

ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA FIEBRE AMARILLA Y MÉTODOS DE SU GENERACIÓN Y USO

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos No. 62/940.049, presentada el 25 de noviembre de 2019, que se incorpora por la presente como referencia en su totalidad.

REFERENCIA A UN "LISTADO DE SECUENCIAS", UNA TABLA O UN APÉNDICE DEL LISTADO DE PROGRAMAS INFORMÁTICOS ENVIADO COMO UN ARCHIVO

ASCII

El Listado de Secuencias escrito en el archivo MAB-501001WO_SequenceListing_ST25.txt, creado el 24 de noviembre de 2020, de 493.241 bytes, formato de máquina IBM-PC, sistema operativo MS Windows, se incorpora por la presente como referencia

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La descripción se refiere a anticuerpos contra el Virus de la Fiebre Amarilla (YFV) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, y composiciones que contienen tales anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, y usos terapéuticos y de diagnóstico para los anticuerpos, fragmentos de unión al antígeno y composiciones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El Virus de la Fiebre Amarilla (YFV) es un flavivirus transmitido por mosquitos que se encuentra en áreas tropicales y subtropicales de África y América del Sur. Se transmite a los humanos principalmente a través de la picadura de especies de mosquitos *Aedes* o *Haemagogus infectados* y tiene tres ciclos de transmisión distintos: 1) ciclo de jungla o selvático; 2) ciclo de sabana africana (intermedio); y 3) ciclo urbano. (www.cdc.gov/yellowfever/transmission/index.html). Si bien muchas personas infectadas con el YFV son asintomáticas, otras desarrollan síntomas tales como fiebre, escalofríos, cefalea, dolor lumbar, mialgia, pérdida de apetito, náuseas, vómitos y/o fatiga después de un periodo de incubación de 3-6 días. (www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever). Aproximadamente 15% de las personas infectadas desarrollan una forma grave de YFV que incluye fiebre alta,

diátesis hemorrágica, dolor abdominal, insuficiencia renal, inestabilidad cardiovascular e insuficiencia hepática; hasta el 50% de los pacientes con la forma grave de YFV morirán. (McGuinness et al, *Neurohospitalist* 2017, 7(4); 157-158).

El YFV tiene un genoma de ARN de 10.862 nucleótidos que codifican tres proteínas estructurales y siete no estructurales. Desde el extremo terminal 5', el orden de las proteínas codificadas es: C; prM/M; E; NS1; NS2A; NS2B; NS3; NS4A; NS4B y NS5. Las tres proteínas estructurales incluyen la proteína C (cápside), la proteína de membrana, M, y la proteína de envoltura, E. La proteína de envoltura desempeña un papel importante en el tropismo, la virulencia y la inmunidad celulares.

La vacuna viva atenuada 17D se considera una de las vacunas más seguras y eficaces desarrolladas hasta la fecha. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad de la vacuna, la Fiebre Amarilla sigue siendo un grave problema de salud pública. Hay algunos datos que sugieren que la inmunidad, aunque protectora, puede disminuir con el tiempo en ciertas poblaciones. Además, los brotes de YFV en países no endémicos (tales como los 11 casos importados en China en 2016) y los brotes simultáneos que agotaron las reservas de 17D han subrayado la importancia de desarrollar un tratamiento.

De hecho, hasta la fecha no hay tratamientos aprobados contra el YFV (el único curso es la terapia de apoyo) y, a pesar de décadas de investigación, el desarrollo de anticuerpos terapéuticos seguros y efectivos contra el YFV sigue siendo difícil de lograr. Se ha demostrado que la respuesta de anticuerpos séricos específicos de YFV E está mediada abrumadoramente por anticuerpos dirigidos al dominio I (DI) y/o al dominio II (DII) de la proteína E, mientras que los anticuerpos dirigidos al dominio III (DIII) están ausentes o presentes en títulos muy bajos (DVratskikh *et al.* *PLoS pathogens* 9, e1003458 (2013)). En consecuencia, los seis anticuerpos monoclonales humanos específicos de YFV E descritos hasta la fecha todos se dirigen a epítopos superpuestos dentro de DII de la proteína E (Lu *et al.* *Cell Reports* 26, 438-446 e435 (2019); Daffis *et al.* *Virology* 337, 262-272 (2005)). Recientemente, se determinó la estructura cristalina de uno de estos mAb (5A) en complejo con un dímero de YFV E soluble, lo que mostró que este mAb se une a un epítipo neutralizante conservado dentro de DII de un monómero de E (Lu *et al.* *Cell Reports* 26, 438-446 e435 (2019)). Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de anticuerpos anti-YFV neutralizantes altamente específicos, de alta afinidad y altamente potentes y fragmentos de unión al antígeno de los mismos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La descripción se refiere al descubrimiento de anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen a la proteína YFV y exhiben potencia neutralizante, en particular anticuerpos que se unen al dominio III (DIII) de la proteína E que exhiben una alta potencia de neutralización. Los anticuerpos de la presente descripción también pueden reaccionar de forma cruzada con otros flavivirus, por ejemplo, mostrar reactividad de unión a las proteínas DENV-2, DENV-4, WNV y/o ZIKV E. Se describe un amplio panel de anticuerpos monoclonales específicos de YFV. Los estudios de unión demostraron que la respuesta de anticuerpos neutralizantes a YFV-17D está mediada principalmente por anticuerpos que reconocen epítomos proximales de FL dentro de DII de la proteína E de YFV. También se identificó un pequeño conjunto de anticuerpos dirigidos a DIII que tenían una potente actividad neutralizante. Además, los ensayos de unión revelaron que la vacunación con YFV-17D parece inducir un subconjunto de anticuerpos que muestran una amplia actividad de unión a flavivirus, la mayoría de los cuales se dirigen al FL altamente conservado y muestran poca o ninguna actividad de neutralización cruzada. Los estudios de neutralización mostraron que una proporción de anticuerpos muestra una actividad neutralizante muy potente. En conjunto, el panel de anticuerpos descrito en la presente proporciona candidatos terapéuticos prometedores y un armazón para el diseño racional de vacunas contra el YFV.

Tales anticuerpos pueden ser útiles cuando se administran profilácticamente (antes de la exposición al virus e infección con el virus) para disminuir la gravedad o duración de una infección primaria con YFV, o mejorar al menos un síntoma asociado con la infección. Los anticuerpos pueden usarse solos o junto con un segundo agente útil para tratar una infección por YFV. En ciertas modalidades, los anticuerpos pueden administrarse terapéuticamente (después de la exposición e infección con el virus) ya sea solos o junto con un segundo agente para disminuir la gravedad o duración de la infección primaria, o para mejorar al menos un síntoma asociado con la infección. En ciertas modalidades, los anticuerpos se pueden usar profilácticamente como terapia independiente para proteger a los pacientes que están en riesgo de contraer una infección por YFV, tal como las descritas anteriormente. Cualquiera de estas poblaciones de pacientes puede beneficiarse del tratamiento con los anticuerpos de la descripción, cuando se administran solos o junto con un segundo agente, que incluye, por ejemplo, una terapia antiviral u otras vacunas

antivirales.

En ciertas modalidades, se proporcionan anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a YFV, en donde al menos una de una secuencia de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de tales anticuerpos o los fragmentos de unión al antígeno de los mismos es al menos 70% idéntica; al menos 75% idéntica; 80% idéntica; al menos 85% idéntica; al menos 90% idéntica; al menos 95% idéntica; al menos 96% idéntica; al menos 97% idéntica; al menos 98% idéntica; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a al menos una de las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 como se describe en la Tabla 3 de un anticuerpo seleccionado del Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo también puede tener una o más de las siguientes características: a) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos muestran un perfil de polirreactividad limpio o bajo; b) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos muestran una potencia de neutralización in vitro (IC_{50}) de entre aproximadamente 0,5 microgramos/mililitro ($\mu\text{g/ml}$) a aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$; entre aproximadamente 0,05 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 0,5 $\mu\text{g/ml}$; o menos de aproximadamente 0,05 mg/ml ; c) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen a partículas YFV-17D; o d) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a una proteína de envoltura de YFV. En ciertas modalidades, los anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden al menos dos; al menos tres; o 4 de las características a) a d) anteriores.

En ciertas otras modalidades, los anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden: a) la secuencia de aminoácidos de CDRH1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; b) la secuencia de aminoácidos de CDRH2 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; c) la secuencia de aminoácidos de CDRH3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; d) la secuencia de aminoácidos de CDRL1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; e) la secuencia de aminoácidos de CDRL2 de cualquiera de los

anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; f) la secuencia de aminoácidos de CDRL3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; y/o g) cualquier combinación de dos o más de a), b), c), d), e) y f).

En ciertas otras modalidades, los anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos se seleccionan del grupo que consiste en anticuerpos que son al menos 70% idénticos; al menos 75% idénticos; 80% idénticos; al menos 85% idénticos; al menos 90% idénticos; al menos 95% idénticos; al menos 96% idénticos; al menos 97% idénticos; al menos 98% idénticos; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas otras modalidades, los anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden: a) una secuencia de aminoácidos de cadena pesada (HC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3; y/o b) una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (LC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

La descripción también contempla los ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos anti-YFV descritos y vectores de expresión que comprenden tales ácidos nucleicos, así como las células huésped que expresan tales anticuerpos vía los ácidos nucleicos y/o vectores de expresión.

En una modalidad, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en la presente.

En otras modalidades, se proporcionan vectores de expresión que comprenden secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente.

En otras modalidades, se proporcionan células huésped transfectadas, transformadas o transducidas con secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente o vectores de expresión que comprenden secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente.

En otras modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los anticuerpos aislados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en la presente; y un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otras modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente, o uno o más vectores de expresión que comprenden secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente; y un portador y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otras modalidades, se proporcionan vectores de expresión que comprenden secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente; o una célula huésped que comprende secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente.

La descripción contempla además métodos de prevención y/o tratamiento que usan los anticuerpos anti-YFV descritos (o vectores de expresión o codificación de ácidos nucleicos que comprenden tales ácidos nucleicos).

En una modalidad, se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por el Virus de la Fiebre Amarilla (YFV), o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita: a) uno o más anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos de acuerdo con otras modalidades descritas en la presente; b) una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente; un vector de expresión que comprende secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente; o una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente; o c) una composición farmacéutica de acuerdo con otras modalidades descritas en la presente; de modo que la infección por YFV se trate o prevenga, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En otras modalidades, los métodos comprenden además administrar al paciente un segundo agente terapéutico.

En modalidades, el segundo agente terapéutico se selecciona de: un

agente antiviral; una vacuna específica para YFV; una vacuna específica para un flavivirus; un siARN específico para un antígeno de YFV; y un segundo anticuerpo específico para un antígeno de YFV.

En ciertas modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso en la prevención de una infección por YFV en un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita, o para tratar a un paciente que padece una infección por YFV, o para mejorar al menos un síntoma o complicación asociada con la infección, en donde la infección ya sea se previene, o al menos un síntoma o complicación asociada con la infección se previene, mejora o disminuye en gravedad y/o duración como resultado de tal uso. En ciertas modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso en la prevención de una infección por YFV en un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita. En ciertas modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de un paciente que padece una infección por YFV. En ciertas modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso en la mejora de al menos un síntoma o complicación asociada con la infección. En ciertas modalidades se previene la infección. En ciertas modalidades, al menos un síntoma o complicación asociada con la infección se previene, mejora o disminuye en gravedad y/o duración como resultado de tal uso.

En ciertas modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento o prevención de una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, en un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita, en donde la infección ya sea se previene, o al menos un síntoma o complicación asociada con la infección se previene, mejora o disminuye en gravedad y/o duración como resultado de tal uso.

En ciertas otras modalidades, se proporcionan usos de las composiciones farmacéuticas en la manufactura de un medicamento para prevenir una infección por YFV en un paciente que lo necesita, o para tratar a un paciente que padece una infección por YFV, o para mejorar al menos un síntoma o complicación asociada con la infección, en donde la infección ya sea se previene, o al menos un síntoma o complicación asociada con la infección se previene, mejora o disminuye en gravedad y/o duración.

En ciertas otras modalidades, se proporcionan usos de las composiciones farmacéuticas en la manufactura de un medicamento para prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, en un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita, en donde la infección ya sea

se previene, o al menos un síntoma o complicación asociada con la infección se previene, mejora o disminuye en gravedad y/o duración como resultado de tal uso.

En ciertas otras modalidades, se proporciona un anticuerpo que se une a la proteína E de YFV. Este anticuerpo puede unirse a al menos uno de un epítipo dentro de FL del Dominio II de la proteína E de YFV, proximal al FL del Dominio II de la proteína E de YFV, y a una proteína en el Dominio III de YFV. Este anticuerpo también puede tener una o más de las siguientes características: a) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos muestran un perfil de polirreactividad limpio o bajo; b) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos muestran una potencia de neutralización in vitro (IC_{50}) de entre aproximadamente 0,5 microgramos/mililitro ($\mu g/ml$) a aproximadamente 5 $\mu g/ml$; entre aproximadamente 0,05 $\mu g/ml$ a aproximadamente 0,5 $\mu g/ml$; o menos de aproximadamente 0,05 mg/ml ; c) los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen a partículas YFV-17D; y d) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a una proteína de envoltura de YFV.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1A y Figura 1B ilustran el análisis del suero del donante después de la vacunación con YFV-14D. Figura 1A: Actividad neutralizante del suero contra YFV-17D en el día -5 (antes de la vacunación), 10, 14, 28, 90, 180, 270 y 360 después de la vacunación. Se muestran los promedios $\pm$ SD ($n = 6$) de dos experimentos independientes. Figura 1B: IC_{50} s de muestras de suero en cada punto de tiempo después de la vacunación, expresado como dilución de suero recíproca.

Las Figuras 2A hasta Figura 2D muestran la caracterización de las respuestas de plasmablastos inducidas por la vacunación con YFV-17D en los días 10 y 14. Figura 2A: Frecuencia de plasmablastos entre células B $CD19^+CD20^{-/lo}$ en sangre periférica en los días 0, 10 y 14 después de la vacunación. Los plasmablastos se definen en la presente como células $CD19^+CD3^-CD8^-CD14^-CD16^-CD20^{-/lo}CD38^{hi}CD27^{hi}$. Figura 2B: Porcentaje de mAb derivados de PB que mostraron reactividad de unión de ELISA a partículas YFV-17D completas a 100 nM. Figura 2C: Actividad neutralizante de mAb derivados de PB contra YFV-17D a concentraciones de 100 nM y 10 nM. Los puntos verdes indican el número de sustituciones de nucleótidos en $V_H + V_L$. Figura 2D: Proporción de mAb derivados de PB reactivos a YFV-17D con las potencias de neutralización indicadas (IC_{50}).

La Figura 3 ilustra la actividad de unión de los anticuerpos monoclonales de plasmablastos revertidos de la línea germinal. Rastros de unión y afinidades de tres mAb derivados de PB mutados somáticamente (ADI-46184, ADI-46185 y ADI-42168) y sus UCA correspondientes, según lo determinado por Biacore. UCA, ancestro común no mutado.

La Figura 4 muestra el cribado de neutralización de mAb derivados de PB. Curvas de titulación de neutralización de YFV-17D representativas para mAb PB cribados por ensayo de neutralización de microtitulación. Se muestran los promedios $\pm$ SD ($n = 6$) de dos experimentos independientes.

Las Figuras 5A y 5B muestran la presencia de células B swlg⁺ que muestran la reactividad a YFV-17D. Figura 5A: Reactividad de YFV E de células B swlg⁺ en cada punto de tiempo de muestreo. Los gráficos de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) mostrados están seleccionados en células B CD19⁺CD20⁺IgD⁻IgM⁻. YFV E se marcó con dos colores diferentes para reducir la unión de fondo. Figura 5B: Porcentaje de células B swlg⁺ en cada punto de tiempo de muestreo que muestran reactividad de YFV E.

Las Figuras 6A hasta 6E ilustran que los anticuerpos específicos de YFV E muestran un uso preferencial del gen de línea germinal VH3-72. Figura 6A: Uso del gen de línea germinal VH de mAb específicos de YFV E aislados de cada punto de tiempo de muestreo. Las frecuencias del gen de línea germinal VH de repertorios de MBC humanas no seleccionadas ("No seleccionadas") también se incluyen para comparación. Los datos de secuenciación de MBC humanas no seleccionadas se obtuvieron a partir de múltiples estudios de secuenciación de alto rendimiento. Figura 6B: Uso del gen de línea germinal VL de mAb que usan el gen de línea germinal VH3-72. Los MAb de todos los puntos de tiempo de muestreo se agruparon para este análisis. Los números en el centro de los círculos indican el número total de mAb VH3-72. Figura 6C: Distribución de longitud de CDR H3 en mAb específicos de YFV E que usan el gen de línea germinal VH3-72, mAb que usan todos los otros genes de línea germinal VH o Abs no seleccionados de MBC. Figura 6D: Cargas de SHM (expresadas como número de sustituciones de nucleótidos en VH) de mAb específicos de YFV E que usan el gen de línea germinal VH3-72 o todos los otros genes de línea germinal de VH. Figura 6E: Afinidades de unión aparentes de los mAb que usan el gen de línea germinal VH3-72 o todos los otros genes de línea germinal VH a la proteína E de YFV, según lo determinado por BLI. Las barras negras indican medianas. Las KD^{App} ávidas se trazan para los mAb aislados de las MBC del día 14 porque solo un pequeño

subconjunto de estos mAb mostró una unión detectable a YFV E en una orientación monovalente. Las comparaciones estadísticas se realizaron usando la prueba de Mann-Whitney (** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $P < 0,05$).

Las Figuras 7A hasta 7D ilustran anticuerpos dirigidos a epítomos dentro o proximales al dominio FL en la respuesta de las células B de memoria a la vacunación con YFV-17D. Figura 7A: Proporción de mAb en cada uno de los principales grupos de competición en cada punto de tiempo de muestreo. Figura 7B: Los mAb que usan VH3-72 están sombreados según el grupo de competición; se indican genes de línea germinal de cadena ligera apareados de forma nativa. Figura 7C: Proporción de mAb que compiten con 4G2 y usan el gen de línea germinal VH3-72. Figura 7D: Afinidades aparentes de mAb que compiten con 4G2 que usan ya sea el gen de línea germinal VH3-72 o todos los otros genes de línea germinal. Las comparaciones estadísticas se realizaron usando la prueba de Mann-Whitney (** $P < 0,01$).

Las Figuras 8A hasta 8D ilustran una mayoría de anticuerpos neutralizantes altamente potentes que reconocen epítomos proximales a FL. Figura 8A: Proporción de mAb con IC_{50} de neutralización (menos de 1, 1-10, mayor de 10-100 y mayor de 100 nM) contra YFV-17D en cada contenedor de epítomos. nn – no aglutinante. Figura 8B: IC_{50} de neutralización de mAb individuales contra YFV-17D en los contenedores de epítomos indicados. Las barras negras indican medianas. Figura 8C: Proporción de anticuerpos neutralizantes altamente potentes ($IC_{50} < 1$ nM) dirigidos a los sitios antigénicos indicados en YFV E. El número en el centro del gráfico indica el número de anticuerpos neutralizantes altamente potentes. Figura 8D: uso de genes de línea germinal VH y VL de anticuerpos neutralizantes competidores 5A solamente o 5A/ADI-45107. Se combinaron mAb de ambos donantes para todos los análisis mostrados.

Las Figuras 9A hasta 9C muestran un subconjunto de anticuerpos monoclonales que muestran una amplia reactividad cruzada de flavivirus. Figura 9A: Proporción de mAb que reaccionan con una o más de las proteínas E de flavivirus analizadas (YFV, DENV-1, DENV-2, ZIKV y WNV). La unión a la proteína E recombinante se midió en una orientación ávida por BLI. Los números en el centro de los círculos indican el número de mAb analizados. Figura 9B: Proporción de mAb con reacción cruzada que reconocen los sitios antigénicos indicados. Para este análisis se combinaron mAb de reacción cruzada de ambos donantes. Figura 9C: Mapa de calor que muestra los perfiles de reactividad cruzada de 50 mAb que mostraron unión a al

menos una proteína E de flavivirus además de YFV E. Las afinidades aparentes (KD^{App}) se determinaron en orientación ávida usando BLI. Un mapa de calor que muestra la actividad de neutralización del virus contra YFV-17D y ZIKV se muestra debajo del mapa de calor de unión. Las asignaciones de los grupos de competición para los mAb individuales se indican en la parte superior del mapa de calor. NB, sin unión; nn, no neutralizante; neut., neutralización.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Una comprensión profunda de la respuesta de los anticuerpos humanos a la infección por YFV ayudará al desarrollo y evaluación de la vacuna YFV y los anticuerpos terapéuticos y/o profilácticos para el tratamiento y/ o prevención de la infección por YFV. Se utilizó una plataforma de aislamiento de anticuerpos de alto rendimiento para diseccionar la respuesta de las células B de memoria humana al YFV en dos donantes adultos vacunados y se aislaron y caracterizaron anticuerpos neutralizantes del YFV altamente potentes y selectivos.

Los estudios de mapeo de epítomos de alto rendimiento revelaron que los epítomos dentro o proximales al FL en DII de la proteína E de YFV son inmunodominantes. Si bien muchos de los mAb que se unieron a los epítomos específicos de FL no fueron neutralizantes, la mayoría de los mAb que se dirigieron a los epítomos proximales de FL que se superponen al epítopo 5A mostraron actividad neutralizante. Además, la gran mayoría de los nAb potentes reconocieron este sitio antigénico, lo que sugiere que la respuesta de nAb inducida por la vacunación con YFV-17D está mediada principalmente por esta clase de Ab. Un subconjunto de estos mAb mostró una actividad neutralizante excepcionalmente potente, con IC_{50} que fueron aproximadamente 10 veces más bajas que los mAb de YFV descritos anteriormente. Dados los recientes brotes de YFV en Brasil y la República Democrática del Congo, junto con la escasez de suministro de vacunas YFV-17D y la falta de tratamientos efectivos para la enfermedad de YFV, estos mAb representan candidatos prometedores para la profilaxis y/o terapia.

Por consiguiente, en la presente se describen anticuerpos anti-YFV altamente selectivos y potentes, así como posibles vacunas candidatas, para el tratamiento y/o profilaxis de la infección por YFV. Además, los reactivos descritos aquí proporcionan un conjunto útil de herramientas para la evaluación de ensayos clínicos, que serán fundamentales para seleccionar la estrategia terapéutica óptima de vacunación contra el YFV o basada en anticuerpos entre las que se encuentran

actualmente en investigación.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta descripción. En esta especificación y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a una serie de términos que se definirán para tener los siguientes significados:

La terminología usada en la presente tiene el propósito de describir modalidades particulares únicamente y no pretende ser limitante. Como se usa en la presente, las formas singulares "un", "uno" y "el" también incluyen las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia descrito posteriormente puede o no ocurrir, y que la descripción incluye instancias donde ocurre el evento o circunstancia e instancias en las que no ocurre.

El término "aproximadamente" cuando se usa antes de una designación numérica, *por ejemplo*, temperatura, tiempo, cantidad, concentración y otros, incluyendo un rango, indica aproximaciones que pueden variar en (+) o (-) 10%, 5%, 1%, o cualquier subrango o subvalor entre estos. Preferiblemente, el término "aproximadamente" cuando se usa con respecto a una cantidad significa que la cantidad puede variar en +/- 10%.

"Que comprende" o "comprende" se entiende que significa que las composiciones y métodos incluyen los elementos citados, pero sin excluir otros. "Que consiste esencialmente en" cuando se usa para definir composiciones y métodos, significará la exclusión de otros elementos de importancia esencial para la combinación para el propósito establecido. Por lo tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos definidos en la presente no excluiría otros materiales o pasos que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la invención reivindicada. "Que consiste en" significará que excluye más que elementos traza de otros ingredientes y pasos sustanciales del método. Las modalidades definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta descripción.

El "Virus de la Fiebre Amarilla", también conocido como "YFV", es un virus de ARN que generalmente se transmite por la picadura de mosquitos infectados de las especies *Aedes* o *Haemagogus*.

El término "YFV-17D" se refiere a la cepa atenuada de la vacuna YFV desarrollada al pasar una cepa de Asibi de tipo salvaje en tejido de pollo y ratón. Hay

tres subcepas 17D en producción actual: 17DD manufacturada en Brasil, 17D-213 manufacturada en Rusia y 17D-204 manufacturada en China, Francia, Senegal y Estados Unidos. Si bien el mecanismo de atenuación no se conoce bien, se supone que la diversidad genética limitada del virus de la vacuna 17D se atribuye a la atenuación y seguridad de la vacuna. Existe evidencia de que la replicación de 17D no es tan propensa a errores como los virus de ARN de tipo salvaje. Ver Pugachev et al., J Virol. 78(2):1032-8 (2004).

El término "proteína de envoltura" o "proteína E" se refiere a la proteína E de YFV estructural que es un inmunógeno primario que juega un papel central en la unión del receptor y la fusión de la membrana. La estructura del ectodominio de la proteína E (la porción N-terminal soluble que consiste en 395 residuos) incluye tres dominios estructurales distintos, referidos como dominios I, II y III. (Volk et al., Virology 2009, 394(1): 12-18). El dominio II contiene un bucle estabilizado con puente S-S en su extremo distal que funciona como un bucle de fusión (FL) altamente conservado. Cuando un virus ingresa a una célula huésped objetivo, el FL del Dominio II está expuesto y se inserta en la membrana celular huésped. (Zhang et al., Viruses 2017, 9(11): 338). En algunas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen al FL de la proteína E del YFV del Dominio II. En otras modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen al Dominio III de la proteína E de YFV.

El desarrollo de un tratamiento terapéutico efectivo contra el YFV ha presentado una serie de desafíos únicos. El análisis en profundidad de la respuesta de anticuerpos humanos a la vacuna YFV realizado aquí proporciona información para el desarrollo de tal tratamiento terapéutico. El análisis del repertorio de anticuerpos revelado en la presente revela que la mayoría de los anticuerpos neutralizantes específicos de YFV se dirigen a los epítomos proximales a FL que se superponen al epítomo 5A, mientras que un número menor de anticuerpos neutralizantes potentes se dirigen al dominio DIII - una región de la proteína E que, hasta ahora, no era el epítomo de ningún anticuerpo anti-YFV efectivo.

El término "epítomo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión al antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como un paratopo. Un solo antígeno puede tener más de un epítomo. Por lo tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas de un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. El término "epítomo" también se refiere a un sitio en un antígeno al que responden las células B

y/o T. También se refiere a una región de un antígeno que se une a un anticuerpo. Los epítomos pueden definirse como estructurales o funcionales. Los epítomos funcionales son generalmente un subconjunto de los epítomos estructurales y tienen aquellos residuos que contribuyen directamente a la afinidad de la interacción. Los epítomos también pueden ser conformacionales, es decir, compuestos de aminoácidos no lineales. En ciertas modalidades, los epítomos pueden incluir determinantes que son agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o grupos sulfonilo y, en ciertas modalidades, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características específicas de carga. El término "anticuerpo" (o "Ab"), como se usa en la presente, pretende referirse a moléculas de inmunoglobulina comprendidas de cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces de disulfuro (es decir, "moléculas de anticuerpo completo"), así como multímeros de los mismos (por ejemplo, IgM) o fragmentos de unión al antígeno de los mismos.

Los términos "porción de unión al antígeno", "fragmento de unión al antígeno" y similares, como se usan en la presente, incluyen cualquier polipéptido o glicoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado genéticamente que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. En ciertas modalidades, los términos "porción de unión al antígeno" o "fragmento de anticuerpo", como se usan en la presente, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retiene la capacidad de unirse a YFV.

Un fragmento de anticuerpo puede incluir un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un fragmento dAb, un fragmento que contiene una CDR o una CDR aislada. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo pueden derivarse, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completo usando cualquier técnica estándar adecuada, tales como técnicas de ingeniería genética recombinante o digestión proteolítica que implican la manipulación y expresión de dominios variables y (opcionalmente) constantes de anticuerpos que codifican ADN. Tal ADN es conocido y/o está fácilmente disponible de, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, bibliotecas de fago-anticuerpo), o se puede sintetizar. El ADN puede ser secuenciado y manipulado químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para arreglar uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear residuos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos., etc.

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión al antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas de Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades mínimas de reconocimiento que consisten en residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada tal como un péptido CDR3), o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas modificadas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de dominio único, anticuerpos con dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados en CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP) y dominios IgNAR variables de tiburón, también se incluyen dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se usa en la presente.

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede tener cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR, que está adyacente o está en fase con una o más secuencias flanqueantes. En fragmentos de unión al antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden estar situados entre sí en cualquier arreglo adecuado. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros de V_H - V_H, V_H - V_L o V_L - V_L. Alternativamente, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio de V_H o V_L monomérico.

En ciertas modalidades, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable enlazado covalentemente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ejemplares no limitantes de dominios variables y constantes que se pueden encontrar dentro de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente descripción incluyen: (i) V_H - C_H1; (ii) V_H - C_H2; (iii) V_H - C_H3; (iv) V_H - C_H1 - C_H2; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3; (vi) V_H - C_H2 - C_H3; (vii) V_H - C_L; (viii) V_L - C_H1; (ix) V_L - C_H2; (x) V_L - C_H3; (xi) V_L - C_H1 - C_H2; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3; y (xiv) V_L - C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ejemplares listadas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar directamente enlazados entre sí o pueden estar enlazados por una región de enlace o bisagra total o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos, lo que da como resultado un enlace flexible o semiflexible.

entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una sola molécula de polipéptido. Además, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente descripción puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante listadas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, por enlace(s) de disulfuro).

Al igual que con las moléculas de anticuerpo completo, los fragmentos de unión al antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión al antígeno multiespecífico de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpos biespecíficos ejemplares descritos en la presente, puede adaptarse para uso en el contexto de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente descripción usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

Cada cadena pesada está comprendida de una región variable de cadena pesada ("HCVR" o "VH") y una región constante de cadena pesada (comprendida de los dominios C_H1 , C_H2 y C_H3). Cada cadena ligera se compone de una región variable de cadena ligera ("LCVR" o "VL") y una región constante de cadena ligera (C_L). Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, llamada región determinante de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones de armazón (FR). Cada V_H y V_L se compone de tres CDR y cuatro FR, arregladas desde el extremo terminal amino al extremo terminal carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En ciertas modalidades de la descripción, las FR del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de línea germinal humana, o pueden modificarse de forma natural o artificial. Una secuencia de consenso de aminoácidos puede definirse con base en un análisis en paralelo de dos o más CDR. En consecuencia, las CDR en una cadena pesada se designan "CDRH1", "CDRH2" y "CDRH3", respectivamente, y las CDR en una cadena ligera se designan "CDRL1", "CDRL2" y "CDRL3".

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo contiene un dominio de unión a CDRL3 que comprende un motivo de consenso que tiene la secuencia $QQX_1X_2X_3X_4X_5X_6T$. X_1 es Y, F o A, X_2 es N, H o Y, X_3

es R, S, T o D, X_4 es D, F, Y, W o P, X_5 es P o S, X_6 es Y, F, K, o W. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-50211; ADI-48899; ADI-45136; ADI-45078; ADI-49162; ADI-49141; ADI-42844; ADI-48910; ADI-45074; ADI-49041; ADI-50220; ADI-42172; ADI-42178; ADI-50218; y ADI-49194.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL3, en donde el dominio de unión a CDRL3 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $QX_1X_2X_3X_4TX_5X_6T$, en donde X_1 es Q o H, X_2 es A o S, X_3 es S o Y, X_4 es T o S, X_5 es R o P y X_6 es Y, L, W o R. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-42201; ADI-45164; ADI-46729; ADI-42223; ADI-46718; ADI-45076; ADI-48968; ADI-45156; ADI-50536; y ADI-50537.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL3, en donde el dominio de unión a CDRL3 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $GTWDX_1SX_2X_3SAGX_4V$, en donde X_1 es S o T, X_2 es S o ningún aminoácido, X_3 es L o P y X_4 es K, G o R. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45083; ADI-42225; ADI-42210; ADI-42198; ADI-42809; ADI-42830; ADI-42818; ADI-42151; y ADI-50533.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH3, en donde el dominio de unión a CDRH3 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $AX_1X_2YDSX_3X_4YYX_5X_6X_7X_8$, en donde X_1 es K o R, X_2 es Y, F, T, A, G, Y o H, X_3 es S, N o R, X_4 es A o G, X_5 es W o Y, X_6 es F, L, I, A o E, X_7 es D, E o H y X_8 es Y, H o S. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45085; ADI-50211; ADI-45078; ADI-49162; ADI-45136; ADI-42172; ADI-49194; ADI-50203; ADI-42178; ADI-48908; ADI-42844; ADI-48910; y ADI-49168.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL2, en donde el dominio de unión a CDRL2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1X_2X_3X_4RPS$, en donde X_1 es D o E, X_2 es N, V o D, X_3 es K, N, D o S y X_4 es K, E o R. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-49039; ADI-42229; ADI-45097; ADI-45083; ADI-42225; ADI-49139; ADI-48969; ADI-48900; ADI-42786; ADI-42210; ADI-42198; ADI-49154; ADI-49188; ADI-42188; ADI-42809; ADI-46596; ADI-42830; ADI-46591; ADI-48955; ADI-42818; ADI-46586; ADI-42151; ADI-45140; ADI-46722; ADI-45128; ADI-45127; ADI-46739; ADI-46724;

ADI-50539; ADI-42114; ADI-50533; y ADI-49205.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL2, en donde el dominio de unión a CDRL2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1X_2X_3X_4LX_5X_6$, en donde X_1 es A, G o R, X_2 es A o T, X_3 es S o T, X_4 es T, G, S o I, X_5 es Q o R y X_6 es S o R. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-49133; ADI-49033; ADI-48895; ADI-42201; ADI-42230; ADI-48916; ADI-42211; ADI-5164; ADI-42191; ADI-49145; ADI-46729; ADI-42189; ADI-46718; ADI-45076; ADI-48968; ADI-50203; ADI-42227; ADI-48894; ADI-50218; ADI-45156; ADI-50536; ADI-50537; ADI-46737; ADI-45123; y ADI-50200.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL2, en donde el dominio de unión a CDRL2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1X_2SX_3RAX_4$, en donde X_1 es G, D, R o A, X_2 es A o S, X_3 es S, T o N y X_4 es T o A. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-49147; ADI-50201; ADI-45113; ADI-50219; ADI-48897; ADI-42194; ADI-42847; ADI-48908; ADI-42231; ADI-42233; ADI-45148; ADI-42187; ADI-42787; ADI-49141; ADI-42213; ADI-42192; ADI-49590; ADI-48462; ADI-42200; ADI-42181; ADI-49037; ADI-49137; y ADI-42817.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL2, en donde el dominio de unión a CDRL2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1VX_2X_3RPS$, en donde X_1 es D, E o R, X_2 es S, T, N o A, y X_3 es N, K o Q. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-42228; ADI-42190; ADI-49183; ADI-49189; ADI-50205; ADI-50531; ADI-49138; ADI-45154; ADI-49161; ADI-49561; ADI-42219; ADI-48435; ADI-45161; ADI-42193; ADI-42149; ADI-42216; ADI-42810; ADI-48890; ADI-42206; ADI-48950; y ADI-42124.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL2, en donde el dominio de unión a CDRL2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1ASX_2LEX_3$, en donde X_1 es R, Q o K, X_2 es T, S, G, R o I, y X_3 es T o S. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-42831; ADI-42821; ADI-45085; ADI-50211; ADI-48899; ADI-49168; ADI-45136; ADI-45078; ADI-42844; ADI-48910; ADI-49041; ADI-42172; ADI-42178; ADI-49032; y ADI-49194.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un

anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH2, en donde el dominio de unión a CDRH2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1X_2X_3HX_4X_5X_6X_7X_8YX_9PX_{10}X_{11}X_{12}S$, en donde X_1 es D, E o S, X_2 es I o V, X_3 es F o Y, X_4 es X o T, X_5 es G o E, X_6 es S, G o T, X_7 es T o A, X_8 es N, S, H, K o T, X_9 es N o S, X_{10} es S o F, X_{11} es L o V, y X_{12} es K o E. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45083; ADI-42225; ADI-49139; ADI-48900; ADI-42232; ADI-42786; ADI-42210; ADI-42198; ADI-49154; ADI-42188; ADI-42809; ADI-42818; ADI-42151; ADI-46722; ADI-46742; ADI-49141; ADI-46739; ADI-46724; ADI-50539; ADI-48951; ADI-50538; y ADI-50533.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH2, en donde el dominio de unión a CDRH2 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1X_2X_3X_4DX_5X_6X_7KX_8X_9ADSX_{10}X_{11}G$, en donde X_1 es V o L, X_2 es I o M, X_3 es S, W o L, X_4 es F o Y, X_5 es E o G, X_6 es S o T, X_7 es K, N o Y, X_8 es F, W o Y, X_9 es Y o F, X_{10} es V o L y X_{11} es K o R. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45097; ADI-42144; ADI-49138; ADI-45154; ADI-49561; ADI-42189; ADI-42844; ADI-45161; ADI-48462; ADI-42172; ADI-42178; ADI-42217; ADI-46737; ADI-49205; ADI-45151; y ADI-46728.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL1, en donde el dominio de unión a CDRL1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $RX_1SX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$, en donde X_1 es A o T, X_2 es Q o R, X_3 es S o T, X_4 es I o V, X_5 es S o T, X_6 es S, N, T, F, D o G, X_7 es N, Y, W, F o K, X_8 es L o V y X_9 es A o N. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-49147; ADI-50201; ADI-45113; ADI-42201; ADI-42194; ADI-42847; ADI-45085; ADI-48908; ADI-50211; ADI-42231; ADI-45164; ADI-48899; ADI-46729; ADI-49168; ADI-49040; ADI-45136; ADI-45078; ADI-46718; ADI-49141; ADI-42844; ADI-42192; ADI-48910; ADI-42200; ADI-50203; ADI-42181; ADI-49041; ADI-50220; ADI-42172; ADI-42178; ADI-49032; ADI-49137; ADI-42817; ADI-45156; ADI-50536; ADI-50537; y ADI-49194.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL1, en donde el dominio de unión a CDRL1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $SGSX_1SNX_2GX_3X_4X_5VX_6$, en donde X_1 es N o S, X_2 es I o F, X_3 es S o N, X_4 es N, Y, S o D, X_5 es Y, F o D, y X_6 es S o A. Los siguientes clones

incluyen este motivo de consenso: ADI-49039; ADI-42229; ADI-45097; ADI-45083; ADI-42225; ADI-48900; ADI-42786; ADI-42210; ADI-42198; ADI-49154; ADI-42188; ADI-42809; ADI-46596; ADI-42830; ADI-46591; ADI-48955; ADI-42818; ADI-46586; ADI-42151; ADI-45140; ADI-46722; ADI-45128; ADI-46739; ADI-46724; ADI-50539; ADI-42114; y ADI-50533.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRL1, en donde el dominio de unión a CDRL1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia $X_1GTX_2X_3DX_4GX_5X_6X_7X_8VS$, en donde X_1 es A o T, X_2 es S, G o R, X_3 es S o T, X_4 es V, F o I, X_5 es G o A, X_6 es Y, D, o F, X_7 K o N, y X_8 es Y o F. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-48969; ADI-42228; ADI-42190; ADI-49183; ADI-49189; ADI-50205; ADI-50531; ADI-49138; ADI-45154; ADI-49161; ADI-49561; ADI-42219; ADI-48435; ADI-45161; ADI-45127; ADI-42149; ADI-42216; ADI-42810; ADI-48890; ADI-42206; ADI-48950; ADI-42124; y ADI-49205.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH1, en donde el dominio de unión a CDRH1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia: $X_1X_2FX_3X_4X_5X_6X_7X_8$, en donde X_1 es F, Y o L, X_2 es T, A, S o N, X_3 es S o T, X_4 es S, T o R, X_5 es Y o L, X_6 es G, A, T, W, S o D, X_7 es M, I, o L, y X_8 es H, S, N o T. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45090; ADI-49044; ADI-45113; ADI-42144; ADI-50026; ADI-45075; ADI-42230; ADI-42154; ADI-45085; ADI-42211; ADI-50211; ADI-42231; ADI-42233; ADI-49168; ADI-42187; ADI-49561; ADI-42219; ADI-50535; ADI-45136; ADI-42189; ADI-48435; ADI-46718; ADI-42844; ADI-45161; ADI-48910; ADI-48462; ADI-42200; ADI-50203; ADI-42149; ADI-42172; ADI-42178; ADI-50197; ADI-42810; ADI-50218; ADI-45156; ADI-50536; ADI-50537; ADI-46737; ADI-42114; ADI-49194; ADI-42124; y ADI-46728.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH1, en donde el dominio de unión a CDRH1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia: $X_1SIX_2X_3X_4X_5X_6WX_7$, en donde X_1 es G o I, X_2 es S o T, X_3 es S, T, G o ningún aminoácido, X_4 es D, S, T o G, X_5 es Y, N o D, X_6 es W o r Y y X_7 es S o T. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-45083; ADI-42225; ADI-48900; ADI-42786; ADI-42210; ADI-49188; ADI-42188; ADI-42818; ADI-42151; ADI-48913; ADI-46722; ADI-49141; ADI-46741; ADI-46739; ADI-50539; ADI-50538; y ADI-50533.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un anticuerpo que comprende un dominio de unión a YFV, CDRH1, en donde el dominio de unión a CDRH1 comprende un motivo de consenso, el motivo de consenso comprende la secuencia: FX1FSDX2YMX3, en donde X1 es I o T, X2 es H o Y, y X3 es A o D. Los siguientes clones incluyen este motivo de consenso: ADI-42191; ADI-49040; ADI-42223; ADI-42193; ADI-48968; ADI-42212; ADI-45126; ADI-42141; ADI-49140; ADI-48894; ADI-42226; ADI-49137; ADI-48890; ADI-42206; y ADI-49030.

También es posible la sustitución de uno o más residuos de CDR o la omisión de una o más CDR. Se han descrito anticuerpos en la literatura científica en los que se puede prescindir de una o dos CDR para la unión. Padlán et al. (1995 FASEB J. 9:133-139) analizaron las regiones de contacto entre los anticuerpos y sus antígenos, con base en las estructuras cristalinas publicadas, y concluyeron que sólo alrededor de una quinta a una tercera parte de los residuos de CDR contactan realmente con el antígeno. Padlan también encontraron muchos anticuerpos en los que una o dos CDR no tenían aminoácidos en contacto con un antígeno (ver también, Vajdos et al. 2002 J Mol Biol 320:415-428).

Los residuos de CDR que no están en contacto con el antígeno se pueden identificar con base en estudios previos (por ejemplo, los residuos H60-H65 en CDRH2 a menudo no son necesarios), de CDR de regiones de Kabat que se encuentran fuera de CDR de Chothia, por modelado molecular y/o empíricamente. Si se omite una CDR o residuo(s) de la misma, normalmente se sustituye con un aminoácido que ocupa la posición correspondiente en otra secuencia de anticuerpo humano o un consenso de tales secuencias. Las posiciones para la sustitución dentro de las CDR y los aminoácidos para sustituir también pueden seleccionarse empíricamente.

Los anticuerpos monoclonales completamente humanos descritos en la presente pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos en las regiones de armazón y/o CDR de los dominios variables de cadena ligera y pesada en comparación con las secuencias de línea germinal correspondientes. Tales mutaciones se pueden determinar fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos descritas en la presente con secuencias de línea germinal disponibles, por ejemplo, en bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. La presente descripción incluye anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en la presente, en donde uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones de

armazón y/o CDR están mutados en los residuos correspondientes de la secuencia de línea germinal a partir de la cual se derivó el anticuerpo, o a los residuos correspondientes de otra secuencia de línea germinal humana, o a una sustitución de aminoácidos conservadora de los residuos de línea germinal correspondientes (tales cambios de secuencia son referidos en la presente colectivamente como "mutaciones de línea germinal"). Una persona con experiencia ordinaria en la técnica, comenzando con las secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera descritas en la presente, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que comprenden una o más mutaciones individuales de línea germinal o combinaciones de las mismas. En ciertas modalidades, todos los residuos de armazón y/o CDR dentro de los dominios V_H y/o V_L se mutan de nuevo a los residuos encontrados en la secuencia original de línea germinal de la que se derivó el anticuerpo. En otras modalidades, solo ciertos residuos se vuelven a mutar a la secuencia original de línea germinal, por ejemplo, solo los residuos mutados que se encuentran dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solo los residuos mutados que se encuentran dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. En otras modalidades, uno o más de los residuos de armazón y/o CDR están mutados en los residuos correspondientes de una secuencia de línea germinal diferente (es decir, una secuencia de línea germinal que es diferente de la secuencia de línea germinal a partir de la cual se derivó originalmente el anticuerpo). Además, los anticuerpos de la presente descripción pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de línea germinal dentro de las regiones de armazón y/o CDR, por ejemplo, en donde ciertos residuos individuales están mutados al residuo correspondiente de una secuencia de línea germinal particular, mientras que otros residuos que difieren de la secuencia de línea germinal original se mantienen o mutan al residuo correspondiente de una secuencia de línea germinal diferente. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que contienen una o más mutaciones de línea germinal se pueden analizar fácilmente para determinar una o más propiedades deseadas, tal como una especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagónicas o agonistas mejoradas o aumentadas (según sea el caso), inmunogenicidad reducida, etc. Los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno obtenidos de esta manera general están incluidos en la presente descripción.

La presente descripción también incluye anticuerpos completamente monoclonales que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de

aminoácidos de CDR descritas en la presente que tienen una o más sustituciones conservadoras. Por ejemplo, la presente descripción incluye anticuerpos que tienen secuencias de aminoácidos de CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc. sustituciones conservadoras de aminoácidos en relación con cualquiera de las secuencias de aminoácidos de CDR descritas en la presente. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno descritos son anticuerpos humanos. El término "anticuerpo humano", como se usa en la presente, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la descripción pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio in vitro o por mutación somática in vivo), por ejemplo en las CDR y en particular CDR3.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno descritos son anticuerpos recombinantes. El término "recombinante" generalmente se refiere a cualquier proteína, polipéptido o célula que expresa un gen de interés que se produce mediante métodos de ingeniería genética. El término "recombinante", como se usa con respecto a una proteína o polipéptido, significa un polipéptido producido por la expresión de un polinucleótido recombinante. Las proteínas usadas en las composiciones inmunogénicas de la descripción pueden aislarse de una fuente natural o producirse por métodos de ingeniería genética.

Los anticuerpos de la descripción pueden, en algunas modalidades, ser anticuerpos humanos recombinantes. El término "anticuerpo humano recombinante", como se usa en la presente, pretende incluir todos los anticuerpos, incluyendo los anticuerpos humanos o humanizados, que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en un célula huésped (descrito más adelante), anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatorios recombinantes (descritos más adelante), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (ver, por ejemplo, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Tales anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana.

En ciertas modalidades, sin embargo, tales anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis in vitro (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática in vivo) y, por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones de V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque se derivan y están relacionadas con las secuencias de V_H y V_L de línea germinal humana, pueden no existir naturalmente dentro del repertorio de línea germinal de anticuerpos humanos in vivo.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno de los mismos son anticuerpos aislados. Un "anticuerpo aislado", como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a YFV, o un fragmento del mismo, está sustancialmente libre de Abs que se unen específicamente a antígenos distintos de YFV). En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno se unen específicamente a la proteína E de YFV, por ejemplo, el FL del dominio DII o DIII. El término "se une específicamente" o "se une específicamente a", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica se puede caracterizar por una constante de disociación de equilibrio de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o menos (por ejemplo, una K_D menor denota una unión más fuerte). Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmones superficiales y similares. Como se describe en la presente, los anticuerpos han sido identificados por resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, BIACORE™, mediciones de interferometría de biocapa usando, por ejemplo, un instrumento ForteBio Octet HTX (Pall Life Sciences), que se unen específicamente a YFV. Además, los anticuerpos multiespecíficos que se unen a la proteína YFV y uno o más antígenos adicionales, o un biespecífico que se une a dos regiones diferentes de YFV, se consideran anticuerpos que "se unen específicamente", como se usa en la presente. En ciertas modalidades, los anticuerpos descritos en la presente muestran constantes de disociación en equilibrio (y, por lo tanto, especificidades) de aproximadamente 1×10^{-6} M; aproximadamente 1×10^{-7} M; aproximadamente 1×10^{-8} M; aproximadamente 1×10^{-9} M; aproximadamente 1×10^{-10} M; entre aproximadamente 1×10^{-6} M y aproximadamente 1×10^{-7} M; entre aproximadamente 1×10^{-7} M y aproximadamente 1

$\times 10^{-8}$ M; entre aproximadamente 1×10^{-8} M y aproximadamente 1×10^{-9} M; entre aproximadamente 1×10^{-9} M y aproximadamente 1×10^{-10} M; o entre aproximadamente 1×10^{-9} M y aproximadamente 1×10^{-10} M.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno son ligantes de alta afinidad. El término "alta afinidad" se refiere a aquellos mAb que tienen una afinidad de unión a YFV, expresada como K_D , de al menos 10^{-9} M; más preferiblemente 10^{-10} M, más preferiblemente 10^{-11} M, más preferiblemente 10^{-12} M medida por resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, BIACORE™, mediciones de interferometría de biocapa usando, por ejemplo, un instrumento ForteBio Octet HTX (Pall Life Sciences), o ELISA de afinidad en solución.

Por el término "velocidad de disociación lenta", "Koff" o "kd" se entiende un anticuerpo que se disocia de YFV, con una constante de velocidad de $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ o menos, preferiblemente $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ o menos, según lo determine la resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, BIACORE™ o un instrumento ForteBio Octet HTX (Pall Life Sciences).

Las modalidades específicas, anticuerpo o fragmentos de anticuerpos de la descripción pueden conjugarse con una porción terapéutica ("inmunoconjugado"), tal como un antibiótico, un segundo anticuerpo anti-YFV, una vacuna o un toxoide, o cualquier otra porción terapéutica útil para el tratamiento de una infección por YFV.

También se contemplan anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno sustancialmente idénticos a los anticuerpos proporcionados en la presente. El término "identidad sustancial", o "sustancialmente idéntico", cuando se refiere a un ácido nucleico o fragmento del mismo, indica que, cuando se alinea de manera óptima con las inserciones o deleciones de nucleótidos apropiadas con otro ácido nucleico (o su cadena complementaria), existe una identidad de secuencia de nucleótidos en al menos aproximadamente 90%, y más preferiblemente al menos aproximadamente 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de las bases de nucleótidos, medida por cualquier algoritmo bien conocido de identidad de secuencia, tal como FASTA, BLAST o GAP, como se discute a continuación. En consecuencia, las secuencias de ácidos nucleicos que muestran un cierto porcentaje de "identidad" comparten ese porcentaje de identidad, y/o ese porcentaje es "idéntico" entre sí. Una molécula de ácido nucleico que tiene una identidad sustancial con una molécula de ácido nucleico de referencia puede, en ciertos casos, codificar un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos igual o sustancialmente similar a la del polipéptido codificado por la

molécula de ácido nucleico de referencia.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a anticuerpo del mismo comprende al menos una secuencia de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de tales anticuerpos o los fragmentos de unión al antígeno de los mismos son al menos 70% idénticos; al menos 75% idénticos; 80% idénticos; al menos 85% idénticos; al menos 90% idénticos; al menos 95% idénticos; al menos 96% idénticos; al menos 97% idénticos; al menos 98% idénticos; al menos el 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a al menos una de las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 como se describe en la Tabla 3 de un anticuerpo seleccionado del Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRH3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRH2 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRH1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRL3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRL2 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden la secuencia de aminoácidos de CDRL1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-YFV y un fragmento de unión al antígeno del mismo son al menos 70% idénticos; al menos 75% idénticos; 80% idénticos; al menos 85% idénticos; al menos 90% idénticos; al menos 95% idénticos; al menos 96% idénticos; al menos 97% idénticos; al menos 98% idénticos; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena pesada (HC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (LC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3. En ciertas modalidades, los anticuerpos de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena pesada (HC) y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (LC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se seleccionan cada uno del grupo que consiste en los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos descritos en la presente. En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican anticuerpos que se unen específicamente a YFV y fragmentos de unión al antígeno del mismo, en donde al menos una de las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 del anticuerpo o del fragmento de unión al antígeno del mismo es al menos 70% idéntica; al menos 75% idéntica; 80% idéntica; al menos 85% idéntica; al menos 90% idéntica; al menos 95% idéntica; al menos 96% idéntica; al menos 97% idéntica; al menos 98% idéntica; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a al menos una de las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 como se describe en la Tabla 3 de un anticuerpo

seleccionado del Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican la secuencia de aminoácidos de CDRH3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de CDRH2 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de CDRH1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de CDRL3 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de CDRL2 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias

que codifican las secuencias de aminoácidos de CDRL1 de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada (HC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3

En ciertas modalidades, se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos aisladas que codifican los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos comprenden secuencias que codifican las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada (LC) de cualquiera de los anticuerpos designados como Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3. Como se aplica a los polipéptidos, el término "identidad sustancial" o "sustancialmente idéntica" significa que dos secuencias de péptidos, cuando están alineadas de manera óptima, tal como por los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de brecha predeterminados, comparten al menos 90% de identidad de secuencia, incluso más preferiblemente al menos 95%, 98% o 99% de identidad de secuencia. En consecuencia, las secuencias de aminoácidos que muestran un cierto porcentaje de "identidad" comparten ese porcentaje de identidad y/o ese porcentaje es "idéntico" entre sí. En consecuencia, las secuencias de aminoácidos que muestran un cierto porcentaje de "identidad" comparten ese porcentaje de identidad y/o ese porcentaje es "idéntico" entre sí.

En ciertas modalidades, las secuencias de aminoácidos del anticuerpo descritas son, por ejemplo: al menos 70% idénticas; al menos 75% idénticas; 80% idénticas; al menos 85% idénticas; al menos 90% idénticas; al menos 95% idénticas; al menos 96% idénticas; al menos 97% idénticas; al menos 98% idénticas; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; con otras secuencias y/o comparten tales identidades de porcentajes entre sí (o con determinados subconjuntos de las secuencias de anticuerpos descritas en la presente).

Preferiblemente, las posiciones de los residuos, que no son idénticas, difieren en sustituciones conservadoras de aminoácidos. Una "sustitución conservadora de aminoácidos" es aquella en la que un residuo de aminoácido se sustituye por otro residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral (grupo R) con

propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad). En general, una sustitución conservadora de aminoácidos no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En los casos donde dos o más secuencias de aminoácidos difieran entre sí por sustituciones conservadoras, el porcentaje o grado de similitud puede ajustarse hacia arriba para corregir la naturaleza conservadora de la sustitución. Los medios para realizar este ajuste son bien conocidos por los expertos en la técnica. (Ver, por ejemplo, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331). Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadenas laterales alifáticas-hidroxilo: serina y treonina; 3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano; 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; 6) cadenas laterales ácidas: aspartato y glutamato, y 7) cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina. Los grupos de sustitución conservadora de aminoácidos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Alternativamente, un reemplazo conservador es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250 descrita en Gonnet et al. (1992) *Science* 256: 1443-45. Un reemplazo "moderadamente conservador" es cualquier cambio que tenga un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

La similitud de secuencia de los polipéptidos se mide típicamente usando un software de análisis de secuencias. El software de análisis de proteínas coincide con secuencias similares usando medidas de similitud asignadas a varias sustituciones, deleciones y otras modificaciones, incluyendo las sustituciones conservadoras de aminoácidos. Por ejemplo, el software GCG contiene programas tales como GAP y BESTFIT que se pueden usar con parámetros predeterminados para determinar la homología de secuencia o la identidad de secuencia entre polipéptidos estrechamente relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína de tipo salvaje y una muteína de la misma. Ver, por ejemplo, GCG Versión 6.1. Las secuencias de polipéptidos también se pueden comparar usando FASTA con parámetros predeterminados o recomendados; un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) proporciona alineaciones y porcentaje de identidad de secuencia de las regiones de mejor superposición entre las secuencias de consulta y búsqueda

(Pearson (2000) supra). Otro algoritmo preferido cuando se compara una secuencia de la descripción con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente BLASTP o TBLASTN, que usa parámetros predeterminados. (Ver, por ejemplo, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 y (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 402).

En ciertas modalidades, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo para uso en el método de la descripción puede ser monoespecífico, biespecífico o multiespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un polipéptido objetivo o pueden contener dominios de unión al antígeno específicos para epítomos de más de un polipéptido objetivo.

Como se describe en la presente, los anticuerpos anti-YFV se pueden obtener a partir de células B humanas usando técnicas disponibles para el experto y, por ejemplo, como se describe en los EJEMPLOS a continuación. Los métodos para generar anticuerpos humanos en animales transgénicos, tales como ratones, también se conocen en la técnica y se pueden emplear para obtener anticuerpos de acuerdo con la presente descripción. Cualquier método conocido de este tipo puede usarse en el contexto de la presente descripción para producir anticuerpos humanos que se unen específicamente a YFV (ver, por ejemplo, US 6.596.541).

En ciertas modalidades, los anticuerpos de la presente descripción poseen afinidades (K_D) que varían desde aproximadamente $1,0 \times 10^{-7}$ M a aproximadamente $1,0 \times 10^{-12}$ M, cuando se mide por la unión al antígeno inmovilizado en fase sólida o en fase de solución. En ciertas modalidades, los anticuerpos de la descripción poseen afinidades (K_D) que varían desde aproximadamente 1×10^{-7} M a aproximadamente 6×10^{-10} M, cuando se mide por la unión al antígeno inmovilizado en fase sólida o en fase de solución. En ciertas modalidades, los anticuerpos de la descripción poseen afinidades (K_D) que varían desde aproximadamente 1×10^{-7} M a aproximadamente 9×10^{-10} M, cuando se mide por la unión al antígeno inmovilizado en fase sólida o en fase de solución.

Además de los anticuerpos anti-YFV específicos y fragmentos de anticuerpos descritos en la presente, la presente descripción también contempla variantes de esos anticuerpos y fragmentos de anticuerpos que mantienen la bioequivalencia. Tales variantes de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos comprenden una o más adiciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia original, pero exhiben una actividad biológica que es esencialmente equivalente a la de los anticuerpos descritos. Asimismo, las secuencias

de ADN que codifican anticuerpos de la presente descripción abarcan secuencias que comprenden una o más adiciones, delecciones o sustituciones de nucleótidos en comparación con la secuencia descrita, pero que codifican un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que es esencialmente bioequivalente a un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la descripción.

Dos proteínas de unión al antígeno, o anticuerpos, se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran en la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, ya sea dosis únicas o dosis múltiples. Algunos anticuerpos se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de absorción pero no en la velocidad de absorción y, sin embargo, pueden considerarse bioequivalentes porque tales diferencias en la velocidad de absorción son intencionales y se reflejan en la etiqueta, no son esenciales para lograr concentraciones corporales efectivas del fármaco en, por ejemplo, el uso crónico, y se consideran médicamente insignificantes para el fármaco en particular estudiado.

En una modalidad, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si no existen diferencias clínicamente significativas en su seguridad, pureza y potencia.

En una modalidad, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si se puede cambiar a un paciente una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado en el riesgo de efectos adversos, incluyendo un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad, o disminución efectividad, en comparación con la terapia continua sin tal cambio.

En una modalidad, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si ambas actúan por un mecanismo o mecanismos de acción comunes para la condición o condiciones de uso, en la medida en que tales mecanismos sean conocidos.

La bioequivalencia puede demostrarse por métodos in vivo y/o in vitro. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba in vivo en humanos u otros mamíferos, en la que la concentración del anticuerpo o sus metabolitos se mide en sangre, plasma, suero u otro fluido biológico en función del tiempo; (b) una prueba in vitro que se haya correlacionado con datos de biodisponibilidad humana in vivo y prediga razonablemente los mismos; (c) una prueba in vivo en humanos u otros mamíferos en la que se mide el efecto farmacológico

agudo apropiado del anticuerpo (o su objetivo) en función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establezca la seguridad, eficacia o biodisponibilidad o bioequivalencia de un anticuerpo.

Las variantes bioequivalentes de los anticuerpos de la descripción pueden construirse, por ejemplo, haciendo varias sustituciones de residuos o secuencias o eliminando residuos o secuencias terminales o internas que no son necesarios para la actividad biológica. Por ejemplo, los residuos de cisteína que no son esenciales para la actividad biológica pueden eliminarse o reemplazarse con otros aminoácidos para evitar la formación de puentes de disulfuro intramoleculares innecesarios o incorrectos tras la renaturalización. En otros contextos, los anticuerpos bioequivalentes pueden incluir variantes de anticuerpos que comprenden cambios de aminoácidos, que modifican las características de glicosilación de los anticuerpos, por ejemplo, mutaciones que eliminan o remueven la glicosilación.

Características Biológicas y Biofísicas de los Anticuerpos

En ciertas modalidades, los anticuerpos de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen específicamente a YFV, en donde al menos una de las secuencias de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 es al menos 70% idéntica; al menos 75% idéntica; 80% idéntica; al menos 85% idéntica; al menos 90% idéntica; al menos 95% idéntica; al menos 96% idéntica; al menos 97% idéntica; al menos 98% idéntica; al menos 99%; y/o todos los porcentajes de identidad intermedios; a la correspondiente secuencia de aminoácidos de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y/o CDRL3 como se describe en la Tabla 3 de un anticuerpo seleccionado del Anticuerpo Número 1 hasta el Anticuerpo Número 152 como se describe en la Tabla 3.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-YFV y fragmentos de unión al antígeno de los mismos son anticuerpos neutralizantes, es decir, exhiben potencia neutralizante. Un "anticuerpo neutralizante", como se usa en la presente (o un "anticuerpo que neutraliza la actividad de YFV" o "un anticuerpo con actividad neutralizante"), se refiere a un anticuerpo cuya unión a un antígeno, por ejemplo, la proteína E de YFV, según sea el caso, como se describe en la presente, da como resultado la inhibición de al menos una actividad biológica. Por ejemplo, un anticuerpo de la descripción puede ayudar a bloquear la fusión de YFV con una célula huésped, o prevenir la formación de sincitios, o prevenir la enfermedad primaria causada por YFV. Alternativamente, un anticuerpo de la descripción puede demostrar la capacidad de

mejorar al menos un síntoma de la infección por YFV. Esta inhibición de la actividad biológica de YFV se puede evaluar midiendo uno o más indicadores de la actividad biológica de YFV por uno o más de varios ensayos in vitro estándar (tal como un ensayo de neutralización, como se describe en la presente) o ensayos in vivo conocidos en la técnica (por ejemplo, modelos animales para observar la protección contra el desafío con YFV luego de la administración de uno o más de los anticuerpos descritos en la presente).

En ciertas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos muestran una potencia de neutralización in vitro (IC_{50}) de entre aproximadamente 0,5 microgramos/mililitro ($\mu g/ml$) a aproximadamente 5 $\mu g/ml$; entre aproximadamente 0,05 $\mu g/ml$ a aproximadamente 0,5 $\mu g/ml$; o menos de aproximadamente 0,05 mg/ml .

El término " IC_{50} " se refiere a la "concentración inhibidora media máxima", cuyo valor mide la eficacia de la inhibición del compuesto (por ejemplo, anticuerpo anti-YFV) hacia una utilidad biológica o bioquímica. Esta medida cuantitativa indica la cantidad requerida para que un inhibidor particular inhiba un proceso biológico dado a la mitad. En ciertas modalidades, las potencias de neutralización de YFV para los anticuerpos neutralizantes anti-YFV descritos en la presente se expresan como valores de IC_{50} de neutralización. De los anticuerpos descritos en la presente, generalmente los anticuerpos que se unen a DIII de la proteína E de YFV poseen la mayor potencia de neutralización.

En algunas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos reaccionan de forma cruzada con las proteínas E de DENV-2, DENV-4, WNV o ZIKV, es decir, se unen a la proteína E de YFV y una proteína E de uno o más de los otros flavivirus. En ciertas modalidades, tales anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen a proteínas E de DENV-2, DENV-4, WNV, YFV y ZIKV con afinidades ávidas aparentes altas ($K_D^{Aps} < 10 \text{ nM}$). En ciertas modalidades, los anticuerpos de reactividad cruzada o fragmentos de unión al antígeno de los mismos tienen actividad neutralizante contra YFV-17D y otro flavivirus. En ciertas modalidades, los anticuerpos de reactividad cruzada y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen al epítipo de FL. En ciertas modalidades, los anticuerpos de reactividad cruzada y fragmentos de unión al antígeno de los mismos se unen a DIII. En una determinada modalidad, el anticuerpo de reacción cruzada es ADI-48905.

Agrupamiento de Epítomos y Tecnologías Relacionadas

Como se describió anteriormente y como se demostró en los EJEMPLOS, el Solicitante ha caracterizado el agrupamiento epitópico de los anticuerpos de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos. Además de los métodos para llevar a cabo tal caracterización, hay varias otras técnicas disponibles para el técnico que pueden usarse para llevar a cabo tal caracterización o para determinar si un anticuerpo "interactúa con uno o más aminoácidos" dentro de un polipéptido o proteína. Las técnicas ejemplares incluyen, por ejemplo, un ensayo de bloqueo cruzado de rutina tal como el que se describe en *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY). Otros métodos incluyen análisis mutacional de barrido de alanina, análisis de transferencia de péptidos (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248:443-63), estudios cristalográficos de análisis de escisión de péptidos y análisis de NMR. Además, pueden emplearse métodos tales como escisión de epítomos, extracción de epítomos y modificación química de antígenos (Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496). Otro método que se puede usar para identificar los aminoácidos dentro de un polipéptido con el que interactúa un anticuerpo es el intercambio de hidrógeno/deuterio detectado por espectrometría de masas. En términos generales, el método de intercambio de hidrógeno/deuterio implica marcar con deuterio la proteína de interés, seguido de la unión del anticuerpo a la proteína marcada con deuterio. A continuación, el complejo proteína/anticuerpo se transfiere al agua y los protones intercambiables dentro de los aminoácidos que están protegidos por el complejo de anticuerpos experimentan un intercambio de retorno de deuterio a hidrógeno a un ritmo más lento que los protones intercambiables dentro de los aminoácidos que no forman parte de la interfase. Como resultado, los aminoácidos que forman parte de la interfase proteína/anticuerpo pueden retener deuterio y por lo tanto exhibir una masa relativamente mayor en comparación con los aminoácidos no incluidos en la interfase. Después de la disociación del anticuerpo, la proteína objetivo se somete a análisis de escisión por proteasa y espectrometría de masas, lo que revela los residuos marcados con deuterio que corresponden a los aminoácidos específicos con los que interactúa el anticuerpo. Ver, por ejemplo, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267 (2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

Como comprenderá el experto, se puede formar un epítopo tanto a partir de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por plegamiento terciario de una proteína. Los epítomos formados a partir de aminoácidos

contiguos normalmente se retienen con la exposición a solventes desnaturizantes, mientras que los epítopos formados por plegamiento terciario normalmente se pierden con el tratamiento con solventes desnaturizantes. Un epítipo normalmente incluye al menos 3, y más normalmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única.

El Perfilado Asistido por Modificación (MAP), también conocido como Perfilado de Anticuerpos basado en la Estructura del Antígeno (ASAP), es un método que clasifica un gran número de anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos contra el mismo antígeno de acuerdo con las similitudes del perfil de unión de cada anticuerpo a superficies antigénicas modificadas química o enzimáticamente (US 2004/0101920). Cada categoría puede reflejar un epítipo único claramente diferente o parcialmente superpuesto con un epítipo representado por otra categoría. Esta tecnología permite el filtrado rápido de anticuerpos genéticamente idénticos, de modo que la caracterización puede centrarse en anticuerpos genéticamente distintos. Cuando se aplica a la detección de hibridomas, MAP puede facilitar la identificación de clones de hibridomas raros que producen mAb que tienen las características deseadas. Se puede usar MAP para clasificar los anticuerpos de la descripción en grupos de anticuerpos que se unen a diferentes epítopos.

Como entiende el técnico, se puede determinar fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-YFV de referencia, o si compite por unirse a este, usando métodos rutinarios disponibles en la técnica. Por ejemplo, para determinar si un anticuerpo de prueba se une al mismo epítipo que un anticuerpo YFV de referencia de la descripción, se permite que el anticuerpo de referencia se una a una proteína o péptido YFV en condiciones de saturación. A continuación, se evalúa la capacidad de un anticuerpo de prueba para unirse a la molécula de YFV. Si el anticuerpo de prueba es capaz de unirse a YFV luego de la unión de saturación con el anticuerpo anti-YFV de referencia, se puede concluir que el anticuerpo de prueba se une a un epítipo diferente que el anticuerpo anti-YFV de referencia. Por otro lado, si el anticuerpo de prueba no puede unirse a la molécula de YFV luego de la unión por saturación con el anticuerpo anti-YFV de referencia, entonces el anticuerpo de prueba puede unirse al mismo epítipo que el epítipo unido por el anticuerpo anti-YFV de referencia de la descripción.

Para determinar si un anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo anti-YFV de referencia, la metodología de unión descrita anteriormente se realiza en dos orientaciones: en una primera orientación, se permite que el anticuerpo de

referencia se una a una molécula de YFV en condiciones de saturación, seguido de una evaluación de unión del anticuerpo de prueba a la molécula YFV. En una segunda orientación, se permite que el anticuerpo de prueba se una a una molécula de YFV en condiciones de saturación, seguido de una evaluación de la unión del anticuerpo de referencia a la molécula de YFV. Si, en ambas orientaciones, solo el primer anticuerpo (saturante) es capaz de unirse a la molécula de YFV, entonces se concluye que el anticuerpo de prueba y el anticuerpo de referencia compiten por unirse a YFV. Como apreciará un experto en la técnica, un anticuerpo que compite por la unión con un anticuerpo de referencia no necesariamente se unirá al epítipo idéntico al del anticuerpo de referencia, pero puede bloquear estéricamente la unión del anticuerpo de referencia uniéndose a un epítipo superpuesto o adyacente.

Dos anticuerpos se unen al mismo epítipo o superpuesto si cada uno inhibe (bloquea) de forma competitiva la unión del otro al antígeno. Es decir, un exceso de 1, 5, 10, 20 o 100 veces de un anticuerpo inhibe la unión del otro en al menos 50%, pero preferiblemente 75%, 90% o incluso 99%, según se mide en un ensayo de unión competitiva (ver, por ejemplo, Junghans et al., Cancer Res. (1990) 50:1495-1502). Alternativamente, dos anticuerpos tienen el mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Dos anticuerpos tienen epítopos superpuestos si algunas mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

Luego se pueden realizar experimentos de rutina adicionales (por ejemplo, mutación peptídica y análisis de unión) para confirmar si la falta de unión observada del anticuerpo de prueba se debe de hecho a la unión al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia o si el bloqueo estérico (u otro fenómeno) es responsable de la falta de unión observada. Los experimentos de este tipo se pueden realizar usando ELISA, RIA, resonancia de plasmones superficiales, citometría de flujo o cualquier otro ensayo de unión a anticuerpos cuantitativo o cualitativo disponible en la técnica.

Inmunconjugados

La descripción abarca un anticuerpo monoclonal humano contra el YFV conjugado con una fracción terapéutica ("inmunconjugado"), tal como un agente capaz de reducir la gravedad de la infección primaria por el YFV, o de mejorar al menos un síntoma asociado con la infección por el YFV, incluyendo fiebre, dolores

musculares, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, sangrado o la gravedad de los mismos. Tal agente puede ser un segundo anticuerpo diferente contra YFV o una vacuna. El tipo de porción terapéutica que puede conjugarse con el anticuerpo anti-YFV tendrá en cuenta la afección a tratar y el efecto terapéutico deseado a lograr. Alternativamente, si el efecto terapéutico deseado es tratar las secuelas o síntomas asociados con la infección por YFV, o cualquier otra afección resultante de tal infección, tal como, pero no limitado a, coagulación intravascular diseminada, insuficiencia renal aguda y síndrome de dificultad respiratoria aguda, puede ser ventajoso conjugar un agente apropiado para tratar las secuelas o síntomas de la afección, o para aliviar cualquier efecto secundario de los anticuerpos de la descripción. Se conocen en la técnica ejemplos de agentes adecuados para formar inmunoconjugados, ver, por ejemplo, WO 05/103081.

Anticuerpos Multiespecíficos

Los anticuerpos de la presente descripción pueden ser monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un polipéptido objetivo o pueden contener dominios de unión al antígeno específicos para más de un polipéptido objetivo. Ver, por ejemplo, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244. Los anticuerpos de la presente descripción se pueden unir o coexpresar con otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido o proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo se puede enlazar funcionalmente (por ejemplo, por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otro modo) a una o más entidades moleculares, tal como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo para producir un anticuerpo biespecífico o multiespecífico con una segunda especificidad de unión.

Administración Terapéutica y Formulaciones

La descripción proporciona composiciones terapéuticas que comprenden los anticuerpos anti-YFV de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos. La administración de composiciones terapéuticas de acuerdo con la descripción se realizará con portadores, excipientes y otros agentes adecuados que se incorporan a las formulaciones para proporcionar transferencia, administración, tolerancia y similares mejorados. Se puede encontrar una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos:

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, ungüentos, jaleas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tal como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidra, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen carbowax. Ver también Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

La dosis de cada uno de los anticuerpos de la descripción puede variar dependiendo de la edad y el tamaño del sujeto a administrar, la enfermedad objetivo, las condiciones, la vía de administración y similares. Cuando los anticuerpos de la presente descripción se usan para tratar una infección por YFV, o para tratar uno o más síntomas asociados con una infección por YFV, tales como fiebre, náuseas o dolores musculares asociados con una infección por YFV en un paciente, o para disminuir la gravedad de la enfermedad, es ventajoso administrar cada uno de los anticuerpos de la presente descripción por vía intravenosa o por vía subcutánea. Normalmente, cada uno de los anticuerpos se administraría en una dosis única de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 0,02 a aproximadamente 7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,03 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 3,0 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal. Se pueden administrar dosis múltiples según sea necesario. Dependiendo de la gravedad de la afección, se puede ajustar la frecuencia y la duración del tratamiento. En ciertas modalidades, los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos de la descripción se pueden administrar como una dosis inicial de al menos aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1 a aproximadamente 600 mg, aproximadamente 5 a aproximadamente 300 mg, o aproximadamente 10 a aproximadamente 150 mg, a aproximadamente 100 mg, o a aproximadamente 50 mg. En ciertas modalidades, la dosis inicial puede ir seguida de la administración de una segunda o una pluralidad de dosis posteriores de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos

en una cantidad que puede ser aproximadamente igual o menor que la de la dosis inicial, en donde las dosis subsiguientes están separadas por al menos 1 día a 3 días; al menos una semana, al menos 2 semanas; al menos 3 semanas; al menos 4 semanas; al menos 5 semanas; al menos 6 semanas; al menos 7 semanas; al menos 8 semanas; al menos 9 semanas; al menos 10 semanas; al menos 12 semanas; o al menos 14 semanas.

Se conocen varios sistemas de suministro y se pueden usar para administrar la composición farmacéutica de la descripción, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptores (ver, por ejemplo, Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de introducción incluyen, pero no se limitan a, vías intradérmica, transdérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. La composición se puede administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa nasal, mucosa rectal e intestinal, etc.) y se puede administrar junto con otras sustancias biológicamente agentes activos. La administración puede ser sistémica o local. Puede suministrarse como una formulación en aerosol (ver US2011/0311515 y US2012/0128669). El suministro de agentes útiles para tratar enfermedades respiratorias por inhalación se está aceptando cada vez más (Ver A. J. Bitonti and J. A. Dumont, (2006), Adv. Drug Deliv. Rev, 58:1 106-1 118). Además de ser eficaz en el tratamiento de la enfermedad pulmonar local, dicho mecanismo de suministro también puede ser útil para el suministro sistémico de anticuerpos (ver Maillet et al. (2008), Pharmaceutical Research, Vol. 25, No. 6, 2008).

La composición farmacéutica también se puede suministrar en una vesícula, en particular un liposoma (ver, por ejemplo, Langer (1990) Science 249:1527-1533).

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica se puede suministrar en un sistema de liberación controlada. En una modalidad, se puede usar una bomba. En otra modalidad, se pueden usar materiales poliméricos. En otra modalidad más, se puede colocar un sistema de liberación controlada en la proximidad del objetivo de la composición, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas de dosificación para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables se pueden preparar por

métodos conocidos públicamente. Por ejemplo, las preparaciones inyectables se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrito anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio oleoso usado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soya, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección así preparada se llena preferiblemente en una ampolla apropiada.

Una composición farmacéutica de la presente descripción se puede suministrar por vía subcutánea o intravenosa con una aguja y jeringa estándar. Además, con respecto al suministro subcutáneo, un dispositivo de suministro tipo pluma tiene fácilmente aplicaciones para suministrar una composición farmacéutica de la presente descripción. Tal dispositivo de suministro tipo pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de suministro tipo pluma reutilizable generalmente usa un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y reemplazarse por un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. Luego el dispositivo de suministro tipo pluma se puede reutilizar. En un dispositivo de suministro tipo pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo de suministro tipo pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica contenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, se desecha todo el dispositivo.

Numerosos dispositivos de suministro tipo pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente descripción. Los ejemplos incluyen, pero ciertamente no se limitan a, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Reino Unido), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca),

NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de suministro tipo pluma desechables que tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente descripción incluyen, pero ciertamente no se limitan a, la pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), la pluma PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), la pluma EPIPEN (Dey, LP) y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), por nombrar sólo algunos.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas de dosificación en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los ingredientes activos. Tales formas de dosificación en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, tabletas, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc. La cantidad del mencionado anticuerpo contenido es generalmente de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg por forma de dosificación en una dosis unitaria; especialmente en forma de inyección, se prefiere que el mencionado anticuerpo esté contenido en aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg y en aproximadamente 10 a aproximadamente 250 mg para las otras formas de dosificación.

Regímenes de Administración

En algunas modalidades, se proporciona una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo anti-YFV o fragmento de unión al antígeno del mismo a un sujeto en el alimento del mismo, por ejemplo, infectado con YFV o en riesgo de infección con YFV. Por la frase "cantidad terapéuticamente efectiva" se entiende una cantidad que produce el efecto deseado para el que se administra. La cantidad exacta dependerá del propósito del tratamiento, y un experto en la técnica podrá determinarla usando técnicas conocidas (ver, por ejemplo, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

De acuerdo con ciertas modalidades, se pueden administrar múltiples dosis de un anticuerpo contra YFV a un sujeto durante un curso de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la descripción comprenden la administración secuencial a un sujeto de múltiples dosis de un anticuerpo contra YFV. Como se usa en la presente, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis

de anticuerpo contra YFV se administra al sujeto en un momento diferente, por ejemplo, en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente descripción incluye métodos que comprenden la administración secuencial al paciente de una dosis inicial única de un anticuerpo contra el YFV, seguida de una o más dosis secundarias del anticuerpo contra el YFV y, opcionalmente, seguidas de una o más dosis terciarias del anticuerpo contra el YFV.

Los términos "dosis inicial", "dosis secundarias" y "dosis terciarias" se refieren a la secuencia temporal de administración del anticuerpo contra YFV. Por lo tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al comienzo del régimen de tratamiento (también referida como "dosis de referencia"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden contener todas la misma cantidad de anticuerpos contra YFV, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En ciertas modalidades, sin embargo, la cantidad de anticuerpo contra YFV contenida en las dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (por ejemplo, se ajusta hacia arriba o hacia abajo según corresponda) durante el curso del tratamiento. En ciertas modalidades, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) dosis al comienzo del régimen de tratamiento como "dosis de carga" seguidas de dosis posteriores que se administran con menor frecuencia (por ejemplo, " dosis de mantenimiento").

En una modalidad ejemplar de la presente descripción, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de 1 a 26 (por ejemplo, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La frase "la dosis inmediatamente anterior", como se usa en la presente, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis de anticuerpo contra YFV que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos de acuerdo con este aspecto de la descripción pueden comprender administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias de un anticuerpo contra YFV. Por ejemplo, en ciertas modalidades, solo se administra al paciente una única dosis secundaria. En otras modalidades, se

administran al paciente dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias. Asimismo, en ciertas modalidades, solo se administra al paciente una sola dosis terciaria. En otras modalidades, se administran al paciente dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias.

En modalidades que involucran múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente de 1 a 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De manera similar, en modalidades que involucran múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. Alternativamente, la frecuencia con la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar a lo largo del régimen de tratamiento. Un médico también puede ajustar la frecuencia de administración durante el curso del tratamiento dependiendo de las necesidades del paciente individual después del examen clínico.

Por consiguiente, en ciertas modalidades se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden: uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en la presente y en todo el documento y un portador farmacéuticamente aceptable y/o uno o más excipientes. En ciertas otras modalidades, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden: una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican uno o más anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos; o uno o más vectores de expresión que albergan tales secuencias de ácidos nucleicos; y un portador farmacéuticamente aceptable y/o uno o más excipientes.

Usos Terapéuticos de los Anticuerpos

Los anticuerpos anti-YFV descritos en la presente pueden usarse para tratar a un sujeto con YFV y/o prevenir la infección por YFV.

Como se usa en la presente, los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de una infección por YFV, o un síntoma o afección relacionada con la misma (tal como fiebre, escalofríos, cefalea, dolor lumbar, mialgia, pérdida de apetito, náuseas, vómitos, fatiga o una combinación de los mismos) como resultado de la administración

de una o más terapias (incluyendo, pero no limitada a, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos). En ciertas modalidades, tales términos se refieren a la reducción o inhibición de la replicación de YFV, la inhibición o reducción de la propagación de YFV a otros sujetos, la inhibición o reducción de la infección de una célula con YFV, o la mejora de uno o más síntomas asociados con una infección por YFV.

Como se usa en la presente, los términos "prevenir", "que previene" y "prevención" se refieren a la prevención o inhibición del desarrollo o inicio de una infección por YFV o una afección relacionada con la misma en un sujeto, la prevención o inhibición de la progresión de una Infección por YFV o una afección relacionada que resulte de la administración de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico), la prevención de un síntoma de una infección por YFV o una afección relacionada con ella, o la administración de una combinación de terapias (por ejemplo, un combinación de agentes profilácticos o terapéuticos). Como se usa en la presente, los términos "mejorar" y "aliviar" se refieren a una reducción o disminución en la gravedad de una afección o cualquier síntoma de la misma.

Debido a su unión e interacción con YFV, se cree que los anticuerpos de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos son útiles, sin desear vincularse a ninguna teoría, para prevenir la fusión del virus con la membrana de la célula huésped, para evitar la propagación del virus celular y para la inhibición de la formación de sincitios. Alternativamente, los anticuerpos de la presente descripción pueden ser útiles para mejorar al menos un síntoma asociado con la infección, tal como fiebre, diarrea y sangrado, o para disminuir la gravedad, duración y/o frecuencia de la infección. Los anticuerpos de la descripción también se contemplan para uso profiláctico en pacientes con riesgo de desarrollar o adquirir una infección por YFV. Se contempla que los anticuerpos de la descripción pueden usarse solos, o junto con un segundo agente o un tercer agente para tratar la infección por YFV, o para aliviar al menos un síntoma o complicación asociada con la infección por YFV, tal como fiebre, náuseas, o dolores musculares asociados o resultantes de tal infección. El segundo o el tercer agente pueden administrarse simultáneamente con los anticuerpos de la descripción, o pueden administrarse por separado, ya sea antes o después de los anticuerpos de la descripción. El segundo o tercer agente puede ser un antiviral, un AINE u otros agentes para reducir la fiebre o dolor, otro segundo pero diferente anticuerpo que se une específicamente al YFV, un agente (por ejemplo, un anticuerpo) que se une a otro antígeno del YFV, una vacuna contra YFV, y un siARN

específico para un antígeno de YFV.

En todavía una modalidad adicional de la descripción, los presentes anticuerpos se usan para la preparación de una composición farmacéutica para tratar a pacientes que padecen una infección por YFV. En todavía otra modalidad de la descripción, los presentes anticuerpos se usan para la preparación de una composición farmacéutica para reducir la gravedad de una infección primaria con YFV, o para reducir la duración de la infección, o para reducir al menos un síntoma asociado con la infección por YFV. En una modalidad adicional de la descripción, los presentes anticuerpos se usan como terapia adjunta con cualquier otro agente útil para tratar una infección por YFV, incluyendo un antiviral, un toxoide, una vacuna, un segundo anticuerpo contra YFV o cualquier otro anticuerpo específico para un antígeno de YFV, o cualquier otra terapia paliativa conocida por los expertos en la técnica.

En consecuencia, en ciertas modalidades se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en la presente y en todo el documento, tal como, por ejemplo, uno o más de los anticuerpos anti-YFV descritos en la Tabla 3, de modo que se trate o prevenga la infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En ciertas otras modalidades, se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una secuencia de ácidos nucleicos que codifica uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, tal secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de aminoácidos se describe en la Tabla 3 y complementos de la misma, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En modalidades adicionales se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una célula huésped que alberga una secuencia de ácidos nucleicos o un vector de expresión que comprende tal secuencia de ácidos nucleicos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos codifican una secuencia de aminoácidos seleccionada

de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de la misma, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En modalidades adicionales se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una composición farmacéutica que comprende: uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos como se describe en la Tabla 3; una o más secuencias de ácidos nucleicos o vectores de expresión que comprenden tal secuencia de ácidos nucleicos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas; una o más células huésped que albergan una o más secuencias de ácidos nucleicos o vectores de expresión que comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas; y un portador farmacéuticamente aceptable y/o uno o más excipientes, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En ciertas modalidades, se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita, uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en la presente y en todo el documento, tales como, por ejemplo, uno o más de los anticuerpos anti-YFV descritos en la Tabla 3, de modo que se trate o prevenga la infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En ciertas otras modalidades, se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una secuencia de ácidos nucleicos que codifica uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en

gravedad.

En modalidades adicionales se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una célula huésped que alberga una secuencia de ácidos nucleicos o un vector de expresión que comprende tal secuencia de ácidos nucleicos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

En modalidades adicionales se proporcionan métodos para tratar o prevenir una infección por YFV, o al menos un síntoma asociado con tal infección por YFV, que comprende administrar a un paciente que lo necesita o se sospecha que lo necesita una composición farmacéutica que comprende: uno o más de los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos como se describe en la Tabla 3; una o más secuencias de ácidos nucleicos o vectores de expresión que comprenden tal secuencia de ácidos nucleicos, en donde tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas; una o más células huésped que albergan una o más secuencias de ácidos nucleicos o vectores de expresión que comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos, tales secuencias de ácidos nucleicos codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y complementos de las mismas; y un portador farmacéuticamente aceptable y/o uno o más excipientes, de modo que la infección por YFV se trata o previene, o al menos un síntoma asociado con la infección por YFV se trata, alivia o reduce en gravedad.

Terapias Combinadas

Como se indicó anteriormente, de acuerdo con ciertas modalidades, los métodos descritos comprenden administrar al sujeto uno o más agentes terapéuticos adicionales en combinación con un anticuerpo contra YFV. Como se usa en la presente, la expresión "en combinación con" significa que los agentes terapéuticos adicionales se administran antes, después o al mismo tiempo que la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV. El término "en combinación con" también incluye la administración secuencial o concomitante del anticuerpo anti-YFV y

un segundo agente terapéutico.

Por ejemplo, cuando se administra "antes" de la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos o aproximadamente 10 minutos antes de la administración de la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV. Cuando se administra "después" de la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV, el agente terapéutico adicional se puede administrar aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas o aproximadamente 72 horas después de la administración de la composición farmacéutica que comprende los anticuerpos anti-YFV. La administración "concurrente" o con la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV significa que el agente terapéutico adicional se administra al sujeto en una forma de dosificación separada en menos de 5 minutos (antes, después o al mismo tiempo) de la administración de la composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-YFV, o se administra al sujeto como una formulación de dosificación única combinada que comprende tanto el agente terapéutico adicional como el anticuerpo anti-YFV.

Las terapias de combinación pueden incluir un anticuerpo anti-YFV de la descripción y cualquier agente terapéutico adicional que pueda combinarse ventajosamente con un anticuerpo de la descripción, o con un fragmento biológicamente activo de un anticuerpo de la descripción.

Por ejemplo, se puede emplear un segundo o tercer agente terapéutico para ayudar a reducir la carga viral en el hígado, tal como un antiviral. Los anticuerpos también se pueden usar junto con otras terapias, como se indicó anteriormente, que incluyen un toxoide, una vacuna específica para YFV, un segundo anticuerpo específico para YFV o un anticuerpo específico para otro antígeno de YFV.

Usos de Diagnóstico de los Anticuerpos

Los anticuerpos anti-YFV de la invención y fragmentos de unión al antígeno de los mismos también se pueden usar para detectar y/o medir el YFV en una muestra, por ejemplo, con fines de diagnóstico. Se prevé que la confirmación de una infección que se cree que es causada por YFV puede realizarse midiendo la presencia del virus mediante el uso de uno o más de los anticuerpos de la descripción. Ejemplos de ensayos de diagnóstico para YFV pueden comprender, por ejemplo, poner en contacto una muestra, obtenida de un paciente, con un anticuerpo anti-YFV de la descripción, en donde el anticuerpo YFV está marcado con una marca detectable o una molécula reportera o se usa como ligando de captura para selectivamente aislar el virus que contiene la proteína de muestras de pacientes. Alternativamente, un anticuerpo de YFV no marcado se puede usar en aplicaciones de diagnóstico en combinación con un anticuerpo secundario que está marcado de forma detectable. La marca detectable o molécula reportera puede ser un radioisótopo, tal como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S o ^{125}I ; una porción fluorescente o quimioluminiscente tal como isotiocianato de fluoresceína o rodamina; o una enzima tal como fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, peroxidasa de rábano picante o luciferasa. Ejemplos de ensayos específicos que se pueden usar para detectar o medir YFV en una muestra incluyen ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) y clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).

Las muestras que se pueden usar en ensayos de diagnóstico de YFV según la presente descripción incluyen cualquier tejido o muestra de fluido que se pueda obtener de un paciente, que contenga cantidades detectables de proteína YFV, o fragmentos de la misma, en condiciones normales o patológicas. Generalmente, los niveles de YFV en una muestra particular obtenida de un paciente sano (por ejemplo, un paciente que no padece una enfermedad o afección asociada con la presencia de YFV) se medirán para establecer inicialmente un nivel de referencia o estándar de proteína YFV. Este nivel de referencia de YFV se puede comparar con los niveles de YFV medidos en muestras obtenidas de personas sospechosas de tener una infección por YFV o síntomas asociados con tal infección.

EJEMPLOS

La respuesta de anticuerpos humanos al YFV se perfiló exhaustivamente mediante el aislamiento y la caracterización de 152 anticuerpos monoclonales específicos del YFV de las células B de memoria de dos donantes sin

experiencia previa con flavivirus después de la inmunización con YFV-17D, y estos anticuerpos se usaron luego para mapear la topología antigénica de YFV. Se encontró que los anticuerpos anti-YFV obtenidos se unen a varios sitios antigénicos, más comúnmente dirigidos a un epítipo dentro o proximal al FL del Dominio II de la proteína E de YFV y, por lo tanto, brindan apoyo para el desarrollo de anticuerpos contra el YFV que se dirigen al Dominio II. Sin embargo, se descubrió que una segunda clase menos común de anticuerpos con una actividad neutralizante muy potente se dirige a DIII del virus. Tales anticuerpos dirigidos contra DIII pueden ser particularmente valiosos en el contexto de la aplicación terapéutica de anticuerpos monoclonales o cócteles, ya que este epítipo es subdominante en la respuesta inmunitaria natural. En conjunto, estos resultados tienen implicaciones para el diseño y la evaluación de vacunas contra el YFV y candidatos terapéuticos basados en anticuerpos y ofrecen nuevas opciones para la profilaxis pasiva.

Diseño del estudio: Dos donantes adultos sanos sin flavivirus ("Donante 8" y "Donante 9") se inmunizaron con la vacuna YFV-17D (Stamaril; Sanofi) y se recolectaron muestras de sangre a los 10, 14, 28, 90, 180, 270 y 360 días después de la vacunación. La actividad neutralizante del suero contra YFV-17D apareció en ambos donantes el día 14 después de la vacunación y persistió durante el curso del estudio (FIG. 1A). Los sueros previos a la vacunación de ambos donantes carecían de reactividad con YFV-17D y no mostraron actividad neutralizante detectable contra YFV-17D (datos no mostrados) y también carecían de reactividad con proteínas E y NS1 de otros flavivirus que circulan comúnmente, es decir, virus del dengue serotipos 1-4 (DENV1-4), JEV, TBEV, virus del Nilo Occidental (WNV) y virus del Zika (ZIKV), lo que confirma que ambos donantes probablemente no tenían flavivirus en el momento de la vacunación (datos no mostrados).

Caracterización molecular y funcional de la respuesta de plasmablastos inducida por YFV-17D

Las respuestas de plasmablastos en ambos donantes se controlaron a los 10 y 14 días después de la vacunación. En ambos donantes, se observaron poblaciones de plasmablastos expandidos tanto a los 10 como a los 14 días que fueron aproximadamente 10 veces mayores que los niveles previos a la vacunación (FIG. 2A). Se clasificaron aproximadamente 300 plasmablastos de cada donante y se amplificaron las regiones VH y VL correspondientes por PCR unicelular. Se clonaron 161 y 210 anticuerpos apareados de forma nativa del Donante 8 y Donante 9,

respectivamente, y se expresaron como IgG de longitud completa en una cepa diseñada de *Saccharomyces cerevisiae*. El análisis de secuencia mostró que las respuestas de plasmablastos fueron muy diversas en ambos donantes, con solo aproximadamente 15% de los clones pertenecientes a linajes clonales expandidos (datos no mostrados). Una gran fracción de anticuerpos derivados de plasmablastos de ambos donantes contenía altos niveles de hipermutación somática (SHM), lo que sugiere un reclutamiento eficiente de MBC en la respuesta de PB (datos no mostrados). El nivel medio de SHM en los mAb derivados de PB fue significativamente mayor el día 10 que el día 14. En consecuencia, una mayor proporción de mAb clonados a partir del día 14 de PB carecía de SHM, lo que sugiere un mayor reclutamiento de células del compartimento de células B naïves en este punto de tiempo (datos no mostrados).

Para analizar si las mutaciones somáticas en los mAb derivados de PB contribuyen a la actividad de unión, se generaron mAb de ancestros comunes no mutados (UCA) inferidos a partir de tres clones de PB mutados somáticamente y se midieron sus afinidades de unión a una proteína E de YFV recombinante. En los tres casos, los mAb de UCA mostraron afinidades de unión sustancialmente reducidas en comparación con los mAb maduros, lo que sugiere que las mutaciones somáticas en los mAb de PB son importantes para el reconocimiento de YFV E (FIG. 3).

Luego se analizó la reactividad de unión de los mAb derivados de PB a las partículas de YFV-17D usando un ensayo ELISA tipo sándwich (FIG. 2B). La frecuencia de mAb de unión a YFV-17D aislados de los PB de los días 10 y 14 varió desde 8 y 41%. Se recuperaron 45 y 46 mAb de unión a YFV-17D de las poblaciones de PB expandidas en los donantes 8 y 9, respectivamente, y luego se analizaron las actividades neutralizantes de los mAb en un ensayo de neutralización de microtitulación a concentraciones de 100 y 10 nM. Las actividades de neutralización variaron desde la neutralización completa a 10 nM hasta una neutralización no detectable a 100 nM (FIG. 2C). Una fracción mayor de mAb aislados de PB del día 14 mostró actividad neutralizante en comparación con los aislados de PB del día 10, lo que es coherente con el aumento de la actividad neutralizante del suero en el día 14 versus el día 10 en ambos donantes (datos no mostrados). Los experimentos de titulación de neutralización en los mAb que muestran al menos 50% de inhibición de la infección a 100 nM revelaron que 9-12% de los mAb de unión a YFV-17D aislados de los PB del día 14 mostraron una actividad neutralizante media a alta ($IC_{50} \leq 10$ nM) (FIG. 2D y FIG. 4). El análisis de secuencia mostró que 12,5%-33% de los nAb

derivados de PB usaron el emparejamiento de genes de línea germinal VH4-4/VL1-51, lo que sugiere el reconocimiento de un sitio antigénico común (datos no mostrados).

Aproximadamente 50% y 22% de los anticuerpos neutralizantes aislados de los donantes 8 y 9, respectivamente, carecían de mutaciones somáticas, lo que indica que los anticuerpos neutralizantes YFV-17D están presentes en el repertorio de células B naïves y sugiere que la vacunación YFV-17D induce respuestas PB que se originan tanto de naïves como de MBC, y solo una minoría de estas células B codifican Abs que muestran actividad neutralizante. Ver FIG. 1A y 1B.

Caracterización molecular y funcional de la respuesta de MBC inducida por YFV-17D

Las respuestas de MBC en ambos donantes se monitorearon recolectando PBMC en los días 14, 28, 90, 180, 270 y 360 después de la vacunación y las células B purificadas se tiñeron con un panel de marcadores de superficie de células B descritos previamente (CD19, CD20, CD27, IgM, IgD, CD21 y CD71) y una proteína E de YFV recombinante marcada con fluorescencia (FIG. 5A). Las MBC swIg⁺ específicas de YFV E surgieron en ambos donantes en los días 14-28, alcanzaron su punto máximo entre los días 90 y 180, y disminuyeron lentamente entre los días 180 y 360 (FIG. 5B).

Se clasificaron entre 100 y 400 células B reactivas para YFV E de ambos donantes en cada punto de muestreo. Los mAb no unidos derivados de células B naïves se capturaron a través de la estrategia de clasificación empleada, pero se excluyeron de los análisis posteriores. El análisis de los marcadores de superficie de las células B expresados en las células B reactivas al YFV E clasificadas en una sola célula reveló que la respuesta de MBC al YFV E fue muy heterogénea en todos los puntos temporales (datos no mostrados). En el punto de muestreo más temprano (día 14), las células B naïves activadas y MBC IgM+CD27+ dominaron la respuesta en ambos donantes, pero estas poblaciones de células B disminuyeron rápidamente con el tiempo. Para el día 90, menos de 15% de la respuesta específica de YFV E estaba compuesta por MBC IgM+CD27+, y para el día 360, solo aproximadamente 5% de las células B específicas de YFV E pertenecían a esta población de MBC (FIG 8B). Por el contrario, la población de MBC swIg⁺ - que estaba comprendida de células B CD27+ y CD27-, se expandió entre el día 14 y el día 90 y luego se mantuvo estable durante el transcurso del estudio. La respuesta de MBC observada después de la vacunación con YFV-17D también se observó después de la infección natural con PUUV (datos no mostrados).

Las cargas de SHM, las afinidades de unión aparentes (K_D^{Apps}) y las potencias de neutralización de los mAb específicos de YFV E se rastrearon en cada punto de tiempo de muestreo. En ambos donantes, el nivel medio de SHM fue bajo el día 14 - con más del 50% de Abs sin mutaciones somáticas - y aumentó gradualmente durante un periodo de 6 a 9 meses, y se estabilizó en ambos donantes a los 9 meses después de la vacunación, con una mediana de 9 y 7 sustituciones de nucleótidos en VH para el donante 8 y 9, respectivamente (datos no mostrados). Los estudios de unión con una proteína E de YFV recombinante mostraron que las K_D^{Apps} de los mAb derivados de MBC fueron muy débiles en los puntos de tiempo iniciales y mejoraron progresivamente durante 6 a 9 meses después de la vacunación (datos no mostrados). En los días 14 y 28 después de la vacunación, la mayoría de los mAb específicos de YFV E mostraron $K_D^{Apps} > 50$ nM, mientras que para el día 180, aproximadamente 50% de los mAb específicos de YFV E mostraron $K_D^{Apps} < 5$ nM. Paralelamente al aumento de la afinidad, se observó la aparición de anticuerpos neutralizantes altamente potentes ($IC_{50} < 1$ nM) a partir del día 90 (datos no mostrados). Estos anticuerpos neutralizantes se derivaron de múltiples subconjuntos de MBC, incluyendo MBC IgM+ y/o IgD+ atípicas (datos no mostrados). La Tabla 2 resume los datos de afinidad y neutralización para los mAb neutralizantes aislados y caracterizados.

La activación de las células B en curso se evaluó mediante el análisis de la expresión de CD71 y CD21 en MBC específicas de YFV E. CD71 se expresó en 75–85% de células B específicas de YFV E en el día 14 y permaneció elevado durante aproximadamente 6 meses en ambos donantes (datos no mostrados). En ambos donantes, las células CD21^{lo} específicas de YFV E estuvieron presentes en altas frecuencias en los días 14 y 28 después de la vacunación, lo que comprende aproximadamente 40–80% de la respuesta específica de YFV E, y luego disminuyó rápidamente en el día 90. Si bien hubo un alto grado de superposición entre las poblaciones CD71⁺ y CD21^{lo}, con 50–80% de las células B activadas específicas de YFV E (definidas como CD71⁺ y/o CD21^{lo}) mostrando un fenotipo CD71⁺CD21^{lo} en el día 14, por el día 28–90, la población de CD71⁺CD21^{lo} disminuyó a $< 50\%$ de la respuesta de células B activadas en ambos donantes y la mayoría de las células B activadas específicas de YFV E mostraron un fenotipo CD71⁺CD21⁺ o CD71⁻CD21^{lo} y fueron heterogéneas con respecto al isotipo y la expresión de CD27 (datos no mostrados).

Aislamiento y Caracterización de Anticuerpos anti-YFV

Se aislaron y caracterizaron aproximadamente 152 anticuerpos monoclonales neutralizantes. Los genes de la cadena pesada variable (VH) y ligera variable (VL) del anticuerpo se rescataron por PCR unicelular. Tiller et al. (2008) *J Immunol Methods* 329, 112-124. Los pares de cadenas pesadas y ligeras afines se clonaron posteriormente y se expresaron como IgG de longitud completa en una cepa modificada por ingeniería genética de *Saccharomyces cerevisiae* para una caracterización adicional. Bornholdt et al., (2016) *Science* 351, 1078-1083.

Se analizó el uso de genes de línea germinal de los mAb aislados. En ambos donantes, los mAb que usaban el gen de línea germinal VH3-72 dominaron la respuesta en todos los puntos de tiempo (FIG. 6A). Una gran fracción de estos mAb también utilizó uno de los cinco genes dominantes de la línea germinal de la cadena ligera (LC) y mostró longitudes de la región determinante complementaria 3 (CDRH3) de la cadena pesada (HC) más cortas que el promedio, lo que sugiere un modo compartido de reconocimiento de antígenos (FIG. 6B-C). Las afinidades de unión de los mAb que usaban VH3-72 fueron significativamente más altas que las observadas para los mAb que usaban otras líneas germinales de VH, a pesar de contener niveles similares de SHM (FIG. 6D-E). La Tabla 1 resume el uso de la línea germinal y el número de sustituciones de nucleótidos para mAb aislados.

Para explorar la cobertura de epítomos de los mAb aislados, se realizaron experimentos de competición por parejas usando los mAb recién aislados y dos mAb de control bien caracterizados, 4G2 y 5A, que reconocen epítomos proximales pero no superpuestos dentro de DII del monómero de YFV E. 4G2 es un mAb de pan-flavivirus que se dirige al FL, mientras que 5A es un mAb específico de YFV E que se une a un epítipo proximal al FL que se superpone a la región de asociación prM propuesta. Los experimentos de competición se realizaron usando resonancia de plasmones superficiales (SPR) de alto rendimiento en un instrumento Catterra LSA. También se evaluó la reactividad de los mAb con una proteína YFV-17D DIII recombinante por BLI. La mayoría de los mAb reconocieron uno de los ocho sitios antigénicos distintos, que se definieron en función de la reactividad con DIII y la competición con 4G2, 5A y tres de los mAb recién aislados (ADI-49147, ADI-44112 y ADI-45107) (FIG. 7A). Un subconjunto de mAb compitió tanto con 5A como con ADI-45107, lo que sugiere que estos dos sitios antigénicos están muy cerca. Un pequeño subconjunto de mAb (6 de 772) reconoció epítomos dentro de DIII. Cinco de los mAb dirigidos por DIII hicieron competición cruzada, mientras que el sexto, ADI-48945,

puede reconocer un epítipo único. Más de la mitad de los mAb de ambos donantes compitieron con 4G2 y/o 5A, lo que sugiere que la mayoría de la respuesta específica de YFV E está mediada por Abs que se dirigen a epítopos dentro o próximos al FL en DII (FIG. 7A). Casi todos los mAb que usaron el gen de línea germinal VH3-72 compitieron con 4G2 (FIG. 7B). En consecuencia, el análisis de las características de la secuencia de los mAb agrupados por grupo competitivo reveló que más de la mitad de los mAb que competían con 4G2 usaban el gen de línea germinal VH3-72 (FIG. 7C). Los mAb competidores de 4G2 que usan VH3-72 mostraron afinidades significativamente mayores en comparación con los que usan otros genes de línea germinal de VH (FIG. 7D). Aunque la proporción de mAb dirigidos a cada sitio antigénico no cambió drásticamente con el tiempo, se observó la supresión de los mAb competidores de 4G2/5A en puntos de tiempo posteriores en el donante 8 (días 270 y 360). Además, en ambos donantes, los mAb que competían tanto con 5A como con ADI-45107 no surgieron hasta el día 28–90. Los resultados sugieren que la gran mayoría de la respuesta específica de YFV E está dirigida contra epítopos dentro o cerca de FL en el dominio II, y solo hay cambios menores en la jerarquía de inmunodominancia Ab durante la maduración de la respuesta de células B a YFV-17D.

Los anticuerpos neutralizantes altamente potentes reconocen los epítopos proximales a FL

Se investigó la relación entre el sitio antigénico y la potencia de neutralización. Más de 90% de los mAb que compitieron con 5A solo o con 5A y ADI-45107 mostraron actividad neutralizante (FIG. 8A). La mayoría (78%) de los anticuerpos neutralizantes altamente potentes ($IC_{50} < 1$ nM) del panel pertenecían a estos dos grupos competitivos (FIG. 8B-8C). La Tabla 2 proporciona datos de agrupamiento para estos anticuerpos. El análisis de las características de la secuencia de estos anticuerpos neutralizantes del competidor 5A solo o 5A/ADI-45107 reveló que casi 40% utilizó el emparejamiento de genes de línea germinal VH4-4/VL1-51 y no mostró evidencia de una secuencia CDRH3 convergente, lo que sugiere un modo común de reconocimiento de antígeno codificado en la línea germinal (FIG. 8D). De acuerdo con estudios previos, la mayoría de los mAb dirigidos por DIII también mostraron una actividad neutralizante muy potente. En contraste con los competidores 5A y los mAb dirigidos por DIII, solo una minoría de los mAb pertenecientes a otros grupos de competición mostraron actividad neutralizante. Por ejemplo, solo 12% y 20% de los mAb que compitieron solo con 4G2 o con 4G2 y 5A, respectivamente,

mostraron IC_{50} de neutralización < 100 nM. Los resultados demuestran que la respuesta de nAb a YFV-17D está mediada principalmente por Abs que reconocen epítomos proximales a FL dentro de DII de la proteína E de YFV.

Un subconjunto de mAb muestra reactividad cruzada con proteínas E de otros flavivirus

Se evaluaron los mAb aislados con respecto a la reactividad de unión a las proteínas E recombinantes DENV-2, DENV-4, WNV o ZIKV. En ambos donantes, aproximadamente 6% de los mAb reactivos con YFV E mostraron reactividad cruzada con al menos una proteína E heteróloga de flavivirus (FIG. 9A). La mayoría de estos mAb de reactividad cruzada se dirigieron al epítipo FL altamente conservado y se unieron a las cinco proteínas E de flavivirus con afinidades ávidas aparentes altas ($K_D^{Apps} < 10$ nM) (FIG. 9B-9C). En consecuencia, el pequeño subconjunto de mAb que se unieron a epítomos fuera del FL generalmente mostró perfiles de reactividad cruzada más limitados y K_D^{Apps} más bajas (FIG. 9C). Solo 6 de los 50 mAb con reactividad cruzada mostraron actividad neutralizante contra YFV-17D, y solo un mAb único, el aglutinante de DIII ADI-48905, mostró actividad neutralizante detectable aunque débil contra ZIKV ($IC_{50} \sim 100$ nM). Ninguno de los mAb tenía una actividad de neutralización medible contra el virus del Nilo Occidental o las partículas virales indicadoras del virus de la encefalitis japonesa. Por lo tanto, la vacunación con YFV-17D parece inducir un subconjunto de Abs que muestran una amplia actividad de unión a flavivirus, la mayoría de los cuales se dirigen al FL altamente conservado y muestran poca o ninguna actividad de neutralización cruzada.

La Tabla 1 a continuación proporciona información sobre el uso de la línea germinal y la secuencia de aminoácidos de los anticuerpos anti-YFV 152 como se describe en la presente. Las secuencias proporcionadas en la Tabla 1 incluyen la secuencia de CDRH3 (SEQ ID NOs. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 27, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 y 302) y la secuencia de CDRL3 (SEQ ID NO. 2, 4,

6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 31	33	35	37	39	41
43	45	47	49	51	53
55	57	59	61	63	
65	67	69	71	73	75
77	79	81	83	85	
87	89	91	93	95	97
99	101	103	105	107	
109	111	113	115	117	119
121	123	125	127	129	
131	133	135	137	139	141
143	145	147	149	151	
153	155	157	159	161	163
165	167	169	171	173	
175	177	179	181	183	185
187	189	191	193	195	
197	199	201	203	205	207
209	211	213	215	217	
219	221	223	225	227	229
231	233	235	237	239	
241	243	245	247	249	251
253	255	257	259	261	
263	265	267	269	271	273
275	277	279	281	283	
285	287	289	291	293	295
297	299	301, y	303)	para	

cada anticuerpo listado.

La Tabla 2 a continuación proporciona datos de afinidad y neutralización para los 152 anticuerpos anti-YFV descritos en la Tabla 1.

La Tabla 3 a continuación proporciona secuencias de aminoácidos parciales para las CDR de las cadenas pesada y ligera de cada uno de los 152 anticuerpos anti-YFV descritos en la Tabla 1. Las CDR se indican en **negrita/subrayado**. Cada secuencia de aminoácidos de CDR también se lista por separado en el listado de secuencias (CDRH1 y CDRH2 corresponden a las SEQ ID NOs.: 607-840; CDRL1 y CDRL2 corresponden a las SEQ ID NOs.: 841-1005).

Tabla 1: Uso de línea germinal e información de secuencia de anticuerpos anti-YFV

Número de Anticuerpo	NOMBRE	Uso de gen de línea germinal de VH	Uso de gen de línea germinal de LC	Secuencia de CDRH3	Secuencia de CDRL3	Número de sustituciones de nucleótidos en VH	Número de sustituciones de nucleótidos en VL
1	ADI-49039	VH4-38-2	VL1-51	ARNAPENYYGSGRESFDI (SEQ ID NO:1)	GTWDSSLSAWV (SEQ ID NO:2)	7	5
2	ADI-49147	VH3-23	VK3-15	AKDHGGKYGWWYFDL (SEQ ID NO:3)	QQYDNWPLT (SEQ ID NO:4)	8	4
3	ADI-42229	VH4-38-2	VL1-51	ARNAPENYYGSGRESFDI (SEQ ID NO:5)	GTWDSSLSAWV (SEQ ID NO:6)	5	5
4	ADI-45090	VH3-33	VL1-44	ARDLEVGAELYHYHGM DV (SEQ ID NO:7)	AAWDDSLNGWV (SEQ ID NO:8)	11	10
5	ADI-45097	VH3-30	VL1-51	AKDSSTSWYQVVYHIDY (SEQ ID NO:9)	ETWDSSLNAV V (SEQ ID NO:10)	7	6
6	ADI-4913	VH3-23	VK1-39	AKDLAVSTPRYW FDS (SEQ ID NO:11)	QQSYSIPRIT (SEQ ID NO:12)	10	9

	3						
7	ADI-4903 3	VH3-23	VK1-39	AKDMAVSVHRGWFD (SEQ ID NO:13)	QQSYSPPMYT (SEQ ID NO:14)	14	9
8	ADI-4904 4	VH3-33	VL1-44	ARDLEVGAEIYYYYGMDV (SEQ ID NO:15)	AAWDDSRNGWV (SEQ ID NO:16)	10	9
9	ADI-4508 3	VH4-4	VL1-51	ARSHWRSPQSVTFDL (SEQ ID NO:17)	GTWDTSSL SAGR V (SEQ ID NO:18)	16	5
10	ADI-4222 5	VH4-4	VL1-51	ARIAAGYSTSWYYFDY (SEQ ID NO:19)	GTWDTSL SAGRV (SEQ ID NO:20)	5	3
11	ADI-4913 9	VH4-4	VL1-51	AKDMWAGTTTNWFGP (SEQ ID NO:21)	GTWDTSLGVV (SEQ ID NO:22)	9	5
12	ADI-4896 9	VH3-11	VL2-11	AREFSSRPFDL (SEQ ID NO:23)	CSYAGTYTSNYV (SEQ ID NO:24)	10	6
13	ADI-4890	VH4-4	VL1-51	ARVNPPQYSSGWYSVY (SEQ ID NO:25)	GTWDNSLGAVV (SEQ ID NO:26)	7	3

	0						
14	ADI-4223 2	VH4-4	N/A	ARVAWTSSSSCYDY (SEQ ID NO:27)	N/A	5	0
15	ADI-4278 6	VH4-4	VL1-51	ARDGEGHYRSGDNWFDR (SEQ ID NO:28)	GTWDSSLSAVV (SEQ ID NO:29)	6	4
16	ADI-4221 0	VH4-4	VL1-51	ARAELSAWYYFDH (SEQ ID NO:30)	GTWDTSLSAGRV (SEQ ID NO:31)	6	0
17	ADI-5020 1	VH3-11	VK3-15	ARVSPDDGYGYTTYGMDV (SEQ ID NO:32)	QQYNNWPPRT (SEQ ID NO:33)	10	2
18	ADI-4889 5	VH3-11	VK1-12	ARDWAELTTITNYFYP (SEQ ID NO:34)	QQAQSFPT (SEQ ID NO:35)	8	1
19	ADI-4222 8	VH3-9	VL2-14	AKAENRIGYCSAGSCYLTYF DY (SEQ ID NO:36)	NSYTSSSTLV (SEQ ID NO:37)	4	4
20	ADI-4511 3	VH3-23	VK3-15	AKDPKYSSGWWAFDY (SEQ ID NO:38)	QQYDDWPL (SEQ ID NO:39)	2	1

21	ADI-42198	VH4-4	VL1-51	ARVEWAYSSSWWLDY (SEQ ID NO:40)	GTWDTSLSAGG V (SEQ ID NO:41)	4	3
22	ADI-42190	VH3-11	VL2-14	AKHTGDKPLVWAPSVYGLD V (SEQ ID NO:42)	SSYTRRSTLV (SEQ ID NO:43)	9	7
23	ADI-49154	VH4-4	VL1-51	ARVSVSTSAWYADY (SEQ ID NO:44)	GTWDTSLSTV (SEQ ID NO:45)	8	1
24	ADI-49183	VH3-11	VL2-14	ARELSSRIDY (SEQ ID NO:46)	SSYPGTSALVI (SEQ ID NO:47)	16	5
25	ADI-42201	VH3-33	VK1-39	ARAQDGQQLVNYYGMDV (SEQ ID NO:48)	QQSYSTPYT (SEQ ID NO:49)	8	4
26	ADI-42144	VH3-30	VL1-40	ARGGDYGDYESNNPAEYFQ H (SEQ ID NO:50)	QSYDSSLSGHV (SEQ ID NO:51)	1	0
27	ADI-50219	VH4-59	VK3-11	AGHREDPYGAYGAS (SEQ ID NO:52)	QQRTNWPFT (SEQ ID NO:53)	15	4
28	ADI-	VH4-61	VK3-11	ASRKEVRGTEDYFDY (SEQ	HQRTNWPWT	12	2

	4889 7			ID NO:54)	(SEQ ID NO:55)		
29	ADI- 4219 4	VH4-61	VK3-11	AKVEEDGYTNVVRDY (SEQ ID NO:56)	LQRTNWPFT (SEQ ID NO:57)	6	4
30	ADI- 4918 9	VH3-11	VL2-14	AREGTRGRMD (SEQ ID NO:58)	SSYTS GTTLGV (SEQ ID NO:59)	9	4
31	ADI- 4918 8	VH4-4	VL1-51	ARDSWSGPTRNWFDP (SEQ ID NO:60)	GTWDSSLGGVI (SEQ ID NO:61)	14	8
32	ADI- 4218 8	VH4-4	VL1-51	ARVVWEYSNAWCVDF (SEQ ID NO:62)	ETWDSSLGVV (SEQ ID NO:63)	3	0
33	ADI- 5002 6	VH3-30	VK1-33	ARNTYYDRSGLIAY (SEQ ID NO:64)	QQYDNLSRLT (SEQ ID NO:65)	7	3
34	ADI- 4280 9	VH4-4	VL1-51	ARGPLKSYWYFDL (SEQ ID NO:66)	GTWDTSLSAGRV (SEQ ID NO:67)	7	0
35	ADI- 4659	VH4-4	VL1-51	ARYCSGATCYGSNGMDV (SEQ ID NO:68)	GTWDFRLSAL (SEQ ID NO:69)	8	5

	6						
36	ADI-50205	VH3-30	VL2-14	AKDQCGGDCTADY (SEQ ID NO:70)	SSYTSSGTPVV (SEQ ID NO:71)	6	3
37	ADI-42830	VH4-4	VL1-51	ASTLWGGPLSVASDY (SEQ ID NO:72)	GTWDSSPSAGRV (SEQ ID NO:73)	8	4
38	ADI-49186	VH3-30	VK4-1	ARDYYASGDGYFDY (SEQ ID NO:74)	QQYYSTPRT (SEQ ID NO:75)	17	8
39	ADI-46591	VH4-4	VL1-51	VRYCSSTSCYGLNGMDV (SEQ ID NO:76)	GTWDTRLSAL (SEQ ID NO:77)	11	3
40	ADI-48955	VH3-11	VL1-51	ARDGSLVNAIDY (SEQ ID NO:78)	GTWDTSLSAAWV (SEQ ID NO:79)	8	3
41	ADI-42818	VH4-4	VL1-51	ARVRWSGSTSWDLDY (SEQ ID NO:80)	GTWDTSPSAGGV (SEQ ID NO:81)	9	2
42	ADI-50531	VH2-5	VL2-14	AHSPRRITMVRGVITWGDGMDV (SEQ ID NO:82)	SSYTSSSTLAV (SEQ ID NO:83)	0	1

43	ADI- 4658 6	VH3-11	VL1-51	ARDGSMVNAIDY (SEQ ID NO:84)	GTWDSSLAAW V (SEQ ID NO:85)	6	2
44	ADI- 4913 8	VH3-33	VL2-14	ARDAYASGDGGIDY (SEQ ID NO:86)	SSYRSSGTPYV (SEQ ID NO:87)	6	3
45	ADI- 4507 5	VH3-23	VK1-33	AKDLRGVGGWYYFDY (SEQ ID NO:88)	QQYDNLPLT (SEQ ID NO:89)	2	2
46	ADI- 4283 1	VH3-23	VK1-5	AKDQGVTTDWPSDY (SEQ ID NO:90)	QHYETYSVR (SEQ ID NO:91)	20	13
47	ADI- 4223 0	VH3-30-3	VK1-27	PRDGLPGANQYFFYYGMDV (SEQ ID NO:92)	QKYNSAPLT (SEQ ID NO:93)	2	4
48	ADI- 4284 7	VH4-61	VK3-11	VRVEEYVNNEEVRDY (SEQ ID NO:94)	LQRTNWPFT (SEQ ID NO:95)	11	1
49	ADI- 4282 1	VH3-23	VK1-5	ARDQGFTTDWPCDY (SEQ ID NO:96)	QHYNFSVK (SEQ ID NO:97)	15	10
50	ADI-	VH3-11	VL3-21	ARDSNFNSNLDY (SEQ ID	QVWDSSSDHPW	3	2

	4284 9			NO:98)	V (SEQ ID NO:99)		
51	ADI- 4215 1	VH4-4	VL1-51	ARGPLKTYWYFDL (SEQ ID NO:100)	GTWDTSLSAGRV (SEQ ID NO:101)	1	0
52	ADI- 4600 1	VH3-11	VL3-21	ARDSNYFYGLDV (SEQ ID NO:102)	QVWDTSIDHHW V (SEQ ID NO:103)	3	7
53	ADI- 4515 4	VH3-30	VL2-8	AKDICSGDCGGGDY (SEQ ID NO:104)	SSYAGSNNWVW (SEQ ID NO:105)	3	1
54	ADI- 4916 1	VH1-18	VL2-14	AREDDDYYSMDV (SEQ ID NO:106)	SSYTTTSLVI (SEQ ID NO:107)	15	6
55	ADI- 4215 4	VH3-7	VK2-28	ARDISCISTSCYGGYYYYGM DV (SEQ ID NO:108)	MQALQTPPRT (SEQ ID NO:109)	1	0
56	ADI- 4891 6	VH3-33	VK1-17	ARDYYASGDGSIDY (SEQ ID NO:110)	LQHNSYPLT (SEQ ID NO:111)	8	2
57	ADI- 4508	VH3-23	VK1-5	AKYYDSSGYYYFDY (SEQ ID NO:112)	KQYNRNPYT (SEQ ID NO:113)	4	4

	5						
58	ADI-42211	VH3-30	VK1-27	AKGSVSVAGAEDY (SEQ ID NO:114)	QKYNSAPQT (SEQ ID NO:115)		
59	ADI-48908	VH3-9	VK3-15	AKGYDSSGYYWADY (SEQ ID NO:116)	QQYNNWPPLT (SEQ ID NO:117)	10	6
60	ADI-48913	VH4-4	VK4-1	ARERGGYFTEPFDI (SEQ ID NO:118)	QQYYRTPWT (SEQ ID NO:119)	9	3
61	ADI-45140	VH3-48	VL1-51	AATIFGVVSFDY (SEQ ID NO:120)	GTWDSALGAAV (SEQ ID NO:121)	7	1
62	ADI-50211	VH3-23	VK1-5	AKYYDSSGYYYLDY (SEQ ID NO:122)	QQYNRDPYT (SEQ ID NO:123)	9	4
63	ADI-42199	VH3-72	VL3-25	CRESGEGFDP (SEQ ID NO:124)	QSADRSGSVI (SEQ ID NO:125)	5	11
64	ADI-42231	VH1-18	VK3-11	ARDQSHGTFGGVIDSTTLFY YYGMDV (SEQ ID NO:126)	QQRSNWPS (SEQ ID NO:127)	6	0

65	ADI-45164	VH4-39	VK1-39	ARGYCSSTSCFYYYYGMDV (SEQ ID NO:128)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO:129)	0	0
66	ADI-42233	VH3-21	VK3-20	ARDHYFDSSGDYLSYYYNG MDV (SEQ ID NO:130)	QQYGSSPRA (SEQ ID NO:131)	8	6
67	ADI-42191	VH3-72	VK1-39	ARVYGGPDDY (SEQ ID NO:132)	QQSSITPPT (SEQ ID NO:133)	3	2
68	ADI-48899	VH3-23	VK1-5	AKDGVTTINGWFHFEY (SEQ ID NO:134)	QQYNSFPFT (SEQ ID NO:135)	9	2
69	ADI-49145	VH3-72	VK1-39	TRITGDRYWYLDL (SEQ ID NO:136)	QQTYSASGS (SEQ ID NO:137)	11	13
70	ADI-46729	VH4-61	VK1-39	ARGWFGYSNYGLYYYYGM DV (SEQ ID NO:138)	QQSYSTPWT (SEQ ID NO:139)	1	0
71	ADI-46722	VH4-4	VL1-51	ARDFWSGSNWFDP (SEQ ID NO:140)	GTWDNSLGVV (SEQ ID NO:141)	1	0
72	ADI-	VH3-9	VK3-20	AKDIGDSYGSGSYYPYGA	QQYGSSPG	0	2

	4514 8			YYGMDV (SEQ ID NO:142)	(SEQ ID NO:143)		
73	ADI- 4916 8	VH3-23	VK1-5	AKHYDSSGYYYEDY (SEQ ID NO:144)	HQYKDFPWT (SEQ ID NO:145)	11	6
74	ADI- 4904 0	VH3-72	VK1-5	ARVRDGEYDY (SEQ ID NO:146)	QQYNSYSP (SEQ ID NO:147)	9	4
75	ADI- 4218 7	VH3-21	VK3-20	ARDNSEVEDYGDYVLYHYY GMDV (SEQ ID NO:148)	QQYGSSPF (SEQ ID NO:149)	4	3
76	ADI- 4956 1	VH3-30	VL2-14	AKDQCGGDCTADY (SEQ ID NO:150)	SSYTSSSTPVV (SEQ ID NO:151)	2	3
77	ADI- 4221 9	VH3-30-3	VL2-11	ARGYTGVDGFDY (SEQ ID NO:152)	CSYATNYGVV (SEQ ID NO:153)	8	2
78	ADI- 5053 5	VH1-18	VL6-57	ARRPYYYGSRRPAGHMDV (SEQ ID NO:154)	QSYDSSNVV (SEQ ID NO:155)	0	0
79	ADI- 4512	VH4-30-4	VL1-51	GRDSDKNYFDY (SEQ ID NO:156)	GAWDSSLSAHVV (SEQ ID NO:157)	8	2

	8						
80	ADI-45136	VH3-33	VK1-5	AKTYDSNAYYYLDY (SEQ ID NO:158)	QQYNRYPYT (SEQ ID NO:159)	7	7
81	ADI-42189	VH3-30	VK1-17	ASLWFIVMTMSKNPETDY (SEQ ID NO:160)	LQHHSYPWT (SEQ ID NO:161)	6	2
82	ADI-45078	VH3-23	VK1-5	AKYYDSSGYYYFDH (SEQ ID NO:162)	QQYNRDPYT (SEQ ID NO:163)	15	11
83	ADI-49162	VH3-23	VK1-5	AKFYDSSGYYYFDY (SEQ ID NO:164)	QQYNTYPYT (SEQ ID NO:165)	17	13
84	ADI-42223	VH3-72	VK1-39	VRLYGDYVAYFDY (SEQ ID NO:166)	QQSYSTPWT (SEQ ID NO:167)	5	7
85	ADI-48435	VH1-18	VL2-14	ARRGTTVTRFGVIQYYYGM DV (SEQ ID NO:168)	SSYTSSSTLV (SEQ ID NO:169)	0	1
86	ADI-46742	VH4-59	VL3-21	ARETANNWFDP (SEQ ID NO:170)	QVWDNSSDRRV (SEQ ID NO:171)	16	8

87	ADI- 4278 7	VH3-30-3	VK3-15	ARASMMPRPPVHDY (SEQ ID NO:172)	QQYNTWWT (SEQ ID NO:173)	9	3
88	ADI- 4671 8	VH3-23	VK1-39	AKDRSQGDYGDYVADY (SEQ ID NO:174)	QQSYSTPLT (SEQ ID NO:175)	0	0
89	ADI- 4914 1	VH4-4	VK3-15	ARVQTSHSELWFGFGAD (SEQ ID NO:176)	QQYNTWPKT (SEQ ID NO:177)	3	1
90	ADI- 4221 3	VH3-23	VK3-20	AKDGGYSTDWYFDL (SEQ ID NO:178)	QQYGSSRRT (SEQ ID NO:179)	7	2
91	ADI- 4284 4	VH3-30	VK1-5	AKGYDSNGYYYIDY (SEQ ID NO:180)	QQYNRYPYT (SEQ ID NO:181)	5	1
92	ADI- 4516 1	VH3-33	VL2-14	ARDVGYQLLQVYGMDV (SEQ ID NO:182)	SSYTSSSTLDVV (SEQ ID NO:183)	0	0
93	ADI- 4219 2	VH4-31	VK3-15	ARAEYDTSGYYQQLPEYF QH (SEQ ID NO:184)	QQYNSWPPIT (SEQ ID NO:185)	5	1
94	ADI-	VH3-23	VK1-5	AKYYDSSGYYYFHS (SEQ	QQYNRYPYT	13	7

	4891 0			ID NO:186)	(SEQ ID NO:187)		
95	ADI- 4219 3	VH3-72	VL1-47	AREHGDYGLDY (SEQ ID NO:188)	ATWDVSLSDVL (SEQ ID NO:189)	8	4
96	ADI- 4959 0	VH1-2	VK3-20	YVDYYYDSSGYSPFDY (SEQ ID NO:190)	QQYGSSPPIT (SEQ ID NO:191)	1	2
97	ADI- 4507 6	VH3-72	VK1-39	ARVDGEEVALIY (SEQ ID NO:192)	QQSSTTRWT (SEQ ID NO:193)	8	11
98	ADI- 4896 8	VH3-72	VK1-39	VRVWGGEAARYDY (SEQ ID NO:194)	QHASTTPWT (SEQ ID NO:195)	13	12
99	ADI- 4221 2	VH3-72	VL3-1	SRHMGFGLDL (SEQ ID NO:196)	QAWDTTtaggv (SEQ ID NO:197)	3	6
100	ADI- 4846 2	VH3-33	VK3-20	ARDYYGSGDGYFDY (SEQ ID NO:198)	QQYGSSPRA (SEQ ID NO:199)	0	0
101	ADI- 4512	VH2-26	VL2-8	ARIPVEYGTprgsfDT (SEQ ID NO:200)	SSYGGNNDLV (SEQ ID NO:201)	11	8

	7						
102	ADI-42200	VH3-30-3	VK3-11	AGGSPDY (SEQ ID NO:202)	QQRSNWPYT (SEQ ID NO:203)	9	4
103	ADI-50203	VH3-30	VK1-5	ARAYDSRGYYYIEH (SEQ ID NO:204)	QQYKTYWT (SEQ ID NO:205)	14	8
104	ADI-42149	VH1-18	VL2-14	AREIDSNYVFDY (SEQ ID NO:206)	SSYTSSGTNI (SEQ ID NO:207)	2	0
105	ADI-42181	VH3-7	VK3-15	ARKLSYSSGWYYFDY (SEQ ID NO:208)	QQYNNWPPLT (SEQ ID NO:209)	2	3
106	ADI-45126	VH3-72	VL3-10	VTTTVILFDY (SEQ ID NO:210)	YSTDSSGLLGV (SEQ ID NO:211)	9	8
107	ADI-45074	VH4-34	VK4-1	ARGRLAWGLRGQKSPNFFAY (SEQ ID NO:212)	QQFHSPPWY (SEQ ID NO:213)	7	5
108	ADI-49041	VH3-15	VK1-5	ATAGIFGVVIMKGFDH (SEQ ID NO:214)	QQYNDYPWT (SEQ ID NO:215)	9	9

109	ADI-42227	VH1-69	VK1-17	ARETYYYGSGSVPVHD (SEQ ID NO:216)	LQHNTYPWT (SEQ ID NO:217)	9	1
110	ADI-50220	VH3-30	VK1-5	ARGYDSSGYWGFQDN (SEQ ID NO:218)	QQYYSYPYT (SEQ ID NO:219)	16	6
111	ADI-42141	VH3-72	VL3-25	ARVEGGAWGAFDI (SEQ ID NO:220)	QSADRSQTVV (SEQ ID NO:221)	1	1
112	ADI-42216	VH2-26	VL2-8	ARLWFTEYPGAFDI (SEQ ID NO:222)	SSYAGSNALV (SEQ ID NO:223)	5	4
113	ADI-50534	VH4-39	VL6-57	ARHSSGSYYLAGYYFDY (SEQ ID NO:224)	QSYDSSNWV (SEQ ID NO:225)	0	1
114	ADI-49140	VH3-72	VL3-25	ARLTDSGYDD (SEQ ID NO:226)	HSPDSHVV (SEQ ID NO:227)	6	3
115	ADI-46741	VH4-59	VL3-21	ARETCSSGSCYYRVGSAFD I (SEQ ID NO:228)	QWWDSSSDHEV (SEQ ID NO:229)	0	1
116	ADI-	VH3-9	VK1-33	VKDYCSGGRCYSFDY (SEQ	QQWGT (SEQ ID	6	4

	4219 5			ID NO:230)	NO:231)		
117	ADI- 4217 2	VH3-30	VK1-5	AKAYDSSAYYYLDY (SEQ ID NO:232)	QQYNRYPYT (SEQ ID NO:233)	3	4
118	ADI- 4217 8	VH3-30	VK1-5	AKAYDSRGYYYYLDY (SEQ ID NO:234)	QQYNRYSYT (SEQ ID NO:235)	3	6
119	ADI- 4903 2	VH3-23	VK1-5	AKDLTHRLGSIFGKLTFDAF DI (SEQ ID NO:236)	QQYNNFWT (SEQ ID NO:237)	23	4
120	ADI- 5019 7	VH3-30	VL1-40	AKDLTPYFYDSGAFDH (SEQ ID NO:238)	HSYDSNMSGSV (SEQ ID NO:239)	17	7
121	ADI- 4889 4	VH3-72	VK1-27	ARVFGGPTDY (SEQ ID NO:240)	QKYYSAPLIT (SEQ ID NO:241)	7	2
122	ADI- 4222 6	VH3-72	VL3-25	ARVVNGLDV (SEQ ID NO:242)	QSADSSVADSSV V (SEQ ID NO:243)	7	1
123	ADI- 4903	VH3-30-3	VK3-11	ARGQPDY (SEQ ID NO:244)	QQRSNWPYT (SEQ ID NO:245)	7	4

	7						
124	ADI-4673 9	VH4-4	VL1-51	AGKKWELLGFRFDP (SEQ ID NO:246)	GTWDNSLGMVV (SEQ ID NO:247)	9	4
125	ADI-4281 0	VH1-3	VL2-14	ARQWLGHFDY (SEQ ID NO:248)	SSYTSSSTYV (SEQ ID NO:249)	1	0
126	ADI-4913 7	VH3-72	VK3-11	ARVFSYYLDY (SEQ ID NO:250)	QQPGNWPPAFT (SEQ ID NO:251)	11	3
127	ADI-4281 7	VH2-5	VK3-15	AHRHIAARLYRDDDVFVDV (SEQ ID NO:252)	QQYNNWIT (SEQ ID NO:253)	2	2
128	ADI-5021 8	VH1-8	VK1D-12	ARGLNTVTNSDY (SEQ ID NO:254)	QQANSFPWT (SEQ ID NO:255)	0	0
129	ADI-4212 6	VH1-2	VK2-28	ASGLSPDFSVLDV (SEQ ID NO:256)	MQALQTPYT (SEQ ID NO:257)	0	1
130	ADI-4218 6	VH6-1	VL1-44	AREGAGYYDSSGYYPLSYD AFDI (SEQ ID NO:258)	AAWDDNLIGVV (SEQ ID NO:259)	3	4

131	ADI-48890	VH3-72	VL2-8	ARVRGSYWDY (SEQ ID NO:260)	SSFAGSNNLYV (SEQ ID NO:261)	6	0
132	ADI-42206	VH3-72	VL2-14	GRDRGWLDI (SEQ ID NO:262)	SSYTRSSTRV (SEQ ID NO:263)	2	3
133	ADI-46724	VH4-4	VL1-51	ARVIRDLRDYYDGSYGPD AFDI (SEQ ID NO:264)	ETWDSRLSVV (SEQ ID NO:265)	16	4
134	ADI-50539	VH4-4	VL1-51	ARARWEDGNYYYYGMDV (SEQ ID NO:266)	GTWDSSLSAVV (SEQ ID NO:267)	0	0
135	ADI-45156	VH3-23	VK1-39	AKDQSSGWPNNYYYYGMDV (SEQ ID NO:268)	QQSYSTPWT (SEQ ID NO:269)	0	0
136	ADI-50536	VH7-4-1	VK1-39	VRGYCSSTSCYGGLYWFDP (SEQ ID NO:270)	QQSYSTPRT (SEQ ID NO:271)	0	1
137	ADI-42217	VH3-30-3	VL1-40	ARHSGGYSSKDKPTEYFQH (SEQ ID NO:272)	QSYDSSLSGVV (SEQ ID NO:273)	6	2
138	ADI-	VH4-4	VK4-1	ARDVGVAAVITGSVR (SEQ	QQFYTTPST	6	4

	4895 1			ID NO:274)	(SEQ ID NO:275)		
139	ADI- 5053 7	VH7-4-1	VK1-39	ARGYCSSTSCYGGLYWFD (SEQ ID NO:276)	QQSYSTPRT (SEQ ID NO:277)	0	0
140	ADI- 4673 7	VH3-30	VK1-17	ARDGAGDYIWGSYRHKGLH YYYGMDV (SEQ ID NO:278)	LQHNSYPLT (SEQ ID NO:279)	0	0
141	ADI- 5053 8	VH4-4	VL6-57	AKDPRTFYGVVMLLDDP (SEQ ID NO:280)	QSYDSTTVV (SEQ ID NO:281)	9	7
142	ADI- 4895 0	VH3-30	VL2-8	ARGFGELPGFDI (SEQ ID NO:282)	SSYAGSNNFVV (SEQ ID NO:283)	15	4
143	ADI- 4211 4	VH3-21	VL1-51	ARDSWGPFDDY (SEQ ID NO:284)	GTWDSSLSAKV (SEQ ID NO:285)	0	0
144	ADI- 4919 4	VH3-33	VK1-5	AKTYDSRAYYYLDY (SEQ ID NO:286)	QQYNRYPYT (SEQ ID NO:287)	8	7
145	ADI- 4212	VH3-23	VL2-11	AKDLFYDFWTGITIDY (SEQ ID NO:288)	CSYAGSYTFVL (SEQ ID NO:289)	4	0

	4						
146	ADI-45123	VH3-7	VK1-39	ARDGGTVSDGLDV (SEQ ID NO:290)	QQTFSIWT (SEQ ID NO:291)	8	7
147	ADI-50533	VH4-4	VL1-51	ARVWWYSSSSHLFDY (SEQ ID NO:292)	GTWDSSLSAGKV (SEQ ID NO:293)	0	0
148	ADI-49205	VH3-33	VL2-8	ARIKSDAFDL (SEQ ID NO:294)	FSYAGSNNYV (SEQ ID NO:295)	10	6
149	ADI-45151	VH3-30	VK2-24	AKFPLRDGGSGEGFDY (SEQ ID NO:296)	MQASQFPLT (SEQ ID NO:297)	17	3
150	ADI-46728	VH3-30-3	VK1-33	ARNTYYDRRRTFDY (SEQ ID NO:298)	QQYDNLPPVT (SEQ ID NO:299)	0	0
151	ADI-49030	VH3-72	VL3-1	AGVGITGTTGIDY (SEQ ID NO:300)	QAWDSSTDVV (SEQ ID NO:301)	0	0
152	ADI-50200	VH3-9	VK1-27	AKGAAAGPFPYFYAMDV (SEQ ID NO:302)	QKYQSAPPT (SEQ ID NO:303)	14	5

Tabla 2: Datos de Afinidad y Neutralización de anticuerpos anti-YFV

Número de Anticuerpo	Nombre	Unión Monovalente (KD)	Neut (100 nM) % de Neutralización Promedio	% de Neutralización Promedio	Datos de Agrupamiento de Epítomos	Clasificación de Células B
1	ADI-49039	4,15E-07	99,07	99,41	4G2 y 5A	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD-CD27-SHM+)
2	ADI-49147	3,73E-09	97,78	99,65	DIII; Competidor ADI-49147	Memoria de IgD (IgM-IgD+SHM+)
3	ADI-42229	7,87E-09	99,64	99,76	4G2 y 5A	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
4	ADI-45090	2,11E-09	99,56	98,83	DIII; Competidor ADI-49147	swIg+CD27+
5	ADI-45097	1,62E-09	99,32	99,38	Solo bloquea 5A	swIg+CD27-
6	ADI-49133	6,91E-09	99,90	98,57	Solo bloquea 5A	IgM+IgD+CD27+
7	ADI-49033	1,80E-08	99,86	99,95	5A y ADI- 45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
8	ADI-49044	1,88E-09	99,93	99,68	Otros	swIg+CD27-

9	ADI-45083	3,45E-09	99,69	99,59	Solo bloquea 5A	swIg+CD27-
10	ADI-42225	3,15E-08	99,69	99,76	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
11	ADI-49139	3,45E-09	99,53	100,00	5A y ADI- 45107	swIg+CD27+
12	ADI-48969	5,86E-09	99,88	98,12	5A y ADI- 45107	IgG+CD27-
13	ADI-48900	2,62E-08	99,70	99,94	Solo bloquea 5A	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27- SHM+)
14	ADI-42232	1,46E-08	99,77	99,85	5A y ADI- 45107	swIg+CD27+
15	ADI-42786	1,27E-08	92,79	89,16	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
16	ADI-42210	1,87E-08	99,64	99,76	5A y ADI- 45107	swIg+CD27+
17	ADI-50201	1,31E-08	99,28	97,94	5A y ADI- 45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27- SHM+)
18	ADI-48895	4,49E-09	99,71	99,78	5A y ADI- 45107	IgG+CD27+
19	ADI-42228	8,64E-09	97,69	69,43	ADI-45107	swIg+CD27-
20	ADI-45113	2,53E-07	98,92	98,77	DIII;	Memoria de IgD (IgM-IgD+SHM+)

					Competidor ADI-49147	
21	ADI-42198	3,32E-08	99,71	99,77	5A y ADI-45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
22	ADI-42190	1,31E-08	99,80	99,18	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
23	ADI-49154	1,41E-07	98,78	98,26	5A y ADI-45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD-CD27-SHM+)
24	ADI-49183	2,21E-09	99,90	99,86	5A y ADI-45107	IgG+CD27+
25	ADI-42201	1,13E-07	99,33	98,70	Solo bloquea 5A	IgM+IgD+CD27+
26	ADI-42144	1,09E-08	5,24	16,76	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27-
27	ADI-50219	8,59E-10	99,54	99,48	Solo bloquea 5A	IgG+CD27+
28	ADI-48897	3,22E-09	96,74	98,45	5A y ADI-45107	IgG+CD27-
29	ADI-42194	5,44E-09	99,59	99,58	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
30	ADI-49189	1,27E-08	99,84	98,09	5A y ADI-45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)

31	ADI-49188	9,54E-09	99,96	99,47	5A y ADI-45107	IgG+CD27+
32	ADI-42188	3,71E-08	99,80	99,77	5A y ADI-45107	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
33	ADI-50026	>1,0 E-07	99,93	99,91	Otros	swIg+CD27+
34	ADI-42809	3,78E-09	94,44	95,50	5A y ADI-45107	swIg+CD27+
35	ADI-46596	5,11E-09	96,03	99,34	5A y ADI-45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
36	ADI-50205	1,88E-08	99,70	99,64	Solo bloquea 5A	IgM+IgD+CD27+
37	ADI-42830	3,48E-09	95,10	93,86	Solo bloquea 5A	swIg+CD27-
38	ADI-49186	1,23E-08	99,46	99,81	Solo bloquea 5A	IgG+CD27+
39	ADI-46591	9,60E-09	98,23	97,22	5A y ADI-45107	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
40	ADI-48955	2,05E-09	99,87	96,91	5A y ADI-45107	IgG+CD27+
41	ADI-42818	2,41E-09	95,52	94,94	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
42	ADI-50531	>1,0 E-07	98,70	98,22	Otros	n.d.

43	ADI-46586	2,16E-09	97,63	97,56	5A y ADI-45107	IgG+CD27+
44	ADI-49138	1,75E-08	99,75	94,66	Otros	Memoria de IgD (IgM-IgD+SHM+)
45	ADI-45075	2,61E-08	99,36	98,41	DIII; Competidor ADI-49147	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
46	ADI-42831	1,96E-08	90,78	93,35	Solo bloquea 5A	Memoria de IgD (IgM-IgD+SHM+)
47	ADI-42230	1,99E-09	94,25	32,22	Otros	swIg+CD27-
48	ADI-42847	3,21E-09	83,08	91,27	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
49	ADI-42821	1,21E-08	93,76	90,48	Solo bloquea 5A	swIg+CD27+
50	ADI-42849	1,98E-09	95,03	94,68	5A y ADI-45107	swIg+CD27-
51	ADI-42151	2,97E-07	94,29	71,97	5A y ADI-45107	IgM+IgD+CD27+
52	ADI-46001	6,17E-09	98,61	99,26	5A y ADI-45107	IgG+CD27-
53	ADI-45154	>1,0 E-07	97,85	96,42	Solo bloquea 5A	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
54	ADI-49161	1,81E-09	92,08	91,30	Otros	swIg+CD27-

55	ADI-42154	1,64E-07	98,99	96,53	Solo bloquea 5A	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
56	ADI-48916	3,93E-07	99,79	88,13	Otros	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
57	ADI-45085	1,52E-07	99,32	96,95	Otros	swIg+CD27+
58	ADI-42211	1,64E-09	99,73	92,83	Otros	IgM+IgD+CD27+
59	ADI-48908	1,76E-09	99,80	74,90	Solo bloquea 5A	IgG+CD27+
60	ADI-48913	1,86E-07	98,86	81,30	Otros	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
61	ADI-45140	4,60E-09	82,51	41,20	ADI-44112	swIg+CD27+
62	ADI-50211	2,08E-08	99,80	90,42	5A y ADI- 45107	IgG+CD27+
63	ADI-42199	7,00E-10	93,81	45,88	4G2 y 5A	swIg+CD27+
64	ADI-42231	4,21E-08	86,32	42,38	Otros	swIg+CD27+
65	ADI-45164	>1,0 E-07	92,56	90,63	Otros	n.d.
66	ADI-42233	2,98E-09	88,94	33,48	4G2 y 5A	swIg+CD27+
67	ADI-42191	2,13E-09	99,56	80,41	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27+
68	ADI-48899	4,34E-07	97,45	45,70	Otros	IgM+IgD+CD27+
69	ADI-49145	1,05E-09	94,23	86,66	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27-

70	ADI-46729	>1,0 E-07	97,92	90,19	Solo bloquea 4G2	n.d.
71	ADI-46722	>1,0 E-07	94,16	89,67	Solo bloquea 5A	n.d.
72	ADI-45148	>1,0 E-07	94,92	23,00	Solo bloquea 5A	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
73	ADI-49168	2,41E-08	99,78	94,55	ADI-45107	IgG+CD27+
74	ADI-49040	9,99E-10	97,00	47,80	4G2 y 5A	swIg+CD27-
75	ADI-42187	4,01E-09	97,44	63,78	4G2 y 5A	swIg+CD27+
76	ADI-49561	2,42445E-07	98,78	76,85	Solo bloquea 5A	IgM+IgD+CD27+
77	ADI-42219	4,05E-09	99,59	89,06	4G2 y 5A	swIg+CD27+
78	ADI-50535	>1,0 E-07	97,31	70,22	Otros	n.d.
79	ADI-45128	3,54E-09	71,21	32,72	Otros	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27- SHM+)
80	ADI-45136	1,68E-08	99,50	15,36	Otros	swIg+CD27+
81	ADI-42189	2,40E-09	96,78	71,86	ADI-44112	swIg+CD27+
82	ADI-45078	5,88E-09	98,28	46,04	ADI-45107	swIg+CD27+
83	ADI-49162	2,19E-09	99,64	41,35	Otros	swIg+CD27+
84	ADI-42223	1,04E-09	60,40	27,92	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27+

85	ADI-48435	>1,0 E-07	98,28	82,33	Otros	IgM+IgD+CD27+
86	ADI-46742	>1,0 E-07	97,87	70,85	ADI-44112	n.d.
87	ADI-42787	4,50E-10	0	0	ADI-44112	swIg+CD27-
88	ADI-46718	>1,0 E-07	91,16	48,14	Otros	n.d.
89	ADI-49141	1,87E-07	99,87	80,61	Otros	swIg+CD27-
90	ADI-42213	1,52E-08	99,00	47,91	4G2 y 5A	swIg+CD27+
91	ADI-42844	1,37E-07	95,65	79,34	Otros	swIg+CD27+
92	ADI-45161	>1,0 E-07	90,85	20,97	Otros	n.d.
93	ADI-42192	2,04E-07	89,44	38,91	Otros	IgM+IgD+CD27+
94	ADI-48910	2,42E-09	99,95	59,48	Otros	IgG+CD27+
95	ADI-42193	9,22E-10	95,83	55,55	4G2 y 5A	swIg+CD27+
96	ADI-49590	1,09E-07	97,28	39,45	Otros	Memoria de IgD (IgD+IgM-CD27-SHM+)
97	ADI-45076	8,82E-10	40,69	13,70	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27+
98	ADI-48968	9,63E-10	97,97	31,34	Solo bloquea 4G2	IgG+CD27+
99	ADI-42212	8,84E-10	99,71	89,90	4G2 y 5A	swIg+CD27+
100	ADI-48462	>1,0 E-07	97,94	48,44	Solo bloquea 5A	naïve activadas (IgM+IgD+CD71+/CD21loSHM-)
101	ADI-45127	6,69E-09	75,27	21,17	4G2 y 5A	swIg+CD27-
102	ADI-42200	5,63E-09	86,80	30,37	4G2 y 5A	swIg+CD27-

103	ADI-50203	2,24E-08	99,89	11,77	Otros	IgG+CD27+
104	ADI-42149	1,77E-07	88,08	65,95	Otros	swlg+CD27-
105	ADI-42181	3,15E-08	82,16	7,59	4G2 y 5A	swlg+CD27+
106	ADI-45126	1,68E-09	86,51	35,29	ADI-44112	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
107	ADI-45074	6,99E-10	49,44	15,50	Otros	swlg+CD27+
108	ADI-49041	9,97E-10	89,17	23,10	ADI-44112	swlg+CD27-
109	ADI-42227	6,58E-10	96,46	49,47	ADI-44112	swlg+CD27+
110	ADI-50220	3,64E-09	99,84	49,33	ADI-45107	IgG+CD27-
111	ADI-42141	1,75E-09	0	32,14	Solo bloquea 4G2	swlg+CD27-
112	ADI-42216	1,14E-08	94,45	46,85	4G2 y 5A	swlg+CD27-
113	ADI-50534	>1,0 E-07	85,81	43,79	Otros	n.d.
114	ADI-49140	1,04E-09	98,41	2,59	4G2 y 5A	swlg+CD27-
115	ADI-46741	>1,0 E-07	94,68	23,14	ADI-44112	n.d.
116	ADI-42195	1,86E-09	92,25	31,33	Otros	swlg+CD27-
117	ADI-42172	1,29E-07	97,07	29,12	Otros	swlg+CD27+
118	ADI-42178	3,44E-08	99,40	41,04	Otros	swlg+CD27-
119	ADI-49032	4,86E-10	96,71	29,73	ADI-45107	swlg+CD27+
120	ADI-50197	>1,0 E-07	70,54	12,24	Otros	IgG+CD27-
121	ADI-48894	9,56E-08	97,88	59,39	Solo bloquea 4G2	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27- SHM+)

122	ADI-42226	8,43E-10	94,21	33,76	Solo bloquea 5A	swlg+CD27-
123	ADI-49037	3,53E-09	79,59	7,14	4G2 y 5A	swlg+CD27+
124	ADI-46739	>1,0 E-07	95,66	55,09	Otros	n.d.
125	ADI-42810	>1,0 E-07	0	0	Otros	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
126	ADI-49137	8,54E-10	46,64	50,93	Solo bloquea 4G2	Memoria de IgD (IgM-IgD+SHM+)
127	ADI-42817	4,15E-09	72,58	34,36	Otros	swlg+CD27+
128	ADI-50218	>1,0 E-07	66,77	14,49	Otros	Naïve (IgM+IgD+CD71-CD21+SHM-)
129	ADI-42126	3,31E-07	20,23	1,07	Otros	swlg+CD27+
130	ADI-42186	1,21E-09	84,73	43,51	Otros	swlg+CD27-
131	ADI-48890	>1,0 E-07	84,12	0	Otros	n.d.
132	ADI-42206	1,73E-09	71,04	23,09	4G2 y 5A	swlg+CD27+
133	ADI-46724	>1,0 E-07	93,22	62,53	5A y ADI- 45107	n.d.
134	ADI-50539	>1,0 E-07	79,84	42,88	Otros	n.d.
135	ADI-45156	>1,0 E-07	54,57	2,90	Otros	n.d.
136	ADI-50536	>1,0 E-07	99,76	13,96	Otros	n.d.
137	ADI-42217	4,00E-09	50,24	3,33	Solo bloquea 4G2	swlg+CD27+

138	ADI-48951	2,67E-09	78,84	41,95	Otros	Memoria de IgM atípica (IgM+IgD+CD27-SHM+)
139	ADI-50537	>1,0 E-07	90,56	13,47	Otros	n.d.
140	ADI-46737	>1,0 E-07	66,49	49,68	Otros	n.d.
141	ADI-50538	>1,0 E-07	74,32	19,58	Otros	n.d.
142	ADI-48950	1,53E-09	69,81	14,45	Solo bloquea 4G2	Memoria de IgD (IgD+IgM-CD27-SHM+)
143	ADI-42114	>1,0 E-07	70,93	23,01	ADI-45107	n.d.
144	ADI-49194	2,34E-07	80,83	46,50	Otros	IgG+CD27+
145	ADI-42124	5,88E-09	63,14	62,65	Otros	Solo IgM (IgM+IgD-CD27+)
146	ADI-45123	2,10E-09	59,03	27,03	ADI-45107	swIg+CD27+
147	ADI-50533	>1,0 E-07	78,78	43,72	Otros	n.d.
148	ADI-49205	1,29E-08	90,74	44,01	5A y ADI- 45107	IgG+CD27-
149	ADI-45151	>1,0 E-07	0	0	Solo bloquea 4G2	swIg+CD27+
150	ADI-46728	>1,0 E-07	89,49	48,99	Otros	n.d.
151	ADI-49030	1,25E-07	63,26	4,97	Otros	Naïve
152	ADI-50200	>1,0 E-07	97,30	0	4G2 y 5A	IgM+IgD+CD27+

* NN- no neutralizante; n.d. – no determinado; Otros – no bloquean ninguno de los controles de ensayo de competición listados

Tabla 3: Listado de Secuencias Informal

Número de Anticuerpo	SEQ ID NO:	Secuencia	Clon # (ADI)	Descriptores
1	304	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG <u>YSISSGFYWGW</u> WIRQP PGKGLEWIG <u>SMYQSGITYYNPSLKS</u> SRVTISVDTSKQFSLKL TSVTAADTAMYYC <u>ARNAPENYYGSGRESFDI</u> WGQGTMTVTV SS	ADI-49039	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
2	305	QVQLQESGGDLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSNYAMN</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>AINRGGDSTYYADSVKGR</u> FTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDHGGKYGWWYFDL</u> WGRGTLTVTV SS	ADI-49147	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
3	306	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG <u>YSISSGFYWGW</u> WIRQP PGKGLEWIG <u>SMYHSGITYYNPSLKS</u> SRVTISVDTSKNQFSLKL TSVTAADTAMYYC <u>ARNAPENYYGSGRESFDI</u> WGQGTTVTV SS	ADI-42229	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
4	307	EVQLVESGGGLVQPGRPLRLSCAASG <u>FAFSSYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>LIRFDGTIKYYADSVKGR</u> FTISRDN AKNTLYLQ MSSLRAEDTAVYYC <u>ARDLEVGAEYLYYHYGMDV</u> WGQGTTVTV	ADI-45090	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		TVSS		pesada ("HC")
5	308	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFN</u> <u>SHGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISYDGTKKYFADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMSSLRADD TAVYYC <u>AKDSSTSWYQVVYHIDY</u> WGQGT LVT VSS	ADI-45097	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
6	309	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFR</u> <u>NYAMN</u> WVRQT PGKGLEWVS <u>GISGGGDSTNYADSVKG</u> RFTISRDN SRNTLYL QLNSLRAED TAVYYC <u>AKDLAVSTPRYWFD</u> SWGQGT LVTVS S	ADI-49133	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
7	310	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>LIFR</u> <u>NYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>SFSGSGGSAYYADSVKG</u> RFTISRDN SKSTVYL QMNRLRVED TAVYYC <u>AKDMAVSVHRGWFD</u> DWGQGT LVTV SS	ADI-49033	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
8	311	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FAFS</u> <u>SYGMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>GMRFDG</u> <u>TKIYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAED TAVYFC <u>ARDLEVGA EYIYYYYGMDV</u> WGQGT TVT VSS	ADI-49044	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

9	312	QVQLVESGPGGLVKPSGTLSLTCAVSG <u>GSISSDYWWS</u> WVRQ PPGKGLEYGIG <u>EIYHTGSTNYNPSLKS</u> RVTVSLDRSKNVFSLTL RSVTAADTAVYYC <u>ARSHWRSPQSVTFDL</u> WGQGTTVTVSS	ADI-45083	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
10	313	QVQLQESGPGGLVKPSGTLSLTCAVSG <u>GSITSSNWWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>DIYHSGSTSYNPSLKS</u> RVTVISVDKSKNHFSLL LTSVTAADTAVYYC <u>ARIAAGYSTSWYYFDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-42225	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
11	314	EVQLVETGSGGLVLRPSGTLSLTCAVSG <u>DSISSNNWWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTSYNPSLKS</u> RVTVISIDKSNNHFSLL TSVTAADTAVYYC <u>AKDMWAGTTTNWFGP</u> WGQGTTLTVSS	ADI-49139	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
12	315	QVTLKESGGALVKPAGSLTSLCAASG <u>FTFGDYMS</u> WIRQAP GKGLEWIS <u>YISSSGSSIYYTDSVRG</u> RFTISRDNARNSLYLQM NSLRVEDTAVYYC <u>AREFSSRPFDL</u> WGQGTTLTVSS	ADI-48969	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
13	316	EVQLQESGPGGLVKPSGTLSLTCAVSG <u>GSISSDWWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTSYNPSVKS</u> RVVISVDKSKNQFSLQ LSSVTAADTAIYYC <u>ARVNPPQYSSGWYSVY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-48900	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
14	317	QVQLQQSGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>DSISSHWWC</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTSYNPSLKS</u> RVTISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYFC <u>ARVAWTSSSSCYDY</u> WGQGTLLTVSS	ADI-42232	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
15	318	EVQLVESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSYWW</u> WVRQ SPGKGLEWIG <u>EVYHSGSTHYNPSLKS</u> RVTISVDKSKNQFSLK LTSVTAADTAVYYC <u>ARDGEGHYRSGDNWFDR</u> WGQGTLLTVSS	ADI-42786	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
16	319	EVQLLES GPGLVQPSGTLSTCTASG <u>GSISSNWW</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>DIYHTGSTSYNPSLKS</u> RVTISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARAELSAWYYFDH</u> WGQGTLLTVSS	ADI-42210	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
17	320	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FIFSDYYMN</u> WIRQAP GKGLDWVST <u>TISGSGKSIYYADSVKGR</u> FTISRDNKNSLYLQM NSLSAEDTAVYYC <u>ARVSPLDDGYGYTYGMDV</u> WGQGTTVT VSS	ADI-50201	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

18	321	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDYYMS</u> WIRQAP GKGGLEWVS <u>YITSSGNTKYYADSVKGR</u> RFTISRDNANKNSLYLQI SSLRAEDTAVYYC <u>ARDWAELTTITNYFYP</u> WGQGTTVTVSS	ADI-48895	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
19	322	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFDDYAMH</u> WVRQP PGGGLEWVS <u>GISWNGGGIGYADSVKGR</u> RFTISRDNANKNSLYL QMNSLRADDTALYYC <u>AKAENRIGYCSAGSCYLTYFDY</u> WGQ GTLVTVSS	ADI-42228	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
20	323	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGGGLEWVS <u>AISGSGGSTYYADSVKGR</u> RFTISRDNANKNTLHL QMSSLRAEDTAVYYC <u>AKDPKYSSGWWAFDY</u> WGQGTLTV SS	ADI-45113	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
21	324	EVQLVESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSNKWWS</u> WVRQ PPGGLEWIG <u>EIYHSGSTSYNPSLKS</u> RVSISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARVEWAYSSSWLDY</u> WGQGTLTVSS	ADI-42198	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
22	325	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDDYMS</u> WIRQA PGGGLEWVS <u>YISGSGRAMYYADSVQGR</u> RFTVSRDNANKNSLF LQMNNLRAEDTAVYYC <u>AKHTGDKPLVWAPSVYGLDV</u> WGQ	ADI-42190	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		GTTVTVSS		pesada ("HC")
23	326	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>SSITSSHWW</u> SWVRQ PPGKGLAWIG <u>DIYHSGGTTYNPSLK</u> SRVTISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARVSVSTSAWYADY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-49154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
24	327	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG <u>FTFNYYMR</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>QISSSGSIKDYADSVKG</u> RFTVSRDNAKNSLYL QLNSLRADDTAVYFC <u>ARELSSRIDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-49183	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
25	328	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASG <u>FTLRSYGMH</u> WVRQV PGKGLEWVA <u>VSWYDGSNKHYADSVKG</u> RFSISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARAQDGQQLVNYYGMDV</u> WGQGT TVSS	ADI-42201	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
26	329	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYTMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>ARGGDYGDYESNNPAEYFQH</u> WGQG TLTVSS	ADI-42144	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

27	330	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>DSISVSYWS</u> WIRQFP GKGLEWIG <u>YIYN</u> <u>SGNANYNPSLES</u> RVTISIDTSKNRFSRLSS VTAADTAVYYC <u>AGHREDPYGAYGAS</u> WGQGTLVTVSS	ADI-50219	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
28	331	EVQLLES GPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSLSSDSHF</u> WGWIRQ PPGKGLEWIG <u>YIYYSGNANYNPSLQS</u> RVTISLDKSKNQFSLR LTSVTAADTAVYYC <u>ASRKEVRGTEDYFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-48897	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
29	332	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSVSSGSYYWS</u> WIRQ PPGKGLEWIG <u>YIYDSGNTNYP</u> <u>SLKLS</u> RVTISVDTSKRQFSLR LTSVTAADTAVYYC <u>AKVEEDGYTNVVRDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42194	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
30	333	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDYYMS</u> WIRQAP GKGLECIA <u>CISSSGSMIYYADSVKGR</u> FTISRDNAKNSLYLQLN SLRVEDTAVYYC <u>AREGTRGRMD</u> WGQGTLVTVSS	ADI-49189	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
31	334	EVQLLES GPGLVRPSGTLSTCAVSG <u>GSISTTDWWS</u> WVRQP PGKGLEWIG <u>EINQSGSTSYSPSFKS</u> RVSISVDKSKRQFSLKL TSVTAADTAVYYC <u>ARDSWSGPTRNWFDP</u> WGRGTLVTVSS	ADI-49188	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
32	335	EVQLLESGLVKGPSGTLSTCAVSG <u>GSISSGNWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSANYNPSLKS</u> RVTVISVDKSKNQFSLK LTSVTAADTAVYYC <u>ARVVWEYSNAWCVD</u> FWGQGTTTVTVSS	ADI-42188	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
33	336	EVQLLESGLGGVVPGRSLRLSCAASG <u>FTFTTYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>AVSYDGNKYYADSVKGR</u> RFTISRDNRSNTLYL QMNSLRAEDTAVYFC <u>ARNTYYDRSGLIAY</u> WGQGalTVTVSS	ADI-50026	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
34	337	QVQLVESGLVKGPSGTLSTCAVSG <u>DSISSTNWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIFHSGSTNYPFLKS</u> RVTVISVDKSKNHFSLKL SSVTAADTAVYYC <u>ARGPLKSYWYFDL</u> WGRGTLTVTVSS	ADI-42809	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
35	338	QVQLQESGLVKGPSGTLSTCAVSG <u>GSISSNNWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>DTYHSGSPSYNPSLKS</u> RVTVISVDKSKNEFSLK LSSVTAADTAVYFC <u>ARYCSGATCYGSNGMDV</u> WGQGTTTVTVSS	ADI-46596	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

36	339	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSNFGMH</u> WVRQ APGKGLEWVAI <u>IISYDRSNKDYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDQCGGDCTADY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-50205	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
37	340	EVQLLESGLVLRPSGTLSTCAVSG <u>ASISSNHWWT</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSPTYNPSLKS</u> RVTISVDKSKNQFSLK LNSVTAADTAVYYC <u>ASTLWGGPLSVASDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42830	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
38	341	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSNSGMH</u> WVRQ APGQGLEWVAL <u>LISYTGETKYYSDSLKA</u> RFTISRDN SKNTLYL QMSSLSNEDTAVYYC <u>ARDYYASGDGYFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-49186	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
39	342	QVQLQQWGPELVKPSGTLSTCTVSG <u>GSISSISWWS</u> WVRQ SPGKGLEWIG <u>EINHSGSTVYNPSLKS</u> RVTISVDKSKKQFSLK LRSVTAADTAVYYC <u>VRYCSSTSCYGLNGMDV</u> WGQGTTTVTVSS	ADI-46591	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
40	343	QVQLVQSGGGLVNPGGSLRLSCAASG <u>FTFTDYMS</u> WIRQA PGKGLEWVS <u>YISSSGNTRYADSVKG</u> RFTISRDN AKNSLSL QMNSLRPEDTAIYYC <u>ARDGSLVNAIDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-48955	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
41	344	EVQLVESGPGGLVKPSGTLTLTCAVSG <u>GSITGSNWW</u> SWVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHTGSTSYNPSLKS</u> RVTISVDNSKNHFSLR LTSVTAADTAVYYC <u>ARVRWSGSTSWDL</u> DYWGQGLTVTVSS	ADI-42818	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
42	345	EVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSG <u>FSLSTSGVG</u> GWIRQP PGKALEWL <u>ALIYWDDDKRYSPSLKS</u> RLTITKDTSKNQVVLTM TNMDPVDATATYYC <u>AHSPRRITMVRGVIITWGDGMDV</u> WGQG TTVTVSS	ADI-50531	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
43	346	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFTDY</u> YMSWIRQAP GKGLEWVS <u>YITSSGNTKYYADSVKG</u> RFTISRDNKNSLFLQ MNSLRAEDTAVYFC <u>ARDGSMVNAIDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-46586	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
44	347	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSNSGMH</u> WVRQ APGKGLEWVS <u>VIWYDESNKYYADSVKG</u> RFTISRDNKNTVY LQMNTLRAEDTAVYYC <u>ARDAYASGDGGIDY</u> WGQGLTVTVS S	ADI-49138	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

45	348	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>VISDSGGSTYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDLRGVGGWYYFDY</u> WGQGT LVTV SS	ADI-45075	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
46	349	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFINYAMT</u> WVRQAP GKGLEWVS <u>AISGNGDGTYYADSVKG</u> RFTLSRDNAKNTIYLH MSALRDEDTALYYC <u>AKDQGVTTDWPSDY</u> WGQGT LVTVSS	ADI-42831	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
47	350	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISHDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QINSLRAEDTAVYYC <u>PRDGLPGANQYFFYYGMDV</u> WGQGT T VTVSS	ADI-42230	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
48	351	EVQLLESGPRLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSVRGGSHYWS</u> WIRQ PPGKGLEWIG <u>YVYDSGSTNYNPSLKS</u> RVSVISVDMSKKQFSL KLRSVTAADTAVYHC <u>VRVEEYVNNEEVRDY</u> WGQGT MVTVS S	ADI-42847	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
49	352	EVQLLESGGGLVPPGGSLRLSCAASG <u>FTFSNYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>AISGSGDSTYYADSVKG</u> RFTLSRDT SKKMVYL HMSNLRDDDTAVYYC <u>ARDQGFTTDWPCDY</u> WGQGT LTVS	ADI-42821	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		S		pesada ("HC")
50	353	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDYYMS</u> WIRQAP GKGLEWVS <u>YITSSGNTMYYADSVKG</u> RFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYC <u>ARDSNFNSNLDY</u> WGQGTLLTVSS	ADI-42849	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
51	354	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSSNWW</u> SWVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTTYNPSLKS</u> RVTVISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARGPLKTYWYFDL</u> WGRGTLTVSS	ADI-42151	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
52	355	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDYYMS</u> WIRQAP GKGLEWVS <u>YISSSGNTIYYADSVKG</u> RFTISRDNAKNSLYLQL NSLRAGDTAVYYC <u>ARDSNYFYGLDV</u> WGQGTTTVTVSS	ADI-46001	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
53	356	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSNYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDDSKNTLYL QVNSLRAEDTAVYYC <u>AKDICS GD CGGGDY</u> WGQGTLLTVSS	ADI-45154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

54	357	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASG <u>YTFNTYAMT</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WISTYNGNTVFGQKFQGR</u> VTLSTDTSTSTAY MELRSLTSDDTAVYYC <u>AREDDDYYSMDV</u> WGQGTTVTVSS	ADI-49161	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
55	358	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSTYWMS</u> WVRQA PGKGLEWVAN <u>NIKQDGSEKYYVDSVKGR</u> RFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>ARDISCISTSCYGGYYYYGMDV</u> WGQ GTTVTVSS	ADI-42154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
56	359	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSNSGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VIWYDSRNQNYADSVKGR</u> RFTISRDNKNTLFL QMNSLRAEDTAVYYC <u>ARDYYASGDGSIDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-48916	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
57	360	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVST <u>TFSGRGGSTYYADFVKGR</u> RFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKYYDSSGYYYFDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-45085	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
58	361	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCGGSG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>VISYDGSKKYSADSVKGR</u> RFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>AKGSVSVAGAEDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-42211	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
59	362	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCAVSG <u>FTFAEYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVSS <u>SISWNSGRIGYVDSVRG</u> RFTISRDN AKNSLYL QMNSLRVEDTAFYYC <u>AKGYDSSGYYWADY</u> WGQGT LTVS S	ADI-48908	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
60	363	EVQLLES GPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSISSYYWS</u> WIRQPAG KGLELIG <u>RIYTSGSGNYNPSLKR</u> RVTMSVDTSKNQISRLNS VTAADTAVYYC <u>ARERGGYFTEPFDI</u> WGQGT MTVSS	ADI-48913	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
61	364	EVQLLES GGGLVHPGGSLRLSCAASG <u>FTFS DYEMN</u> WVRQA PGKGLEWVSS <u>HISSSGNIIYYADSVKG</u> RFTISRDN AKDSL YLQ MNSLRAEDTAVYYC <u>AATIFGVVSFDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-45140	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
62	365	EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSAYAMS</u> WVRQA PGRGLEWVSS <u>AI SGSDRRIYYADSVKG</u> RFSISRDN SKNTLYLQ MSSLRAEDTAVYYC <u>AKYYDSSGYY YLDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-50211	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

63	366	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFS</u> <u>SDHYMA</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIRNKPN</u> <u>SYTTEYAASVKGR</u> RFTISRHDSENSL YLQMNSLKTEDTAVYYC <u>CRESGEGFDP</u> WGQGTTLTVSS	ADI-42199	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
64	367	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>YSFTTYGIS</u> WVRQAP GQGLEWMG <u>WISGYS</u> <u>GD</u> <u>TNYAQKVQGR</u> RVTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYC <u>ARDQSHGTFGGVIDSTTLF</u> <u>YYYGMD</u> <u>V</u> WGQGTTTVTVSS	ADI-42231	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
65	368	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSIS</u> <u>SSSYWGW</u> WIRQ PPGKGLEWIG <u>SIYYSG</u> <u>STYYNPSLKS</u> RVTVISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYC <u>ARGYCSSTSCFY</u> <u>YYYGMDV</u> WGQGTTVT VSS	ADI-45164	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
66	369	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG <u>FTFS</u> <u>RYSMN</u> WVRQA PGKGLEWVSS <u>SISHSG</u> <u>RIYYADSEKGR</u> RFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYC <u>ARDHYFDSSGDYLS</u> <u>YYNGMDV</u> WGQ GTTTVTVSS	ADI-42233	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
67	370	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFS</u> <u>DHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RTRNKPN</u> <u>SHTTEYAASVKGR</u> RFTISRDDSKNSL YLQMNSLQTEDTAVYYC <u>ARVYGGPDDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-42191	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
68	371	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FIYTNYAMY</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>AISGSGGITYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDKAVYYC <u>AKDGVTTINGWFHFEY</u> WGQGLTVTS S	ADI-48899	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
69	372	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASG <u>FIFSDYYMD</u> WVRQTP GKGPEWVG <u>RITNRPNSYTTEYAASVKGR</u> FTISRDDSTNSLFL HMNSLKTEDTAVYYC <u>TRITGDRYWYLDL</u> WGRGTLTVSS	ADI-49145	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
70	373	EVQLVESGPGLVKPSQTL SLTCTVSG <u>GSISSGSYYWS</u> WIRQ PAGKGLEWIG <u>RIYTSGSTNYPNPSLKS</u> RV TMSVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYC <u>ARGWFGYSNYGLYYYYGMDV</u> WGQG TTVTVSS	ADI-46729	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
71	374	EVQLVESGPGLVKPSGTL SLTCAVSG <u>GSISSNWW</u> SWVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSESTNYPNPSLKS</u> RV TISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARDFWSGSNWFDP</u> WGQGLTVTVSS	ADI-46722	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

72	375	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFDDYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>GISWNSGSIGYADSVKG</u> RFTISRDNANKNSLYL QMNSLRAEDTALYYC <u>AKDIGDSYGSGSYL</u> PYGAYY <u>GMDV</u> WGQGTTVTVSS	ADI-45148	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
73	376	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA TGRGLEWVS <u>SIRSSGGRTEYADSVKG</u> RFTISRDNANKNSLYL QMDSLRAEDTALYYC <u>AKHYDSSGYYYEDY</u> WGQGTLTVSS	ADI-49168	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
74	377	EVQLVESGGALVHPGGSLGLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIRNKPN</u> SYATQYAAS <u>SVKG</u> RFTISRDDSKKSL YLQMNSLNTEDTAVYYC <u>ARVRDGEYDY</u> WGQGTLTVSS	ADI-49040	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
75	378	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYSMN</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>SISSRSSFMYYADSVKG</u> RFTISRDNANKNSLYL QMNSLRVEDTAVYYC <u>ARDNSEVEDYGDYVLYHYYGMDVW</u> GQGTTVTVSS	ADI-42187	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
76	379	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCVASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVAL <u>LISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDNANKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDQCGGDCTADY</u> WGQGTLTVSS	ADI-49561	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
77	380	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG FTFSSLAMHWVRQA PGKGLEWVAT <u>TISYDVS</u>NKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLFLQ MNSLRPEDTAVYYC <u>ARGYTG</u>DGFDY WGQGT LTVSS	ADI-42219	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
78	381	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>YTFTSYGIS</u> WVRQAP GQGLEWMG <u>WISAYNGNTNYAOKLOG</u> RVTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYC <u>ARRPYYYGSRRPAGHMDV</u> WGQGT TVTVSS	ADI-50535	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
79	382	QVQLQESGPGLVRPSQTLSTCTVSG <u>GAISSGDYYWS</u> WVR QPPGKGLEWIG <u>YIHYS</u>GTTYNNPSLKS RVTI AVDT SKNQFSL KLSSVTAADTAVYFC <u>GRDSDKNYFDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-45128	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
80	383	EVQLVESGGGVVRPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VIRFDGSNTVYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKTYDSNAYYYLDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-45136	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

81	384	EVQLVESGGGVVQPGWSLRLSCAVSG <u>FTFSSYAMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>VISYDGSYKWYADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ASLWFIVMTMSKNPETDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-42189	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
82	385	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASG <u>FSFSSHAMT</u> WVRQA PGKGLQWVSS <u>SIRGSDRTTNYADSVKGR</u> RFTVSRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAIYYC <u>AKYYDSSGYYYFDH</u> WGQGT LTVSS	ADI-45078	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
83	386	EVQLVESGGTFLQPGGSLRLSCVASG <u>FTFGTHAMS</u> WVRQA PGKGLEWVST <u>TFSGSGGRTYYADSVKGR</u> RFTISRDN SKSTLYL EMSALRAEDTAVYYC <u>AKFYDSSGYYYFDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-49162	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
84	387	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDYYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>GIRNKPNSYTTEYAASVKGR</u> RFTISRDD SKNSL FLQMNSLKTEDTAVYYC <u>VRLYGDYVAYFDY</u> WGQGT LTVSS	ADI-42223	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
85	388	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASG <u>YTFTSYGIS</u> WVRQAP GQGLEWMG <u>WISAYNGNTNYAQKLOGR</u> VTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYC <u>ARRGTTVTRFGVIOYYYGMDV</u> WGQ	ADI-48435	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		GTTVTVSS		pesada ("HC")
86	389	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>ASIRSYLWS</u> WIRQPP GKELEWLGS <u>SIYHSGSTKYNPSLK</u> SRVTISADTSKNQFSLKLN SVTAADTAVFYC <u>ARETANNWFD</u> PWGQGLTVTVSS	ADI-46742	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
87	390	EVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASG <u>FTFSGNAMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VILYDGSNOYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRPADTAVYYC <u>ARASMMRPPVHDY</u> WGQGLTVTVS S	ADI-42787	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
88	391	EVQLLESGGGLVQP GGSRLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>AISGSGGSTYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDRSQGDYGDYVADY</u> WSQGLTV VSS	ADI-46718	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
89	392	EVQLQESGPGLVKPSGTL SLTCAVSG <u>GSISSNWWT</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTNYPNPSLES</u> RVMTMSVDKSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYC <u>ARVQTSHSELWFG</u> EFGADWGQGLTV TVSS	ADI-49141	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

90	393	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFTYYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>GISGSGDSTYNADSVKGR</u> VRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDGGYSTDWYFDL</u> WGRGTLTVSS	ADI-42213	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
91	394	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGPEWVA <u>VISYDGSKKYFADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYSC <u>AKGYDSNGYYYIDY</u> WGQGPVTVSS	ADI-42844	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
92	395	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>VIWYDGSNKYYADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARDVGYQLLQVYGM</u> DVWGQGTTV TVSS	ADI-45161	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
93	396	EVQLLES GPGLVKPSQTL SLTCSVSG <u>GSISSGGYYWT</u> WIRQ PPGKGLEWIG <u>YIYYTGSTYYNPSLKS</u> RVTSISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYFC <u>ARAEYDTSGYYQQLPEYFQH</u> WGQGT LTVSS	ADI-42192	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
94	397	EVQLVQSGGGLVQRGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMT</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>DMNHSGDRTNYADSVRG</u> RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>AKYYDSSGYYYFHS</u> WGQGT LTVS	ADI-48910	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		S		pesada ("HC")
95	398	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FIFSDHYMA</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RSRNRPNSTTEYAASAKG</u> RFTISRDDSKTSL YLQMNSLKTEDTAVYYC <u>AREHGDYGLDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42193	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
96	399	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>YTFTGYMH</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>RINPNSSGNTYAQKFOG</u> RVTMTTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYC <u>YVDYYDSSGYSPFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-49590	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
97	400	EVQLVESGGGFVQPGGSLRLSCAASG <u>FIFSDYYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIRNKPNSYTTEYAASVKG</u> RFSISRDDLKNSL YLQMNSLKTEDTAEYYC <u>ARVDGEEVALIY</u> WGQGALVTVSS	ADI-45076	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
98	401	EVQLLESGGGLGQPGGSLRLSCVASK <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIRNKPNGYTTEYAASVKG</u> RFIISRDDSKNSLY LQMKSLKIEDTAIYYC <u>VRVWGGEAARYDY</u> WGQGALVTVSS	ADI-48968	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

99	402	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RSRNKPNSYITEYAASVKGR</u> FTISRDDSKNSL YLQMNSLKTEDTAVYYC <u>SRHMGFGLDL</u> WGQGTLTVSS	ADI-42212	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
100	403	QVQLVQSGGGVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>VIWYDGSNKYYADSVKGR</u> FTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARDYYGSGDGYFDY</u> WGQGTTVTVS S	ADI-48462	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
101	404	EVQLVESGPVLVKPTETLRLTCTVSG <u>FSLSNTKLGVS</u> WIRQP PGKALEWLA <u>HIFSNAEKSSSKSLKS</u> RLSISQDTSKSLVLTMTNMDPVDTATYFC <u>ARIPVEYGTGRGSFDT</u> WGQGTTVTVSS	ADI-45127	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
102	405	EVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASG <u>LTFSTYTLH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISSDGGNKYYADSVKGR</u> FTISRDS SKNTLYL QMNSLRTEDTAVYYC <u>AGGSPDY</u> WGQ GALTVSS	ADI-42200	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
103	406	EVQLVESGGGVQPGRSLRLSCVPSG <u>FTFSSYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>MMSYDGGDKNYADSVKGR</u> FTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAIYYC <u>ARAYDSRGYYYIEH</u> WGQGTLTVSS	ADI-50203	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
104	407	QVQLVQSGAEVRKPGASVKVSCKASG <u>YTFTSYGIS</u> WVRQAP GQGLEWMG <u>WISTYNGNTNYAQKLOG</u> RVMTTDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAVYYC <u>AREIDSNYVFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42149	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
105	408	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSNYWMN</u> WVRQ APGKGLEWVAN <u>NIKODGSEKYYVDSVKG</u> RFTISRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARKLSYSSGWYYFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42181	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
106	409	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFS DHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RSTNKPNSYTTTYAASVRG</u> RFTISRDESKNSL YLQMNSLKSDDTAVYYC <u>VTTTVILFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-45126	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
107	410	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGG <u>GSFSGYYWS</u> WIRQP PGKGLEWIG <u>EINHRGSTDYNPSLKS</u> RVTMSVDTSKNQFSLR LSSVTAADTALYYC <u>ARGRLAWGLRGQKSPNFFAY</u> WGQGAT VTVSS	ADI-45074	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

108	411	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSHAWMT</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIKSETDGGTANYAAPVKGR</u> FTISRDDSKNTV YLQMVSLKTEDTAVYYC <u>ATAGIFGVIMKGF</u> DHWGQGTTVT VSS	ADI-49041	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
109	412	EVQLLESgaeVKEPGSSVKVSCKPSG <u>GTFSYVIS</u> WVRQAP GQGLEWMG <u>GIIPFGTPNYAQKFQGR</u> VTITADDSTSTAHMEL SSLTSDDTAVYYC <u>ARETYYYGSGSVPVHD</u> WGQGTlTVSS	ADI-42227	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
110	413	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FIFSSNSMH</u> WVRQA PGKGLKWVA <u>IISNDGRNKFYADAVKGR</u> FTVSRDNSKNTLYL QMNSLRPEDTAVYYC <u>ARGYDSSGYWGF</u> GDNWGQGTlTV SS	ADI-50220	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
111	414	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFS</u> DHYMDWVRQ APGKGLEWVG <u>RTRNKANSYTTKYAASVKGR</u> FTISRDDSKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>ARVEGGAWGA</u> FDIWGQGTTVT VSS	ADI-42141	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
112	415	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSG <u>FSLSNTKMGVT</u> WIRQP PGKALEWLA <u>HIFSNDEKSCNTSLKS</u> RlTISKDTSKSQVVLTM TNMDPVDTATYYC <u>ARLWFTEYPGA</u> FDIWGQGTMTVSS	ADI-42216	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
113	416	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSISSSYYWG</u> WIRQ PPGKGLEWIG <u>SIYYSGSTYYNPSLKS</u> RVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYC <u>ARHSSGSYYLAGYYFDY</u> WGQGTLLTVS S	ADI-50534	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
114	417	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGRGLEWVG <u>RSRNKVNSTTDYAASVKG</u> RFTISRDDSKNS LFLRMNSLKTEDTAVYYC <u>ARLTDSGYDD</u> WGLGTLTVSS	ADI-49140	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
115	418	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSG <u>GSISSYYWS</u> WIRQPP GKGLEWIG <u>YIYYSGSTNYPNPSLKS</u> RVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYC <u>ARETCSGGSCYYRVGSAFDI</u> WGQGTTVT SS	ADI-46741	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
116	419	EVQLLESGGGMVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFDDYDMH</u> WVRQ GPGKGLEWVS <u>GISWNSGGRGYADSVKG</u> RFTISRDNKNSL YLQMNSLRVEDTALYYC <u>VKDYCSGGRCYSFDY</u> WGQGTLLTV VSS	ADI-42195	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

117	420	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VMSYDGSNKYYADSLKG</u> RFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYFC <u>AKAYDSSAYYYLDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-42172	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
118	421	EVQLVESGGGVIQGRSLRLSCAASG <u>FNFSYGMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVHYC <u>AKAYDSRGYYYLDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-42178	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
119	422	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCVGS <u>GLTSSSAMS</u> WVRQA PGKGLECVS <u>GITGSGSDSSYAASVKG</u> RFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDLTHRLGSIFGKLTFDAFDI</u> WGPG TMVTVSS	ADI-49032	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
120	423	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGPEWVA <u>VI SEDGNKDHYVDSVKG</u> RFSIYRDNSKSTVFL RMTSLRAEDTAVYYC <u>AKDLTPYFYDSGAFDH</u> WGQGLTVTV SS	ADI-50197	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
121	424	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RSRNKVNSYITEYAASVKG</u> RFSISRDDSKNSL YLQMNSLKIEDTAVYYC <u>ARVFGGPTDY</u> WGQGLTVTVSS	ADI-48894	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
122	425	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FIFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RIRNKPNSTT</u> DYAAY <u>VKGR</u> FSISRDDSKNSL FLQMNSLKTEDTAVYYC <u>ARVVG</u> LDVWGQGTTLTVSS	ADI-42226	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
123	426	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTLSSYVMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISSDGTNKYYADSVKGR</u> FTISRDDSSKNTLYL QMNSLRPEDSAVYYC <u>ARGQPDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-49037	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
124	427	EVQLVESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSDNWWS</u> WVRQ APGKGLEWIG <u>EIYHTGSTSYNPSLKS</u> RVTISLDKSKNHFSKL NSLTAADTAVYYC <u>AGKKWELLGFRFDP</u> WGQGTTLTVSS	ADI-46739	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
125	428	QVQLVESGAEEKKPGASVKVSCASG <u>YTFTSYAMH</u> WVRQA PGQRLEWMG <u>WINAGNGNTKYSQKFQGR</u> VTITRDTSASTAY MELSSLRSEDVAVYYC <u>ARQWLGHFDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-42810	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

126	429	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FIFSDHYMA</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>HVGNKANTYTTTEYAASVKGR</u> FTISRDDSKKSL YLQMNRLKSEDTAVYYC <u>ARVFSYYLDY</u> WGQGTPVTVSS	ADI-49137	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
127	430	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSG <u>FSLSTSGVGVG</u> WTRQ PPGKALEWLA <u>LIYWDDDKRYSPSLKS</u> RLTITKDTSKNQVLT MTKMDPVDATYYC <u>AHRHIAARLYRDDDVF</u> DVWGQGTMTV VSS	ADI-42817	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
128	431	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>YTFTSYDIN</u> WVRQAT GQGLEWMG <u>WMNPNSGNTGYAQKFQG</u> RVTMTRNTSISTAY MELSSLRSEDTAVYYC <u>ARGLNTVTNSDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-50218	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
129	432	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>YTFTGYMH</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINPNSGGTNYAQKFQG</u> WVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYC <u>ASGLSPDFS</u> VLVDVWGQGTTLTVSS	ADI-42126	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
130	433	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISG <u>DSVSTNSAAWN</u> WIRQ SPSRGLEWLG <u>RTYYRSKWYNDYALSVKS</u> RITIKPDTSKNQF SLQLNSVTPEDTAVYYC <u>AREGAGYYDSSGYPLSYDAFDI</u> W	ADI-42186	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		GRGTMVTVSS		pesada ("HC")
131	434	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQA PGKGLEWVG <u>RARNRANSYTTEYAASVKGR</u> FAASRDDSKNS LYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>ARVRGSYWDY</u> WGQGTTLTVSS	ADI-48890	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
132	435	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQ APGKGLEWVG <u>RIRNKVNSYTTEYAASVKGR</u> FTISRDDSKNS LYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>GRDRGWLDI</u> WGQGTMTVTVSS	ADI-42206	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
133	436	QVQLQESGPGLVEPSGTLSTLCVVTG <u>DSISSRSWWS</u> WVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGTTTYSPLKS</u> RVIISLDKSENHFSCLKM TSVTAADTAVYYC <u>ARVIRDLRDYYDGS</u> GYGPDAFDI <u>W</u> WGQGT TVTVSS	ADI-46724	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
134	437	EVQLVESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSNWW</u> SWVRQ PPGKGLEWIG <u>EIYHSGSTNYPNPSLKS</u> RVITISVDKSKNQFSCLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARARWEDGNYYYGMDV</u> WGQGTTVTV SS	ADI-50539	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

135	438	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGKGLEWVS <u>AISGSGGSTYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>AKDQSSGWPNNYYGMDV</u> WGQGTTV TVSS	ADI-45156	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
136	439	QVQLVESGSELKKPGASVKV SCKASG <u>YTFTSYAMN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTNTGNPTYAQGFTG</u> RFV FSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYC <u>VRGYCSSTSCYGGLYWFD</u> PWGQGT LTVSS	ADI-50536	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
137	440	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCADSG <u>FTFSYSAIH</u> WVRQAP GKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYC <u>ARHSGGYSSKDKPTEYFQH</u> HWGQGT LTVSS	ADI-42217	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
138	441	EVQLLES GPGLVKPSGTL SLTCAVSG <u>ASISSNNWWS</u> WVRQ SPGKGLEWIG <u>EIFHSGTTNYP SLKS</u> RV TISVDKSKNQFSLK LNSVTAADTAVYYC <u>ARDVGVA AVITGSVR</u> WGQGT LTVSS	ADI-48951	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
139	442	QVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASG <u>YTFTSYAMN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTNTGNPTYAQGFTG</u> RFV FSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYC <u>ARGYCSSTSCYGGLYWFD</u> PWGQGT	ADI-50537	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

		LTVVSS		pesada ("HC")
140	443	QVQLVQSGGGVWPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMH</u> WVRQ APGKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYC <u>ARDGAGDIWGSYRHKGLHYYYGM</u> <u>DV</u> WGQGT TVTVSS	ADI-46737	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
141	444	EVQLVESGPGLVMPSTLSLTCTVSG <u>SISSSNWWS</u> WVRQS PGKGLEWIG <u>EVYHSGSTKYNPSLKS</u> RVTISVDKSRNQFSLKL NSVTAADTAVYYC <u>AKDPRTFYGVMLLDDP</u> WGQGT LTVS S	ADI-50538	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
142	445	EVQLVESGGGVWPGRSLRLSCAVSG <u>FTFSTSPLH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VSSFVATDKYYADSVKG</u> RFTVSRDN SKNTLYL QMNSLRPEDTAVYYC <u>ARGFGELPGFDI</u> WGQGT MVTVSS	ADI-48950	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
143	446	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYSMN</u> WVRQA PGKGLEWVSS <u>SISSSSSYIYYADSVKG</u> RFTISRDN AKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYC <u>ARDSWGPF</u> WDYWGQGT LTVTVSS	ADI-42114	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

144	447	EVQLVESGGAVVQPGRSLRLSCAASG <u>FTFSSYGMH</u> WVRQA PGKGLESVA <u>VIWYDGSNKNYADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTLFL QMNSLRAEDSAMYYC <u>AKTYDSRAYYYLDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-49194	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
145	448	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMS</u> WVRQA PGKGLELVSA <u>AISSSGGSTYYADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTALYYC <u>AKDLFYDFWTGITIDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-42124	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
146	449	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG <u>FIFSNIYWMS</u> WVRQA PGKGLEWVAN <u>NIKPDGSEKYYVESVRG</u> RFTISRDN AKNSLYL QMNSLRAEDTAVFYC <u>ARDGGTVSDGLDV</u> WGQGTTVTVSS	ADI-45123	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
147	450	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSG <u>GSISSNWW</u> SWVRQ PPKGLEWIG <u>EIYHSGSTNYPNPSLKS</u> RVTVISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYC <u>ARVWYSSSSHLFDY</u> WGQGTLVTVSS	ADI-50533	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
148	451	EVQLVESGGGVVQTGRSLRLSCAASG <u>FTFSISGMH</u> WVRQA PGKGLEWVAL <u>LIWYDGTKKYYADSVKGR</u> RFTISRDDFKNTVYL QMNSLRADDTAVYYC <u>ARIKSDAFDL</u> WGQGTTVTVSS	ADI-49205	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				pesada ("HC")
149	452	EVQLLESGGGVVQPGKSLRLSCAASG <u>FSFGDYGMH</u> WVRQT PDKGLEWVA <u>VILFDGSKKFYADSVRG</u> RFTISRDN SKNNLYL QMSSLRPEDTAVYYC <u>AKFPLRDGSGEGFDY</u> WGQGT LTVT SS	ADI-45151	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
150	453	EVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASG <u>FTFSSYAMH</u> WVRQA PGKGLEWVA <u>VISYDGSNKYYADSVKG</u> RFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC <u>ARNTYYDRRRTFDY</u> WGQGT LTVT VSS	ADI-46728	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
151	454	QVQLVQSGGGLVQP GGSRLRLSCAASG <u>FTFSDHYMD</u> WVRQ APGKGLEWVG <u>RTRNKANSYTTEYAASVKG</u> RFTISRDD SKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYC <u>AGVGITGTTGIDY</u> WGQGT LTVT S	ADI-49030	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")
152	455	EVQLLESGGDLVQPGRSLRLSCAASG <u>FNLIDYAMH</u> WVRQVP GKGLEWVSG <u>ISWNSRSIGYADSVKG</u> RFTISRDN AKNSLYLQ MDSLKHEDTALFYC <u>AKGAAAGPFPHYFYAMDV</u> WGQGT TVT VSS	ADI-50200	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada ("HC")

1	456	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYV</u> SWYQQLP GAAPKLLIY <u>DNKKRPS</u> GIPDRFSGSASGTSATMGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDSSL</u> SAWVFGGGTKVTVL	ADI-49039	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
2	457	DIRVTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>DASN</u> RATGIPVRFSGSGSGTDFLTISLQSEDF VYYC <u>QQYDNWPLT</u> FGGGTKVEIK	ADI-49147	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
3	458	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYV</u> SWYQQFP RTAPKLLIY <u>DNKKRPS</u> GIPDRFSGSASGTSATLGITGLQTGDE ADYYC <u>GTWDSSL</u> SAWVFGGGTKVTVL	ADI-42229	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
4	459	QPVLTPPPSASGTPGQRVTIFC <u>SGSR</u> SNIGTYTINWYQKLPG TAPKLLIY <u>SNNRGPS</u> GVPDRFSGSQSGTSASLAISGLQPEDE ADYYC <u>AAWDDSL</u> NGWVFGGGTKVTVL	ADI-45090	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
5	460	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYV</u> AWYQQLP GRAPKLLIH <u>DNKKRPS</u> GIPDRFSGSASGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>ETWDSSL</u> NAVVFSGGGTKLTVL	ADI-45097	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
6	461	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQTISVDLN</u> WYQHKPG KAPKLLIF <u>AASTLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLQPEDFA TYYC <u>COOSYSIPRIT</u> FGQGTRLEIK	ADI-49133	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
7	462	EIVMTQSPSALSASVRDRVITITC <u>RASQSIGSDLN</u> WYQQRPG KAPMLLIY <u>AATGLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISNLQPEDF ATYYC <u>QOSYSPPMYT</u> FGQGTKVDIK	ADI-49033	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
8	463	QPVLTPPPSASGTPGQRTVITSC <u>SGSSNIGTNTVS</u> WYQQLP GTAPQLLVF <u>SRTORPS</u> GVPRFSGSGSGTSASLAISGLQSD DEADYYC <u>AAWDDSRNGWV</u> FGGGTKLTVL	ADI-49044	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
9	464	QPVLTPPPSVSAAPGQKVTISCS <u>SGSNSNIGNYYVS</u> WYQQFP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSGSGTSATLAITGLQTGDE AHYYC <u>GTWDTSSL</u> SAGRVFGGGTKLTVL	ADI-45083	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

10	465	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNSYVSWYQQVP</u> GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQAGD EADYYC <u>GTWDTSLSAGRV</u> FGRGTKLTVL	ADI-42225	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
11	466	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGYSHVSWYQQLP</u> GTAPKVLIIY <u>DNDKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDTSLGVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-49139	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
12	467	QSVLTQPRSVSGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGAYNEVSWYQQ</u> YPGKAPKLMIY <u>DVNRKPS</u> GVDPDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYHC <u>CSYAGTYTSNYV</u> FGSGTKVTVL	ADI-48969	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
13	468	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVSWYQQLS</u> ETAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPNRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDE ADYYC <u>GTWDNSLGAVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-48900	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
14	N/A	N/A	ADI-42232	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
15	469	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGSNYVS</u> WYQQFP GTAPKLLIY <u>DNSKRPS</u> GIPDRFSGSMSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDSSL SAVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-42786	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
16	470	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDTSL SAGRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42210	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
17	471	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASRSVSSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPARFTGSGSGTEFTLTISLQSEDF VYYC <u>QQYNNWPPRT</u> FGQGTVKVDIK	ADI-50201	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
18	472	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITITC <u>RASQGISSWL</u> AWYQQKPG KAPKLLIH <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYC <u>QQA KSF PPT</u> FGQGTRLEIK	ADI-48895	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

19	473	QPVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLLIY <u>DVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSANSASLTISGLQAE DEADYYC <u>NSYTSSSTLV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42228	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
20	474	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDF LYYC <u>QQYDDWPL</u> FGQGTRLEIK	ADI-45113	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
21	475	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTD EADYIC <u>GTWDTSLSAGGV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42198	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
22	476	QSVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDIGAYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMIIY <u>DVTNRPS</u> GVSNRFSGSKSGSSASLTISGLQTE DEADYYC <u>SSYTRRSTLV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42190	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
23	477	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTD EANYYC <u>GTWDTSLSTV</u> FGGGTKLTVL	ADI-49154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
24	478	QSALTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTGSDVGGYNFVS</u> WYQQH PGKAPKLMLY <u>DVNNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYC <u>SSYPGTSALVI</u> FGGGTRLTVL	ADI-49183	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
25	479	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQSISSYLN</u> WYQQKPG EAPNLLIF <u>AASILOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYC <u>QOQSYSTPYT</u> FGQGKVEIK	ADI-42201	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
26	480	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISC <u>TGSSSNIGAGYDV</u> HWYQQL PGTAPKLLIY <u>GNSNRPS</u> GVDPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAE DEADYYC <u>QSYDSSLSGHVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42144	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
27	481	EIVLTQSPATLSSSPGERATLSC <u>RASQSVNSYLV</u> WYQQKPG QAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFTGSGSGTDFTLTISLQPEDFA VYYC <u>QOQRTNWPFT</u> FGQGKVDIK	ADI-50219	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

28	482	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVNRYLA</u> WYQQKPG QAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA VYYC <u>HQRTNWPWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-48897	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
29	483	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSNYLA</u> WYQQKPG QAPRLLIY <u>DASSRAT</u> GIPARFRGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA VYYC <u>LQRTNWPFT</u> FGPGTKVEIK	ADI-42194	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
30	484	QSVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDIGGYNYVS</u> WYQQH PGKVPKLVIIY <u>DVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTS GTTLGV</u> FGTGTKLTVL	ADI-49189	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
31	485	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGRSSNIGNSDVS</u> WYQQFP GRAPKLLIY <u>DNDERPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLDITGLQTGD EADYYC <u>GTWDSSLGGVIF</u> GGGGTKVTVL	ADI-49188	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
32	486	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>ETWDSSLGVVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42188	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
33	487	DIQVTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>QASQDISNYLN</u> WYQHKPG RAPKLLIY <u>DASNLER</u> GVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLPEDIA TYYC <u>QOYDNLSRLT</u> FGGGTKLEIK	ADI-50026	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
34	488	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDTSLSAGRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42809	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
35	489	QSVLTQPPSMSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYRQLP GTAPKLLIY <u>DNDKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTTATLGITGLQTGDE AVYYC <u>GTWDFRLSAL</u> FGGGTKLTVL	ADI-46596	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
36	490	QSVLIQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGDKYVS</u> WYQQH PGKAPKLVIIY <u>EVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSGTPVV</u> CGGGTKVTVL	ADI-50205	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

37	491	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNYYV</u> SWYQQVP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLHTGDE AEYYC <u>GTWDSSPSAGRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42830	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
38	492	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC <u>KSSQSVLFGSNQKSC</u> LAWY QQKPGQSPKLLIH <u>WASTRES</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLTSSL QAEDVAVYYC <u>QQYYSTPRT</u> FGQGTKVEIK	ADI-49186	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
39	493	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGSNFV</u> SWYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLAITGLQTGDE ADYYC <u>GTWDTRL</u> SALFGGGTKVTVL	ADI-46591	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
40	494	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNFGNDYV</u> SWYQQLP GTAPKLLIY <u>DNDKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDTSL</u> SAAWVFGGGTKVTVL	ADI-48955	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
41	495	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYV</u> SWYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSTSGTSATLGITGLQTGDE AVYYC <u>GTWDTSPSAGGV</u> FGGGTKVTVL	ADI-42818	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
42	496	QPVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> SWYQQH PGKAPKLMY <u>DVSNRPS</u> GVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSSTLAV</u> FGGGTKLTVL	ADI-50531	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
43	497	QPVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNDYVS</u> SWYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSGSGTSATLGITGLQTGD EGDYCYC <u>GTWDSSL</u> <u>SAAWV</u> FGGGTKVTVL	ADI-46586	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
44	498	QPVLTQSASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYKYVS</u> SWYQQH PGKAPKLMY <u>EVSNRPS</u> GVSI RFGSGSKSGNTASLTISGLQAA DEADYYC <u>SSYRSSGTPYV</u> FGTGTKVTVL	ADI-49138	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
45	499	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>QASQDISNFLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>DASSLET</u> GVPSRFSGSGSGTDFFTISSLPEDIAT YYC <u>QQYDNLPLT</u> FGGGTKLEIK	ADI-45075	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

46	500	DIRLTQSPSTLSASVGDRVTVTC <u>RASQ</u> NINTYLAWYQQIPGK APRLLIY <u>RASTLES</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDYAT YYC <u>QHYETYSVR</u> FGQGTKVEIK	ADI-42831	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
47	501	DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQ</u> GISNYLAWYQQKPG KVPKLLIF <u>AASTLR</u> SGVPSRFRGSGSGTDFTLTISLQPEDVA TYYC <u>QKYNSAPLT</u> FGGGTKVEIK	ADI-42230	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
48	502	DIVMTQTPATLSLSPGERATLSC <u>RASQ</u> SVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFA VYYC <u>LQRTNWPFT</u> FGPGTKVEIK	ADI-42847	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
49	503	DIVLTQSPSTLSASVGDRVTVTC <u>RASQ</u> NINTYLAWYQQIPGK APRLLIY <u>RASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFAT YYC <u>QHYNFSVK</u> FGQGTKVEIK	ADI-42821	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
50	504	SYELTQPPSVSVAPGQTARITC <u>GGHNVGSKSVH</u> WYQQKPG QAPVLVVY <u>DDSDRPS</u> GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYC <u>QVWDSSSDHPWV</u> FGGGTKVTVL	ADI-42849	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
51	505	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDTSLSAGRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42151	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
52	506	QPVLTQPPSVSVAPGQTARITC <u>GGNNIGSKSVH</u> WYQQKPG QAPMLVIY <u>SNSDRPS</u> GIPERFSGSNSGITATLTISRVEAGDEA DYHC <u>QVWDTSIDHHWV</u> FGGGTKLTVL	ADI-46001	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
53	507	QSVLIQPPSASGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMIY <u>EVSKRPS</u> GVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQA EDGADYYC <u>SSYAGSNNWV</u> VFGGGTKLTVL	ADI-45154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
54	508	QPVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSTDVGGYNYVS</u> WYQQY PGKAPKLIY <u>DVTNRPS</u> GVSHRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYC <u>SSYTTTSLVI</u> IFGGGTKLTVL	ADI-49161	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

55	509	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCS <u>RSSQSLLHSNGYNYLDWYL</u> QKPGQSPQLLIY <u>LGSNRRAS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYC <u>MQALQTPPRT</u> FGQGTRLEIK	ADI-42154	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
56	510	DIQVTQSPSSLSASVGGRVTITC <u>RASQGIRNDLG</u> WYQRKPG KAPKRLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFRSGSGSGTEFTLTISLQPEDF ATYYC <u>LQHNSYPLT</u> FGGGTKVDIK	ADI-48916	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
57	511	DIQLTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQSISTWLAWY</u> QQKPGK APKLLIY <u>RASSLES</u> GVPSRFRSASGSGTEFTLSISLQPDDEFAT YYC <u>KQYNRNPHY</u> TFGQGTKVEIK	ADI-45085	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
58	512	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQGISSYLAWF</u> QQKPG KVPKLLIY <u>AASTLOS</u> GVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDVA TYYC <u>QKYNAPQT</u> FGQGTKVDIK	ADI-42211	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
59	513	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSFNLAWY</u> QQKPG QAPRLLIS <u>RASTRAA</u> GVPARFRSGSGSGTEFTLTISLQSEDF AVYYC <u>QOYNNWPPLT</u> FGGGGTKLEIK	ADI-48908	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
60	514	DIQMTQSPDSLTVSLGERATINC <u>KSSQSVLYSSNNKNSLAW</u> YQQKPGQPPKLLIY <u>WASTRES</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLTSS LQAADVAVYY <u>COQYYRTPWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-48913	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
61	515	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVSWY</u> QQLP GTAPKVLIIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDSALGAAV</u> FGGGTKLTVL	ADI-45140	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
62	516	DIQLTQSPSTLSASVGDRVITIC <u>RASQSVSSWLAWY</u> QQKPG KAPRLLIY <u>RASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTSSSLQPDDFA AYYC <u>QOYNRDPYT</u> FGQGTKVEIK	ADI-50211	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
63	517	SYELTQLPSVSVSPGQTARVTC <u>SGDAL--</u> <u>QYVY</u> WYQQKPGQAPVVIY <u>KDTERPS</u> GIPERFSGSSSGTTV TLTITGVQAEDEADYYC <u>QSADRSQSVI</u> FGGGTKVTVL	ADI-42199	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

64	518	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSYL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYC <u>QQRSNWPS</u> FGQGTKLEIK	ADI-42231	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
65	519	DIRLTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQSISSYL</u> NWYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQSYSTPLT</u> FGGGTKVEIK	ADI-45164	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
66	520	ETTLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASRSVSGNYL</u> AWYQQKP GQAPRLLIY <u>AASSRAT</u> GIPDRFSGGGSGTHFTLTISRLEPEDF AVYYC <u>QQYGSSPRA</u> FGQGTKVEIK	ADI-42233	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
67	521	EIVMTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQSIRSYL</u> NWYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLOS</u> GVPLRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQSSITPPT</u> FGQGTKLEIK	ADI-42191	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
68	522	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTC <u>RASQSISWL</u> AWYQQKPG KAPKLLIY <u>QASSLES</u> GVPSRFSGSESGTEFTLTISLQPDFA TYYC <u>QQYNSFPFT</u> FGPGTKVEIK	ADI-48899	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
69	523	DIVLTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQSINNYLN</u> WYQQKPGK APNLLIF <u>GASTLOS</u> GVPSRFTGSGSGTVFTLTISLQRDDFVI YYC <u>QOTYSASGS</u> FGQGTKVEIK	ADI-49145	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
70	524	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQSISSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QOSYSTPWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-46729	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
71	525	QSALIQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSGSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDNSLGVV</u> FGGGTQLTVL	ADI-46722	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
72	526	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQKP GQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLSINRLEPED FAVYYC <u>QOYGSSPG</u> FGQGTKVEIK	ADI-45148	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

73	527	DIVLTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQISDWL</u> AWYQQKPGK APGLLIY <u>RASGLE</u> SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFA TYYC <u>HQYKDFPW</u> TFGGQTKVDIK	ADI-49168	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
74	528	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQSISTWL</u> AWYQLKPG KAPKLLIY <u>KASNLQS</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFA ATYYC <u>QQYNSYSP</u> WGQGTKLEIK	ADI-49040	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
75	529	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSRYL</u> AWYRQKP GQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYC <u>QQYGSSPF</u> FGGGTKLEIK	ADI-42187	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
76	530	QSVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGDKYVS</u> WYQQH PGKAPKPMIY <u>EVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSSTPVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-49561	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
77	531	QPVLTQPRSVSGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQ HPGKAPKLMIS <u>DVSKRPS</u> GVDPDRFSGSKSGNTASLTISGLQA DDEADYYC <u>CSYATNYGVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-42219	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
78	532	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC <u>TRSSGSIASNYVQ</u> WYQQRPGSSPTTVIY <u>EDNORPS</u> GVDPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYC <u>QSYDSSNVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-50535	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
79	533	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNDV</u> SWYQQLPGRAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC <u>GAWDSSL</u> <u>SAHVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-45128	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
80	534	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTVTC <u>RASQISDWL</u> AWYQQKAGKAPKLLIY <u>RASSLES</u> GVPPRFSGSGSGTEFTLTISSLRPDDFA TYYC <u>QQYNRYPYT</u> FGQGTVKVDIK	ADI-45136	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
81	535	DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQGIRNDL</u> AWYQQRPGKAPKRLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDF ATYYC <u>LQHHSYPWT</u> FGQGTVKVEIK	ADI-42189	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

82	536	DIRMTQSPSTLSASIGDRVITTC <u>RASQISDWLA</u> WYLQKPGK APSLLIY <u>RASSLET</u> GVPSRFSGRSGTEFTLTISLQPDDFGT YYC <u>QQYNRDPYT</u> FGQGTKVDIK	ADI-45078	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
83	537	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTVTC <u>RASQNVGGWLA</u> WYQQKP GKAPKLLIF <u>QASRLEN</u> GVPSRFSANASGTEFTLTIGSLQPDD FATYYC <u>QQYNTYPYT</u> FGQGTKVDIK	ADI-49162	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
84	538	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQISQYLN</u> WYQQKPGK APKLLIS <u>PASSFQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFAT YYC <u>QQSYSTPWT</u> FGQGTKVDIK	ADI-42223	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
85	539	QSVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMY <u>DVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSSTLV</u> FGGGTQLTVL	ADI-48435	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
86	540	SYELTQPPSVSVAPGQTARIIC <u>GGNYIGGKSVH</u> WYQQKPGQ APVLVWY <u>NDNDRPS</u> GIPERFSGSNSGNTATLTISRVAAGDEA DYYC <u>QVWDNSSDRRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-46742	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
87	541	DIRVTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQRVNSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPVRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFA VYYC <u>QOYNTWWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-42787	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
88	542	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQSISSYLN</u> WYQQKPG KAPKLLIY <u>AASSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYC <u>QOYSTPLT</u> FGGGTKVDIK	ADI-46718	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
89	543	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFA VYSC <u>QOYNTWPKT</u> FGQGTKVEIK	ADI-49141	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
90	544	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSFL</u> AWYQQKP GQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDF AVYYC <u>QOYGSSRRT</u> FGQGTKVEIK	ADI-42213	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

91	545	DIRVTQSPSTLSASVGDRVTITC <u>RASQSISSWL</u> AWYQQKPG KAPKLLIY <u>RASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFA TYYC <u>QQYNRYPYT</u> FGQGTKVEIK	ADI-42844	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
92	546	QSALTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMIIY <u>EVSNRPS</u> GVSNRFSGSGSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSSTLDVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-45161	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
93	547	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSSNL</u> AWYQQKPG QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> SIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFA VYYC <u>QQYNSWPPIT</u> FGQGTRLEIK	ADI-42192	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
94	548	DIRLTQSPSTLSASVGDRVSITC <u>RASQSIDWL</u> AWYQQKPG KAPKLLIY <u>RASGLET</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFA TYYC <u>QQYNRYPYT</u> FGQGTKVDIK	ADI-48910	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
95	549	QPVLIQPPSASGTPGQRVTISC <u>SGSSSNFGSNFVY</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>RVNORPS</u> GVPDRFSGSGSGTSASLAISGLRSED EADYYC <u>ATWDVSLSDVL</u> FGGGTKLTVL	ADI-42193	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
96	550	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLS</u> WYQQKP GQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYC <u>QOYGSSPPIT</u> FGGGTKVEIK	ADI-49590	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
97	551	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQTITRYMN</u> WYQQKPG EAPKLLIY <u>ATSSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTITNLQPADFA TYYC <u>QQSSTTRWT</u> FGQGTKVDIK	ADI-45076	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
98	552	DIRLTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQDIRKFLN</u> WYQQKLGK APSLLIY <u>GASSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAI YYC <u>QHASTTPWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-48968	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
99	553	SYELTQPPSVSVSPGQTATITC <u>SGDKLGYTYTC</u> WYQQKPGQ SPVLVIY <u>QDTRPS</u> GIPERFSGSNSGNTATLTITGTQAMDEA DYYC <u>QAWDTTITAGGV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42212	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

100	554	DIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQKP</u> GQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYC <u>QOYGSSPRA</u> FGPGTKVEIK	ADI-48462	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
101	555	QSVLTQPPSASGSPGQSVTISC <u>AGTRSDVGGYNFVSWYQQ</u> HPGKAPKLLIY <u>EVNKRPS</u> GVPDRFSGSKSANTASLTVSGLQA EDEAEYFC <u>SSYGGNNDLV</u> FGGGTKVTVL	ADI-45127	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
102	556	EIVMTQSPATLSLSPGERGTLSC <u>RTSQSVSSFLAWYQQKPG</u> QAPRLLMY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDF AVYYC <u>QQRSNWPYT</u> FGQGTKVDIK	ADI-42200	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
103	557	GIQLTQSPSTLSASVGDRVITIC <u>RASQSVSDWLAWYQQKPG</u> RAPNLLIY <u>RASSLOS</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDF ATYYC <u>QOYKTYWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-50203	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
104	558	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCT <u>TGTSSDVGGYNYVSWYQQH</u> PGKAPKLMIY <u>EVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSGTNI</u> FGTGTKLTVL	ADI-42149	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
105	559	DIVMTQTPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVSSNVA</u> WYQQKPG QAPRLLIH <u>GASTRAT</u> GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDF VYYC <u>QOYNNWPPLT</u> FGGGGTKLEIK	ADI-42181	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
106	560	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC <u>SGDALPKKYVY</u> WFQQKSG QAPVLVIY <u>EDRRGPS</u> GIPERFSGSTSGTMTLTIRGAQVEDE ADYFC <u>YSTDSSGLLG</u> VFGGGTKLTVL	ADI-45126	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
107	561	DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCK <u>KSSQSVFYSSNSQNYLAW</u> YQQKPGQPPKLLIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSATDFSLTISS LQAEDVAVYYC <u>QQFHSPPW</u> TFGQGTKLEIK	ADI-45074	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
108	562	DIVMTQSPSTLSASVGDRVITC <u>RASQISISNWLAW</u> YQQKSG KAPKLLIY <u>KASRLES</u> GVPSTFSGSGSGTEFTLTISLQADDF SYYC <u>QOYNDYPWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-49041	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

109	563	EIVMTQSPSSLSASVGDRVITC <u>RASQGIRNDLG</u> WYQQKPG KAPKRLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGREFTLTISLQPEDF ATYYC <u>LQHNTYPWT</u> FGGGTKVEIK	ADI-42227	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
110	564	DIQVTQSPSTLSASVGDRVSITC <u>RASQTISWL</u> AWYQQKPG KAPKLLMY <u>KASNLQS</u> GVPSRFTGSGSGTEFTLTISLQPDDF ATYYC <u>QQYYSYPYT</u> FGPGTKVDIK	ADI-50220	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
111	565	SYVLTQPPSVSVSPGQTARITC <u>SGDALPKQYGY</u> WYQQKPG QAPVLVIY <u>KDSERP</u> SGIPERFSGSSSGTTVTLISGVQAEDEA DYYC <u>QSADRS</u> GTVVFGGGTKLTVL	ADI-42141	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
112	566	QAVVTQPPSASGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQ HPGKAPKLMVY <u>EVTKRPS</u> GVDPDRFSGSKSGNAASLTVSGLQ AEDEAEYYC <u>SSYAGSNALV</u> FSGGTKLTVL	ADI-42216	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
113	567	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC <u>TRSSGSIASNYVQ</u> WYQQRP GSAPTTVIY <u>EDNQRP</u> SGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTE DEADYYC <u>QSYDSSNWV</u> FGGGTKLTVL	ADI-50534	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
114	568	QPELTQPPSVSVSPGQTARITC <u>SGDALSKQYAY</u> WYQQKPG QAPVVVIY <u>KDSERPS</u> GIPERFSGSRSGTTVTLTISGVQAEDE ADYYC <u>HSPDSHVVF</u> GGGKLTVL	ADI-49140	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
115	569	SYELIQLPSASVAPGKTARITC <u>GGNNIGSKSVH</u> WYQQKPGQ APVLVVY <u>DDSDRPS</u> GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEA DYYC <u>QVWDSSSDHEV</u> FGGKLTVL	ADI-46741	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
116	570	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>QASQDISNYLN</u> WYQQKPG KAPKLLIY <u>DVSKLKT</u> GVPPRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIA TYYC <u>QQWGT</u> FGGKVDIK	ADI-42195	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
117	571	EIVLTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQISDWLA</u> WYQQKPGK APNLLIY <u>RASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFAT YYC <u>QQYNRYPYT</u> FGGKVEIK	ADI-42172	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

118	572	DIQLTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQISDWLAW</u> FQQKPG KAPKLLIY <u>RASGLET</u> GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFA TYYC <u>QQYNRYSY</u> TFGQGTKVEIK	ADI-42178	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
119	573	DIRLTQSPSTLSASVGDRVITITC <u>RASQISGWLA</u> WYQQKPG KAPKLLIY <u>KASILES</u> GVPSRFSGSQSGTEFTLTISLQPDDFA TYYC <u>QQYNNFWT</u> FGQGTKLEIK	ADI-49032	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
120	574	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSC <u>TGNSSNIGAGYEVH</u> WYQQL PGTAPKLLIY <u>GNNNRPS</u> GVPPDRFSGSKSGASGLAVTGLRA EDEADYYC <u>HSYDSNMSGSV</u> FGGGTKVTVL	ADI-50197	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
121	575	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQGISNYLA</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASTLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFILTISLQPEDVAT YYC <u>QKYYSAPLIT</u> FGPGTKVEIK	ADI-48894	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
122	576	SYELTQPPSVSVSPGQTARITC <u>SGDALPKQYAY</u> WYQQKPG QAPVLVIY <u>KDTERPS</u> GIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEA DYYC <u>QSADSSVADSSVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42226	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
123	577	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSNYFA</u> WYQQKPG QAPRLLIY <u>GASNRAT</u> GVPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDF AVYYC <u>QORSNWPYT</u> FGQGTKVEIK	ADI-49037	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
124	578	NFMLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSNSNIGNNFVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNERPS</u> GIPDRFSGSKSVTSATLGITGLQTGDE ADYYC <u>GTWDNSLGMVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-46739	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
125	579	QSALTQPASVSGSPGQSITISCT <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMIIY <u>EVSNRPS</u> GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTSSSTYV</u> FGTGTKVTVL	ADI-42810	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
126	580	EIVLTQSPGTLALSPGERATLSC <u>RASQSVSSYLA</u> WYQQKPG QAPRLLIY <u>DSSNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFA VYYC <u>QOPGNWPPAFT</u> FGGGTKLEIK	ADI-49137	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

127	581	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <u>RASQSVTSKLAWYQQKPG</u> QAPRLLIY <u>GASTRAT</u> GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFA VYYC <u>QQYNNWIT</u> FGQGTRLEIK	ADI-42817	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
128	582	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITITC <u>RASQGISSWLAWYQQKPG</u> KAPKLLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYC <u>QQANSFPWT</u> FGQGTKVDIK	ADI-50218	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
129	583	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC <u>RSSQSLLSNGYNSLDWYL</u> QKPGQSPQLLIY <u>LGSNRAS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYC <u>MQALQTPYT</u> FGQGTKLEIK	ADI-42126	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
130	584	QPVLTPPPSASGTPGQRTVITSC <u>SGSSSNIGSNTVHWYQQLP</u> GTAPKLLIY <u>SNNORPS</u> GVDPDRLSGSRSGTSASLAISGLQSED EAEYYC <u>AAWDDNLIGVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42186	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
131	585	QSALTQPPSASGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQ HPGKAPKLMIIY <u>EVSKRPS</u> GVDPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQ AEDEADYYC <u>SSFAGSNNLYV</u> FGTGTKVTVL	ADI-48890	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
132	586	QSVLTQPASVSGSPGQSITISC <u>TGTSSDVGGYNYVS</u> WYQQH PGKAPKLMY <u>DVTNRPS</u> GVSNRFGSRSGNTASLTISGLQAE DEADYYC <u>SSYTRSSTRV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42206	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
133	587	QPVLTPPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGSNFVS</u> WYQQFP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>ETWDSRLSVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-46724	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
134	588	QPVLTPPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLP GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGD EADYYC <u>GTWDSLSAVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-50539	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
135	589	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASOSISSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QOSYSTPWT</u> FGQGTKVDIK	ADI-45156	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

136	590	DIRVTQSPSSLSASVGDRVITITS <u>RASQSISSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQSYSTPRT</u> FGGGTKVDIK	ADI-50536	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
137	591	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCT <u>TGSSSDIGAGYDVH</u> WYQQL PGTAPKLLIY <u>GNTNRPS</u> GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAE DEADYYC <u>QSYDSSLGVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42217	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
138	592	DIVLTQSPDSLAVSLGERAAINC <u>KSSQSVFFSSDNKNYL</u> AWY QQKPGQPPKLLIY <u>WASTRES</u> GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYC <u>QQFYTPST</u> FGQGKVEIK	ADI-48951	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
139	593	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQSISSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQSYSTPRT</u> FGGGTKVEIK	ADI-50537	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
140	594	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQGIRNDLG</u> WYQQKPG KAPKRLIY <u>AASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDF ATYYC <u>LQHNSYPLT</u> FGGGTKVEIK	ADI-46737	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena

				ligera ("LC")
141	595	NFMLTQPHSVSESPGNTVTISC <u>TRSSGSI</u> ASTYVQ WYQQRPGSAPSTVIY <u>EDNORPP</u> GVPARFSGSIDSSSNSASLTISGLETEDEADYYC <u>QSYDSTTVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-50538	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
142	596	SYVLTQPPSASGSPGQSVTISC <u>TGTSSDFGGYNYVS</u> WYQQHPGKAPKLMVY <u>EVAKRPS</u> GVDPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYC <u>SSYAGSNNFVV</u> FGGGTKLTVL	ADI-48950	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
143	597	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVS</u> WYQQLPGTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC <u>GTWDSLSAKV</u> FGGGTKLTVL	ADI-42114	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
144	598	ETTLTQSPSTLSTSVGDRVITIC <u>RASOSISSWL</u> AWYQQKPGKAPKLLIY <u>RASSLET</u> EVPSRFSGSGSGTDFTLTISRLQPDDFA TYFC <u>QQYNRYPYT</u> FGQGKLEIK	ADI-49194	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

145	599	QPVLTQPRSVSGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGYNYVSWYQQ</u> HPGKAPKLMY <u>DVSKRPS</u> GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYC <u>CSYAGSYTFVL</u> FGGGTKLTVL	ADI-42124	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
146	600	DIRVTQSPSSLSASVGDRVITISC <u>RASESISIYLNWYQQKPGK</u> APNLLIY <u>AASSLQR</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQAEDFAT YYC <u>QQTFSIWT</u> FGQGTKVEIK	ADI-45123	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
147	601	QPVLTQPPSVSAAPGQKVTISC <u>SGSSSNIGNNYVSWYQQLP</u> GTAPKLLIY <u>DNNKRPS</u> GIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTD EADYYC <u>GTWDSSL</u> SAGKVFGGGTKLTVL	ADI-50533	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
148	602	QSALTQPPSASGSPGQSVTISC <u>TGTSSDVGGFNYVSWYQQ</u> HPGRAPKLVIY <u>EVNRRPS</u> GVPDRFSGSKSGYTASLTVSGLQ AEDEADYYC <u>FSYAGSNNYV</u> FGTGTKVTVL	ADI-49205	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
149	603	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC <u>RSSQSLVHSDGNTYLSWLQ</u> QRPGQPPRFLIY <u>KISNRFS</u> GVPDRFSGGGAGTDFTLKISRVE AEDVGVIYCYC <u>MQASOFPLT</u> FGGGTKVEIK	ADI-45151	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

150	604	EIVMTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>QASQDISNYLN</u> WYQQKPG KAPKLLIY <u>DASNLET</u> GVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIA TYYC <u>QQYDNLPPVT</u> FGQGTRLEIK	ADI-46728	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
151	605	QPVLTQPPSVSVSPGQTASITC <u>SGDKLGDKYAC</u> WYQQKPG QSPVLVIY <u>QDSKRPS</u> GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYC <u>QAWDSSTDVV</u> FGGGTKVTVL	ADI-49030	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")
152	606	DIQVTQSPSSLSASVGDRVITTC <u>RASQGISNNL</u> AWYQQKPGI FPKLLIY <u>AASTLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFILTISLQPEDVAT YYC <u>QKYQSAPPT</u> FGGGTKLEIK	ADI-50200	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera ("LC")

Materiales y Métodos

Diseño del estudio

Los sujetos del estudio de 30 y 31 años de edad fueron vacunados con la vacuna YFV-17D Stamaril. Se obtuvo sangre heparinizada (50–100 cc) de los sujetos antes de la vacunación y los días 10, 14, 28, 90, 180, 270 y 360 después de la vacunación. Las muestras se procesaron en el laboratorio central de monitorización inmunitaria y citometría de flujo de la Escuela de Medicina Geisel de Dartmouth para obtener plasma y aislar células B derivadas de sangre periférica. Las células aisladas y el plasma se almacenaron congelados en alícuotas a -80°C.

Células: Células Huh 7.5.1 (recibidas del Dr. Jan Carette; originalmente del Dr. Frank Chisari) fueron pasadas cada 3 a 4 días usando solución de tripsina/EDTA al 0,05% (Gibco) y mantenidas en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM alto en glucosa), Gibco) suplementado con suero bovino fetal inactivado por calor al 10% (FBS, Atlanta Biologicals), penicilina/estreptomicina al 1% (P/S, Gibco), Gluta-MAX al 1% (Gibco) y HEPES 25 mM (Gibco). Células renales de mono grivet africano Vero (obtenidas de la ATCC) se sometieron a pasadas cada 3 a 4 días usando solución de tripsina/EDTA al 0,05% (Gibco) y se mantuvieron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM alto en glucosa, Gibco) suplementado con suero bovino fetal inactivado por calor al 2% (FBS, Atlanta Biologicals), penicilina/estreptomicina al 1% (P/S, Gibco), Gluta-MAX al 1% (Gibco) y HEPES 25 mM (Gibco).

Generación 17D del virus de la fiebre amarilla: YFV-17D se obtuvo de BEI Resources (cat# NR-115). Placas de 15 cm con Huh 7.5.1 en una confluencia del 80% se infectaron con 90 µl de solución madre de la pasada 2 de sobrenadante de YFV-17D en 3 ml de medio de infección (DMEM con bajo contenido de glucosa (Gibco), FBS al 7%, Pen- Strep al 1%, Gluta-MAX al 1% (Gibco), HEPES 25 mM (Gibco)) durante 1 hora a 37°C y CO₂ al 5%. Después de 3 días, se recogió el sobrenadante y se centrifugó dos veces a 4000 rpm durante 15 min a 4°C para eliminar los restos celulares. La reserva viral de YFV-17D para los ensayos de neutralización se generó mediante ultracentrifugación del sobrenadante preaclorado a 28.000 rpm con un rotor SW28 (Beckman Coulter) en una ultracentrífuga Beckman Coulter Optima LE-80K durante 4 horas a través de 2 ml al 30% (v/v) cojín de D-sacarosa/PBS. Se dejó que el sedimento se resuspendiera durante la noche en hielo en 300 µl de PBS y después se dividió en alícuotas y se congeló a -80°C.

Generación del virus del Zika: La cepa del virus del Zika MR 766 se

obtuvo de la ATCC (ATCC® VR-84™). Para el ensayo de neutralización, se infectaron placas de 15 cm con células Vero en una confluencia del 80% con 90 µL de la solución madre de la pasada 1 de sobrenadante de Zika en 3 ml de medio de infección (DMEM bajo en glucosa (Gibco), FBS al 2%, Pen-Strep al 1%, Gluta-MAX al 1% (Gibco), HEPES 25 mM (Gibco)) durante 1 hora a 37°C y CO2 al 5%. Después de 3 días, se recogió el sobrenadante y se centrifugó dos veces a 4000 rpm durante 15 min a 4°C para eliminar los restos celulares.

Antígenos y anticuerpos

Producción de antígenos de YFV recombinantes: la región codificante de toda la región prM y E soluble (sE) de la cepa YFV Asibi (Uniprot ID: Q6DV88, residuos 122-678 de la poliproteína del genoma) se clonó en pMT-puro, un insecto de expresión vector que codifica una etiqueta de estreptococo doble C-terminal. El diseño del constructo de expresión se basó en estructuras publicadas previamente de antígenos de flavivirus61, 62, 63. El constructo YFV prM/E se utilizó para generar una línea inducible y estable de *Drosophila* S2. La expresión de proteínas se indujo con la adición de sulfato de cobre y se permitió que continuara durante 5 a 7 días. La proteína recombinante se purificó por afinidad a partir del sobrenadante del cultivo con una columna StrepTrap HP (GE Healthcare). Se llevó a cabo un paso de purificación adicional usando un paso de cromatografía de exclusión por tamaño usando una columna S200Increase (GE Healthcare). Las preparaciones finales de proteínas se almacenaron en solución salina amortiguada con fosfato, pH 7,4, suplementada con NaCl 150 mM adicional. Se almacenaron pequeñas alícuotas a -70°C hasta su uso. Los antígenos de flavivirus adicionales usados en este estudio (DENV-2 E, DENV-4 E, WNV E y ZIKV E) se expresaron y purificaron esencialmente como se describe para YFV sE.

Antígenos de la proteína NS1 de Flavivirus: Las proteínas NS1 del virus del dengue (serotipos 1-4), JEV, TBEV, WNV, YFV se adquirieron de Native Antigen Company (Cat# FLAVX4-NS1-100 y DENVX4-NS1-100) y ZIKV NS1 se adquirió de Meridian Life Science (Cat# R01636). Los anticuerpos de control positivo reactivos con las proteínas NS1 anteriores se obtuvieron de Native Antigen Company: anti-DENV NS1 (Cat# AbDENVNS1-DA034), anticuerpo anti-ZIKV NS1 (Cat# AbZIKVNS1-B4-100). El anticuerpo de la proteína anti-YFV NS1 se adquirió de Meridain Life Sciences (Cat# C01906M). El anticuerpo anti-WNV NS1 (Cat# HM484-X0632) y el anticuerpo anti-TBEV NS1 (Cat# HM477-X1462) se adquirieron de East Coast Bio. Se utilizó

suero de reacción cruzada con flavivirus para detectar la proteína NS1 de JEV.

Proteína YFV-17D DIII: La región DIII (aa 293-397) de la proteína E de YFV-17D (Uniprot ID: P03314) se produjo en células *Drosophila* S2 usando un vector pT350 modificado (Felix Rey, Institut Pasteur, Francia). La expresión de proteínas se indujo mediante CdCl₂ y el sobrenadante se recogió 5-7 días después de la inducción. La proteína recombinante se purificó usando una columna Strep-Tactin (IBA) y cromatografía de exclusión por tamaño usando una columna S200Increase (GE Healthcare) y amortiguador de NaCl 10 mM Tris pH8/150 mM.

Clasificación de células B individuales

Para la clasificación de plasmablastos, las PBMC se tiñeron usando CD38 (PE), CD27 (BV421), CD20 (PE-Cy7), CD3 (PerCP-Cy5.5), CD8 (PerCP-Cy5.5), CD14 (PerCP-Cy5.5) y CD16 (PerCP-Cy5.5) antihumanos. Los plasmablastos se definieron como células CD19+CD3-CD20-/loCD27highCD38high. Para la clasificación de MBC, las células B se purificaron usando un kit de aislamiento de células B MACS (Miltenyi Biotec; cat# 130-091-151) y posteriormente se tiñeron usando CD19 (PE-Cy7), CD20 (PE-Cy7), CD3 (PerCP-Cy5.5), CD8 (PerCP-Cy5.5), CD14 (PerCP-Cy5.5), CD16 (PerCP-Cy5.5), IgD (BV421), IgM (AF-488), CD27 (BV510), CD21 (BV605), CD71 (APC-Cy7 y una mezcla de tetrámeros de YFV E marcados dobles (APC y PE) (25 nM cada uno) antihumanos. Los tetrámeros se prepararon frescos para cada experimento, y las células B que mostraron reactividad a los tetrámeros de YFV E se clasificaron en células individuales. Las células individuales se clasificaron usando un BD FACS Aria II (BD Biosciences) en placas de PCR de 96 cavidades (BioRAD) que contenían 20 uL/cavidad de amortiguador de lisis [5 uL de amortiguador de ADNc de primera cadena 5X (Invitrogen), 0,625 uL de NP-40 (New England Biolabs), 0,25 uL de RNaseOUT (Invitrogen), 1,25 uL de ditiotretol (Invitrogen) y 12,6 uL de dH₂O]. Las placas se almacenaron inmediatamente a -80°C. Los datos de citometría de flujo se analizaron con el software FlowJo.

Amplificación y clonación de genes variables de anticuerpos

Los genes variables de anticuerpos (IgH, IgK e IgL) se amplificaron por PCR de transcripción inversa y PCR anidadas usando cócteles de cebadores específicos de IgG e IgM, como se describió anteriormente (Tiller et al, J Immunol 2008). Los cebadores usados en la segunda ronda de PCR contenían 40 pares de bases de homología 5' y 3' con los vectores de expresión digeridos, lo que permitió la

clonación por recombinación homóloga en *S. cerevisiae*. Se utilizó el método de acetato de litio para la transformación química para clonar los productos de PCR en *S. cerevisiae* (Gietz and Schiestl, Nat Protoc 2007). Se usaron 10 uL de producto de PCR de cadena pesada y cadena ligera sin purificar y 200 ng de los vectores de expresión digeridos por reacción de transformación. Después de la transformación, se seleccionaron colonias de levadura individuales para secuenciación y caracterización.

Expresión y purificación de IgGs y fragmentos Fab

Las IgG se expresaron en cultivos de *S. cerevisiae* cultivados en placas de 24 cavidades, como se describió anteriormente (Bornholdt et al, Science 2016b). Después de 6 días, los cultivos se recogieron por centrifugación y las IgG se purificaron por cromatografía de afinidad con proteína A. Los anticuerpos unidos se eluyeron con ácido acético 200 mM/NaCl 50 mM (pH 3,5) en 1/8 del volumen de Hepes 2 M (pH 8,0) y se intercambió el amortiguador por PBS (pH 7,0).

Los dos mAb de control reactivos con YFV E, 5A y 4G2, se produjeron en la región constante de IgG1 humana. Las secuencias de la región variable disponibles públicamente de los dos anticuerpos de control, 4G2 y 5A, se sintetizaron como fragmentos gBlock (IDT) con salientes homólogos para la clonación recombinante en *S. cerevisiae*. La producción posterior se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente.

Los fragmentos Fab se generaron digiriendo las IgG con papaína durante 2 horas a 30°C. La digestión se terminó mediante la adición de yodoacetamida, y las mezclas de Fab y Fc se pasaron sobre proteína A agarosa para eliminar los fragmentos Fc y la IgG no digerida. A continuación, el flujo de la resina de proteína A se pasó sobre la resina de afinidad CaptureSelect™ IgG-CH1 (ThermoFischer Scientific) y se eluyó con ácido acético 200 mM/NaCl 50 mM, pH 3,5, en 1/8 del volumen de Hepes 2 M, pH 8,0. Luego, los fragmentos Fab se intercambiaron con amortiguador en PBS pH 7,0.

Cinética de las mediciones de unión

Mediciones cinéticas de resonancia de plasmón superficial (SPR) de la unión de IgG: Un sistema Biacore 8K, acoplado con un chip sensor CAP, el compartimiento de la muestra se ajustó a 10°C, temperatura de la celda de flujo a 25°C y la velocidad de recolección de datos a 10 Hz. Se utilizó HBS-EP+ (HEPES 10 mM pH 7,3, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05%) como

amortiguador de funcionamiento. En cada ciclo, se inyectó reactivo biotina CAPture (GE Healthcare) diluido 1:20 en amortiguador de funcionamiento sobre las celdas de flujo 1 y 2 durante 600 s, a una velocidad de flujo de 5 uL/min, seguido de una captura de 900 s (1 uL/min) de antígeno de YFV E biotinilado (25 nM en HBS-EP+) sobre la celda de flujo 2 para alcanzar un nivel de captura mínimo de 400 RU. Luego, los anticuerpos (36 - 288 nM en HBS-EP+) se inyectaron sobre las celdas de flujo 1 y 2 durante 300 s (30 uL/min), la disociación se monitoreó durante 300 s (30 uL/min) y la superficie se regeneró en el nivel de oligonucleótido con guanidina-HCl 6 M en NaOH 0,25 M durante 120 s (10 uL/min). También se realizaron un mínimo de dos inyecciones en blanco (HBS-EP+) en condiciones idénticas a las descritas anteriormente y se usaron para evaluar y sustraer artefactos del sistema. Los datos se alinearon, se referenciaron dos veces y se ajustaron al modelo de unión de analitos bivalentes usando el software de evaluación Biacore 8K, versión 1,0.

Mediciones Cinéticas de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) de la unión de Fab: Un sistema Biacore 8K acoplado a un chip sensor CAP, el compartimiento de la muestra se ajustó a 10°C, temperatura de la celda de flujo a 25°C y la velocidad de recolección de datos a 10 Hz. Se utilizó HBS-EP+ (HEPES 10 mM pH 7,3, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05%) como amortiguador de funcionamiento. En cada ciclo, se inyectó reactivo biotina CAPture (GE Healthcare) diluido 1:20 en amortiguador de funcionamiento sobre las celdas de flujo 1 y 2 durante 600 s, a una velocidad de flujo de 1 uL/min, seguido de una captura de 900 s (1 uL/min) de proteína E de YFV biotinilada (15 nM en HBS-EP+) sobre la celda de flujo 2 para alcanzar un nivel de captura mínimo de 275 RU. Luego se inyectaron los Fab (A5: 27 - 1 nM en HBS-EP+; 4G2: 4 - 0,125 nM en HBS-EP+) sobre las celdas de flujo 1 y 2 durante 300 s (30 uL/min), la disociación se monitoreó durante 1200 s (30 uL/min), y la superficie se regeneró al nivel de oligonucleótidos con guanidina-HCl 6 M en NaOH 0,25 M durante 185 s (10 uL/min). También se realizaron un mínimo de dos inyecciones en blanco (HBS-EP+) en condiciones idénticas a las descritas anteriormente y se usaron para evaluar y sustraer artefactos del sistema. Los datos se alinearon, se referenciaron dos veces y se ajustaron a un modelo de enlace 1:1 usando el software de evaluación Biacore 8K, versión 1,0.

Mediciones Cinéticas de Interferometría de Biocapa (BLI): para la determinación de KD aparente monovalente, la unión de IgG al antígeno E de YFV recombinante se midió mediante interferometría de biocapa (BLI) usando un instrumento FortéBio Octet HTX (Molecular Devices). Las IgG se capturaron (1,5 nm)

en biosensores de captura de IgG antihumana (AHC) Molecular Devices) y se dejaron reposar en PBSF (PBS con 0,1% p/v de BSA) durante un mínimo de 30 min. Después de un breve paso de referencia (60 s) en PBSF, las puntas del biosensor cargadas con IgG se expusieron (180 s, 1000 rpm de agitación orbital) al antígeno de YFV E (100 nM en PBSF) y luego se sumergieron (180 s, 1000 rpm de agitación orbital) en PBSF para medir cualquier disociación del antígeno de la superficie de la punta del biosensor. Los datos para los que las respuestas de unión fueron $> 0,1$ nm se alinearon, se corrigieron entre pasos (al paso de asociación) y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 usando el software FortéBio Data Analysis, versión 11.1.

Para la determinación de KD aparente bivalente, se midió la unión de IgG al antígeno de YFV E biotinilado recombinante por interferometría de biocapa (BLI) usando un instrumento FortéBio Octet HTX (Molecular Devices). La YFV E biotinilada recombinante se inmovilizó en biosensores de estreptavidina (Molecular Devices) y se dejó reposar en PBSF (PBS con 0,1% p/v de BSA) durante un mínimo de 30 min. Después de un breve paso de referencia (60 s) en PBSF, las puntas del biosensor cargadas con antígeno se expusieron (180 s, 1000 rpm de agitación orbital) a las IgG (100 nM en PBSF) y luego se sumergieron (180 s, 1000 rpm de agitación orbital) en PBSF para medir cualquier disociación de las IgG de la superficie de la punta del biosensor. Los datos para los que las respuestas de unión fueron $> 0,1$ nm se alinearon, se corrigieron entre pasos (al paso de asociación) y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 usando el software de análisis de datos FortéBio, versión 11.1.

Asignación de epítomos de anticuerpos de alto rendimiento

Agrupación de Epítomos de Interferometría de biocapa (BLI): Para la agrupación de epítomos, los anticuerpos de control A5 y 4G2 (producidos como quimeras de IgG1 humana) se capturaron en biosensores de captura de IgG antihumana (0,9 nm) (Molecular Devices) y luego se bloquearon los biosensores exponiéndolos a adalimumab (0,5 mg/mL; 20 min, 350 rpm de agitación orbital). Después de un breve paso de referencia (60 s) en PBSF, se realizó una verificación de interacción cruzada entre las IgG de la muestra y los biosensores cargados (180 s, 1000 rpm de agitación orbital). No se observó interacción cruzada para este panel de IgG. Luego, los biosensores cargados se sometieron a un segundo paso de referencia breve (60 s) en PBSF, seguido de un paso de asociación en monómero de YFV E recombinante 100 nM (180 s, 1000 rpm de agitación orbital). Finalmente, el paso de agrupamiento se realizó en muestras de IgG 100 nM en PBS con BSA al 0,1% (PBSF)

(180 s, 1000 rpm de agitación orbital). Los datos se analizaron usando el software de análisis de datos FortéBio, versión 11.1. Se determinó que las IgG de muestra con una respuesta de agrupamiento menor de 0,1 nm competían con el anticuerpo de control. Se determinó que las IgG de muestra con una respuesta de agrupamiento mayor de 0,1 nm no competían con el anticuerpo de control.

Agrupamiento de epítomos de alto rendimiento usando Carterra LSA (SPR)

Cinéticas de unión y afinidades. La velocidad cinética y las constantes de afinidad del antígeno de la fiebre amarilla (suministrado por Adimab como monómero recombinante purificado, peso molecular de 45 kDa) que se une a una biblioteca de más de 770 mAb ADI (suministrados como IgG humana purificada) se determinaron a una temperatura de 25°C en un formato de ensayo de "Cinética de Captura" usando la plataforma de biosensores de resonancia de plasmones superficiales (SPR) de alto rendimiento de Carterra equipada con el tipo de chip HC-30M. Para preparar las superficies para este experimento, el chip se revistió como un "césped" con un reactivo de captura, a saber, Fc de Ig anti-humana de cabra policlonal adsorbido de forma cruzada a proteínas de suero de muchas otras especies (Southern Biotech, cat#2014-01) usando acoplamiento de amina estándar en un amortiguador de ejecución de Hepes 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, Tween20 al 0,05% (HBSET). Brevemente, esto implicó cebar la celda de flujo única (SFC) con amortiguador de ejecución HBSET, inyectando una solución de activación recién preparada de 1:1:1 v/v/v N-hidroxisulfosuccinimida 0,1 M (Sulfo-NHS, Pierce) + clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida 0,4 M (EDC, Pierce) + MES 0,1 M pH 5,5 (Carterra) durante 10 min, acoplando 50 µg/ml de Fc de IgG anti-humana de cabra diluido en acetato de sodio 10 mM pH 4,3 durante 15 min, e inactivación del exceso de ésteres reactivos con etanolamina 1 M pH 8,5 durante 7 min. Esto dio como resultado niveles combinados finales medios de 6256 RU $\pm$ 4% de variación (a juzgar por los 384 puntos de reacción). Luego, el cabezal de impresión de 96 canales (96PH) se cebó en el amortiguador de ejecución y se usó para capturar los mAb ADI como ligandos, que se diluyeron a 2 µg/ml en el amortiguador de ejecución y se imprimieron por lotes 96 a la vez en puntos discretos. Se usaron cuatro puertos en serie del 96PH para abordar las 4 ubicaciones de bloquea impresión, generando así una matriz de 384 ligandos. El 96PH se devolvió al agua para su limpieza y el SFC se acopló sobre la matriz impresa y se cebó con el amortiguador de ensayo de HBSET + 0,5 g/l de BSA. Las muestras de analitos del antígeno del monómero de la fiebre amarilla se

prepararon como una serie de diluciones cuádruples de 8 miembros que abarcaban concentraciones nominales de 0,02-367 nM y se inyectaron en el SFC en concentración ascendente después de varias inyecciones de amortiguador (en blanco). Los tiempos de asociación y disociación fueron de 5 min y 20 min respectivamente. Los datos se analizaron en el Kinetic Software de Carterra como sigue. Los datos de unión en los puntos de reacción se referenciaron dos veces restando las respuestas de los puntos de referencia locales (que representan el reactivo de captura desnudo) y luego restando las respuestas de un analito en blanco de amortiguador 66. Los datos de doble referencia se ajustaron globalmente a un modelo de Langmuir simple, lo que permitió que cada punto tuviera su propia constante de velocidad de asociación (k_a), constante de velocidad de disociación (k_d) y valor R_{max} . La constante de disociación (afinidad) de equilibrio (KD) se calculó a partir de la relación de las constantes de velocidad cinética, $KD = k_d/k_a$.

Experimentos de agrupamiento de epítomos: El LSA de Carterra se utilizó para realizar ensayos de agrupamiento de epítomos en un formato de ensayo sándwich clásico 67 usando 6 mAb de referencia (ADI-49582, ADI-44112, ADI-45107, ADI-49147, 4G2 y 5A) como analito para sondear la diversidad de epítomos de la biblioteca de 770+ ADI como ligandos. Se utilizó un chip tipo HCX-30M (preactivado) y los experimentos se realizaron a 25°C. El SFC y 96PH se cebaron en amortiguador de procesamiento de Mes 25 mM pH 5,5 + Tween20 al 0,01%. Los mAb ADI se diluyeron a 2 µg/ml en acetato de sodio 10 mM pH 4,5 (amortiguador de acoplamiento) y se acoplaron a través del 96PH usando un tiempo de contacto de 7 min en cada ubicación del bloque de impresión. Después de 4 acoplamientos en serie del 96PH para construir una matriz de 384 ligandos, el SFC se acopló sobre toda la superficie para extinguir el exceso de ésteres reactivos por la inyección de etanolamina pH 8,5 durante 7 min. Los niveles acoplados finales de cada mAb variaron desde 1000 y 4000 RU por punto. El 96PH se devolvió al agua para su limpieza y el SFC se cebó en un amortiguador de ensayo de HBSET + 0,5 g/l de BSA. Cada ciclo de agrupamiento implicó un estilo de inyección conjunta de muestra mediante el cual las muestras de antígeno (monómero de fiebre amarilla 50 nM) y analito de anticuerpo (20 µg/ml mAb o amortiguador) se inyectaron consecutivamente, con un tiempo de disociación mínimo entre ellos durante la matriz de 384 ligandos. Los tiempos de asociación típicos fueron de 3 o 5 min y las superficies se regeneraron con ácido fosfórico 75 mM después de cada ciclo de almacenamiento. Los datos de unión se analizaron en el software Epitope de Carterra.

Ensayos de neutralización de microtitulación

Los anticuerpos monoclonales se diluyeron en serie en medio DMEM alto en glucosa (Gibco) que contenía FBS inactivado por calor al 10% (Gibco), Gluta-MAX Gibco al 1%), P/S al 1% (Gibco) y HEPES 25 mM (Gibco) y se incubaron a temperatura ambiente con YFV-17D o ZIKV durante 1 hora. Se diluyó YFV-17D o ZIKV para lograr una infección de punto final del 60%. La mezcla de anticuerpo-virus se añadió por triplicado a placas de 96 cavidades (Costar 3595) que contenían 5×10^3 monocapas de células Huh 7.5.1 sembradas el día anterior. Las células se incubaron durante 2 días a 37°C y CO₂ al 5%. Luego, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% (Sigma) durante 10 minutos y luego se lavaron con amortiguador Tris (Tris 50 mM, NaCl 150 mM (todo Fisher Scientific), pH 7,6, tres veces. Las células fijadas se incubaron con un mAb de ratón pan-flavivirus 4G2 (ATCC) a 2 µg/ml en amortiguador Tris que contenía leche en polvo sin grasa al 3% (BioRad), Triton X-100 al 0,5% (MP Biomedicals) y Tween 20 al 0,05% (Fisher Scientific) durante una hora a temperatura ambiente (RT), luego las células se lavaron tres veces y se incubaron con el anticuerpo secundario conjugado con anti-ratón de cabra Alexa Fluor 488 (Invitrogen) a una dilución 1:500 durante una hora a RT, se lavaron nuevamente y se tiñeron los núcleos con Hoechst-33342 (Invitrogen) en una dilución de 1:2000 en PBS. La infectividad viral se midió por la enumeración automatizada de células positivas para Alexa Fluor 488 de imágenes capturadas con el microscopio de fluorescencia automatizado Cytation-5 (BioTek) y se analizó con el análisis de datos Gen5 software (BioTek). La concentración inhibitoria media máxima (IC₅₀) de los mAb se calculó usando un análisis de regresión no lineal con el software GraphPad Prism. Los datos de neutralización viral se sometieron a un análisis de regresión no lineal para extraer los valores de la mitad de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) (ecuación de dosis-respuesta sigmoideal de pendiente variable de 4 parámetros; GraphPad Prism).

La neutralización de las muestras de plasma de donante se llevó a cabo exactamente como se describe anteriormente para las IgG purificadas. Se preincubaron diluciones seriadas de plasma con solución madre infecciosa de YFV-17D durante 1 hora antes de agregarlas a las monocapas de células.

Se utilizó IgG humana total purificada de donantes no inmunizados como control negativo en ensayos de neutralización de IgG purificada contra YFV-17D y ZIKV (Cat# AB_2337042, Jackson Immuno Research).

Ensayo FRNT

Los mAb específicos de virus se seleccionaron como se describió anteriormente. Brevemente, todos los mAb purificados se diluyeron en serie en medio 199 (Thermo Scientific) que contenía suero bovino fetal (FBS) inactivado por calor al 5% (Gibco-Invitrogen) y se incubaron a 37°C con YFV-17DD. Después de 1 h de incubación, la mezcla Ab-virus se añadió por duplicado a placas de 96 cavidades que contenían monocapas confluentes al 80% de células Vero E6. Las placas se incubaron durante 1,5 horas a 37°C. Luego, las cavidades se cubrieron con metilcelulosa al 1% en medio OptiMEM GlutaMAX suplementado (Invitrogen) con FBS inactivado por calor al 5% (Gibco-Invitrogen) y anfotericina B al 1% y se incubaron a 37°C, CO₂ al 5% durante 72 horas. Luego, las células se fijaron y permeabilizaron con amortiguador Perm/Wash (BD Biosciences) durante 30 min. Después de la permeabilización, las células se lavaron con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) y se incubaron con una dilución 1:2000 de anticuerpo antinflavivirus (MAB10216, EMD Milli pore) en amortiguador Perm/Wash durante 2 horas. Después de la incubación, las células se lavaron con PBS y se incubaron con anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) anti-ratón (115035146, Jackson ImmunoResearch Laboratories) durante 2 horas. Las placas se lavaron y revelaron con sustrato de peroxidasa (KPL). La mitad de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) de los mAb se calculó usando un análisis de regresión no lineal con el software GraphPad Prism.

ELISA de IgG de suero y purificada

Para los ELISA de unión a NS1 y E, se revistieron placas de 96 cavidades (Corning; Cat# 3690) con 5 µg/ml de proteína NS1 o E diluida en PBS y se incubaron durante la noche a 4°C. Las cavidades se lavaron y luego se bloquearon con leche en polvo desnatada al 5% (NFDM) en PBS durante 1 hora a 37°C. Las cavidades se lavaron 3 veces con PBS y se añadieron diluciones en serie de plasma humano en NFDM-PBS al 5% y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Luego, las placas se lavaron 3 veces con PBS y se añadieron anticuerpos de detección anti-IgG-HRP humana de adsorción cruzada secundaria (Thermo Fisher Scientific; cat.# 31413) o anti-IgM humana (Sigma Aldrich; cat.# AP114P) a dilución 1:8000 en NFDM-PBS al 5% durante 1 hora a 37°C. Después de lavar 3 veces con PBS, se añadió el reactivo de detección según las recomendaciones del fabricante (Thermo Scientific; Cat# 34029) y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 450 nM usando un lector de microplacas Spectramax (Molecular Devices).

Para los ELISA de unión a virus, se revistieron placas de ELISA de 96

cavidades con 5 ug/ml de 4G2 (Millipore MAB10216) diluido en PBS y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Después de lavar 3 veces con PBS, las partículas virales YFV-17D enteras se diluyeron en PBS pH 7,4 y se incubaron durante la noche a 4°C. Luego, las placas se lavaron 3 veces con PBS y se bloquearon con NFDM-PBS al 5% durante 1 hora a 37°C. Después de eliminar la solución de bloqueo, se permitió que los anticuerpos de prueba diluidos en NFDM-PBS al 5% se unieran durante 1 hora a 37°C. Luego, las placas se lavaron 3 veces con PBS y se añadieron anticuerpos de detección anti-IgG-HRP humana de adsorción cruzada secundaria (Thermo Fisher Scientific; cat.# 31413) o anti-IgM humana (Sigma Aldrich; cat.# AP114P) a dilución 1:8000 en NFDM-PBS al 5% durante 1 hora a 37°C. Después de lavar 3 veces con PBS, se añadió el reactivo de detección según las recomendaciones del fabricante (Thermo Scientific; Cat# 34029) y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 450 nM usando un lector de microplacas Spectramax (Molecular Devices).

La unión de las IgG purificadas a las partículas virales se realizó como se describe anteriormente. Las IgG se diluyeron en NFDM-PBS al 5% y se analizaron a una concentración de 100 nM para la prueba de reactividad de punto único de anticuerpos del día 14 derivados de plasmablastos y MBC.

Todas las referencias, patentes y publicaciones de patentes citadas en la presente se incorporan en la presente como referencia en su totalidad para todo lo que se enseña en la presente.