, 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. Debe entenderse 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 puede incluir un anticuerpo u otro antagonista a un agente angiogénico, por ejemplo, anticuerpos contra VEGF-A (por ejemplo, bevacizumab (Avastin®)) o contra el 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 descripos, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO 2004/113304). Los agentes anti-angiogénesis también incluyen inhibidores naturales 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 ál. (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 bloqueantes clásicos de la fase M incluyen los inhibidores de vincas (vincristina y vinblastina), taxanos y topoisomerasa II, tales como doxorrubicina, epirrubicina, daunorrubicina, 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 ál. (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 ensamblaje de microtúbulos de dímeros de tubulina y estabilizan microtúbulos al evitar la despolimerización, lo que da por resultado la inhibición de la mitosis en las células.

La expresión "composición antineoplásica" 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 sus siglas en inglés) (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 de 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 descripción.

Anticuerpos que se unen específicamente 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 que figura más adelante 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 la SEQ ID NO: 1. El dominio extracelular (ECD) consiste en los residuos de aminoácidos 1-162 de la SEQ ID NO: 2). El dominio IgV constituye los residuos de aminoácidos 37-167 de la SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 5-135 de la SEQ ID NO: 2. La región tallo está en los residuos de aminoácidos 172-194 de la SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 136-162 de la SEQ ID NO: 2; el dominio transmembrana está en los residuos de aminoácidos 195-216 de la SEQ ID NO: 1 y los residuos de aminoácidos 163-184 de la SEQ ID NO: 2. El residuo de aminoácidos 187 de la SEQ ID NO: 1 y 155 de la 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, la SEQ ID NO:1 y la 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) 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 la SEQ ID NO: 2 a pH ácido. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 7,0. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,8. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,5. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,3. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 6,0. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,8. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,5. En ciertas modalidades, un Ab se une específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH que menor que pH 5,3. En ciertas modalidades, 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 dentro del intervalo de pH 5,0 a pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH dentro del intervalo de pH 5,0 a pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH dentro del intervalo de pH 5,0 a pH 6,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH dentro del intervalo de pH 5,5 a pH 7,0. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH dentro del intervalo de pH 5,5 a pH 6,5. Ciertos Ab se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD a un pH dentro del intervalo 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 la SEQ ID NO:2 a un pH de 6,5 o menor, con una K_D de 10^{-6} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-7} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-8} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-9} M. En algunas modalidades, 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 intervalo de pH de 6,0 a 6,5 con una K_D de 10^{-6} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-7} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-8} M o menor. En algunas modalidades, los Ab se unen con una K_D de 10^{-9} M. En

algunas modalidades, 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 intervalo de pH de 6,0-6,5, 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 intervalo de pH de 6,0-6,5, 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 intervalo de pH de 6,0-6,5, 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 la 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 modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 2 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 5 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 7 10^{-4} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 2 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 5 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 7 10^{-3} s^{-1} o menor tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, los Ab tienen una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} tanto a 25°C como a 37°C. En algunas modalidades, 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 la 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 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^{-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 modalidades, los Ab se pueden unir con una k_{on} de 10^5 M^{-1} s^{-1} o mayor. En algunas de tales modalidades, los Ab se pueden unir con una k_{on} de 10^6 M^{-1} s^{-1} o mayor. En algunas de tales modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, un Ab puede unirse 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades mencionadas, la proteína VISTA-ECD es hVISTA-ECD o es una parte de hVISTA-ECD tal como, por ejemplo, el dominio IgV. En algunas de las modalidades anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 20-95 de la SEQ ID NO:2. En algunas de las modalidades anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 20-70 de la SEQ ID NO:2. En algunas de las modalidades anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 35-95 de la SEQ ID NO:2. En algunas de las modalidades anteriores, el Ab se puede unir específicamente a un epítopo que comprende los aminoácidos 35-70 de la SEQ ID NO:2. En algunas modalidades anteriores, el epítopo es un epítopo tridimensional que comprende no solo una de las partes mencionadas de la SEQ ID NO:2 de los residuos 20-95, 20-70, 35-95 o 35-70, sino también otra parte de la SEQ ID NO:2, tal como los residuos 95-105 de la SEQ ID NO:2. En ciertas modalidades, un Ab se une al epítopo de hVISTA al cual se une un Ab descrito 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 modalidades, un Ab se une a un epítopo conformacional de VISTA humano. En ciertas modalidades, un Ab se une a un epítopo conformacional que comprende, o está presente dentro de los residuos 103-111 de la SEQ ID NO: 2 y 136-146 de la SEQ ID NO:2 para VISTA humano. En ciertas modalidades, 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 la SEQ ID NO:2 para VISTA humano. En ciertas modalidades, un Ab se une a un epítopo conformacional que comprende los residuos de aminoácidos en el bucle FG de VISTA humano. En algunas modalidades, un Ab se une a un polipéptido que comprende los residuos de aminoácidos 35 a 127 y/o 37-125 de la SEQ ID NO: 2. En algunas modalidades, un Ab se une a un polipéptido VISTA ECD o a una parte de este que comprende los residuos de aminoácidos 350-127 de la SEQ ID NO: 2, pero el o los anticuerpos no se unen con afinidad reducida al polipéptido VISTA ECD o a una parte 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 modalidades, un anticuerpo anti-VISTA tiene las mismas características de unión (o significativamente las mismas características de unión) que un anticuerpo descrito en la presente, por ejemplo, como se establece en los Ejemplos y/o en las reivindicaciones.

Algunos de los anticuerpos antemencionados 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 no significativa, por ejemplo, casi indetectable a la proteína VISTA-ECD en condiciones neutras, fisiológicas y/o alcalinas. Por ejemplo, en algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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, 1000 veces, o 5000 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, 1000 veces o 5000 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 modalidades, 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 1000 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 modalidades, 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 de la SEQ ID NO: 1. En ciertas modalidades, 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, 1000 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 regiónes de la SEQ ID NO:2 descritas 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 modalidades 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 en el extremo C) 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 con 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 inmovilizado (por ejemplo, con el kit de captura Fc antihumano Biacore®, GE Healthcare n.º de catálogo BR-1008-39, o el kit de captura anti-ratón Biacore®, GE Healthcare n.º 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 amortiguador de corrida a pH deseado. En una modalidad, se inyecta VISTA con concentraciones de dos a cinco dentro del intervalo de 0,1 nM a 500 nM (por ejemplo, 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM, 500 nM) con una velocidad de flujo 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. Se hace referencia a toda la información por partida doble con 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 con el programa de evaluación T200 Biacore®. También se pueden utilizar los métodos SPR descritos en los Ejemplos.

La afinidad de un Ab por un polipéptido VISTA ECD se puede determinar con 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 resuspenden células 293T u otras células que expresan ectópicamente hVISTA ECD en un amortiguador 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 g/mL y se incuban con las células resuspendidas durante 30 minutos a 4 °C. Las células luego se lavan dos veces con los mismos amortiguadores, 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 tal como se describe

en los Ejemplos.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, un 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 intervalo 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 intervalo 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 intervalo 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 intervalo 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 intervalo 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 intervalo de pH 6,0-6,5. 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 las SEQ ID NO: 3-10. VISTA se une a PSGL-1 con o sin sialilo de Lewis X. Un ligando puede ser proteoglicanos de heparán sulfato, por ejemplo, presentes en ciertas células.

La inhibición de unión a un ligando de VISTA se puede determinar midiendo la inhibición de unión de VISTA (o VISTA ECD, dominio IgV de VISTA o células VISTA positivas) a células a las cuales se une VISTA, por ejemplo, linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, tanto activados como no activados), linfocitos 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 linfocitos 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 resuspenden en un amortiguador que consiste en HBSS + BSA al 1% 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 Fc de IgG1 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 amortiguadores, 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 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 modalidades específicas, los Ab descritos en la presente pueden desencadenar o aumentar una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria específica a un antígeno. En ciertas modalidades, los Ab estimulan la actividad de linfocitos T, particularmente a pH ácido tal como se encuentra en microentornos tumorales. La estimulación de la actividad de linfocitos 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 linfocitos T. La estimulación de la actividad

de linfocitos T también se puede medir, por ejemplo, con el ensayo de Jurkat descrito en los Ejemplos. La estimulación de la actividad de los linfocitos T también puede medirse como se describe en otros Ejemplos de la presente, por ejemplo, al medir la secreción de IFN-γ de los linfocitos T, donde una mayor secreción de IFN-γ indica una estimulación de los linfocitos T. También puede medirse la secreción de otras citocinas de linfocitos T activados. En ciertas modalidades, se mide la transducción de señales de linfocitos T activados, tal como los niveles de NF-kB, como se describe, por ejemplo, en los Ejemplos.

En modalidades específicas, los Ab descritos 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 modalidades, los Ab anti-VISTA inhiben el crecimiento tumoral en un modelo tumoral, por ejemplo, un modelo de tumor activado de VISTA humano.

Como se muestra en los Ejemplos en la presente, el reciclaje de un Ab anti-VISTA en el endosoma para 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17. Las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cada una de estas especies comprende las posiciones de aminoácidos 26-35 (CDR1 de VH), 50-66 (CDR2 de VH) y 99-110 (CDR3 de VH), de las secuencias de VH para cada una de las especies de anticuerpos anteriores proporcionados en la tabla de secuencias que figura más adelante. 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 que figura más adelante.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17. Las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de cada una de estas especies comprende las posiciones de aminoácidos 24-35 (CDR1 de VL), 51-57 (CDR2 de VL) y 90-98 (CDR3 de VL), 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17, y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-061029, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En algunas modalidades, 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 CDR1, CDR2 y CDR3 de VH 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 CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-068767_E100fF_D102V y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-068767_E100fF_D102V;

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

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

(nnn) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH 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 de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de VISTA.4 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de VISTA.4;

(qqq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de VISTA.4_VL_A64G y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-070976 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-070976;

(sss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-071799 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-071799;
(ttt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-071801 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1- P1-071801;
(uuu) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-065333 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de P1-065333.

Nuevamente, la Tabla de Secuencias que figura más adelante 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 de IgG1.3 (a menos que en la tabla se indique una región constante de 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 de VH y VL. Así, por ejemplo, la CDR1 de VH de P1-061029 comprende los aminoácidos 26-35 de la SEQ ID NO: 67, mientras la CDR2 de VH comprende los aminoácidos 50-66 de la SEQ ID NO: 67, y CDR3 de VH comprende los aminoácidos 99-110 de la SEQ ID NO: 67, y así sucesivamente, como lo indican los aminoácidos en negrita y subrayados de la SEQ ID NO: 67 que se muestran en la Tabla de Secuencias.
En ciertas modalidades, 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 de VH individuales para una especie de anticuerpo en particular proporcionado en la presente se enumeran en la Tabla de Secuencias. En ciertas modalidades, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR de 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 modalidades, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del

Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, 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, 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR de 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 modalidades, 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 la 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la 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, o un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, 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 o P1-068767_E30D_E100fF; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de P1-061029 o P1-061015. En ciertas modalidades, 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 o P1-068767_E30D_E100fF. En determinadas modalidades, la VH y la VL comprenden las secuencias de aminoácidos de la VH y VL de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR de 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 de 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 modalidades, un Ab anti-hVISTA comprende las 6 CDR de un Ab anti-hVISTA Ab proporcionado en la presente y también comprende secuencias de aminoácidos de VH y VL donde cada una 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 VL correspondientes del Ab anti-hVISTA, de forma tal que la VH y 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, o de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, 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 o P1-068767_E30D_E100fF. En determinadas modalidades, cada una de las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL consiste en las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo

descrito en el Ejemplo 17.

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; o

(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 VISTA.4 y una VL que comprende la VL de VISTA.4;

(qqq) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64G y una VL que comprende la VL de VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y una VL que comprende la VL de P1-070976;

(sss) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y una VL que comprende la VL de P1-071799;

(ttt) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y una VL que comprende la VL de P1-071801;

(uuu) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y una VL que comprende la VL de P1-065333.

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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 VH CDR de VH de P1-069061 y una VL que comprende las CDR de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 VH CDR de VH de VISTA.4; y una VL que comprende las CDR de VL de VISTA.4 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 VISTA.4;

(qqq) una VH que comprende las VH CDR de VH de VISTA.4_VL_A64G; y una VL que comprende las CDR de VL de VISTA.4_VL_A64G 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 VISTA.4_VL_A64G;

(rrr) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-070976; y una VL que comprende las CDR de VL de P1-070976 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 P1-070976;
(sss) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-071799; y una VL que comprende las CDR de VL de P1-071799 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 P1-071799;
(ttt) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-071801; y una VL que comprende las CDR de VL de P1-071801 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 P1-071801; o
(uuu) una VH que comprende las VH CDR de VH de P1-065333; y una VL que comprende las CDR de VL de P1-065333 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 P1-071799.
Un Ab anti-hVISTA puede comprender:
(a) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061029 y una VL que consiste en la VL de P1-061029;
(b) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-061015 y una VL que consiste en la VL de P1-061015;
(c) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068757 y una VL que consiste en la VL de P1-068757;
(d) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068759 y una VL que consiste en la VL de P1-068759;
(e) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068761 y una VL que consiste en la VL de P1-068761;
(f) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068763 y una VL que consiste en la VL de P1-068763;
(g) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068765 y una VL que consiste en la VL de P1-068765;
(h) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068767 y una VL que consiste en la VL de P1-068767;
(i) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068769 y una VL que consiste en la VL de P1-068769;
(j) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068771 y una VL que consiste en la VL de P1-068771;
(k) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068773 y una VL que

consiste en la VL de P1-068773;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(cc) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y una VL que consiste en la VL de P1-068748;
(dd) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068750 y una VL que consiste en la VL de P1-068750;
(ee) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068752 y una VL que consiste en la VL de P1-068752;
(ff) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068754 y una VL que consiste en la 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; o

(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 VH de VISTA.4 y una VL que consiste en la VL de VISTA.4;

(qqq) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de VISTA.4_VL_A64G y

una VL que consiste en la VL de VISTA.4_VL_A64G;
(rrr) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-070976 y una VL que consiste en la VL de P1-070976;
(sss) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-071799 y una VL que consiste en la VL de P1-071799;
(ttt) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-071801 y una VL que consiste en la VL de P1-071801; o
(uuu) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de P1-065333 y una VL que consiste en la VL de P1-065333;

En ciertas modalidades, un Ab anti-VISTA comprende cualquiera de las regiónes variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descritos en la presente, tales como:
(1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de:
(2) las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de:
(3) la VH de:
(4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de:
(5) las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de:
o
(6) la VH y las 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, o de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del

Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17; y el Ab anti-VISTA también es un anticuerpo de IgG, tal como un anticuerpo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 o una forma modificada de este, como se describe en la sección que figura más adelante. En algunas modalidades, la región constante tiene una función efectora, y en algunas modalidades, la región constante no tiene función efectora. En ciertas modalidades, la región constante es la de IgG1.3.

En ciertas modalidades, un Ab anti-VISTA comprende cualquiera de las regiónes variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descritos en la presente, tales como:
(1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de:
(2) las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de:
(3) la VH de:
(4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de:
(5) las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de:
o
(6) la VH y las 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, o de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (también conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del

Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17;

y además comprende una o varias de las siguientes características:

- se une específicamente a hVISTA, por ejemplo, la región con alto contenido de histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de la 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 con alto contenido de histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de la SEQ ID NO: 2, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- se une específicamente a VISTA de cyno, por ejemplo, la región con alto contenido de histidina del ECD, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a VISTA de cyno, por ejemplo, la región con alto contenido de 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 sustitución en uno o varios de los siguientes 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 linfocitos T humanos que expresan VISTA (por ejemplo, linfocitos T activados o sin tratar) a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- inhibe la unión de hVISTA a PSGL-1 con o sin sialilo de Lewis X 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 sialilo de Lewis X, y donde las tirosinas son preferentemente sulfotirosinas);
- tiene 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 cynomolgus, medidos, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, mediante la mejora de la proliferación de linfocitos T; mejora la producción de IFN-γ a partir de linfocitos T; y/o estimula la señalización de NF-kB mediada por el receptor de linfocitos T;
- inhibe la adhesión célula:célula mediada por VISTA;
- se une específicamente a hVISTA en muestras de células tumorales humanas o en

muestras de tejido humano inflamado que expresa VISTA;
- entra en contacto con 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 expresión superficial 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: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) 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 18;
- se une a la extensión de lámina β con alto contenido de histidinas de hVISTA, según se determina, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- entra en contacto con (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, 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;
- entra en contacto con 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;
- niveles bajos o indetectables de TMDD;
- niveles bajos o indetectables de neutropenia; y
- cualquier característica adicional que se establece en las reivindicaciones y/o en los Ejemplos.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, 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 más adelante 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 o P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3. En determinadas modalidades, el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17, que comprende opcionalmente una región constante de cadena pesada de IgG1.3.

En ciertas modalidades, 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 modalidades, 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 o P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-061029 o P1-061015. En determinadas modalidades, el anticuerpo comprende la cadena pesada de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17 como un anticuerpo de IgG1.3, y la cadena pesada del mismo anticuerpo.

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 la VH 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 cadena pesada de VISTA.4.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de VISTA.4.IgG1.3;

(qqq) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de VISTA.4_VL_A64G.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de VISTA.4_VL_A64G.IgG1.3;

(rrr) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-070976.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-070976.IgG1.3;

(sss) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-071799.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-071799.IgG1.3; o

(ttt) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-071801.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de

cadena ligera de P1-071801.IgG1.3;
(uuu) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-065333.IgG1.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-065333.IgG1.3.

Un Ab anti-hVISTA puede comprender:
(a) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061029 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de P1-061029 y 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.IgG1.3, respectivamente;
(b) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-061015 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-061015 y 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 P1-061015.IgG1.3, respectivamente;
(c) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068757 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068757 y 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 P1-068757.IgG1.3, respectivamente;
(d) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068759 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068759 y 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 P1-068759.IgG1.3, respectivamente;
(e) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761 y 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 P1-068761.IgG1.3, respectivamente;
(f) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068763 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068763 y 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-

068763.IgG1.3, respectivamente;

(g) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068765 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068765 y 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 P1-068765.IgG1.3, respectivamente;

(h) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767 y 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 P1-068767.IgG1.3, respectivamente;

(i) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068769 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068769 y 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 P1-068769.IgG1.3, respectivamente;

(j) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068771 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068771 y 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 P1-068771.IgG1.3, respectivamente;

(k) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068773 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068773 y 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 P1-068773.IgG1.3, respectivamente;

(l) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068775 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068775 y 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 P1-068775.IgG1.3, respectivamente;

(m) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069059 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069059 y 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

P1-069059.IgG1.3, respectivamente;

(n) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069061 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069061 y 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 P1-069061.IgG1.3, respectivamente;

(o) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069063 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069063 y 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 P1-069063.IgG1.3, respectivamente;

(p) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069065 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069065 y 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 P1-069065.IgG1.3, respectivamente;

(q) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069067 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069067 y 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 P1-069067.IgG1.3, respectivamente;

(r) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069069 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069069 y 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 P1-069069.IgG1.3, respectivamente;

(s) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069071 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069071 y 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 P1-069071.IgG1.3, respectivamente;

(t) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069073 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069073 y 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-

069073.IgG1.3, respectivamente;

(u) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069075 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069075 y 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 P1-069075.IgG1.3, respectivamente;

(v) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-069077 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-069077 y 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 P1-069077.IgG1.3, respectivamente;

(w) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068736 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068736 y 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 P1-068736.IgG1.3, respectivamente;

(x) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068738 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068738 y 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 P1-068738.IgG1.3, respectivamente;

(y) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068740 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068740 y 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 P1-068740.IgG1.3, respectivamente;

(z) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068742 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068742 y 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 P1-068742.IgG1.3, respectivamente;

(aa) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068744 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068744 y 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

P1-068744.IgG1.3, respectivamente;

(bb) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068746 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068746 y 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 P1-068746.IgG1.3, respectivamente;

(cc) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068748 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068748 y 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 P1-068748.IgG1.3, respectivamente;

(dd) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068750 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068750 y 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 P1-068750.IgG1.3, respectivamente;

(ee) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068752 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068752 y 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 P1-068752.IgG1.3, respectivamente;

(ff) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068754 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068754 y 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 P1-068754.IgG1.3, respectivamente;

(gg) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E55A.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E55A y 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 P1-068761_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(hh) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_H100G y 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 P1-068761_H100G.IgG1.3, respectivamente;
(ii) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E56N y 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 P1-068761_E56N.IgG1.3, respectivamente;
(jj) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E55A_E56N y 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 P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, respectivamente;
(kk) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D y 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 P1-068761_E30D.IgG1.3, respectivamente;
(ll) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D_E55A y 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 P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, respectivamente;
(mm) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E56N_H100G y 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 P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, respectivamente;
(nn) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D_H100G y 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 P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, respectivamente;
(oo) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D_E56N y 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 P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, respectivamente;
(pp) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E100fF y 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 P1-068761_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(qq) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E55A_E100fF y 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 P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(rr) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_H100G_E100fF y 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 P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(ss) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D_E100fF y 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 P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(tt) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E56N_E100fF y 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 P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(uu) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E32Y.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E32Y y 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 P1-068761_E32Y.IgG1.3, respectivamente;
(vv) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E32Y_E55A y 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 P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, respectivamente;
(ww) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E32Y_E56N y 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 P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, respectivamente;
(xx) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E30D_E32Y y 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 P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, respectivamente;
(yy) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E32Y_H100G y 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 P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, respectivamente;
(zz) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068761_E32Y_E100fF y 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 P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, respectivamente;
(aaa) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_D52N_D102V y 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 P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, respectivamente;
(bbb) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_D52N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_D52N y 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 P1-068767_D52N.IgG1.3, respectivamente;
(ccc) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_D52N_E55A y 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 P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, respectivamente;

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

(eee) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_D102V.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_D102V y 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 P1-068767_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(fff) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E55A.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E55A y 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 P1-068767_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(ggg) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E30D_D52N y 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 P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, respectivamente;

(hhh) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E30D_D102V y 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 P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(iii) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E30D.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E30D y 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 P1-068767_E30D.IgG1.3, respectivamente;

(jjj) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3 y

una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E30D_E55A y 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 P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, respectivamente;

(kkk) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E100fF_D102V y 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 P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, respectivamente;

(lll) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E55A_E100fF y 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 P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(mmm) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_D52N_E100fF y 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 P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(nnn) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E100fF y 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 P1-068767_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(ooo) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3 y una LC que comprende las CDR de LC de P1-068767_E30D_E100fF y 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 P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, respectivamente;

(ppp) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de VISTA.4 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de VISTA.4 y 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 VISTA.4.IgG1.3, respectivamente;
(qqq) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de VISTA.4_VL_A64G y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de VISTA.4_VL_A64G y 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 VISTA.4_VL_A64G.IgG1.3, respectivamente;
(rrr) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de P1-070976 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de P1-070976 y 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 P1-070976.IgG1.3, respectivamente;
(sss) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de P1-071799 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de P1-071799 y 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 P1-071799.IgG1.3, respectivamente;
(ttt) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de P1-071801 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de P1-071801 y 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 P1-071801.IgG1.3, respectivamente; o
(uuu) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR de HC de la HC de P1-065333 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de P1-065333 y 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 P1-065333.IgG1.3, respectivamente.

En algunas modalidades, 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;

(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 cadena pesada de VISTA.4.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de VISTA.4;

(qqq) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de VISTA.4_VL_A64.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-070976.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-071799.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-071799;

(ttt) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-071801.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-071801; o

(uuu) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de P1-065333.IgG1.3 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-065333.

En algunas modalidades, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprenden:
una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de (a) a (uuu) que se enumeró anteriormente seguida de un residuo de Lys; y
una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de (a) a (uuu) 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 (uuu) que se enumeraron anteriormente.

En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de VH de las especies de anticuerpos de la presente, pero en vez de una región constante de cadena pesada de IgG1.3, como se proporciona en las secuencias de HC de la tabla de secuencias de la presente (y ver la 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 f de IgG1 humana (IgG1f) (SEQ ID NO: 182), o una región constante de IgG1 humana modificada tal como IgG1.1f (SEQ ID NO: 183), o una región constante de IgG1 humana modificada como IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184). Por consiguiente, las modalidades de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4;
(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;
(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;
(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;
(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o
(uuu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333.

Ciertas modalidades de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la SEQ ID NO: 182, 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 la 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 de aminoácidos de la VH de VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;

(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o

(uuu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333.

donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 182 forman un enlace peptídico.

En algunas modalidades, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprenden:

una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (uuu) que se enumeraron anteriormente, (ii) la SEQ ID NO: 182, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 182 forman un enlace peptídico y donde el aminoácido del 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 (uuu) 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 (uuu) que se enumeraron anteriormente.

Ciertas modalidades de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de P1-068767_E100fF;

(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 la 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 consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;

(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o
(uuu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333.

Ciertas modalidades de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la SEQ ID NO: 183, 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 la 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 consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;
(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o
(uuu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333,
donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 183 forman un enlace peptídico.

En algunas modalidades, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprenden:
una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (uuu) que se enumeraron anteriormente, (ii) la SEQ ID NO: 183, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 183 forman un enlace peptídico y donde el aminoácido del extremo C de la SEQ ID NO: 183 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 (uuu) 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 (uuu) que se enumeraron anteriormente.

Modalidades adicionales de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 VH de VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA. 4;

(qqq) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA. 4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;

(ttt) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o

(uuu) una cadena pesada que comprende (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333.

Aún más modalidades adicionales de esta descripción 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 cadena pesada de P1-068746 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 P1-068746;

(cc) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de VH de P1-068748 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 la 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 VISTA.4 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4;

(qqq) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de VISTA.4_VL_A64 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de VISTA.4_VL_A64;

(rrr) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-070976;

(sss) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071799 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071799;

(ttt) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-071801 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-071801; o

(uuu) una cadena pesada que consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-065333 y (ii) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de P1-065333,

donde la VH y las secuencias de aminoácidos de cadena ligera se eligen de las mismas especies de anticuerpos entre (a) a (uuu) que se enumeraron anteriormente.

donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 184 forman un enlace peptídico.

En determinadas modalidades, las secuencias de aminoácidos de la HC y la LC del

anticuerpo comprenden las de un anticuerpo derivado de VISTA.4 (conocido como 41F11) descrito en las Tablas 22-30 del Ejemplo 17, tal como VISTA.4, VISTA.4_VL_A64G, P1-070976 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, D95H, L96E, P97E, Y100E; VL_A64G), P1-071799 (P1-070976_VH_H95D), P1-071801 (P1-070976_VH_E97P) o P1-065333 (VISTA.4 VH_T28P, Y50W, S55E, L96E, Y100E; VL_A64G), u otro anticuerpo descrito en el Ejemplo 17, donde la región constante de cadena pesada se deriva de IgG1.3, IgG1, IgG1.1f, IgG4, IgG4 S228P (numeración EU) o comprende la secuencias de aminoácidos de una de las SEQ ID NO: 182, 183 o 184. En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de VH de aminoácido 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 P1-070976 o comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-070976 a excepción de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras o de reversión. En algunas de estas modalidades, el anticuerpo conserva las CDR de VH y las CDR de VL del anticuerpo P1-070976, de forma que todas las diferencias de la secuencia de VH se limitan a las regiónes marco de la VH. En algunas modalidades, la VH es la de P1-070976, pero comprendiendo una o ambas de las sustituciones de reversión H95D y E97P. En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia VL de aminoácido 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 P1-070976 o comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de P1-070976, P1-071799, o P1-071801, a excepción de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras o de reversión. En algunas de estas modalidades, el anticuerpo conserva las CDR de VH y las CDR de VL del anticuerpo P1-070976, de forma que todas las diferencias de la secuencia de VL se limitan a las regiónes marco de la VL.

En algunas modalidades, la descripción contempla mAb anti-VISTA que comprenden:
una cadena pesada que consiste en las secuencias de aminoácidos de (i) una VH de (a) a (uuu) que se enumeraron anteriormente, (ii) la SEQ ID NO: 184, y (iii) un residuo de Lys, donde el aminoácido del extremo C de la VH y el aminoácido del extremo N de la SEQ ID NO: 184 forman un enlace peptídico y donde el aminoácido del extremo C de la SEQ ID NO: 184 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 (uuu) 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 (uuu) que se enumeraron anteriormente.

En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de 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 de VH de P1-061029 en la cual al menos un residuo ha sido sustituido con un D, un E o una H. En algunas modalidades, cada CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029 contiene uno, dos o tres residuos sustituidos con un D, un E o una H. En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de 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 de 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 de 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 de 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 que figura más adelante para encontrar ejemplos de anticuerpos incluidos en estas modalidades). 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 o P1-068767_E30D_E100fF, 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 o P1-068767_E30D_E100fF.

En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de 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 de VH de P1-061015 en la cual al menos un residuo ha sido sustituido con un D, un E o una H. En algunas modalidades, cada CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061015 contiene uno, dos o tres residuos sustituidos con un D, un E o una H. En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia de aminoácidos de 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 de 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 de 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 de 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 que figura más adelante para obtener ejemplos de los anticuerpos incluidos en estas modalidades). 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 o P1-068767_E30D_E100fF, 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 o P1-068767_E30D_E100fF.

En algunas modalidades, un Ab anti-hVISTA puede comprender una secuencia VH de aminoácidos que es al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, a al menos el 97%, al menos el 98%, o

al menos el 99% idéntico al de VISTA.4, en donde el anticuerpo comprende una CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de VISTA.4 en la cual al menos un residuo ha sido sustituido con una D, una E o una H. En algunas modalidades, cada una de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de VISTA.4 contiene uno, dos o tres residuos sustituidos con una D, E o H. En tales casos, la región variable de la cadena ligera puede comprender el CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VISTA.4 o VISTA.4 A64G, y/o la región variable de la cadena ligera puede ser al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, o al menos el 99% idéntico al de VISTA.4 o VISTA.4 A64G. Tales anticuerpos son ejemplos de la progenie de VISTA.4.

En algunas modalidades, dicha progenie modificada anti-hVISTA de P1-061029 o P1-061015 o VISTA.4 posee una o varias de las siguientes características:

- se une específicamente a hVISTA, por ejemplo, la región con alto contenido de histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de la 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 con alto contenido de histidina del ECD o un polipéptido que comprende los residuos aminoácidos 35-127 de la SEQ ID NO: 2, a pH fisiológico o pH neutro, por ejemplo, pH 7,4 o pH 7,0;
- se une específicamente a VISTA de cyno, por ejemplo, la región con alto contenido de histidina del ECD, a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o pH 6,5;
- carece de unión significativa a VISTA de cyno, por ejemplo, la región con alto contenido de 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 sustitución en uno o varios de los siguientes 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, P1-061015 y/o VISTA.4;
- inhibe la unión de hVISTA a linfocitos T humanos que expresan VISTA (por ejemplo, linfocitos 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 con o sin sialilo de Lewis X 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 sialilo de Lewis X, y donde las tirosinas son preferentemente sulfotirosinas;
- tiene un tiempo medio de residencia (MRT) de al menos 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 o 700 horas en monos cynomolgus (por ejemplo, al menos 350 horas), medido, por

ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- niveles bajos o indetectables de TMDD;
- niveles bajos o indetectables de neutropenia;
- estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, mediante la mejora de la proliferación de linfocitos T; mejora la producción de IFN-γ a partir de linfocitos T; y/o estimula la señalización de NF-kB mediada por el receptor de linfocitos T;
- inhibe la adhesión célula:célula mediada por VISTA; y
- se une específicamente a hVISTA en muestras de células tumorales humanas o en muestras de tejido humano inflamado que expresa VISTA;
- entra en contacto con 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 expresión superficial 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: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) 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 18;
- se une a la extensión de lámina β con alto contenido de histidinas de hVISTA, según se determina, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- entra en contacto con (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, 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;
- entra en contacto con 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.

Regiónes constantes de anticuerpos ejemplares

En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una o más regiónes constantes humanas. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo seleccionado entre IgA, IgG e IgD. En algunas modalidades, la región constante de cadena ligera humana es de un isotipo seleccionado

entre κ y λ. En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG humana tal como una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas de tales modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una mutación S241P en la región constante de IgG4 humana. En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

La selección 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 modalidades, 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, incluso en métodos para tratar algunos cánceres, se puede buscar la eliminación de células, por ejemplo, cuando el anticuerpo se une a células que contribuyen al mantenimiento o crecimiento del tumor. Los ejemplos de células que pueden contribuir al mantenimiento o crecimiento de un tumor incluyen, entre otras, los propios linfocitos Tumorales, células que colaboran en el reclutamiento de vasculatura para el tumor y células que proporcionan ligandos, factores de crecimiento, o contrarreceptores que dan sustento o promueven el crecimiento tumoral o la supervivencia tumoral. En algunas modalidades, 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 modalidades, 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 al alterar la secuencia de aminoácidos de forma tal que se creen o se eliminen uno o varios sitios de glicosilación.

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a esta. Los anticuerpos naturales 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 ál. *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 modalidades, se pueden realizar modificaciones al oligosacárido en un anticuerpo de la invención para crear anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas. Por ejemplo, en algunas modalidades, 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 modalidades, 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 se describen, por ejemplo, en WO 2003/011878 (Jean-Mairet et ál.); patente estadounidense n.º 6,602,684 (Umana et ál.); y US 2005/0123546 (Umana et ál.). 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 se describen, por ejemplo, en WO 1997/30087 (Patel et ál.); WO 1998/58964 (Raju, S.) y WO 1999/22764 (Raju, S.).

También se proporcionan anticuerpos con extensiones líder del extremo amino. Por ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia líder del extremo amino están presentes en el extremo amino de una cualquiera o varias de las cadenas pesadas o ligeras del anticuerpo. Un ejemplo de extensión líder del extremo amino comprende o consiste en tres residuos de aminoácidos, VHS, presentes en una o ambas cadenas ligeras de un anticuerpo.

Se puede evaluar, *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 ál. *International Immunology* 18(12):1759-1769 (2006).

En algunas modalidades 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 con el ensayo ADCC *in vitro* descrito en la presente, pero están contemplados otros ensayos o métodos para determinar la actividad ADCC, por ejemplo, en un modelo animal, etc.

En ciertas modalidades, la región Fc se altera al reemplazar al menos un residuo aminoácido con un residuo aminoácido diferente para alterar la o las funciones efectoras del anticuerpo. Por ejemplo, uno o más aminoácidos seleccionados de 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 tenga una afinidad alterada por un ligando efector pero conserve 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 estadounidenses n.º 5,624,821 y 5,648,260, ambas de Winter et ál.

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, de forma tal que el anticuerpo tenga una unión modificada a C1q y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) reducida o eliminada. Esta estrategia se describe con mayor detalle en la patente estadounidense n.º 6,194,551 de Idusogie et ál.

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 ál. 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. Los ejemplos de sustituciones incluyen 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D y 332E. Los ejemplos de variantes 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. Los ejemplos de modificaciones incluyen, de modo no taxativo, 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. Los ejemplos de sustituciones incluyen, de modo no taxativo, 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 mediante 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 y 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, linfocitos B y monocitos. En una modalidad, 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 FcγRIIb 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. Los ejemplos de sustituciones 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 n.º 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 estadounidenses n.º 5.624.821; 6.277.375; 6.737.056; 6.194.551; 7.317.091; 8.101.720; publicaciones de patente PCX 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 mediante una variedad de métodos de ensayo *in vitro* (ensayos bioquímicos o con base inmunológica) conocidos en la técnica, que incluyen, entre otros, métodos de equilibrio (por ejemplo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), 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 modalidades, el anticuerpo es modificado para aumentar su semivida biológica. Son posibles diferentes abordajes. 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 patente estadounidense n.º 6,277,375. Los ejemplos de sustituciones 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 de forma que contenga 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 estadounidenses n.º 5,869,046 y 6,121,022 de Presta et ál. Otros ejemplos de variantes que aumentan la unión a FcRn y/o mejoran las propiedades farmacocinéticas incluyen sustituciones en las posiciones 259, 308, 428 y 434, incluso, 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 ál. 2004, *J. Biol. Chem*. 279(8): 6213-6216, Hinton et ál. 2006 *Journal of Immunology* 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 31 1A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et ál., *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 ál. *Journal of Immunology*, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et ál., 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281:23514-23524). Otras modificaciones para modular la unión a FcRn se describen en Yeung et ál., 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671.

En ciertas modalidades, se pueden usar isotipos híbridos de IgG con características

biológicas particulares. Por ejemplo, una variante híbrida de 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 modalidades descritas en la presente, una variante híbrida de 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 descrito variantes con unión mejorada (ver Shields, R.L. et ál. (2001) *J. Biol. Chem*. 276:6591-6604). Se ha demostrado que mutaciones específicas en las posiciones 256, 290, 298, 333, 334 y 339 mejoran la unión a FcγRIII. Adicionalmente, se observó 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 observó que exhiben unión mejorada a FcγRIIIa y actividad ADCC (Shields et ál., 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 cynomolgus (Lazar et ál., 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 linfocitos B en monos (Lazar et ál., 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 linfocitos B y cáncer de mama (Stavenhagen et ál., 2007; Nordstrom et ál., 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 modalidades, se elige un Fc que tiene unión reducida a FcγRs. Un ejemplo de Fc, por ejemplo, Fc IgG1, con unión reducida a FcγR, comprende las tres sustituciones de

aminoácidos que figuran a continuación: L234A, L235E y G237A.

En ciertas modalidades, se elige un Fc que tiene fijación a complemento reducida. Un ejemplo de Fc, por ejemplo, Fc IgG1, con fijación a complemento reducida, tiene las dos sustituciones de aminoácidos que figuran a continuación: A330S y P331S.

En ciertas modalidades, se elige un Fc que esencialmente no tiene función efectora, es decir, tiene una unión reducida a FcγRs y una fijación al complemento reducida. Un ejemplo de Fc, por ejemplo, Fc IgG1, que no es efector, comprende las cinco mutaciones que figuran 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 descritas en WO 2017/087678 o WO2016081746.

Se puede usar una región constante con función efectora o agotada de la función efectora cuando las regiónes variables del anticuerpo se unen a VISTA a pH ácido pero no a pH fisiológico, ya que se espera que haya un TMDD bajo y no neutropenia. Sin embargo, para los anticuerpos VISTA que no se unen preferiblemente a hVISTA a un pH ácido en relación con un pH fisiológico, es preferible usar una región sin efector, por ejemplo, IgG1.3, para evitar un alto TMDD y neutropenia.

En ciertas modalidades, 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 para 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 dan como resultado la eliminación de uno o varios sitios de glicosilación de la estructura de las regiónes variables para así eliminar la glicosilación en ese sitio. Dicha aglicosilación puede aumentar la afinidad del anticuerpo para el antígeno. Esta estrategia se describe con mayor detalle en las patentes estadounidenses n.º 5,714,350 y 6,350,861 por Co et ál.

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.

De forma adicional o alternativa, 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 hospedadora con maquinaria de glicosilación alterada. Las células con maquinaria de glicosilación alterada se han descrito en la técnica y se pueden usar como células hospedadoras en las cuales expresar los anticuerpos recombinantes descritos en la presente para así producir un anticuerpo con glicosilación alterada. Por ejemplo, el documento EP 1.176.195 de Hanai et ál. 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 presentan 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), lo que también da como resultado la hipofucosilación de los anticuerpos expresados en esas células hospedadoras (ver también Shields, R.L. et ál. (2002) *J. Biol. Chem*. 277:26733-26740). La publicación PCT WO 99/54342 de Umana et ál. describe líneas celulares modificadas genéticamente para expresar glicosil transferasas que modifican glicoproteínas (por ejemplo, beta(l,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII)) de forma 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 de ADCC de los anticuerpos (ver también Umana et ál. (1999) *Nat. Biotech*. 17: 176-180).

Otra modificación de los anticuerpos descritos 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 aldehído derivado de PEG, en condiciones en las que uno o varios grupos PEG quedan unidos al anticuerpo o al fragmento de anticuerpo. En algunas modalidades, 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 modalidades, 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 descritos en la presente. Ver, por ejemplo, EP 0 154 316 de Nishimura et ál. y EP 0 401 384 de Ishikawa et ál.

En diversas modalidades, 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 modalidad, 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 otorgada a 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, lo que permite 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 modalidad 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 internacional 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 hospedadoras

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo o una cadena ligera o pesada de este o una parte 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 de 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 modalidades, 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 modalidades, 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 reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad celíaca, síndrome de Sjögren, enfermedad de Grave, enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, espondilitis anquilosante, enfermedad injerto contra hospedador, alergia y asma.

Los anticuerpos descritos en la presente se pueden usar, por ejemplo, para tratar el cáncer. En algunas modalidades, se proporcionan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente a un paciente. En algunas modalidades, los Ab pueden desencadenar o aumentar una respuesta inmunitaria en el paciente, tal como una respuesta inmunitaria específica a un antígeno. En algunas modalidades, los Ab pueden estimular la actividad de los linfocitos T. En algunas modalidades, 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 descrito 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 descrito en la presente incluyen cánceres que típicamente responden a la inmunoterapia y aquellos que típicamente 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 microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico 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 linfocitos citolíticos, melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico, tal como melanoma 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 paratiroidea, cáncer de glándula adrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, tumores sólidos de la infancia, cáncer de uréter, carcinoma de pelvis renal, neoplasma del sistema nervioso central (SNC), linfoma del SNC 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 linfocitos 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 VPH)), 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 linfocitos B, T, NK y plasmáticos), 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 linfocitos B, por ejemplo, linfomas de linfocitos B, linfomas de linfocitos T, linfoma linfoplasmacitoide, linfoma monocitoide de linfocitos B, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), linfoma anaplásico de células grandes (por ejemplo, Ki 1+), linfoma/leucemia de linfocitos T del adulto, linfoma de células del manto, linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico, linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de linfocitos T, linfoma primario mediastinal de linfocitos B, linfoma linfoblástico precursor de linfocitos T, linfoblástico T; y linfoma/leucemia (T-Lbly/T-ALL), linfoma periférico de linfocitos T, linfoma linfoblástico, trastorno linfoproliferativo postransplante, linfoma histiocítico verdadero, linfoma primario del sistema nervioso central, linfoma efusivo primario, linfoma de linfocitos B, linfoma linfoblástico (LBL), tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, leucemia linfoblástica aguda, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma histiocítico difuso (DHL), linfoma inmunoblástico de células grandes, linfoma linfoblástico precursor de linfocitos B, linfoma cutáneo de linfocitos 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 linfocitos T y linfocitos B, que incluyen, entre otros, trastornos de linfocitos T tales como leucemia prolinfocítica de linfocitos T (T-PLL), inclusive del tipo de células pequeñas y de

células cerebriformes; leucemia de linfocitos grandes granulares (LGL) del tipo linfocitos T; linfoma hepatoesplénico NHL de linfocitos T a/d; linfoma de linfocitos T postímicos/periféricos (subtipos pleomórfico e inmunoblástico); linfoma de linfocitos T angiocéntrico (nasal); cáncer de cabeza y cuello, cáncer renal, cáncer rectal, cáncer de la glándula tiroidea; linfoma mieloide agudo, como así también cualquier combinación de estos tipos de cáncer. Los métodos descritos en la presente también se pueden usar para el tratamiento de cánceres metastásicos, cánceres resistentes no resecables (por ejemplo, cánceres resistentes a inmunoterapia previa, por ejemplo, con un anticuerpo de bloqueo CTLA-4 o PD-1) y/o cánceres recurrentes.

En algunas modalidades, 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 modalidades, se proporciona el uso de un anticuerpo descrito en la presente para tratar el cáncer.

En ciertas modalidades, un anticuerpo descrito 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 inmunooncológico o para inmunoterapia. En algunas modalidades, 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 descrito en la presente puede administrarse a sujetos que no responden o no responden suficientemente a un primer tratamiento o cuya enfermedad evoluciona 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 modalidades, un anticuerpo descrito en la presente se administra a pacientes que no han recibido previamente un agente inmunooncológico (es decir, no han sido tratados con este), por ejemplo, un antagonista de la vía PD-1.

En ciertas modalidades, un método para tratar el cáncer en un sujeto comprende determinar en primer lugar la carga mutacional del tumor (TMB, por sus siglas en inglés) 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 modalidades, un anticuerpo como se describe en la presente, por ejemplo, un

anticuerpo antagonista de VISTA descrito en la presente, se administra en combinación con al menos un agente de estimulación inmunitaria. Por ejemplo, el tratamiento se puede infusionar en forma conjunta o inyectarse casi al mismo tiempo. En algunas modalidades, el anticuerpo y el al menos un agente de estimulación inmunitaria se administran secuencialmente. Por ejemplo, en algunas modalidades el anticuerpo se administra secuencialmente antes o después de al menos un agente de estimulación inmunitaria de forma tal que los dos agentes terapéuticos se administren 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, un sujeto recibió 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 modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de un inhibidor de la activación de linfocitos T, mientras que, en algunas modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de un estimulador de la activación de linfocitos T. En algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 coestimulante o coinhibidora 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 modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que antagoniza o inhibe una citocina que inhibe la activación de linfocitos T tal como IL-6, IL-10, TGFβ, VEGF. En algunas modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de una citocina que estimula la activación de linfocitos T tal como IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 e IFNα. En algunas modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de una quimiocina, tal como CXCR2, CXCR4, CCR2 o CCR4. En algunas modalidades, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un anticuerpo. En algunas modalidades, 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 descrito 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 linfocitos 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 linfocitos 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 ejemplos de agentes que se pueden combinar con anticuerpos anti-VISTA descritos en la presente para tratar el cáncer incluyen: YERVOY® (ipilimumab) o tremelimumab (para CTLA-4), galiximab (para B7.1), BMS-936558 (nivomulab; para PD-1), MK-3475 (pembrolizumab; para PD-1), atezolizumab (TECENTRIQ®), Avelumab, Durvalumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimb, 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 linfocitos NK o agonistas de receptores de activadores en linfocitos NK, por ejemplo, antagonistas de KIR (por ejemplo, lirilumab).

La activación de linfocitos T también se puede regular mediante citocinas solubles. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-VISTA se pueden administrar en combinación con antagonistas de citocinas que están destinadas a inhibir la activación de linfocitos T o agonistas de citocinas que estimulan la activación de linfocitos 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 linfocitos T o antagonistas de citocinas que inhiben la activación de linfocitos 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 linfocitos T.

Aún otros agentes para terapias de combinación incluyen agentes que inhiben o agotan macrófagos o monocitos, que incluyen, 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).

Incluso otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo anti-VISTA incluyen terapias que agotan o bloquean linfocitos 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 linfocitos 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 inmunooncológico, 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, al inhibir CTLA-4 y/o la vía PD1/PD1-L1/PD-L2 y/o al agotar o bloquear Treg 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 linfocitos T; una terapia que aumenta sistémicamente la frecuencia de linfocitos T antitumorales; una terapia que agota o inhibe Treg, tal como Treg en el tumor, por ejemplo, con un antagonista de CD25 (por ejemplo, daclizumab) o mediante depleción con perlas anti-CD25 *ex vivo*; una terapia que afecta 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 linfocitos T o linfocitos 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 linfocitos 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 descritos en la presente se pueden usar conjuntamente con uno

o más de los agentes agonistas que ligan receptores coestimuladores positivos, agentes de bloqueo que atenúan la señalización a través de receptores inhibidores, antagonistas, y uno o varios agentes que aumentan sistémicamente la frecuencia de linfocitos T antitumorales, 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 Treg (por ejemplo, con 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 linfocitos T) y agentes que desencadenan la activación inmunitaria innata y/o la inflamación en sitios tumorales.

En ciertas modalidades, un anticuerpo anti-VISTA se administra a un sujeto conjuntamente con un inhibidor de BRAF si el sujeto es positivo para la mutación BRAF V600.

Adecuadamente los antagonistas de PD-1 para usar en la terapia de combinación descrita en la presente, incluyen, entre otros, ligandos, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y anticuerpos biespecíficos) y agentes multivalentes. En una modalidad, el antagonista de PD-1 es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión Fc, tal como AMP-244. En una modalidad, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Un ejemplo de anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab (BMS-936558) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiónes variables de uno de los anticuerpos 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 y 4A11 descritos en WO 2006/121168. En ciertas modalidades, un anticuerpo anti-PD-1 es MK-3475 (Lambrolizumab) descrito en WO2012/ 145493; AMP-514 descrito en WO 2012/145493; o PDR001. Otros anticuerpos PD-1 conocidos y otros inhibidores de PD-1 incluyen los descritos en WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, las patentes estadounidenses n.º 7,635,757 y 8,217,149 y la publicación de patente estadounidense n.º 2009/0317368. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 descritos 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, que uno de estos anticuerpos.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 útil para la terapia de combinación es BMS-936559 (denominado 12A4 en WO 2007/005874 y en la patente estadounidense n.º 7,943,743) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiónes 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 estadounidense n.º 7,943,743. En ciertas modalidades,

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 descritos en WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, las patentes estadounidenses n.º 7,635,757 y 8,217,149 y la publicación estadounidense n.º 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 modalidades, el anticuerpo anti-VISTA de la descripción se puede usar con un antagonista de CTLA-4, por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4. En una modalidad, un anticuerpo anti-CTLA-4 es un anticuerpo seleccionado en el grupo de: YERVOY® (ipilimumab o anticuerpo 10D1, descrito en la publicación PCT WO 01/14424), tremelimumab (anteriormente ticilimumab, CP-675,206), un anticuerpo monoclonal o anti-CTLA-4 descrito en cualquiera de las siguientes publicaciones: WO 98/42752; WO 00/37504; patente estadounidense n.º 6,207,156; Hurwitz et ál. (1998) *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 95(17): 10067-10071; Camacho et ál. (2004) *J. Clin. Oncology* 22(145): Resumen Nro. 2505 (anticuerpo CP-675206); y Mokyr et ál. (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-CTLA-4 descritos en WO2013/173223.

En algunas modalidades, se usa un anticuerpo anti-VISTA de la descripción en combinación con un antagonista de LAG3. Los ejemplos de anticuerpos anti-LAG3 incluyen los anticuerpos que comprenden las CDR o las regiónes variables de los anticuerpos 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 o 17E5, que se describen en la publicación de patente estadounidense n.º US2011/0150892, WO10/19570 y WO2014/008218. En una modalidad, un anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016. Otros anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la técnica que se pueden utilizar incluyen IMP731 e IMP-321, descritos en los documentos estadounidenses 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 modalidades, un anticuerpo anti-VISTA de la descripción 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 modalidades, 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 modalidad, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un agonista de CD40, tal como un anticuerpo agonista de CD40. En ciertas modalidades, 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 modalidad, 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 modalidades, 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 descrito en WO2011/028683; un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descrito en JP2008278814, un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti- GITR descrito en WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 o WO2016/057846 u otro anticuerpo anti-GITR descrito o mencionado en la presente.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con MGA271 (para B7H3) (WO11/109400).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un antagonista de KIR, tal como lirilumab.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-VISTA se administra en combinación con un antagonista de IDO. Los antagonistas de 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 modalidades, 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 modalidad, un anti-VISTA se administra en combinación con un inhibidor de TGF-β, por ejemplo, GC1008, LY2157299, TEW7197 o IMC-TR1.

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 modalidades, el cáncer ha recurrido o evolucionado 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 anticancerosos, tales como un agente quimioterapéutico, un agente inhibidor del crecimiento, una vacuna anticancerosa tal como una vacuna de terapia génica, un agente antiangiogénico y/o una composición antineoplásica. Los ejemplos no limitantes de agente quimioterapéutico, agente inhibidor del crecimiento, vacuna anticancerosa, agente antiangiogénico y composición anti-neoplásica que se pueden usar en combinación con los anticuerpos de la presente invención se proporcionan en “Definiciones”.

En algunas modalidades, se puede administrar con la combinación un fármaco antinflamatorio, tal como un esteroide o un fármaco antinflamatorio no esteroide (AINE). 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, descritos en la presente, también se pueden administrar al paciente hormonas y esteroides (incluso análogos sintéticos), tales como 17a-Etinilestradiol, Dietilestilbestrol, Testosterona, Prednisona, Fluoximesterona, Propionato de Dromostanolona, Testolactona, Megestrolacetato, Metilprednisolona, Metil-testosterona, Prednisolona, Triamcinolona, Clorotrianiseno, Hidroxiprogesterona, Aminoglutetimida, Estramustina, Medroxiprogesteronacetato, Leuprolide, Flutamide, Toremifene, ZOLADEX®. Cuando se emplean los métodos o las composiciones descritos 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 descritos en la presente también se pueden combinar con un agente inmunogénico, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (incluso proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas inmunoestimulantes (He et ál., (2004) *J. Immunol*. 173:4919-28). Los ejemplos no taxativos de vacunas antitumorales 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 más adelante).

En los seres humanos, algunos tumores han mostrado ser inmunogénicos, tales como los melanomas. Al bajar el umbral de la activación de linfocitos T mediante la inhibición de VISTA, se pueden activar las respuestas tumorales en el hospedador, posibilitando el tratamiento de tumores no inmunogénicos o de aquellos que tienen inmunogenicidad limitada.

Un anticuerpo anti-VISTA descrito 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 ál. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, quinta edición). En una de estas estrategias, se prepara una vacuna con 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 ál. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* 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 definición de los denominados 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 observar que muchos de estos antígenos son los objetivos de linfocitos T específicos del tumor hallados en el hospedador. 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 autoantígenos 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 ál. (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 linfocitos B.

Otras vacunas tumorales pueden incluir las proteínas de virus implicados en cánceres humanos tales como los virus del papiloma humano (VPH), virus de la hepatitis (VHB y VHC) y virus del sarcoma del herpes 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 ál. (1997) *Science* 278: 117-120).

También se pueden usar virus oncolíticos en combinación con anticuerpos VISTA.

Las células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés) 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 células tumorales (Nestle et ál. (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 linfocitos Tumorales a los fines de inmunización (Kugler et ál. (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 antitumorales más potentes.

Tratamientos para enfermedades infecciosas

Los métodos descritos en la presente también se pueden usar para tratar pacientes que han estado expuestos a toxinas o patógenos particulares. Por consiguiente, esta descripción 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 autoantígenos. 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 descritos 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, 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 descritos en la presente incluyen clamidia, bacteria de rickettsia, 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 descritos 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* e *Histoplasma capsulatum*.

Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causan infecciones que se pueden tratar con los métodos descritos 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 descritas 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).

Vías de administración y portadores

En diversas modalidades, los anticuerpos se pueden administrar *in vivo* por diversas vías, inclusive, entre otras, oral, intraarterial, 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, semilíquida o gaseosa, que incluyen, entre otras, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, enemas, inyecciones, inhaladores 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 ál., *Nature* 356:152-154 (1992)). La formulación y la vía de administración apropiadas se pueden seleccionar de acuerdo con la aplicación pretendida.

En diversas modalidades, 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 ál., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,* 7ma ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et ál., *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 amortiguación, agentes para el ajuste de la 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 modalidades, las composiciones que comprenden anticuerpos se pueden formular para inyección, lo que incluye administración subcutánea, al disolverlas, suspenderlas o emulsionarlas en un solvente 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 modalidades, las composiciones se pueden formular para inhalación, por ejemplo, con propelentes presurizados aceptables tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y otros similares. En diversas modalidades, las composiciones también se pueden formular en microcápsulas de liberación sostenida, tales como polímeros biodegradables o no biodegradables. Un ejemplo no taxativo de formulación biodegradable incluye polímero del ácido glicólico del ácido poliláctico. Un ejemplo no taxativo de formulación 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, donde cada uno de ellos contiene una o varias dosis de un anticuerpo o combinación de anticuerpos. En algunas modalidades, 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 modalidades, dicha dosis unitaria se suministra en una jeringa precargada de uso único para inyección. En diversas modalidades, la composición contenida en la dosis unitaria puede comprender solución salina, sacarosa o similares; un amortiguador, tal como fosfato, o similares; y/o estar formulada dentro de un intervalo de pH estable y eficaz. Alternativamente, en algunas modalidades, 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 modalidades, la composición comprende una o varias sustancias que inhiben la acumulación de proteínas, inclusive, entre otras, sacarosa y arginina. En algunas modalidades, 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 dentro del intervalo de aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad dentro del intervalo de aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad dentro del intervalo de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del intervalo de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad dentro del intervalo de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal a 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 modalidades, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo a un sujeto una o más veces. En diversas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo una vez cada 1, 2, 3, 4 o 5 semanas. En algunas modalidades, 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 modalidades, la dosis eficaz de un anticuerpo se puede administrar múltiples veces, incluso durante períodos de al menos un mes, al menos seis meses o al menos un año.

En ciertas modalidades, 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 modalidad, 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 modalidades, 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 modalidades, el método se realiza a pH 6,5, mientras que en otras se realiza a pH 6,0, a pH 5,5 o a pH 5,0. En algunas modalidades, la proteína VISTA-ECD es una proteína hVISTA-ECD, comprende el dominio IgV hVISTA, o es un polipéptido que

comprende los aminoácidos 20-95 de la SEQ ID NO:2, o los aminoácidos 20-70, 35-95 o 35-70 de la SEQ ID NO:2. En algunas modalidades, el polipéptido también comprende los aminoácidos 95-105 de la SEQ ID NO:2. En algunas modalidades, el polipéptido comprende los aminoácidos 35-127 o 37-125 de la SEQ ID NO: 2.

En algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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, 1000 veces o 5000 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, 1000 veces o 5000 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades 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 modalidades, se pueden reemplazar de 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 analizar 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. De así desearse, se pueden repetir las etapas antemencionadas de forma tal que se realicen dos o más pasadas de mutagénesis y selección sobre el Ab y se seleccionan las uniones con más alta afinidad a pH ácido. En algunas modalidades, tales selecciones pueden mejorar la eficacia antitumoral del anticuerpo obtenido con respecto al original.

El método de selección antemencionado también se puede diseñar para seguir la selección general descrita anteriormente para anticuerpos que se unen específicamente a la proteína VISTA-ECD. A saber, en ciertas modalidades, 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

modalidades, la selección se realiza a pH 6,0, a pH 5,5 o a pH 5,0 en vez de a pH 6,5. En algunas modalidades, 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 de hVISTA, o es un polipéptido que comprende los aminoácidos 20-95 de la SEQ ID NO:2, o los aminoácidos 20-70, 35-95 o 35-70 de la SEQ ID NO:2. En algunas modalidades, el polipéptido también comprende los aminoácidos 95-105 de la SEQ ID NO:2. En algunas modalidades, se usa un polipéptido que comprende los residuos de aminoácidos 35 a 127 de la SEQ ID NO: 2.

En algunas modalidades, 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 y/o 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 modalidades, un método comprende aumentar la cantidad de ácido glutámico, ácido aspártico y/o residuos de histidina en áreas del anticuerpo que entra en contacto con hVISTA según se determina, por ejemplo, mediate cristalografía.

En algunas modalidades, el método además comprende evaluar la unión del Ab seleccionado a pH neutro, alcalino o fisiológico, tal como a pH 7,0 o pH 7,4. En algunas modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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, 1000 veces o 5000 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, 1000 veces o 5000 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 modalidades, el método además comprende determinar k_{off} a dos valores de pH. En algunas de tales modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, 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 modalidades, el método además comprende determinar k_{on} a dos valores de pH. En ciertas de tales modalidades, un Ab se selecciona si este 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 modalidades, 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 modalidades 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, en comparación con pH neutro o fisiológico, se pueden identificar mediante la consulta positiva de una genoteca de anticuerpos VISTA, Fab o scFv para detectar la unión a pH ácido, por ejemplo, pH 6,0 o 6,5, y la consulta negativa 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. La consulta puede suponer la selección positiva a pH ácido y selecciones negativas a pH neutro o fisiológico. Las selecciones positivas y negativas pueden alternarse.
De manera alternativa, un anticuerpo que se une a VISTA a pH neutro y ácido y se puede modificar genéticamente para que carezca de unión a pH neutro y mantener o incluso mejorar a pH ácido. Por ejemplo, puede crearse una biblioteca 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). Se puede usar un método similar 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.

Modalidades específicas

Las modalidades adicionales de esta descripción incluyen las siguientes:

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a VISTA humano (hVISTA) en condiciones ácidas.

2. El anticuerpo aislado de la modalidad 1, que se une específicamente a hVISTA en condciones ácidas, pero no significativamente en condiciones neutrales o fisiológicas.

3. El anticuerpo aislado de la modalidad 1 o 2, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas, con una K_D que es al menos 10 veces menor que su K_D en condiciones neutrales o fisiológicas.

4. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1 a 3, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 100 veces menor que su K_D en condiciones neutrales o fisiológicas.

5. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-4, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 1000 veces menor que su K_D en condiciones neutrales o fisiológicas.

6. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-5, donde el anticuerpo se une a hVISTA en

condiciones neutrales o fisiológicas con una K_D que es al menos 10^{-5} M o más.

7. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-6, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una K_D que es al menos 10^{-4} M o más.

8. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-7, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una K_D que es al menos 10^{-3} M o más.

9. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-8, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10^{-7} M o menos.

10. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-9, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10^{-8} M o menos.

11. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-10, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10^{-9} M o menos.

12. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-11, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10^{-7} o menos y se una a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una K_D que es al menos 10^{-4} M o más.

13. El anticuerpo aislado de la modalidad 1-12, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10^{-7} o menor y se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una K_D que es al menos 10^{-5} o más.

14. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-13, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 5 veces menos que su K_{off} en condiciones neutrales o fisiológicas.

15. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-14, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 10 veces menos que su K_{off} en condiciones neutrales o fisiológicas.

16. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-15, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 50 veces menos que su K_{off} en condiciones

neutrales o fisiológicas.

17. El anticuerpo aislado de las modalidades 16, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 100 veces menos que su K_{off} en condiciones neutrales o fisiológicas.

18. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-17, donde el anticuerpo se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 7×10^{-3} s^{-1} o menos.

19. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-18, donde el anticuerpo se une a hVISTA con una k_{off} que es 5×10^{-3} s^{-1} o menos.

20. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-19, donde el anticuerpo se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 3×10^{-3} s^{-1} o menos.

21. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-20, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 10^{-3} s^{-1} o menos.

22. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-21, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 7×10^{-4} s^{-1} o menos.

23. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-22, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 5×10^{-4} s^{-1} o menos.

24. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-23, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 3×10^{-4} s^{-1} o menos.

25. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-24, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 10^{-4} s^{-1} o menos.

26. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-25, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 7×10^{-5} s^{-1} o menos.

27. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-26, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 5×10^{-5} s^{-1} o menos.

28. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-21, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 3 x 10^{-5} s^{-1} o menos.

29. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-28, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es 10^{-5} s^{-1} o menos.

30. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-29, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una k_{off} que es 10^{-3} s^{-1} o más.

31. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-30, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una k_{off} que es 3 x 10^{-3} s^{-1} o más.

32. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-31, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutrales o fisiológicas con una k_{off} que es 5 x 10^{-3} s^{-1} o más.

33. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-32, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-3} s-^{1} o más.

34. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-33, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o más.

35. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-34, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 3 x 10^{-2} s-^{1} o más.

36. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-35, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 5 x 10^{-2} s^{-1} o más.

37. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-36, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-2} s^{-1} o más.

38. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-37, donde la unión del anticuerpo a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas no es detectable, por ejemplo, mediante resonancia plasmónica de superficie (SPR).

39. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-38, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 5 x 10^{-3} s^{-1} o menos y en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-3} s^{-1} o más.

40. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-39, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 10^{-4} s^{-1} o menos y en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 10^{-2} s-^{1} o más.

41. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-40, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con un K_D de 10^{-8} M o menos y una k_{off} de 5 x 10^{-3} s^{-1} o menos y en condiciones fisiológicas neutras con un K_D de 10^{-6} M o más y un k_{off} de 7 x 10^{-3} s^{-1} o más.

42. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-41, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con un K_D de 10^{-8} M o menos y una k_{off} de 3 x 10^{-3} s^{-1} o menos y en condiciones fisiológicas neutras con un K_D de 10^{-6} M o más y un k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o más.

43. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-42, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con un K_D de 10^{-12} a 10^{-8} M y una k_{off} de 10^{-4} a 5 x 10^{-3} s^{-1} y en condiciones fisiológicas neutras con un K_D de 10^{-7} a 10^{-4} M y un k_{off} de 3 x 10^{-3} a 10^{-2} s^{-1} o más.

44. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-43, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con un K_D de 10^{-12} a 10^{-8} M y un k_{off} de 10^{-4} a 5 x 10^{-3} s^{-1} y en condiciones fisiológicas neutras con un K_D de 10^{-7} a 10^{-4} M y un k_{off} de 3 x 10^{-3} a 10^{-2} s^{-1} o más; y en el que el anticuerpo se une a cyno VISTA con un KD de 10^{-7} o menos.

45. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-44, donde el anticuerpo se une a hVISTA con un K_D que es al menos 10 veces menor a pH 6,9 que a pH 7,4 y/o un KD que es al menos 100 veces más bajo a pH 6,5 que a pH 7,4 y al menos 1000 veces más bajo a pH 6,0 que a pH 7,4.

46. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-45, donde el anticuerpo se une específicamente a cynomolgus (cyno) de VISTA.

47. El anticuerpo aislado del cuerpo 46, donde el anticuerpo se une a cyno de VISTA con

mayor afinidad en condiciones ácidas, en relación con las condiciones fisiológicas.

48. El anticuerpo aislado de las modalidades 45-47, donde el anticuerpo se une al cyno de VISTA en condiciones ácidas con un K_D de 10^{-8} o menos y/o un koff de 10^{-2} o menos y en condiciones fisiológicas con un KD de 10^{-6} o más y/o un koff de 10^{-2} o más.

49. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-48, donde las condiciones ácidas son condiciones que tienen un pH de 6,5 o menos.

50. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-49, en los que las condiciones ácidas son condiciones que tienen un pH de 6,0 a 6,5.

51. El anticuerpo aislado de cualquiera de los componentes del cuerpo 1-50, en el que las condiciones neutras son las condiciones que tienen un pH de 7,0.

52. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-51, donde las condiciones fisiológicas son condiciones que tienen un pH de 7,35 a 7,45.

53. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-52, donde las condiciones fisiológicas son condiciones que tienen un pH de 7,4.

54. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-53, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a las células T humanas, como las células T CD4+ humanas (un anticuerpo antagonista).

55. El anticuerpo aislado de la modalidad 54, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a las células T humanas en condiciones que tienen un pH inferior a 7,0.

56. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-55, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA con PSGL-1 humano (huPSGL-1) y/o el Ab compite con huPSGL1 para unirse a hVISTA.

57. El anticuerpo aislado de la modalidad 56, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a huPSGL-1 en condiciones que tengan un pH inferior a 7,0.

58. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-57, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a los proteoglicanos de sulfato de heparán.

59. El anticuerpo aislado de la modalidad 58, donde el anticuerpo inhibe la unión del hVISTA a los proteoglicanos de sulfato de heparán en condiciones que tienen un pH inferior a 7,0.

60. El anticuerpo aislado de las modalidades 55, 57 o 59, donde una condición con un pH inferior a 7,0 es un tumor o cualquier área enferma con un pH inferior a 7,0 en un sujeto y en la que se desea una estimulación inmunológica.

61. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-60, donde el anticuerpo estimula la activación de las células T, como lo demuestra, por ejemplo, el aumento de la proliferación de células T; el aumento de la producción de IFN-γ a partir de células T; y/o la estimulación de la señalización NF-kB mediada por el receptor de células T; como se ha determinado, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

62. El anticuerpo aislado de la modalidad 61, donde el anticuerpo estimula la activación de las células T en condiciones que tengan un pH inferior a 7,0.

63. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-62, donde el anticuerpo reduce la adhesión de células mediadas por VISTA.

64. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-63, donde el anticuerpo tiene un tiempo medio de residencia (TRM) de al menos 100, 200, 300, 400 o 500 días en macacos de Cynomolgus.

65. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-64, donde el anticuerpo no se une significativamente a las células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al que se le administra.

66. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-65, donde el anticuerpo no agota significativamente las células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al que se le administra.

67. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-66, donde el anticuerpo ha sido diseñado para unirse a hVISTA a pH ácido, pero en el que el anticuerpo no se une específicamente a hVISTA a pH neutro o fisiológico.

68. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-67, donde el anticuerpo se une en o cerca de la región rica en histidina de hVISTA, como la extensión de la hoja ß rica en histidina.

69. El anticuerpo aislado de la encarnación 68, donde el anticuerpo se une en o cerca de la región rica en histidina de hVISTA, como la extensión de la hoja ß rica en histidina, en condiciones que tengan un pH de 6,0-6,5.

70. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-68, donde el anticuerpo compite o se cruza para unirse a hVISTA con uno o más de los anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, que comprende los VH y 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, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E30D, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, o 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_E30D302V, 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, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, VISTA, 4 o un derivado del mismo, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, o P1-070976_E97P, (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3); según se determine, por ejemplo, mediante el ensayo competitivo de determinación de epítopos de BLI descrito en el Ejemplo 15.

71. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-70, donde los anticuerpos se unen al epítopo del grupo A, según se determine, por ejemplo, mediante el ensayo competitivo de

desestabilización de epítopos de BLI, descrito en el ejemplo 15.

72. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-70, donde el anticuerpo no se une significativamente al hVISTA en el que uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos han mutado: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hvista maduro.

73. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA y que consiste en SEQ ID NO: 1 o 2, pero que no se une significativamente a hVISTA, donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos han mutado: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, en las que la numeración es la de hvista maduro; vg. gr., determinada por el análisis mutacional de levadura descrito en los Ejemplos.

74. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-73, donde el anticuerpo no se une significativamente al hVISTA en el cual 2, 3, 4, 5 o más de los siguientes residuos de aminoácidos han sido mutados: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hvista maduro.

75. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 72-74, donde el anticuerpo no se une significativamente a hVISTA en el que uno o más de los siguientes residuos han mutado a uno de los residuos correspondientes que se muestran en la Tabla 15: V34, T35, Y37, K38, T39,Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hvista maduro.

76. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-75, en el que el Ab se une a la región de aminoácidos ^{86}RRPIRNLTFQFQD^{L97} de hVISTA (SEQ ID NO: 497), según lo determinado por HDX-MS, como se describe en los Ejemplos.

77. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-76, donde Ab se une a las regiónes de aminoácidos ^{86}RRPIRNLTFQQDL^{97} de hVISTA (SEQ ID NO: 497) y también, pero con menos fuerza, a los aminoácidos ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 498) y ^{148}VVEIRHHHHSEHRVHGGAME^{165} (SEQ ID NO: 499).

78. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) las células T o (b) PSGL-1, y donde el Ab entra en contacto con hVISTA a través de uno o más (por ejemplo, (b) la célula T), al menos 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 o todos) residuos de contacto energéticamente importantes de un anticuerpo descrito en el presente documento, como VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1- 070976_H95D, P1-070976_E97P, P1-061015, P1-061029, P1-068761, o P1-068767, como uno o más aminoácidos seleccionados de uno de los siguientes grupos de residuos de contacto energéticamente importantes: i) V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127; ii) V34, T35, Y37, T39, Y41, S52, R54, F62, L65, H66, H68, L115, V117, I119, R120, H121, H122, S124, E125; o iii) Y37, T39, R54, F62, H66, L115 o V117, según se determine, por ejemplo, utilizando la visualización de la superficie de la levadura y el ensayo NGS descrito en el Ejemplo 15, y donde la numeración es la de hvista maduro.

79. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), en el que el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) las células T o (b) PSGL-1, y en el que el Ab entra en contacto con hVISTA a través de uno o más (por ejemplo, (b) la célula T), 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 determine, por ejemplo, utilizando la visualización de la superficie de la levadura y el ensayo NGS descrito en el ejemplo 15, y donde la numeración es la de hvista maduro.

80. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), en el que el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) las células T o (b) PSGL-1, y en el que el Ab entra en contacto con hVISTA a través de uno o más (por ejemplo, (b) la célula T), por lo menos 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 o todos) residuos de contacto energéticamente importantes de VISTA.4, según se determine, por ejemplo, utilizando la visualización de la superficie de la levadura y el ensayo NGS descrito en el Ejemplo 15.

81. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-80, donde el Ab se une al bucle FG de hVISTA.

82. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-81, donde el Ab se une a la extensión de hoja β rica en histidina de hVISTA, según se determine, por ejemplo, mediante cristalografía, según se describe, por ejemplo, en los Ejemplos.

83. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-82, donde el Ab se pone en contacto con H121, H122 y H123 de hVISTA (distancia de, por ejemplo, 4,0 Ångströms (Å) o menos), por ejemplo, a través de enlaces de hidrógeno, según se determine, por ejemplo, mediante cristalografía, según se describe, por ejemplo, en los Ejemplos.

84. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-83, donde el Ab contacta hVISTA a través de VH CDR1 y VH CDR3, y por ejemplo, no significativamente a través de VH CDR2 y/o a través de un VL CDR.

85. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-84, en donde los residuos de aminoácidos de cadena pesada 110 y 112 del anticuerpo forman enlaces de hidrógeno con H121 y H122 de hVISTA, respectivamente, y opcionalmente, en donde un residuo de aminoácido del anticuerpo forma un enlace de hidrógeno con H123 de hVISTA, en donde la numeración de aminoácidos del anticuerpo es de acuerdo a lo que se usa en los Ejemplos.

86. El anticuerpo de la modalidad 85, donde el anticuerpo comprende una o más interacciones (por ejemplo, 1-5, 5-10, 10-15, 10-20 o 15-20) con hVISTA enumeradas en la Tabla 31 bajo VISTA.4.

87. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-86, donde el Ab entra en contacto con hVISTA a través de al menos uno o más residuos de ácido glutámico, ácido aspártico o histidina que se encuentran en VH CDR1, CDR2 o CDR3.

88. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-87, donde el Ab no se une significativamente a hVISTA a pH neutro o fisiológico (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos).

89. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-88, donde el Ab se une a

hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5, con un K_D (o k_{off}) que sea al menos 10 veces, 100 veces o 1000 veces menor que su K_D y/o un k_{off} de unión a hVISTA bajo un pH neutro o fisiológico (según se mida, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los ejemplos).

90. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-89, donde el Ab no se une significativamente a hVISTA a pH neutro o fisiológico (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos).

91. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente al hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab:

- inhibe la interacción entre hVISTA y (a) células T y/o (b) PSGL-1 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con el número de identificación SEQ NO: 1 y las tirosinas PSGL-1 Y46 e Y48);
- mejora la activación de las células T mediante, por ejemplo, la mejora de la proliferación de las células T; la mejora de la producción de IFN-γ a partir de células T; y/o la estimulación de la señalización NF-kB mediada por el receptor de células T;
- contactos 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 determine, por ejemplo, utilizando la visualización de la superficie de la levadura y el ensayo NGS descrito en el Ejemplo 15; y en donde la numeración es la de hvista maduro;
- se ajusta a la extensión de hoja β rica en histidina de hVISTA, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contactos (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, H121, H122 y/o H123 de hvista maduro (distancia de 4.0 Ångströms (Å) o menos), como a través de enlaces de hidrógeno, como se determina, por ejemplo, por cristalografía, como se describe, por ejemplo, en los Ejemplos;
- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); and Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) de hVISTA teniendo SEQ ID NO: 1, y opcionalmente donde la unión es más fuerte a la Región 2, as determined by MS-HDX as described in Example 18;
- compite para la unión a hVISTA (competencia bidireccional) con uno o más

anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4;

- contacta con hVISTA a través de al menos uno o más residuos de ácido glutámico, ácido aspártico o histidina que se encuentran en VH CDR1, CDR2 o CDR3;
- tiene una baja disposición de drogas mediada por el objetivo, lo que lleva a un tiempo promedio de residencia (MRT) de al menos 100, 200, 300, 400, 500, 600, o 700 horas, según lo medido, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- tiene niveles bajos o indetectables de TMDDD; y/o
- tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

92. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 con un K_D (y/o k_{off}) que es al menos 10 veces, 100 veces o 1000 veces menor que su K_D o que se une a hVISTA bajo un pH neutro o fisiológico (medido, por ejemplo, mediante uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde Ab:

- inhibe la interacción entre hVISTA y (a) células T y/o (b) PSGL-1 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con el número de identificación SEQ NO: 1 y las tirosinas PSGL-1 Y46 e Y48);
- mejora la activación de las células T mediante, por ejemplo, la mejora de la proliferación de las células T; la mejora de la producción de IFN-γ a partir de células T; y/o la estimulación de la señalización NF-kB mediada por el receptor de células T;
- contactos 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 determine, por ejemplo, utilizando la visualización de la superficie de la levadura y el ensayo NGS descrito en el Ejemplo 15; y en donde la numeración es la de hvista maduro;
- se ajusta a la extensión de hoja β rica en histidina de hVISTA, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- contactos (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, H121, H122 y/o H123 de hvista maduro (distancia de 4.0 Ångströms (Å) o menos), como a través de enlaces de hidrógeno, como se determina, por ejemplo, por cristalografía, como se describe, por ejemplo, en los Ejemplos;
- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) de hVISTA teniendo SEQ ID NO: 1, and opcionalmente donde la

unión es más fuerte a la Región 2, como está determinado por MS-HDX y se describe en el Ejemplo 18;

- compite para la unión a hVISTA (por ejemplo, por competencia bidireccional) con uno o más anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, P1-061015, P1-061029, P1- 068761, P1-068767 y VISTA.4;
- contacto con hVISTA a través de al menos uno o más residuos de ácido glutámico, ácido aspártico o histidina que se encuentran en VH CDR1, CDR2 o CDR3;
- tiene una baja disposición de drogas mediada por el objetivo, lo que lleva a un tiempo medio de residencia (MRT) de al menos 100, 200, 300, 400, 500, 600, o 700 horas, según lo medido, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;
- tiene niveles bajos o indetectables de TMDDD; y/o
- tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

93. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-92, donde el anticuerpo tiene un punto isoeléctrico (pI) entre 6,5 y 6,8, medido, por ejemplo, por el ICEI.

94. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-93, donde el anticuerpo presenta una baja agregación, por ejemplo, una agregación similar o inferior a la de VISTA.4 o a la de un derivado de ésta, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según se determina en los Ejemplos.

95. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-94, donde el anticuerpo presenta una viscosidad similar o inferior a la de VISTA.4 o a la de un derivado del mismo, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, o P1-070976_E97P (p. ej., en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), como se determina en los Ejemplos.

96. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-95, donde el anticuerpo presenta un radio hidrodinámico similar o inferior al de VISTA.4 o a uno de sus derivados, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según se determina en los Ejemplos.

97. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-96, donde el anticuerpo presenta una temperatura de fusión (Tm1) similar o superior a la de VISTA.4 o a la de un derivado del mismo, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (por ejemplo,

en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según se determina en los Ejemplos (por ejemplo, Ejemplo 16).

98. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-97, donde el anticuerpo presenta una cantidad de especies de alto peso molecular similar o inferior a la de VISTA.4 o a la de un derivado de la misma, como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según se determina en los Ejemplos (por ejemplo, Ejemplo 16)

99. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-98, que es un anticuerpo IgG.

100. El anticuerpo aislado de la modalidad 99, que es un anticuerpo IgG1, IgG2 o IgG4 (IgG4 opcionalmente con una sustitución S228P (numeración de la UE)).

101. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-100, donde el anticuerpo es un anticuerpo sin efectores, por ejemplo, carece de ADCC y/o CDC, y/o un anticuerpo que no se une significativamente a uno o más FcγRs, por ejemplo, FcγRIII.

102. El anticuerpo aislado de la modalidad 101, donde la región constante comprende de 1 a 5 mutaciones en una región constante de cadena pesada de tipo silvestre que reducen la función efector (por ejemplo, ADCC y/o CDC) del anticuerpo y/o la capacidad de unirse a uno o más FcγRs, por ejemplo, FcγRIII, en relación con la de la región constante de cadena pesada de tipo silvestre correspondiente.

103. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-102, donde la región constante del anticuerpo es IgG1.3, IgG1.1 o es un IgG1 con una sustitución P238K (por ejemplo, IgG1.P238K).

104. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-103, donde el anticuerpo tiene función de efector y/o se une a uno o más FcγRs, por ejemplo, FcγRIII.

105. El anticuerpo aislado de la modalidad 104, donde el anticuerpo es afucosilado (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 afucosilado).

106. El anticuerpo aislado de la modalidad 105, donde la región constante comprende 1-5

mutaciones que mejoran la función efectora del anticuerpo y/o la capacidad de unirse a uno o más FcγRs, por ejemplo, FcγRIII, en relación con la región constante de tipo salvaje correspondiente.

107. Un anticuerpo aislado, o un anticuerpo aislado de las modalidades 1-106, donde el anticuerpo es 41F11 o VISTA.4 o una variante del mismo.

108. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-107, donde la variante comprende las secuencias de aminoácidos VH CDR1, CDR2, CDR3 y VL CDR1, CDR2 y CDR3 que, combinadas, son al menos un 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de las mismas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como las sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

109. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-108, donde la variante comprende secuencias de aminoácidos VH y VL que son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de ellas en 1-50, 1-40, 1-30 o 1-20, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

110. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-109, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de un anticuerpo anti-VISTA revelado en el Muestra 17 o en la Tabla de Secuencias.

111. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-110, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 VL de un anticuerpo anti-VISTA revelado en la Muestra 1 o en la Tabla de Secuencias.

112. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 83-111, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos VH CDR1, CDR2 y CDR3 y VL CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo anti-VISTA revelado en la Muestra 17 o en la Tabla de Secuencias.

113. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-112, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos VH de un anticuerpo anti-VISTA revelada en el ejemplo 17 o en la tabla de secuencias.

114. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-113, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos VL de un anticuerpo anti-VISTA revelada en el ejemplo 17 o en la tabla de secuencias.

115. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-114, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos VH y VL de un anticuerpo anti-VISTA reveladas en el ejemplo 17 o en la tabla de secuencias.

116. Un anticuerpo aislado que se une específicamente al VISTA humano y comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 41F11 o VISTA.4 o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos un 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de ellas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

117. Un anticuerpo aislado que se une específicamente al VISTA humano y comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 41F11 o VISTA.4 o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos un 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de ellas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

118. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-117, que comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 41F11 o VISTA.4 o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de ellas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

119. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-118, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos VH de 41F11 o VISTA.4 o una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% idéntica o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de los mismos.

120. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-119, donde el anticuerpo comprende la

secuencia de aminoácidos VL de 41F11 o VISTA.4 o una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% idéntica o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de los mismos.

121. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-120, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos VH y VL de 41F11 o VISTA.4 o una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntica o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones.

122. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-121, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos HC de un anticuerpo anti-VISTA revelado en el ejemplo 17 o la Tabla de Secuencias o una secuencia de aminoácidos que sea al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% idéntica a la misma, o que comprenda 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de los mismos.

123. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-122, en el que el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos LC de un anticuerpo anti-VISTA revelado en el Ejemplo 17 o la Tabla de Secuencias o una secuencia de aminoácidos que sea al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% idéntica a la misma o que comprenda 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de los mismos.

124. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-123, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos HC y LC de un anticuerpo anti-VISTA revelado en el Ejemplo 17 o la Tabla de Secuencias o una secuencia de aminoácidos que sea al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% idéntica a la misma o que comprenda 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1- 5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de los mismos.

125. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-124, donde el anticuerpo comprende los CDR de VH de VISTA.4 (SEQ ID Nos: 503-505), P1-070976 (SEQ ID Nos: 509-511), P1-065333 (SEQ ID Nos: 506-508), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 512-514) o P1-070976_E976_P (SEQ ID Nos: 515-517).

126. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-125, donde el anticuerpo comprende los CDR de VL de VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 500-502).

127. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-126, donde el anticuerpo comprende los CDR de VH y VL de VISTA.4 (SEQ ID Nos: 503-505 y 500-502, respectivamente), P1-070976 (SEQ ID Nos: 509-511 y 500-502, respectivamente), P1-065333 (SEQ ID Nos: 506-508 y 500-502, respectivamente), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 512-514 y 500-502, respectivamente), o P1-070976_E976_P (SEQ ID Nos: 515-517 y 500-502, respectivamente).

128. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-127, donde el anticuerpo comprende la VH de VISTA.4 (SEQ ID NO: 492), P1-070976 (SEQ ID NO: 474), P1-065333 (SEQ ID NO: 473), P1-070976_H95D (SEQ ID NO: 477) o P1-070976_E97P (SEQ ID NO: 478).

129. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-128, donde el anticuerpo comprende la VL de VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (con o sin A64G) (correspondiente a los números de identificación del SEQ: 493 (sin A64G) o a los números de identificación del SEQ: 479 (con A64G)).

130. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-129, donde el anticuerpo comprende la VH y la VL (con o sin A64G en la VL) de VISTA.4 (SEQ ID Nos: 492 y 479 o SEQ ID Nos: 492 y 493), P1-070976 (SEQ ID Nos: 474 y 479 o SEQ ID Nos: 474 y 493), P1-065333 (SEQ ID Nos: 475 y 479 o SEQ ID Nos: 475 y 493), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 477 y 479 o SEQ ID Nos: 477 y 493) o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 478 y 479 o SEQ ID Nos: 478 y 493).

131. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-130, donde el anticuerpo comprende el HC de VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NO: 491), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NO: 476), P1-06533.IgG1.3 (SEQ ID NO: 475), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO: 480) o P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO: 481).

132. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-131, donde el anticuerpo comprende el CL de VISTA. 4.IgG1.3, P1-070976.IgG1.3, P1-06533.IgG1.3, P1-070976_H95D.IgG1.3 o P1-070976_E97P.IgG1.3 (con o sin A64G en VL) (SEQ ID NO: 494 (sin A64G) o SEQ ID NO: 482 (con A64G).

133. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-132, donde el anticuerpo comprende el HC y el LC (con o sin A64G en VL) de VISTA.4IgG1.3 (SEQ ID NOs: 491 y 494 o SEQ ID Nos: 491 y 482), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 476 y 494 o SEQ ID Nos: 476 y 482), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 475 y 494 o SEQ ID Nos: 475 y 482), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 480 y 494 o SEQ ID Nos: 480 y 482), o P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 481 y 494 o SEQ ID Nos: 481 y 482).

134. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-133, que es un anticuerpo de longitud completa o un anticuerpo que comprende una cadena pesada de longitud completa (con o sin lisina C-terminal) y una cadena ligera de longitud completa.

135. El anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-130, que es un fragmento de unión al antígeno.

136. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-135, que es un anticuerpo multimérico (por ejemplo, dimérico o trimérico).

137. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-136, que está ligado (por ejemplo, covalentemente) a otra molécula.

138. El anticuerpo aislado del cuerpo 137, donde la otra molécula es una etiqueta.

139. El anticuerpo aislado de la encarnación 137 o 138, donde la otra molécula es un péptido.

140. El anticuerpo aislado de las modalidades 1-139, que es un medicamento anticuerpo conjugado (ADC) o un anticuerpo activable.

141. Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de cualquiera de las modalidades 1-140.

142. Ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada y/o la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las modalidades 1-140.

143. Una composición que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de

un anticuerpo de cualquiera de las modalidades 1-140 y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera del anticuerpo.

144. Una célula que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las modalidades 141-142 o la composición de la modalidad 143.

145. Un método de preparación de un anticuerpo, que comprende el cultivo de la célula de encarnación 144 en las condiciones en las que se expresa el anticuerpo.

146. Una composición que comprenda un anticuerpo aislado, ácido nucleico, composición o célula de cualquiera de las modalidades 1-145 y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

147. La composición de la modalidad 146, que comprende un segundo agente terapéutico.

148. La composición de la modalidad 147, donde el segundo agente terapéutico comprende un agente immunostimulante.

149. La composición de la modalidad 148, donde el agente inmunoestimulante comprende un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, el PD-1/PD-L1, un CTLA-4 y un LAG-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

150. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o anticuerpo aislado de cualquiera de las modalidades 1-149 que estimula una respuesta inmune y/o es un anticuerpo antagonista de VISTA.

151. El método de la modalidad 150, donde el sujeto tiene células positivas para VISTA, por ejemplo, en un tumor del cáncer.

152. El método de la modalidad 151, donde las células positivas para VISTA comprenden células linfocíticas infiltrantes positivas a VISTA (por ejemplo, células T) o células mielomonocíticas.

153. El método de cualquiera de las modalidades 150-152, donde el sujeto se prueba

primero para determinar la presencia de células positivas para VISTA en un tumor, y en el que el sujeto se trata si el sujeto tiene células positivas para VISTA, por ejemplo, en un tumor.

154. El método de cualquiera de las modalidades 150-153, donde el método comprende además administrar una segunda terapia.

155. El método de la modalidad 154, donde la segunda terapia comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o administración de un segundo agente.

156. El método de la modalidad 155, donde la segunda terapia comprende un segundo agente y el segundo agente es un agente inmunoestimulador.

157. El método de la modalidad 156, donde el agente inmunoestimulador comprende un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, el PD-1 / PD-L1, una CTLA-4 y LAG-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

158. Un método para tratar una enfermedad infecciosa (por ejemplo, una enfermedad viral) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o anticuerpo aislado de una cualquiera de las modalidades 1-157 que estimula una respuesta inmune y/o es un antagonista de VISTA.

159. Un método para detectar VISTA en una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo de VISTA de cualquiera de las modalidades 1-140.

160. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA e inhibe la activación de las células T mediadas por VISTA, en donde el anticuerpo comprende las secuencias VH CDR1, CDR2 y CDR3 de un VH que comprende o que consta de la SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478, o, 492 (por ejemplo, SEQ ID Nos: 503-505, 506-508, 509-511, 512-514, o 515-517).

161. El anticuerpo aislado de la modalidad 160, donde el anticuerpo comprende secuencias VL CDR1, CDR2 y CDR3 de una VL que comprende o que consta de la SEQ ID NO: 464, 471, 493 o 479 (por ejemplo, las SEQ ID Nos: 500-502).

162. El anticuerpo aislado de la modalidad 160 o 161, donde el anticuerpo comprende un VH que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 o 492, con o sin un péptidoseñal.

163. El anticuerpo aislado de una cualquiera de las modalidades 160-162, en el que el anticuerpo comprende una VL que comprende o que consta de la SEQ ID Nº: 464, 471, 479 o 493, con o sin un péptido señal.

164. El anticuerpo aislado de una cualquiera de las modalidades 160-163, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende o que consiste en una IgG1 de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 182), una IgG2 de tipo salvaje, una IgG3 de tipo salvaje, una IgG4 de tipo salvaje, IgG4 de tipo salvaje que comprende S228P, IgG1.1 (SEQ ID NO: 183), IgG1.3 (SEQ ID NO: 163), IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184), con o sin una lisina C-terminal.

165. El anticuerpo aislado de una cualquiera de las modalidades 160-164, que comprende una cadena pesada que comprende o que consta de la SEQ ID Nº: 475, 476, 491, 480 o 481, con o sin péptido señal.

166. El anticuerpo aislado de una cualquiera de las modalidades 160-165, que comprende una cadena ligera que comprende o que consta de la SEQ ID NO: 472, 494 o 482, con o sin un péptido señal.

167. El anticuerpo aislado de la modalidad 166, que comprende cadenas pesadas y ligeras, que comprende o consiste en:
(a) SEQ ID NO: 475 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(b) SEQ ID NO: 475 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(c) SEQ ID NO: 476 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(d) SEQ ID NO: 476 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(e) SEQ ID NO: 491 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(f) SEQ ID NO: 491 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(g) SEQ ID NO: 480) y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(h) SEQ ID NO: 480) y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(i) SEQ ID NO: 481) y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente; o
(j) SEQ ID NO: 481) y SEQ ID NO: 494, respectivamente.

168. Un método para para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de células T) y un antagonista de la ruta PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da como resultado el aumento del número de células T CD4+ y CD8+, por ejemplo, en un tumor del sujeto.

169. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de células T) y un antagonista de la ruta PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da como resultado la reducción del número de células T agotadas y/o células T que expresan PD-1, LAG3 y y/o TIM-3, por ejemplo, en un tumor del sujeto.

170. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de células T) y un antagonista de la ruta PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da como resultado el aumento del número de células T CD4+ y CD8+, por ejemplo, en un tumor del sujeto y una reducción del número de células T y/o células T agotadas que expresan PD-1, LAG3 y/o TIM-3, por ejemplo, en un tumor del sujeto y/u otras características descritas en el presente documento.

171. El método de cualquiera de las modalidades 168-170, en el que el anticuerpo que se une específicamente a hVISTA es un anticuerpo descrito en el presente documento.

Las modalidades ejemplares adicionales específicas incluyen lo siguiente:

1. Un Ab aislado que se une específicamente a hVISTA, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprenden las SEQ ID Nos: 503, 504 y 505, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprenden las SEQ ID Nos: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende SEQ ID NO: 463 o 492 y la cadena ligera comprende VL que comprende SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 491 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494.
2. Un Ab aislado que se une específicamente a hVISTA, en donde el anticuerpo

comprende una cadena pesada y una ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende VH CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID Nos: 503, 504 y 505, respectivamente, y la cadena ligera comprende VL CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID Nos: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende SEQ ID NO: 463 o 492 y la cadena ligera comprende VL que comprende SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 491 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494 o una variante o derivado de la misma, en donde el Ab comprende una o más (o todas) de las siguientes caracteristicas:

a. se une al dominio extracellar de hVISTA a PH 6,0 (por ejemplo, con K_D de 10^{-7} M o menos), y opcionalmente no se une significativamente al dominio extracelular de hVISTA a PH 7,4;
b. inhibe la unión de hVISTA a célula T o PSGL-1, por ejemplo, a pH ácido;
c. se une a uno o más de los siguientes residuos de contacto energéticamente importantes Y37, T39, R54, F62, H66, L115, V117, I119, S124 y E125, según lo determinado por la visualización de la superficie de la levadura y NGS;
d. compite por unirse a hVISTA con un anticuerpo (i) que comprende una cadena pesada que comprende VH que comprende SEQ ID NO: 463 o 492 y una cadena ligera que comprende VL que comprende SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y/o (ii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 491 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494;
e. se une a las regiones de aminoácidos ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} de hVISTA (SEQ ID NO: 497) y también, pero con menos fuerza, a los aminoácidos ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 498) y ^{148}VVEIRHHHSEHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO: 499);
f. inhibe la unión de hVISTA a las células T, por ejemplo, a pH ácido;
g. mejora la proliferación de células T y la producción de IFN-gamma a partir de células T, por ejemplo, a pH ácido;
h. libera la supresión de la señalización NF-kB mediada por el receptor de células T por hVISTA, por ejemplo, a pH ácido;
i. tiene niveles bajos o indetectables de TMDD; y/o
j. Tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

3. Un Ab aislado que se une específicamente a hVISTA, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende VH CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID Nos: 506, 507 y

508, respectivamente, y la cadena ligera comprende VL CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID Nos: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende la SEQ ID NO: 473 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 475 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494.

4. Un Ab aislado que se une específicamente a hVISTA, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una ligera, en donde:

a. (i) la cadena pesada comprende VH CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID Nos: 509, 510 y 511, respectivamente, y la cadena ligera comprende VL CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las SEQ ID NO: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende la SEQ ID NO: 474 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 476 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494;
b. (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprenden las SEQ ID Nos: 512, 513 y 513, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprenden las SEQ ID NO: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende SEQ ID NO: 477 y la cadena ligera comprende VL que comprende SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y / o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 480 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494; o
c. (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprenden las SEQ ID Nos: 515, 516 y 517, respectivamente, y la cadena ligera comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprenden las SEQ ID NO: 500, 501 y 502, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende VH que comprende la SEQ ID NO: 478 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y / o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 481 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494;

en el que el anticuerpo:

(1) se une al dominio extracelular de hVISTA a pH 6.0 (por ejemplo, con una K_D de

10^{-7}M o menos), pero no significativamente a pH 7,4;

(2) inhibe la unión de hVISTA a una célula T o a PSGL-1, por ejemplo, a pH ácido;

(3) se une a uno o más de los siguientes residuos de contacto energéticamente importantes Y37, T39, R54, F62, H66, L115, V117, I119, S124 y E125, según lo determinado por la visualización de la superficie de la levadura y NGS;

(4) compite por unirse a hVISTA con un anticuerpo (i) que comprende una cadena pesada que comprende VH que comprende la SEQ ID NO: 463 o 492 y una cadena ligera que comprende la VL que comprende la SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 482; y / o (ii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 491 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 472, 482 o 494;

(5) se une a las regiones de aminoácidos ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} de hVISTA (SEQ ID NO: 497) y también, pero con menos fuerza, a los aminoácidos ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 498) y ^{148}VVEIRHHHHHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO: 498).

(6) inhibe la unión de hVISTA a células T, por ejemplo, a pH ácido;

(7) aumenta la proliferación de células T y la producción de IFN-gamma a partir de células T, por ejemplo, a pH ácido;

(8) libera la supresión de la señalización de NF-kB mediada por el receptor de células T por hVISTA, por ejemplo, a pH ácido;

(9) tiene niveles bajos o indetectables de TMDD; y/o

(10) tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

Se describen otras modalidades específicas en la sección de reivindicaciones de la presente descripción.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se exponen a continuación se consideran puramente ilustrativos de la invención y no se deberá considerar que limitan la invención en modo alguno. No se pretende que los ejemplos representen que los experimentos que figuran más adelante son la totalidad o los únicos experimentos realizados. Se ha intentado 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 tiene un contenido excepcionalmente alto de histidinas

Este ejemplo muestra que el dominio extracelular de VISTA tiene un contenido excepcionalmente alto de residuos de histidina, que estos residuos de histidina 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 analizaron para determinar el contenido de histidina. La Fig. 1A ilustra los resultados de estos análisis como una gráfica. 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 extracelular 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. 1B 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 papel 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 papel 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-ligando de VISTA y la actividad inmunosupresora en tumores y otros microentornos ácidos

Este Ejemplo describe la protonación de histidina como 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 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 insignificante 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 impulsar de forma parcial o total la protonación de la histidina en VISTA ECD y así permitir la unión de VISTA con PSGL-1 u otros contrarreceptores y ligandos. Por consiguiente, los anticuerpos que se unen fuertemente a las proteínas VISTA-ECD a intervalos 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 macrófagos, células dendríticas y granulocitos.

Se lavaron en PBS helado muestras de carcinoma de pulmón no microcítico, carcinoma renal de células claras, melanoma, carcinoma colorrectal y otras muestras extirpadas quirúrgicamente, 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 al 2% inactivado por calor 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 se separaran visualmente. 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 se resuspendieron en PBS a temperatura ambiente complementado con albúmina de suero bovino al 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 bloqueó la tinción de anticuerpos no específicos agregando suero de rata normal al 4%, suero de ratón normal al 4%, suero humano de plasma AB al 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 amortiguador 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 con el programa FlowJo™ (BD Biosciences). Como se muestra en la Fig. 3, la expresión de VISTA en la superficie de las células tuvo un contenido elevado de macrófagos y granulocitos, moderado de células dendríticas y bajo de linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales y linfocitos B.

Ejemplo 4: La unión celular de VISTA presenta selectividad para pH ácido

Este Ejemplo muestra que VISTA ECD humano multimerizado se une más eficientemente a linfocitos T CD4+ humanos estimulados 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 linfocitos T CD4+ humanos 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 al 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). Los linfocitos T CD4+ activados se tiñeron con moléculas hVISTA ECD monobiotiniladas (Phe 33 - Ala 194 (Nro. de acceso AAH20568)-polihistidina; AcroBiosystems, Inc. B75- H82F3) cargadas con una relación molar 28:1 en dextrámeros de estreptavidina conjugados con ficoeritrina (PE) (número de catálogo DX01-PE), se diluyeron en solución salina amortiguada de Hank (HBSS, Fisher Scientific, número de catálogo 14025134) y se acidificaron a diversos pH con mM MES (Sigma, 1317-100ML) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Como control, se tiñeron linfocitos T CD4+ activados 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 con el programa FlowJo™ (BD Biosciences). Los resultados, ilustrados en la Fig. 4A, muestran que hVISTA no se unió a los linfocitos T CD4+ mejor que el control a pH > 6,5. Por el contrario, hVISTA exhibió progresivamente unión más fuerte a linfocitos 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 marcados con su correspondiente pH. El multímero de control que no es 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 linfocitos T CD4+ teñidas con dextrámeros cargados con hVISTA (círculos azules) 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 amortiguadores 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 linfocitos B CD19+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos 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. Los resultados muestran que hVISTA se puede unir a muchos leucocitos a pH ácido pero no a

pH fisiológico de manera significativa.

Se tiñeron linfocitos T CD4+ humanos activados con multímeros hVISTA a pH 6 en presencia de anticuerpo VISTA anti-humano titulado o un anticuerpo específico que no es 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 que no es VISTA (círculos), bloqueó la unión de hVISTA a linfocitos T CD4+ activados en una forma dependiente de la concentración. La MFI PE de linfocitos T CD4+ que no se tiñeron con multímeros cargados con hVISTA se incluye como control (triángulo solo).

La Fig. 4D muestra gráficos representativos de citometrías 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 parte de 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 de 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 linfocitos T CD8+, células mieloides CD11b+ y linfocitos 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 de VISTA se une a los monocitos y los neutrófilos, respectivamente, y lo hace más fuertemente a pH 6,0 que a pH 7,4.

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 linfocitos 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 relación 1:1 con células CHO en amortiguadores 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 rojas) inhibe la adhesión célula/célula mediada por VISTA.

Se estableció un ensayo de supresión de linfocitos T compatible con un pH ácido. Células Jurkat (una línea celular de linfocitos T humanos inmortalizados, número de catálogo ATCC TIB-152) que expresan un reportero de luciferasa impulsado por un promotor NFkB se cocultivaron en amortiguadores 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 linfocitos T anti-humano OKT3 en una relación 10 : 1 Jurkat : células 293T. Se agregó a los cocultivos un anticuerpo de bloqueo anti-VISTA (VISTA mAb 3) o un anticuerpo de control específico que no es VISTA coincidente con el isotipo a razón de 10 μg/mL. Después de la incubación, se cuantificó la activación de linfocitos 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 rojos) o anticuerpo de control (círculos azules) a diferentes pH. La Fig. 5D muestra un gráfico de la señal de luciferasa en cocultivos tratados con anticuerpo anti-VISTA divididos por la señal de luciferasa en cocultivos tratados con anticuerpo de control a cada pH ensayado. Los resultados muestran que la supresión de linfocitos 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 afecta 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 al 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 que no es 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 marcaron directamente con Alexa488. Los anticuerpos Rab se detectaron con 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 con un microscopio confocal de disco giratorio. La **Fig. 6A** muestra la colocalización 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 colocalización de VISTA y Rab11 dentro de monocitos humanos. VISTA intracelular está colocalizado 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 se dejaron fluir en amortiguador de corrida PBST 100nM de hVISTA-ECD (aminoácidos 32-193 de la 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) 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) presentó 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 una 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: se cultivaron células AML3 (una línea celular monocítica humana

inmortalizada, ATCC CRL-9589), que endógenamente expresan VISTA humano, con anticuerpos anti-VISTA titulados o un anticuerpo de control específico que no es 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 escisión 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 escisión 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 la 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 se viera 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, con las condiciones de ensayo descritas para la Fig. 6C. El anticuerpo VISTA 3 nuevamente presentó un deterioro de la unión a VISTA a pH ácido, mientras que la variante del anticuerpo VISTA 3c presntó una 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 descrito para la Fig. 6D. La variante del anticuerpo VISTA 3 para pH independiente 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 el objetivo. 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 reciclaje y quedar atrapados o degradados dentro de las células, lo que da como resultado una pobre unión con el objetivo 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 al objetivo, 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 inmunorreceptor 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 insignificante 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 el objetivo (TMDD, por sus siglas en inglés) en la sangre. Este efecto se 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 de ligando de VISTA con alto contenido de histidina. Ambos efectos reducirán la cantidad de anticuerpos anti-VISTA en circulación, lo que reduce 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, lo que posiblemente puede tener como resultado efectos no deseables 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 insignificante 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 que VISTA en sí mismo es un inmunorreceptor selectivo para 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, se generaron como se describe a continuación los anticuerpos que se unen a huVISTA a pH ácido, pero no de forma significativa a pH fisiológico:

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.

Se construyó una genoteca de fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno anti-VISTA y se consultó de la siguiente forma. Se crearon genotecas de anticuerpos con 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 ARNm (Xu L et ál. (2002) *Chemistry & Biology* 9: 933; Roberts RW y JW Szostak (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297; Kurz et ál. (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 reformatearon como IgG 1.3 (una región constante de IgG1 no efectora que consiste en un Fc de IgG1 que tiene las mutaciones de aminoácidos L234A, L235E y G237A), y se consultaron para determinar la unión a VISTA mediante SPR.

Se realizó el análisis de resonancia por plasmones superficiales (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 con un instrumento Biacore® T200 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM, 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 6000 RU (unidades de respuesta, por sus siglas en inglés) de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 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 de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en

amortiguadores 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 relación de k_{off} con respecto a pH 6 / k_{off} a pH 7,4 para identificar anticuerpos que presentaran velocidades de disociación lentas a pH ácido y velocidades de disociación 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 regiónes variables de estos dos anticuerpos huVISTA se denominan P1-061015 y P1-061029 y los anticuerpos que comprenden estas regiónes variables y están 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 descripción.

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	CDR1 DE VH	CDR2 DE VH	CDR3 DE VH
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	CDR1 DE VL	CDR2 DE VL	CDR3 DE VL
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 regiónes variables de P1-061015 y P1-061029 identificadas en el Ejemplo 2 para obtener regiónes variables anti-huVISTA que tengan una relación de 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 CDR de VH 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 consultaron en varias rondas de unión a hVISTA de cadena completa a pH 6,0 mediante expresión superficial de levadura. 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 con 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 CDR1, CDR2 y CDR3 de VH (separadas por un guion 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 por plasmones superficiales (SPR). El análisis de SPR se realizó para medir la k_{off} y k_D de las mediciones de afinidad para Ab VISTA a pH ácido y neutro con un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM a 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos de SPR se realizaron a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween® 20 al 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST con 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 de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en amortiguadores de corrida con 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 v.2.0 Biacore® T200. La constante de afinidad, K_D se calculó como la relación entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA.

La máxima respuesta (o magnitud) de unión a VISTA humano 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 (círculos sin rellenar que representan la unión a pH 7,4 están ubicados en la parte inferior del gráfico excepto para el clon ‘029 original).

Las velocidades de k_{off} a pH 6,0 de ‘029 y su progenie se determinaron mediante SPR con el método descrito anteriormente, y se representan en la Fig. 7E. La línea punteada de la figura representa la velocidad de k_{off} de ‘029, y los clones a la derecha de la línea punteada tienen una velocidad de 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 de 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 de SPR con concentraciones µM de VISTA a pH fisiológico.

Para este ensayo, ‘029, ‘761 y ‘767 se reformatearon como isotipo hIgG1f y se expresaron 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 con un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 µg/ml en acetato de sodio 10mM a 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. Los experimentos SPR se realizaron a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 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 preparó 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 amortiguadores 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 glicina 10 mM a 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 relación entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las relaciones 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 con hVISTA 50 nM (Figs. 7D y 7F), el aumento del intervalo 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 muestran 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 2000 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**			**relación kd (7,4/6)**	**relación 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	2558,1
	hIgG1f	1,2E+03	4,2E-02	3,5E-05	3,6E+05	1,5E-03	4,2E-09	28,0	8333,3
	hIgG1f afucosilado	5,1E+03	4,2E-02	8,2E-06	3,7E+05	1,5E-03	4,1E-09	28,0	2000,0
P1-068767	hIgG1.3f	1,9E+03	3,6E-02	1,9E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,8E-09	13,8	2435,9
	hIgG1f	1,5E+03	3,2E-02	2,2E-05	3,2E+05	2,6E-03	8,0E-09	12,3	2750,0
	hIgG1f afucosilado	1,3E+03	3,3E-02	2,4E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,9E-09	12,7	3038,0
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 con un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM a 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 de 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 preparó una serie de concentraciones de 100 - 0,78 nM de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en amortiguadores 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 v.2.0 Biacore® T200. La constante de afinidad, K_D, se calculó como la relación entre las constantes de velocidad k_{off}/k_{on} para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las relaciones 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 amortiguador cambia a fisiológico, y se muestran en la Tabla 7. El ‘029 original exhibió k_{off} consistente a cada pH evaluado, 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 amortiguador 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)	relación koff a pH 6,0	relación 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
P1-068767	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 de 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 1000 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 CDR de VH de ‘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 con un método idéntico al descrito para el análisis de ‘029 referido anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH (separadas por un guion 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-------_-----D-----E 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)	CDR 1 de VH (pos 26-35)	CDR 2 de VH (pos 50-66)	CDR3 DE VH (pos 99-110)	SEQ ID NO
P1-069077	6,0E+04	1,9E-03	3,1E-08	6,3E+05	1,2E-04	1,9E-10	....E.E...	......DE.....	.....	47
P1-069065	5,9E+04	2,3E-03	3,9E-08	5,7E+05	2,2E-04	3,8E-10	....E.E...	......DD.....	.....	23
P1-069075	1,3E+05	2,3E-03	1,8E-08	1,3E+06	2,9E-04	2,2E-10	....E.....	....D..E.....	.....H.....E..	43
P1-069071	4,3E+04	4,0E-03	9,3E-08	7,0E+05	5,1E-04	7,3E-10	....E.E...	.......D.....	.....E.....	35
P1-069061	kd débil, rápido			4,3E+05	1,1E-03	2,5E-09	....E.....	.......E.....	.....E.D	15
P1-069069	9,0E+04	7,5E-03	8,4E-08	1,4E+06	1,2E-03	8,6E-10	.....	......EE.....	.....D..	31
P1-068761	kd débil, rápido			3,8E+05	1,4E-03	3,8E-09	....E.E...	......EE.....	.....H.....E..	51
P1-069059	kd débil, rápido			3,4E+05	1,6E-03	4,8E-09	....E.....	......DH.....	.....E.D	11
P1-068767	kd débil, rápido			3,4E+05	2,6E-03	7,6E-09	....E.....	..D...E.....	.....E.D	55
P1-068773	kd débil, rápido			3,0E+05	2,9E-03	9,4E-09	....E.....	..D...D.....	.....E.D	59

P1-069063	1,2E+05	2,7E-02	2,3E-07	1,9E+06	4,4E-03	2,4E-09	....E.....	.....E.....	.....D.E	19
P1-069067	1,0E+05	2,7E-02	2,9E-07	1,7E+06	4,5E-03	2,7E-09	.....	.....EE.....	.....D.E	27
P1-069073	kd débil, rápido			6,1E+05	5,8E-03	9,4E-09	....E.E...	.....E.....	.....E..	39
P1-061029	2,9E+05	5,6E-03	1,9E-08	1,6E+06	5,8E-03	3,6E-09	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV	67
P1-068765	Sin unión			3,7E+05	7,0E-03	1,9E-08	...DE.....	.....EE.....	.....E.D	63
P1-068757	Sin unión			8,9E+05	1,7E-02	1,9E-08	....E.E...	.....EE.....	.....E.D	71
P1-068771	Sin unión			7,6E+05	1,8E-02	2,5E-08	....E.E...	.....HE.....	.....E.D	75
P1-068769	Sin unión			8,1E+05	4,0E-02	5,5E-08	....E.E...	.....DH.....	.....E.D	83
P1-068775	Sin unión			1,8E+06	4,7E-02	2,3E-08	....E.E...	..D...EE.....	.....H.....E.D	79
P1-068759	Sin unión			1,3E+06	8,0E-02	6,0E-08	....E.E...	..D...E.....	.....E.D	87

Tabla 10: Síntesis de la cinética de huVISTA y las secuencias CDR de VH 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 50-66) (pos 99-110)	SEQ ID NO
P1-061015	2,3E+05	2,0E-03	8,8E-09	1,8E+06	9,5E-04	5,4E-10	GFTFSSYAMH_IIWYDGSNKYYADSVKG_DSGFYSSYYFDY	95
P1-068748	Sin unión			1,4E+06	1,5E-03	1,0E-09	.....HH..._.....DD....._.....D.....	99
P1-068744				1,3E+06	1,8E-03	1,3E-09	.....E...._H.....E....._.....E.....E	103
P1-068736				8,4E+06	9,5E-03	1,1E-09	.....E...._.D.....D....._.....D.....D	107

P1-068752		**6,1E+06**	**3,4E-02**	**5,6E-09**	**....._E.....D....._.....D.....E**	**111**
P1-068740		**Demasiado rápido**	**4,7E-02**	**ND**	**.....D...._.....D.D....._.....D.....D**	**115**
P1-068742		**Demasiado rápido**	**>1E-02**	**ND**	**.....D...._.....D.D....._.....ED.....**	**119**
P1-068746		**Demasiado rápido**	**>1E-02**	**ND**	**....._.....HH....._.....D.....**	**123**
P1-068750		**Débil**			**.....D.D.._E..D....._.EE.....**	**127**

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 una función efectora y unión celular dependiente de pH ácido y mantuvo la actividad bloqueante de VISTA

Se midió la unión dependiente de pH de los clones ‘761 y ‘767 a células Raji modificadas genéticamente para expresar ectópicamente 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 descrito 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 amortiguador 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 una 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 linfocitos T CD4+humanos activados 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.

Se midió la lisis específica de linfocitos NK de células objetivo (las mismas células Raji que expresan VISTA humano descritas en las Figs. 8A-B) mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) a pH fisiológico para los anticuerpos P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, un anticuerpo específico que no es VISTA y un anticuerpo de control negativo específico que no es VISTA, todos expresados como anticuerpos IgG1 afucosilados. Los linfocitos 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 de IL-2 humana recombinante (Peprotech, número de catálogo 200-02). El día del ensayo, las células Raji que expresan ectópicamente VISTA humano (descritas en la Fig. 8A-B) se etiquetaron con Calcein AM (Life Technologies, número de catálogo C3100MP) y se cocultivaron con los linfocitos NK cultivados en una relación 10:1 de NK : célula objetivo y con anticuerpos P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, un anticuerpo específico que no es VISTA y un anticuerpo de control negativo específico que no es 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 cocultivo con anticuerpos y la señal de lisis máxima se determinaron mediante lisis de células objetivo con amortiguador de lisis Delfia®

(PerkinElmer, número de catálogo 4005-0010). La lisis específica de anticuerpos se calculó como el porcentaje de lisis observada dividido entre (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 de 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 de cyno de estos anticuerpos.

La cinética de unión de 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 de VISTA de cyno para anticuerpos selectivos para pH y anti-VISTA de control a pH ácido y neutro. Las mediciones de afinidad de unión para Ab VISTA se realizaron con un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM a 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. Los anticuerpos (formateados como anticuerpos IgG1.3) se diluyeron a 25 nM en PBST con 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 1600 - 0,78 nM (pH 7,4) y 100 - 0,78 nM (pH 6,0) de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) y VISTA-ECD de cyno (AFKVATLYSL YVCPEGQNVT LTCRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENI TAHHHHHHH; (SEQ ID NO: 326) en amortiguador 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 relación entre las constantes de velocidad koff/kon para cada anticuerpo VISTA. Se calcularon las relaciones 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 cyno comparables (dentro de 2 veces) a ambos pH ensayados, confirmando la reactividad cruzada con VISTA de cyno. 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 VISTA de cyno

Anticuerpo	VISTA	pH 7,4			pH 6,0			relación kd (7,4/6)	relación 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
	cyno	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
	cyno	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
	cyno	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
	cyno	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
	cyno	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 objetivo (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 con un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM a 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 con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 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. Se preparó una serie de concentraciones de 100 – 10 nM hVISTA-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 amortiguadores 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 con el programa de evaluación T200 v.2.0 Biacore®. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Unión de clones de 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 CDR de VH 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: Liberación de la inhibición a través de VISTA de la activación de linfocitos T mediante 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 linfocitos T de Jurkat.

Se usa el mismo ensayo descrito en el Ejemplo 5. Sucintamente, se cocultivaron células Jurkat (línea de linfocitos T humanos) que expresaban un reportero de luciferasa NFkB a diversos pH con células 293T que expresaban VISTA humano y un fragmento variable monocatenario del anticuerpo agonista del receptor de linfocitos T antihumano OKT3. Se agregaron a las células cocultivadas anticuerpos anti-VISTA ‘761 y ‘767 o un anticuerpo de control específico que no es VISTA coincidente con el isotipo. La activación de las células Jurkat se muestra como unidades de luciferasa y como el aumento múltiplo de 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 con un instrumento T100 Biacore® (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 0,05 %) a pH 7,4, 6,7 y 6,0. Los anticuerpos se diluyeron a 25 nM en PBST con 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 de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) en amortiguadores 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 relación 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 relación 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 de SPR obtenidos para las variantes revertidas P1-068761 se muestran en la Fig. 10A, que está ordenada según la koff a pH 6,0, de más lenta a más rápida. En la tabla, los anticuerpos que presentaron 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 se requiere E tanto en las posiciones 32 (es decir, el residuo aminoácido 7 en CDR1 de VH de ‘761) como 100f (el residuo aminoácido 12 en CDR3 de VH de ‘761) para mantener la selectividad para pH ácido, dado que estas reversiones a la secuencia original P1-061029 permitieron una unión significativa a hVISTA a pH fisiológico

(%Rmax > 10). Análisis ulteriores revelaron que las variantes con la reversión E55A (residuo aminoácido 6 en CDR2 de VH 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 CDR3 de VH, 7 de CDR2 de VH y 4 de CDR1 de VH 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 de disociación de estos mutantes a pH ácido cercanas a las de P1-061029 original. Por lo tanto, la acumulación de las mutaciones G100H, N56E y/o D30E al clon de P1-061029 original contribuyó a mejorar la afinidad de VISTA para pH ácido observada en el clon P1-068761 selectivo para pH ácido.

Los resultados de SPR obtenidos para las variantes revertidas P1-068767 se muestran en la Fig. 10B, que está ordenada según la k_{off} a pH 6,0, de más lenta a más rápida. Los resultados indican que se requiere D en la posición 102 (residuo aminoácido 14 en CDR3 de VH de ‘767) para mantener la selectividad para pH ácido, y la reversión D102V a la secuencia original P1-061029 permitió una unión significativa a hVISTA a pH neutro (%Rmax > 10). Análisis ulteriores revelaron que las variantes con las reversiones E30D, D52N y E55A (residuos aminoácidos 4 de CDR1 de VH, 3 de CDR2 de VH y 6 de CDR3 de VH de ‘767, respectivamente) mantuvieron una selectividad para 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 la reversión E100fF (residuo aminoácido 12 de CDR3 de VH de ‘767) mantuvieron selectividad para 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 presentaron una k_{off} aún más rápida a pH ácido en comparación con el mAb original P1-061029.

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 se muestra en la Tabla 13 (HCDR1, HCDR2 y HCDR3 están separadas por un guion 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 CDR de VH antemencionadas para P1-061029, P1-068761 y P1-068767 de la Tabla 13 están en los aminoácidos (“aa pos.”) 26-35, 50-66 y 99-110 de la SEQ ID NO: 67, 51, 55, respectivamente. Las mutaciones clave requeridas para la selectividad para pH ácido se indican en negrita, y las mutaciones con un impacto mayor a 3 veces sobre k_d a pH 6,0 en comparación con P1-068761 y P1-068767 están subrayadas.

Ejemplo 15: Mapeo de epítopos de anticuerpo VISTA

Los epítopos hVISTA de ‘015, ‘029, ‘761 y ‘767, formateados como anticuerpos IgG1.3, se determinaron mediante 2 métodos diferentes: Competencia BLI (interferometría de biocapa) y despliegue en la superficie de levaduras.

Se realizaron ensayos BLI competitivos para preclasificación de epítopos para evaluar si los anticuerpos VISTA selectivos para 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 preclasificación con formato sándwich y en tándem en un instrumento OctetRed384 BLI (PALL/ForteBio). Todas las etapas del ensayo se realizaron a 30 °C con una velocidad de agitación de 1000 rpm, y el amortiguador usado fue PBST (137 mM cloruro de sodio, 2,7 mM cloruro de potasio, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 0,05%) ácido (pH 6,0) o neutro (pH 7,4). Para el formato sándwich, los sensores anti-Fc de IgG humana (AHC, PALL/ForteBio) capturaron primero el panel del anticuerpo VISTA a pH 7,4, luego los sensores de captura anti-humana se bloquearon con IgG humana total (Jackson n.º 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 la preclasificación 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 sándwich, la unión (gris claro) del anticuerpo competidor se definió mediante una señal comprendida entre 0,4 - 1,2 nm, y los anticuerpos bloqueados (negro) presentaron una señal de no 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 presentaron una señal de no unión < 0,2 nm. Mientras que “mAb VISTA 3” presentó 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 para 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 CDR de VH 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 con expresión superficial de levadura y NGS de acuerdo con el método de Chao et ál. (2004) *J. Mol. Biol.* 342:539-550, Oliphant et ál. (2006) *J. Virol.* 80:12149–12159, y Kowalsky et ál. (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 conservaron la unión a un anticuerpo no bloqueante (mAb1). Dado que conservaron 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	S 124	E 125	R 127
P1-061015		x	x	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			x	x	x
P1-068761	x	x		x		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	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 expresión superficial de levadura /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, Q	G, K, R, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, I, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, H, Y, W, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, M, H, 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	

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
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
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 H66 y A162 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 preclasificación del octeto (lo que demuestra que compiten entre sí), con diferencias sutiles 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 se ve respaldado además por los datos de preclasificación 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) con un instrumento para HPLC (cromatografía líquida de alta

resolución, por sus siglas en inglés) Agilent 1260 con una columna KW403-4F Shodex™ (4,6mmID x 300mmL), en un amortiguador 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 al 0,35%, urea 2,0 M, farmalito al 1% v/v pI 5-8, y farmalito al 3 % v/v pI 8-10,5. Estas muestras se analizaron con un tiempo de preenfoque de 1 min a 1500V, y un tiempo de enfoque de 10 min a 3000V, en un cartucho ProteinSimple cIEF recubierto con FC (producto nro. 101701). Los datos se analizaron con 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 espectroscopía fluorescente y dispersión de luz estática (SLS, por sus siglas en inglés) con 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 amortiguador 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, con 4 adquisiciones de 5 s cada una. Las funciones de autocorrelación de intensidad se ajustaron con 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 intervalo de 250 nm - 720 nm. Los datos de SLS y fluorescencia se analizaron con 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), con 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 al 10 % de perlas de poliestireno de 100 nm (Thermo Scientific, número de catálogo 3100A) en amortiguador de formulación que contenía Tween 80 al 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 a 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 con el programa informático de análisis UNcle versión V2.0, con 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 al preparar 50 mg/ml de muestras de anticuerpos en histidina 20 mM, sacarosa 260 mM a pH 6,0 y exponerlas a estrés térmico de 40 °C durante 4 semanas. Se extrajeron 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 con el amortiguador de formulación y se analizaron mediante aSEC (SEC analítica). Los datos de aSEC se obtuvieron con un instrumento para HPLC Agilent 1260 con una columna KW403-4F Shodex (4,6mmID x 300mmL), en un amortiguador que contenía fosfato de sodio 100mM, cloruro de sodio 150mM a pH 7,3 (filtro 0,2 um) con una velocidad de flujo 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 hasta la pureza más alta, donde cada muestra de anticuerpo consistió 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 una especie principal (66,4 %) con pI de 6,69 y 33,6 % de especies ácidas. P1-068767 demostró una especie principal (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.

Se determinó el estado oligomérico de P1-061029, P1-068761 y P1-068767 en un intervalo de pH de 3-9 con dispersión de luz dinámica (DLS) en amortiguadores con diferentes pH. Todos los valores de radio hidrodinámico (Rh) para cada anticuerpo se encontraron dentro del intervalo 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 intervalo de pH3 - pH9.

pH	**Amortiguador**	**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 intervalo de pH 3-9 mediante el control de fluorescencia y dispersión de luz estática como función de la temperatura en amortiguadores 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 °C), P1-068761 (67,0 °C), y P1-068767 (65,3 °C), con valores Tagg de P1-061029 (67,8 °C), P1-068761 (67,5 °C), y P1-068767 (65,8 °C). 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 0,7° de los valores Tris/PBS a pH 7,0. No obstante, los valores Tm1 fueron ligeramente más bajos (entre 0,3° - 1,1° más bajos) a un pH más básico de 8-9, y significativamente más bajos a un pH más ácido de 3-5, para cada anticuerpo. En comparación con pH neutro, el Tagg para P1-061029 estuvo a menos de 0,1° del valor a pH 7,0 a pH más básico 8,0 - 9,0, fue 1,0° más bajo a pH 5,0, y mucho más bajo (6,1° - 19,6°) 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 0,2° más bajo que el Tagg a pH 6,0, mientras que el Tagg para P1-068767 fue 2,2° 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 intervalo de pH de pH3 - pH 9 determinada mediante espectroscopia fluorescente

pH	**Amortiguador**	**Tm1 (°C) P1-061029**	**Tm1 (°C) P1-068761**	**Tm1 (°C) 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 intervalo de pH de pH3 - pH 9 determinada mediante dispersión de luz estática

pH	Amortiguador	Tagg (°C) P1-061029	Tagg (°C) P1-068761	Tagg (°C) 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 con 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 una 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 de 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 aparente (en cP) para anticuerpos en histidina 20 mM, sacarosa 260 nM a pH 6,0 a 25 °C 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 a 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 40°

(tiempo cero = t0), como así también después de 1 semana (1s) y 4 semanas (4s) de estrés a 40°C. Estos datos muestran que los tres anticuerpos permanecen monoméricos en más de 96 % después de 4 semanas a 40°C, con bajos niveles de especies HMW (< 1,6 % de HMW) y bajos niveles de especies LMW (< 2,0 % de 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: Modificación de anticuerpos anti-VISTA para reducir la unión a pH neutro

Este Ejemplo describe la selección de un anticuerpo anti-VISTA humano que se une a VISTA humano a pH 7,0 y su modificación para obtener anticuerpos que se unen a VISTA humano a un pH ácido.

Se aisló un anticuerpo anti-VISTA humano de hibridomas obtenidos de ratones huMab inmunizados con VISTA humano. Este Ab, que se denomina 41F11, tiene el isotipo IgG1, y sus secuencias de nucleótidos y aminoácidos de la región variable de cadena pesada y ligera se proporcionan en las Figs. 14A, 14B, 15A,15B, 16A, 16B, 17A y 17B y en la Tabla de secuencias que figura más adelante. Si bien se identificaron tres posibles cadenas ligeras (VK1, VK2 y VK3), VK1 (Figs. 15A y B) aparenta ser la cadena ligera funcional, y esta se usó en la expresión recombinante de este anticuerpo, a menos que se indique lo contrario. Para este anticuerpo particular, y cualquier variante de este, HCDR1 se define de acuerdo con la nomenclatura de AbM, y las otras CDR de cadena pesada y ligera se definen de acuerdo con la nomenclatura de Kabat.

Se generó un anticuerpo recombinante que comprende VH y VL (VK1) de 41F11 y la región constante de cadena pesada IgG1.3 (y cadena ligera de 41F11), y este se denomina VISTA.4.IgG1.3. Se observó que el aminoácido 64 de la cadena ligera VK1 es una mutación de línea germinal (el residuo de aminoácidos germinales en esa posición es una G) y, por lo tanto, se generó una cadena ligera VK en la que este aminoácido se cambió a una G para imitar la línea germinal. Este anticuerpo se denomina VISTA.4.A64G.IgG1.3.

Se determinó la cinética de unión de VISTA.4 a VISTA humano y de cyno mediante el uso de un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare). Se diluyó proteína A (Fisher Scientific, número de catálogo 21181) a 20 ug/ml en acetato de sodio 10mM a 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 2000 RU de Proteína A por celda de flujo. El ensayo se realizó a 37 °C con amortiguador de corrida PBST (cloruro de sodio 137 mM, cloruro de potasio 2,7 mM, amortiguador de fosfato 10 mM, Tween 20 al 0,05 %) a pH 7,4 y 6,0. VISTA.4.IgG1.3 se diluyó a 25 nM en PBST con pH 7,4, y se capturó través de celdas de flujo activas del biosensor a 10 ul/min durante 30 segundos. Se preparó una serie de concentraciones de 1600 - 0,78 nM (pH 7,4) y 100 - 0,78 nM (pH 6,0) de hVISTA-ECD monovalente (SEQ ID NO: 325) y VISTA-ECD de cyno (SEQ ID NO: 326) en amortiguador de corrida, y se inyectaron sobre los anticuerpos capturados a 40 µl/min para medir la asociación y la disociación. Se usaron dos inyecciones de 15 segundos de 10 mM de glicina a pH 1,5 para regenerar la superficie de captura de Proteína A entre los ciclos de ensayo. Las constantes de velocidad k_a (kon) y k_d (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 relación entre las constantes de velocidad koff/kon y los resultados se proporcionan en la Tabla 22. El anticuerpo VISTA.4 presentó parámetros cinéticos de unión para VISTA humano y cyno comparables (dentro de 2 veces) a ambos pH ensayados, lo que confirma la reactividad cruzada con VISTA de cyno. Para VISTA.4, la k_d medida es ~100 veces más débil a pH ácido que a pH neutro, mientras que la K_D también es ~10 veces más débil.

Tabla 22: Parámetros cinéticos de unión de VISTA.4 a VISTA humano y cyno

Muestra		**pH 7,4**			**pH 6,0**		
		ka (1/Ms)	**kd (1/s)**	**KD (M)**	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**
huVISTA-His		3,1E+05	8,9E-04	2,9E-09	3,4E+06	7,8E-02	2,3E-08
cyVISTA-His		3,1E+05	7,7E-04	2,5E-09	1,9E+06	6,3E-02	3,4E-08

VISTA.4 se une con una afinidad mayor a VISTA humano a pH 7,4 que a pH 6,0. Más específicamente, VISTA.4 tuvo velocidades de disociación mayores a pH ácido que a pH 7,4, mientras que la velocidad de disociación del anticuerpo VISTA.5 no bloqueante (mAb 1) no se vio afectada por el pH (Figura 18B). VISTA.4 también presentó un valor menor de $Y_{máx}$ a pH ácido que a pH 7,4 en ensayos de unión celular (Figura 18A). La hipótesis es que los anticuerpos contra la interfaz receptor-ligando de VISTA pueden ser capaces de distinguir entre estados inactivos (protonación de histidina menor o ausente) y activos (más protonación de histidina). Por lo tanto, se generaron variantes de VISTA.4 para identificar aquellas con mayor afinidad a pH 6, mientras que se mantuvo la unión a pH 7. Esto se realizó al analizar mediante expresión superficial de levadura una biblioteca de barrido mutacional de VISTA.4, donde cada variante de la biblioteca tiene una única mutación en los bucles y cada posición en los bucles se sustituye con todos los residuos de aminoácidos posibles. La biblioteca se analizó con hVISTA-His. El análisis de los datos de barrido mutacional llevó a la identificación de mutaciones con mayor unión a pH 6,0. Estas llevaron a las variantes de VISTA.4 diseñadas, donde cada variante contiene una combinación de unas pocas mutaciones mejoradas dentro de las CDR y entre estas. Se muestran en la Tabla 23 las variantes seleccionadas y se muestran en la Tabla 24 las variaciones de aminoácidos en estas variantes. Los parámetros cinéticos de unión a la proteína de VISTA humano de las variantes a pH neutros y ácidos se analizaron mediante el uso del método de SPR descrito en el Ejemplo 9 que antecede, y los resultados se indican a continuación en la Tabla 23.

Tabla 23: Parámetros cinéticos de variantes de VISTA.4 con mayor unión a pH 6,0

P1-ID	pH 6,0				pH 7,4				relación KD (pH 7,4/pH 6,0)	Mutaciones en comparación con VISTA.4 Ab (41F11)
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Comentario	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Comentario		
P1-064532-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E
P1-065320-1	6,94E+05	3,87E-02	5,58E-08		1,38E+04	3,52E-02	2,54E-06	Respuesta RU débil	45,52	41F11_VH_L96EF100aG VK A64G
P1-065329-1	6,63E+05	7,91E-03	1,19E-08		1,80E+03	8,58E-04	4,78E-07	Respuesta RU débil	40,17	41F11_VH_D31E/S35Y/Y50W/S55E/A60H/Y100E/F100aG VK_A64G

P1-064508-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_Vk_A25EQ90DR91AR96YA64G
P1-064510-1	1,24E+06	3,12E-03	2,51E-09		6,22E+03	5,27E-04	8,48E-08		33,78	41F11_Vk_A25E/V29D/A64G/R91T
P1-064548-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_T28P/S35Y/Y50W/S55E/A60H/Y100E/F100aG
P1-064490-1	2,09E+05	7,26E-03	3,48E-08		7,18E+03	2,66E-03	3,70E-07	Respuesta RU débil	10,63	41F11_VH_F27EY50EL96E
P1-061528-2	6,16E+05	2,37E-03	3,86E-09		6,26E+03	1,90E-04	3,04E-08		7,88	41F11 NGS mut VK_A64G/R91A
P1-065333-1	3,28E+06	1,42E-03	4,34E-10		2,78E+05	8,83E-04	3,17E-09		7,30	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-065313-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_S35Y Vk_A64G
P1-064542-1	3,27E+06	1,15E-03	3,51E-10		2,71E+05	6,17E-04	2,28E-09		6,50	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E
P1-064488-1	9,32E+05	3,27E-02	3,50E-08		1,35E+05	2,71E-02	2,02E-07	Respuesta RU débil	5,77	41F11_VH_L96EF100aG
P1-065326-1	3,52E+06	6,03E-04	1,72E-10		2,89E+05	2,85E-04	9,86E-10		5,73	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-065318-1	1,96E+06	1,54E-02	7,84E-09		1,09E+05	4,20E-03	3,85E-08		4,91	41F11_VH_L96E VK A64G
P1-064528-1	3,49E+06	5,84E-04	1,67E-10		2,96E+05	2,27E-04	7,68E-10		4,60	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E
P1-064514-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_Vk_V29D/A64G/Q90D/R91T
P1-065323-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/D31E/Y50W/S55E/Y100E VK_A64G
P1-064484-1	2,13E+06	1,53E-02	7,18E-09		1,35E+05	3,53E-03	2,61E-08		3,64	41F11_VH_L96E
P1-065327-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/Y100E/F100aG VK_A64G
P1-064490-2	2,60E+05	8,18E-03	3,14E-08		2,46E+04	2,30E-03	9,32E-08	Respuesta RU débil	2,97	41F11_VH_F27EY50EL96E

P1-064516-1	2,28E+06	1,78E-02	7,81E-09		1,17E+05	2,23E-03	1,91E-08		2,45	41F11_Vk_V29D/A64G/R91T/R96Y
P1-065335-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-065317-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_Y50EA60H VK A64G
P1-065328-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-064534-1	7,17E+05	6,49E-03	9,05E-09		4,17E+04	6,75E-04	1,62E-08	Respuesta RU débil	1,79	41F11_VH_D31E/S35Y/Y50W/S55E/A60H/Y100E/F100aG
P1-065325-1	7,99E+06	1,43E-03	1,79E-10		6,18E+05	1,58E-04	2,55E-10		1,42	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/A60H/Y100E VK_A64G
P1-064474-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_S35Y
P1-065336-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_T28P/S35Y/Y50W/S55E/A60H/Y100E/F100aG VK_A64G
P1-065334-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/Y100E/F100aG VK_A64G
P1-065330-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/T28P/Y50W/S55E/Y100E VK_A64G
P1-065332-1	5,41E+06	2,21E-03	4,09E-10		5,17E+05	2,36E-04	4,56E-10		1,11	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/A60H/Y100E VK_A64G
P1-064540-1	7,16E+06	1,92E-03	2,68E-10		5,53E+05	1,58E-04	2,85E-10		1,06	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/A60H/Y100E
P1-063001-5	2,61E+06	1,68E-03	6,44E-10		1,95E+05	1,30E-04	6,65E-10		1,03	41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/R91T
P1-063125-5	3,47E+06	1,24E-03	3,56E-10		4,88E+05	1,78E-04	3,65E-10		1,03	41F11_HC_Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y100E

P1-063001-6	2,28E+06	1,71E-03	7,51E-10		1,63E+05	1,20E-04	7,37E-10		0,98	41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/R91T
P1-064536-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-064522-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-060879-18	2,40E+06	3,42E-02	1,43E-08		7,05E+04	8,73E-04	1,24E-08		0,87	41F11
P1-064544-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/Y100E/F100aG
P1-065319-1	1,32E+06	3,85E-02	2,91E-08		2,09E+05	5,14E-03	2,46E-08		0,85	41F11_VH_F100aG VK A64G
P1-064526-1	3,84E+06	9,40E-04	2,45E-10		5,55E+05	1,09E-04	1,96E-10		0,80	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/A60H/Y100E
P1-063125-4	2,77E+06	1,20E-03	4,35E-10		4,41E+05	1,41E-04	3,20E-10		0,74	41F11_HC_Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-063153-5	8,19E+06	1,14E-03	1,39E-10		6,85E+05	6,90E-05	1,01E-10		0,73	41F11 HC mutante: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-060879-19	2,18E+06	2,85E-02	1,30E-08		1,02E+05	7,84E-04	7,69E-09		0,59	41F11
P1-064502-1	4,06E+06	3,32E-01	8,17E-08	Respuesta RU débil	3,01E+05	1,23E-02	4,08E-08		0,50	41F11_Vk_R96YA64G
P1-064492-1	1,00E+06	1,40E-01	1,40E-07	Respuesta RU débil	1,97E+05	1,36E-02	6,89E-08		0,49	41F11_VH_S35YA60HF100aG
P1-064500-1	1,67E+06	1,57E-01	9,41E-08	Respuesta RU débil	3,25E+05	1,45E-02	4,47E-08		0,48	41F11_Vk_Q90DA64G
P1-064512-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_Vk_V29D/A34K/A64G/R91T
P1-064486-1	3,07E+06	1,05E-01	3,43E-08		2,23E+05	3,41E-03	1,53E-08		0,45	41F11_VH_F100aG
P1-063153-4	4,07E+06	9,09E-04	2,23E-10		6,00E+05	4,05E-05	6,75E-11		0,30	41F11 HC mutante: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065312-1	2,01E+06	4,49E-02	2,23E-08		1,98E+05	1,31E-03	6,61E-09		0,30	41F11_VH_F27E VK_A64G
P1-064530-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/Y100E/F100aG
P1-064494-1	1,36E+06	4,85E-02	3,56E-08		2,00E+05	2,07E-03	1,03E-08		0,29	41F11_Vk_A25EA64G
P1-065316-1	3,86E+06	5,61E-02	1,45E-08		2,42E+05	9,95E-04	4,12E-09		0,28	41F11_VH_A60H VK A64G

P1-061520-10	2,31E+06	4,03E-02	1,74E-08		2,31E+05	1,03E-03	4,48E-09		0,26	41F11 Vk:A64G
P1-061520-11	2,37E+06	3,95E-02	1,66E-08		2,50E+05	1,05E-03	4,19E-09		0,25	41F11 Vk:A64G
P1-060879-17	3,03E+06	4,08E-02	1,35E-08		3,17E+05	9,14E-04	2,88E-09		0,21	41F11
P1-064472-1	2,29E+06	4,11E-02	1,80E-08		2,74E+05	9,87E-04	3,60E-09		0,20	41F11_VH_F27E
P1-064480-1	2,32E+06	3,29E-02	1,42E-08		3,20E+05	7,55E-04	2,36E-09		0,17	41F11_VH_A60H
P1-064546-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil		41F11_VH_F27E/T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E
P1-064478-1	1,26E+05	1,21E-02	9,65E-08		5,54E+04	3,81E-04	6,89E-09		0,07	41F11_VH_Y50E
P1-064482-1	6,39E+04	1,36E-02	2,13E-07		7,16E+04	3,40E-04	4,75E-09	Respuesta RU débil	0,02	41F11_VH_Y50EA60H
P1-064476-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_F27ES35Y
P1-064496-1				Sin unión				Respuesta RU débil	ND	41F11_Vk_A34KA64G
P1-064498-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_Vk_A25EA34KA64G
P1-064504-1				Respuesta RU débil				Respuesta RU débil	ND	41F11_Vk_Q90DR91AR96YA64G
P1-064506-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_Vk_A25EA34KR96YA64G
P1-064518-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_Vk_A25E/V29D/A34K/A64G/R91T/R96Y
P1-064520-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_Vk_A25E/V29D/A64G/Q90D/R91T/R96Y
P1-064524-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_D31E/S35Y/Y50W/S55E/Y100E
P1-064538-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_T28P/S35E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065314-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_F27ES35Y VK A64G
P1-065315-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_Y50E VK A64G
P1-065321-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_F27EY50EL96E VK A64G

P1-065322-1				Sin unión				Respuesta RU débil	ND	41F11_VH_S35YA60HF100aGVK A64G
P1-065324-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_D31E/S35Y/Y50W/S55E/Y100EVK_A64G
P1-065331-1				Sin unión				Sin unión	ND	41F11_VH_T28P/S35E/Y50W/S55E/Y100EVK_A64G
P1-058268-102				Sin unión				Sin unión	ND	Isotipo IgG1.3

Tabla 24: Sustituciones de aminoácidos en variantes de VISTA.4 de la Tabla 23 en comparación con el Ab VISTA.4

Nombre	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	64	LCDR3
P1-064532-1	.E...E....	W.....E..........	.E...E...	.....	.....	A	.....
P1-065320-1	.....	.....	.E....G..	.....	.....	G	.....
P1-065329-1	.....E...Y	W.....E....H.....	.....EG..	.....	.....	G	.....
P1-064508-1	.....	.....	.....	.E.....	.....	G	.DA....Y.
P1-064510-1	.....	.....	.....	.E...D.....	.....	G	..T.....
P1-064548-1	..P.....Y	W.....E....H.....	.....EG..	.....	.....	A	.....
P1-064490-1	.E.....	E.....	.E.....	.....	.....	A	.....
P1-061528-2	.....	.....	.....	.....	.....	G	..A.....
P1-065333-1	..P.....	W.....E..........	.E...E...	.....	.....	G	.....
P1-065313-1	.....Y	.....	.....	.....	.....	G	.....
P1-064542-1	..P.....	W.....E..........	.E...E...	.....	.....	A	.....
P1-064488-1	.....	.....	.E....G..	.....	.....	A	.....
P1-065326-1	.....E....	W.....E..........	.E...E...	.....	.....	G	.....
P1-065318-1	.....	.....	.E.....	.....	.....	G	.....
P1-064528-1	.....E....	W.....E..........	.E...E...	.....	.....	A	.....
P1-064514-1	.....	.....	.....	.....D.....	.....	G	.DT.....
P1-065323-1	.E...E....	W.....E..........	.....E...	.....	.....	G	.....

P1-064484-1	**.....**	**.....**	**.E.....**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-065327-1	**.....E....**	**W.....E.....**	**.....EG..**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-064490-2	**.E.....**	**E.....**	**.E.....**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-064516-1	**.....**	**.....**	**.....**	**.....D.....**	**.....**	**G**	**..T....Y.**
P1-065335-1	**.EP.....**	**W.....E.....**	**.E...E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065317-1	**.....**	**E.....H.....**	**.....**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065328-1	**.E...E....**	**W.....E.....**	**.E...E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-064534-1	**.....E...Y**	**W.....E....H.....**	**.....EG..**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-065325-1	**.....E....**	**W.....E....H.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-064474-1	**.....Y**	**.....**	**.....**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-065336-1	**..P.....Y**	**W.....E....H.....**	**.....EG..**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065334-1	**..P.....**	**W.....E.....**	**.....EG..**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065330-1	**.EP.....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065332-1	**..P.....**	**W.....E....H.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-064540-1	**..P.....**	**W.....E....H.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-063001-5	**.....**	**.....**	**.....**	**.....D.....**	**.....**	**G**	**..T.....**
P1-063125-5	**..P.....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-063001-6	**.....**	**.....**	**.....**	**.....D.....**	**.....**	**G**	**..T.....**
P1-064536-1	**.EP.....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-064522-1	**.E...E....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-060879-18	**GFTFSDYYMS**	**YISNSGSPIYYADSVKG**	**DLPGWYFDL**	**RASQSVSSYLA**	**DASNRAT**	**A**	**QQRNNWPRT**
P1-064544-1	**..P.....**	**W.....E.....**	**.....EG..**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-065319-1	**.....**	**.....**	**.....G..**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-064526-1	**.....E....**	**W.....E....H.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-063125-4	**..P.....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-063153-5	**.....E....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**A**	**.....**
P1-060879-19	**GFTFSDYYMS**	**YISNSGSPIYYADSVKG**	**DLPGWYFDL**	**RASQSVSSYLA**	**DASNRAT**	**A**	**QQRNNWPRT**

P1-064502-1	.....	.....	.....	.....	.....	G	.....Y.
P1-064492-1	.....Y	.....H.....	.....G..	.....	.....	A	.....
P1-064500-1	.....	.....	.....	.....	.....	G	.D.....
P1-064512-1	.....	.....	.....	.....D....K	.....	G	..T.....
P1-064486-1	.....	.....	.....G..	.....	.....	A	.....
P1-063153-4	.....E....	W.....E.....	.....E...	.....	.....	A	.....
P1-065312-1	.E.....	.....	.....	.....	.....	G	.....
P1-064530-1	.....E....	W.....E.....	.....EG..	.....	.....	A	.....
P1-064494-1	.....	.....	.....	.E.....	.....	G	.....
P1-065316-1	.....	.....H.....	.....	.....	.....	G	.....
P1-061520-10	.....	.....	.....	.....	.....	G	.....
P1-061520-11	.....	.....	.....	.....	.....	G	.....
P1-060879-17	GFTFSDYYMS	YISNSGSPIYYADSVKG	DLPGWYFDL	RASQSVSSYLA	DASNRAT	A	QQRNNWPRT
P1-064472-1	.E.....	.....	.....	.....	.....	A	.....
P1-064480-1	.....	.....H.....	.....	.....	.....	A	.....
P1-064546-1	.EP.....	W.....E.....	.E...E...	.....	.....	A	.....
P1-064478-1	.....	E.....	.....	.....	.....	A	.....
P1-064482-1	.....	E.....H.....	.....	.....	.....	A	.....
P1-064476-1	.E.....Y	.....	.....	.....	.....	A	.....
P1-064496-1	.....	.....	.....	.....K	.....	G	.....
P1-064498-1	.....	.....	.....	.E.....K	.....	G	.....
P1-064504-1	.....	.....	.....	.....	.....	G	.DA....Y.
P1-064506-1	.....	.....	.....	.E.....K	.....	G	.....Y.
P1-064518-1	.....	.....	.....	.E...D....K	.....	G	..T....Y.
P1-064520-1	.....	.....	.....	.E...D.....	.....	G	.DT....Y.
P1-064524-1	.....E...Y	W.....E.....	.....E...	.....	.....	A	.....
P1-064538-1	..P.....Y	W.....E.....	.....E...	.....	.....	A	.....

P1-065314-1	**.E.....Y**	**.....**	**.....**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065315-1	**.....**	**E.....**	**.....**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065321-1	**.E.....**	**E.....**	**.E.....**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065322-1	**.....Y**	**.....H.....**	**.....G..**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065324-1	**.....E...Y**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**
P1-065331-1	**..P..E....**	**W.....E.....**	**.....E...**	**.....**	**.....**	**G**	**.....**

Para confirmar los parámetros cinéticos medidos obtenidos para la progenie que presenta una unión agnóstica al pH a VISTA a un pH ácido y neutro, se repitió un ensayo de cinética de SPR para anticuerpos selectos de las Tablas 23 y 24 contra una serie de concentraciones de VISTA humano dentro del intervalo de 50-0,39 nM a pH 7,4 y 6,0. Se calcularon las relaciones de k_d y K_D tal como se describió en los ejemplos anteriores, y los resultados se muestran en la Tabla 25.

Tabla 25: Análisis de parámetros cinéticos de variantes de VISTA.4

ID P1	**pH 6,0**				**pH 7,4**				**pH 6,0/7,4 kd**	**pH 6,0/ 7,4 kD**	**Detalles**
	ka (1/Ms)	**kd (1/s)**	**mejora de kd en comparación con original**	**KD (M)**	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**mejora de kd en comparación con original**	**KD (M)**			
P1-060879-17	5,7E+06	1,1E-01	1,0	1,9E-08	5,2E+05	8,8E-04	1,0	1,7E-09	121,5	11,3	41F11 original
P1-063153-5	3,6E+06	4,6E-04	233,1	1,3E-10	7,8E+05	1,2E-04	7,4	1,5E-10	3,9	0,8	41F11 HC mutant: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065059-1	3,4E+06	4,8E-04	221,5	1,4E-10	7,2E+05	1,0E-04	8,5	1,4E-10	4,6	1,0	41F11 HC mutant: D31E/Y50W/S55E/Y100E
P1-065326-1	2,9E+06	3,6E-04	294,0	1,2E-10	4,4E+05	3,3E-04	2,7	7,6E-10	1,1	0,2	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-064391-1	5,1E+06	3,3E-02	3,3	6,4E-09	4,3E+05	1,6E-02	0,1	3,7E-08	2,1	0,2	41F11_HC_Mutant: D31E/Y50W/S55E/Y100E 41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/R91T
P1-064392-1	4,8E+06	8,6E-03	12,4	1,8E-09	4,7E+05	7,0E-03	0,1	1,5E-08	1,2	0,1	41F11_HC_Mutant: D31E/Y50W/S55E/Y100E 41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/Q89E/R91T

P1-063125-4	3,1E+06	7,9E-04	136,0	2,5E-10	7,7E+05	2,0E-04	4,3	2,7E-10	3,9	0,9	41F11_HC_Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-065061-1	1,5E+06	2,2E-04	495,4	1,5E-10	3,7E+05	9,7E-05	9,1	2,6E-10	2,2	0,6	41F11_HC_Mutant: T28P/Y50W/S55E/Y100E
P1-065333-1	3,4E+06	1,3E-03	81,7	3,8E-10	4,8E+05	9,3E-04	1,0	1,9E-09	1,4	0,2	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G
P1-063001-5	1,3E+06	1,3E-03	81,7	1,0E-09	3,4E+05	1,3E-04	6,8	3,8E-10	10,2	2,7	41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/R91T
P1-065064-1	1,3E+06	1,3E-03	80,5	1,1E-09	3,3E+05	1,2E-04	7,4	3,6E-10	11,2	3,0	41F11_LC_Mutant: V29D/A64G/R91T
P1-064510-1	1,2E+06	3,1E-03	35,0	2,6E-09	1,5E+05	6,4E-04	1,4	4,1E-09	4,8	0,6	41F11_Vk_A25E/V29D/A64G/R91T
P1-061528-2	4,5E+05	2,1E-03	51,4	4,7E-09	1,2E+05	1,7E-04	5,1	1,4E-09	12,0	3,3	41F11 NGS mut VK_A64G/R91A
P1-064490-1	6,0E+05	1,3E-02	8,2	2,2E-08	4,3E+04	3,2E-03	0,3	7,5E-08	4,0	0,3	41F11_VH_F27E/Y50E/L96E

Esta campaña inicial llevó a variantes de VISTA.4 independientes del pH con una k_{off} casi equivalente a pH 6 y pH 7. Para obtener un anticuerpo que se une a hVISTA con afinidad elevada a pH 6,0 y afinidad baja a pH 7,0, se diseñó y construyó una biblioteca nueva en función de la secuencia de consenso de las variantes de VISTA.4 independientes del pH, con los residuos de aminoácidos de los bucles sustituidos por residuos de aminoácidos de carga (ver Ejemplo 9), y se analizó a través de expresión superficial de levadura (ver Ejemplo 9). La biblioteca se analizó como se describió anteriormente (ver Ejemplo 9) y las variantes seleccionadas se reformatearon como IgG1.3 para un análisis adicional (Tablas 26 y 27). Se llevó a cabo un análisis de SPR de estas variantes mediante el uso de las condiciones descritas anteriormente en el Ejemplo 9.

Tabla 26: Parámetros cinéticos de 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G y variantes con unión mejorada a pH 6,0

ID	**pH 7,4**			**pH 6,0**			
	ka prom. (1/Ms)	**kd prom. (1/s)**	**KD prom. (M)**	**ka prom. (1/Ms)**	**kd prom. (1/s)**	**KD prom. (M)**	Nombre

P1-070976	**Ninguna unión a 100nM**			1,9E+05	2,8E-03	1,5E-08	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; Vk_A64G
P1-065333	4,3E+05	9,4E-04	2,2E-09	3,8E+06	1,8E-03	4,7E-10	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G
P1-061520	5,5E+05	9,3E-04	1,7E-09	2,3E+06	8,6E-02	3,8E-08	Reversión directa de 41F11 VK_A64G
VISTA.4*	6,0E+05	1,0E-03	1,8E-09	7,3E+05	3,5E-02	4,8E-08	
P1-064510*	1,1E+05	3,9E-04	3,4E-09	7,5E+05	3,6E-03	4,8E-09	41F11_Vk_A25E/V29D; VK_A64G/R91T
P1-065326	4,5E+05	3,2E-04	7,2E-10	2,4E+06	5,1E-04	2,1E-10	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/L96E/Y100E; VK_A64G
P1-064391	6,3E+05	1,9E-02	3,1E-08	2,7E+06	2,7E-02	1,0E-08	41F11_VH_D31E/Y50W/S55E/Y100E; Vk_V29D_A64G/R91T
P1-064392	7,7E+05	7,8E-03	1,1E-08	7,7E+06	1,2E-02	1,6E-09	

Tabla 27: Sustituciones de aminoácidos en variantes de VISTA.4 de la Tabla 26

ID	LCDR1	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
P1-070976	.....	.....	..P.....	W.....E.....	HEE..E...
P1-065333	.....	.....	..P.....	W.....E.....	.E...E...
P1-061520	RASQSVSSYLA	QQRNNWPRT	GFTFSDYYMS	YISNSGSPIYYADSVKG	DLPGWYFDL
VISTA.4*	RASQSVSSYLA	QQRNNWPRT	GFTFSDYYMS	YISNSGSPIYYADSVKG	DLPGWYFDL
P1-064510*	.E...D.....	..T.....	.....	.....	.....
P1-065326	.....	.....	.....E....	W.....E.....	.E...E...
P1-064391	.....D.....	..T.....	.....E....	W.....E.....	.....E...
P1-064392	.....D.....	E.T.....	.....E....	W.....E.....	.....E...

De los análisis que anteceden, se identificó que una única variante de VISTA.4 (41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; VK_A64G (P1-070976)) se une con afinidad elevada a hVISTA a pH 6,0 y no se une de forma significativa a este a pH 7,4. Se llevaron a cabo análisis adicionales de cinética de unión a hVISTA y VISTA de cyno para esta variante, y se compararon a varios anticuerpos anti-hVISTA descritos en los Ejemplos anteriores. Se analizó la unión de cada anticuerpo a avidina (proteína de control con especificidad de pI elevada) a pH 6,0 y 7,4, y se halló que no era detectable.

Tabla 28:

Anticuerpo	Detalles	Muestra	pH 7,4			pH 6,0		
			ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
VISTA.4 hIgG1.3f	VISTA.4	huVISTA-His	3,1E+05	8,9E-04	2,9E-09	3,4E+06	7,8E-02	2,3E-08
		cyVISTA-His	3,1E+05	7,7E-04	2,5E-09	1,9E+06	6,3E-02	3,4E-08
P1-070976-7	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/L96E/P97E/Y100E; Vk_A64G	huVISTA-His	6,1E+04	1,4E-01	2,3E-06	2,3E+05	2,8E-03	1,3E-08
		cyVISTA-His	4,4E+03	2,6E-02	5,9E-06	1,6E+05	3,8E-03	2,4E-08
P1-072315-1	41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/L96E/Y100E VK_A64G	huVISTA-His	3,2E+05	7,9E-04	2,5E-09	4,2E+06	1,5E-03	3,5E-10
		cyVISTA-His	3,5E+05	6,8E-04	1,9E-09	2,7E+06	1,6E-03	6,0E-10

Como se muestra en la Tabla 28, el anticuerpo 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/ L96E/P97E/Y100E; VK_A64G (también denominado P1-070976) se une con afinidad elevada a VISTA tanto humano como cyno a pH 6,0 y con afinidad baja a VISTA humano y cyno a pH 7,4.

Se evaluaron algunos de los mutantes de VISTA.4 descritos anteriormente y también nuevos mutantes, para determinar la unión a hVISTA, de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 9. Los resultados, que se proporcionan en la Tabla 29 (las secuencias de aminoácidos de las CDR se proporcionan en la Tabla 30), indican que la mayoría de los mutantes no presentó una unión a pH 6,0 ni 7,4. El anticuerpo 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/D95H/ L96E/P97E/Y100E;VK_A64G (P1-070976) es el único derivado de VISTA.4 que es selectivo para el pH.

Se crearon dos mutantes de este VISTA.4 selectivo de pH para determinar si todas las sustituciones que se le realizaron a VISTA.4 son necesarias para la selectividad del pH: P1-070976_H95D y P1-070976_E97P (ambos con una cadena ligera VK_A64G), donde H95 o E97 se revirtieron al residuo, D y P, respectivamente, en VISTA.4. Como se muestra en la Tabla 29 (que muestra las velocidades promedio de dos experimentos), H95 no es necesario para la selectividad de pH, dado que su reversión a D no afectó de manera significativa la cinética de unión. Sin embargo, E97 es importante para la selectividad del pH, dado que su reversión a P dio como resultado la pérdida de la selectividad del pH.

Tabla 29:

ID	Descripción	ka prom. pH 7,4 (1/Ms)	kd prom. pH 7,4 (1/s)	KD prom. pH 7,4 (M)	ka prom. pH 6,0 (1/Ms)	kd prom. pH 6,0 (1/s)	KD prom. pH 6,0 (M)
P1-071799	P1-070976_H95D	Ninguna unión a 100nM			1,7E+06	2,7E-02	1,5E-08
P1-071801	P1-070976_E97P	2,9E+04	6,1E-04	2,1E-08	4,6E+05	1,6E-03	3,5E-09
P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G	Ninguna unión a 100nM			Ninguna unión a 100nM		
P1-065333	Progenie de VISTA.4 independiente del pH	2,4E+05	7,8E-04	3,2E-09	2,7E+06	1,5E-03	5,6E-10
P1-070976	Progenie de VISTA.4 selectiva de pH ácido	Ninguna unión a 100nM			1,1E+05	2,6E-03	2,3E-08
P1-061520	VISTA.4 A64G	2,3E+05	9,1E-04	4,0E-09	8,3E+05	3,3E-02	4,0E-08

Tabla 30:

ID	Descripción	HCDR1	HCDR2	HCDR3

P1-071799	P1-070976_H95D	**..P.....**	**W.....E.....**	**.EE..E...**
P1-071801	P1-070976_E97P	**..P.....**	**W.....E.....**	**HE...E...**
P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64G	**.....ED..E**	**W...EDE.....**	**.H..EE...**
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G	**.H.....E**	**E....D...E.....**	**HE...E...**
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64G	**.....H.E..**	**E.....DH.....**	**.H..HE...**
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64G	**.....ED..E**	**E...H.....E.....**	**.E..HD...**
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64G	**.....E.D.E**	**W.E...E...H.....**	**.H...E..H**
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G	**...E.E...E**	**E.E.....D.....**	**HEE..E...**
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64G	**.....E..**	**E.E.....E.....**	**.H...ED..**
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64G	**....HE..H.**	**WDD...E.....**	**.E...E.E.**
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G	**...D.E...D**	**W.....H...H.....**	**.E..DE.H.**
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G	**..E.EE....**	**W.....DE.....**	**.EE..EE..**
P1-065333	Progenie de VISTA.4 independiente del pH	**..P.....**	**W.....E.....**	**.E...E...**
P1-070976	Progenie de VISTA.4 selectiva de pH ácido	**..P.....**	**W.....E.....**	**HEE..E...**
P1-061520	VISTA.4 A64G	**GFTFSDYYMS**	**YISNSGSPIYYADSVKG**	**DLPGWYFDL**

ID	Descripción	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071799	P1-070976_H95D	. . . . .	. . . . .	. . . . .
P1-071801	P1-070976_E97P	. . . . .	. . . . .	. . . . .

P1-072996	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50W_S53E_G54D_S55E_L96H_W99E_Y100E; Vk A64G			
P1-072997	41F11_VH_F27H_S35E_Y50E_G54D_Y58E_D95H_L96E_Y100E; Vk A64G			
P1-072998	41F11_VH_D31H_Y33E_Y50E_Y58D_Y59H_L96H_W99H_Y100E; Vk A64G			
P1-072999	41F11_VH_D31E_Y32D_S35E_Y50E_S53H_Y59E_L96E_W99H_Y100D; Vk A64G			
P1-073001	41F11_VH_D31E_Y33D_S35E_Y50W_S52E_S55E_Y59H_L96H_Y100E_L102H; Vk A64G			
P1-073002	41F11_VH_F29E_D31E_S35E_Y50E_S52E_Y59D_D95H_L96E_P97E_Y100E; Vk A64G			
P1-073003	41F11_VH_Y33E_Y50E_S52E_Y58E_L96H_Y100E_F100aD; Vk A64G			
P1-073004	41F11_VH_S30H_D31E_M34H_Y50W_I51D_S52D_S55E_L96E_Y100E_D101E; Vk A64G			
P1-073005	41F11_VH_F29D_D31E_S35D_Y50W_S55H_Y59H_L96E_W99D_Y100E_D101H; Vk A64G			
P1-073006	41F11_VH_T28E_S30E_D31E_Y50W_S55D_P56E_L96E_P97E_Y100E_F100aE; Vk A64G			
P1-065333	Progenie de VISTA.4 independiente del pH			
P1-070976	Progenie de VISTA.4 selectiva de pH ácido			
P1-061520	VISTA.4 A64G	**RASQSVSSYLA**	**DASNRAT**	**QQRNNWPRT**

Por lo tanto, este Ejemplo identificó anticuerpos anti-VISTA humano que se unen a VISTA humano con 200-10.000 veces mayor afinidad a pH ácido que a pH fisiológico (Figura 19A). 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 linfocitos T.

Ejemplo 18: Mapeo de epítopos de VISTA.4

Se usó VISTA.4 en el ensayo de clasificación de epítopos de BLI competitivo descrito 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 (VISTA.5; ver la Fig.

11A).

El epítopo de VISTA.4 también se mapeó con la expresión superficial de 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	V34	T35	Y37	K38	T39	Y41	S52	R54	T61	F62	Q63	L65	H66	L67	H68	H69	F97	L115	V117	E118	I119	R120	H121	H122	S124	E125	R127
VISTA.4	x	x	x		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				x	x	
‘029			x		x	x		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				x	x	x
‘767			x		x	x		x	x	x	x	x	x					x	x		x		x	x	x	x	x

Se utilizó intercambio de hidrógeno-deuterio acoplado a espectrometría de masas (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 20A, los datos del análisis HDX-MS sobre VISTA.4 en VISTA humano indican que el epítopo de VISTA.4 está compuesto por tres regiónes de VISTA humano, donde la región 2 es el epítopo principal (los números de residuo corresponden a la secuencia de VISTA humano natural, Figura 20B):

Región 1: ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 498)

Región 2: ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} (SEQ ID NO: 497)

Región 3: ^{148}VVEIRHHHSEHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO: 499)

Como se describió en los Ejemplos anteriores, el anticuerpo VISTA.4 se unió correctamente tanto a pH ácido como neutro (Figura 19B). 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 (Figura 19C). 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 (ver Ejemplos anteriores al Ejemplo 17). VISTA.5 y otros anticuerpos no bloqueantes fueron en gran medida insensibles al pH ácido en los ensayos biofísicos y basados en células (Figs. 18 y 19). La Fig. 18D muestra que los anticuerpos bloqueadores de VISTA son frecuentemente sensibles al pH ácido.

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. Esta sensibilidad al pH específica del epítopo, sugirió que los anticuerpos pueden distinguir los estados activo (pH ácido) e inactivo (pH neutro) de la interfaz del ligando de VISTA.

Ejemplo 19: 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 20: VISTA.4 potencia la proliferación de linfocitos T y la producción de IFN-γ

Este ejemplo describe los efectos de los anticuerpos bloqueadores y no bloqueadores de VISTA (VISTA.4 y VISTA.5, respectivamente) en células CD4+ cocultivadas a pH fisiológico con células 293T diseñadas para expresar VISTA y un fragmento variable de cadena única del agonista de CD3 anticuerpo OKT3 (293T-scOKT3-VISTA). Este experimento se realizó agregando anticuerpos VISTA a las células T CD4+ cocultivadas con células 293T diseñadas para expresar VISTA humana y un fragmento variable de cadena única del anticuerpo OKT3 agonista del receptor de células T (293T-OKT3-VISTA). Las células T CD4+ se enriquecieron de la sangre del donante sano mediante selección negativa (StemCell RosetteSep) y se marcaron con el colorante de proliferación CellTrace Violet (ThermoFisher). Las células 293T fueron diseñadas para expresar ectópicamente un fragmento variable de una sola cadena del anticuerpo monoclonal CD3 agonista OKT3 y VISTA humana ("293T-OKT3-VISTA"). Las células T CD4 + y las células 293T-OKT3-VISTA irradiadas se cocultivaron en una proporción de 4: 1 en RPMI-1640 complementado con suero de ternera fetal inactivado por calor al 10% V/V, L-glutamina 2 mM (Gibco), 2 Aminoácidos no esenciales mM (Gibco), piruvato de sodio 1 mM (Gibco), B-mercaptoetanol 55 uM, y anticuerpos de control anti-VISTA humanos titulados o con isotipo no emparejados con isotipo durante 5 días. La proliferación se calculó como el porcentaje de células T CD4 + sometidas a dilución del colorante CellTrace Violet, según lo determinado por citometría de flujo.

Los resultados muestran que los Ab de bloqueo de VISTA (grupo de epítopos A)

moderadamente 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.

Ejemplo 21: 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, aunque un nivel modesto de actividad se mantuvo por encima de pH 7,0 (Figura 23). La supresión máxima se alcanzó por debajo de pH 6,5, de manera similar a la unión de VISTA : linfocitos T (Figura 23 y Figura 4A).

Se midió la señalización de NF-kB con 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 reporteras 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).

De manera similar, VISTA recombinante recubierto con placa suprimió la fosforilación de NFkB de células T CD4+ y CD8+ de manera más efectiva por debajo de pH 7,0 (Fig. 23C y D). Para estos experimentos, las placas de fondo plano de 96 pocillos tratadas con cultivo tisular se recubrieron con OKT3 (0,5 µg / ml) y VISTA-Fc humano (que comprende un dominio extracelular hVISTA que comprende aminoácidos 33-194 de la SEQ ID NO: 1 unidos a un dominio Fc) o anticuerpo de control de isotipo coincidente (5,0 µg / ml) en PBS a 37°C durante aproximadamente 2 horas. A continuación, los pocillos se lavaron con PBS y se incubaron previamente con VISTA humano o anticuerpos de control sin unión a VISTA diluidos a 5,0 µg/ml en HBSS acidificado a varios pH con MES durante 30 minutos. Las células T se suspendieron en los mismos tampones HBSS + MES, se agregaron a los pocillos, se centrifugaron y se cultivaron a 37°C durante 15 minutos. Luego se fijaron las células (tampón Cytofix, BD Biosciences), se permeabilizaron (tampón de permeabilización de Phosflow III, BD Biosciences) y se tiñeron con anticuerpos secundarios anti-pNFkB S529 (BD Biosciences) y anti-mIgG (Jackson Immunoresearch) antes de ser adquiridas en un citómetro de flujo. La fosforilación de NFkB se calculó como un porcentaje del pNFkB MFI

para las células estimuladas a pH 7,4 en los pocillos que se habían recubierto con OKT3 y un control de isotipo compatible y se preincubaron con anticuerpos de control de isotipo no vinculante solubles. Estos resultados indican que VISTA es más potente a un pH ácido que a un pH neutro, y que su función es revertida por los mismos anticuerpos que bloquean la unión de VISTA a las células T a un pH ácido. Por lo tanto, estos datos y los del Ejemplo 20 sugieren que el bloqueo de la interfaz del receptor-ligando a pH ácido selectivo de VISTA podría revertir la inmunosupresión.

Ejemplo 22: el anticuerpo anti-VISTA y el anticuerpo anti-PD1 actúan de forma sinérgica para provocar el rechazo tumoral

Para caracterizar los efectos de bloquear la interfaz de ligandos selectivos para 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 los linfocitos T de ratón a pH ácido. (VISTA.10 también se une a mVISTA a pH fisiológico). Se produjeron anticuerpos VISTA anti-ratón en ratones con inactivación para VISTA, inmunizados con VISTA de ratón recombinante. Los esplenocitos de ratones inmunizados se fusionaron con la línea celular de mieloma Sp2/0. Los sobrenadantes de hibridoma se seleccionaron para determinar la reactividad a VISTA de ratón recombinante, mediante ELISA y VISTA de ratón de superficie celular mediante citometría de flujo. VISTA.10 fue seleccionado, y para evitar el acoplamiento del receptor Fc y toda función efectora posterior, 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, et al. 2000, Nat Med 6, 443-446) 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 aproximadamente el 70% de los ratones a los que se les implantaron tumores de adenocarcinoma colorrectal MC38 (Figura 24A-D y G-H). El tratamiento con anti-PD-1 o VISTA.10, como agentes únicos se retrasaron ligeramente, pero no evitaron la evolución del tumor (Figura 24HB, C, G y H).

De acuerdo con estos resultados, el análisis *ex vivo* de tumores a partir de ratones tratados por 7 días con VISTA.10 y terapia anti-PD-1 tuvo 5-10 veces mayores en los linfocitos T CD8+ y linfocitos T CD4+ infiltrantes de tumores, relativo al control de ratones (Figura 24E-F). 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 linfocitos T (receptores inhibitorios asociados a disfunción de células T), en linfocitos T CD8+ infiltrantes de tumores (Figura 25A-C). De acuerdo con los datos de eficacia, el tratamiento con anticuerpos PD-1 o VISTA solos, tuvo efectos más pequeños en las frecuencias y fenotipos de linfocitos T (Figuras 24A-F). Las frecuencias de subconjuntos de células mieloides intratumorales, que incluyen aquellas de los macrófagos, monocitos (por ejemplo, las células mieloides supresoras monocíticas (MDSC)) y granulocitos (por ejemplo, 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. 24I, 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 el aumento de los linfocitos T CD4+ y CD8+ intratumorales. Estos datos indican que los anticuerpos que bloquean la unión de VISTA a pH ácido pueden revertir la supresión inmunológica mediada por VISTA y la y fenocopia de los ratones no activados de VISTA.

Debido a que las funciones de VISTA se unen y suprimen preferentemente las células T en pH ácido in vitro, se plantea la hipótesis de que la supresión mediada por VISTA de las respuestas antitumorales, tiene lugar predominantemente dentro del microambiente tumoral. Se analizó esta hipótesis usando el 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). En ratones con activación de VISTA humano implantados con tumores MC38, el tratamiento con anti-PD-1 solo provocó el rechazo del tumor en el 13% de los ratones y retrasó la progresión del tumor en aproximadamente el 20% de los ratones (**Fig. 24 J-M**). El tratamiento con ‘029 o ‘767 solo tuvo poco beneficio terapéutico (**Fig. 24 N y O**). En combinación con anti-PD-1, el tratamiento con ‘029 aumentó la tasa de rechazo del tumor a 50% (**Fig. 24 J-M**). Sorprendentemente, la eficacia del tratamiento de combinación '767 fue casi idéntica a la de '029 (tasa de rechazo del 56%, **Fig. 24 J-M**). Estos resultados sugieren que la actividad inmunosupresora de VISTA ocurre principalmente en microambientes de tumores ácidos, en lugar de en la sangre u otros tejidos no ácidos.

Se midió la semivida de P1-068767 (pH ácido selectivo) y P1-061029 (pH no selectivo) en

ratones con activación de VISTA humano. En ratones de tipo salvaje, la expresión alta de VISTA en células mieloides en sangre y órganos linfoides somete a los anticuerpos VISTA a la eliminación del fármaco mediada por diana (TMDD) y los tiempos de residencia medios en suero reducidos (MRT Fig. 24R). De manera similar, '029 tiene un MRT corto en ratones con activación de VISTA humano (4,1 horas, Fig. 24N). Como se muestra en la Fig. 24 N, 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 (por ejemplo, en la sangre en circulación) 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 el anticuerpo con pH preferido neutro 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 con 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 con 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. 24O). Estos datos muestran que '767 conserva su selectividad de pH ácido *in vivo*. 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 23: VISTA.4 inhibe la unión de VISTA a PSGL-1

Se identificó previamente el ligando de glicoproteína de P-selectina de inmunorreceptor 1 (PSGL-1) como un ligando de VISTA (ver WO2018132476). El PSGL-1 es un receptor para selectinas, particularmente, la P-selectina y la unión a su ligando primario, P-selectina, es un facilitador bien caracterizado de interacciones de adhesión entre leucocitos, plaquetas y células endoteliales (Carlow, D.A., et ál., 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): p. 265-273. 18). El PSGL-1 se ha identificado también como un regulador negativo de respuestas de linfocitos T en contextos de infección viral crónica, inmunidad tumoral y algunas enfermedades

autoinmunes (Angiari, S., et ál., 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 ál., 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 ál., 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 ál., PSGL-1 Is an Immune Checkpoint Regulator that Promotes T Cell Exhaustion. Immunity, 2016. 44(5): págs. 1190-203). Esta función inmunosupresora parece ser independiente de los ligandos PSGL-1 conocidos (Tinoco, R., et ál., 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 los linfocitos T CD4+ humanos activados. La eliminación del PSGL-1 de los linfocitos T CD4+ activados 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. Además, la calorimetría de titulación isotérmica (ITC) confirmó la interacción hPSGL1 y hVISTA y confirmó que la interacción ocurre a pH 6,0, pero no significativamente a pH 7,4. El ITC también indicó que la estequiometría está cerca de 1:1 para PSGL1-Fc con VISTA-Fc y que la KD a pH 6,0 está en el rango nM alto (2 mediciones a 0,65 µM y 0,85 µM). Se observó una unión aproximadamente 4 veces más débil a 37°C en comparación con 25°C. Cuando se usa VISTA-His en lugar de VISTA-Fc, se observó una KD de 2,73 µM, que es aproximadamente cuatro veces más débil que con VISTA-Fc, presumiblemente debido a la falta de avidez por VISTA etiquetada con His.

Este Ejemplo también 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 26A). El experimento se realizó con ensayos de biosensor Octet con VISTA, P-selectina y glucopéptido de PSGL-1 mínimo (aminoácidos 1-19, con ambas modificaciones postraduccionales de carbohidrato de sialilo de Lewis X y sulfotirosina) que previamente demostraron apoyar la unión de P-selectina de alta afinidad (Sako, D., et ál., 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

sialilo de Lewis X y sulfotirosina con carga negativa que se unen a la P-selectina con gran afinidad (Sako et ál. 1995 Cell 83(2): págs. 323-319), y linfocitos T sin tratar, lo cual expresa PSGL-1 decorado con sialilo de Lewis X, son, por consiguiente, incapaces de acoplar la P-selectina de forma eficaz. El PSGL-1 decorado con sialilo de Lewis X se expresa de forma constitutiva en monocitos y neutrófilos circulantes y se expresa de forma inducible en linfocitos T activados, congruente con una gran unión de VISTA a estos tipos de células a pH ácido. Sin embargo, se descubrió que VISTA se une a linfocitos T activados o sin tratar, lo que sugiere que a diferencia de la P-selectina, VISTA se une a PSGL-1 independientemente de sialilo de Lewis X. En ensayos de biosensores Octet adicionales, se descubrió que, mientras que VISTA y P-selectina se unieron ambos preferencialmente a los glucopéptidos de PSGL-1 con la decoración de sialilo de Lewis X, solamente VISTA se unió a glucopéptidos de PSGL-1 sin sialilo de Lewis X. 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 sialilo de Lewis X y se unen de forma escasa a P-selectina (Fig 29A). Por el contrario, PSGL-1 se unió a VISTA independientemente de sialilo de Lewis X (Fig 29A). Este resultado concuerda con la unión de VISTA, pero no de P-selectina, a los linfocitos T sin tratamiento previo que carecen de sialilo de Lewis X.

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 los linfocitos T, también bloquean la unión de VISTA al glucopéptido 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 sensores 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 26B. 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 uniera 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. 26C). En los ensayos de bloqueo de anticuerpo PSGL-1, las células se preincubaron con KPL-1 (BD Biosciences o Biolegend) o PL2 (MBL) 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 24: estructura cristalina de ‘767 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 27A-D). El dominio de IgV de VISTA es generalmente característico de su familia, con algún parecido a PD-L1 (Figura 24B). 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 con alto contenido de histidinas e inusualmente alargada (Figura 27B). El P1-068767, un anticuerpo de bloqueo, se une a VISTA en esta extensión de lámina β (Figura 27C), mientras que el anticuerpo VISTA.5 no bloqueante se une a una región diferente (Figura 27E). La extensión de lámina β de VISTA está cubierta por un bucle que conecta las cadenas β, que incluye los tres residuos de histidina: H121, H122 y H123. El anticuerpo de bloqueo '767 se une a esta

región, mientras que el anticuerpo no bloqueante VISTA.5 se une a una región diferente del dominio IgV (Fig. 27C y E, respectivamente). Los residuos E110 y D112 de la cadena pesada de P1-068767 (mostrados como E100 y D102 en la Fig. 27D) forman enlaces de hidrógeno con residuos de VISTA H121 y H122 respectivamente (Figura 27D). 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 suficientes para conferir la selectividad de pH ácido al anticuerpo. 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 pueda formar un enlace de hidrógeno auténtico con P1-068767 en ausencia del sulfato (Figura 27D). Se proporcionan interacciones adicionales en la Tabla 32. Estos datos sugieren que la extensión de lámina β con alto contenido de 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 protonación de histidina, particularmente en los residuos H153, H154 y H155 (H121, H122 y H123, respectivamente, en hVISTA maduro), puede conducir a la unión de VISTA selectiva de pH a su contra-receptor.

La Tabla 32 detalla las distancias en Ångström (Å), entre átomos de HC Fab ‘767 dentro de 4 Å de átomos de VISTA.

Tabla 32:

##	‘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]

----'------------------------'-------'--------------------

Las características adicionales, con respecto a la cristalografía, se proporcionan en la Tabla 33 a continuación:

Tabla 33: recolección de datos y estadísticas de refinamiento

	VISTA + VISTA. 18
Recolección de datos	
Grupo de espacio	
Dimensiones de célula	
*a, b, c (*Å)	66,17; 125,86; 192,04
α, β, γ (º)	90,0; 90,0; 90,0
Resolución (Å)	1,61-96,02 (1,61-1,81)*
R_{sym} o R_{merge}	0,049 (0,724)
$I / \sigma I$	18,75 (2,17)
Integridad (%)	88,6 (73,9)
Redundancia	6,46 (5,57)
Refinación	
Resolución (Å)	1,61-96,02 (1,61-1,73)
No. de reflejos	55883 (1063)
R_{work} / R_{free}	18,2/22,4 (24,3/25,8)
No. de átomos	
Proteína	4281
Ligando/ion	84
Agua	758
Factores B	
Proteína	33,97
Ligando/ion	82,40
Agua	42,13
Desviaciones R.m.s.	
Longitudes de enlace *(*Å)	0,008
Ángulos de enlace (º)	1,07

* Valores en paréntesis son para cubierta de máxima resolución

Ejemplo 25: La especificidad de unión de VISTA : PSGL-1 se determina mediante residuos histidina y sulfotirosina

Para caracterizar la especificidad de unión de PSGL-1, además de la proporcionada por sialilo de Lewis X (que se describe en el Ejemplo 23), 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 glucopéptidos de PSGL-1 en picos con alto contenido de sulfotirosina (> 90 %) y con bajo contenido de sulfotirosina (< 1 %) mediante cromatografía líquida de intercambio de aniones. Ni VISTA ni P-selectina se unieron de forma detectable a PSGL-1 con bajo contenido de sulfotirosina (Fig. 28B y I). VISTA tampoco pudo unirse a los glucopéptidos de PSGL-1 en los cuales las tirosinas se sustituyeron con alaninas (Fig. 28J). 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 (numerados en hVISTA con secuencia de señal, y correspondientes a H121, H122 y H123, respectivamente, en VITA humano maduro; ver Ejemplo 24). El remplazo de estos residuos histidina con ácido aspártico negativamente cargado (H2D) redujo significativamente la unión de VISTA a PSGL-1 recombinante y células CHO-PSGL-1 (Figs. 29C-D). En contraste, el reemplazo con residuos de arginina (H2R) cargados positivamente (la cadena lateral cargada positivamente imita a la histidina protonada) dejó la unión de VISTA y la función a pH ácido intacto, aunque no confirió la unión a pH 7.4 (Fig. 28C-D y F). El reemplazo con alanina no cargada (H2A) tuvo efectos intermedios (Fig. 8-D). Las pruebas funcionales recapitularon estos datos de enlace; la VISTA mutante H2R suprimió la activación de las células T a pH ácido tan potentemente como la VISTA natural, mientras que la VISTA mutante H2D tuvo poco efecto (Fig. 28F). Los anticuerpos VISTA bloqueadores y no bloqueadores se unen de manera comparable a las proteínas VISTA de tipo salvaje y todas las mutantes (Figs. 28G y H). Estos resultados sugieren que la protonación de los residuos de VISTA H153, H154, H155, y potencialmente otras histidinas, es necesaria para la unión de PSGL-1.

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.

Luego, usamos las estructuras resueltas de PSGL-1 unido a P-selectina (Somers, W. S., Tang, J., Shaw, G. D. & Camphausen, R. T. Cell 103, 467-479 (2000) y VISTA unido a P1-068767 Fab (Fig. 27) para desarrollar un modelo informático del glucopéptido 19-mer PSGL-

1 acoplado a VISTA (Fig. 28E y K). En este modelo, los residuos tirosina de PSGL-1 Y46 y Y48 sulfatados establecen interacciones iónicas con residuos histidina VISTA H153 y H154 (distancias de 2,5 – 3,0 Å). Los residuos PSGL-1 E56 y Y51 sulfatados están más alejados de VISTA, pero pueden interactuar con un bucle flexible, rico en histidina que abarca los residuos de VISTA 99-110. 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 sialilo de Lewis X, a algunos puntos de distancia de VISTA, lo que concuerda con la influencia insignificante de sialilo de Lewis X en la unión de VISTA: PSGL-1. En conjunto, estos datos y modelos sugieren que la unión de VISTA a PSGL-1 a pH ácido se ve impulsada principalmente por los residuos histidina VISTA H153, H154 y H155, y por los residuos tirosina (sulfotirosina) sulfatados de PSGL-1 Y46 y Y48. Estos resultados sugieren que los residuos de histidina VISTA protonados y los residuos de tirosina PSGL-1 sulfatados impulsan la unión.

Recientemente se informó que VISTA se une al dominio de inmunoglobulina V-set que contiene 3 (VSIG-3), un receptor de superficie expresado en el cerebro, los testículos y algunos tejidos cancerosos (Wang, J. et al. VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function. Immunology 156, 74-85 (2019)). De acuerdo con este informe, observamos la unión de VISTA recombinante a VSIG-3 recombinante. VISTA: La unión de VSIG-3 se mejoró moderadamente a pH ácido. Sin embargo, VSIG-3 recombinante no se unió específicamente a las células que expresaban VISTA, y VISTA recombinante no se unió específicamente a las células que expresaban VSIG-3. VSIG3 tampoco pudo competir con PSGL-1 para unirse a VISTA. Estos datos sugieren que VSIG-3 no es probable que afecte la unión de las células T mediadas por VISTA: PSGL-1.

En los ensayos de unión de VSIG-3, las células CHO y HEK293 se diseñaron para expresar ectópicamente VSIG-3 humano y VISTA respectivamente. La expresión de VSIG-3 se confirmó mediante citometría de flujo utilizando anti-VSIG-3 (pAb AF4915, R&D Systems). La expresión de VISTA se confirmó mediante citometría de flujo utilizando anti-VISTA (clon 740804, R&D Systems). Los ensayos de unión celular se realizaron en tampones de PBS que contenían CaCl2 0,9 mM, MgCl2 0,05 mM y BSA al 0,5% que se ajustaron al pH indicado variando las proporciones de Na2HPO4 y KH2PO4. VISTA-Fc y VSIG-3-Fc se utilizaron a 10 µg/ml. La unión se detectó con anti-IgG humana PE2 (Invitrogen).

También se ha informado que VISTA participa en la unión homotípica (Yoon, K. W. et al. Control of signaling-mediated clearance of apoptotic cells by the tumor suppressor p53. Science 349, 1261669 (2015)), aunque no podemos detectar esta interacción en

condiciones ácidas. o pH neutro.

Para analizar más a fondo el papel potencial de H98 y H100 de VISTA en la unión a los anticuerpos PSGL1 y VISTA, se determinó el impacto de la histidina en alanina, arginina y mutaciones de ácido aspártico en H98 y H100 individualmente y en combinación con las mutaciones H153, H154 y H155. en hVISTAFc (Fc humano). Estas muestras de fusión con Fc se produjeron en células Expi293 transfectadas transitoriamente, normalizadas a aproximadamente 250 nM en pH 6 o 7,4 tampón. Las respuestas de unión, que se muestran en la Figura 29, están sujetas a referencia (sensor bloqueado) y son las respuestas a huPSGL1 500 nM, o 250 nM cada anticuerpo indicado.

Los datos, que se muestran en la Figura 29, implican a H98 / H100 de hVISTA en la unión a PSGL1, y (como se espera en base al ensayo de visualización de la superficie de la levadura descrito anteriormente) también es importante en la unión de los anticuerpos selectivos ácidos P1-068761 ('761) y P1-068767 (' 767). De acuerdo con los datos anteriores, VISTA.5 y P1-061029 se unen a todos los mutantes. Al igual que con el mutante H153R / H154 / H155R, el mutante H98R / H100R retuvo la unión de PSGL1, al igual que la combinación quintuplicante de mutantes. Por lo tanto, estos datos confirman aún más el papel de los residuos de histidina 98 y 100 en hVISTA en la mediación de la unión a PSGL1 y a los anticuerpos selectivos de pH ‘761 y ‘767.

Tabla de secuencias

La que figura a continuación es una tabla de ciertas secuencias a las que se hace referencia en esta solicitud. En la 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 de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH están ubicadas en las posiciones de aminoácido que comprenden los aminoácidos 26-35, 50-66 y 99-110, respectivamente, y las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de VL están ubicadas en las posiciones de aminoácido que comprenden los aminoácidos 24-35, 51-57 y 90-98, respectivamente. La CDR1 de VH está numerada de acuerdo con AbM (AA 26-35; Abhinandan y Martin (2008) Mol. Immunol. 45:3832-3839; Swindells et ál. (2017) J. Mol. Biol. 429:356-364) y todas las otras CDR (CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1-3 de VL) están numeradas según Kabat. Las secuencias de CDR de especies particulares de anticuerpos están en negrita y subrayadas debajo en sus secuencias de 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 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 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 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 del extremo N 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 humPSGL-1 isoforma 1, sin péptido señal NP_001193538	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP 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 QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QT
11	P1-069059 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSDHIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
12	P1-069059 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
13	P1-069059 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
14	P1-069059 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	P1-069061 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS

16	P1-069061 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
17	P1-069061 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
18	P1-069061 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	P1-069063 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID ADDE**WGQGTMVTVSS
20	P1-069063 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
21	P1-069063 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID ADDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
22	P1-069063 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	P1-069065 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSDDIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
24	P1-069065 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
25	P1-069065 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSDDIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

26	P1-069065 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	P1-069067 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID ADDE**WGQGTMVTVSS
28	P1-069067 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
29	P1-069067 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID ADDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
30	P1-069067 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	P1-069069 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID ADDV**WGQGTMVTVSS
32	P1-069069 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
33	P1-069069 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID ADDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
34	P1-069069 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	P1-069071 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSADIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSEGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
36	P1-069071 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

37	P1-069071 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSADIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSEGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
38	P1-069071 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	P1-069073 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
40	P1-069073 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
41	P1-069073 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
42	P1-069073 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	P1-069075 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW DSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
44	P1-069075 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
45	P1-069075 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW DSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

46	P1-069075 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
47	P1-069077 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSDEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
48	P1-069077 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
49	P1-069077 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSDEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
50	P1-069077 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	P1-068761 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
52	P1-068761 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
53	P1-068761 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
54	P1-068761 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	P1-068767 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
56	P1-068767 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

57	P1-068767 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
58	P1-068767 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	P1-068773 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSDNIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
60	P1-068773 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
61	P1-068773 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSDNIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
62	P1-068773 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	P1-068765 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTDEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
64	P1-068765 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
65	P1-068765 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTDEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

66	P1-068765 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	P1-061029 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
68	P1-061029 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
69	P1-061029 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
70	P1-061029 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
71	P1-068757 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
72	P1-068757 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
73	P1-068757 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
74	P1-068757 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	P1-068771 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSHEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
76	P1-068771 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

77	P1-068771 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSHEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
78	P1-068771 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
79	P1-068775 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
80	P1-068775 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
81	P1-068775 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
82	P1-068775 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	P1-068769 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSDHIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
84	P1-068769 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
85	P1-068769 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSDHIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

86	P1-068769 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	P1-068759 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
88	P1-068759 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
89	P1-068759 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
90	P1-068759 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	P1-068763 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
92	P1-068763 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
93	P1-068763 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
94	P1-068763 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	P1-061015 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYD GSNKYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYSSYYFD Y**WGQGTLVTVSS
96	P1-061015 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK

97	P1-061015 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYD GSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYSSYYFD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
98	P1-061015 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	P1-068748 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSHHAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWY DGSNDDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDY**WGQGTLVTVSS
100	P1-068748 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
101	P1-068748 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHHAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWY DGSNDDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
102	P1-068748 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	P1-068744 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**HIWY DGSNKYEADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYESYYF DE**WGQGTLVTVSS
104	P1-068744 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
105	P1-068744 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHWVRQAPGKGLEWVAHIWY DGSNKYEADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYESYYF DEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

106	P1-068744 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	P1-068736 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IDWY DGSNKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDD**WGQGTLVTVSS
108	P1-068736 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
109	P1-068736 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHWVRQAPGKGLEWVAIDWY DGSNKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
110	P1-068736 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	P1-068752 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**EIWY DGSNKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDE**WGQGTLVTVSS
112	P1-068752 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
113	P1-068752 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAEIWY DGSNKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
114	P1-068752 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	P1-068740 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWY DGSDKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDD**WGQGTLVTVSS
116	P1-068740 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK

117	P1-068740 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYD GSDKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYFD DWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
118	P1-068740 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	P1-068742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWY DGSDKDYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYEDYY FDY**WGQGTLVTVSS
120	P1-068742 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
121	P1-068742 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYD GSDKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYEDYYFD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
122	P1-068742 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	P1-068746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWYD GSNHHYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYYF DY**WGQGTLVTVSS
124	P1-068746 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNR AT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
125	P1-068746 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYD GSNHHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYFD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG

126	P1-068746 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	P1-068750 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDMH**WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DEEFYSSYYFDY**WGQGTLVTVSS
128	P1-068750 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
129	P1-068750 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWVRQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEEFYSSYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	P1-068750 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	P1-068738 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAHH**WVRQAPGKGLEWVA**IIWDDGSNHYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYEDYYFDY**WGQGTLVTVSS
132	P1-068738 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
133	P1-068738 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAHHWVRQAPGKGLEWVAIIWDDGSNHYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYEDYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
134	P1-068738 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
135	P1-068754 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDMH**WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFHSDYYFDY**WGQGTLVTVSS
136	P1-068754 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK

137	P1-068754 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWVRQAPGKGLEWVAEIWD DGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFHSDYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
138	P1-068754 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
139	P1-069293 VH (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
140	P1-069293 VL (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
141	P1-069293 HC (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
142	P1-069293 LC (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
143	P1-069298 VH (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
144	P1-069298 VL (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
145	P1-069298 HC (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

146	P1-069298 LC (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
147	P1-069302 VH (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
148	P1-069302 VL (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
149	P1-069302 HC (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
150	P1-069302 LC (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
151	P1-069312 VH (P1-068761.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
152	P1-069312 VL (P1-068761.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
153	P1-069312 HC (P1-068761.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
154	P1-069312 LC (P1-068761.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
155	P1-069309 VH (P1-068767.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
156	P1-069309 VL (P1-068767.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

157	P1-069309 HC (P1-068767.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
158	P1-069309 LC (P1-068767.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
159	P1-069307 VH (P1-061029.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
160	P1-069307 VL (P1-061029.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
161	P1-069307 HC (P1-061029.IgG1f afucosilado)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
162	P1-069307 LC (P1-061029.IgG1f afucosilado)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
163	IgG1.3 (o IgG1.3f) Región constante de cadena pesada (L234A, L235E, G237A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
164	Región constante de cadena ligera ejemplar	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
165	VISTA humano NP_071436.1 (Fig. 1B)	Ver Fig. 1B
166	VISTA de cyno 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 chip oligo (Fig. 7A)	**X**PG**X**SGGWIDAFDV
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 de cadena pesada de IgG1f (humana tipo salvaje alotipo f)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
183	IgG1.1f Región constante de cadena pesada (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
184	Región constante de cadena pesada de IgG1fa.P238K (o IgG1.P238K)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
185	P1-070864 P1-068761_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS

186	P1-070864 P1-068761_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
187	P1-070864 P1-068761_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
188	P1-070864 P1-068761_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
189	P1-070866 P1-068761_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
190	P1-070866 P1-068761_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
191	P1-070866 P1-068761_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
192	P1-070866 P1-068761_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
193	P1-070868 P1-068761_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
194	P1-070868 P1-068761_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

195	P1-070868 P1-068761_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
196	P1-070868 P1-068761_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
197	P1-070870 P1-068761_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
198	P1-070870 P1-068761_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
199	P1-070870 P1-068761_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
200	P1-070870 P1-068761_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
201	P1-070872 P1-068761_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
202	P1-070872 P1-068761_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
203	P1-070872 P1-068761_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

204	P1-070872 P1-068761_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
205	P1-070874 P1-068761_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AFDV**WGQGTMVTVSS
206	P1-070874 P1-068761_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
207	P1-070874 P1-068761_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
208	P1-070874 P1-068761_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
209	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AEDV**WGQGTMVTVSS
210	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
211	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
212	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
213	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AEDV**WGQGTMVTVSS
214	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

215	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
216	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
217	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
218	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
219	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
220	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
221	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
222	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
223	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

224	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
225	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AEDV**WGQGTMVTVSS
226	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
227	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
228	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
229	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID** **AEDV**WGQGTMVTVSS
230	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
231	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
232	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
233	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AFDV**WGQGTMVTVSS
234	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

235	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
236	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
237	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
238	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
239	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
240	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
241	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
242	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
243	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

244	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
245	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID** **AEDV**WGQGTMVTVSS
246	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
247	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
248	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
249	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSEEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AFDV**WGQGTMVTVSS
250	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
251	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
252	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
253	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSAEIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID** **AFDV**WGQGTMVTVSS
254	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

255	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
256	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
257	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
258	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
259	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
260	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
261	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
262	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
263	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

264	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
265	P1-070904 P1-068767_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
266	P1-070904 P1-068767_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
267	P1-070904 P1-068767_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
268	P1-070904 P1-068767_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
269	P1-070906 P1-068767_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
270	P1-070906 P1-068767_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
271	P1-070906 P1-068767_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
272	P1-070906 P1-068767_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
273	P1-070908 P1-068767_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
274	P1-070908 P1-068767_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

275	P1-070908 P1-068767_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
276	P1-070908 P1-068767_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
277	P1-070910 P1-068767_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDD**WGQGTMVTVSS
278	P1-070910 P1-068767_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
279	P1-070910 P1-068767_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
280	P1-070910 P1-068767_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
281	P1-070912 P1-068767_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
282	P1-070912 P1-068767_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
283	P1-070912 P1-068767_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

284	P1-070912 P1-068767_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
285	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID** **AEDD**WGQGTMVTVSS
286	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
287	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
288	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
289	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW** **NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID** **AEDD**WGQGTMVTVSS
290	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
291	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
292	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
293	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW** **NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID** **AFDD**WGQGTMVTVSS
294	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

295	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
296	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
297	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMHW**VRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDV**WGQGTMVTVSS
298	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
299	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
300	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
301	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDD**WGQGTMVTVSS
302	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
303	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

304	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
305	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDD**WGQGTMVTVSS
306	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYL**AWYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
307	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
308	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
309	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AEDV**WGQGTMVTVSS
310	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
311	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
312	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
313	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AFDD**WGQGTMVTVSS
314	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

315	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AFDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
316	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
317	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GINW NSENIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AED**VWGQGTMVTVSS
318	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
319	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINW NSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
320	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
321	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**WVRQAPGKGLEWVS**GIDW NSANIGYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGWID AED**VWGQGTMVTVSS
322	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
323	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIDW NSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWID AEDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

324	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
325	hVISTA-ECD etiqueta 6-His	AFKVATPYSL YVCPEGQNVT LTCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENI TAHHHHHHH
326	VISTA-ECD cyno 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	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGACCATATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
328	ADN P1-069059 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
329	ADN P1-069061 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
330	ADN P1-069061 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

331	ADN P1-069063 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
332	ADN P1-069063 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
333	ADN P1-069065 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGACGACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
334	ADN P1-069065 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
335	ADN P1-069067 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
336	ADN P1-069067 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

337	ADN P1-069069 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGACGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
338	ADN P1-069069 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
339	ADN P1-069071 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGAAGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
340	ADN P1-069071 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
341	ADN P1-069073 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
342	ADN P1-069073 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

343	ADN P1-069075 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGGACAGTGCTGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
344	ADN P1-069075 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
345	ADN P1-069077 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGACGAAATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
346	ADN P1-069077 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
347	ADN P1-068761 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
348	ADN P1-068761 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

349	ADN P1-068767 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
350	ADN P1-068767 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
351	ADN P1-068773 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGATAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
352	ADN P1-068773 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
353	ADN P1-068765 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCGATGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
354	ADN P1-068765 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

355	ADN P1-061029 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
356	ADN P1-061029 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
357	ADN P1-068757 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
358	ADN P1-068757 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
359	ADN P1-068771 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTCATGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
360	ADN P1-068771 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

361	ADN P1-068775 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
362	ADN P1-068775 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
363	ADN P1-068769 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGATCACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
364	ADN P1-068769 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
365	ADN P1-068759 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
366	ADN P1-068759 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

367	ADN P1-068763 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
368	ADN P1-068763 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
369	ADN P1-061015 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG TATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGC CGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACTCCTCGT ACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
370	ADN P1-061015 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
371	ADN P1-068748 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTCACCATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG TATGATGGAAGTAATGACGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCG TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
372	ADN P1-068748 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA

373	ADN P1-068744 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACATATATG GTATGATGGAAGTAATAAATACGAGGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAATC GTACTACTTTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
374	ADN P1-068744 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
375	ADN P1-068736 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTGATTG GTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTC GTACTACTTTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
376	ADN P1-068736 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
377	ADN P1-068752 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGAGATATG GTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTC GTACTACTTTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
378	ADN P1-068752 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA

379	ADN P1-068740 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG TATGATGGAAGTGATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCG TACTACTTTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
380	ADN P1-068740 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
381	ADN P1-068742 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG TATGATGGAAGTGATAAAGACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGAT TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
382	ADN P1-068742 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
383	ADN P1-068746 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG TATGATGGAAGTAATCACCACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCG TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
384	ADN P1-068746 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA

385	ADN P1-068750 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGACATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGAGATATG GGATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGAGGAATTTTACTCCTC GTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
386	ADN P1-068750 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
387	ADN P1-068738 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCCATCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATGG GATGATGGAAGTAATCACTACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGAT TACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
388	ADN P1-068738 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA
389	ADN P1-068754 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGACATGCA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGAGATATG GGATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTCACTCCGA TTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
390	ADN P1-068754 VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCC AACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAA

391	ADN P1-070864 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
392	ADN P1-070864 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
393	ADN P1-070866 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
394	ADN P1-070866 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
395	ADN P1-070868 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
396	ADN P1-070868 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

397	ADN P1-070870 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
398	ADN P1-070870 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
399	ADN P1-070872 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
400	ADN P1-070872 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
401	ADN P1-070874 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
402	ADN P1-070874 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

403	ADN P1-070876 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
404	ADN P1-070876 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
405	ADN P1-070878 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
406	ADN P1-070878 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
407	ADN P1-070880 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
408	ADN P1-070880 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

409	ADN P1-070882 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
410	ADN P1-070882 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
411	ADN P1-070884 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
412	ADN P1-070884 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
413	ADN P1-070886 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
414	ADN P1-070886 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

415	ADN P1-070888 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
416	ADN P1-070888 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
417	ADN P1-070890 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
418	ADN P1-070890 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
419	ADN P1-070892 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
420	ADN P1-070892 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

421	ADN P1-070894 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
422	ADN P1-070894 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
423	ADN P1-070896 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
424	ADN P1-070896 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
425	ADN P1-070898 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
426	ADN P1-070898 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

427	ADN P1-070900 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
428	ADN P1-070900 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
429	ADN P1-070902 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
430	ADN P1-070902 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
431	ADN P1-070904 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
432	ADN P1-070904 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

433	ADN P1-070906 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
434	ADN P1-070906 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
435	ADN P1-070908 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
436	ADN P1-070908 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
437	ADN P1-070910 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
438	ADN P1-070910 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

439	ADN P1-070912 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
440	ADN P1-070912 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
441	ADN P1-070914 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
442	ADN P1-070914 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
443	ADN P1-070916 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
444	ADN P1-070916 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

445	ADN P1-070918 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
446	ADN P1-070918 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
447	ADN P1-070920 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
448	ADN P1-070920 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
449	ADN P1-070922 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
450	ADN P1-070922 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

451	ADN P1-070924 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
452	ADN P1-070924 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
453	ADN P1-070926 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
454	ADN P1-070926 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
455	ADN P1-070928 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
456	ADN P1-070928 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

457	ADN P1-070930 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAAT TGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
458	ADN P1-070930 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA
459	ADN P1-070932 VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCA CTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGAT TGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAA CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGC TGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
460	ADN P1-070932 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCT GGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATC CAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTAC TGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGA TATCAAA

461	ADN de región constante de cadena pesada de IgG1.3	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGCG TCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCT CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCT TCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
462	Ejemplo de ADN de región constante de cadena ligera	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGA GGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG AGTGTTAG
463	VISTA.4 VH 41F11 Se subraya la secuencia señal	MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLEWVSYISNSGSPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSS

464	VISTA.4 VK1 VL 41F11 Se subraya la secuencia señal	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSASGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIK
465	VISTA.4 VK2 VL 41F11 Se subraya la secuencia señal	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLA WYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QYNSYPRTFGQGTKVEIK
466	VISTA.4 VK3 VL 41F11 Se subraya la secuencia señal	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTKVEIK
467	ADN VISTA.4 VH 41F11 Se subraya la secuencia señal	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTTGTTGCTATTATAAAAGGTGTCCAG TGTCAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATTACATGA GCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAG TAATAGTGGTAGTCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA TCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTCCCGGGCTGGTACT TCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA
468	ADN de VISTA.4 VK1 VL Se subraya la secuencia señal	ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATAC CACCGGAGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTT AGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATG CATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGCCAGTGGGTCTGG GACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTA TTACTGTCAGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAG GTGGAAATCAAA
469	ADN de VISTA.4 VK2 VL Se subraya la secuencia señal	ATGGACATGAGGGTCCTCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGTTTCCC AGGTGCCAGATGTGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCAT CTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGA CCAAGGTGGAAATCAAA
470	ADN de VISTA.4 VK3 VL Se subraya la secuencia señal	ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATAC CACCGGAGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG GTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACC AAGGTGGAAATCAAA
471	VISTA.4.A64G VK1 VL Se subraya la secuencia señal	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIK

472	VISTA.4.A64G LC Se subraya la secuencia señal	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
473	P1-065333 VH 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/ L96E/Y100E VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEPGWEFDLWG RGTLVTVSS
474	P1-070976 VH 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/ D95H/L96E/P97E/Y100E VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHEEGWEFDLWG RGTLVTVSS
475	P1-065333 HC 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/ L96E/Y100E HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEPGWEFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
476	P1-070976 HC 41F11_VH_T28P/Y50W/S55E/ D95H/L96E/P97E/Y100E HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHEEGWEFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
477	P1-071799 VH P1-070976_H95D VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEEGWEFDLWG RGTLVTVSS
478	P1-071801 VH P1-070976_E97P VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHEPGWEFDLWG RGTLVTVSS
479	VISTA.4.A64G VK1 VL P1-071799 VL P1-070976_H95D VL P1-070976_E97P VL P1-070976_A64G VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIK

480	P1-071799 HC P1-070976_H95D HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEEGWEFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
481	P1-071801 HC P1-070976_ E97P HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSWISNS GEPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHEPGWEFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
482	VISTA.4.A64G VK1 LC P1-071799 LC P1-070976_H95D LC P1-070976_E97P LC P1-070976_A64G LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
483	P1-071799 VH ADN de P1-070976_H95D VH	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGACTATTACATGAG CTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATGGATTAGT AATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGAAGAGGGCTGGGAGTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA
484	P1-071801 VH ADN de P1-070976_E97P VH	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGACTATTACATGAG CTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATGGATTAGT AATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATGAACCGGGCTGGGAGTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA
485	P1-071799 VL ADN de P1-070976_H95D VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGT ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAAC AGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAA

486	P1-071801 VL ADN de P1-070976_E97P VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGT ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAAC AGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAA
487	P1-071799 HC ADN de P1-070976_H95D HC	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGACTATTACATGAG CTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATGGATTAGT AATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGAAGAGGGCTGGGAGTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCGTCGACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACA CCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA

488	P1-071799 HC ADN de P1-070976_ E97P HC	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCC CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGTGACTATTACATGAG CTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATGGATTAGT AATAGTGGTGAGCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCAT CTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG CCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATGAACCGGGCTGGGAGTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCGTCGACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT GTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACA CCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
489	P1-071799 LC ADN de P1-070976_H95D LC	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGT ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAAC AGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCA GAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTG CGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTAG

490	P1-071799 LC ADN de P1-070976_ E97P LC	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGT ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAAC AGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT TCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTC AGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCA GAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC AGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTG CGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTAG
491	VISTA.4 HC (IgG1.3)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISNS GSPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPGWYFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
492	VISTA.4 VH 41F11 sin secuencia señal	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISNS GSPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPGWYFDLWG RGTLVTVSS
493	VISTA.4 VK1 VL sin secuencia señal	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSASGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIK
494	VISTA.4 LC sin secuencia señal	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSASGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
495	VISTA.5. VH	AVQLQESGPGLVRPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGSKLEWLGFIGYS GNTNYNPSLESRISITRHTSKNQFFLHLNSMTTEDTATYYCARSLYGGSHWYFDV WGAGTTVTVSS
496	VISTA.5 VK1 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRGSESVEYYGTILMQWYQQKPGQPPKLLIYGAS NVESGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
497	hVISTA residuos 86 a 97	RRPIRNLTFQDL
498	hVISTA residuos 57 a 68	LGPVDKGHDVTF
499	hVISTA residuos 148 a 165	VVEIRHHHSEHRVHGAME
500	VL CDR1 VISTA.4	RASQSVSSYLA
501	VL CDR2 VISTA.4	DASNRAT
502	VL CDR3 VISTA.4	QQRNNWPRT
503	VH CDR1 VISTA.4	GFTFSDYYMS
504	VH CDR2 VISTA.4	YISNSGSPIYYADSVKG
505	VH CDR3 VISTA.4	DLPGWYFDL
506	VH CDR1 P1-065333	GFPFSDYYMS
507	VH CDR2 P1-065333	WISNSGEPIYYADSVKG

508	VH CDR3 P1-065333	DEPGWEFDL
509	VH CDR1 P1-070976	GFPFSDYYMS
510	VH CDR2 P1-070976	WISNSGEPIYYADSVKG
511	VH CDR3 P1-070976	HEEGWEFDL
512	VH CDR1 P1-070976 H95D (P1-071799)	GFPFSDYYMS
513	VH CDR2 P1-070976 H95D (P1-071799)	WISNSGEPIYYADSVKG
514	VH CDR3 P1-070976 H95D (P1-071799)	DEEGWEFDL
515	VH CDR1 P1-070976 E97P (P1-071801)	GFPFSDYYMS
516	VH CDR2 P1-070976 E97P (P1-071801)	WISNSGEPIYYADSVKG
517	VH CDR3 P1-070976 E97P (P1-071801)	HEPGWEFDL

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a VISTA humano (hVISTA) en condiciones ácidas.

2. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1, que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, pero no de manera significativa en condiciones neutras o fisiológicas.

3. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1 o 2, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10 veces más baja que su K_D en condiciones neutras o fisiológicas.

4. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 100 veces más baja que su K_D en condiciones neutras o fisiológicas.

5. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 1000 veces más baja que su K_D en condiciones neutras o fisiológicas.

6. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-5} M o mayor.

7. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-4} M o mayor.

8. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-3} M o mayor.

9. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-7} M o menor.

10. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-8} M o menor.

11. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-9} M o menor.

12. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-7} o menor y se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-4} o mayor.

13. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-7} o menor y se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-5} o mayor.

14. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 5 veces más baja que su

k_{off} en condiciones neutras o fisiológicas.

15. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 10 veces más baja que su k_{off} en condiciones neutras o fisiológicas.

16. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 50 veces más baja que su k_{off} en condiciones neutras o fisiológicas.

17. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 100 veces más baja que su k_{off} en condiciones neutras o fisiológicas.

18. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 7×10^{-3} s^{-1} o menor.

19. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 5×10^{-3} s^{-1} o menor.

20. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 3×10^{-3} s^{-1} o menor.

21. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o menor.

22. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 7×10^{-4} s^{-1} o menor.

23. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 5×10^{-4} s^{-1} o menor.

24. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 3×10^{-4} s^{-1} o menor.

25. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 10^{-4} s^{-1} o menor.

26. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-25, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 7×10^{-5} s^{-1} o menor.

27. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 5×10^{-5} s^{-1} o menor.

28. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 3×10^{-5} s^{-1} o menor.

29. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-28, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 10^{-5} s^{-1} o menor.

30. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, donde el anticuerpo se

une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 10^{-3} s^{-1} o mayor.

31. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 3 x 10^{-3} s^{-1} o mayor.

32. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-31, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 5 x 10^{-3} s^{-1} o mayor.

33. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-32, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-3} s^{-1} o mayor.

34. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-33, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o mayor.

35. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-34, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 3 x 10^{-2} s^{-1} o mayor.

36. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-35, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 5 x 10^{-2} s^{-1} o mayor.

37. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-36, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-2} s^{-1} o mayor.

38. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-37, donde la unión del anticuerpo a hVISTA en condiciones neutras o fisiológicas no es detectable, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR).

39. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-38, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 5 x 10^{-3} s^{-1} o menor y en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 7 x 10^{-3} s^{-1} o mayor.

40. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} de 10^{-4} s^{-1} o menor y en condiciones neutras o fisiológicas con una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o mayor.

41. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-40, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-8} M o menor y una k_{off} de 5 x 10^{-3} s^{-1} o menor y en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-6} M o mayor y una k_{off} de 7 x 10^{-3} s^{-1} o mayor.

42. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-41, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-8} M o menor y una k_{off} de 3 x 10^{-3} s^{-1} o menor y en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-6} M o mayor y una k_{off} de 10^{-2} s^{-1} o mayor.

43. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-42, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-12} a 10^{-8} M y una k_{off} de 10^{-4} a 5 x 10^{-3} s^{-1} y en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-7} a 10^{-4} M y una k_{off} de 3 x 10^{-3} a

10^{-2} s^{-1} o mayor.

44. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-43, donde el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-12} a 10^{-8} M y una k_{off} de 10^{-4} a 5 x 10^{-3} s^{-1} y en condiciones neutras o fisiológicas con una K_D de 10^{-7} a 10^{-4} M y una k_{off} de 3 x 10^{-3} a 10^{-2} s^{-1} o más; y donde el anticuerpo se une a VISTA de cyno con una K_D de 10^{-7} o menor.

45. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, donde el anticuerpo se une a hVISTA con una K_D que es al menos 10 veces menor a pH 6,9 que a pH 7,4 y/o una K_D que es al menos 100 veces menor a pH 6,5 que a pH 7,4 y al menos 1000 veces menor a pH 6,0 que a pH 7,4.

46. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-45, donde el anticuerpo se une específicamente a VISTA de cynomolgus (cyno).

47. El anticuerpo aislado de la reivindicación 46, donde el anticuerpo se une a VISTA de cyno con afinidad más alta en condiciones ácidas en relación con condiciones fisiológicas.

48. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 45-47, donde el anticuerpo se une a VISTA de cyno en condiciones ácidas con una K_D de 10^{-8} o menor y/o una k_{off} de 10^{-2} o menor y en condiciones fisiológicas con una K_D de 10^{-6} o mayor y/o una k_{off} de 10^{-2} o mayor.

49. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-48, donde las condiciones ácidas son condiciones que tienen un pH de 6,5 o menor.

50. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-49, donde las condiciones ácidas son condiciones que tienen un pH de 6,0 a 6,5.

51. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-50, donde las condiciones neutras son condiciones que tienen un pH de 7,0.

52. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-51, donde las condiciones fisiológicas son condiciones que tienen un pH de 7,35 a 7,45.

53. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-52, donde las condiciones fisiológicas son condiciones que tienen un pH de 7,4.

54. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-53, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a linfocitos T humanos, tales como linfocitos T CD4+ humanos (un anticuerpo antagonista).

55. El anticuerpo aislado de la reivindicación 54, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a linfocitos T humanos en condiciones que tienen un pH menor que pH 7,0.

56. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-55, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a PSGL-1 humano (huPSGL-1) y/o el Ab compite con huPSGL1 para la unión a hVISTA.

57. El anticuerpo aislado de la reivindicación 56, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a huPSGL-1 en condiciones que tienen un pH menor que pH 7,0.

58. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-57, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a proteoglicanos de heparán sulfato.

59. El anticuerpo aislado de la reivindicación 58, donde el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a proteoglicanos de heparán sulfato en condiciones que tienen un pH menor que pH 7,0.

60. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 55, 57 o 59, donde una afección que tiene un pH menor que pH 7,0 es un tumor o cualquier área enferma que tiene un pH menor que pH 7,0 en un sujeto y en el cual se desea una estimulación del sistema inmunitario.

61. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-60, donde el anticuerpo estimula la activación de linfocitos T, como se demuestra, por ejemplo, al mejorar la proliferación de linfocitos T; mejorar la producción de IFN-γ a partir de linfocitos T; y/o estimular la señalización de NF-kB mediada por el receptor de linfocitos T, según se determina; por ejemplo, como se describió en los Ejemplos.

62. El anticuerpo aislado de cualquiera de la reivindicación 61, donde el anticuerpo estimula la activación de linfocitos T en condiciones que tienen un pH menor que pH 7,0.

63. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-62, donde el anticuerpo reduce la adhesión célula-célula mediada por VISTA.

64. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-63, donde el anticuerpo tiene un tiempo de residencia promedio (MRT) de al menos 100, 200, 300, 400 o 500 días en macacos cynomolgus.

65. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-64, donde el anticuerpo no se une de manera significativa a células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al cual se le administra el anticuerpo.

66. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-65, donde el anticuerpo no agota de manera significativa las células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al cual se le administra el anticuerpo.

67. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-66, donde el anticuerpo ha sido modificado genéticamente para unirse a hVISTA a pH ácido, pero donde el anticuerpo no se une específicamente a hVISTA, a pH neutro o fisiológico.

68. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-67, donde el anticuerpo se une a la región con alto contenido de histidina de hVISTA o a la región cercana a esta, tal como la extensión de lámina ß con alto contenido de histidinas.

69. El anticuerpo aislado de la reivindicación 68, donde el anticuerpo se une a la región con alto contenido de histidina de hVISTA o a la región cercana a esta, tal como la extensión de lámina ß con alto contenido de histidinas, en condiciones con un pH 6,0-6,5.

70. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-68, donde el anticuerpo compite o compite en forma cruzada por la unión a hVISTA con uno o más anticuerpos descritos en la presente, por ejemplo, que comprenden la VH y la 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, P1-069077, 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 o 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, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, VISTA.4 o un derivado de estos, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3), según se determina, por ejemplo, mediante el ensayo de preclasificación de epítopos de BLI descrito en el Ejemplo 15.

71. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-70, donde el anticuerpo se une al Grupo A de epítopos, según se determina, por ejemplo, mediante ensayo de preclasificación de epítopos de BLI competitivo descrito en el Ejemplo 15.

72. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-70, donde el anticuerpo no se une de manera significativa a hVISTA, en el cual se han mutado uno o varios de los siguientes residuos de aminoácidos: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hVISTA maduro.

73. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA que consiste en la SEQ ID NO: 1 o 2, pero que no se une de forma significativa a hVISTA, en el cual uno o más de los

siguientes residuos de aminoácidos se han mutado: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hVISTA maduro, por ejemplo, según se determina mediante el análisis mutacional de levadura descrito en los Ejemplos.

74. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-73, donde el anticuerpo no se une de forma significativa a hVISTA, en el cual 2, 3, 4, 5 o más de los siguientes residuos de aminoácidos se han mutado: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hVISTA maduro.

75. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 72-74, donde el anticuerpo no se une significativamente a hVISTA, en el cual se han mutado uno o varios de los siguientes residuos a uno de los residuos correspondientes que se muestran en la Tabla 15: V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, donde la numeración es la de hVISTA maduro

76. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-75, donde el Ab se une a la región de aminoácido ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97}, de hVISTA (SEQ ID NO:497), según se determina mediante HDX-MS, como se describió en los Ejemplos.

77. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-76, donde el Ab se une a las regiónes de aminoácido ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} de hVISTA (SEQ ID NO:497) y también, pero de forma menos potente, a los aminoácidos ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO:498) y ^{148}VVEIRHHHSEHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO:499).

78. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (según lo medido, por ejemplo, por uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) linfocitos T o (b) PSGL-1, y donde el Ab entra en contacto con 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 de un anticuerpo descrito en la presente, tal como VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D, P1-070976_E97P, P1-061015, P1-061029, P1-068761 o P1-068767, tal como uno o más aminoácidos seleccionados de uno de los siguientes grupos de residuos de contacto energéticamente importantes: (i) V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127; (ii) V34, T35, Y37, T39, Y41, S52, R54, F62, L65, H66, H68, L115, V117, I119, R120, H121, H122, S124, E125; o (iii) Y37, T39, R54, F62, H66, L115 o V117, según lo determinado, por ejemplo, mediante el uso de expresión superficial de levadura y ensayo NGS descritos en el Ejemplo 15 y donde la numeración es la del hVISTA maduro.

79. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (según lo medido, por ejemplo, por uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) linfocitos T o (b) PSGL-1, y donde el Ab entra en contacto con 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 lo determinado, por ejemplo, mediante el uso de expresión superficial de levadura y ensayo de NGS descritos en el Ejemplo 15 y donde la numeración es la del hVISTA.

80. Un anticuerpo (Ab) aislado que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (según lo medido, por ejemplo, por uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab inhibe la interacción entre VISTA y (a) linfocitos T o (b) PSGL-1, y donde el Ab entra en contacto con 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 de VISTA.4, según lo determinado, por ejemplo, mediante el uso de expresión superficial de levadura y ensayo de NGS descritos en el Ejemplo 15.

81. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-80, donde el Ab se une al bucle FG de hVISTA.

82. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-81, donde el Ab se une a la extensión de lámina β con alto contenido de histidinas de hVISTA, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, como se describe, por ejemplo, en los Ejemplos.

83. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-82, donde el Ab entra en contacto con H121, H122 y H123 de hVISTA (distancia, por ejemplo, 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.

84. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-83, donde el Ab entra en contacto con hVISTA a través de la CDR1 de VH y CDR3 de VH y, por ejemplo, no significativamente a través de CDR2 de VH y/o a través de una CDR de VL.

85. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-84, donde los residuos de aminoácidos de cadena pesada 110 y 112 del anticuerpo forman enlaces de hidrógeno con H121 y H122 de hVISTA, respectivamente y, opcionalmente, donde un residuo de aminoácidos del anticuerpo forma un enlace de hidrógeno con el H123 de hVISTA, donde la numeración de aminoácidos del anticuerpo es de acuerdo con la utilizada en los Ejemplos.

86. El anticuerpo de la reivindicación 85, donde el anticuerpo comprende una o más (por ejemplo, 1-5, 5-10, 10-15, 10-20 o 15-20) interacciones con hVISTA enumeradas en la Tabla 31 bajo VISTA.4.

87. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-86, donde el Ab entra en contacto con hVISTA a través de al menos uno o más del ácido glutámico, ácido aspártico o residuo de histidina que se ubica en CDR1, CDR2 o CDR3 de VH.

88. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-87, donde el Ab no se une significativamente a hVISTA a pH neutro o fisiológico (según lo medido, por ejemplo, por medio de los ensayos descritos en los Ejemplos).

89. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-88, donde el Ab se une a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5, con una K_D (o koff) que es al menos 10 veces, 100 veces o 1000 veces inferior a su K_D y/o koff de unión a hVISTA bajo pH neutro o fisiológico (según lo medido, por ejemplo, por medio de los ensayos descritos en los Ejemplos).

90. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-89, donde el Ab no se une significativamente a hVISTA a pH neutro o fisiológico (según lo medido, por ejemplo, por medio de los ensayos descritos en los Ejemplos).

91. Un anticuerpo aislado (Ab) que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 (según lo medido, por ejemplo, por medio de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab:

- inhibe la interacción entre hVISTA y (a) los linfocitos T y/o (b) PSGL-1 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con la SEQ ID NO: 1 y tirosinas de PSGL-1 Y46 y Y48);
- mejora la activación de linfocitos T mediante, por ejemplo, la mejora de la proliferación de linfocitos T; mejora la producción de IFN-γ a partir de linfocitos T; y/o estimula la señalización de NF-KB mediada por el receptor de linfocitos T;
- entra en contacto con 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 expresión superficial de levadura y ensayo de NGS descrito en el Ejemplo 15; y donde la numeración es la de hVISTA maduro;
- se une a la extensión de lámina β con alto contenido de histidinas de hVISTA, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- entra en contacto con (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, H121, H122 y/o H123 de hVISTA maduro (distancia de 4,0 Ångströms (Å) - menos), tal como a través de enlaces de hidrógeno, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;

- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) 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 18;
- compite por la unión a hVISTA (competencia bidireccional) con uno o más anticuerpos descritos en la presente, por ejemplo, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4;
- entra en contacto con hVISTA a través de al menos uno o más de ácido glutámico, ácido aspártico o residuo de histidina que se ubica en CDR1, CDR2 o CDR3 de VH;
- tiene una baja disposición a fármacos mediada por el objetivo, lo que lleva a un tiempo de residencia promedio (MRT) de al menos 100, 200, 300, 400, 500, 600 o 700 horas, según lo medido, por ejemplo, de acuerdo con lo descrito en los Ejemplos.
- tiene niveles bajos o indetectables de TMDD; y/o
- tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

92. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, por ejemplo, a un pH de 6,5 con una K_D (y/o koff) que es al menos 10 veces, 100 veces o 1000 veces inferior a su K_D o koff de unión a hVISTA bajo pH neutro o fisiológico (según lo medido, por ejemplo, por medio de uno de los ensayos descritos en los Ejemplos), donde el Ab:
- inhibe la interacción entre hVISTA y (a) los linfocitos T y/o (b) PSGL-1 (por ejemplo, inhibe la interacción entre H153 y H154 de hVISTA con la SEQ ID NO: 1 y tirosinas de PSGL-1 Y46 y Y48);
- mejora la activación de linfocitos T mediante, por ejemplo, la mejora de la proliferación de linfocitos T; mejora la producción de IFN-γ a partir de linfocitos T; y/o estimula la señalización de NF-KB mediada por el receptor de linfocitos T;
- entra en contacto con 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 expresión superficial de levadura y ensayo de NGS descrito en el Ejemplo 15; y donde la numeración es la de hVISTA maduro;
- se une a la extensión de lámina β con alto contenido de histidinas de hVISTA, según lo determinado, por ejemplo, mediante cristalografía, según lo descrito, por ejemplo, en los Ejemplos;
- entra en contacto con (i) H121, H122 y/o H123 o (ii) H66, H68, H121, H122 and/or 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;

- se une a la Región 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 498); Región 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 497); y Región 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 499) 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 18;

- compite por la unión a hVISTA (por ejemplo, por competencia bidireccional) con uno o más anticuerpos descritos en la presente, por ejemplo, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 y VISTA.4;

- entra en contacto con hVISTA a través de al menos uno o más de ácido glutámico, ácido aspártico o residuo de histidina que se ubica en CDR1, CDR2 o CDR3 de VH;

- tiene una baja disposición a fármacos mediada por el objetivo, lo que lleva a un tiempo de residencia promedio (MRT) de al menos 100, 200, 300, 400, 500, 600 o 700 horas, según lo medido, por ejemplo, de acuerdo con lo descrito en los Ejemplos.

- tiene niveles bajos o indetectables de TMDD; y/o

- tiene niveles bajos o indetectables de neutropenia.

93. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-92, donde el anticuerpo tiene un punto isoeléctrico (pI) entre 6,5 y 6,8, según lo medido, por ejemplo, mediante icIEF.

94. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-93, donde el anticuerpo inhibe una acumulación baja, por ejemplo, una acumulación que es similar o inferior a la de VISTA.4 o un derivado de este, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_h95d o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según lo determinado en los Ejemplos.

95. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-94, donde el anticuerpo presenta una viscosidad que es similar o inferior a la de VISTA.4 o un derivado de este, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_h95d o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), según lo determinado en los Ejemplos.

96. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-95, donde el anticuerpo presenta un radio hidrodinámico que es similar o inferior al de VISTA.4 o un derivado de este, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_h95d o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según lo determinado en los Ejemplos.

97. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-96, donde el anticuerpo presenta una temperatura de fusión (Tm1) que es similar o mayor que la de VISTA.4 o un

derivado de este, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_h95d o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según lo determinado en los Ejemplos (por ejemplo, Ejemplo 16).

98. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-97, donde el anticuerpo presenta una cantidad de especies de alto peso molecular que es similar o inferior a la de VISTA.4 o un derivado de este, tal como P1-070976, P1-065333, P1-070976_h95d o P1-070976_E97P (por ejemplo, en el contexto de IgG1.3 y con VK1.A64G), por ejemplo, según lo determinado en los Ejemplos. (por ejemplo, Ejemplo 16).

99. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-98, que es un anticuerpo IgG.

100. El anticuerpo aislado de la reivindicación 99, que es un anticuerpo IgG1, IgG2 o IgG4 (IgG4 opcionalmente con una sustitución S228P (numeración UE)).

101. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-100, donde el anticuerpo es un anticuerpo no efector, por ejemplo, carece de ADCC y/o CDC, y/o un anticuerpo que no se une considerablemente a uno o más FcγR, por ejemplo, FcγRIII.

102. El anticuerpo aislado de la reivindicación 101, donde la región constante comprende 1-5 mutaciones en una región constante de cadena pesada de tipo salvaje que reduce la función efectora (por ejemplo, ADCC y/o CDC) del anticuerpo y/o la capacidad de unirse a uno o más FcγR, por ejemplo, FcγRIII, con respecto a la de una región constante de cadena pesada de tipo salvaje correspondiente.

103. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-102, donde la región constante del anticuerpo es IgG1,3, IgG1,1 o es una IgG1 con una sustitución P238K (por ejemplo, IgG1.P238K).

104. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-103, donde el anticuerpo tiene una función efectora y/o se une a uno o más FcγR, por ejemplo, FcγRIII.

105. El anticuerpo aislado de la reivindicación 104, donde el anticuerpo está afucosilado (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 afucosilado).

106. El anticuerpo aislado de la reivindicación 105, donde la región constante comprende 1-5 mutaciones aumentan la función efectora del anticuerpo y/o la capacidad de unirse a uno o más FcγR, por ejemplo, FcγRIII, con respecto a la región constante de tipo salvaje correspondiente.

107. Un anticuerpo aislado, o un anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-106, donde el anticuerpo es 41F11 o VISTA.4, o una variante de estos.

108. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-107, donde la variante comprende secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2, CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y

CDR3 de VL que, combinadas, son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de estas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

109. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-108, donde la variante comprende secuencias de aminoácidos de VH y VL que son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de estas en 1-50, 1-40, 1-30 o 1-20, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

110. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-109, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o en la Tabla de secuencias.

111. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-110, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 1 o en la Tabla de secuencias.

112. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 83-111, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o en la Tabla de secuencias.

113. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-112, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de VH de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o en la Tabla de secuencias.

114. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-113, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de VL de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o en la Tabla de secuencias.

115. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-114, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de VH y VL de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o en la Tabla de secuencias.

116. Un anticuerpo aislado que se una específicamente a VISTA humano y comprende las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 41F11 o VISTA.4, o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de estas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como las sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

117. Un anticuerpo aislado que se una específicamente a VISTA humano y comprende las

secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 41F11 o VISTA.4, o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de estas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como las sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

118. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-117, que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2, CDR3 de VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 41F11 o VISTA.4, o secuencias de aminoácidos que, combinadas, son al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 98% idénticas a las de 41F11 o VISTA.4, o difieren de estas en 1-20, 1-15, 1-10 o 1-5 residuos de aminoácidos, tales como sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de D, E o H).

119. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-118, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de VH de 41F11 o VISTA.4, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

120. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-119, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 41F11 o VISTA.4, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

121. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-120, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de VH y VL de 41F11 o VISTA.4, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

122. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-121, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de HC de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o la Tabla de secuencias, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

123. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-122, donde el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de LC de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o la Tabla de secuencias, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30,

1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

124. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-123, donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de HC y LC de un anticuerpo anti-VISTA descrito en el Ejemplo 17 o la Tabla de secuencias, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a esta o comprende 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10 o 1-5 cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de estos.

125. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-124, donde el anticuerpo comprende las CDR de VH de VISTA.4, (SEQ ID Nos: 503-505), P1-070976 (SEQ ID Nos: 509-511), P1-065333 (SEQ ID Nos: 506-508), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 512-514) o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 515-517).

126. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-125, donde el anticuerpo comprende las CDR de VL de VISTA.4, P1-070976, P1-06533, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 500-502).

127. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-126, donde el anticuerpo comprende las CDR de VH y VL de VISTA.4, (SEQ ID Nos: 503-505 y 500-502, respectivamente), P1-070976 (SEQ ID Nos: 509-511 y 500-502, respectivamente), P1-065333 (SEQ ID Nos: 506-508 y 500-502, respectivamente), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 512-514 y 500-502, respectivamente), o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 515-517 y 500-502, respectivamente).

128. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-127, donde el anticuerpo comprende la VH de VISTA.4, (SEQ ID NO: 492), P1-070976 (SEQ ID NO: 474), P1-065333 (SEQ ID NO: 473), P1-070976_H95D (SEQ ID NO: 477) o P1-070976_E97P (SEQ ID NO: 478).

129. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-128, donde el anticuerpo comprende la VL de VISTA.4, P1-070976, P1-065333, P1-070976_H95D o P1-070976_E97P (con o sin A64G) (correspondiente a SEQ ID NO: 493 (sin A64G) o SEQ ID NO: 479 (con A64G)).

130. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-129, donde el anticuerpo comprende la VH y VL (con o sin A64G en VL) de VISTA.4 (SEQ ID Nos: 492 y 479 o SEQ ID Nos: 492 y 493), P1-070976 (SEQ ID Nos: 474 y 479 o SEQ ID Nos: 474 y 493), P1-065333 (SEQ ID Nos: 475 y 479 o SEQ ID Nos: 475 y 493), P1-070976_H95D (SEQ ID Nos: 477 y 479 o SEQ ID Nos: 477 y 493) o P1-070976_E97P (SEQ ID Nos: 478 y 479 o SEQ ID Nos .: 478 y 493).

131. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-130, donde el anticuerpo comprende la HC de VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NO:491), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID

NO:476), P1-06533.IgG1.3 (SEQ ID NO:475), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NO:480) o P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NO:481).

132. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-131, donde el anticuerpo comprende la LC de VISTA.4.IgG1.3, P1-070976.IgG1.3, P1-06533.IgG1.3, P1-070976_H95D.IgG1.3 o P1-070976_E97P.IgG1.3 (con o sin A64G en la VL) (SEQ ID NO: 494 (sin A64G) o SEQ ID NO: 482 (sin A64G).

133. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-132, donde el anticuerpo comprende HC y LC (con o sin A64G en VL) de VISTA.4.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 491 y 494 o SEQ ID Nos: 491 y 482), P1-070976.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 476 y 494 o SEQ ID Nos: 476 y 482), P1-065333.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 475 y 494 o SEQ ID Nos: 475 y 482), P1-070976_H95D.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 480 y 494 o SEQ ID Nos: 480 y 482), o P1-070976_E97P.IgG1.3 (SEQ ID NOs: 481 y 494 o SEQ ID Nos: 481 y 482).

134. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-133, que es un anticuerpo de longitud completa o un anticuerpo que comprende una cadena pesada de longitud completa (con o sin una lisina de extremo C) y una cadena ligera de longitud completa.

135. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-130, que es un fragmento de unión al antígeno.

136. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-135, que es un anticuerpo multimérico (por ejemplo, dimérico o trimérico).

137. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-136, que está enlazado (por ejemplo, covalentemente) a otra molécula.

138. El anticuerpo aislado de la reivindicación 137, donde la otra molécula es una etiqueta.

139. El anticuerpo aislado de la reivindicación 137 o 138, donde la otra molécula es un péptido.

140. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-139, que es un conjugado fármaco y anticuerpo (ADC) o un anticuerpo activable.

141. Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-140.

142. Un ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada y/o la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-140.

143. Una composición que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-140 y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera del anticuerpo.

144. Una célula que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 141-142 o la composición de la reivindicación 143.

145. Un método para preparar un anticuerpo, que comprende cultivar la célula de la reivindicación 1-144 en condiciones en las cuales se expresa el anticuerpo.

146. Una composición que comprende un anticuerpo aislado, un ácido nucleico, una composición o una célula de cualquiera de las reivindicaciones 1-145 y un portador farmacéuticamente aceptable.

147. La composición de la reivindicación 146, que comprende un segundo agente terapéutico.

148. La composición de la reivindicación 147, donde el segundo agente terapéutico comprende un agente inmunoestimulante.

149. La composición de la reivindicación 148, donde el agente inmunoestimulante comprende un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, PD-1/PD-L1, CTLA-4 y LAG-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

150. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o un anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-149 que estimula una respuesta inmunitaria y/o es un anticuerpo antagonista de VISTA.

151. El método de la reivindicación 150, donde el sujeto tiene células positivas VISTA, por ejemplo, en un tumor del cáncer.

152. El método de la reivindicación 151, donde las células VISTA positivas comprenden linfocitos infiltrantes VISTA positivos (por ejemplo, linfocitos T) o células mielomonocíticas.

153. El método de cualquiera de las reivindicaciones 150-152, donde el sujeto primero se somete a ensayo para detectar la presencia de células VISTA positivas en un tumor, y donde el sujeto es tratado si tiene células positivas para VISTA, por ejemplo, en un tumor.

154. El método de cualquiera de las reivindicaciones 150-153, donde el método además comprende administrar una segunda terapia.

155. El método de la reivindicación 154, donde el segundo tratamiento comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o administración de un segundo agente.

156. El método de la reivindicación 155, donde el segundo tratamiento es un segundo agente y el segundo agente comprende un agente inmunoestimulante.

157. El método de la reivindicación 156, donde el agente inmunoestimulante comprende un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, PD-1/PD-L1, CTLA-4 y LAG-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

158. Un método para tratar una enfermedad infecciosa (por ejemplo, una enfermedad viral) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de

una composición o un anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-157 que estimula una respuesta inmunitaria y/o es un antagonista de VISTA.

159. Un método para detectar VISTA en una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo VISTA de cualquiera de las reivindicaciones 1-140.

160. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA e inhibe la activación de linfocitos T mediada por VISTA, donde el anticuerpo comprende secuencias de VH CDR1, CDR2 y CDR3 de una VH que comprenden o consisten en la SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 o 492 (por ejemplo, SEQ ID Nos: 503-505, 506-508, 509-511, 512-514, o 515-517)..

161. El anticuerpo aislado de la reivindicación 160, donde el anticuerpo comprende secuencias de VL CDR1, CDR2 y CDR3 de una VL que comprenden o consisten en la SEQ ID NO: 464, 471, 493 o 479 (por ejemplo, SEW ID Nos:500-502).

162. El anticuerpo aislado de la reivindicación 160 o 161, donde el anticuerpo comprende una VH que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 463, 473, 474, 477, 478 o 492, con o sin un péptido señal.

163. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 160-162, donde el anticuerpo comprende una VL que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 464, 471, 479 o 493, con o sin un péptido señal.

164. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 160-163, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende o consiste en una IgG1 de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 182), una IgG2 de tipo salvaje, una IgG3 de tipo salvaje, una IgG4 de tipo salvaje, una IgG4 de tipo salvaje que comprende S228P, IgG1.1 (SEQ ID NO: 183), IgG1.3 (SEQ ID NO: 163), IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184), con o sin una lisina de extremo C.

165. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 160-164, que comprende una cadena pesada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 475, 476, 491, 480 o 481, con o sin un péptido señal.

166. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 160-165, que comprende una cadena ligera que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 472, 494 o 482, con o sin un péptido señal.

167. El anticuerpo aislado de la reivindicación 166, que comprende cadenas pesada y ligera, que comprenden o consisten en:

(a) SEQ ID NO: 475 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;

(b) SEQ ID NO: 475 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;

(c) SEQ ID NO: 476 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;

(d) SEQ ID NO: 476 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(e) SEQ ID NO: 493 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(f) SEQ ID NO: 493 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(g) SEQ ID NO: 497 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente;
(h) SEQ ID NO: 497 y SEQ ID NO: 494, respectivamente;
(i) SEQ ID NO: 498 y SEQ ID NO: 482 o 472, respectivamente; o
(j) SEQ ID NO: 499 y SEQ ID NO: 494, respectivamente.

168. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de linfocitos T) y un antagonista de la vía PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da lugar al aumento de la cantidad de linfocitos T CD4+ y CD8+, por ejemplo, en un tumor del sujeto.

169. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de linfocitos T) y un antagonista de la vía PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da lugar a la reducción de la cantidad de linfocitos T agotados y/o linfocitos T que expresan PD-1, LAG3 y/o TIM-3, por ejemplo, en un tumor del sujeto.

170. Un método para tratar el cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo que se une específicamente a hVISTA e inhibe la actividad de hVISTA (por ejemplo, activación de linfocitos T) y un antagonista de la vía PD1/PD-L1, que, por ejemplo, da lugar al aumento de la cantidad de linfocitos T CD4+ y CD8+, por ejemplo, en un tumor del sujeto y una reducción de la cantidad de linfocitos T agotados y/o linfocitos T que expresan PD-1, LAG3 y/o TIM-3, por ejemplo, en un tumor del sujeto y/u otras características descritas en la presente.

171. El método de cualquiera de las reivindicaciones 168-170, donde el anticuerpo que se une específicamente a hVISTA es un anticuerpo descrito en la presente.

RESUMEN

La presente solicitud se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente al supresor de activación de linfocitos T que contiene inmunoglobulina con dominio V (VISTA) a pH ácido y su uso en el tratamiento del cáncer. En algunas modalidades, los anticuerpos se unen específicamente a VISTA humano a pH ácido, pero no se unen significativamente a VISTA humano a pH neutro o fisiológico.