

ANTICUERPOS Y FRAGMENTOS DE UNIÓN AL ANTÍGENO ANTI- GLICOPROTEÍNA DE LA ESPÍCULA DE SARS-COV-2

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 Esta aplicación incorpora como referencia un listado de secuencias legible por computadora en formato XML ST.26, titulado 11007WO01-Sequence, creado el 12 de julio de 2022, y que contiene 1,488,419 bytes.

CAMPO DE LA INVENCION

- 10 La presente invención se refiere a anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que se unen específicamente a proteínas de la espícula del coronavirus y métodos para tratar o prevenir infecciones por coronavirus con dichos anticuerpos y fragmentos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 15 Los virus recientemente identificados, como los coronavirus, pueden ser difíciles de tratar porque no están lo suficientemente caracterizados. La aparición de estos virus recientemente identificados resalta la necesidad de desarrollar nuevas estrategias antivirales. El coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) es un coronavirus de aparición reciente que causa una enfermedad respiratoria aguda grave, COVID-19. El SARS-CoV-2 se identificó por primera vez a
20 partir de un brote en Wuhan, China, y a partir del 8 de julio de 2022, la Organización Mundial de la Salud ha informado 551,296,228 casos confirmados, que resultó en 6,345,595 muertes. Las características clínicas de COVID-19 incluyen fiebre, tos seca y fatiga, y la enfermedad puede causar insuficiencia respiratoria que provoca la muerte.

- En vista de la amenaza continua a la salud humana y, en particular, la aparición de nuevas
25 variantes del virus SARS-CoV-2, todavía existe una necesidad urgente de terapias antivirales preventivas y terapéuticas para controlar el SARS-CoV-2. Debido a que este virus usa su glicoproteína de la espícula para la interacción con el receptor celular ACE2 y la serina proteasa TMPRSS2 para el ingreso en una célula diana, esta proteína de la espícula representa una diana atractiva para los tratamientos con anticuerpos. En particular, los anticuerpos totalmente humanos
30 que se unen específicamente a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-S) con alta afinidad y que inhiben la infectividad del virus podrían ser importantes para la prevención y el tratamiento de COVID-19.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Existe la necesidad de anticuerpos terapéuticos neutralizantes anti-proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-S) y su uso para tratar o prevenir la infección viral. La presente descripción aborda esta necesidad, en parte, al proporcionar anticuerpos humanos anti-SARS-CoV-2-S, tales como los de la Tabla 4, y sus combinaciones que incluyen, por ejemplo, combinaciones con otros productos terapéuticos (por ejemplo, agentes antiinflamatorios, agentes antipalúdicos, agentes antivirales, u otros anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno), y métodos de uso de estos para tratar infecciones virales.

La presente descripción proporciona proteínas de unión al antígeno humano neutralizantes que se unen específicamente a SARS-CoV-2-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo recombinante aislado o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la proteína de la espícula del coronavirus (CoV-S), en donde el anticuerpo tiene una o más de las siguientes características: (a) se une a la CoV-S con una EC_{50} de menos de aproximadamente 10^{-8} M; (b) demuestra un aumento de la supervivencia en un animal infectado con coronavirus después de la administración a dicho animal infectado con coronavirus, en comparación con un animal infectado con coronavirus comparable sin dicha administración; y/o (c) comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con la HCVR de la Tabla 4 y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con la LCVR de la Tabla 4.

En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada (por ejemplo, una HCVR de inmunoglobulina) que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de un anticuerpo de la Tabla 4; y/o (b) una región variable de cadena ligera (por ejemplo, una LCVR de inmunoglobulina) que comprende la LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un anticuerpo de la Tabla 4.

En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de inmunoglobulina de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de la HCVR de

la Tabla 4; y/o (b) una región variable de inmunoglobulina de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de la LCVR de la Tabla 4.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende la HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un único anticuerpo de la Tabla 4. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una inmunoglobulina que comprende la HCVR y la LCVR de un único anticuerpo de la Tabla 4.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212; (b) una HCVR que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 214, 216 y 218, respectivamente; (c) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212; (d) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende tres CDR contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220; (e) una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 222, 126 y 224, respectivamente; (f) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220; (g) una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 226; (h) una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228; (i) un par HCVR/LCVR que comprende las CDR contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 212/222, respectivamente; (j) una HCVR que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 214, 216 y 218, respectivamente, y una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 222, 126 y 224, respectivamente; (k) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220; o (l) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 226 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362; (b) una HCVR que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 364, 366 y 368, respectivamente; (c) una HCVR que

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362; (d) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende tres CDR contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370; (e) una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 372, 106 y 374, respectivamente; (f) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370; (g) una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 376; (h) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1077; (i) una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378; (j) un par HCVR/LCVR que comprende las CDR contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 362/370, respectivamente; (k) una HCVR que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 364, 366 y 368, respectivamente, y una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 372, 106 y 374, respectivamente; (l) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370; (m) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 376 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378; o (n) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1077 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493; (b) una HCVR que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 495, 497 y 499, respectivamente; (c) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493; (d) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende tres CDR contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501; (e) una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 503, 505 y 507, respectivamente; (f) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501; (g) una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 509; (h) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1075; (i) una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511; (j) un par HCVR/LCVR que comprende las CDR contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 493/501,

- respectivamente; (k) una HCVR que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 495, 497 y 3499, respectivamente, y una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 503, 505 y 507, respectivamente; (l) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501; (m) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 509 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511; o (n) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1075 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511.
- En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 887; (b) una HCVR que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 889, 891 y 893, respectivamente; (c) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 887; (d) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende tres CDR contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895; (e) una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 897, 164 y 899, respectivamente; (f) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895; (g) una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 901; (h) una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 903; (i) un par HCVR/LCVR que comprende las CDR contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 887/895, respectivamente; (j) una HCVR que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 889, 891 y 893, respectivamente, y una LCVR que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 897, 164 y 899, respectivamente; (k) una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 887 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895; o (l) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 901 y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 903.
- En un aspecto, la presente descripción proporciona una proteína de unión al antígeno que compite con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describió anteriormente o en la presente descripción para la unión a CoV-S.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una proteína de unión al antígeno que se une al mismo epítipo que, o a un epítipo solapado en, CoV-S como el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito anteriormente o en la presente descripción.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito anteriormente o en la presente descripción es multiespecífico.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una o más de las siguientes propiedades: (a) inhibe el crecimiento del coronavirus; (b) se une a la superficie de un coronavirus; (c) limita la propagación de la infección por coronavirus de células *in vitro*; y (d) protege a los ratones modificados genéticamente para expresar la proteína humana ACE2 o TMPRSS2 de la muerte y/o la pérdida de peso causada por la infección por coronavirus.

En cualquiera de las diversas modalidades descritas anteriormente o en la presente descripción, dicha CoV-S puede ser SARS-CoV-2-S.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un complejo que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describió anteriormente o que se une en la presente descripción a un polipéptido de CoV-S. En algunos casos, la CoV-S es SARS-CoV-2-S.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para fabricar un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describió anteriormente o en la presente descripción, que comprende: (a) introducir en una célula hospedera uno o más polinucleótidos (por ejemplo, un polinucleótido o par de polinucleótidos, como se describe más abajo) que codifica dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno; (b) cultivar la célula hospedera en condiciones favorables para la expresión del uno o más polinucleótidos; y (c) opcionalmente, aislar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la célula hospedera y/o un medio en el que se cultiva la célula hospedera. En algunos casos, la célula hospedera es una célula de ovario de hámster chino.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que es un producto del método descrito anteriormente.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende: (a) HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de un dominio de HCVR de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR establecida en la Tabla 4; o (b) LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un dominio de LCVR de una cadena de inmunoglobulina que comprende una secuencia de aminoácidos de LCVR establecida en la Tabla 4.

En varias modalidades, la presente descripción proporciona un polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente, un vector que comprende el polinucleótido, y/o una célula

hospedera que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno o polipéptido o polinucleótido o vector. En varias modalidades, la presente descripción proporciona un polinucleótido que codifica una HCVR, una LCVR, o tanto una HCVR como una LCVR de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este como se describió anteriormente o en la presente descripción. La HCVR y/o LCVR pueden definirse por las CDR contenidas dentro de la secuencia HCVR, la secuencia LCVR, o tanto la secuencia HCVR como la secuencia LCVR, respectivamente, como se establece en la Tabla 4. La HCVR y/o LCVR también pueden definirse por las secuencias de CDR de cadena pesada, las secuencias de CDR de cadena ligera, o ambas secuencias de CDR de cadena pesada y ligera, respectivamente, como se establece en la Tabla 4.

La HCVR y/o LCVR pueden definirse además por la secuencia HCVR, la secuencia LCVR, o tanto las secuencias HCVR y LCVR, respectivamente, como se establece en la Tabla 4. En varias modalidades, la presente descripción proporciona un polinucleótido que codifica una cadena pesada, una cadena ligera, o tanto una cadena pesada como una cadena ligera de un anticuerpo como se describió anteriormente o en la presente descripción. La cadena pesada y/o la cadena ligera pueden definirse por las secuencias de cadena pesada y ligera, respectivamente, como se establece en la Tabla 4. En varias modalidades, el polinucleótido comprende una secuencia de ácidos nucleicos como se establece en la Tabla 5. En varias modalidades, la presente descripción proporciona un vector o vectores que comprenden los polinucleótidos descritos anteriormente, y/o una célula hospedera que comprende los polinucleótidos o vectores, o HCVR o LCVR, o un anticuerpo ensamblado o fragmento de unión al antígeno de este como se describió anteriormente o en la presente descripción. En varias modalidades, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos, en donde (a) el primer polinucleótido codifica: (i) una HCVR que comprende las secuencias de CDR contenidas en una HCVR de un anticuerpo de la Tabla 4, (ii) una HCVR que comprende las secuencias HCDR1, HCDR2 y HCDR3 como se establece para un anticuerpo en la Tabla 4, (iii) una HCVR que comprende la secuencia de HCVR de un anticuerpo de la Tabla 4, o (iv) una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de HC de un anticuerpo de la Tabla 4; y (b) el segundo polinucleótido codifica: (i) una LCVR que comprime las secuencias de CDR contenidas en una LCVR de un anticuerpo de la Tabla 4, (ii) una LCVR que comprende las secuencias LCDR1, LCDR2 y LCDR3 como se establece para un anticuerpo en la Tabla 4, (iii) una LCVR que comprende la secuencia de LCVR de un anticuerpo de la Tabla 4, o (iv) una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de LC de un anticuerpo de la Tabla 4. En varias modalidades, la presente descripción proporciona un par de vectores que comprende,

respectivamente, el primer y segundo polinucleótidos descritos anteriormente, y/o una célula hospedera que comprende el par de vectores.

En algunas modalidades, el par de polinucleótidos codifica componentes de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, como: (a) el primer polinucleótido codifica una HCVR que

5 comprende las CDR contenidas en una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las CDR contenidas en una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220; (b) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 214, 216 y 218, respectivamente, y
10 el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NO: 222, 226 y 224, respectivamente; (c) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220; o (d) el primer polinucleótido codifica una HC que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 226, y el segundo polinucleótido codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228.

En algunas modalidades, el par de polinucleótidos codifica componentes de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, como: (a) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las CDR contenidas en una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la

20 SEQ ID NO: 362, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las CDR contenidas en una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370; (b) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 364, 366 y 368, respectivamente, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las secuencias de secuencia de
25 aminoácidos LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NO: 372, 376 y 374, respectivamente; (c) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370; (d) el primer polinucleótido codifica una HC que comprende la secuencia de secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 376, y el segundo polinucleótido
30 codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378 o (e) el primer polinucleótido codifica una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:

1077, y el segundo polinucleótido codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378.

En algunas modalidades, el par de polinucleótidos codifica componentes de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, como: (a) el primer polinucleótido codifica una HCVR que

5 comprende las CDR contenidas en una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las CDR contenidas en una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501; (b) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 495, 497 y 499, respectivamente, y
10 el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NO: 503, 505 y 507, respectivamente; (c) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501; (d) el primer polinucleótido codifica una HC que comprende
15 la secuencia de secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 509, y el segundo polinucleótido codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511 o (e) el primer polinucleótido codifica una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1075, y el segundo polinucleótido codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511.

20 En algunas modalidades, el par de polinucleótidos codifica componentes de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, como: (a) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las CDR contenidas en una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 887, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las CDR contenidas en una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895; (b)
25 el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 889, 891 y 893, respectivamente, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende las secuencias de secuencia de aminoácidos LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NO: 897, 164 y 899, respectivamente; (c) el primer polinucleótido codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la
30 SEQ ID NO: 887, y el segundo polinucleótido codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895; o (d) el primer polinucleótido codifica una HC que

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 901, y el segundo polinucleótido codifica una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 903.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición o kit que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito anteriormente o en la presente descripción en asociación con un agente terapéutico adicional.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión al antígeno descrita anteriormente o en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, un agente terapéutico adicional. En algunos casos, la composición o kit se asocia con un agente terapéutico adicional que es un fármaco antiviral o una vacuna. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en: un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la TMPRSS2, y un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la CoV-S. En algunas modalidades, el agente antipalúdico es cloroquina o hidroxicloroquina. En algunas modalidades, el agente antiinflamatorio es un anticuerpo. En algunos casos, este anticuerpo es sarilumab, tocilizumab o gimsilumab. En algunos casos, la composición o kit comprende un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las secuencias HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de la Tabla 4. En algunos casos, el anticuerpo que se une a la CoV-S es casirivimab o imdevimab,

En un aspecto, la presente descripción proporciona un recipiente o dispositivo de inyección que comprende la proteína o composición de unión al antígeno descrita anteriormente o en la presente descripción.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar o prevenir la infección por un coronavirus, en un sujeto que lo necesita, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína de unión al antígeno como se describió anteriormente o en la presente descripción. En algunos casos, el coronavirus se selecciona del grupo que consiste en SARS-CoV-2, SARS-CoV y MERS-CoV.

En algunas modalidades, al sujeto se le administran uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunos casos, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un fármaco antiviral o una vacuna.

En algunos casos, el uno o más agentes terapéuticos adicionales se selecciona del grupo que consiste en: un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la TMPRSS2, y un anticuerpo o fragmento

de unión al antígeno de este que se une específicamente a la CoV-S. En algunas modalidades, el agente antipalúdico es cloroquina o hidroxiclороquina. En algunas modalidades, el agente antiinflamatorio es un anticuerpo. En algunos casos, este anticuerpo es sarilumab, tocilizumab o gimsilumab. En algunos casos, al sujeto se le administra un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de la Tabla 4. En algunos casos, al sujeto se le administra un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un anticuerpo descrito en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501, por ejemplo, mAb10933, mAb10987 o mAb10985. En algunos casos, el anticuerpo que se une a la CoV-S es casirivimab o imdevimab,

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para administrar un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describió anteriormente o en la presente descripción en el cuerpo de un sujeto que comprende inyectar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en el cuerpo del sujeto. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se inyecta en el cuerpo del sujeto por vía subcutánea, intravenosa o intramuscular.

En cualquiera de las diversas modalidades del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, composición, kit, complejo, polipéptido, polinucleótido, vector, célula, o métodos descritos anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión a la unión al antígeno puede comprender una secuencia de dominio variable VH3-66 o Vk1-33.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895.

En algunos casos, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 889, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 891, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 893, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 897, la LCDR2 comprende

la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 164, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 899. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895.

En algunos casos, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 889, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 891, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 893, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 897, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 164, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 899. En algunos casos, el anticuerpo aislado comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895. En algunos casos, el anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 901 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 903. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina que es una región constante de la IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado es un anticuerpo recombinante. En algunos casos, el anticuerpo aislado es multiespecífico.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo aislado descrito anteriormente y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, la composición farmacéutica comprende además un segundo agente terapéutico. En algunos casos, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, y un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une a la TMPRSS2. En algunos casos, el segundo agente terapéutico es un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008. En algunas modalidades, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212, y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de la LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno comprende: la HCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 214; la HCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 216; la HCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 218; la LCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 222; la LCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126, y la LCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 224. En algunas modalidades, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunas modalidades, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 226 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 228.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho anticuerpo aislado

o fragmento de unión al antígeno comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220.

En algunos casos, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 214, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 216, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 218, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 222, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 224. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunos casos, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de este comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212 y una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220.

En algunos casos, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 214, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 216, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 218, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 222, la LCDR2 comprende

la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 224. En algunos casos, el anticuerpo aislado comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunos casos, el anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 226 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 228. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina que es una región constante de la IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado es un anticuerpo recombinante. En algunas modalidades, el anticuerpo aislado es multiespecífico.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo aislado descrito anteriormente y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, la composición farmacéutica comprende además un segundo agente terapéutico. En algunos casos, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, y un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une a la TMPRSS2. En algunos casos, el segundo agente terapéutico es un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887, y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de la LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende: la HCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 889; la HCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 891; la HCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 893; la LCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 897; la LCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 164, y la LCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 899. En

algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 901 y una

cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 903. En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 270, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 278.

En algunas modalidades, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 272, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 274, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 276, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 280, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 282. En algunos casos, el anticuerpo comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 270 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 278. En algunos casos, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 284 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 286. En algunas modalidades, la región constante de inmunoglobulina es una región constante de la IgG1. En algunos casos, el anticuerpo es un anticuerpo recombinante. En algunos casos, el anticuerpo es multiespecífico.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo aislado descrito anteriormente y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En algunos casos, la composición farmacéutica comprende además un segundo agente terapéutico. En algunos casos, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, y un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une a la TMPRSS2.

En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico es un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212, y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de la LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende: la HCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 214; la HCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 216; la HCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 218; la LCDR1, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 222; la LCDR2, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126, y la LCDR3, que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 224. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 212 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 220. En algunos casos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 226 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 228.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende: a) un primer anticuerpo aislado que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho primer anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia

de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO: 887, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895; y b) un segundo anticuerpo aislado que se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1030, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1038.

En algunas modalidades, el primer anticuerpo aislado comprende: la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 889, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 891, la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 893, la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 897, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 164, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 899. En algunos casos, el primer anticuerpo aislado comprende: una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 887 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 895. En algunos casos, el primer anticuerpo aislado comprende: una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 901 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 903. En algunas modalidades, el primer anticuerpo aislado comprende: una región constante de inmunoglobulina que es una región constante de la IgG1. En algunos casos, el primer anticuerpo aislado es un anticuerpo recombinante. En algunos casos, el primer anticuerpo aislado es multiespecífico.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende además un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, el segundo anticuerpo aislado comprende: la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1032, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1034, la HCDR3 que comprende la

secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1036, la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1040, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1042, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1044. En algunos casos, el segundo anticuerpo aislado comprende: una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1030 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1038. En algunos casos, el segundo anticuerpo aislado comprende: una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1048 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1048.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende además un tercer anticuerpo aislado.

En algunas modalidades, el tercer anticuerpo aislado se une a una proteína de la espícula de SARS-CoV-2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1008, en donde dicho tercer anticuerpo aislado comprende una región constante de inmunoglobulina, tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1010, y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1018. En algunos casos, el tercer anticuerpo aislado comprende: la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1012, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1014, la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1016, la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1020, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1022, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1024. En algunos casos, el tercer anticuerpo aislado comprende: una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1010 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1018. En algunos casos, el tercer anticuerpo aislado comprende: una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1026 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1028.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar o prevenir la infección con una variante Ómicron de SARS-CoV-2, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con una HCVR de la Tabla 4; y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con una LCVR de la Tabla 4.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para prevenir uno o más síntomas de COVID-19 como resultado de una infección con una variante Ómicron de SARS-CoV-2, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con una HCVR de la Tabla 4; y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia con una LCVR de la Tabla 4.

En algunas modalidades de los métodos, la prevención comprende la profilaxis previa a la exposición. En algunas modalidades de los métodos, la prevención comprende la profilaxis después de la exposición.

En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende: (a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de un anticuerpo de la Tabla 4; y/o (b) una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un anticuerpo de la Tabla 4.

En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de un anticuerpo de la Tabla 4 y la, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de dicho anticuerpo de la Tabla 4.

En algunas modalidades de los métodos, al sujeto se le administran uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunos casos, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un fármaco

antiviral o una vacuna. En algunos casos, el uno o más agentes terapéuticos adicionales se selecciona del grupo que consiste en: un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la TMPRSS2, y un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la CoV-S. En algunas modalidades, el agente antiinflamatorio es un anticuerpo, tal como sarilumab, tocilizumab o gimsilumab. En algunos casos, el anticuerpo que se une a la CoV-S es casirivimab o imdevimab, En algunas modalidades de los métodos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende las secuencias HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de un segundo anticuerpo de la Tabla 4.

En algunas modalidades de los métodos, la administración comprende inyectar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en el cuerpo del sujeto. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se inyecta en el cuerpo del sujeto por vía subcutánea, intravenosa o intramuscular.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar o prevenir uno o más síntomas de COVID-19 como resultado de una infección con SARS-CoV-2, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 362; y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 370.

En algunas modalidades, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 364, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 366, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 368, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 372, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 374. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 362. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 370. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este

comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 376. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 378.

En algunas modalidades, la administración comprende administrar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno mediante inyección. En algunos casos, la inyección es intravenosa. En algunos casos, la inyección es subcutánea.

En algunas modalidades, la administración comprende administrar 300 mg de dicho anticuerpo o fragmento de este. En algunas modalidades, la administración comprende administrar 600 mg de dicho anticuerpo o fragmento de este. En algunas modalidades, la administración comprende administrar 1,200 mg de dicho anticuerpo o fragmento de este.

En algunas modalidades, la administración comprende administrar dos dosis de dicho anticuerpo o fragmento de este. En algunos casos, cada una de las dos dosis que comprenden 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. En algunos casos, las dos dosis se administran con 4 semanas de diferencia, con 5 semanas de diferencia, con 6 semanas de diferencia, con 7 semanas de diferencia, con 8 semanas de diferencia, con 9 semanas de diferencia, con 10 semanas de diferencia, con 11 semanas de diferencia, con 12 semanas de diferencia, con 13 semanas de diferencia, con 14 semanas de diferencia, con 15 semanas de diferencia o con 16 semanas de diferencia. En algunos casos, las dos dosis se administran con 8-16 semanas de diferencia. En algunos casos, las dos dosis se administran con 12 semanas de diferencia. En algunos casos, las dos dosis se administran con 8 semanas de diferencia.

En algunas modalidades, la administración reduce la carga viral de SARS-CoV-2 en dicho sujeto.

En algunas modalidades, la administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este ocurre antes de la infección por SARS-CoV-2.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar o prevenir uno o más síntomas de COVID-19 como resultado de una infección con SARS-CoV-2, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 362; y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 370, en donde dicha administración comprende

administrar a dicho sujeto dos dosis de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, donde cada dosis comprende 300 mg de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. En algunas modalidades, la administración es subcutánea.

En algunas modalidades, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ

- 5 ID NO: 364, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 366, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 368, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 372, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106, y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 374. En algunos casos, el
- 10 anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 362. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 370. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ
- 15 ID NO: 376. En algunos casos, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 378.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este; o una HCVR y/o una LCVR; o una cadena pesada y/o una cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, como se describió

20 anteriormente o en la presente descripción. La presente descripción proporciona además un vector o vectores que comprenden el polinucleótido descrito anteriormente o en la presente descripción, y una célula hospedera que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, el polinucleótido o polinucleótidos, y/o el vector o vectores descritos anteriormente o en la presente descripción.

- 25 En algunas modalidades, la administración comprende administrar 600 mg del anticuerpo o fragmento de este. En algunas modalidades, la administración comprende administrar 300 mg del anticuerpo o fragmento de este.

En cualquiera de las diversas modalidades de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos descritos anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión al

30 antígeno puede neutralizar una variante Ómicron de SARS-CoV-2. En varias modalidades, la variante ómicron se selecciona de BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.2.12.1, BA.3 o BA.4/BA.5.

En varias modalidades, cualquiera de las características o componentes de las modalidades descritas anteriormente o en la presente descripción pueden combinarse, y dichas combinaciones se abarcan dentro del alcance de la presente descripción. Cualquier valor específico descrito anteriormente o en la presente descripción puede combinarse con otro valor relacionado descrito anteriormente o en la presente descripción para recitar un intervalo con los valores que representan los extremos superior e inferior del intervalo, y tales intervalos se abarcan dentro del alcance de la presente descripción.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 10 La Figura 1 muestra la competencia cruzada entre 41 anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S al unirse a SARS-Cov-2 RBD-MMH inmovilizado (SEQ ID NO: 1069). Rojo: El mAb-1 preunido redujo la unión del mAb-2 a SARS-CoV-2 RBD-MMH en más del 50 %, y la unión a SARS-CoV-2 RBD-MMH también se redujo en más del 50 % cuando se invirtió el orden de unión del mAb-1 y el mAb-2. Amarillo: El mAb-1 preunido redujo la unión del mAb-2 a SARS-CoV-2 RBD-MMH en más del 50 %, pero la unión a SARS-CoV-2 RBD-MMH se redujo en menos del 50 % cuando se invirtió el orden de unión del mAb-1 y el mAb-2.

- La Figura 2 muestra la competencia cruzada entre 15 anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S al unirse a SARS-Cov-2 RBD-MMH inmovilizado. Rojo: El mAb-1 preunido redujo la unión del mAb-2 a SARS-CoV-2 RBD-MMH en más del 50 %, y la unión a SARS-CoV-2 RBD-MMH también se redujo en más del 50 % cuando se invirtió el orden de unión del mAb-1 y el mAb-2. Amarillo: El mAb-1 preunido redujo la unión del mAb-2 a SARS-CoV-2 RBD-MMH en más del 50 %, pero la unión a SARS-CoV-2 RBD-MMH se redujo en menos del 50 % cuando se invirtió el orden de unión del mAb-1 y el mAb-2.

- La Figura 3 representa la estructura crioEM del mAb14256, mAb10987, y el dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2, en complejo, a una resolución de 3.9 Å.

- La Figura 4 muestra que el mAb14256 se une en la parte superior del RBD, de esta manera se bloquea la unión a ACE2. El mAb14256 compite con el mAb10933 (estructura media) y el mAb10985 (no representado).

- 30 La Figura 5 representa la estructura crioEM del mAb15160, mAb14315, y el dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2, en complejo, a una resolución de 3.18 Å.

La Figura 6 representa la estructura crioEM de fragmentos de unión al antígeno de mAb1428 y mAb15160 con el dominio de unión al receptor (RBD) de la cepa Wuhan-Hu-1 y el linaje BA.1, en complejo, a una resolución de 3.3 y 3.4 Å, respectivamente.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Antes de describir los métodos de la presente, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos y condiciones experimentales particulares descritas, ya que tales métodos y condiciones pueden variar. Debe entenderse también que la terminología que se usa en la presente descripción es solamente a efectos de describir únicamente modalidades particulares, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención solo se limitará por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o prueba de la presente invención, se describen ahora métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente descripción se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad.

El término “coronavirus” o “CoV” se refiere a cualquier virus de la familia de coronavirus, que incluye, pero no se limita a, SARS-CoV-2, MERS-CoV y SARS-CoV. El SARS-CoV-2 también se conoce como 2019-nCoV y coronavirus de Wuhan. Se une a través de la proteína de la espícula viral a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) del receptor de la célula hospedera humana. La proteína de la espícula también se une a la TMPRSS2 y es escindida por esta, que activa la proteína de la espícula para la fusión de membranas del virus.

El término “CoV-S”, también denominado “S” o “proteína S” se refiere a la proteína de la espícula de un coronavirus, y puede referirse a proteínas S específicas tales como SARS-CoV-2-S, MERS-CoV S y SARS-CoV S. La proteína de la espícula de SARS-CoV-2 es una glicoproteína de membrana tipo I con 1273 aminoácidos que se ensambla en trímeros que constituyen las espículas o peplómeros en la superficie de la partícula coronavírica envuelta. La proteína tiene dos funciones esenciales, unión al receptor del huésped y fusión de membrana, que se atribuyen a las mitades del extremo N terminal (S1) y del extremo C terminal (S2) de la proteína S. El CoV-S se une a su receptor cognado a través de un dominio de unión a receptores (RBD) presente en la subunidad S1.

La secuencia de aminoácidos de la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 de longitud completa se ejemplifica mediante la secuencia de aminoácidos proporcionada en la SEQ ID NO: 1008. El término “CoV-S” incluye variantes de proteína de la proteína de la espícula del CoV aislada de diferentes aislados del CoV así como también la proteína de la espícula del CoV recombinante o un fragmento de esta. El término también abarca la proteína de la espícula del CoV o un fragmento de esta acoplada a, por ejemplo, etiqueta de histidina, Fc de ratón o humano, o una secuencia de señal tal como ROR1.

El término “infección por coronavirus” o “infección por CoV”, como se usa en la presente descripción, se refiere a la infección por un coronavirus tal como SARS-CoV-2, MERS-CoV o SARS-CoV. El término incluye infecciones de las vías respiratorias por coronavirus, a menudo en las vías respiratorias inferiores. Los síntomas pueden incluir fiebre alta, tos seca, falta de aire, neumonía, síntomas gastrointestinales como diarrea, insuficiencia orgánica (insuficiencia renal y disfunción renal), choque séptico y muerte en casos graves.

Virus

La presente invención incluye métodos para tratar o prevenir una infección viral en un sujeto. El término “virus” incluye cualquier virus cuya infección en el cuerpo de un sujeto sea tratable o evitable mediante la administración de un anticuerpo anti-CoV-S o fragmento de unión al antígeno de este (por ejemplo, en donde la infectividad del virus es al menos parcialmente dependiente de CoV-S). En una modalidad de la invención, un “virus” es cualquier virus que expresa la proteína de la espícula (por ejemplo, CoV-S). El término “virus” también incluye un virus respiratorio dependiente del CoV-S que es un virus que infecta el tejido respiratorio de un sujeto (por ejemplo, las vías respiratorias superiores y/o inferiores, la tráquea, los bronquios, los pulmones) y es tratable o evitable mediante la administración de un anticuerpo anti-CoV-S o fragmento de unión al antígeno de este. Por ejemplo, en una modalidad de la invención, el virus incluye coronavirus, SARS-CoV-2 (síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2), SARS-CoV (síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus), y MERS-CoV (síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) por coronavirus). Los coronavirus pueden incluir la generación de alfacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus y deltacoronavirus. En algunas modalidades, los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno proporcionados en la presente descripción pueden unirse a y/o neutralizar un alfacoronavirus, un betacoronavirus, un gammacoronavirus, y/o un deltacoronavirus. En determinadas modalidades, esta unión y/o neutralización puede ser específica para un género

particular de coronavirus o para un subgrupo particular de un género. “Infección viral” se refiere a la invasión y multiplicación de un virus en el cuerpo de un sujeto.

Los viriones del coronavirus son esféricos con diámetros de aproximadamente 125 nm. La característica más prominente de los coronavirus son las proyecciones de espículas en forma de trébol que emanan de la superficie del virión. Estas espículas son una característica determinante del virión y les dan la apariencia de una corona solar, lo que provoca el nombre de coronavirus. Dentro de la envoltura del virión se encuentra la nucleocápside. Los coronavirus tienen nucleocápsides simétricas helicoidalmente, lo cual es poco frecuente entre los virus de ARN de sentido positivo, pero es mucho más frecuente en los virus de ARN de sentido negativo. El SARS-CoV-2, el MERS-CoV y el SARS-CoV pertenecen a la familia del coronavirus. La unión inicial del virión a la célula hospedera se inicia mediante interacciones entre la proteína S y su receptor. Los sitios de dominios de unión a receptores (RBD) dentro de la región S1 de una proteína S del coronavirus varían en dependencia del virus, y algunos tienen el RBD en el extremo C terminal de S1. La interacción proteína S/receptor es el principal determinante para que un coronavirus infecte una especie hospedera y también rige el tropismo tisular del virus. Muchos coronavirus utilizan peptidasas como su receptor celular. Después de la unión al receptor, el virus debe obtener acceso al citosol de la célula hospedera. Esto generalmente se logra mediante la escisión proteolítica dependiente del ácido de la proteína S mediante una catepsina, la TMPRRS2 u otra proteasa, seguida de la fusión de las membranas virales y celulares.

Los coronavirus descritos en la presente descripción también incluyen la variante de coronavirus, que en algunas modalidades se clasifican como “variantes de interés” o “variantes de preocupación” por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los coronavirus variantes pueden tener mutaciones en su glicoproteína de la espícula, lo que puede cambiar las propiedades del virus, como la gravedad de COVID-19 o la transmisibilidad. La OMS define una variante de preocupación como una que se asocia con uno o más de los siguientes cambios de tipo silvestre, en tal medida que sea una cuestión de importancia para la salud pública mundial: 1) aumento de la transmisibilidad o cambio perjudicial en la epidemiología de COVID-19; 2) aumento de la virulencia o cambio en la presentación de la enfermedad clínica; o 3) disminución de la efectividad de las medidas de salud pública y las medidas sociales, que incluye las terapias, vacunas y diagnósticos disponibles. La OMS define las variantes de interés como virus SARS-CoV-2 1) con cambios genéticos que se prevén o se ha demostrado que afectan las características del virus, que incluye el escape inmunitario, escape terapéutico, escape de diagnóstico, transmisibilidad, y

gravedad de la enfermedad; y 2) que se han identificado como causantes de una transmisión comunitaria significativa o de múltiples grupos de COVID-19, en varios países y con una prevalencia relativa en aumento, junto con una cantidad cada vez mayor de casos a lo largo del tiempo, o con otros impactos epidemiológicos que sugieren un riesgo emergente para la salud pública global. Hasta el 13 de diciembre de 2021, existen cinco variantes de interés según la clasificación de la OMS (alfa, beta, gamma, delta y ómicron) y dos variantes de interés según la clasificación de la OMS (lambda y mu). Cada variante puede definirse por las mutaciones en su glicoproteína de la espícula en comparación con la glicoproteína de la espícula de tipo silvestre. Por ejemplo, la variante Ómicron (también clasificada como B.1.1.529) comprende las siguientes mutaciones en su glicoproteína de la espícula: A67V, Δ69-70, T95I, G142D/Δ143-145, Δ211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K y L981F (glicoproteína de la espícula ómicron de longitud completa: SEQ ID NO: 1072). Además, estas variantes pueden tener otros linajes adicionales que abarcan un grupo de virus relacionados. Por ejemplo, hasta el 8 de julio de 2022, la variante Ómicron tiene los linajes BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.2.12.1, BA.3 y BA.4/BA.5. En algunas modalidades, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos descritos en la presente descripción pueden unirse a cualquiera de estas variantes y/o linajes. En modalidades adicionales, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos pueden neutralizar estas variantes y/o linajes.

Anticuerpos anti-CoV-S y fragmentos de unión al antígeno

La presente invención proporciona proteínas de unión al antígeno, tales como anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos, que se unen específicamente a la proteína de la espícula del CoV o un fragmento antigénico de esta.

El término "anticuerpo", tal como se usa en la presente descripción, se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (HC) y dos cadenas ligeras (LC) interconectadas por enlaces disulfuro (es decir, "moléculas de anticuerpos completas"), así como también a multímeros de estos (por ejemplo, IgM). Los anticuerpos ilustrativos incluyen, por ejemplo, los enumerados en la Tabla 4. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada ("HCVR" o "V_H") y una región constante de cadena pesada (que comprende los dominios C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}). Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera ("LCVR o "V_L") y una región constante de cadena ligera (C_L). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones

determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L comprende tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino terminal al extremo carboxilo terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las CDR de cadena pesada también pueden denominarse HCDR o CDR-H, y enumerarse como se describió anteriormente (por ejemplo, HCDR1, HCDR2 y HCDR3 o HCDR1, HCDR2 y HCDR3). Igualmente, las CDR de cadena ligera pueden denominarse LCDR o CDR-L, y enumerarse como LCDR1, LCDR2 y LCDR3, o LCDR1, LCDR2 y LCDR3 numerados. En determinadas modalidades de la invención, las FR del anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno de este) son idénticas a las secuencias de línea germinal humana, o son modificadas natural o artificialmente. Las secuencias de línea germinal humana ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, VH3-66 y Vk1-33. Por lo tanto, la presente descripción proporciona anticuerpos anti-CoV-S o fragmentos de unión al antígeno de estos (por ejemplo, anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o fragmentos de unión al antígeno de estos) que comprenden las secuencias HCDR y LCDR de la Tabla 4 dentro de una región de cadena pesada o de cadena ligera variables VH3-66 o Vk1-33. La presente descripción proporciona además anticuerpos anti-CoV-S o fragmentos de unión al antígeno de estos (por ejemplo, anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o fragmentos de unión al antígeno de estos) que comprenden las secuencias HCDR y LCDR de la Tabla 4 dentro de una combinación de una cadena ligera seleccionada de IgKV4-1, IgKV1-5, IgKV1-9, IgKV1-12, IgKV3-15, IgKV1-16, IgKV1-17, IgKV3-20, IgLV3-21, IgKV2-24, IgKV1-33, IgKV1-39, IgLV1-40, IgLV1-44, IgLV1-51, IgLV3-1, IgKV1-6, IgLV2-8, IgKV3-11, IgLV2-11, IgLV2-14, IgLV2-23 o IgLV6-57, y una cadena pesada seleccionada de IgHV1-69, IgHV3-64, IgHV4-59, IgHV3-53, IgHV3-48, IgHV4-34, IgHV3-33, IgHV3-30, IgHV3-23, IgHV3-20, IgHV1-18, IgHV3-15, IgHV3-11, IgHV3-9, IgHV1-8, IgHV3-7, IgHV2-5, IgHV1-2, IgHV2-70, IgHV3-66, IgHV5-51, IgHV1-46, IgHV4-39, IgHV4-31, IgHV3-30-3, IgHV2-26 o IgHV7-4-1. La presente descripción proporciona además anticuerpos anti-CoV-S o fragmentos de unión al antígeno de estos (por ejemplo, anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o fragmentos de unión al antígeno de estos) que comprenden las secuencias HCVR y LCVR de la Tabla 4 dentro de una combinación de una cadena ligera seleccionada de IgKV4-1, IgKV1-5, IgKV1-9, IgKV1-12, IgKV3-15, IgKV1-16, IgKV1-17, IgKV3-20, IgLV3-21, IgKV2-24, IgKV1-33, IgKV1-39, IgLV1-40, IgLV1-44, IgLV1-51, IgLV3-1, IgKV1-6, IgLV2-8, IgKV3-11, IgLV2-11, IgLV2-14, IgLV2-23 o IgLV6-57, y una cadena pesada seleccionada de IgHV1-69, IgHV3-64, IgHV4-59, IgHV3-53, IgHV3-48, IgHV4-34, IgHV3-33, IgHV3-30, IgHV3-23, IgHV3-20, IgHV1-18, IgHV3-15, IgHV3-11,

IgHV3-9, IgHV1-8, IgHV3-7, IgHV2-5, IgHV1-2, IgHV2-70, IgHV3-66, IgHV5-51, IgHV1-46, IgHV4-39, IgHV4-31, IgHV3-30-3, IgHV2-26 o IgHV7-4-1.

Típicamente, los dominios variables tanto de las cadenas de inmunoglobulina pesadas como ligeras comprenden tres regiones hipervariables, también llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), ubicadas dentro de regiones marco (FR) relativamente conservadas. En general, desde el extremo N terminal hasta el extremo C terminal, los dominios variables de cadenas ligeras y pesadas comprenden FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. En una modalidad de la invención, la asignación de aminoácidos a cada dominio está de acuerdo con las definiciones de Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico, Kabat y otros; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5^a ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat y otros, (1977) J. Biol. Chem. 252: 6609-6616; Chothia y otros, (1987) J Mol. Biol. 196: 901-917 o Chothia y otros, (1989) Nature 342: 878-883.

La presente invención incluye proteínas monoclonales de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos, así como también composiciones monoclonales que comprenden una pluralidad de proteínas monoclonales de unión al antígeno aisladas. El término “anticuerpo monoclonal”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, las moléculas de anticuerpo que comprenden la población son idénticas en secuencia de aminoácidos excepto por las posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Una “pluralidad” de tales anticuerpos monoclonales y fragmentos en una composición se refiere a una concentración de anticuerpos y fragmentos idénticos (es decir, como se describió anteriormente, en secuencia de aminoácidos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores) que está por encima de lo que normalmente ocurriría en la naturaleza, por ejemplo, en la sangre de un organismo hospedero tal como un ratón o un ser humano.

En una modalidad de la invención, una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un dominio constante de cadena pesada, por ejemplo, del tipo IgA (por ejemplo, IgA1 o IgA2), IgD, IgE, IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) o IgM. En una modalidad de la invención, una proteína de unión al antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un dominio constante de cadena ligera, por ejemplo, del tipo kappa o lambda.

El término proteína de unión al antígeno “humana”, tal como un anticuerpo, tal como se usa en la presente descripción, incluye anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de

secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana, ya sea en una célula humana o injertadas en una célula no humana, por ejemplo, una célula de ratón. Ver, por ejemplo, los documentos US8502018, US6596541 o US5789215. Los mAb humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulinas de la 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, la CDR3. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en la presente descripción, no pretende incluir los mAb en los que las secuencias de las CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamíferos (por ejemplo, ratón), se han injertado en secuencias FR humanas. El término incluye anticuerpos producidos de manera recombinante en un mamífero no humano, o en células de un mamífero no humano. El término no pretende incluir anticuerpos aislados de o generados en un sujeto humano. Ver más abajo.

La presente invención incluye proteínas quiméricas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estas, y métodos de uso. Como se usa en la presente descripción, un "anticuerpo quimérico" es un anticuerpo que tiene el dominio variable de un primer anticuerpo y el dominio constante de un segundo anticuerpo, donde el primer y el segundo anticuerpo son de diferentes especies. (documento US4816567; y Morrison y otros, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

La presente invención incluye proteínas híbridas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estas, y métodos de uso. Como se usa en la presente descripción, un "anticuerpo híbrido" es un anticuerpo que tiene el dominio variable de un primer anticuerpo y el dominio constante de un segundo anticuerpo, en donde el primer y el segundo anticuerpo son de diferentes animales, o en donde el dominio variable, pero no la región constante, es del primer animal. Por ejemplo, un dominio variable puede tomarse de un anticuerpo aislado de un humano y expresarse con una región constante fija no aislada de ese anticuerpo. Los anticuerpos híbridos ilustrativos se describen en el Ejemplo 1, que se refiere a productos de la PCR derivados de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del anticuerpo que se clonaron en vectores de expresión que contienen una región constante pesada y una región constante ligera, respectivamente. Los anticuerpos híbridos son sintéticos y no se producen de forma natural porque las regiones variables y constantes que contienen no se aíslan de una sola fuente natural.

El término proteínas “recombinantes” de unión al antígeno, tal como anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos, se refiere a tales moléculas creadas, expresadas, aisladas u obtenidas mediante tecnologías o métodos conocidos en la técnica como tecnología de ADN recombinante que incluye, por ejemplo, empalme de ADN y expresión transgénica. El término incluye anticuerpos expresados en un mamífero no humano (que incluye mamíferos no humanos transgénicos, por ejemplo, ratones transgénicos), o un sistema de expresión celular (por ejemplo, células CHO), o un sistema de expresión celular no humano o aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatoria recombinante. En algunas modalidades, un anticuerpo recombinante comparte una secuencia con un anticuerpo aislado de un organismo (por ejemplo, un ratón o un humano), pero se ha expresado a través de tecnología de ADN recombinante. Tales anticuerpos pueden tener modificaciones postraduccionales (por ejemplo, glucosilación) que difieren del anticuerpo como aislado del organismo.

En algunas modalidades, los anticuerpos descritos en la presente descripción carecen de fucosa en su glucosilación de región constante. Los métodos para medir la fucosa en una composición de anticuerpo se han descrito en la técnica, por ejemplo, la patente de Estados Unidos núm. 8,409,838 (Regeneron Pharmaceuticals), incorporada en la presente descripción como referencia. En algunas modalidades, la fucosa es indetectable en una composición que comprende una población de moléculas de anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo que carece de fucosa tiene una actividad de ADCC mejorada.

En algunas modalidades, los anticuerpos que carecen de fucosa pueden producirse mediante el uso de líneas celulares que son deficientes en su capacidad de fucosilar proteínas, es decir, la capacidad de fucosilar proteínas se reduce o elimina. La fucosilación de los glicanos requiere la síntesis de GDP-fucosa a través de la vía de novo o la vía de rescate, ambas implican la función secuencial de varias enzimas, lo que conduce a la adición de una molécula de fucosa al primer resto N-acetilglucosamina (GlcNAc) del extremo reductor de un glicano. Las dos enzimas clave de la vía de novo responsables de la producción de GDP-fucosa son GDP-D-manosa-4,6-deshidratasa (GMD) y GDP-ceto-6-desoximanosa-3,5-epimerasa,4-reductasa (FX). En ausencia de fucosa, estas dos enzimas de la vía de novo (GMD y FX) convierten la manosa y/o la glucosa en fucosa de GDP, que luego se transporta al complejo de Golgi, donde nueve fucosiltransferasas (FUT1-9) actúan en consonancia para fucosilar la primera molécula de GlcNAc de un glicano. Sin embargo, en presencia de fucosa, las enzimas de la vía de rescate, la fucosa-quinasa y la pirofosforilasa de la GDP, convierten la fucosa en GDP-fucosa.

Las líneas celulares que son deficientes en su capacidad para fucosilar proteínas se han descrito en la técnica. En algunas modalidades, una línea celular deficiente en su capacidad para fucosilar proteínas es una línea celular de mamíferos (por ejemplo, líneas celulares CHO, tales como CHO K1, DXB-11 CHO, Veggie-CHO) que comprende una mutación o modificación genética en uno o más FUT1 endógenos a 9 genes que resultan en una falta de una o más fucosiltransferasas funcionales. En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos comprende una mutación en un gen FUT8 endógeno (por ejemplo, una línea celular inactivada de FUT8 en la que el gen FUT8 se ha interrumpido, lo que resulta en una falta de una 1,6-fucosiltransferasa funcional en la línea celular, como se describe en la patente de Estados Unidos núm. 7,214,775 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.) y en la patente de Estados Unidos núm. 7,737,725 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.) que se incorpora en la presente descripción como referencia. En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos comprende una mutación o modificación genética en un gen GMD endógeno que resulta en una falta de un GMD funcional en la línea celular, por ejemplo, una línea celular inactivada de GMD en la que el gen de GMD se ha interrumpido, descrito por ejemplo, en la patente de Estados Unidos 7,737,725 (Kyowa Hakko Kirin Coin, Ltd.), incorporada en la presente descripción como referencia. En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos comprende una mutación o modificación genética en un gen Fx endógeno que resulta en una falta de una proteína Fx funcional. En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos es una línea celular inactivada de Fx en la que se ha interrumpido el gen Fx endógeno (ver, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 7,737,725 (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd), incorporada en la presente descripción como referencia). En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos comprende una mutación en una mutación Fx endógena que confiere fenotipos sensibles a la temperatura (como se describió en, por ejemplo, la patente de Estados Unidos núm. 8,409,838 (Regeneron Pharmaceuticals), incorporada en la presente descripción como referencia). En algunas modalidades, la línea celular de mamíferos deficiente en su capacidad para fucosilar proteínas es una línea celular que se ha seleccionado en función de la resistencia a determinadas lectinas, por ejemplo, la lectina de Lens culinaris. Ver, por ejemplo, la patente de Estados Unidos núm. 8,409,838 (Regeneron Pharmaceuticals), incorporada en la presente descripción como referencia.

Las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S recombinantes, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno, descritos en la presente descripción también pueden producirse en un sistema de expresión de *E. coli*/T7. En esta modalidad, los ácidos nucleicos que codifican las moléculas de inmunoglobulina de anticuerpo anti-CoV-S de la invención (por ejemplo, como se

encuentra en la Tabla 4) pueden insertarse en un plásmido basado en pET y expresarse en el sistema *E. coli*/T7. Por ejemplo, la presente invención incluye métodos para expresar un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este o cadena de inmunoglobulina de este en una célula hospedera (por ejemplo, célula hospedera bacteriana tal como *E. coli* tal como BL21 o BL21DE3) que comprende expresar la polimerasa de ARN T7 en la célula que también incluye un polinucleótido que codifica una cadena de inmunoglobulina que está unida operativamente a un promotor T7. Por ejemplo, en una modalidad de la invención, una célula hospedera bacteriana, tal como una *E. coli*, incluye un polinucleótido que codifica el gen de polimerasa de ARN T7 unido operativamente a un promotor de *lac* y la expresión de la polimerasa y la cadena se induce mediante la incubación de la célula hospedera con IPTG (isopropil-beta-D-tiogalactopiranosido). Ver los documentos US4952496 y US5693489 o Studier & Moffatt, Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes, J. Mol. Biol. 5 de mayo de 1986; 189(1): 113-30.

Existen varios métodos mediante los cuales se pueden producir anticuerpos recombinantes que se conocen en la técnica. Un ejemplo de un método para la producción recombinante de anticuerpos se describe en el documento US4816567.

La transformación puede ser por cualquier método conocido para introducir polinucleótidos (por ejemplo, ADN o ARN, que incluye ARNm) en una célula hospedera. Los métodos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células de mamíferos se conocen bien en la técnica e incluyen transfección mediada por dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del(de los) polinucleótido(s) en liposomas, tecnología de nanopartículas lipídicas, inyección biolística e inyección directa de los núcleos en el ADN. Además, las moléculas de ácido nucleico pueden introducirse en células de mamíferos mediante vectores virales tales como lentivirus o virus adenoasociado. Los métodos de transformación de células se conocen bien en la técnica. Ver, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 4,399,216; 4,912,040; 4,740,461 y 4,959,455. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la presente descripción puede introducirse a un sujeto en forma de ácido nucleico (por ejemplo, ADN o ARN, que incluye ARNm), de manera que las propias células del sujeto producen el anticuerpo. La presente descripción proporciona además modificaciones a las secuencias de nucleótidos que codifican los anticuerpos anti-CoV-S descritos en la presente descripción que resultan en un aumento de la expresión de anticuerpos, un aumento de la estabilidad de anticuerpos, un aumento

de la estabilidad de ácido nucleico (por ejemplo, ARNm), o una mejor afinidad o especificidad de los anticuerpos para la proteína de la espícula del CoV.

Por lo tanto, la presente invención incluye métodos recombinantes para fabricar una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, tal como un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de

5 la presente invención, o una cadena de inmunoglobulina de esta, que comprende (i) introducir uno o más polinucleótidos (por ejemplo, que incluye la secuencia de nucleótidos de una o más de las secuencias de la Tabla 5) que codifica cadenas de inmunoglobulina ligeras y/o pesadas, o CDR, de la proteína de unión al antígeno, por ejemplo, de la Tabla 4, por ejemplo, en donde el polinucleótido está en un vector; y/o integrado en un cromosoma de célula hospedera y/o se une

10 operativamente a un promotor; (ii) cultivar la célula hospedera (por ejemplo, CHO o *Pichia* o *Pichia pastoris*) en condiciones favorables a la expresión del polinucleótido y, (iii) opcionalmente, aislar la proteína de unión al antígeno, (por ejemplo, anticuerpo o fragmento) o cadena de la célula hospedera y/o medio en el que se cultiva la célula hospedera. Por ejemplo, un polinucleótido puede integrarse en un cromosoma de célula hospedera a través de la inserción dirigida con un vector tal

15 como virus adenoasociado (AAV), por ejemplo, después de la escisión del cromosoma mediante el uso de un sistema de edición génica (por ejemplo, CRISPR (por ejemplo, CRISPR-Cas9), TALEN, megaTAL, dedo de zinc o Argonauta). Las inserciones dirigidas pueden tener lugar, por ejemplo, en locus de células hospederas tales como un locus genómico de albúmina o inmunoglobulina. Alternativamente, la inserción puede ser en un locus aleatorio, por ejemplo, mediante el uso de un

20 vector tal como lentivirus. Cuando se fabrica una proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno) que comprende más de una cadena de inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo que comprende dos cadenas de inmunoglobulina pesadas y dos cadenas de inmunoglobulina ligeras, la coexpresión de las cadenas en una única célula hospedera conduce a la asociación de las cadenas, por ejemplo, en la célula o en la

25 superficie celular o fuera de la célula si tales cadenas se secretan, para formar la proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno). Los métodos incluyen aquellos en donde solo se expresa una cadena de inmunoglobulina pesada o solo una cadena de inmunoglobulina ligera (por ejemplo, cualquiera de los descritos en la presente descripción que incluyen fragmentos maduros y/o dominios variables de estos). Tales cadenas son útiles, por

30 ejemplo, como intermediarios en la expresión de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que incluye tal cadena. Por ejemplo, la presente invención también incluye proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, tales como anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos, que

comprende una inmunoglobulina de cadena pesada (o dominio variable de esta o que comprende las CDR de esta) codificada por un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que se expone en la Tabla 5 y una inmunoglobulina de cadena ligera (o dominio variable de esta o que comprende las CDR de esta) codificada por una secuencia de nucleótidos que se expone en la

5 Tabla 5 que son el producto de tales métodos de producción, y, opcionalmente, los métodos de purificación establecidos en la presente descripción. Por ejemplo, en algunas modalidades, el producto del método es una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S que es un anticuerpo o fragmento que comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos que se establece en la Tabla 4 y una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos que se

10 establece en la Tabla 4, en donde las secuencias de HCVR y LCVR se seleccionan de un único anticuerpo enumerado en la Tabla 4. En algunas modalidades, el producto del método es una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S que es un anticuerpo o fragmento que comprende una HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden secuencias de aminoácidos que se establecen en la Tabla 4 y una LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden secuencias de aminoácidos que se

15 establecen en la Tabla 4, en donde las secuencias de HCDR y LCDR se seleccionan de un único anticuerpo enumerado en la Tabla 4. En algunas modalidades, el producto del método es una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S que es un anticuerpo o fragmento que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se establece en la Tabla 4 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se establece en la Tabla 4.

20 Las células hospederas eucariotas y procariotas, que incluyen células de mamíferos, pueden usarse como hospederos para la expresión de una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S. Tales células hospederas se conocen bien en la técnica y muchas están disponibles de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC). Estas células hospederas incluyen, *entre otras*, células de ovario de hámster chino (CHO), NS0, SP2 células HeLa, células de riñón de hámster bebé (BHK), células de

25 riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2), células A549, células 3T3, células HEK-293 y una cantidad de otras líneas celulares. Las células hospederas de mamíferos incluyen células humanas, de ratón, de rata, de perro, de mono, de cerdo, de cabra, de bovinos, de caballo y de hámster. Otras líneas celulares que pueden usarse son líneas celulares de insectos (por ejemplo, *Spodoptera frugiperda* o *Trichoplusia ni*), células anfibias,

30 células bacterianas, células vegetales y células fúngicas. Las células fúngicas incluyen levaduras y células fúngicas filamentosas que incluyen, por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia*

lindneri), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces* sp., *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium*
5 *lucknowense*, *Fusarium* sp., *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* y *Neurospora crassa*. La presente invención incluye una célula hospedera aislada (por ejemplo, una célula CHO) que comprende una proteína de unión al antígeno, tal como la de la Tabla 4; o un polinucleótido que codifica tal polipéptido de este.

Los polinucleótidos, como se describe en la presente descripción, pueden codificar la totalidad o
10 una porción de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describe a lo largo de la presente descripción. En algunos casos, un único polinucleótido puede codificar tanto una HCVR como una LCVR (por ejemplo, definido con referencia a las CDR contenidas dentro de la respectiva HCVR y LCVR definida por secuencia de aminoácidos, definidos con referencia a las secuencias de aminoácidos de las CDR de la HCVR y la LCVR, respectivamente, o se define con
15 referencia a las secuencias de aminoácidos de la HCVR y la LCVR, respectivamente) de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, o la HCVR y el LCVR pueden estar codificados por polinucleótidos separados (es decir, un par de polinucleótidos). En el último caso, en el que la HCVR y la LCVR están codificadas por polinucleótidos separados, los polinucleótidos pueden combinarse en un solo vector o pueden estar contenidos en vectores separados (es decir, un par de
20 vectores). En cualquier caso, una célula hospedera usada para expresar el(los) polinucleótido(s) o vector(es) puede contener el complemento completo de partes componentes para generar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. Por ejemplo, una célula hospedera puede comprender vectores separados, cada uno que codifica una HCVR y una LCVR, respectivamente, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este como se describió anteriormente o en la
25 presente descripción. De manera similar, el polinucleótido o polinucleótidos, y el vector o vectores, pueden usarse para expresar la cadena pesada de longitud completa y la cadena ligera de longitud completa de un anticuerpo como se describió anteriormente o en la presente descripción. Por ejemplo, una célula hospedera puede comprender un vector único con polinucleótidos que codifican tanto una cadena pesada como una cadena ligera de un anticuerpo, o la célula hospedera
30 puede comprender vectores separados con polinucleótidos que codifican, respectivamente, una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo como se describió anteriormente o en la presente descripción.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 214, 216 y 218 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 213, 215 y 217).

5 En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 222, 126 y 224 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 221, 125 y 223).

10 En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 211).

15 En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 219).

20 En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 226 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 225).

25 En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 227).

30 En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb14315 o un fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 364, 366 y 368 (por

ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 363, 365 y 367). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 372, 106 y 374 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 371, 105 y 373). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 361). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 369). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 376 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 375). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 377). En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb15160 o un fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 495, 497 y 499 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 494, 496 y 498). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector)

que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 503, 505 y 507 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 502, 504 y 506). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector)

5 que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 492). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 500). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 509 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 508). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 510). En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb14284 o un fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 889, 891 y 893 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 888, 890 y 892). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector)

25 que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 897, 164 y 899 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 896, 163 y 898). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que

comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 887 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 886). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 895 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 894). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 901 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 900). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 903 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 902). En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb14256 o un fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 495, 497 y 499 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 494, 496 y 498). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 503, 505 y 507 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 502, 504 y 506). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 493 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 492). En una modalidad

ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 501 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 500). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1075 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 1074). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 511 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 510). En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb17090 o un fragmento de unión al antígeno de este.

En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende las HCDR de las SEQ ID NO: 364, 366 y 368 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 363, 365 y 367). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende las LCDR de las SEQ ID NO: 372, 106 y 374 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende las SEQ ID NO: 371, 105 y 373). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 362 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 361). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 370 (por ejemplo, en

una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 369). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1077 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 1076). En una modalidad ilustrativa, la presente descripción proporciona un polinucleótido (o un vector que comprende el polinucleótido, o una célula hospedera que comprende el polinucleótido o el vector) que codifica una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 378 (por ejemplo, en una modalidad, el polinucleótido comprende la SEQ ID NO: 377). En una modalidad, la presente descripción proporciona un par de polinucleótidos o un par de vectores que codifican, respectivamente, una HCVR y una LCVR, o una HC y una LC, como se describe en este párrafo, así como también una célula hospedera que contiene el par de polinucleótidos y/o el par de vectores para codificar el anticuerpo designado mAb15160_2 o un fragmento de unión al antígeno de este.

El término “se une específicamente” se refiere a aquellas proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, mAb) que tienen una afinidad de unión a un antígeno, tal como una proteína CoV-S (por ejemplo, SARS-CoV-2-S), expresada como K_D , de al menos aproximadamente 10^{-8} M, medida por un ensayo de interferometría de biocapa libre de etiqueta en tiempo real, por ejemplo, a 25 °C o 37 °C, por ejemplo, un biosensor de HTX Octet®, o mediante una resonancia de plasmones de superficie, por ejemplo, BIACORE™ o mediante un ELISA de afinidad de solución. La presente invención incluye proteínas de unión al antígeno que se unen específicamente a una proteína CoV-S.

Los términos "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo, y similares, como se usan en la presente descripción, incluyen cualquier polipéptido o glicoproteína de origen natural, que puede obtenerse enzimáticamente, sintético, o modificado genéticamente que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. 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 Fv de cadena simple (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido de la CDR3), o un péptido de FR3-CDR3-FR4 limitado. Otras moléculas modificadas genéticamente, tales como

anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de dominio único, anticuerpos de dominios borrados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, como se define en el documento WO08/020079 o en el documento WO09/138519) (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, *etc.*), productos inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP), y dominios IgNAR variable de tiburón, también están abarcados dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se usa en la presente descripción. En una modalidad de la invención, el fragmento de unión al antígeno comprende tres o más CDR de un anticuerpo de la Tabla 4 (por ejemplo, HCDR1, HCDR2 y HCDR3; o LCDR1, LCDR2 y LCDR3).

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo comprenderá, en una modalidad de la invención, al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR, que es adyacente o está en el marco con una o más secuencias marco. En los fragmentos de unión al antígeno con un dominio V_H asociado con un dominio V_L , los dominios V_H y V_L pueden situarse uno con respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros $V_H - V_H$, $V_H - V_L$ o $V_L - V_L$. Alternativamente, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_L o V_H monomérico.

En determinadas modalidades, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ilustrativas no limitantes de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) V_H -CH1; (ii) V_H -CH2; (iii) V_H -CH3; (iv) V_H -CH1-CH2; (v) V_H -CH1-CH2-CH3; (vi) V_H -CH2-CH3; (vii) V_H -CL; (viii) V_L -CH1; (ix) V_L -CH2; (x) V_L -CH3; (xi) V_L -CH1-CH2; (xii) V_L -CH1-CH2-CH3; (xiii) V_L -CH2-CH3; y (xiv) V_L -CL. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, que incluyen cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar directamente enlazados entre sí o pueden estar enlazados por una región bisagra o enlazadora completa o parcial. Una región de bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos, que tienen como resultado un enlace flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula de polipéptido. Además, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominios variables y constantes enumeradas anteriormente en

asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, mediante enlace(s) disulfuro).

Las proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno) pueden ser monoespecíficas o multiespecíficas (por ejemplo, biespecíficas). Las proteínas multiespecíficas de unión al antígeno se discuten adicionalmente en la presente descripción.

En modalidades específicas, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la invención pueden conjugarse a un resto tal como un ligando o un resto terapéutico ("inmunoconjugado"), tal como un fármaco antiviral, un segundo anticuerpo anti-influenza, o cualquier otro resto terapéutico útil para tratar una infección viral, por ejemplo, una infección viral provocada por virus de influenza.

Ver más abajo.

La presente invención también proporciona un complejo que comprende una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, descrito en la presente descripción en complejo con polipéptido CoV-S o un fragmento antigénico de este y/o con un anticuerpo secundario o fragmento de unión al antígeno de este (por ejemplo, anticuerpo secundario etiquetado de manera detectable) que se une específicamente al fragmento anti-CoV o anticuerpo anti-CoS. En una modalidad de la invención, el anticuerpo o fragmento es *in vitro* (por ejemplo, se inmoviliza a un sustrato sólido) o está en el cuerpo de un sujeto. En una modalidad de la invención, el CoV es *in vitro* (por ejemplo, se inmoviliza a un sustrato sólido) o está en la superficie de un virus o está en el cuerpo de un sujeto. Los anticuerpos anti-CoV-S inmovilizados y fragmentos de unión al antígeno de estos que se unen covalentemente a un material de matriz insoluble (por ejemplo, vidrio o polisacárido tal como agarosa o sefarosa, por ejemplo, una perla u otra partícula de estos) también son parte de la presente invención; opcionalmente, en donde el anticuerpo inmovilizado es un fragmento o un fragmento de CoV de este.

Las proteínas de unión al antígeno, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos, polipéptidos, polinucleótidos y vectores "aislados", están al menos parcialmente libres de otras moléculas biológicas de las células o del cultivo celular a partir de los cuales se producen. Tales moléculas biológicas incluyen ácidos nucleicos, proteínas, otros anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos, lípidos, carbohidratos, u otro material tal como restos celulares y medio de crecimiento. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno puede estar además al menos parcialmente libre de componentes del sistema de expresión tales como moléculas biológicas de una célula hospedera o del medio de crecimiento de esta. Generalmente, el término "aislado" no pretende referirse a una ausencia completa de tales moléculas biológicas o a una ausencia de agua,

amortiguadores, o sales o a componentes de una formulación farmacéutica que incluye los anticuerpos o fragmentos.

El término “epítopo” se refiere a un determinante antigénico (por ejemplo, un polipéptido CoV-S) que interactúa con un sitio específico de unión al antígeno, por ejemplo, una región variable de una

5 molécula de anticuerpo conocida como paratopo. Un único antígeno puede tener más de un epítopo. Por lo tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas en un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. El término “epítopo” también se refiere a un sitio en un antígeno al que responden células B y/o T. También se refiere a una región de un antígeno que se une mediante un anticuerpo. Los epítopos pueden definirse como estructurales o funcionales. Los
10 epítopos funcionales son generalmente un subconjunto de los epítopos estructurales y tienen esos residuos que contribuyen directamente a la afinidad de la interacción. Los epítopos también pueden ser lineales o conformacionales, es decir, estar compuestos de aminoácidos no lineales. En determinadas modalidades, los epítopos pueden incluir determinantes que son grupos superficiales químicamente activos de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos
15 fosforilo, o grupos sulfonilo, y, en determinadas modalidades, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, y/o características de carga específicas.

Los métodos para determinar el epítopo de una proteína de unión al antígeno, por ejemplo, anticuerpo o fragmento o polipéptido, incluyen análisis de mutación de escaneo de alanina, análisis de transferencia de péptidos (Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248: 443-63), análisis de escisión
20 de péptidos, estudios cristalográficos y análisis de RMN. Además, pueden emplearse métodos tales como la escisión de epítopos, extracción de epítopos y modificación química de antígenos (Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9: 487-496). Otro método que puede usarse para identificar los aminoácidos dentro de un polipéptido con el que interactúa una proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento o polipéptido) (por ejemplo, coversina) es el intercambio de
25 hidrógeno/deuterio detectado por espectrometría de masas. En términos generales, el método de intercambio de hidrógeno/deuterio involucra etiquetar con deuterio la proteína de interés, seguido de la unión de la proteína de unión al antígeno, por ejemplo, anticuerpo o fragmento o polipéptido, a la proteína etiquetada con deuterio. A continuación, el complejo proteína CoV-S/proteína de unión al antígeno se transfiere al agua y los protones intercambiables dentro de aminoácidos que
30 están protegidos por el complejo de anticuerpos experimentan intercambio de deuterio a hidrógeno a una velocidad más lenta que los protones intercambiables dentro de aminoácidos que no son parte de la interfaz. Como resultado, los aminoácidos que forman parte de la interfaz de

proteína/proteína de unión al antígeno pueden retener deuterio y por lo tanto presentar una masa relativamente mayor en comparación con los aminoácidos no incluidos en la interfaz. Después de la disociación de la proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento o polipéptido), la proteína diana se somete a la escisión de proteasa y al análisis de espectrometría de masas, lo que revela de esta manera los residuos etiquetados por deuterio que corresponden a los aminoácidos específicos con los que interactúa la proteína de unión al antígeno. Ver, por ejemplo, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252-259; Engen y Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A-265A.

El término “compete” como se usa en la presente descripción, se refiere a una proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta) que se une a un antígeno (por ejemplo, CoV-S) e inhibe o bloquea la unión de otra proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta) al antígeno. El término también incluye la competencia entre dos anticuerpos proteínas de unión al antígeno, por ejemplo, anticuerpos, en ambas orientaciones, es decir, un primer anticuerpo que se une y bloquea la unión del segundo anticuerpo y viceversa. En determinadas modalidades, la primera proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo) y la segunda proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo) pueden unirse al mismo epítipo. Alternativamente, la primera y la segunda proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos) pueden unirse a epítipos diferentes, pero, por ejemplo solapados, en donde la unión de uno inhibe o bloquea la unión del segundo anticuerpo, por ejemplo, a través de impedimento estérico. La competencia entre proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos) puede medirse mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante un ensayo de interferometría de biocapa libre de etiqueta en tiempo real. El mapeo de epítipos (por ejemplo, mediante escaneo de alanina o intercambio de hidrógeno-deuterio (HDX)) puede usarse para determinar si dos o más anticuerpos son no competitivos (por ejemplo, en un monómero de dominio de unión a receptores de proteína de la espícula (RBD)), que compiten por el mismo epítipo, o compiten, pero con microepítipos diversos (por ejemplo, identificada a través del HDX). En una modalidad de la invención, la competencia entre una primera y segunda proteína de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpo) se determina mediante la medición de la capacidad de una primera proteína de unión al antígeno anti-CoV-S inmovilizada (por ejemplo, anticuerpo) (no en complejo inicialmente con la proteína CoV-S) para unirse a una proteína anti-S soluble (en complejo con un segundo anticuerpo de unión al CoV-S). Una reducción en la capacidad de la primera proteína de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpo) para

unirse a la proteína de CoV-S compleja, con relación a la proteína de CoV-S no compleja, indica que la primera y segunda proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpos) compiten. El grado de competencia puede expresarse como un porcentaje de la reducción en la unión. Tal competencia puede medirse mediante el uso de un ensayo de interferometría de biocapas libre de etiquetas en tiempo real, por ejemplo, en un biosensor Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.), ELISA (ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas) o SPR (resonancia de plasmones superficiales).

La competencia de unión entre las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpos monoclonales (mAb)) puede determinarse mediante el uso de un ensayo de interferometría de biocapas libre de etiquetas en tiempo real en un biosensor Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.). Por ejemplo, para determinar la competencia entre dos anticuerpos monoclonales anti-CoV-S, el mAb anti-CoV-S puede capturarse primero en puntas de biosensor Octet recubiertas de anticuerpo anti-hFc (Pall ForteBio Corp., # 18-5060) al sumergir las puntas en una solución de mAb anti-CoV-S (subsecuentemente denominado “mAb1”). Como control positivo para el bloqueo, las puntas del biosensor capturadas por el anticuerpo pueden saturarse después con un mAb de control de isotipo de bloqueo conocido (subsecuentemente denominado “mAb de bloqueo”) al sumergirse en una solución de mAb de bloqueo. Para determinar si el mAb2 compite con el mAb1, las puntas del biosensor pueden entonces sumergirse subsecuentemente en una solución co-complejada del polipéptido CoV-S y un segundo mAb anti-CoV-S (subsecuentemente denominado “mAb2”), que se había preincubado durante un período de tiempo y se puede determinar la unión del mAb1 al polipéptido CoV-S. Las puntas del biosensor pueden lavarse en amortiguador entre cada etapa del experimento. La respuesta de unión en tiempo real puede monitorearse durante todo el transcurso del experimento y puede registrarse la respuesta de unión al final de cada etapa.

Por ejemplo, en una modalidad de la invención, el ensayo de competencia se realiza a 25 °C y pH aproximadamente 7, por ejemplo, 7.4, por ejemplo, en presencia de amortiguador, sal, tensioactivo y una proteína no específica (por ejemplo, albúmina de suero bovino).

Típicamente, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención que se modifica de alguna manera retiene la capacidad de unirse específicamente a la CoV-S, por ejemplo, retiene al menos 10 % de su actividad de unión a la CoV-S (cuando se compara con el anticuerpo original) cuando esa actividad se expresa sobre una base molar. Preferentemente, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención retiene al menos 20 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o

100 % o más de la afinidad de unión a la CoV-S como el anticuerpo original. También se pretende que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención pueda incluir sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras (denominadas “variantes conservadoras” o “variantes conservadas para la función” del anticuerpo) que no alteran sustancialmente su actividad biológica.

Una “variante” de un polipéptido, tal como una cadena de inmunoglobulinas (por ejemplo, mAb8021 V_H, V_L, HC o LC, mAb8028 V_H, V_L, HC o LC, o mAb8029 V_H, V_L, HC o LC), se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente 70-99.9 % (por ejemplo, 70, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 %) idéntica o similar a una secuencia de aminoácidos referenciada que se establece en la presente descripción (por ejemplo, SEQ ID NO: 2, 10, 18, 20, 22, 30, 38, 40, 42, 50, 58 o 60); cuando la comparación se realiza mediante un algoritmo BLAST en donde los parámetros del algoritmo se seleccionan para proporcionar la coincidencia más grande entre las secuencias respectivas a lo largo de toda la longitud de las secuencias de referencia respectivas (por ejemplo, umbral esperado: 10; tamaño de palabra: 3; máximo de coincidencias en un intervalo de consulta: 0; matriz BLOSUM 62; costos de brechas: existencia 11, extensión 1; ajuste condicional de la matriz de puntuación de composición).

Una “variante” de un polinucleótido se refiere a un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos aproximadamente 70-99.9 % (por ejemplo, al menos aproximadamente 70, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5 o 99.9 %) idéntica a una secuencia de nucleótidos referenciada que se establece en la presente descripción (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, 9, 17, 19, 21, 29, 37, 39, 41, 49, 57 o 59); cuando la comparación se realiza mediante un algoritmo BLAST en donde los parámetros del algoritmo se seleccionan para dar la coincidencia más grande entre las secuencias respectivas a lo largo de toda la longitud de las secuencias de referencia respectivas (por ejemplo, umbral esperado: 10; tamaño de palabra: 28; máximo de coincidencias en un intervalo de consulta: 0; puntajes de coincidencia/falta de coincidencia: 1, -2; costos de brechas: lineales).

Las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos de la presente invención, en una modalidad de la invención, incluyen una región variable de inmunoglobulina de cadena pesada que tiene al menos 70 % (por ejemplo, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o mayor) de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la HCVR establecida en la Tabla 4; y/o una

región variable de inmunoglobulina de cadena ligera que tiene al menos 70 % (por ejemplo, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o mayor) de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la LCVR establecida en la Tabla 4.

Además, una variante de proteína de unión al antígeno anti-CoV-S puede incluir un polipéptido

5 que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la presente descripción excepto por una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10) mutaciones tales como, por ejemplo, mutaciones con cambio de sentido (por ejemplo, sustituciones conservadoras), mutaciones sin sentido, deleciones o inserciones. Por ejemplo, la presente invención incluye proteínas de unión al antígeno que incluyen una variante de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de la LCVR establecida en la Tabla 4 pero que tiene una o más de tales mutaciones y/o una variante de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la HCVR establecida en la Tabla 4 pero que tiene una o más de tales mutaciones. En una modalidad de la invención, una variante de proteína de unión al antígeno anti-CoV-S incluye una variante de cadena ligera de inmunoglobulina que comprende LCDR1, LCDR2 y
15 LCDR3 en donde una o más (por ejemplo, 1 o 2 o 3) de tales CDR tienen una o más de tales mutaciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras) y/o una variante de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 en donde una o más (por ejemplo, 1 o 2 o 3) de tales CDR tienen una o más de tales mutaciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras). Las sustituciones pueden estar en una CDR, región marco o región constante.

20 La invención proporciona además una variante de proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estas, que comprenden una o más variantes de CDR (por ejemplo, una o más de LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3) que se establecen en la presente descripción con al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 99.9 % de identidad de secuencia
25 o similitud con, por ejemplo, las CDR de cadena pesada y cadena ligera de la Tabla 4.

Las modalidades de la presente invención también incluyen una variante de proteínas de unión al antígeno, por ejemplo, anticuerpos anti-CoV-S y fragmentos de unión al antígeno de estos, que comprenden las V_H y V_L de inmunoglobulina; o las HC y LC, que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene 70 % o más (por ejemplo, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %,
30 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o mayor) de identidad de secuencia de aminoácidos general o similitud con las secuencias de aminoácidos de las V_H, V_L, HC o LC correspondientes específicamente establecidas en la presente descripción, pero en donde la LCDR1, LCDR2,

LCDR3, HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de tales inmunoglobulinas no son variantes y comprenden la secuencia de aminoácidos de la CDR establecida en la Tabla 4. Por lo tanto, en tales modalidades, las CDR dentro de la variante de proteínas de unión al antígeno no son, en sí mismas, variantes.

Las variantes modificadas conservadoramente de los anticuerpos anti-CoV-S y los fragmentos de unión al antígeno de estos también son parte de la presente invención. Una “variante modificada conservadoramente” o una “sustitución conservadora” se refiere a una variante en donde hay una o más sustituciones de aminoácidos en un polipéptido con otros aminoácidos que tienen características similares (por ejemplo, carga, tamaño de la cadena lateral, hidrofobia/hidrofilia, conformación y rigidez de la cadena principal, etc.). Tales cambios pueden realizarse frecuentemente sin interrumpir significativamente la actividad biológica del anticuerpo o fragmento. Los expertos en la técnica reconocen que, en general, las sustituciones simples de aminoácidos en regiones no esenciales de un polipéptido no alteran sustancialmente la actividad biológica (ver, por ejemplo, Watson y otros (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., pág. 224 (4^a ed.)). Además, las sustituciones de aminoácidos estructurales o funcionalmente similares son menos propensas a alterar significativamente la actividad biológica.

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 sustituciones conservadoras 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 ál.* (1992) *Science* 256: 1443-45.

Las variantes conservadoras de la función de los anticuerpos anti-CoV-S y los fragmentos de unión al antígeno de estos también son parte de la presente invención. Cualquiera de las variantes de los anticuerpos anti-CoV-S y fragmentos de unión al antígeno de estos (como se describe en la presente descripción) puede ser “variantes conservadoras de la función”. Tales variantes conservadoras de la función también pueden caracterizarse, en algunos casos, como variantes

modificadas de manera conservadora. “Variantes conservadoras de la función,” como se usa en la presente descripción, se refiere a variantes de los anticuerpos anti-CoV-S o fragmentos de unión al antígeno de estos en los que uno o más residuos de aminoácidos se han cambiado sin alterar significativamente una o más propiedades funcionales del anticuerpo o fragmento. En una

5 modalidad de la invención, una variante conservadora de la función de un anticuerpo anti-CoV-S o fragmento de unión al antígeno de este de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos variante y exhibe una o más de las siguientes propiedades funcionales:

• Inhibe el crecimiento del coronavirus (por ejemplo, SARS-CoV-2, SARS-CoV y/o MERS-CoV) en células que expresan la ACE2 y/o la TMPRSS2 (por ejemplo, células Calu-3);

10 • No se une significativamente a las células MDCK/Tet-on que no expresan la ACE2 y/o la TMPRSS2;

• Limita la propagación de la infección por coronavirus (por ejemplo, por SARS-CoV-2, SARS-CoV y/o MERS-CoV) de células, por ejemplo, Calu-3, *in vitro*; y/o

15 • Protege a un ratón modificado genéticamente para expresar la proteína TMPRSS2 y/o ACE2 humana de la muerte causada por la infección por coronavirus (por ejemplo, SARS-CoV-2, SARS-CoV, o MERS-CoV), por ejemplo, en donde los ratones se infectan con una dosis del virus que de cualquier otra manera sería letal, opcionalmente cuando se combinan con un segundo agente terapéutico.

• Protege a un ratón modificado genéticamente para expresar la proteína TMPRSS2 y/o ACE2

20 humana de la pérdida de peso causada por la infección por coronavirus (por ejemplo, SARS-CoV-2, SARS-CoV, o MERS-CoV), por ejemplo, en donde los ratones se infectan con una dosis del virus que de cualquier otra manera causaría una pérdida de peso, opcionalmente cuando se combinan con un segundo agente terapéutico.

Una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S “neutralizante” o “antagonista”, por ejemplo,

25 anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, se refiere a una molécula que inhibe una actividad del CoV-S en cualquier grado detectable, por ejemplo, inhibe la capacidad del CoV-S de unirse a un receptor tal como la ACE2, escindir por una proteasa tal como la TMPRSS2 o mediar la entrada viral en una célula hospedera o la reproducción viral en una célula hospedera.

La Tabla 4 se refiere a proteínas de unión al antígeno, tales como anticuerpos y fragmentos de

30 unión al antígeno de estos, que comprenden la cadena pesada o V_H (o una variante de esta) y cadena ligera o V_L (o una variante de esta) como se establece más abajo; o que comprenden una V_H que comprende las CDR de estas (HCDR1 (o una variante de esta), HCDR2 (o una variante de

esta) y HCDR3 (o una variante de esta)) y una V_L que comprende las CDR de esta (LCDR1 (o una variante de esta), LCDR2 (o una variante de esta) y LCDR3 (o una variante de esta)), por ejemplo, en donde las cadenas de inmunoglobulina, regiones variables y/o CDR comprenden las secuencias de aminoácidos específicas descritas más abajo.

- 5 Los anticuerpos descritos en la presente descripción también incluyen modalidades en donde el V_H se fusiona a una IgG4 de tipo silvestre (por ejemplo, en donde el residuo 108 es S) o a variantes de IgG4 (por ejemplo, en donde el residuo 108 es P).

Los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de la presente invención comprenden cadenas de inmunoglobulina que incluyen las secuencias de aminoácidos establecidas en la presente descripción, así como también modificaciones celulares e *in vitro* postraduccionales al anticuerpo. Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos que se unen específicamente al CoV-S que comprenden secuencias de aminoácidos de cadena pesada y/o ligera que establecidos en la presente descripción (por ejemplo, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3) así como también anticuerpos y fragmentos en donde uno o más residuos de aminoácidos están glucosilados, uno o más residuos de Asn se desamidán, uno o más residuos (por ejemplo, Met, Trp y/o His) se oxida, el Gln N-terminal es piroglutamato (piroE) y/o falta la lisina C-terminal. Las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de los anticuerpos anti-proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-S) ilustrativos se muestran en la Tabla de Secuencias Ilustrativas (Tabla 1), más abajo.

20 Tabla 1: Tabla de Secuencias Ilustrativas

Designación de anticuerpo	Parte del componente	Secuencia	SEQ ID NO
mAb14256	Aminoácidos		
	HCVR	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSHY WSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSSNYPNPSLKSR VTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARHY DILTGFDFWDFPWGQGT LVT VSS	887
	HCDR1	GGSISSHY	889
	HCDR2	IYYSGSS	891
	HCDR3	ARHYDILTGFDFWDFP	893
	LCVR	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGTHY DVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSF DNSLTA PYVFGTGT KVT VL	895
	LCDR1	SSNIGTHYD	897
	LCDR2	GNS	164
	LCDR3	QSF DNSLTA PYV	899

5	HC	QVQLQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGGSISSHY WSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSSNYPNPSLKSR VTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARHY DILTGFDWFDWPGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTA KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	901
10	LC	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGTHY DVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSFDSLTA PYVFGTGTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTPPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	903
15	Ácidos nucleicos		
20	HCVR	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactg gtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgc actgtctctggtggctccatcagtagtcactac tgagctggatccggcagccccagggaaggga ctggaatggattgggtatatatttattacagcggg agctccaactacaacccctccctcaagagtcga gtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccag ttctccctgaaactgaattctgtgaccgccgca gacacggccgtgtattactgtgagacattac gatattttgactggttttgactggttcgacccc tggggccagggaaccctgggcaccgtctcctca	886
25	HCDR1	ggtggctccatcagtagtcactac	888
25	HCDR2	atttattacagcgggagctcc	890
25	HCDR3	gcgagacattacgatattttgactggttttgac tggttcgacccc	892
30	LCVR	cagtctgtgctgacgcagccgccctcagtggtca ggggcccagggcagagggtcaccatctcctgc actgggagcagttccaacatcgggacacattat gatgtacactggtaccaacaacttccagggaaca gccccaaactcctcatctatggtaacagcaat cgccctcaggggtccctgaccgattctctggc tccaagtctggcacctcagcctccctggccatc actgggctccaggctgaggatgaggctgattat tactgccagtcctttgacaacagcctgactgcc ccttatgtcttcggaactgggaccaagggtcacc gtccta	894

5	LCDR1	agttccaacatcgggacacattatgat	896
	LCDR2	ggtaacagc	163
	LCDR3	cagtcctttgacaacagcctgactgccccttat gtc	898
	HC	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactg gtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgc actgtctctgggtggctccatcagtagtcactac tggagctggatccggcagccccagggaaggga ctggaatggattgggtatatatttattacagcggg agctccaactacaaccctccctcaagagtcga gtcaccatatcagtagacacgtccaagaaccag ttctccctgaaactgaattctgtgaccgcccga gacacggccgtgtattactgtgcgagacattac gatatTTTgactggTTTTgactggTTCgacccc tggggccagggaaccctggTcaccgtctcctca gcctccaccaaggggcccatcggTcttccccctg gcaccctcctccaagagcacctctgggggcaca gcgccctgggctgcctggTcaaggactacttc cccgaaccggTgacggTgtcgtggaactcaggc gccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggct gtcctacagtcctcaggactctactccctcagc agcgtggTgaccgtgcctccagcagcttgggc accagacctacatctgcaacgtgaatcacaag cccagcaacaccaaggTggacaagaaagtTgag cccaaattctTgtgacaaaactcacacatgccca ccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccg tcagtcttccctcttccccccaaaacccaaggac accctcatgatctcccggacccctgaggTcaca tgcgTggTggTggacgtgagccacgaagaccct gaggTcaagTtcaactggTacgtggacggcgtg gaggTgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcacgtaccgtgtggTcagc gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaggTctccaacaaa gccctcccagcccccatcgagaaaaccatc tccaaagccaaagggcagccccgagaaccacag gtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctg accaagaaccaggTcagcctgacctgctggTc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag tgggagagcaatgggcagccggagaacaactac aagaccacgcctcccgtgctggactccgacggc tccttcttccctctacagcaagctcaccgtggac aagagcaggTggcagcaggggaacgtcttctca tgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccac tacacgcagaagtccctctccctgtctccgggt aatga	900
	LC	cagtctgtgctgacgcagccgcctcagtgtca ggggcccagggcagagggtcaccatctcctgc	902

		actgggagcagttccaacatcgggacacattat gatgtacactggtaccaacaacttccaggaaca gccccaaactcctcatctatggtaacagcaat cggccctcaggggtccctgaccgattctctggc tccaagtctggcacctcagcctccctggccatc actgggctccaggctgaggatgaggctgattat tactgccagtcctttgacaacagcctgactgcc ccttatgtcttcggaactgggaccaaggtcacc gtcctagggccagcccaaggccgccccctccgtg accctgttccccccctcctccgaggagctgcag gccaacaaggccaccctgggtgtgctgatctcc gacttctaccccggcgcctgaccgtggcctgg aaggccgactcctcccccggtgaaggccggcgtg gagaccaccacccctccaagcagtccaacaac aagtacgccgcctcctcctacctgtccctgacc cccgagcagtggagtcccaccggctcctactcc tgccaggtgaccacgagggctccaccgtggag aagaccgtggccccccaccgagtgtcctga	
mAb14315	Aminoácidos		
	HCVR	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSTYA INWVRQAPGQGLEWMGRFIHIFGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELRSLRSED TAVYYCARD GVDYGDYRPDYWGQGTLVTVSS	212
	HCDR1	GDTFSTYA	214
	HCDR2	FIHIFGTA	216
	HCDR3	ARDGVDYGDYRPDY	218
	LCVR	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSLYTF GQGTKLEIK	220
	LCDR1	QSVSSNY	222
	LCDR2	GAS	126
	LCDR3	QQYGSSLYT	224
	HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSTYA INWVRQAPGQGLEWMGRFIHIFGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELRSLRSED TAVYYCARD GVDYGDYRPDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	226

5

10

15

20

25

30

LC	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSNY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPERFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSLYTF GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC	228
Ácidos nucleicos		
HCVR	caggtgcagctggtgcagtcctggggctgaggtg aagaagcctgggtcctcggtgaaggtctcctgc aaggcttctggagacaccttcagcacctatgct atcaactgggtgacagagccctggacaaggg cttgagtggatgggaagattcatccatatcttt ggtacagcaaactacgcacagaagttccagggc agagtcaccattaccgcggaacgaatccacgagc acagcctacatggagctgagcagcctgagatct gaggacacggccggtttattactgagcagagagac ggagtagactacgggtgactaccgacctgactac tggggccaggggaaccctgggtcaccgtctcctca	211
HCDR1	ggagacaccttcagcacctatgct	213
HCDR2	ttcatccatatctttggtacagca	215
HCDR3	gagagagacggagtagactacgggtgactaccga cctgactac	217
LCVR	gaaattgtgttgacgcagtcctccaggcaccctg tctttgtctccaggggaaagagccaccctctcc tgagggccagtcagagtgtagtagcaactac ttagcctggtagcagcagaaacctggccaggct cccagactcctcatctatgggtgcatccagcagg gccactggcatcccagagaggttcagtggcagt gggtctgggacagacttcactctcaccatcagc agactggagcctgaagattttgcagtatattac tgtcagcagtaggttagctcgctgtacactttt ggccaggggaccaagctggagatcaaa	219
LCDR1	cagagtgtagtagcaactac	221
LCDR2	ggtgcatcc	125
LCDR3	cagcagtaggttagctcgctgtacact	223
HC	caggtgcagctggtgcagtcctggggctgaggtg aagaagcctgggtcctcggtgaaggtctcctgc aaggcttctggagacaccttcagcacctatgct atcaactgggtgacagagccctggacaaggg cttgagtggatgggaagattcatccatatcttt ggtacagcaaactacgcacagaagttccagggc agagtcaccattaccgcggaacgaatccacgagc acagcctacatggagctgagcagcctgagatct gaggacacggccggtttattactgagcagagagac ggagtagactacgggtgactaccgacctgactac tggggccaggggaaccctgggtcaccgtctcctca	225

5		gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctg gcacctcctccaagagcacctctgggggcaca gcggccctgggctgcctggtcaaggactacttc cccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggc gccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggct gtcctacagtcctcaggactctactccctcagc agcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggc accagacctacatctgcaacgtgaatcacaag cccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgag ccaaatcttgtgacaaaactcacacatgccca ccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccg tcagtcttctcttccccccaaaacccaaggac accctcatgatctcccggacctctgaggtcaca tgctgtggtggtggacgtgagccacgaagacct gaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtg gaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagc gtcctcacctcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaa gccctcccagcccccatcgagaaaaccatc tccaaagccaaagggcagccccgagaaccacag gtgtacacctgcccccatcccgggatgagctg accaagaaccagggtcagcctgacctgctggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag tgggagagcaatgggcagccggagaacaactac aagaccacgcctcccgtgctggactccgacggc tccttcttctctacagcaagctcacctggac aagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctca tgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccac tacacgcagaagtcctctccctgtctccgggt aatga	
10			
15			
20			
25	LC	gaaattgtgttgacgcagtctccaggcaccctg tctttgtctccaggggaaagagccacctctcc tgcagggccagtcagagtgttagtagcaactac ttagcctggtaccagcagaaacctggccaggct cccagactcctcatctatggtgcatccagcagg gccactggcatcccagagaggttcagtggcagt gggtctgggacagacttcactctcaccatcagc agactggagcctgaagatthttgcagtataattac tgtcagcagtatggtagctcgctgtacacttht ggccaggggaccaagctggagatcaaacgaact gtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcc tctgatgagcagttgaaatctggaactgcctct gttgtgtgcctgctgaataacttctatcccaga gaggccaaagtacagtgggaaggtggataacgcc ctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcaca gagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc agcagcaccctgacgctgagcaaagcagactac	227
30			

		gagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacc catcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagc ttcaacaggggagagtgtag	
5	Aminoácidos		
	HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFEVNSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVLWYEGSKNYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGS GSFFGYLDYWGQGTLVTVSS	270
	HCDR1	GFVFN SYG	272
	HCDR2	LWYEGSKN	274
	HCDR3	ARHGSGSFFGYLDY	276
	LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASHNINDFLNWYQQKPKGKAPRLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQESYTPPTFGQGTKLEIK	278
	LCDR1	HNINDF	280
	LCDR2	AAS	106
	LCDR3	QESYTPPT	282
	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFEVNSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVLWYEGSKNYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGS GSFFGYLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	284
10	mAb15151		
	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASHNINDFLNWYQQKPKGKAPRLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQESYTPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	286
	Ácidos nucleicos		
	HCVR	caggtgcagctggtggagtctgggggagggcgtgtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggtttcgtcttcaatagctatggc atgcaactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagttctatggtatgaagga agtaaaaattactatgcagactccgtgaagggc cgattcaccatctccagagacaattccaagaac	269
15			
20			
25			
30			

5		acactgtatctgcaaataaacagcctgagagcc gaggacacggctgtgtattactgtgagggcat ggttcagggagtttttttgggtactacttggac tactggggccagggaaccctgggtcacctctcc tca	
	HCDR1	ggtttcgtcttcaatagctatggc	271
	HCDR2	ctatggatgaaggaagtaaaaat	273
	HCDR3	gcgaggcatggttcagggagtttttttgggtac tacttggactac	275
	LCVR	gacatccagatgaccagtcctccatcctcctg tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact tgccgggcaagtcacaacattaatgacttttta aattggatcagcagaaaccagggaagcccct aggctcctgatctatgctgcatccagtttgcaa agtgggggtcccatcaagggttcagtggcagtgga tctgggacagatttctactctcaccatcagcagt ctacaacctgaagattttgcaacttactactgt caagagagttacactacccctccgacttttggc caggggaccaagctggagatcaaa	277
15	LCDR1	cacaacattaatgacttt	279
	LCDR2	gctgcatcc	105
	LCDR3	caagagagttacactacccctccgact	281
	HC	caggtgcagctgggtggagtctgggggagggcgtg gtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt gcagcgtctggtttcgtcttcaatagctatggc atgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg ctggagtgggtggcagttctatggatgaagga agtaaaaattactatgcagactccgtgaagggc cgattcaccatctccagagacaattccaagaac acactgtatctgcaaataaacagcctgagagcc gaggacacggctgtgtattactgtgagggcat ggttcagggagtttttttgggtactacttggac tactggggccagggaaccctgggtcacctctcc tcagcctccaccaaggggcccatcgggtcttcccc ctggcaccctcctccaagagcacctctgggggc acagcggccctgggctgcctgggtcaaggactac ttccccgaaccgggtgacgggtgctggaactca ggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtccctcaggactctactccctc agcagcgtgggtgacgtgcctccagcagcttg ggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcac aagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagt gagcccaaattcttgtagacaaaactcacacatgc ccacgtgcccagcacctgaactcctgggggga ccgtcagtccttcttccccccaaaacccaag gacaccctcatgatctcccggaccctgaggtc acatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagac cctgaggtcaagttcaactgggtacgtggacggc	283

		gtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgg gaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtc agcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaac aaagccctcccagcccccatcgagaaaacc atctccaaagccaaagggcagccccgagaacca caggtgtacaccctgcccccatcccgggatgag ctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg gtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtg gagtgggagagcaatgggcagccggagaacaac tacaagaccacgcctcccgtgctggactccgac ggctccttcttctctacagcaagctcacctg gacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaac cactacacgcagaagtcctctccctgtctccg ggtaaata	
	LC	gacatccagatgacccagtctccatcctccctg tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact tgccgggcaagtcacaacattaatgacttttta aattggtatcagcagaaaccagggaaagcccct aggctcctgatctatgctgcatccagtttgcaa agtgggggtcccatcaagggttcagtggcagtgga tctgggacagatttcactctcaccatcagcagt ctacaacctgaagattttgcaacttactactgt caagagagttacactacccctccgacttttggc caggggaccaagctggagatcaaacgaactgtg gctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatct gatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtt gtgtgcctgctgaataacttctatcccagagag gccaaagtacagtgggaaggtggataacgccctc caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagc agcaccctgacgctgagcaaagcagactacgag aaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccat cagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc aacaggggagagtgtag	285
mAb14284	Aminoácidos		
	HCVR	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSFSTSG VGVGWIRQPPGKTLEWLALIYWDDDKRYSPSLK SRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYFCAH HGIPTIFGYWGQ GALVTVSS	493
	HCDR1	GFSFSTSGVG	495
	HCDR2	IYWDDDK	497
	HCDR3	AHHGIPTIFGY	499
	LCVR	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGVFN YVSWYQQHPGKAPKLMIYEVTNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTSSTV FGGGTKLTVL	501

5

10

15

20

25

30

LCDR1	SSDLGVFNY	503
LCDR2	EVT	505
LCDR3	SSYTTSSTV	507
HC	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSFSTSG VGVGWIRQPPGKTLEWLALIYWDDDKRYSPSLK SRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYFCAH HGIPTIFGYWQGALVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPCPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	509
LC	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGVFN YVSWYQQHPGKAPKLMIEVTNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTSSTV FGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANK ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQV THEGSTVEKTVAPTECS	511
Ácidos nucleicos		
HCVR	cagatcaccttgaaggagtctggtcctacgctg gtgaaaccacacagaccctcacgctgacctgc accttctctgggttctcatttagcacttctgga gtgggtgtgggctggatccgtcagccccagga aagaccctggagtggccttgcaactcatttattgg gatgatgataagcgctacagcccatctctgaag agcaggctcaccattaccaaggacacctccaaa aaccagggtggtccttacaatgaccaacatggac cctgtggacactgccacatatttctgtgcacac catggaatacctacgatctttggctactggggc cagggagccctgggtcaccgtctcctca	492
HCDR1	gggttctcatttagcacttctggagtgggt	494
HCDR2	atttattgggatgatgataag	496
HCDR3	gcacaccatggaatacctacgatctttggctac	498
LCVR	cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtct gggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgc actggaaccagcagtgaccttgggtgttttaac tatgtctcctggtaccaacagcaccagggcaaa gccccaaactcatgatttatgaggctactaat cggccctcaggggtttctaatacgcttctctggc tccaagtctggcaacacggcctccctgaccatc tctgggctccaggctgaggacgaggctgattat	500

5		tattgcagctcatatacaaccagcagcactggt ttcggcgaggaggaccaagctgaccgtccta	
	LCDR1	agcagtgaaccttggtgtttttaactat	502
	LCDR2	gaggtcact	504
	LCDR3	agctcatatacaaccagcagcactggt	506
	HC	cagatcaccttgaaggagtctggtcctacgctg gtgaaacccacacagaccctcacgctgacctgc accttctctgggttctcatttagcacttctgga gtgggtgtgggctggatccgtcagccccagga aagaccctggagtggcttgcaactcatttattgg gatgatgataagcgctacagcccattctgaag agcaggctcaccattaccaaggacacctccaaa aaccagggtggctccttacaatgaccaacatggac cctgtggacactgccacatatcttctgtgcacac catggaatacctacgatctttggctactggggc cagggagccctggtcaccgtctcctcagcctcc accaagggcccatcggtcttccccctggcaccc tctccaagagcacctctgggggacacagcggcc ctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaa ccggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgccttg accagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtg gtgaccgtgccctccagcagcttgggacccag acctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaa tcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgc ccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtc ttcctcttccccccaaaaccaaggacacctc atgatctcccggaccttgaggtcacatgcgtg gtgggtggacgtgagccacgaagacctgaggtc aagttcaactggtacgtggacggcgtggagggtg cataatgccaaagacaaagccgcgaggagcag tacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctc accgtcctgcaccaggactggctgaatggcaag gagtacaagtgcaagggtctccaacaaagccctc ccagcccccatcgagaaaaccatctccaaa gccaaagggcagccccgagaaccacagggtgtac acctgcccccatcccgggatgagctgaccaag aaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggc ttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggag agcaatgggcagccggagaaactacaagacc acgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaagctcacctgggacaagagc aggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcc gtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg cagaagtcctctccctgtctccgggtaaatga	508
	LC	cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtct gggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgc	510
10			
15			
20			
25			
30			

5		actggaaccagcagtgaccttgggtgtttttaac tatgtctcctggtaccaacagcaccaggcaaa gccccaaactcatgatttatgaggctactaat cgccctcaggggtttctaatacgcttctctggc tccaagtctggcaacacggcctccctgaccatc tctgggctccaggctgaggacgaggctgattat tattgcagctcatatacaaccagcagcactggt ttcggcggagggaaccaagctgaccgtcctaggc cagcccaaggccgccccctccgtgacctgttc ccccctcctccgaggagctgcaggccaacaag gccaccctgggtgtgctgatctccgacttctac cccggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgac tctcccccggtgaaggccggcgtggagaccacc acccccccaagcagtcacaacaagaacgaccc gcctcctcctacctgtcctgacccccgagcag tggaagtcccaccggctcctactcctgccagggtg accacgagggctccaccgtggagaagaccgtg gccccaccgagtgctcctga	
10			
15		Aminoácidos	
	HCVR	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSRYA MYWVRQAPGKGLYVSAISSDGGSTYDADSVKG RFTISRANSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVKG LRELLYYYYGMDVWGQGTITVTVSS	362
	HCDR1	GFTFSRYA	364
	HCDR2	ISSDGGST	366
	HCDR3	VKGLRELLYYYYGMDV	368
20	LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGQSISFL NWKYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYITPFTFG PGTKVDIK	370
	LCDR1	QSISF	372
	LCDR2	AAS	106
	LCDR3	QQSYITPFT	374
25	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSRYA MYWVRQAPGKGLYVSAISSDGGSTYDADSVKG RFTISRANSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVKG LRELLYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	376
30	mAb15160		

5

10

15

20

25

30

LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGQSISSEFL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYITPFTFG PGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	378
Ácidos nucleicos		
HCVR	gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttg gtccagcctgggggggtccctgagactctcctgt tcagcctctggattcaccttcagtaggtacgct atgtactgggtccgccaggctccagggaaggga ctggaatatgtttcagctattagtagtgatggg ggtagcacatacgacgcagactccgtgaagggc agattcaccatctccagagccaattccaagaac acgctgtaccttcaaagtagcagctctgagagct gaggacacggctgtgtattattgtgtgaaaggt ctgcgggagttactctactactattacggaatg gacgtctggggccaagggactacgggtcacgctc tcctca	361
HCDR1	ggattcaccttcagtaggtacgct	363
HCDR2	attagtagtgatgggggtagcaca	365
HCDR3	gtgaaaggtctgcgggagttactctactactat tacggaatggacgtc	367
LCVR	gacatccagatgacccagtctccatcctccctg tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact tgccgggcagggtcagagcattagcagcttttta aattggtatcagcagaagccagggaagccct aagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaa agtgggggtcccatcaagggttcagtggcagtgga tctgggacagatttcactctcaccatcagcagt ctccaacctgaagattttgcaacttactactgt caacagagttacattaccccccttactttcggc cctgggaccaagggtggatatcaaa	369
LCDR1	cagagcattagcagcttt	371
LCDR2	gctgcatcc	105
LCDR3	caacagagttacattaccccccttact	373
HC	gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttg gtccagcctgggggggtccctgagactctcctgt tcagcctctggattcaccttcagtaggtacgct atgtactgggtccgccaggctccagggaaggga ctggaatatgtttcagctattagtagtgatggg ggtagcacatacgacgcagactccgtgaagggc agattcaccatctccagagccaattccaagaac acgctgtaccttcaaagtagcagctctgagagct gaggacacggctgtgtattattgtgtgaaaggt ctgcgggagttactctactactattacggaatg	375

5		gacgtctggggccaagggactacgggtcaccgtc tcctcagcctccaccaagggcccatcggtcttc cccctggcaccctcctccaagagcacctctggg ggcacagcggccctgggctgcctgggtcaaggac tacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaac tcaggcgccctgaccagcggcggtgcacaccttc ccggctgtcctacagtcctcaggactctactcc ctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagc ttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaat cacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaa gttgagcccaaattcttgtagaaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcacctgaactcctgggg ggaccgtcagtccttcctcttccccccaaaacc aaggacaccctcatgatctcccggaccctgag gtcacatgcgtggtggaggacgtgagccacgaa gacctgaggtcaagttcaactggtacgtggac ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccg cgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtg gtcagcgtcctcacgcctcctgcaccaggactgg ctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc aacaagccctcccagcccccatcgagaaa accatctccaaagccaaagggcagccccgagaa ccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggat gagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgcc gtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaac aactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggctccttcttccctctacagcaagctcacc gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgctc ttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcac aaccactacacgcagaagtcctctccctgtct ccgggtaaatga	
10			
15			
20			
25	LC	gacatccagatgaccagtcctccatcctccctg tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact tgccgggcaggtcagagcattagcagcttttta aattggtatcagcagaagccagggaaagcccct aagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaa agtgggggtcccatcaagggttcagtggcagtgga tctgggacagatttcactctcaccatcagcagt ctccaacctgaagattttgcaacttactactgt caacagagttacattaccccccttactttcggc cctgggaccaaggtggatatcaaacgaactgtg gctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatct gatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtt gtgtgcctgctgaataacttctatcccagagag gccaaagtacagtgggaaggtggataacgccttc caatcgggtaactcccaggagagtggtcacagag caggacagcaaggacagcacctacagcctcagc	377
30			

		agcaccctgacgctgagcaaagcagactacgag aacacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccat cagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc aacaggggagagtggttag	
--	--	--	--

5 Administración de anticuerpos

La presente invención proporciona métodos para administrar una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la presente invención, por ejemplo, las de la Tabla 4, que comprenden introducir la proteína de unión al antígeno en el cuerpo de un sujeto (por ejemplo, un humano). Por ejemplo, el método comprende perforar el cuerpo del sujeto con una aguja de una jeringa e inyectar la proteína de unión al antígeno en el cuerpo del sujeto, por ejemplo, en la vena, arteria, tumor, tejido muscular o subcutis del sujeto.

La presente invención proporciona un recipiente (por ejemplo, un vial de plástico o vidrio, por ejemplo, con una tapa o una columna de cromatografía, una aguja de orificio hueco o un cilindro de jeringa) que comprende una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la presente invención, por ejemplo, las de la Tabla 4.

La presente invención también proporciona un dispositivo de inyección que comprende una o más proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno) que se unen específicamente al CoV-S, por ejemplo, las de la Tabla 4, o una composición farmacéutica de estas. El dispositivo de inyección puede empaquetarse en un kit. Un dispositivo de inyección es un dispositivo que introduce una sustancia en el cuerpo de un sujeto por vía parenteral, por ejemplo, intramuscular, subcutánea o intravenosa. Por ejemplo, un dispositivo de inyección puede ser una jeringa (por ejemplo, pre-rellenado con la composición farmacéutica, tal como un autoinyector) que, por ejemplo, incluye un cilindro o barril para contener el líquido que se va a inyectar (por ejemplo, que comprende el anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica de este), una aguja para perforar la piel y/o los vasos sanguíneos para la inyección del líquido; y un émbolo para empujar el fluido fuera del cilindro y a través del orificio de la aguja. En una modalidad de la invención, un dispositivo de inyección que comprende una proteína de unión al antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, a partir de una combinación de la presente invención, o una composición farmacéutica de esta es un dispositivo de inyección intravenosa (IV). Tal dispositivo puede incluir la proteína de unión al antígeno o una composición farmacéutica de esta en una cánula o trocar/aguja que puede acoplarse a un tubo que puede acoplarse a una bolsa o depósito para contener líquido (por ejemplo, solución salina) introducido

en el cuerpo del sujeto a través de la cánula o trocar/aguja. El anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica de este puede, en una modalidad de la invención, introducirse en el dispositivo una vez que el trocar y la cánula se insertan en la vena de un sujeto y el trocar se retira de la cánula insertada. El dispositivo IV puede, por ejemplo, insertarse en una vena periférica (por ejemplo, en la mano o el brazo); en la *vena cava* superior o en la *vena cava* inferior, o dentro de la aurícula derecha del corazón (por ejemplo, una vía IV central); o en una vena subclavia, yugular interna o una vena femoral y, por ejemplo, avanzar hacia el corazón hasta que llegue a la vena cava superior o aurícula derecha (por ejemplo, una línea venosa central). En una modalidad de la invención, un dispositivo de inyección es un autoinyector; un inyector de chorro o una bomba de infusión externa. Un inyector de chorro usa un chorro de líquido estrecho de alta presión que penetra en la epidermis para introducir el anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica de este en el cuerpo de un sujeto. Las bombas de infusión externas son dispositivos médicos que suministran el anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica de este en el cuerpo de un sujeto en cantidades controladas. Las bombas de infusión externas pueden encenderse eléctrica o mecánicamente. Las diferentes bombas funcionan de diferentes maneras, por ejemplo, una bomba de jeringa contiene líquido en el depósito de una jeringa, y un pistón móvil controla el suministro de líquido, una bomba elastomérica contiene líquido en un depósito de balón estirable, y la presión de las paredes elásticas del balón impulsa el suministro de líquido. En una bomba peristáltica, un conjunto de rodillos pellizca una longitud de tubo flexible, lo que empuja el líquido hacia adelante. En una bomba multicanal, los fluidos pueden suministrarse desde múltiples depósitos a múltiples velocidades.

Preparación de anticuerpos humanos

Los métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos se conocen en la técnica. Cualquiera de estos métodos conocidos puede usarse en el contexto de la presente invención para fabricar anticuerpos humanos que se unen específicamente al CoV-S. Un inmunógeno que comprende cualquiera de los siguientes puede usarse para generar anticuerpos contra el CoV-S. En determinadas modalidades de la invención, los anticuerpos de la invención se obtienen de ratones inmunizados con un CoV-S nativo de longitud completa, o con un virus vivo atenuado o inactivado, o con ADN que codifica la proteína o fragmento de esta. Alternativamente, la proteína CoV-S o un fragmento de esta puede producirse mediante el uso de técnicas bioquímicas estándar y modificarse y usarse como inmunógeno. En una modalidad de la invención, el inmunógeno es una proteína CoV-S producida recombinantemente o un fragmento de esta. En determinadas

modalidades de la invención, el inmunógeno puede ser una vacuna contra el polipéptido CoV-S. En determinadas modalidades, puede administrarse una o más inyecciones de refuerzo. En determinadas modalidades, el inmunógeno puede ser un polipéptido CoV-S recombinante expresado en *E. coli* o en cualquier otra célula eucariota o de mamífero tales como células de ovario de hámster chino (CHO).

Mediante el uso de la tecnología VELOCIMMUNE® (ver, por ejemplo, el documento US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, pueden aislarse inicialmente anticuerpos quiméricos de gran afinidad contra CoV-S que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. La tecnología VELOCIMMUNE® implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de cadena pesada y ligera humana enlazadas operativamente a loci endógenos de región constante de ratón de manera que el ratón produce un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a la estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo se aísla y se enlaza operativamente al ADN que codifica las regiones constantes de cadena ligera y pesada humana. El ADN se expresa después en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano.

Generalmente, un ratón VELOCIMMUNE® se expone al antígeno de interés, y las células linfáticas (tales como células B) se recuperan de los ratones que expresan anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea celular de mieloma para preparar líneas celulares de hibridomas inmortales, y tales líneas celulares de hibridomas se tamizan y seleccionan para identificar líneas celulares de hibridomas que producen anticuerpos específicos para el antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y cadena ligera puede aislarse y enlazarse a regiones constantes isotípicas deseables de la cadena pesada y cadena ligera. Tal proteína de anticuerpo puede producirse en una célula, tal como una célula CHO. Alternativamente, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos al antígeno o los dominios variables de las cadenas ligera y pesada pueden aislarse directamente a partir de linfocitos específicos al antígeno.

Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de gran afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Tal como en la sección experimental más abajo, los anticuerpos se caracterizan y seleccionan para determinar características deseables, que incluyen afinidad, selectividad, epítipo, *etc.* Las regiones constantes de ratón se sustituyen con una región

constante humana deseada para generar el anticuerpo completamente humano de la invención, por ejemplo IgG1 o IgG4 de tipo silvestre o modificada. Aunque la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de gran afinidad de unión al antígeno y especificidad de diana residen en la región variable.

5 Anticuerpos contra la proteína de la espícula del coronavirus que comprenden variantes de Fc

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, se proporcionan proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, que comprenden un dominio Fc que comprende una o más mutaciones, que, por ejemplo, mejoran o disminuyen la unión del anticuerpo al receptor FcRn, por ejemplo, a pH ácido en comparación con
10 pH neutro. Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos anti-CoV-S que comprenden una mutación en la región C_H2 o una región C_H3 del dominio Fc, en donde la(s) mutación(ones) aumenta(n) la afinidad del dominio Fc a FcRn en un ambiente ácido (por ejemplo, en un endosoma donde el pH varía de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.0). Tales mutaciones pueden tener como resultado un aumento en la semivida en suero del anticuerpo cuando se administra a un
15 animal. Los ejemplos no limitantes de tales modificaciones de Fc incluyen, por ejemplo, una modificación en la posición 250 (por ejemplo, E o Q); 250 y 428 (por ejemplo, L o F); 252 (por ejemplo, L/Y/F/W o T), 254 (por ejemplo, S o T), y 256 (por ejemplo, S/R/Q/E/D o T); o una modificación en la posición 428 y/o 433 (por ejemplo, H/L/R/S/P/Q o K) y/o 434 (por ejemplo, A, W, H, F o Y [N434A, N434W, N434H, N434F o N434Y]); o una modificación en la posición 250
20 y/o 428; o una modificación en la posición 307 o 308 (por ejemplo, 308F, V308F), y 434. En una modalidad, la modificación comprende una modificación en 428L (por ejemplo, M428L) y 434S (por ejemplo, N434S); una modificación en 428L, 259I (por ejemplo, V259I) y 308F (por ejemplo, V308F); una modificación en 433K (por ejemplo, H433K) y una modificación en 434 (por ejemplo, 434Y); una modificación en 252, 254 y 256 (por ejemplo, 252Y, 254T y 256E); una
25 modificación en 250Q y 428L (por ejemplo, T250Q y M428L); y una modificación en 307 y/o 308 (por ejemplo, 308F o 308P). En incluso otra modalidad, la modificación comprende una modificación en 265A (por ejemplo, D265A) y/o una modificación en 297A (por ejemplo, N297A).

Por ejemplo, la presente invención incluye proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo,
30 anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, que comprenden un dominio Fc que comprende uno o más pares o grupos de mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en: 250Q y 248L (por ejemplo, T250Q y M248L); 252Y, 254T y 256E (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E);

428L y 434S (por ejemplo, M428L y N434S); 257I y 311I (por ejemplo, P257I y Q311I); 257I y 434H (por ejemplo, P257I y N434H); 376V y 434H (por ejemplo, D376V y N434H); 307A, 380A y 434A (por ejemplo, T307A, E380A y N434A); y 433K y 434F (por ejemplo, H433K y N434F). En particular, los anticuerpos designados mAb17090 y mAb15160_2 contienen cada uno modificaciones M252Y, S254T y T256E en la región constante de cadena pesada en comparación con mAb14286 y mAb15160, respectivamente.

Las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos, que comprenden una V_H y/o V_L como se establece en la presente descripción que comprenden cualquier posible combinación de las mutaciones del dominio Fc anteriores, se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

La presente invención también incluye proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, que comprenden una V_H establecida en la presente descripción y una región constante de cadena pesada quimérica (C_H), en donde la región C_H quimérica comprende segmentos derivados de las regiones C_H de más de un isotipo de inmunoglobulina. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención pueden comprender una región C_H quimérica que comprende parte o todo un dominio C_{H2} derivado de una molécula IgG1 humana, IgG2 humana o IgG4 humana, combinada con parte o todo un dominio C_{H3} derivado de una molécula IgG1 humana, IgG2 humana o IgG4 humana. De acuerdo con determinadas modalidades, los anticuerpos de la invención comprenden una región C_H quimérica que tiene una región de bisagra quimérica.

Por ejemplo, una bisagra quimérica puede comprender una secuencia de aminoácidos de "bisagra superior" (residuos de aminoácidos de las posiciones 216 a 227 de acuerdo con la numeración de la UE) derivada de una región de bisagra IgG1 humana, IgG2 humana o IgG4 humana, combinada con una secuencia de "bisagra inferior" (residuos de aminoácidos de las posiciones 228 a 236 de acuerdo con la numeración de la UE) derivada de una región de bisagra de IgG1 humana, IgG2 humana o IgG4 humana. De acuerdo con determinadas modalidades, la región de bisagra quimérica comprende residuos de aminoácidos derivados de una bisagra superior de IgG1 humana o IgG4 humana y residuos de aminoácidos derivados de una bisagra inferior de IgG2 humana. Un anticuerpo que comprende una región C_H quimérica como se describe en la presente descripción puede, en determinadas modalidades, presentar funciones efectoras de Fc modificadas sin afectar negativamente las propiedades terapéuticas o farmacocinéticas del anticuerpo. (Ver, por ejemplo, el documento WO2014/022540).

Inmunoconjugados

La invención abarca unas proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, conjugados a otro resto, por ejemplo, un resto terapéutico (un “inmunoconjugado”), tal como un toxoide o un fármaco antiviral para tratar la infección por virus de influenza. En una modalidad de la invención, un anticuerpo o fragmento anti-CoV-S se conjuga a cualquiera de los agentes terapéuticos adicionales expuestos en la presente descripción. Como se usa en la presente descripción, el término “inmunoconjugado” se refiere a una proteína de unión al antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, que está unido química o biológicamente a un agente radioactivo, una citocina, un interferón, un resto indicador o diana, una enzima, un péptido o proteína o un agente terapéutico. La proteína de unión al antígeno puede estar unida al agente radioactivo, citocina, interferón, resto indicador o diana, enzima, péptido o agente terapéutico en cualquier ubicación a lo largo de la molécula siempre que sea capaz de unirse a su diana (CoV-S). Los ejemplos de inmunoconjugados incluyen conjugados de fármacos de anticuerpos y proteínas de fusión de toxinas de anticuerpos. En una modalidad de la invención, el agente puede ser un segundo anticuerpo diferente que se une específicamente al CoV-S. El tipo de resto terapéutico que puede conjugarse con la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpo o fragmento) tendrá en cuenta la afección que se va a tratar y el efecto terapéutico deseado que se va a lograr. Ver, por ejemplo, Arnon y otros, “Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld y otros (eds.), págs. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom y otros, “Antibodies For Drug Delivery”, *Controlled Drug Delivery* (2ª ed.), Robinson y otros (eds.), págs. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, “Antibody Carriers of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review”, *Monoclonal Antibodies 1984: Biological And Clinical Applications*, Pinchera y otros (eds.), págs. 475-506 (1985); “Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin y otros (eds.), págs. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe y otros, “The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates”, *Immunol. Rev.*, 62: 119-58 (1982).

Anticuerpos multiespecíficos

La presente invención incluye proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos, así como también métodos de uso de estos y métodos para fabricar tales proteínas de unión al antígeno. El término “proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S”, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, incluye moléculas

multiespecíficas (por ejemplo, biespecíficas o biparatópicas) que incluyen al menos un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente al CoV-S (por ejemplo, un dominio de unión al antígeno de un anticuerpo de la Tabla 4) y al menos un dominio de unión a un segundo antígeno de unión a un antígeno diferente. En algunas modalidades, el primer dominio de unión al antígeno y el segundo dominio de unión al antígeno se seleccionan ambos de los dominios de unión al antígeno de la Tabla 4. En una modalidad de la invención, el primer y el segundo epítipo se superponen. En otra modalidad de la invención, el primer y el segundo epítipo no se superponen. Por ejemplo, en una modalidad de la invención, un anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo IgG biespecífico (por ejemplo, IgG1 o IgG4) que incluye un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente al CoV-S que incluye la cadena de inmunoglobulina pesada y ligera de un anticuerpo de la Tabla 4, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a un epítipo diferente de CoV-S. En algunas modalidades, un anticuerpo IgG biespecífico (por ejemplo, IgG1 o IgG4) incluye un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente al CoV-S y un segundo dominio de unión que se une a una proteína de célula hospedera, por ejemplo, la ACE2 o la TMPRSS2.

Los anticuerpos de la Tabla 4 incluyen moléculas multiespecíficas, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, que incluyen las CDR-H y CDR-L, V_H y V_L , o HC y LC de esos anticuerpos, respectivamente (que incluye variantes de estos como se establece en la presente descripción).

En una modalidad de la invención, un dominio de unión al antígeno que se une específicamente al CoV-S, que puede incluirse en una molécula multiespecífica, comprende:

(1)

(i) una secuencia de dominio variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 establecidas en la Tabla 4, y

(ii) una secuencia de dominio variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 establecidas en la Tabla 4;

o,

(2)

(i) una secuencia de dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 4, y

(ii) una secuencia de dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 4;

o,

(3)

(i) una secuencia de inmunoglobulina de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 4, y

5 (ii) una secuencia de inmunoglobulina de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 4.

En una modalidad de la invención, el anticuerpo o fragmento multiespecífico incluye más de dos especificidades de unión diferentes (por ejemplo, una molécula trispecífica), por ejemplo, uno o más dominios de unión al antígeno adicionales que son iguales o diferentes del primer y/o segundo dominio de unión al antígeno.

En una modalidad de la invención, un fragmento biespecífico de unión al antígeno comprende un primer scFv (por ejemplo, que comprende secuencias V_H y V_L de la Tabla 4) que tiene especificidad de unión para un primer epítipo (por ejemplo, CoV-S) y un segundo scFv que tiene especificidad de unión para un segundo epítipo diferente. Por ejemplo, en una modalidad de la invención, el primer y segundo scFv se unen con un enlazador, por ejemplo, un enlazador peptídico (por ejemplo, un enlazador GS tal como $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO: 834) en donde n es, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10). Otros fragmentos de unión al antígeno biespecíficos incluyen un $F(ab)_2$ de un anticuerpo IgG biespecífico que comprende las CDR de cadena pesada y ligera de la Tabla 4 y de otro anticuerpo que se une a un epítipo diferente.

20 Métodos terapéuticos

La presente invención proporciona métodos para tratar o prevenir la infección viral (por ejemplo, infección por coronavirus) mediante la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, (por ejemplo, de la Tabla 4) a un sujeto (por ejemplo, un humano) que necesita tal tratamiento o prevención.

La infección por coronavirus puede tratarse o prevenirse, en un sujeto, mediante la administración de una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la presente invención a un sujeto. Los coronavirus ilustrativos incluyen SARS-CoV-2, que puede incluir además variantes tales como alfa, beta, gamma, delta, y ómicron.

30 Una dosis efectiva o terapéuticamente efectiva de la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, de la Tabla 4), para tratar o prevenir una infección viral se refiere a la cantidad de anticuerpo o fragmento suficiente para

aliviar uno o más signos y/o síntomas de la infección en el sujeto tratado, ya sea mediante la inducción de la regresión o eliminación de tales signos y/o síntomas o mediante la inhibición de la progresión de tales signos y/o síntomas. La cantidad de dosis puede variar en dependencia de la edad y del tamaño de un sujeto al que se le administra, la enfermedad diana, afecciones, vía de administración, y similares. En una modalidad de la invención, una dosis efectiva o terapéuticamente efectiva de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la presente invención, para tratar o prevenir la infección viral, por ejemplo, en un sujeto humano adulto, es de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 200 mg/kg, por ejemplo, hasta aproximadamente 150 mg/kg. En una modalidad de la invención, la dosificación es de hasta aproximadamente 10.8 u 11 gramos (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 gramos). En dependencia de la gravedad de la infección, puede ajustarse la frecuencia y la duración del tratamiento. En determinadas modalidades, la proteína de unión al antígeno de la presente invención puede administrarse a una dosis inicial, seguida de una o más dosis secundarias. En determinadas modalidades, la dosis inicial puede seguirse por la administración de una segunda o una pluralidad de dosis subsecuentes del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este en una cantidad que puede ser aproximadamente la misma o menor que la de la dosis inicial, en donde las dosis subsecuentes se separan en 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.

En algunas modalidades, el mAb10933 y el mAb10987 (casirivimab e imdevimab, respectivamente) pueden administrarse a un sujeto en un método de profilaxis, por ejemplo, profilaxis previa a la exposición, contra COVID-19 sintomática. En algunas modalidades, el sujeto está inmunodeprimido, por ejemplo, tiene una inmunodeficiencia tal como una inmunodeficiencia primaria o secundaria. En algunas modalidades, el sujeto no ha montado una respuesta efectiva a la vacunación contra COVID-19. Los criterios ilustrativos asociados con el compromiso inmunitario incluyen: tratamiento activo o reciente para tumores sólidos y neoplasias hematológicas malignas; recepción de un trasplante de órganos sólidos o de células madre hematopoyéticas reciente; inmunodeficiencia primaria grave; infección por VIH avanzada o no tratada; tratamiento activo con corticoesteroides en dosis altas, agentes alquilantes, antimetabolitos, bloqueadores de la necrosis tumoral (TNF), y otros agentes biológicos que son inmunosupresores o inmunomoduladores; y afecciones médicas crónicas, como asplenia y enfermedad renal crónica, en

la que algunos pacientes con estas afecciones pueden estar asociados con diversos grados de déficit inmunitario. En algunas modalidades, un sujeto cumple ≥ 1 de los siguientes criterios:

- a. Receptores de trasplante de órganos sólidos (SOT) o trasplante de células sanguíneas hematopoyéticas (HSCT) que reciben cualquier medicamento inmunosupresor
- 5 b. Neoplasias malignas hematológicas activas o que hayan completado la terapia en dentro de 3 meses
- c. Neoplasias malignas de órganos sólidos que reciben tratamiento activo con terapia inmunosupresora contra linfocitos T o B
- d. Inmunodeficiencia primaria moderada o grave (como hipogammaglobulinemia, 10 inmunodeficiencia variable común, inmunodeficiencia combinada grave)
- e. VIH y CD4 < 200 células/microlitro
- f. Pacientes con enfermedad reumatológica, enfermedad autoinmunitaria o esclerosis múltiple que reciben terapia inmunosupresora que modula las respuestas de los linfocitos Th1, Th17 o B
- g. Recibir cualquiera de los siguientes fármacos inmunosupresores durante más de 3 semanas:
- 15 – Agentes supresores de linfocitos T (por ejemplo, ≥ 5 mg equivalente de prednisona/día durante >3 semanas), inhibidores del proteasoma (tal como bortezomib, lenalidomida), alemtuzumab, globulina antitimocítica, terapia con CAR-T, inhibidores de la calcineurina)
- Agentes alquilantes
- Análogos de la purina, tales como fludarabina o cladribina
- 20 – Agentes reductores de linfocitos B, tales como el rituximab y el ocrelizumab
- Inhibidores del mTOR
- Antimetabolitos, tal como el micofenolato
- Inhibidores de la JAK.

Los regímenes de dosificación ilustrativos incluyen:

- 25 • Coadministración de la terapia de combinación de mAb10933 y mAb10987, 1,200 mg (600 mg por mAb) el día 1, luego 600 mg (300 mg por mAb) por vía subcutánea (SC) cada cuatro semanas (Q4W)
- Coadministración de la terapia de combinación de mAb10933 y mAb10987, 300 mg (150 mg por mAb) SC Q4W; y
- 30 • Coadministración de la terapia de combinación de mAb10933 y mAb10987, 300 mg (150 mg por mAb) SC Q12W.

Como se usa en la presente descripción, el término “sujeto” se refiere a un mamífero (por ejemplo, rata, ratón, gato, perro, vaca, cerdo, oveja, caballo, cabra, conejo), preferentemente un ser humano, por ejemplo, que necesita prevención y/o tratamiento de una enfermedad o trastorno tal como infección viral o cáncer. El sujeto puede tener una infección viral, por ejemplo, una infección por el virus de la influenza, o estar predispuesto a desarrollar una infección. Los sujetos predispuestos a desarrollar una infección o sujetos que pueden correr un riesgo elevado de contraer una infección (por ejemplo, por coronavirus o el virus de la influenza), incluye sujetos con sistemas inmunitarios comprometidos debido a una enfermedad autoinmunitaria, sujetos que reciben terapia inmunosupresora (por ejemplo, después del trasplante de órganos), sujetos que padecen síndrome de inmunodeficiencia humana (VIH) o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), sujetos con formas de anemia que agotan o destruyen los glóbulos blancos, sujetos que reciben radiación o quimioterapia, o sujetos que padecen un trastorno inflamatorio. Adicionalmente, los sujetos muy jóvenes (por ejemplo, de 5 años de edad o menos) o de edad avanzada (por ejemplo, de 65 años de edad o más) tienen un mayor riesgo. Además, un sujeto corre el riesgo de contraer una infección viral debido a la proximidad a un brote de la enfermedad, por ejemplo, el sujeto reside en una ciudad densamente poblada o en estrecha proximidad con sujetos que tienen infecciones confirmadas o sospecha de infección con el virus, o la elección de empleo, por ejemplo, trabajador hospitalario, investigador farmacéutico, persona que viaja a zonas infectadas o viajeros frecuentes.

“Tratar” o “se trata” significa administrar una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4), a un sujeto que tiene uno o más signos o síntomas de una enfermedad o infección, por ejemplo, infección viral, para la cual la proteína de unión al antígeno es efectiva cuando se administra al sujeto a una cantidad efectiva o terapéutica (como se describe en la presente descripción).

La presente invención también abarca la administración profiláctica de una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4), a un sujeto que está en riesgo de infección viral para prevenir tal infección. La inmunoprofilaxis pasiva basada en anticuerpos ha demostrado una estrategia efectiva para prevenir la infección viral en el sujeto. Ver por ejemplo, Berry y otros, *Passive broad-spectrum influenza immunoprophylaxis*. *Influenza Res Treat.* 2014; 2014: 267594. Epub, 22 de septiembre de 2014; y Jianqiang y otros, *Passive immune neutralization strategies for prevention and control of influenza A infections*, *Immunotherapy*. Febrero de 2012; 4(2): 175–186;

Prabhu y otros, Antivir Ther. 2009; 14(7): 911-21, Prophylactic and therapeutic efficacy of a chimeric monoclonal antibody specific for H5 hemagglutinin against lethal H5N1 influenza. “Prevenir” o “se previene” significa administrar una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4), a un sujeto para inhibir la manifestación de una enfermedad o infección (por ejemplo, infección viral) en el cuerpo del sujeto, para la cual la proteína de unión al antígeno es efectiva cuando se administra al sujeto a una cantidad efectiva o terapéutica (como se describe en la presente descripción). Como se usa en la presente descripción, la profilaxis puede ser profilaxis previa a la exposición (por ejemplo, administración de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito en la presente descripción a un individuo antes de la exposición al virus SARS-CoV-2), o profilaxis posterior a la exposición (por ejemplo, administración de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito en la presente descripción a un individuo antes de la exposición al virus SARS-CoV-2). En algunas modalidades, la profilaxis posterior a la exposición puede prevenir uno o más síntomas de COVID-19 a pesar de la infección por SARS-CoV-2.

En una modalidad de la invención, un signo o síntoma de una infección viral en un sujeto es la supervivencia o proliferación del virus en el cuerpo del sujeto, por ejemplo, según lo determinado por el ensayo de título viral (por ejemplo, propagación del coronavirus en huevos de gallina embrionados o ensayo de proteína de la espícula del coronavirus). Otros signos y síntomas de infección viral se discuten en la presente descripción.

Como indicó anteriormente, en algunas modalidades el sujeto puede ser un animal no humano, y las proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno) descritas en la presente descripción pueden usarse en un contexto veterinario para tratar y/o prevenir enfermedades en los animales no humanos (por ejemplo, gatos, perros, cerdos, vacas, caballos, cabras, conejos, ovejas y similares).

La presente invención proporciona un método para tratar o prevenir la infección viral (por ejemplo, infección por coronavirus) o para inducir la regresión o eliminación o inhibir la progresión de al menos un signo o síntoma de infección viral tal como:

- fiebre o sensación de fiebre/escalofríos;
- tos;
- dolor de garganta;
- secreción o congestión nasal;
- estornudos;

- dolores musculares o corporales;
- dolores de cabeza;
- fatiga (cansancio);
- vómitos;

- 5
- diarrea;
 - infección de las vías respiratorias;
 - incomodidad en el pecho;
 - falta de aire;
 - bronquitis; y/o

- 10
- neumonía,

cuyo signo o síntoma es secundario a la infección viral, en un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un humano), mediante la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de proteína de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, de la Tabla 4) al sujeto, por ejemplo, mediante la inyección de la proteína en el cuerpo del sujeto.

15 Combinaciones y composiciones farmacéuticas

Para preparar composiciones farmacéuticas de las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos (por ejemplo, de la Tabla 4), la proteína de unión al antígeno se mezcla con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

- Ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences y U.S. Pharmacopeia: National
 20 Formulary, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1984); Hardman, y otros (2001) Goodman y
 Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro
 (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams y Wilkins, Nueva
 York, N.Y.; Avis, y otros (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications,
 Marcel Dekker, NY; Lieberman, y otros (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets,
 25 Marcel Dekker, NY; Lieberman, y otros (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse
 Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner y Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel
 Dekker, Inc., New York, N.Y. En una modalidad de la invención, la composición farmacéutica es
 estéril. Tales composiciones son parte de la presente invención.

- El alcance de la presente invención incluye composiciones disecadas, por ejemplo, liofilizadas, que
 30 comprenden una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de
 unión al antígeno de esta (por ejemplo, de la Tabla 4), o una composición farmacéutica de esta que
 incluye un portador farmacéuticamente aceptable pero que carece sustancialmente de agua.

En una modalidad adicional de la invención, un agente terapéutico adicional que se administra a un sujeto en asociación con una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este (por ejemplo, de la Tabla 4), descrito en la presente descripción, se administra al sujeto de acuerdo con la Referencia de escritorio de médicos 2003 (Thomson Healthcare; 57^a edición (1 de noviembre, 2002)).

El modo de administración puede variar. Las vías de administración incluyen oral, rectal, transmucosa, intestinal, parenteral; intramuscular, subcutánea, intradérmica, intramedular, intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraocular, inhalatoria, insuflación, tópica, cutánea, transdérmica o intraarterial.

La presente invención proporciona métodos para administrar una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta (por ejemplo, de la Tabla 4), que comprende introducir la proteína en el cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, el método comprende perforar el cuerpo del sujeto con una aguja de una jeringa e inyectar la proteína de unión al antígeno en el cuerpo del sujeto, por ejemplo, en la vena, arteria, tumor, tejido muscular o subcutis del sujeto.

La presente invención proporciona un recipiente (por ejemplo, un vial de plástico o vidrio, por ejemplo, con una tapa o una columna de cromatografía, una aguja de orificio hueco o un cilindro de jeringa) que comprende cualquiera de las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estas (por ejemplo, de la Tabla 4), polipéptidos (por ejemplo, una HC, LC, V_H o V_L de la Tabla 4) o polinucleótidos (por ejemplo, de la Tabla 5) o vectores establecidos en la presente descripción o una composición farmacéutica de estos que comprenden un portador farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad de la presente descripción, una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4), se administra en asociación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Un agente terapéutico adicional incluye, pero no se limita a: un agente antiinflamatorio, un agente antipalúdico, un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente a la TMPRSS2, y un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que se une específicamente al CoV-S (por ejemplo, un anticuerpo descrito en la presente descripción, o descrito en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501, que se incorpora específicamente en la presente descripción como referencia en su totalidad). En algunas modalidades, un agente antipalúdico es cloroquina o hidroxiclороquina. En algunas modalidades,

un agente antiinflamatorio es un anticuerpo tal como sarilumab, tocilizumab, o gimsilumab. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno descrito en la presente descripción, por ejemplo, de la Tabla 4. En algunos casos, el anticuerpo que se une al CoV-S es casirivimab o imdevimab. En determinadas modalidades, uno, dos, tres, cuatro, o más anticuerpos, o fragmentos de unión al antígeno de estos, de la Tabla 4 pueden administrarse en combinación (por ejemplo, simultáneamente o secuencialmente). En particular, las combinaciones de anticuerpos pueden seleccionarse de manera que los anticuerpos no compitan de forma cruzada, como se describe en el Ejemplo 7. En algunas modalidades, el mAb14256 se administra en combinación con el mAb14315. En algunas modalidades, el mAb15151 se administra en combinación con el mAb14315. En algunas modalidades, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo o dos anticuerpos) de la presente descripción puede combinarse con un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo o dos anticuerpos) descrito en la patente de Estados Unidos 10,787,501 (“la patente ‘501”). En determinadas modalidades, el mAb10987 de la patente ‘501 se administra en combinación con el mAb14256 y/o el mAb15151 de la presente descripción. En determinadas modalidades, el mAb10933 y el mAb10987 de la patente ‘501 se administran en combinación con el mAb14256 de la presente descripción. En determinadas modalidades, el mAb10985 y el mAb10987 de la patente ‘501 se administran en combinación con el mAb15151 de la presente descripción. En determinadas modalidades, el mAb10985 de la patente ‘501 se administra en combinación con el mAb14315 y/o el mAb15151 de la presente descripción. En determinadas modalidades, el mAb15160 de la presente descripción se administran en combinación con el mAb10987 de la patente ‘501. En determinadas modalidades, el mAb15160 de la presente descripción se administran en combinación con el mAb10985 de la patente ‘501. En determinadas modalidades, el mAb15160 de la presente descripción se administran en combinación con el mAb10985 y el mAb10987 de la patente ‘501. En determinadas modalidades, el mAb15160 de la presente descripción se administra en combinación con uno, dos o tres de mAb14256, mAb14315, y mAb15151, opcionalmente administrados además con mAb10987 y/o mAb10985. En determinadas modalidades, cualquiera de, dos de, tres de, cuatro de mAb14256, mAb14315, mAb15151 y mAb15160 se administra en combinación con i) mAb10933, ii) mAb10987, o iii) mAb10933 y mAb10987. En determinadas modalidades, cualquier combinación de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de mAb10933, mAb10987, mAb10985, mAb14256, mAb1435, mAb15151 y mAb15160. En determinadas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este seleccionado de mAb10987, mAb14284, mAb14315 y mAb17090 se

combina con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este seleccionado de mAb10933, mAb14256, mAb15160 y mAb15160_2. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb10987 y el mAb10933. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb10987 y el mAb14256. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb10987 y el mAb15160. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb10987 y el mAb15160_2. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14284 y el mAb10933. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14284 y el mAb14256. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14284 y el mAb15160. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14284 y el mAb15160_2. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14315 y el mAb10933. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14315 y el mAb14256. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14315 y el mAb15160. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb14315 y el mAb15160_2. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb17090 y el mAb10933. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb17090 y el mAb14256. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb17090 y el mAb15160. En determinadas modalidades, la combinación comprende el mAb17090 y el mAb15160_2. En cualquiera de las combinaciones descritas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede definirse por las CDR contenidas dentro de las secuencias de HCVR y LCVR identificadas en la Tabla 4, por las secuencias de las CDR de cadena pesada y ligera identificadas en la Tabla 4, por las secuencias de HCVR y LCVR identificadas en la Tabla 4, o por las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa identificadas en la Tabla 4 y cada una de estas combinaciones específicas se abarcan dentro de la presente descripción. Más abajo, se muestran determinadas combinaciones ilustrativas de dos anticuerpos. En algunas modalidades, un anticuerpo que se une específicamente a la TMPRSS2 es H1H7017N, como se describió en publicación de patente internacional núm. WO/2019/147831.

Tabla 2: Combinaciones ilustrativas de dos anticuerpos

mAb/Núm. de combinación	mAb 10933	mAb 10985	mAb 10987	mAb 14256	mAb 14315	mAb 15151	mAb 14284	mAb 17090	mAb 15160	mAb 15160 2
mAb10933	X	1	2	3	4	5	6	7	8	9
mAb10985	10	X	11	12	13	14	15	16	17	18
mAb10987	19	20	X	21	22	23	24	25	26	27

	mAb14256	28	29	30	X	31	32	33	34	35	36
	mAb14315	37	38	39	40	X	41	42	43	44	45
	mAb15151	46	47	48	49	50	X	51	52	53	54
	mAb14284	55	56	57	58	59	60	X	61	62	63
	mAb17090	64	65	66	67	68	69	70	X	71	72
5	mAb15160	73	74	75	76	77	78	79	80	X	81
	mAb15160 2	82	83	84	85	86	87	88	89	90	X

Tabla 3: Secuencias ilustrativas de la patente de Estados Unidos 10,787,501

Designación de anticuerpo	Parte del componente	Secuencia	SEQ ID NO
10	Aminoácidos		
	HCVR	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW IRQAPGKGLEWVSYITYSGSTIYYADSVKGRFTISR DNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGTTMVPFD YWGQGTLLTVSS	1010
	HCDR1	GFTFSDYY	1012
	HCDR2	ITYSGSTI	1014
	HCDR3	ARDRGTTMVPFDY	1016
15	LCVR	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISGLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK	1018
20	LCDR1	QDITNY	1020
	LCDR2	AAS	1022
	LCDR3	QQYDNLPLT	1024
	HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW IRQAPGKGLEWVSYITYSGSTIYYADSVKGRFTISR DNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGTTMVPFD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK	1026
25	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISGLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	1028
30	Ácidos nucleicos		

5

10

15

20

25

30

HCVR	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTC AAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGG ATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGT TCATACATTACTTATAGTGGTAGTACCATATACTAC GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGG GACAACGCCAAGAGCTCACTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAGAGATCGCGGTACAACATATGGTCCCCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	1009
HCDR1	GGATTACCTTCAGTGACTACTAC	1011
HCDR2	ATTACTTATAGTGGTAGTACCATA	1013
HCDR3	GCGAGAGATCGCGGTACAACATATGGTCCCCTTTGAC TAC	1015
LCVR	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAG GCGAGTCAGGACATTACCAACTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC TACGCTGCATCCAATTTGGAACAGGGGTCCCATCA AGGTTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACT TTCACCATCAGCGGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCA ACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCTCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA	1017
LCDR1	CAGGACATTACCAACTAT	1019
LCDR2	GCTGCATCC	1021
LCDR3	CAACAGTATGATAATCTCCCTCTCACT	1023
HC	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTC AAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGG ATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGT TCATACATTACTTATAGTGGTAGTACCATATACTAC GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGG GACAACGCCAAGAGCTCACTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAGAGATCGCGGTACAACATATGGTCCCCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCTCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTTCAACCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC	1025

5		GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCG GGTAAATGA	
10			
15	LC	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAG GCGAGTCAGGACATTACCAACTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC TACGCTGCATCCAATTTGGAACAGGGGTCCCATCA AGGTTTCAAGTGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACT TTCACCATCAGCGGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCA ACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCTCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGA ACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG	1027
20			
25	Aminoácidos		
	HCVR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMYW VRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRTEDTAVYYCASGSDYGDYLLV YWGQGTILVTVSS	1030
	HCDR1	GFTFSNYA	1032
	HCDR2	ISYDGSNK	1034
	HCDR3	ASGSDYGDYLLVY	1036
30	LCVR	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGINYVS WYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSNRFSKSGSNT ASLTISGLQSEDEADYYCNSLTSTWVFGGGTKLT VL	1038
	LCDR1	SSDVGGINY	1040

5	LCDR2	DVS	1042
	LCDR3	NSLTSISTWV	1044
	HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMYW VRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRTEDTAVYYCASGSDYGDYLLV YWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNYHTQKSLSLSPGK	1046
	LC	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGINYVS WYQQHPGKAPKLMIIDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQSEDEADYYCNSLTSISTWVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	1048
	Ácidos nucleicos		
	HCVR	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTCAGTAACTATGCTATGTACTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG GCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAACTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT GCGAGTGGCTCCGACTACGGTGACTACTTATTGGTT TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	1029
	HCDR1	GGATTACCTTCAGTAACTATGCT	1031
	HCDR2	ATATCATATGATGGAAGTAATAAA	1033
	HCDR3	GCGAGTGGCTCCGACTACGGTGACTACTTATTGGTT TAC	1035
	LCVR	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGG TCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGA ACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCC TGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAAC ATGATTTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTT TCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACG GCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGTCTGAGGAC GAGGCTGATTATTACTGCAACTCTTTGACAAGCATC AGCACTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACC GTCCTA	1037
	LCDR1	AGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTAT	1039

5	LCDR2	GATGTCAGT	1041
	LCDR3	AACTCTTTGACAAGCATCAGCACTTGGGTG	1043
	HC	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTCAGTAACTATGCTATGTACTGG GTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG GCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAACTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT GCGAGTGGCTCCGACTACGGTGACTACTTATTGGTT TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA TGCCCAACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCTTCCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAG CTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCG GGTAAATGA	1045
10	LC	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGG TCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGA ACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCC TGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAATC ATGATTTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTT TCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACG GCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGTCTGAGGAC	1047
15			
20			
25	LC		
30			
30			

		GAGGCTGATTATTACTGCAACTCTTTGACAAGCATC AGCACTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACC GTCCTAGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCTCCGTGACC CTGTTCCCCCCCCTCCTCCGAGGAGCTGCAGGCCAAC AAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCTCCGACTTCTAC CCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACTCC TCCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCC TCCAAGCAGTCCAACAACAAGTACGCCGCCTCCTCC TACCTGTCCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCAC CGGTCTACTCCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCTCC ACCGTGGAGAAGACCGTGGCCCCCACCAGTGCTCC TGA	
mAb10985	Aminoácidos		
	HCVR	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNRGSIGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMSSLRAEDTALYYCAKDGERWDSVVV PSARNGMDVWGQGTTVTVSS	1050
	HCDR1	GFTFDDYA	1052
	HCDR2	ISWNRGSI	1054
	HCDR3	AKDGERWDSVVVPSARNGMDV	1056
	LCVR	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVH WYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSYVFGTGTK VTVL	1058
	LCDR1	SSNIGAGYD	1060
	LCDR2	GNS	1062
	LCDR3	QSYDSSLSGSYV	1064
	HC	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNRGSIGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMSSLRAEDTALYYCAKDGERWDSVVV PSARNGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	1066
LC	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVH WYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSYVFGTGTK VTVLQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAA SSYLSLTPEQWKSHRSYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	1068	

Ácidos nucleicos			
5	HCVR	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTA CAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTC TCAGGTATTAGTTGGAATAGGGGTAGCATAGGCTAT GCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA GACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAGC AGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGC GCAAAAGATGGCGAGAGATGGGATAGTGTAGTAGTA CCATCTGCTAGGAACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA	1049
	HCDR1	GGATTACCTTTGATGATTATGCC	1051
	HCDR2	ATTAGTTGGAATAGGGGTAGCATA	1053
	HCDR3	GCAAAAGATGGCGAGAGATGGGATAGTGTAGTAGTA CCATCTGCTAGGAACGGTATGGACGTC	1055
	LCVR	CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGG GCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGG AGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACAT TGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAATC CTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTC CCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCA GCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGAT GAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAGC CTGAGTGGCTCTTATGTCTTCGGAAGTGGGACCAAG GTCACCGTCCTA	1057
10	LCDR1	AGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGAT	1059
	LCDR2	GGTAACAGC	1061
	LCDR3	CAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGTGGCTCTTATGTC	1063
	HC	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTA CAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTC TCAGGTATTAGTTGGAATAGGGGTAGCATAGGCTAT GCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA GACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAGC AGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGC GCAAAAGATGGCGAGAGATGGGATAGTGTAGTAGTA CCATCTGCTAGGAACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCG TGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCC TTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG	1065
15			
20			
25			
30			

5		CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGG CTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCCTCCCA GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	
10			
15	LC	CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGG GCCCCAGGGCAGAGGGTCAACATCTCCTGCACTGGG AGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACAT TGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACCTC CTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTC CCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCA GCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGAT GAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAGC CTGAGTGGCTCTTATGTCTTCGGAACCTGGGACCAAG GTCACCGTCCTAGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCTCC GTGACCCTGTTCCCCCCTCCTCCGAGGAGCTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCTCCGAC TTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCC GACTCCTCCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACC ACCCCCTCCAAGCAGTCCAACAACAAGTACGCCGCC TCCTCCTACCTGTCCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAG TCCCACCGGTCTACTCCTGCCAGGTGACCCACGAG GGCTCCACCGTGGAGAAGACCGTGGCCCCCACCAG TGCTCCTGA	1067
20			
25			

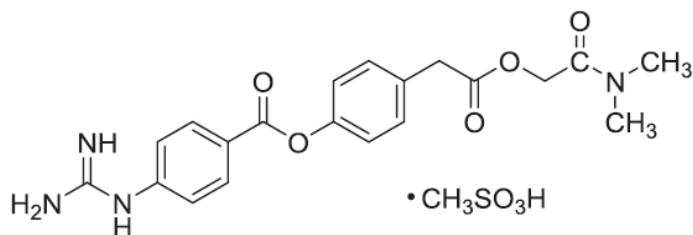
En algunas modalidades, pueden combinarse proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o fragmentos de unión al antígeno de estos) de diferentes donantes humanos. La presente invención incluye una composición que comprende dos (o más) anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o fragmentos de unión al antígeno que comprenden

dominios variables de sujetos humanos, en donde los dos (o más) anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno se derivan de sujetos diferentes (por ejemplo, dos sujetos humanos diferentes). Las regiones variables de anticuerpos derivadas de linfocitos B humanos se discuten, por ejemplo, en los Ejemplos 1 y 2 (Tabla 6), que describen que los dominios variables clonados a partir de tales linfocitos B se combinan con una región constante no a partir de esos linfocitos B para producir anticuerpos híbridos.

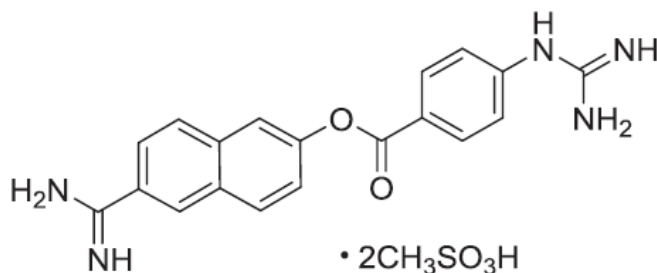
En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un fármaco antiviral y/o una vacuna. Tal como se usa en la presente descripción, el término “fármaco antiviral” se refiere a cualquier fármaco o terapia antiinfecciosa que se usa para tratar, prevenir, o mejorar una infección viral en un sujeto. El término “fármaco antiviral” incluye, pero no se limita a un antimicrobiano esteroide catiónico, leupeptina, aprotinina, ribavirina o interferón-alfa2b. Los métodos para tratar o prevenir la infección por virus (por ejemplo, coronavirus) en un sujeto que necesita dicho tratamiento o prevención mediante la administración de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la Tabla 4 en asociación con un agente terapéutico adicional son parte de la presente invención.

Por ejemplo, en una modalidad de la invención, el agente terapéutico adicional es una vacuna, por ejemplo, una vacuna contra el coronavirus. En una modalidad de la invención, una vacuna es una vacuna de virus inactivado/muerto, una vacuna de virus vivo atenuado o una vacuna de subunidad de virus.

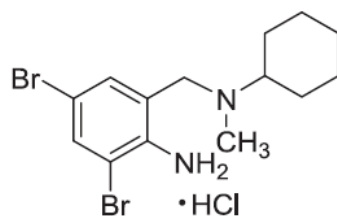
Por ejemplo, en una modalidad de la invención, el agente terapéutico adicional es:



(mesilato de camostat);

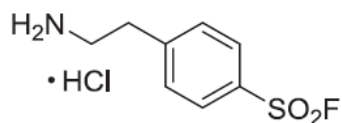


(mesilato de nafamostat);



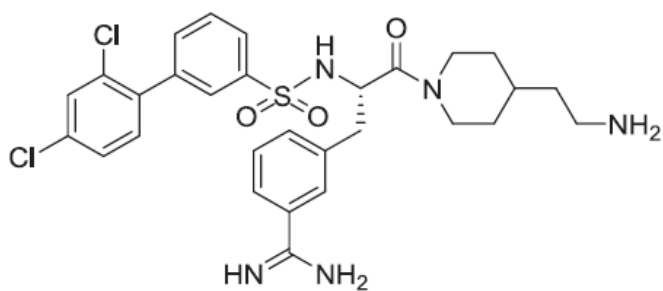
5

(clorhidrato de bromhexina (BHH));



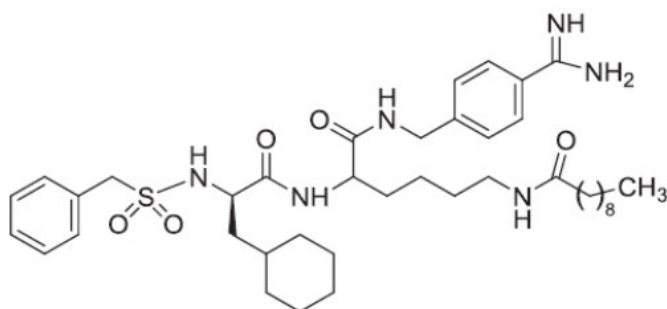
10

(clorhidrato de fluoruro de 4-(2-aminometil)bencenosulfonilo (AEBSF));



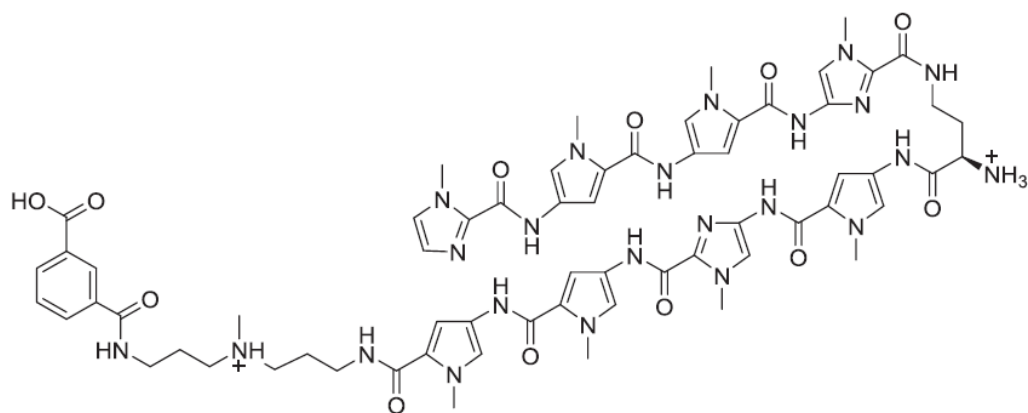
15

;



20

; o



25

30

(poliamida). Ver Shen y otros Biochimie 142: 1-10 (2017).

En una modalidad de la invención, el fármaco antiviral es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que se une específicamente al coronavirus, por ejemplo, SARS-CoV-2, SARS-CoV o MERS-CoV. Los anticuerpos anti-CoV-S ilustrativos incluyen, pero no se limitan a: H4sH15188P; H1H15188P; H1H15211P; H1H15177P; H4sH15211P; H1H15260P2; H1H15259P2; H1H15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1H15237P2; H1H15208P; H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2; H1H15253P2; H1H15215P; y H1H15249P2, como se establecen en la solicitud de publicación de patente internacional núm. WO/2015/179535, o un fragmento de unión al antígeno de este, por ejemplo, en donde el anticuerpo o fragmento comprende una inmunoglobulina de cadena ligera que incluye LCDR1, LCDR2 y LCDR3 (por ejemplo, la V_L o cadena ligera de esta); y una cadena pesada que incluye HCDR1, HCDR2 y HCDR3 (por ejemplo, la V_H o cadena pesada de esta) de cualquiera de los anticuerpos anti-CoV-S anteriores.

En una determinada modalidad de la invención, el agente terapéutico adicional no es aprotinina, leupeptina, un antimicrobiano esteroide catiónico, una vacuna contra la influenza (por ejemplo, vacuna de virus entero o subunidad atenuada, viva, muerta) o un anticuerpo contra el virus de influenza (por ejemplo, un anticuerpo antihemaglutinina).

El término “en asociación con” indica que los componentes, una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta de la presente invención, junto con otro agente, pueden formularse en una única composición, por ejemplo, para administración simultánea, o formularse por separado en dos o más composiciones (por ejemplo, un kit). Cada componente puede administrarse a un sujeto en un momento diferente que cuando se administra el otro componente; por ejemplo, cada administración puede administrarse de manera no simultánea (por ejemplo, por separado o secuencialmente) a intervalos durante un período de tiempo determinado. Además, los componentes separados pueden administrarse a un sujeto por la misma vía o por una vía diferente (por ejemplo, en donde un anticuerpo anti-CoV-S o fragmento de unión al antígeno de este).

Kits

Se proporcionan además kits que comprenden uno o más componentes que incluyen, pero no se limitan a, una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describe en la presente descripción (por ejemplo, de la Tabla 4), en asociación con uno o más componentes adicionales que incluyen, pero no se limitan a, un agente terapéutico adicional, como se describe en la presente descripción. La proteína de unión al

antígeno y/o el agente terapéutico adicional pueden formularse como una composición única o por separado en dos o más composiciones, por ejemplo, con un portador farmacéuticamente aceptable, en una composición farmacéutica.

5 En una modalidad de la invención, el kit incluye una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la invención (por ejemplo, de la Tabla 4), o una composición farmacéutica de este en un recipiente (por ejemplo, en un vidrio estéril o vial plástico) y un agente terapéutico adicional en otro recipiente (por ejemplo, plástico o vial).

10 En otra modalidad, el kit comprende una combinación de la invención, que incluye una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de esta (por ejemplo, de la Tabla 4), o una composición farmacéutica de esta en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales formulados juntos, opcionalmente, en una composición farmacéutica, en un único recipiente común.

15 Si el kit incluye una composición farmacéutica para la administración parenteral a un sujeto, el kit puede incluir un dispositivo (por ejemplo, un dispositivo de inyección) para realizar tal administración. Por ejemplo, el kit puede incluir una o más agujas hipodérmicas u otros dispositivos de inyección como se describió anteriormente que contienen la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4).

20 El kit puede incluir un prospecto que incluye información sobre las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación en el kit. Generalmente, tal información ayuda a los pacientes y médicos a usar las composiciones farmacéuticas adjuntas y la dosificación de manera efectiva y segura. Por ejemplo, la siguiente información con respecto a una combinación de la invención puede suministrarse en el prospecto: farmacocinética, farmacodinámica, estudios clínicos, parámetros de
25 eficacia, indicaciones y uso, contraindicaciones, advertencias, precauciones, reacciones adversas, sobredosificación, dosificación y administración adecuadas, cómo se suministra, condiciones de almacenamiento adecuadas, referencias, información del fabricante/distribuidor e información de patentes.

Usos de diagnóstico de los anticuerpos

30 Las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de estos de la presente invención (por ejemplo, de la Tabla 4), pueden usarse para detectar y/o medir la CoV-S en una muestra. Los ensayos ilustrativos para la CoV-S pueden incluir, por

ejemplo, poner en contacto una muestra con una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la invención, en donde la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S se etiqueta con una molécula marcadora o indicadora detectable o se usa como un ligando de captura para aislar selectivamente la CoV-S de las muestras. La presencia de una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S en
5 complejo con la CoV-S indica la presencia de la CoV-S en la muestra. Alternativamente, un anticuerpo anti-CoV-S sin etiquetar puede usarse en combinación con un anticuerpo secundario que sí se etiqueta de forma detectable. La molécula indicadora o etiqueta detectable puede ser un radioisótopo, tal como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S o ^{125}I ; un resto 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. Los ensayos ilustrativos específicos que
10 pueden usarse para detectar o medir la CoV-S en una muestra incluyen un ensayo de neutralización, un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA), y clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). Por lo tanto, la presente invención incluye un método para detectar la presencia de polipéptido de la proteína de la espícula
15 en una muestra que comprende poner en contacto la muestra con una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S y detectar la presencia de una proteína de unión al antígeno CoV-S/anti-CoV-S en donde la presencia del complejo indica la presencia de la CoV-S.

Una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la invención (por ejemplo, de la Tabla 4) puede usarse en un procedimiento de transferencia Western o transferencia inmunoproteica para detectar
20 la presencia de la CoV-S o un fragmento de este en una muestra. Tal procedimiento forma parte de la presente invención e incluye las etapas de, por ejemplo:

- proporcionar una membrana u otro sustrato sólido que comprende una muestra que se analizará para detectar la presencia de la CoV-S, por ejemplo, opcionalmente que incluye la etapa de transferir proteínas de una muestra que se analizará para detectar la presencia de la CoV-S (por
25 ejemplo, a partir de una separación electroforética de PAGE o SDS-PAGE de las proteínas en la muestra) sobre una membrana u otro sustrato sólido mediante el uso de un método conocido en la técnica (por ejemplo, secado semiseco o secado en tanque); y poner en contacto la membrana u otro sustrato sólido para probar la presencia de la CoV-S o un fragmento de este con una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la invención.

30 Tal membrana puede tomar la forma, por ejemplo, de una membrana a base de nitrocelulosa o de vinilo (por ejemplo, fluoruro de polivinilideno (PVDF)) a la que se le va a probar a las proteínas para detectar la presencia de la CoV-S en una PAGE no desnaturizante (electroforesis en gel de

poliacrilamida) o gel SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio) (por ejemplo, tras la separación electroforética en el gel). Antes de poner en contacto la membrana con la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S, la membrana se bloquea opcionalmente, por ejemplo, con leche seca descremada o similar para unirse a sitios de unión a proteínas no específicas en la membrana.

(2) lavar la membrana una o más veces para eliminar la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S no unida y otras sustancias no unidas; y

(3) detectar la proteína de unión al antígeno anti-CoV-S unida.

La detección de la proteína de unión al antígeno unida indica que la proteína CoV-S está presente en la membrana o sustrato y en la muestra. La detección de la proteína de unión al antígeno unida puede ser mediante la unión de la proteína de unión al antígeno con un anticuerpo secundario (un anticuerpo anti-inmunoglobulina) que se etiqueta de manera detectable y, luego, mediante la detección de la presencia de la etiqueta del anticuerpo secundario.

Las proteínas de unión al antígeno anti-CoV-S (por ejemplo, anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno (por ejemplo, de la Tabla 4)) descritas en la presente descripción también pueden usarse para inmunohistoquímica. Tal método forma parte de la presente invención y comprende, por ejemplo,

- poner en contacto el tejido para evaluar la presencia de la proteína CoV-S con una proteína de unión al antígeno anti-CoV-S de la invención; y

- detectar la proteína de unión al antígeno en o dentro del tejido.

Si la proteína de unión al antígeno en sí se marca de manera detectable, puede detectarse directamente. Alternativamente, la proteína de unión al antígeno puede unirse por un anticuerpo secundario etiquetado de manera detectable en donde la etiqueta se detecta entonces.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completa sobre cómo hacer y usar los métodos y composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, *etc.*) pero deben tenerse en cuenta algunas desviaciones y errores experimentales. A menos que se indique de cualquier otra manera, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados, la

temperatura ambiente es de aproximadamente 25 °C, y la presión es la atmosférica o cercana a esta.

Ejemplo 1: Generación de anticuerpos humanos contra la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-S)

- 5 Los anticuerpos humanos contra la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-S) se generaron en un ratón VELOCIMMUNE[®] que comprende un ADN que codifica regiones variables de cadena ligera kappa y pesada de inmunoglobulina humana o regiones variables de cadena ligera lambda y pesada de inmunoglobulina humana. Cada ratón se inmunizó con un vector que expresa el dominio de unión al receptor del SARS-CoV-2-S (RBD) (aminoácidos 1-1,273 del número de acceso del NCBI (MN908947.3), SEQ ID NO: 1008), seguido de un refuerzo con un vector del SARS-CoV-2-S o una proteína SARS-CoV-2-S. La respuesta inmunitaria de anticuerpos se monitoreó mediante un inmunoensayo específico de SARS-CoV-2-S. Los anticuerpos Anti-SARS-CoV-2-S se aislaron directamente a partir de linfocitos B de ratón positivos para antígeno sin fusión con células de mieloma, como se describe en la patente de Estados Unidos 7582298, que se
- 10 incorpora específicamente en la presente descripción como referencia en su totalidad. Mediante el uso de este método, se obtuvieron anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S completamente humanos (es decir, anticuerpos que poseen dominios variables humanos y dominios constantes humanos). Las regiones variables de anticuerpos también se aislaron a partir de muestras de sangre humana. Se recibió sangre entera de los pacientes 6-8 semanas después de una prueba de la PCR positiva confirmada por laboratorio para SARS-CoV-2 y enfermedad de COVID-19 sintomática. Los
- 20 glóbulos rojos se lisaron mediante el uso de un amortiguador de lisis basado en cloruro de amonio (Life Technologies) y los linfocitos B se enriquecieron mediante selección negativa. Los linfocitos B individuales que se unieron a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 se aislaron mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). Los linfocitos B aislados se recubrieron en un solo pocillo y se mezclaron con cebadores de la PCR específicos de región variable pesados y livianos de anticuerpos. Los ADNc para cada linfocito B individual se sintetizaron a través de una reacción de transcriptasa inversa (RT). Cada producto resultante de la RT se dividió después y se transfirió a dos pocillos correspondientes para las PCR de cadena pesada y ligera de anticuerpo subsecuentes. Un conjunto de los productos resultantes de la RT se
- 25 amplificó primero mediante la PCR mediante el uso de un cebador degenerado 5' específico para la secuencia líder de la región variable pesada de anticuerpo o un cebador degenerado 5' específico para la secuencia líder de la región variable de cadena ligera de anticuerpo y un cebador 3'
- 30

específico para la región constante de anticuerpo, para formar un amplicón. Los amplicones se amplificaron después nuevamente mediante la PCR mediante el uso de un cebador degenerativo 5' específico para el marco 1 de la región variable pesada de anticuerpo o un cebador degenerativo 5' específico para el marco 1 de la región variable de la cadena ligera de anticuerpo y un cebador 3' específico para la región constante de anticuerpo, para generar amplicones para clonación. Los productos de la PCR derivados de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpo se clonaron en vectores de expresión que contenían una región constante pesada y una región constante ligera, respectivamente, lo que produce de esta manera vectores de expresión para anticuerpos híbridos. Los vectores de expresión que expresan pares de cadenas pesadas y ligeras de longitud completa se transfecaron en células CHO para producir proteínas de anticuerpo para su análisis.

Las propiedades biológicas de los anticuerpos ilustrativos generados de acuerdo con los métodos de este Ejemplo se describen en detalle en los Ejemplos establecidos más abajo.

Ejemplo 2: Secuencias de nucleótidos y aminoácidos de región variable de cadena ligera y pesada

La Tabla 4 establece los identificadores de secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y ligera y las CDR, así como también las secuencias de cadena pesada y cadena ligera, de un anticuerpo anti-SARS-CoV-2-S ilustrativo. Los identificadores de secuencias de ácidos nucleicos correspondientes se establecen en la Tabla 5.

Tabla 4: Identificadores de secuencias de aminoácidos

Las SEQ ID NO										
mAb	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
mAb15163	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
mAb15164	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40
mAb15165	42	44	26	47	49	51	34	36	54	56
mAb15166	58	60	62	64	66	51	68	36	70	72
mAb15167	74	76	78	80	82	84	86	88	90	92
mAb15170	94	96	98	100	102	104	106	108	110	112
mAb14296	114	116	118	120	122	124	126	128	130	132
mAb14297	134	136	138	140	142	144	126	146	148	150
mAb14312	152	154	156	158	160	162	164	166	168	170
mAb14313	172	174	176	178	180	182	184	186	188	190
mAb14314	192	194	196	198	200	202	204	206	208	210
mAb14315	212	214	216	218	220	222	126	224	226	228
mAb14316	230	232	234	236	238	240	242	244	246	248
mAb15150	250	252	254	256	258	260	262	264	266	268
mAb15151	270	272	274	276	278	280	106	282	284	286
mAb15156	288	290	292	294	296	298	300	302	304	306

5	mAb15157	308	310	312	314	316	318	320	322	324	326
	mAb15158	328	330	332	334	336	338	106	340	342	344
	mAb15159	346	96	98	350	352	354	106	356	358	360
	mAb15160	362	364	366	368	370	372	106	374	376	378
	mAb15161	380	382	384	386	388	390	392	394	396	398
10	mAb15162	400	402	98	405	407	409	242	411	413	415
	mAb14280	417	419	421	423	425	427	14	429	431	433
	mAb14281	435	437	138	440	442	444	446	448	450	452
	mAb14282	454	456	458	460	462	84	465	467	469	471
	mAb14283	473	475	477	479	481	483	485	487	489	491
15	mAb14284	493	495	497	499	501	503	505	507	509	511
	mAb14285	513	515	517	519	521	523	525	36	527	529
	mAb14286	531	533	535	537	539	483	542	544	546	548
	mAb14287	550	552	554	556	558	84	14	560	562	564
	mAb14288	566	568	570	572	574	576	578	580	582	584
20	mAb14289	586	588	590	592	594	596	126	598	600	602
	mAb14290	604	606	608	610	612	614	126	616	618	620
	mAb14291	622	624	626	628	630	632	634	636	638	640
	mAb14292	642	644	646	648	650	652	634	655	657	659
	mAb14293	661	663	665	667	669	124	126	671	673	675
25	mAb14295	677	679	78	682	684	686	126	688	690	692
	mAb13459	694	696	698	700	702	704	706	708	710	712
	mAb14230	714	696	716	718	720	722	126	724	726	728
	mAb14231	730	732	734	736	738	740	106	742	744	746
	mAb14232	748	750	497	752	754	756	505	758	760	762
30	mAb14233	764	766	768	770	772	774	776	778	780	782
	mAb14234	784	786	788	790	792	794	796	798	800	802
	mAb14235	804	806	497	808	810	812	505	814	816	818
	mAb14247	820	822	497	825	827	756	14	829	831	833
	mAb14248	835	837	839	841	843	845	847	849	851	853
	mAb14249	855	857	859	861	863	865	106	867	869	871
	mAb14255	873	76	876	878	880	84	86	36	883	885
	mAb14256	887	889	891	893	895	897	164	899	901	903
	mAb14257	905	154	908	910	912	914	916	166	918	920
	mAb14258	922	924	926	928	930	576	933	935	937	939
	mAb14259	941	943	945	947	949	951	634	655	953	955
	mAb14260	957	959	961	963	965	967	969	971	973	975
	mAb13457	694	696	698	700	977	704	706	979	710	981
	mAb13458	694	696	698	700	983	704	706	985	710	987
	mAb14294	989	991	993	995	997	999	1001	1003	1005	1007
	mAb17090	493	495	497	499	501	503	505	507	1075	511
	mAb15160_2	362	364	366	368	370	372	106	374	1077	378

Tabla 5: Identificadores de secuencias de ácidos nucleicos

Las SEQ ID NO										
mAb	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
5	mAb15163	1	3	5	7	9	11	13	15	17
	mAb15164	21	23	25	27	29	31	33	35	37
	mAb15165	41	43	45	46	48	50	33	52	53
	mAb15166	57	59	61	63	65	50	67	52	69
	mAb15167	73	75	77	79	81	83	85	87	89
	mAb15170	93	95	97	99	101	103	105	107	109
10	mAb14296	113	115	117	119	121	123	125	127	129
	mAb14297	133	135	137	139	141	143	125	145	147
	mAb14312	151	153	155	157	159	161	163	165	167
	mAb14313	171	173	175	177	179	181	183	185	187
	mAb14314	191	193	195	197	199	201	203	205	207
	mAb14315	211	213	215	217	219	221	125	223	225
15	mAb14316	229	231	233	235	237	239	241	243	245
	mAb15150	249	251	253	255	257	259	261	263	265
	mAb15151	269	271	273	275	277	279	105	281	283
	mAb15156	287	289	291	293	295	297	299	301	303
	mAb15157	307	309	311	313	315	317	319	321	323
	mAb15158	327	329	331	333	335	337	105	339	341
20	mAb15159	345	347	348	349	351	353	105	355	357
	mAb15160	361	363	365	367	369	371	105	373	375
	mAb15161	379	381	383	385	387	389	391	393	395
	mAb15162	399	401	403	404	406	408	241	410	412
	mAb14280	416	418	420	422	424	426	13	428	430
	mAb14281	434	436	438	439	441	443	445	447	449
25	mAb14282	453	455	457	459	461	463	464	466	468
	mAb14283	472	474	476	478	480	482	484	486	488
	mAb14284	492	494	496	498	500	502	504	506	508
	mAb14285	512	514	516	518	520	522	524	52	526
	mAb14286	530	532	534	536	538	540	541	543	545
	mAb14287	549	551	553	555	557	83	13	559	561
30	mAb14288	565	567	569	571	573	575	577	579	581
	mAb14289	585	587	589	591	593	595	125	597	599
	mAb14290	603	605	607	609	611	613	125	615	617
	mAb14291	621	623	625	627	629	631	633	635	637
	mAb14292	641	643	645	647	649	651	653	654	656
	mAb14293	660	662	664	666	668	123	125	670	672
	mAb14295	676	678	680	681	683	685	125	687	689
	mAb13459	693	695	697	699	701	703	705	707	709
	mAb14230	713	695	715	717	719	721	125	723	725

	mAb14231	729	731	733	735	737	739	105	741	743	745
	mAb14232	747	749	496	751	753	755	504	757	759	761
	mAb14233	763	765	767	769	771	773	775	777	779	781
	mAb14234	783	785	787	789	791	793	795	797	799	801
	mAb14235	803	805	496	807	809	811	504	813	815	817
5	mAb14247	819	821	823	824	826	755	13	828	830	832
	mAb14248	834	836	838	840	842	844	846	848	850	852
	mAb14249	854	856	858	860	862	864	105	866	868	870
	mAb14255	872	874	875	877	879	83	85	881	882	884
	mAb14256	886	888	890	892	894	896	163	898	900	902
	mAb14257	904	906	907	909	911	913	915	165	917	919
	mAb14258	921	923	925	927	929	931	932	934	936	938
10	mAb14259	940	942	944	946	948	950	633	654	952	954
	mAb14260	956	958	960	962	964	966	968	970	972	974
	mAb13457	693	695	697	699	976	703	705	978	709	980
	mAb13458	693	695	697	699	982	703	705	984	709	986
	mAb14294	988	990	992	994	996	998	1000	1002	1004	1006
	mAb17090	492	494	496	498	500	502	504	506	1074	510
15	mAb15160 2	361	363	365	367	369	371	105	373	1076	377

Los anticuerpos descritos en la presente descripción tienen regiones variables completamente humanas, pero pueden tener regiones constantes de ratón (por ejemplo, una Fc de IgG1 de ratón o una Fc de IgG2 de ratón (isotipo a o b)) o regiones constantes humanas (por ejemplo, una Fc de IgG1 humana o una Fc de IgG4 humana). Tal como apreciará un experto en la técnica, un anticuerpo que tiene un isotipo Fc particular puede convertirse en un anticuerpo con un isotipo Fc diferente (por ejemplo, un anticuerpo con un Fc IgG1 de ratón puede convertirse en un anticuerpo con una IgG4 humana, etc.), pero en cualquier caso, los dominios variables (que incluyen las CDR), que se indican mediante los identificadores numéricos que se muestran en las Tablas 4 y 5 permanecerán iguales, y se espera que las propiedades de unión al antígeno sean idénticas o sustancialmente similares independientemente de la naturaleza del dominio constante.

Como se describió anteriormente, los anticuerpos se obtuvieron mediante aislamiento directo de linfocitos B de ratón VELOCIMMUNE® positivos para antígenos o derivados de regiones variables clonadas de linfocitos B humanos positivos para antígenos. En la Tabla 6 se muestra un resumen de estas fuentes.

Tabla 6: Fuentes de anticuerpos/regiones variables

5

10

15

20

25

30

mAb	Fuente
mAb13457	linfocitos B de ratón
mAb13458	linfocitos B de ratón
mAb13459	linfocitos B de ratón
mAb14230	linfocitos B humanos
mAb14231	linfocitos B humanos
mAb14232	linfocitos B humanos
mAb14233	linfocitos B humanos
mAb14234	linfocitos B humanos
mAb14235	linfocitos B humanos
mAb14247	linfocitos B humanos
mAb14248	linfocitos B humanos
mAb14249	linfocitos B humanos
mAb14255	linfocitos B de ratón
mAb14256	linfocitos B de ratón
mAb14257	linfocitos B de ratón
mAb14258	linfocitos B de ratón
mAb14259	linfocitos B humanos
mAb14260	linfocitos B de ratón
mAb14280	linfocitos B humanos
mAb14281	linfocitos B humanos
mAb14282	linfocitos B humanos
mAb14283	linfocitos B humanos
mAb14284	linfocitos B humanos
mAb14285	linfocitos B humanos
mAb14286	linfocitos B humanos
mAb14287	linfocitos B humanos
mAb14288	linfocitos B humanos
mAb14290	linfocitos B humanos
mAb14289	linfocitos B humanos
mAb14291	linfocitos B humanos
mAb14292	linfocitos B humanos
mAb14293	linfocitos B humanos
mAb14294	linfocitos B humanos
mAb14295	linfocitos B humanos
mAb14296	linfocitos B humanos
mAb14297	linfocitos B humanos
mAb14312	linfocitos B de ratón
mAb14313	linfocitos B de ratón
mAb14314	linfocitos B de ratón
mAb14315	linfocitos B humanos
mAb14316	linfocitos B humanos
mAb15156	linfocitos B de ratón

mAb15157	linfocitos B de ratón
mAb15158	linfocitos B humanos
mAb15159	linfocitos B humanos
mAb15160	linfocitos B humanos
mAb15161	linfocitos B humanos
mAb15162	linfocitos B humanos
mAb15163	linfocitos B humanos
mAb15164	linfocitos B humanos
mAb15165	linfocitos B humanos
mAb15166	linfocitos B humanos
mAb15167	linfocitos B humanos
mAb15170	linfocitos B humanos
mAb15150	linfocitos B humanos
mAb15151	linfocitos B humanos

Ejemplo 3: Cinética de unión Biacore de anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S purificados

La constante de disociación de equilibrio (K_D) para diferentes reactivos RBD de la SARS-COV-2 que se une a los anticuerpos monoclonales (mAb) anti-SARS-COV-2 de CHOt purificados se determinó mediante el uso de un biosensor Biacore T200/Biacore 8K basado en resonancia de plasmones superficiales en tiempo real. Todos los estudios de unión se realizaron en HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y tensioactivo Tween-20 al 0.05 % v/v, pH 7.4 (HBS-ET) amortiguador de corrida a 25 °C y 37 °C. La superficie del chip del sensor Biacore CM5 se derivatizó primero mediante acoplamiento de amina con cualquier mAb específico Fc anti-humano de ratón (Regeneron, mAb2567) para capturar anticuerpos monoclonales anti-SARS-COV-2. Se realizaron estudios de unión en el dominio extracelular de RBD de la SARS-COV-2 humano expresado con una etiqueta de myc-myc-hexahistidina en el extremo C-terminal (hSARS-COV-2 RBD-mmH) (RBD monomérico) (SEQ ID NO: 1069), dominio extracelular de RBD de la SARS-COV-2 expresado con un Fc de la IgG2a de ratón en el extremo C-terminal (SARS-COV-2 RBD mFc) (RBD dimérico) (SEQ ID NO: 1070), y un trímero foldon externo de la espícula de SARS-COV2 con una myc-myc-hexahistidina (ECD foldon de la espícula de SARS-CoV2) (RBD trimérico). El uso de estos reactivos permitió evaluar la capacidad de los anticuerpos para unirse a péptidos RBD monoméricos, diméricos y triméricos, respectivamente.

Se inyectaron tres concentraciones, 50 nM 12.5 nM y 3.12 nM, de hSARS-COV-2 RBD-mmH, SARS-COV-2 RBD mFc y ECD foldon de la espícula de SARS-CoV2 preparadas en amortiguador

de ejecución HBS-ET durante 1.5-3 minutos a un régimen de flujo de 50 µl/min, mientras que la disociación del mAb unido a diferentes reactivos SARS-COV-2 RBD se monitorizó durante 5-8 minutos en amortiguador de funcionamiento HBS-ET. Al final de cada ciclo, la superficie de captura del mAb del RBD del SARS-COV-2 se regeneró mediante el uso de una inyección de 12 seg de ácido fosfórico 20 mM para la superficie del mAb específico anti-Fc humano de ratón. La tasa de asociación (k_a) y la tasa de disociación (k_d) se determinaron mediante el ajuste de los sensogramas de unión en tiempo real a un modelo de unión 1:1 con limitación de transporte de masa mediante el uso del software BiaEvaluation v3.1 o el software Biacore Insight Evaluation v2.0 o el software de ajuste de curva. La constante de equilibrio de disociación de unión (K_D) y la semivida de disociación ($t_{1/2}$) se calcularon a partir de las velocidades cinéticas como:

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ y } t_{1/2} (\text{min}) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

Los parámetros de cinética de unión para diferentes mAb anti-SARS-COV-2 que se unen a reactivos RBD de SARS-COV-2 monoméricos, diméricos y triméricos de la invención a 25 °C y 37 °C se muestran en las Tablas 7 a la 12, respectivamente. También se usó un control de isotipo, mAb1932, como control.

Tabla 7: Parámetros de unión cinética de la interacción de anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con SARS-COV-2 RBD-mmh monomérico (SEQ ID NO: 1069) a 25 °C.

mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Monómero de RBD unido a 50 nM (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
mAb14312	468.6 ± 4.6	190.8	1.53E+06	9.29E-04	6.06E-10	12.4
mAb14260	415.3 ± 1.6	173.5	1.87E+06	1.38E-03	7.38E-10	8.4
mAb14284	731.1 ± 1.2	236.5	6.66E+05	5.49E-04	8.24E-10	21.0
mAb14258	423.9 ± 0.4	180.2	1.89E+06	1.61E-03	8.54E-10	7.2
mAb14294	408.7 ± 2.0	138.3	6.00E+05	5.48E-04	9.14E-10	21.1
mAb14283	410.1 ± 8.9	171.9	1.46E+06	1.58E-03	1.08E-09	7.3
mAb14235	340.0 ± 4.0	117.1	7.89E+05	1.05E-03	1.33E-09	11.0
mAb14289	395.1 ± 1.1	151	1.16E+06	1.58E-03	1.36E-09	7.3
mAb13458	435.7 ± 4.4	158.4	9.09E+05	1.39E-03	1.53E-09	8.3
mAb14313	532.2 ± 1.9	218.2	1.42E+06	2.17E-03	1.53E-09	5.3
mAb14247	179.0 ± 0.5	63.3	8.38E+05	1.63E-03	1.94E-09	7.1
mAb14315	465.8 ± 0.9	127.1	4.07E+05	1.02E-03	2.49E-09	11.4
mAb13459	665.7 ± 4.5	219.3	6.93E+05	1.74E-03	2.51E-09	6.6
mAb13457	412.5 ± 7.4	148.4	7.74E+05	2.05E-03	2.65E-09	5.6
mAb14257	518.6 ± 1.0	215.1	3.40E+06	9.52E-03	2.80E-09	1.2
mAb14255	432.4 ± 4.8	180.4	1.75E+06	4.99E-03	2.84E-09	2.3

5	mAb14286	394.6 ± 5.2	158.5	3.23E+06	1.04E-02	3.22E-09	1.1
	mAb14282	414.4 ± 4.7	170.1	1.93E+06	9.57E-03	4.97E-09	1.2
	mAb14281	423.6 ± 0.4	157.8	1.10E+06	5.54E-03	5.02E-09	2.1
	mAb14230	315.0 ± 0.3	113.6	1.13E+06	8.52E-03	7.51E-09	1.4
	mAb14256	440.5 ± 3.6	175.4	1.11E+06	9.27E-03	8.32E-09	1.2
10	mAb14285	443.1 ± 0.6	157.9	1.80E+06	2.11E-02	1.17E-08	0.5
	mAb14280	474.3 ± 0.5	177.3	1.66E+06	2.55E-02	1.54E-08	0.5
	mAb14234	458.8 ± 0.9	152.8	5.50E+05	1.13E-02	2.05E-08	1.0
	mAb14232	71.6 ± 1.4	18.8	1.12E+06	3.50E-02	3.12E-08	0.3
	mAb14292	431.3 ± 0.7	11.1	4.17E+05	1.71E-02	4.09E-08	0.7
15	mAb14314	597.8 ± 0.8	11.6	IC	IC	IC	IC
	mAb14248	400.8 ± 1.6	269.5	7.06E+05	2.05E-05	2.90E-11	564.0
	mAb14295	441.5 ± 3.7	59.8	3.01E+05	≤ 1.00E-05	3.32E-11	≥ 1155.0
	mAb14233	492.8 ± 3.4	85.7	4.94E+05	3.66E-05	7.41E-11	315.5
	mAb14287	419.8 ± 0.3	91.9	3.10E+05	4.59E-05	1.48E-10	251.4
20	mAb14293	432.5 ± 0.6	119.8	2.43E+05	8.10E-05	3.33E-10	142.6
	mAb14291	391.3 ± 3.3	47.8	IC	IC	IC	IC
	mAb14249	407.5 ± 1.0	42.3	IC	IC	IC	IC
	mAb14316	264.7 ± 1.6	40	IC	IC	IC	IC
	mAb14296	529.6 ± 0.7	32.3	IC	IC	IC	IC
25	mAb14231	407.0 ± 2.2	27.3	IC	IC	IC	IC
	mAb14288	458.5 ± 2.3	24.7	IC	IC	IC	IC
	mAb14297	444.0 ± 1.4	13.7	IC	IC	IC	IC
	mAb14290	378.1 ± 1.2	12	IC	IC	IC	IC
	mAb14259	335.8 ± 2.8	7.8	IC	IC	IC	IC
30	mAb15156	427.3 ± 17.1	91	2.89E+05	1.21E-03	4.18E-09	9.6
	mAb15157	291.6 ± 11.5	20.3	2.78E+05	1.25E-03	4.49E-09	9.3
	mAb15158	317.3 ± 6.6	26.3	1.04E+05	8.12E-05	7.79E-10	142.2
	mAb15159	286.3 ± 16.0	62	4.89E+04	1.30E-04	2.66E-09	88.8
	mAb15160	304.2 ± 8.3	9.3	IC	IC	IC	IC
	mAb15161	250.6 ± 15.3	40.3	1.73E+05	2.34E-04	1.35E-09	49.3
	mAb15162	287.1 ± 12.2	49.6	1.16E+05	8.50E-04	7.30E-09	13.6
	mAb15163	358.2 ± 12.8	51	2.18E+05	1.67E-05	7.79E-11	693.3
	mAb15164	315.8 ± 11.1	41.2	2.28E+05	3.49E-04	1.53E-09	33.1
	mAb15165	271.1 ± 13.8	33.9	5.39E+05	2.12E-04	3.93E-10	54.6
	mAb15166	249.2 ± 11.0	13.3	2.46E+05	5.35E-03	2.17E-08	2.2
	mAb15167	329.5 ± 10.9	21.8	2.65E+05	4.14E-03	1.56E-08	2.8
	mAb15170	278.8 ± 9.9	21.8	2.00E+05	1.53E-05	1.00E-10	756.4
	mAb15150	276.5 ± 9.6	33.3	7.74E+05	4.61E-05	5.94E-11	250.8
	mAb15151	354.8 ± 13.2	63.4	2.00E+05	7.78E-04	3.89E-09	14.8
	mAb1932	790.6 ± 9.6	0.6	NB	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

$\leq 1.00\text{E-}05$ indica que no se observó disociación en las condiciones experimentales actuales y el valor de k_d se fijó manualmente en $1.00\text{E-}05 \text{ s}^{-1}$ mientras se ajustaban los sensogramas de unión en tiempo real.

Tabla 8: Parámetros de unión cinética de la interacción de anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con SARS-COV-2 RBD-mmh monomérico (SEQ ID NO: 1069) a 37 °C.

	mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Monómero de RBD unido a 50 nM (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	$t_{1/2}$ (min)
	mAb14312	543	221.2	1.57E+06	9.88E-04	6.31E-10	11.7
	mAb14260	525.5	219.6	1.95E+06	1.44E-03	7.41E-10	8.0
	mAb14284	867.3	345.3	6.44E+05	6.05E-04	9.40E-10	19.1
10	mAb14258	521	215.5	2.14E+06	1.70E-03	7.96E-10	6.8
	mAb14294	465.5	185.9	6.00E+05	5.90E-04	9.84E-10	19.6
	mAb14283	531.3	217.1	1.54E+06	1.79E-03	1.17E-09	6.4
	mAb14235	388.4	153.8	7.93E+05	1.09E-03	1.37E-09	10.6
	mAb14289	461.9	185.8	1.20E+06	1.76E-03	1.46E-09	6.5
	mAb13458	550.6	212.8	9.07E+05	1.39E-03	1.54E-09	8.3
	mAb14313	676	272.8	2.81E+06	2.59E-03	9.21E-10	4.5
15	mAb14247	222.1	91.2	8.32E+05	1.63E-03	1.95E-09	7.1
	mAb14315	581.1	193	4.35E+05	9.85E-04	2.26E-09	11.7
	mAb13459	822.4	299	7.86E+05	2.04E-03	2.60E-09	5.7
	mAb13457	472.1	180.3	8.01E+05	2.34E-03	2.92E-09	4.9
	mAb14257	600.6	242.3	3.26E+06	7.62E-03	2.34E-09	1.5
	mAb14255	518.4	206	1.94E+06	5.35E-03	2.76E-09	2.2
	mAb14286	436.6	169.1	3.38E+06	1.04E-02	3.07E-09	1.1
20	mAb14282	492.7	186.2	1.98E+06	1.06E-02	5.37E-09	1.1
	mAb14281	486.7	182	1.12E+06	5.82E-03	5.20E-09	2.0
	mAb14230	369.8	133.2	1.15E+06	8.76E-03	7.61E-09	1.3
	mAb14256	555.8	193.4	1.40E+06	1.15E-02	8.24E-09	1.0
	mAb14285	543.5	165.6	2.09E+06	2.74E-02	1.31E-08	0.4
	mAb14280	586	176.2	1.53E+06	2.48E-02	1.62E-08	0.5
25	mAb14234	565.9	162	5.34E+05	1.19E-02	2.23E-08	1.0
	mAb14232	98.1	21.1	4.69E+06	3.72E-02	7.92E-09	0.3
	mAb14292	507.6	10.4	3.59E+05	2.18E-02	6.07E-08	0.5
	mAb14314	693.8	12.5	4.79E+05	1.15E-02	2.39E-08	1.0
	mAb14248	509.5	491.7	7.02E+05	1.90E-05	2.71E-11	607.3
	mAb14295	558.8	196.2	5.78E+05	$\leq 1.00\text{E-}05$	1.73E-11	$\geq 1,155.0$
	mAb14233	561.8	276.8	3.20E+05	3.38E-05	1.06E-10	341.7
30	mAb14287	528.8	154.9	7.04E+05	4.63E-05	6.58E-11	249.4
	mAb14293	531	166.7	9.62E+05	8.69E-05	9.03E-11	132.9
	mAb14291	516.4	224.5	3.08E+05	4.46E-05	1.45E-10	258.9
	mAb14249	482.5	143	2.38E+05	5.34E-05	2.25E-10	216.5

5	mAb14316	304.6	132.1	8.05E+05	$\leq 1.00\text{E-}05$	1.24E-11	$\geq 1,155.0$
	mAb14296	672.2	91.3	1.33E+05	$\leq 1.00\text{E-}05$	7.55E-11	$\geq 1,155.0$
	mAb14231	490.1	54.7	3.18E+05	1.57E-04	4.94E-10	73.5
	mAb14288	576.6	72.9	1.06E+05	5.85E-05	5.54E-10	197.5
	mAb14297	529.3	32.1	3.01E+05	2.09E-04	6.94E-10	55.3
10	mAb14290	457.9	32.9	2.34E+05	1.09E-05	4.66E-11	1,057.7
	mAb14259	395.2	9	NB	NB	NB	NB
	mAb15156	463.2 $\pm$ 0.7	106.9	3.73E+05	5.35E-03	1.44E-08	2.2
	mAb15157	309.1 $\pm$ 1	65.7	3.44E+05	3.99E-03	1.16E-08	2.9
	mAb15158	298 $\pm$ 0.5	44.3	1.26E+05	2.07E-04	1.65E-09	55.7
15	mAb15159	293.3 $\pm$ 1.9	42	1.46E+05	1.76E-04	1.21E-09	65.6
	mAb15160	400.6 $\pm$ 1.2	79.3	2.50E+05	1.94E-03	7.79E-09	5.9
	mAb15161	283.9 $\pm$ 0.9	61.1	2.63E+05	8.66E-04	3.29E-09	13.3
	mAb15162	322.4 $\pm$ 2.9	38.9	1.03E+05	2.99E-03	2.92E-08	3.9
	mAb15163	343.6 $\pm$ 1.7	72.7	2.18E+05	3.87E-04	1.78E-09	29.9
20	mAb15164	385 $\pm$ 1.1	93.4	2.83E+05	1.79E-03	6.33E-09	6.5
	mAb15165	276.1 $\pm$ 2.3	82.5	4.75E+05	1.47E-03	3.10E-09	7.9
	mAb15166	266.8 $\pm$ 0.3	19.7	3.50E+05	3.34E-02	9.53E-08	0.3
	mAb15167	405.3 $\pm$ 0.6	46.8	3.52E+05	1.95E-02	5.55E-08	0.6
	mAb15170	299.4 $\pm$ 1.4	56.3	2.83E+05	8.36E-05	2.97E-10	138.1
25	mAb15150	248.5 $\pm$ 1.2	64.9	4.93E+05	7.84E-05	1.58E-10	147.4
	mAb15151	595.8 $\pm$ 1.6	141.4	1.80E+05	4.42E-03	2.46E-08	2.6
	mAb1932	921.8 $\pm$ 2	1.3	NB	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

$\leq 1.00\text{E-}05$ indica que no se observó disociación en las condiciones experimentales actuales y el valor de k_d se fijó manualmente en $1.00\text{E-}05 \text{ s}^{-1}$ mientras se ajustaban los sensogramas de unión en tiempo real.

Tabla 9: Parámetros de unión cinética de la interacción de anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con SARS-COV-2 RBD mFc dímérico (SEQ ID NO: 1070) a 25 °C.

mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Dímero RBD mFc unido a 50 nM	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	$t_{1/2}$ (min)
mAb14312	465.2 $\pm$ 3.8	349.2	1.68E+06	5.60E-05	3.34E-11	206.4
mAb14260	416.5 $\pm$ 2.2	327.4	1.96E+06	8.70E-05	4.43E-11	132.8
mAb14284	732.9 $\pm$ 0.5	482.2	8.31E+05	2.12E-05	2.55E-11	544.6
mAb14258	420.7 $\pm$ 1	332.8	3.56E+04	1.09E-04	3.04E-09	106.5
mAb14294	404.3 $\pm$ 5.6	291.4	9.11E+05	2.68E-05	2.94E-11	430.3
mAb14283	417.5 $\pm$ 0.6	319.6	1.55E+06	8.14E-05	5.24E-11	141.9
mAb14235	338.6 $\pm$ 2.2	242.7	1.10E+06	6.89E-05	6.27E-11	167.6
mAb14289	393.3 $\pm$ 2.8	295.3	1.43E+06	8.95E-05	6.28E-11	129.1

5	mAb13458	439.8 ± 2.5	326.7	1.18E+06	7.55E-05	6.40E-11	153.1
	mAb14313	528.5 ± 10.9	407.4	2.36E+06	9.97E-05	4.22E-11	115.9
	mAb14247	177.9 ± 0.7	135.5	1.19E+06	1.56E-04	1.31E-10	73.9
	mAb14315	455.9 ± 5.0	303.7	7.99E+05	6.26E-05	7.84E-11	184.4
	mAb13459	670.8 ± 2.4	465.4	1.05E+06	4.35E-05	4.15E-11	265.6
10	mAb13457	410.1 ± 7	308.2	1.33E+06	8.59E-05	6.45E-11	134.5
	mAb14257	519.6 ± 2.1	403.1	2.81E+06	2.54E-04	9.07E-11	45.4
	mAb14255	437.3 ± 0.4	340.7	2.19E+06	1.59E-04	7.26E-11	72.6
	mAb14286	393.5 ± 1.5	296.8	2.95E+06	6.55E-04	2.22E-10	17.6
	mAb14282	418.3 ± 0.9	326.3	2.17E+06	4.03E-04	1.86E-10	28.7
15	mAb14281	424.2 ± 0.6	305.1	1.46E+06	2.13E-04	1.46E-10	54.3
	mAb14230	315.5 ± 0.6	240.6	2.00E+06	2.86E-04	1.42E-10	40.5
	mAb14256	440.9 ± 5.5	331.9	2.84E+06	1.81E-04	6.38E-11	63.7
	mAb14285	435.9 ± 1	318.7	5.78E+06	5.02E-04	8.68E-11	23
	mAb14280	476.4 ± 0.9	358.2	3.02E+06	3.70E-04	1.23E-10	31.2
20	mAb14234	458.2 ± 5	328.7	1.02E+06	1.21E-04	1.19E-10	95.2
	mAb14232	71.7 ± 1.4	52.4	1.97E+06	1.73E-03	8.78E-10	6.7
	mAb14292	431.8 ± 1.4	76.8	1.04E+06	3.51E-02	3.36E-08	0.3
	mAb14314	601.8 ± 1.1	173.6	2.22E+06	5.60E-02	2.53E-08	0.2
	mAb14248	404.4 ± 1.8	4.9	NB	NB	NB	NB
25	mAb14295	441.3 ± 4.7	8.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14233	491.0 ± 2.3	2.3	NB	NB	NB	NB
	mAb14287	424.9 ± 3.8	9.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14293	440.5 ± 0.3	5.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14291	391.0 ± 4.3	3.3	NB	NB	NB	NB
30	mAb14249	412.7 ± 1.1	4.6	NB	NB	NB	NB
	mAb14316	266.4 ± 1.7	11.4	IC	IC	IC	IC
	mAb14296	529.8 ± 1.7	4.6	NB	NB	NB	NB
	mAb14231	407.8 ± 1	4.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14288	462.8 ± 1.2	4	NB	NB	NB	NB
	mAb14297	443.5 ± 1.2	6.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14290	382.1 ± 3.6	7.7	NB	NB	NB	NB
	mAb14259	339.7 ± 0.5	8.3	NB	NB	NB	NB
	mAb15156	914.2 ± 2.1	493.4	1.41E+06	5.22E-05	3.69E-11	221.2
	mAb15157	543.7 ± 0.5	294.3	3.57E+05	6.67E-05	1.87E-10	173.2
	mAb15158	573.9 ± 1.8	175.4	4.53E+05	1.00E-05	2.21E-11	1,155.0
	mAb15159	519.6 ± 0.8	224.5	6.91E+05	1.19E-05	1.72E-11	971.4
	mAb15160	610.1 ± 1.6	268.3	2.58E+05	1.05E-05	4.06E-11	1,101.0
	mAb15161	547.4 ± 0.5	328.4	1.06E+06	1.26E-05	1.19E-11	913.8
	mAb15162	771.1 ± 0.3	354.1	1.29E+06	2.30E-04	1.79E-10	50.2
	mAb15163	529.5 ± 1.1	164.2	9.30E+05	1.00E-05	1.08E-11	1,155.0
	mAb15164	719.6 ± 0.5	308.8	3.72E+05	2.12E-05	5.69E-11	545.6
	mAb15165	644.5 ± 6.2	222.6	3.01E+05	3.88E-05	1.29E-10	297.5

mAb15166	715.6 ± 4.0	334.4	1.02E+06	1.62E-05	1.60E-11	713.0
mAb15167	501.7 ± 2.5	241.5	4.81E+05	1.05E-04	2.17E-10	110.3
mAb15170	608.7 ± 2.3	237.5	3.39E+05	1.00E-05	2.95E-11	1,155.0
mAb15150	433.3 ± 2.1	235.9	5.07E+05	1.00E-05	1.97E-11	1,155.0
mAb15151	1,143 ± 2.6	491.7	9.24E+06	3.12E-05	3.38E-12	369.7
mAb1932	1,775.9 ± 2.3	6.8	NB	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

Tabla 10: Parámetros de unión cinética de la interacción de anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con SARS-COV-2 RBD mFc dímérico (SEQ ID NO: 1070) a 37 °C.

mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Dímero RBD mFc unido a 50 nM	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	t _{1/2} (min)
mAb14312	550.3	422.3	1.67E+06	5.80E-05	3.47E-11	199.1
mAb14260	521.7	408.3	1.93E+06	1.04E-04	5.40E-11	110.6
mAb14284	872	659.3	8.30E+05	2.24E-05	2.70E-11	516.1
mAb14258	271.5	392.5	IC	IC	IC	IC
mAb14294	467.7	370.4	9.06E+05	3.50E-05	3.86E-11	330.1
mAb14283	534.6	414.9	1.52E+06	9.59E-05	6.31E-11	120.5
mAb14235	393.8	308.2	1.09E+06	6.68E-05	6.12E-11	173
mAb14289	467.8	372.3	1.41E+06	1.28E-04	9.07E-11	90.1
mAb13458	548.4	425.4	1.16E+06	9.12E-05	7.84E-11	126.7
mAb14313	703.3	538	2.52E+06	1.46E-04	5.82E-11	78.9
mAb14247	223	191.8	1.18E+06	1.50E-04	1.27E-10	77
mAb14315	577.7	416.2	8.77E+05	7.91E-05	9.03E-11	145.9
mAb13459	830	613.1	9.85E+05	9.24E-05	9.39E-11	125
mAb13457	467.7	357.9	1.26E+06	1.17E-04	9.35E-11	98.5
mAb14257	597.6	482	2.81E+06	3.39E-04	1.21E-10	34.1
mAb14255	523	407.4	2.12E+06	2.50E-04	1.18E-10	46.2
mAb14286	433.2	336.7	2.94E+06	5.28E-04	1.80E-10	21.9
mAb14282	493.7	393.8	2.21E+06	5.46E-04	2.47E-10	21.1
mAb14281	481.8	370.1	1.34E+06	3.65E-04	2.71E-10	31.7
mAb14230	374	294.6	1.82E+06	4.90E-04	2.68E-10	23.6
mAb14256	573.9	430.4	1.78E+06	4.73E-04	2.67E-10	24.4
mAb14285	537	386.8	4.45E+06	1.03E-03	2.31E-10	11.2
mAb14280	589.2	444.9	2.92E+06	7.72E-04	2.64E-10	15
mAb14234	571.3	414.8	9.80E+05	4.02E-04	4.10E-10	28.8
mAb14232	103.7	69	2.10E+06	1.88E-03	8.93E-10	6.1
mAb14292	503.4	97.9	1.86E+06	6.44E-02	3.46E-08	0.2
mAb14314	700.2	167.3	1.48E+06	3.57E-02	2.41E-08	0.3

5	mAb14248	506.9	8.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14295	555.3	13.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14233	559.6	3.9	NB	NB	NB	NB
	mAb14287	528.2	19.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14293	532.7	9.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14291	529.1	6.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14249	481	6.6	NB	NB	NB	NB
	mAb14316	303.8	14.5	NB	NB	NB	NB
	mAb14296	667.7	7.6	NB	NB	NB	NB
	mAb14231	494.9	8	NB	NB	NB	NB
10	mAb14288	572.7	8.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14297	525.8	12.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14290	450.6	10.3	NB	NB	NB	NB
	mAb14259	395.4	9.4	NB	NB	NB	NB
	mAb15156	1,206.3 ± 2.9	672.7	1.78E+05	1.12E-04	6.30E-10	103.2
15	mAb15157	689.3 ± 1.8	411.9	9.22E+05	1.07E-04	1.16E-10	107.9
	mAb15158	699.6 ± 1.7	279.4	1.71E+05	2.90E-05	1.70E-10	398.3
	mAb15159	756.1 ± 1.1	314.8	2.20E+05	2.99E-05	1.35E-10	386.3
	mAb15160	913.9 ± 1.3	440.3	4.36E+05	7.90E-05	1.81E-10	146.2
	mAb15161	674.7 ± 0.6	352.5	1.05E+06	4.90E-05	4.69E-11	235.7
	mAb15162	835.4 ± 2.9	322.7	2.00E+05	1.01E-04	5.00E-10	114.8
	mAb15163	778.3 ± 3.3	407	4.16E+05	2.50E-05	6.01E-11	462.0
	mAb15164	937.9 ± 2.2	466.3	1.82E+06	9.40E-05	5.18E-11	122.9
	mAb15165	716.1 ± 0	191.1	1.00E+05	4.55E-05	4.50E-10	254.0
	mAb15166	616.1 ± 2.1	350.6	7.81E+05	9.80E-05	1.26E-10	117.9
20	mAb15167	993.3 ± 3.2	499.8	1.40E+06	1.24E-04	8.90E-11	93.1
	mAb15170	779.1 ± 2.9	374.2	2.60E+05	2.41E-05	9.10E-11	480.0
	mAb15150	554 ± 1.8	338.7	9,46E+05	2.80E-05	2.96E-11	412.5
	mAb15151	1,452 ± 4.1	653.6	3.70E+06	3.10E-03	8.50E-10	3.7
	mAb1932	2,129.7 ± 4	20.6	NB	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

Tabla 11: Parámetros de unión cinética de la interacción de los anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con la proteína de fusión ECD foldon de la espícula de SARS-CoV2 trimérica a 25 °C.

	mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Trímero de la espícula.his unido a 50 nM	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	t $\frac{1}{2}$ (min)
5	mAb14312	463.3 $\pm$ 4.0	393.4	1.93E+06	5.24E-05	2.72E-11	220.5
	mAb14260	411.6 $\pm$ 6.6	378.1	1.52E+06	5.87E-05	3.86E-11	196.6
	mAb14284	729.9 $\pm$ 1.8	469.4	8.12E+05	1.31E-05	1.61E-11	883
	mAb14258	420 $\pm$ 1.7	406.3	2.12E+06	4.91E-05	2.32E-11	235.3
	mAb14294	400.7 $\pm$ 3.8	341.7	6.97E+05	2.29E-05	3.29E-11	503.7
10	mAb14283	417.4 $\pm$ 5.5	352.5	1.61E+06	8.66E-05	5.39E-11	133.3
	mAb14235	336.9 $\pm$ 1.2	297.5	7.79E+05	3.69E-05	4.74E-11	312.9
	mAb14289	387.0 $\pm$ 3.9	345.3	9.12E+05	6.35E-05	6.96E-11	182
	mAb13458	436.2 $\pm$ 3.7	340.8	1.21E+06	4.26E-05	3.51E-11	271.3
	mAb14313	528.7 $\pm$ 2.2	462	2.00E+06	1.13E-04	5.65E-11	102.1
15	mAb14247	172 $\pm$ 4.9	143.3	9.44E+05	4.91E-05	5.21E-11	235
	mAb14315	458.4 $\pm$ 1.1	335.4	6.52E+05	3.15E-05	4.83E-11	366.2
	mAb13459	668.9 $\pm$ 8.1	483.2	1.41E+06	5.46E-05	3.89E-11	211.5
	mAb13457	405.4 $\pm$ 4.6	358.2	7.68E+05	5.52E-05	7.18E-11	209.2
	mAb14257	518.4 $\pm$ 1.3	535.3	2.45E+06	1.07E-04	4.34E-11	108.5
20	mAb14255	431.9 $\pm$ 3.2	454.1	1.96E+06	1.38E-04	7.06E-11	83.5
	mAb14286	389.5 $\pm$ 2.0	425	2.63E+06	8.71E-05	3.31E-11	132.6
	mAb14282	413.2 $\pm$ 3.4	421.7	2.14E+06	1.33E-04	6.24E-11	86.6
	mAb14281	415 $\pm$ 5.6	310.7	8.34E+05	8.09E-05	9.70E-11	142.8
	mAb14230	313.1 $\pm$ 2.6	340	1.51E+06	6.09E-05	4.04E-11	189.8
25	mAb14256	441.9 $\pm$ 6.3	356.7	1.47E+06	1.89E-04	1.29E-10	61
	mAb14285	435.7 $\pm$ 1.6	486.2	2.34E+06	3.98E-05	1.70E-11	290.4
	mAb14280	472.8 $\pm$ 1.3	458.7	1.99E+06	2.69E-05	1.36E-11	428.7
	mAb14234	455.7 $\pm$ 5.8	365.5	7.07E+05	5.48E-05	7.75E-11	210.7
	mAb14232	69.7 $\pm$ 1	72.8	7.63E+05	1.49E-04	1.95E-10	77.7
30	mAb14292	429.2 $\pm$ 0.5	138.4	5.84E+05	4.21E-03	7.21E-09	2.7
	mAb14314	600.4 $\pm$ 1.7	184	4.92E+05	4.21E-03	8.56E-09	2.7
	mAb14248	403.3 $\pm$ 0.4	1.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14295	446.7 $\pm$ 2.3	2.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14233	488.5 $\pm$ 2.0	0.3	NB	NB	NB	NB
	mAb14287	421.9 $\pm$ 3.0	0.9	NB	NB	NB	NB
	mAb14293	448.8 $\pm$ 0.4	2.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14291	396.1 $\pm$ 4.2	0.3	NB	NB	NB	NB
	mAb14249	413.5 $\pm$ 1.6	-0.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14316	269.1 $\pm$ 1.4	3.9	NB	NB	NB	NB
	mAb14296	528.3 $\pm$ 1.5	1.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14231	410.9 $\pm$ 1.7	0.2	NB	NB	NB	NB

	mAb14288	459.0 ± 0.8	1.9	NB	NB	NB	NB
	mAb14297	451.0 ± 0.8	1.4	NB	NB	NB	NB
	mAb14290	379.4 ± 6.1	3.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14259	340.6 ± 0.2	1.9	NB	NB	NB	NB
5	mAb15156	447.5 ± 29.5	204.7	3.42E+05	6.61E-05	1.93E-10	174.6
	mAb15157	303.7 ± 13.3	42.5	3.02E+05	9.28E-05	3.08E-10	124.5
	mAb15158	328.2 ± 11.9	55.1	9.15E+04	1.40E-05	1.53E-10	825.0
	mAb15159	307.7 ± 25.7	147.1	8.75E+04	2.02E-05	2.31E-10	571.5
	mAb15160	318.2 ± 10.2	55.8	3.04E+05	3.10E-05	1.02E-10	372.6
	mAb15161	272 ± 25.5	127	2.80E+05	1.38E-05	4.90E-11	840.0
	mAb15162	303.6 ± 18	115.1	1.05E+05	6.79E-05	6.48E-10	170.0
10	mAb15163	373.8 ± 15.3	97.6	2.14E+05	1.15E-05	5.62E-11	1,002.6
	mAb15164	331.2 ± 15.7	107.4	2.98E+05	2.58E-05	8.65E-11	448.0
	mAb15165	286.2 ± 19.5	103.9	3.91E+05	1.09E-05	2.79E-11	1,058.7
	mAb15166	264.4 ± 15.1	87	2.76E+05	1.74E-04	6.30E-10	66.3
	mAb15167	348.2 ± 20.2	114.1	3.36E+05	1.59E-04	4.72E-10	72.8
	mAb15170	290 ± 10.6	48.4	1.20E+05	1.29E-05	1.10E-10	893.3
	mAb15150	290.2 ± 16	87.6	3.17E+05	1.00E-05	3.15E-11	1,155.0
15	mAb15151	375.4 ± 21.7	144.9	3.35E+05	6.26E-05	1.87E-10	184.5
	mAb1932	806.9 ± 10.9	2.6	NB	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

Tabla 12: Parámetros de unión cinética de la interacción de los anticuerpos monoclonales Anti-SARS-COV-2 con la proteína de fusión ECD foldon de la espícula de SARS-CoV2 trimérica a 37 °C.

mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	Trímero de la espícula.his unido a 50 nM	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	t½ (min)
mAb14312	541.7	500	9.66E+05	5.44E-05	5.63E-11	212.4
mAb14260	519.4	495.3	9.49E+05	5.73E-05	6.04E-11	201.5
mAb14284	865.5	631.1	8.14E+05	2.05E-05	2.51E-11	564.8
mAb14258	518	523.9	1.02E+06	7.93E-05	7.76E-11	145.7
mAb14294	463.8	440.6	6.94E+05	2.29E-05	3.30E-11	503.9
mAb14283	535.5	470	8.65E+05	7.32E-05	8.47E-11	157.8
mAb14235	386.4	396.9	7.35E+05	3.80E-05	5.17E-11	304
mAb14289	463.7	455.7	9.11E+05	6.63E-05	7.28E-11	174.3
mAb13458	548.9	466	8.15E+05	4.08E-05	5.00E-11	283.2
mAb14313	687.8	610.7	1.01E+06	9.94E-05	9.84E-11	116.2
mAb14247	221.2	247	6.74E+05	4.72E-05	7.01E-11	244.6
mAb14315	576.2	457.2	7.43E+05	3.25E-05	4.37E-11	355.7

5	mAb13459	826.8	632.1	7.94E+05	4.76E-05	5.99E-11	242.9
	mAb13457	468.9	452.4	7.67E+05	5.98E-05	7.79E-11	193.3
	mAb14257	602.9	684.6	1.17E+06	1.65E-04	1.41E-10	70.1
	mAb14255	516.8	575.4	1.03E+06	1.61E-04	1.55E-10	71.9
	mAb14286	437.5	539.2	2.59E+06	1.41E-04	5.44E-11	82
10	mAb14282	497	566.5	1.05E+06	1.71E-04	1.62E-10	67.7
	mAb14281	488.8	429.8	8.34E+05	1.16E-04	1.39E-10	99.7
	mAb14230	372.3	435.6	9.06E+05	8.97E-05	9.91E-11	128.7
	mAb14256	570.7	509.1	7.96E+05	2.42E-04	3.04E-10	47.7
	mAb14285	533.8	647.3	1.16E+06	4.18E-05	3.59E-11	276.3
15	mAb14280	594.3	650.1	9.85E+05	2.86E-05	2.90E-11	403.7
	mAb14234	564.5	473.8	6.99E+05	7.16E-05	1.02E-10	161.4
	mAb14232	104.1	119.6	7.51E+05	1.33E-04	1.77E-10	87.1
	mAb14292	504.7	236.7	5.92E+05	6.82E-03	1.15E-08	1.7
	mAb14314	697.7	259.4	4.59E+05	6.48E-03	1.41E-08	1.8
20	mAb14248	505.9	2	NB	NB	NB	NB
	mAb14295	558.8	6.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14233	558.6	1.5	NB	NB	NB	NB
	mAb14287	523.6	5.2	NB	NB	NB	NB
	mAb14293	537.9	3.5	NB	NB	NB	NB
25	mAb14291	511.8	1.1	NB	NB	NB	NB
	mAb14249	478.6	2.7	NB	NB	NB	NB
	mAb14316	306.5	4.8	NB	NB	NB	NB
	mAb14296	660.5	2.5	NB	NB	NB	NB
	mAb14231	489.4	2	NB	NB	NB	NB
30	mAb14288	571.6	2.9	NB	NB	NB	NB
	mAb14297	530.7	2.5	NB	NB	NB	NB
	mAb14290	457.4	4.3	NB	NB	NB	NB
	mAb14259	395.1	3	NB	NB	NB	NB
	mAb15156	463.7 ± 4.1	474.1	1.89E+06	2.12E-04	1.12E-10	54.5
	mAb15157	307.2 ± 1.0	298.2	1.70E+06	2.40E-04	1.41E-10	48.2
	mAb15158	295.7 ± 1.3	224.5	7.58E+05	4.07E-05	5.41E-11	283.6
	mAb15159	293.3 ± 2.0	196.2	4.67E+05	3.22E-05	6.86E-11	359.1
	mAb15160	400.3 ± 1.4	301.9	1.26E+06	1.67E-04	1.32E-10	69.2
	mAb15161	283.7 ± 0.9	281.6	1.48E+06	9.14E-05	6.16E-11	126.4
	mAb15162	323.0 ± 1.5	205.5	4.40E+05	1.87E-04	4.25E-10	61.7
	mAb15163	343.6 ± 1.3	323.9	1.35E+06	4.85E-05	3.64E-11	238.1
	mAb15164	387.4 ± 1.5	379.2	1.78E+06	1.38E-04	7.77E-11	84.0
	mAb15165	279.2 ± 1.5	318.7	2.12E+06	1.15E-04	5.42E-11	100.2
	mAb15166	265.2 ± 0.5	282.8	1.54E+06	8.32E-05	5.40E-11	138.8
	mAb15167	406.6 ± 1.0	446.1	1.76E+06	9.78E-05	5.57E-11	118.1
	mAb15170	303.3 ± 1.4	221.3	8.46E+05	1.00E-05	1.18E-11	1,155.0
	mAb15150	249.8 ± 1.8	246.8	1.68E+06	3.42E-05	2.02E-11	337.6

mAb15151	595.2 ± 0.8	372.7	1.92E+06	2.48E-04	1.29E-10	46.6
mAb1932	926.9 ± 3.8	11.4	NB	NB	NB	NB

hBST: tecnología de clasificación de linfocitos B humanos

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

5

Ejemplo 4: Neutralización de las proteínas de la espícula de tipo silvestre y variantes de SARS-CoV-2

Para evaluar si los anticuerpos anti-proteína de la espícula de SARS-CoV-2 pueden neutralizar las variantes del SARS-CoV-2, estos anticuerpos se tamizaron contra un panel de virus de pseudotipo VSV que expresan proteínas de la espícula de tipo silvestre y variantes.

10

Generación del VSV recombinante

Se generaron pseudopartículas no replicativas mediante el uso de un genoma del VSV que codifica la luciferasa de luciérnaga y los genes de GFP en lugar de la glicoproteína viral nativa (VSV-G).

Las partículas infecciosas complementadas con la VSV-G (VSV-ΔG-Fluc-2A-GFP/VSV-G) se recuperaron y produjeron mediante el uso de técnicas estándar con modificaciones menores. Las

15

células HEK293T (ATCC CRL-3216) se sembraron en placas tratadas con polilisina y se incubaron durante la noche en DMEM sin glutamina (Life Technologies), suero bovino fetal al 10 % (Life Technologies) y penicilina/estreptomicina/L-glutamina al 1 % (Life Technologies). Al

día siguiente, las células se transfectaron con el clon genómico del VSV impulsado por un promotor T7 y plásmidos cooperadores que expresan la polimerasa VSV-N, VSV-P, VSV-G, VSV-L, y T7 ARN con reactivo LTX de lipofectamina (Life Technologies). Después de 48 horas,

20

las células transfectadas se cocultivaron con células BHK-21 (ATCC CCL-10) transfectadas con la VSV-G mediante el uso del kit L de la línea celular SE 4D-Nucleofector X (Lonza) en DMEM sin glutamina (Life Technologies), suero bovino fetal al 3 % (Life Technologies) y

25

penicilina/estreptomicina/L-glutamina al 1 % (Life Technologies). Las células se monitorearon para determinar la expresión de GFP o el efecto citopático (CPE) indicativo de replicación del virus. Luego, el virus se purificó en placa, se expandió, y se tituló en células BHK-21 que expresan

transitoriamente la VSV-G. El virus VSV-SARS-CoV-2-S completamente replicativo se generó al reemplazar la glicoproteína VSV por las secuencias nativas de SARS-CoV-2 que codifican los

30

residuos 1-1,255 de la proteína de la espícula (núm. de acceso del NCBI MN908947.3). El virus VSV-SARS-CoV-2-espícula se recuperó como se describió anteriormente, pero las células HEK293T se cocultivaron con células BHK-21 transfectadas tanto con la VSV-G como con la

hACE2. El virus VSV-SARS-CoV-2-S fue purificado en placas y titulado en células Vero (ATCC CCL-81) y se expandió en células Vero E6 (ATCC CRL-1586). Después de la recolección, se centrifugaron las existencias de ambos virus a 3,000 x g durante 5 minutos para aclarar, sacarosa acolchada para concentrarse 10 veces, dividida en alícuotas, y congelada a -80 °C.

5 Pseudotipificación del VSV

Se generaron pseudopartículas no replicativas como se describió anteriormente (Baum y otros, *Science* 2020). La espícula de SARS-CoV-2 con codones optimizados para humanos (núm. de acceso del NCBI MN908947.3) se clonó en un plásmido de expresión. Un total de 1.2×10^7 células HEK293T (ATCC CRL-3216) se sembraron durante la noche en platos de 15 cm en DMEM sin glutamina (Life Technologies) que contenía suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (Life Technologies), y penicilina-estreptomicina-L-glutamina (Life Technologies). Al día siguiente, las células se transfectaron con plásmido de expresión de la espícula de 15 µg con Lipofectamine LTX (Life Technologies) como en el protocolo del fabricante. A las 24 horas después de la transfección, las células se lavaron con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) y se infectaron a una MOI de 1 con el virus VSV-ΔG-Fluc-2A-GFP/VSV-G diluido en 10 ml de Opti-MEM (Life Technologies). Las células se incubaron a 37 °C con CO₂ al 5 % durante 1 hora. Las células se lavaron tres veces con PBS para eliminar el virus de entrada residual y se superpusieron con DMEM con glutamina (Life Technologies) con BSA libre de IgG al 0.7 % (Sigma), piruvato de sodio (Life Technologies) y gentamicina (Life Technologies). Después de 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %, se recogió el sobrenadante que contenía pseudopartículas, se centrifugó a 3,000 x g durante 5 minutos para aclarar, se dividió en alícuotas y se congeló a -80 °C. Las variantes se clonaron en el plásmido de expresión de la espícula mediante el uso de mutagénesis dirigida al sitio y las pseudopartículas se produjeron como se describió anteriormente. Ensayos de neutralización con pseudopartículas basadas en el VSV.

Las células Vero (ATCC: CCL-81) se sembraron en placas tratadas con cultivo de tejido de fondo transparente negro de 96 pocillos (Corning: 3,904) a 20,000 células/pocillo en medio DMEM sin glutamina (Life Technologies) que contenía suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (Life Technologies) y penicilina/estreptomicina/L-glutamina 1X (Life Technologies) 24 horas antes del ensayo. Se permitió que las células alcanzaran aproximadamente un 85 % de confluencia antes de su uso en el ensayo. Los anticuerpos se diluyeron en medios de infección que contenían DMEM con glutamina (Life Technologies), BSA de IgG baja al 0.7 % (Sigma), piruvato de sodio 1X (Life Technologies) y gentamicina al 0.5 % (Life Technologies) hasta una concentración del ensayo de

2X y se diluyeron 3 veces en medios de infección, para una curva de dilución de 11 puntos en el ensayo a partir de 3 µg/ml (20 nM). Las diluciones de anticuerpos se mezclaron 1:1 con pseudopartículas durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de la adición a las células Vero. Las células se incubaron a 37 °C con CO₂ al 5 % durante 24 horas. Se eliminó el sobrenadante de las células antes de la lisis con 100 µl de amortiguador de lisis Glo (Promega). Después se añadieron 100 µl de sustrato Bright Glo resuspendido (Promega) y se leyó la luminiscencia en un Spectramax i3x (Molecular Devices). Los valores exportados se analizaron mediante el uso de GraphPad Prism (v8.4.1).

La concentración inhibitoria (IC₅₀) máxima media del anticuerpo monoclonal individual contra la proteína de la espícula (S) de VSV-SARS-CoV-2 que expresa el pseudovirus que codifica la secuencia Wuhan-Hu-1 (número de acceso del NCBI MN908947.3) de proteína de la espícula (S-wt) o la variante de proteína de la espícula D614G (SEQ ID NO: 1071) se determinó en células Vero (Tabla 13). La mayoría de los anticuerpos exhibieron potencia de neutralización en el intervalo picomolar (pM), y algunos exhibieron potencia de neutralización en el intervalo nanomolar (nM), y algunos no neutralizantes. Además, las IC₅₀ para los anticuerpos monoclonales individuales evaluados contra una variante de interés/en cuestión de los pseudovirus que expresan la proteína de la espícula (S) del VSV-SARS-CoV-2 (Tabla 14), que incluye la variante Ómicron (mutaciones individuales contenidas en Ómicron en la Tabla 15; conjunto completo de mutaciones Ómicron en la Tabla 16, y comparación y combinación con el mAb10933 y el mAb10987 en la Tabla 17). En el ensayo de neutralización de Ómicron, el mAb15160 no se vio afectado, mientras que el mAb14315 tuvo una neutralización marginalmente reducida. En función de estos resultados, una combinación de mAb14315/mAb15160 y una combinación de mAb15160/mAb14256 mantienen una neutralización efectiva de la variante Ómicron. Además, el mAb14284, el mAb14235 y el mAb14287 fueron neutralizadores potentes y no se vieron afectados por las variantes de Ómicron, mientras que el mAb15151 tuvo una disminución de medio logaritmo en la neutralización de la variante de Ómicron, pero mantuvo la potencia en función de sus fuertes propiedades de neutralización. Como se muestra en las tablas, cuanto menor es el cambio de pliegue con respecto al peso o D614G, menor es el impacto que las mutaciones de Ómicron tienen en la neutralización. Los datos de neutralización adicionales del mAb15160 y el mAb14284 se presentan en las Tablas 18 y 19, que muestran que estos anticuerpos son neutralizadores potentes de diferentes variantes, que incluyen linajes Ómicron.

Tabla 13: Potencia de neutralización del mAb (IC50 (M)) contra la cepa silvestre o la cepa D614G de las pseudopartículas del VSV-SARS-CoV-2-S en células Vero

	mAb	IC50 (M)
5	mAb13457	2.48E-11
	mAb13458	2.61E-11
	mAb13459	3.66E-11
	mAb14230	2.41E-11
	mAb14231	1.02E-09
10	mAb14232	6.35E-11
	mAb14233	5.42E-11
	mAb14234	3.98E-11
	mAb14235	3.38E-11
	mAb14247	5.80E-11
15	mAb14248	6.20E-11
	mAb14249	1.62E-10
	mAb14255	3.43E-11
	mAb14256	5.47E-11
	mAb14257	2.91E-11
20	mAb14258	5.57E-11
	mAb14259	3.72E-11
	mAb14260	9.28E-11
	mAb14280	2.86E-11
	mAb14281	3.35E-11
25	mAb14282	3.27E-11
	mAb14283	5.49E-11
	mAb14284	3.14E-11
	mAb14285	3.25E-11
	mAb14286	~ 2.616E11
30	mAb14287	1.99E-10
	mAb14288	1.38E-09
	mAb14289	4.02E-11
	mAb14290	1.20E-09
	mAb14291	1.23E-10
	mAb14292	5.77E-11
	mAb14293	1.10E-09
	mAb14294	5.67E-11
	mAb14295	1.95E-10
	mAb14296	5.26E-10
	mAb14297	3.85E-10
	mAb14312	4.66E-11
	mAb14313	2.72E-10
	mAb14314	sin actividad
	mAb14315	4.76E-11

5

10

mAb14316	1.29E-10
<u>mAb15156</u>	<u>2.09E-11</u>
<u>mAb15157</u>	<u>3.72E-11</u>
<u>mAb15158</u>	<u>1.24E-10</u>
<u>mAb15159</u>	<u>5.78E-11</u>
<u>mAb15160</u>	<u>4.58E-11</u>
<u>mAb15161</u>	<u>4.91E-11</u>
<u>mAb15162</u>	<u>1.11E-10</u>
<u>mAb15163</u>	<u>6.28E-11</u>
<u>mAb15164</u>	<u>2.48E-11</u>
<u>mAb15165</u>	<u>2.96E-11</u>
<u>mAb15166</u>	<u>1.61E-11</u>
<u>mAb15167</u>	<u>2.95E-11</u>
<u>mAb15170</u>	<u>1.22E-10</u>
<u>mAb15150</u>	<u>6.21E-11</u>
<u>mAb15151</u>	<u>7.09E-12</u>

Los valores de IC50 subrayados se determinaron mediante el uso de la proteína de la espícula D614G.

15

Tabla 14: IC50 (M) de neutralización de pseudopartículas de variantes de interés/en cuestión (VOC/VOI) en células Vero

20

25

30

mAb	B.1.1.7		B.1.351		P.1		E484K		L452R	
	IC50	FC	IC50	FC	IC50	FC	IC50	FC	IC50	FC
mAb 14255	1.8E-11	1.2	3.9E-11	1.9	4.1E-11	1.7	4.5E-11	2.8	2.9E-11	1.4
mAb 14256	4.3E-11	1.0	1.5E-11	0.4	1.3E-11	0.3	1.6E-11	0.8	2.8E-11	0.7
mAb 14257	1.1E-11	1.6	1.7E-08	> 48,988	ND	ND	NA	> 2,640	ND	ND
mAb 14258	1.0E-10	1.5	NA	> 1,754	ND	ND	NA	> 794	ND	ND
mAb 14312	ND	ND	2.9E-10	9.3	ND	ND	ND	ND	7E-11	2.2
mAb 14315	8.0E-11	2.7	9.8E-12	0.3	4.1E-11	0.6	1.5E-11	0.5	4.2E-11	1.0
mAb 15156	3.1E-11	1.5	4.8E-12	0.2	ND	ND	ND	ND	3.7E-11	1.4
mAb 15157	5.7E-11	1.5	1.4E-11	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mAb 15158	1.1E-10	0.9	2.1E-08	172	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mAb 15159	7.7E-11	1.3	2.6E-11	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mAb 15160	5.3E-11	1.2	1.1E-11	0.2	ND	ND	ND	ND	5.8E-11	1.6
mAb 15161	7.2E-11	1.5	1.5E-11	0.3	ND	ND	ND	ND	5.9E-11	1.1

5	mAb 15162	7.5E-11	0.7	4.2E-11	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	mAb 15163	6.5E-11	1.0	2.5E-10	4.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	mAb 15164	2.7E-11	1.1	2.6E-11	1.0	ND	ND	ND	ND	3.0E-11	2.0
	mAb 15165	2.9E-11	1.0	1.6E-11	0.6	ND	ND	ND	ND	2.9E-11	2.2
	mAb 15166	2.4E-11	1.5	1.9E-10	12.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	mAb 15167	2.9E-11	1.0	3.1E-10	10.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	mAb 15170	9.5E-11	0.8	8.9E-11	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	mAb 15150	8.3E-11	1.3	5.7E-12	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	mAb 15151	1.1E-11	1.0	5.4E-12	0.8	ND	ND	2.3E-11	2.1	2E-11	0.9

Se evaluaron las variantes B.1.1.7 (H69del, V70del, Y145del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H), B.1.351 (D80Y, D215Y, L241del, L242del, A243del, L242del, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V) y P.1 (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I, V1176F) completas. Se evaluaron los residuos clave de RBD de los linajes B.1.429 (L452R) y B.1.526 (E484K).

- 15 La disminución de la potencia (FC) se calculó con relación al peso o el control de D614G a partir del mismo ensayo

NA: Sin actividad

ND: No determinado

Tabla 15: IC50 (M) de neutralización de pseudopartículas y cambio de variantes en las células Vero

Proteína de la espícula	mAb14256	mAb14315	mAb15160	mAb10985
<i>WT/D614G (IC50)</i>	<i>2.606E-11</i>	<i>2.95E-11</i>	<i>4.58E-11</i>	<i>2.17E-10</i>
K417N (FC)	1.46	0.66	0.86	1.38
N440K (FC)	2.51	0.94	ND	1.41
S477N (FC)	1.01	0.60	1.01	1.32
T478K (FC)	0.81	0.96	1.98	0.98
Q493R (FC)	0.86	0.45	ND	0.38
N501Y (FC)	1.06	ND	1.81	1.28

Cursiva: Valores de IC50 para cada anticuerpo contra el peso o el control de D614G de la proteína de la espícula

La disminución de la potencia (FC) se calculó con relación al peso o el control de D614G a partir del mismo ensayo

ND: No determinado

Tabla 16: IC50 (M), IC90 (M) e IC50 de neutralización de pseudopartículas y cambio de la variante Ómicron del SARS-CoV-2 en las células Vero

Glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2	mAb14256	mAb14315	mAb15160	mAb15160 + mAb14315	mAb14256 + mAb15160
IC50 de D614G (control) (IC90, donde se proporcione)	5.33E-11 (4.08E-10)	4.97E-11	2.95E-11	4.76E-11	4.84E-11
IC50 de Ómicron (IC90, donde se proporcione)	NC (NC)	1.45E-10	1.71E-11	6.47E-11	1.02E-10
FC IC50 de D614G (control) (log10 FC)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
FC IC50 de ómicron (log10 FC)	<u>375.38 (2.57)</u>	2.91 (0.46)	0.58 (-0.24)	1.36 (0.13)	2.10 (0.32)

Tabla 16 (continuación)

Glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2	mAb14284	mAb14235	mAb14294	mAb14234	mAb14312
D614G (control)	8.25E-12	3.79E-12	5.00E-12	2.38E-12	1.00E-12
Ómicron	1.03E-11	6.84E-12	6.67E-12	2.62E-12	7.94E-13
FC IC50 de D614G (control) (log10 FC)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
FC IC50 de ómicron (log10 FC)	1.25 (0.10)	1.81 (0.26)	1,418.80 (3.15)	21.82 (1.34)	5,287.59 (3.72)

Tabla 16 (continuación)

Glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2	mAb15170	mAb15162	mAb15150	mAb15151	mAb15159	mAb15161
D614G (control)	6.41E-12	4.31E-12	8.52E-13	7.78E-13	4.34E-12	1.92E-12
Ómicron	6.11E-12	7.25E-12	1.23E-12	2.44E-12	5.05E-12	1.08E-12
FC IC50 de D614G (control) (log10 FC)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
FC IC50 de ómicron (log10 FC)	37.20 (1.57)	27.88 (1.45)	392.47 (2.59)	3.14 (0.50)	214.77 (2.33)	160.43 (2.21)

Glicoproteína de la espícula de SARS-CoV-2	mAb15157	mAb15156	mAb14287	mAb14297
D614G (control)	1.01E-12	4.62E-13	2.18E-12	9.72E-12
Ómicron	1.15E-12	4.96E-13	4.42E-12	NC
FC IC50 de D614G (control) (log10 FC)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
FC IC50 de ómicron (log10 FC)	19,841.27 (4.30)	74.72 (1.87)	0.20 (-0.69)	2,058.67 (3.31)

La proteína de la espícula del Ómicron usada comprende las siguientes mutaciones de la SEQ ID NO: 1073: A67V, Δ69-70, T95I, G142D/Δ143-145, Δ211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L,

S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F

NC: Sin IC₅₀ calculada debido a la ausencia de actividad

FC: Cambio en veces calculado con relación al control de D614G

Valores en negrita y subrayados: El cambio en veces es al menos este valor, calculado como la concentración más alta del ensayo/IC₅₀ de D614G; la concentración más alta del ensayo fue de 2.00E-08

Tabla 17: IC₅₀ (M) e IC₅₀ de neutralización de pseudopartículas y cambio de la variante Ómicron (B.1.1.529/BA.1) del SARS-CoV-2 en las células Vero

	mAb10933 + mAb10987		mAb15160		mAb15160 + mAb10933 + mAb10987 2:1:1 (valores inferidos)	
Variante ^a	IC ₅₀ (M)	Disminución en veces de la IC ₅₀ sobre el virus de referencia ^b	IC ₅₀ (M)	Disminución en veces de la IC ₅₀ sobre el virus de referencia ^b	IC ₅₀ (M)	Disminución en veces de la IC ₅₀ sobre el virus de referencia ^b
Control de D614G	9.91E-12	1.0	1.92E-11	1.0	3.84E-11	1.0
B.1.1.529/BA.1 (Ómicron)	NC	> 2,018.98 ^c	3.18E-11	1.65	6.36E-11	3.3

^a Sustituciones de aminoácidos frente a la proteína S del linaje Wuhan: B.1.1.529/BA.1 (A67V, del69-70, T95I, G142D/del143-145, del211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F)

^b La disminución en veces con relación al virus D614G de referencia (ref) se calculó al dividir el valor de IC₅₀ generado por el(los) anticuerpo(s) en presencia de una variante particular por el valor de IC₅₀ generado por el(los) anticuerpo(s) en presencia del virus de referencia del mismo ensayo.

^c Cuando no pudo calcularse con exactitud un valor de IC₅₀, el cambio en la potencia del mAb en presencia de cada mutante se calculó al dividir la concentración máxima de anticuerpos analizada (20 nM) por el valor de IC₅₀ calculado para la VLP de D614G de referencia. El cambio en veces real es al menos el del valor indicado.

Abreviaturas: NC, no calculado debido a mala o falta de neutralización

Tabla 18: Valores de IC₅₀ e IC₉₀ para la neutralización mediada por el mAb15160 de la entrada de pVSV-Luc-SARS-CoV-2-S pseudotipado con variantes de la proteína S en células Vero

Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	mAb15160			mAb10933 (Casirivimab)			mAb10987 (Imdevimab)			Casirivimab+Imdevimab		
	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
Secuencias completas o residuos clave de las variantes en vigilancia ^a y otros linajes de múltiples variantes												
B.1.1.7 (Alfa)	5.28E-11	2.21E-10	1.15	2.26E-11	2.23E-10	0.69	1.71E-11	9.31E-11	0.41	1.11E-11	9.09E-11	0.46
B.1.351 (beta)	1.07E-11	1.70E-10	0.23	2.87E-09	2.68E-08	87.97	2.12E-11	4.43E-11	0.51	2.67E-11	2.54E-10	1.11
P.1 (Gamma)	1.02E-11	6.55E-11	0.48	7.52E-09	3.16E-07	167.54	4.58E-12	6.46E-11	0.18	1.01E-11	7.63E-11	1.16
B.1.617.2 (triángulo)	2.80E-11	1.55E-10	3.07	4.32E-12	4.23E-11	0.55	1.04E-11	2.11E-10	1.26	7.45E-12	5.02E-11	1.06

5

10

15

20

25

30

Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	mAb15160			mAb10933 (Casirivimab)			mAb10987 (Imdevimab)			Casirivimab+Imdevimab		
	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
K417N+L452R+T478K (AY.1 [Delta])	5.61E-12	1.04E-10	0.16	1.81E-11	5.01E-10	1.23	8.08E-12	1.46E-10	0.58	7.50E-12	5.53E-11	0.55
L145H+A222V+L452R+T478K (AY4.2 [Delta])	2.32E-11	1.82E-10	1.73	1.15E-11	8.27E-11	0.70	3.60E-11	6.57E-10	1.94	1.55E-11	7.38E-11	1.51
L452R (B.1.427/B.1.429 [Épsilon])	5.83E-11	2.24E-10	1.55	5.60E-11	3.17E-10	0.76	7.83E-11	7.26E-10	1.03	4.96E-11	1.64E-10	1.15
E484K (B.1.526 [Iota])	5.97E-11	4.83E-10	2.84	2.49E-10	3.53E-09	5.55	2.62E-11	4.30E-10	1.01	3.20E-11	1.60E-10	3.67
B.1.617.1 (Kappa)	2.98E-11	1.76E-10	2.98	1.14E-10	1.06E-09	22.12	1.51E-11	1.63E-10	1.68	2.45E-11	9.08E-11	3.07
F490S+L452Q (C.37 [Lambda])	2.64E-11	2.35E-10	0.73	1.37E-11	1.73E-10	0.93	4.23E-11	5.72E-10	3.05	1.53E-11	1.23E-10	1.12
R346K+E484K+N501Y (B.1.621 [Mu])	2.52E-11	2.95E-10	1.71	2.10E-10	1.74E-09	19.22	9.03E-12	1.00E-10	0.60	1.44E-11	1.54E-10	1.29
BA.1 (Ómicron)	1.84E-11	1.80E-10	1.05	NC	NC	> 1,731.60 ^b	NC	NC	> 754.43 ^b	NC	NC	> 1,012.66 ^b
BA.1.1 (Ómicron)	2.26E-11	1.57E-10	0.96	NC	NC	> 1,336.01 ^b	NC	NC	> 1,108.65 ^b	NC	NC	> 1,460.92 ^b
BA.2 (Ómicron)	1.46E-11	1.53E-10	2.08	6.80E-09	8.04E-08	461.82	2.19E-09	1.99E-08	158.12	2.60E-09	1.82E-08	190.26
BA.2.12.1 (Ómicron)	5.63E-11	4.67E-10	2.22	NC	NC	> 702.26	3.18E-09	1.79E-08	137.46	4.77E-09	1.71E-08	275.13
BA.3 (Ómicron)	6.06E-11	1.16E-09	3.34	NC	NC	1,258.65	NC	NC	899.69	NC	NC	1,456.66
BA.4/BA.5 (Ómicron)	NC	NC	> 701.48	NC	NC	652.76	1.38E-09	1.10E-08	54.10	3.67E-09	1.91E-08	200.81
N439K+E484K (AV.1)	3.57E-11	4.00E-10	3.92	1.22E-10	1.98E-09	15.58	NC	NC	> 2,417.79 ^b	4.23E-10	2.99E-09	60.04
N440K+E484K (B.1.619, B.1.619.1, B.1.625)	3.25E-11	4.37E-10	3.57	2.03E-10	2.41E-09	25.89	1.85E-09	1.07E-07	223.53	2.76E-10	1.60E-09	39.20
C.1.2	3.75E-11	2.03E-10	2.79	1.76E-10	1.22E-09	10.69	8.62E-12	8.51E-11	0.46	1.57E-11	8.03E-11	1.53
Todas las variantes de una sola mutación												
Y145H	1.88E-11	1.03E-10	1.40	1.61E-11	7.83E-11	0.98	2.13E-11	1.51E-10	1.15	1.46E-11	4.36E-11	1.43
W152C	1.24E-11	1.60E-10	0.34	4.99E-12	1.37E-10	0.34	9.60E-12	1.05E-10	0.69	8.86E-12	1.01E-10	0.65
V308L	2.86E-11	2.58E-10	0.79	1.39E-11	1.46E-10	0.95	1.62E-11	1.60E-10	1.17	1.23E-11	1.05E-10	0.90
G339D	5.47E-11	2.42E-10	1.46	2.54E-11	2.26E-10	0.94	2.52E-11	1.98E-10	1.00	2.22E-11	9.66E-11	1.43

	Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	mAb15160			mAb10933 (Casirivimab)			mAb10987 (Imdevimab)			Casirivimab+Imdevimab		
		IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
5		11				10			10		11	11	
	E340A	2.16E-11	2.02E-10	0.74	2.36E-11	1.10E-10	0.78	2.13E-11	2.26E-10	0.59	1.48E-11	1.02E-10	1.22
	E340K	2.54E-11	1.81E-10	0.86	1.98E-11	1.95E-10	0.65	1.63E-11	4.20E-10	0.45	1.13E-11	1.36E-10	0.93
	R346K	3.95E-11	2.56E-10	2.99	2.45E-11	1.48E-10	1.44	2.90E-11	1.85E-10	2.51	2.10E-11	8.42E-11	2.39
10	R346S	3.21E-11	1.65E-10	1.36	2.31E-11	1.34E-10	1.54	2.76E-11	2.28E-10	1.53	1.90E-11	8.63E-11	1.39
	S371L	2.62E-10	1.01E-09	7.00	1.37E-10	3.99E-10	5.07	1.78E-10	6.48E-10	7.07	9.21E-11	2.52E-10	5.96
	A372T	3.00E-12	1.57E-10	0.16	2.01E-13	7.46E-12	0.05	4.09E-12	8.55E-11	0.35	3.46E-12	4.35E-11	0.35
	S373P	3.58E-11	1.66E-10	0.96	1.90E-11	1.07E-10	0.71	1.88E-11	1.16E-10	0.74	1.26E-11	7.11E-11	0.82
15	S375F	1.72E-11	7.65E-11	0.46	8.68E-12	1.13E-10	0.32	7.45E-12	2.75E-11	0.30	5.17E-12	4.04E-11	0.33
	D389Y	6.90E-12	6.82E-11	0.17	2.24E-12	3.73E-11	0.12	5.74E-12	8.36E-11	0.41	4.69E-12	3.96E-11	0.24
	D405N	3.26E-11	2.10E-10	1.38	3.06E-11	2.69E-10	2.04	1.29E-11	1.78E-10	0.71	1.73E-11	7.98E-11	1.27
	E406D	1.91E-11	2.51E-10	1.91	5.69E-10	5.05E-09	110.30	2.08E-11	4.32E-10	2.31	3.67E-11	4.50E-10	4.60
20	E406Q	2.05E-11	1.72E-10	2.07	1.07E-09	6.74E-09	255.89	1.12E-11	1.63E-10	2.32	2.10E-11	2.99E-10	11.37
	K417N	2.47E-11	2.29E-10	1.27	8.96E-11	1.15E-09	8.74	6.22E-12	7.65E-11	1.35	1.35E-11	5.16E-11	1.54
	K417R ^c	5.04E-12	1.96E-11	2.37	4.10E-09	2.96E-08	61.23	2.92E-11	2.92E-10	1.70	1.24E-10	6.59E-10	2.45
	N439K	2.13E-11	1.06E-10	0.57	4.47E-11	4.31E-10	0.60	1.77E-08	1.12E-07	231.51	7.25E-11	2.50E-10	1.69
25	N440D	5.41E-11	3.94E-10	2.28	1.69E-11	2.09E-10	1.04	1.92E-09	1.42E-08	119.13	6.71E-11	4.36E-10	4.90
	N440K	2.44E-11	2.06E-10	1.26	1.02E-11	1.22E-10	0.99	1.34E-09	1.57E-08	291.40	1.88E-11	3.28E-10	2.15
	V445T	2.23E-11	1.85E-10	0.94	2.27E-11	1.82E-10	1.52	7.25E-09	6.14E-08	401.72	4.86E-11	4.00E-10	3.55
	G446D	1.58E-11	2.80E-10	0.44	1.75E-11	1.79E-10	1.19	7.66E-09	3.38E-08	553.07	3.52E-11	2.71E-10	2.58
30	G446R	2.59E-11	1.72E-10	1.09	1.09E-11	1.05E-10	0.68	4.41E-09	4.26E-08	273.91	4.36E-11	2.74E-10	3.18
	G446S	1.13E-11	1.74E-10	0.58	8.70E-12	7.95E-11	0.85	4.24E-09	1.61E-08	920.25	1.95E-11	2.24E-10	2.23
	Y449F	2.03E-11	2.25E-10	0.64	8.48E-12	6.34E-11	0.59	1.07E-11	9.56E-11	0.96	6.23E-12	4.90E-11	0.82
	Y449H	3.68E-11	2.12E-10	1.26	2.74E-11	1.56E-10	0.91	3.11E-12	6.68E-11	0.09	1.42E-11	1.43E-10	1.17
30	Y449N	2.68E-11	2.64E-10	1.13	1.23E-11	1.16E-10	0.82	5.14E-12	3.84E-11	0.28	7.83E-12	3.38E-11	0.57
	N450K	4.75E-11	2.88E-10	0.83	4.40E-11	1.97E-10	0.91	2.95E-11	1.60E-10	0.84	3.18E-11	1.07E-10	0.91
	L452R	5.83E-11	2.24E-10	1.55	5.60E-11	3.17E-10	0.76	7.83E-11	7.26E-10	1.03	4.96E-11	1.64E-10	1.15

	Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	mAb15160			mAb10933 (Casirivimab)			mAb10987 (Imdevimab)			Casirivimab+Imdevimab		
		IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
5		11				10			10		11	10	
	L455F	3.15E-11	3.00E-10	0.78	7.69E-09	9.21E-08	426.00	1.93E-11	1.05E-10	1.39	2.73E-11	2.94E-10	1.39
	K458N	4.50E-11	2.76E-10	1.86	1.76E-11	1.89E-10	1.14	1.92E-11	1.38E-10	1.60	1.39E-11	7.82E-11	2.58
	K458R	2.20E-11	1.94E-10	2.77	7.59E-12	1.09E-10	1.36	7.71E-12	1.57E-10	0.96	6.58E-12	9.08E-11	1.28
10	A475V	1.47E-11	1.09E-10	0.61	1.48E-11	1.49E-10	0.96	1.05E-11	8.96E-11	0.88	8.43E-12	5.26E-11	1.56
	S477N	3.78E-11	1.47E-10	1.01	9.78E-11	4.22E-10	1.32	6.54E-11	4.44E-10	0.86	4.15E-11	1.68E-10	0.97
	S477R	3.87E-11	2.16E-10	1.60	1.29E-11	1.14E-10	0.84	3.19E-11	1.70E-10	2.67	1.19E-11	6.78E-11	2.19
	T478I	4.19E-11	2.76E-10	1.73	2.44E-11	1.84E-10	1.58	2.42E-11	1.73E-10	2.02	1.58E-11	9.96E-11	2.93
15	T478K	2.45E-11	1.87E-10	1.26	7.11E-12	9.04E-11	0.69	1.23E-11	2.96E-10	2.66	6.28E-12	6.43E-11	0.72
	P479S	2.63E-11	1.88E-10	1.09	2.31E-11	1.76E-10	1.50	2.12E-11	1.56E-10	1.77	1.03E-11	6.23E-11	1.90
	E484A	5.09E-11	2.73E-10	1.36	1.03E-10	7.12E-10	3.83	1.10E-11	1.04E-10	0.43	1.87E-11	1.04E-10	1.21
	E484K	5.97E-11	4.83E-10	2.84	2.49E-10	3.53E-09	5.55	2.62E-11	4.30E-10	1.01	3.20E-11	1.60E-10	3.67
20	G485S	2.30E-11	1.31E-10	0.97	4.24E-11	3.46E-10	2.83	1.23E-11	1.10E-10	0.68	1.93E-11	6.01E-11	1.41
	F486V	NC	NC	> 531.21 ^b	NC	NC	> 269.61 ^b	5.75E-11	2.40E-10	0.75	9.85E-11	3.68E-10	2.29
	Y489H	2.53E-09	6.61E-09	121.48	NC	NC	> 2,311.60 ^b	3.55E-12	7.16E-11	0.35	2.15E-11	2.42E-10	2.57
	F490L	5.68E-11	2.08E-10	1.94	2.96E-11	1.69E-10	0.98	2.37E-11	1.51E-10	0.65	1.43E-11	1.53E-10	1.18
25	F490S	1.76E-11	2.69E-10	0.60	2.53E-11	1.45E-10	0.84	7.24E-12	4.51E-10	0.20	1.65E-11	1.81E-10	1.36
	F490Y	1.86E-11	1.67E-10	0.79	9.70E-12	1.47E-10	0.65	1.33E-11	1.51E-10	0.74	1.62E-11	7.39E-11	1.18
	Q493E	8.85E-12	6.10E-11	1.11	NC	NC	> 3,588.73 ^b	1.34E-11	8.69E-11	1.67	3.05E-11	2.69E-10	5.95
	Q493K	4.57E-11	6.68E-10	3.40	6.25E-09	1.31E-07	378.67	1.77E-11	1.53E-10	0.95	4.22E-11	3.40E-10	4.11
30	Q493R	9.47E-11	5.79E-10	4.88	8.68E-10	8.94E-09	84.71	1.76E-11	1.12E-10	3.82	2.79E-11	2.56E-10	3.18
	G496S	4.53E-11	1.72E-10	1.21	2.25E-11	1.07E-10	0.83	1.28E-10	9.49E-10	5.08	2.66E-11	9.64E-11	1.72
	Q498R	4.72E-11	2.55E-10	1.26	1.89E-11	2.02E-10	0.70	1.93E-11	2.00E-10	0.77	1.53E-11	7.85E-11	0.99
	T500A	1.18E-12	6.09E-10	0.12	3.74E-12	3.45E-10	0.90	4.91E-11	4.77E-10	10.21	9.85E-12	1.05E-10	5.32
30	T500F	8.35E-12	1.97E-10	0.84	2.76E-12	8.39E-11	0.66	1.70E-12	2.56E-11	0.35	2.54E-12	1.90E-11	1.37
	N501Y	5.40E-11	2.79E-10	2.78	2.13E-11	2.08E-10	2.08	6.85E-12	8.63E-11	1.49	1.03E-11	5.18E-11	1.17
	Y505F	4.34E-	3.08E-10	1.07	2.06E-11	2.27E-	1.14	1.84E-11	1.50E-	1.32	1.62E-	1.10E-	0.82

Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	mAb15160			mAb10933 (Casirivimab)			mAb10987 (Imdevimab)			Casirivimab+Imdevimab		
	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
	11				10			10		11	10	
Y505H	2.84E-11	1.64E-10	0.76	1.40E-11	8.52E-11	0.52	9.54E-12	5.75E-11	0.38	1.40E-11	5.52E-11	0.91

^a Secuencias completas y/o residuos clave de la proteína S de variantes bajo vigilancia; secuencias de proteína S completas: **B.1.1.7** (H69del, V70del, Y145del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H), B.1.351 (D80Y, D215G, L241del, L242del, A243del, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V), P.1 (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I, V1176F), B.1.617.2 (T19R, G142D, E156G, F157del, R158del, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N), B.1.617.1 (T95I, G142D, E154K, L452R, E484Q, D614G, P681R, Q1071H), BA.1 (A67V, del69-70, T95I, G142D/del143-145, del211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F), BA.1.1 (BA.1+R346K), BA.2 (T19I, del24-26, A27S, G142D, V213G, G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, S477N, T478K, E484A, Q493R, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K); residuos clave de la proteína S: AY.1 (K417N+L452R+T478K), AY4.2 (Y145H+A222V+L452R+T478K), B.1.427/B.1.429 (L452R), B.1.526 (E484K), B.1.621 (R346K+E484K+N501Y), AV.1 (N439K+E484K), B.1.619/B.1.619.1/B.1.625 (N440K+E484K), C.1.2 (Y449H+E484K+N501Y).

^b Cuando no pudo calcularse con exactitud un valor de IC₅₀, el cambio en la potencia del mAb en presencia de cada mutante se calculó al dividir la concentración máxima de anticuerpos analizada (20 nM) por el valor de IC₅₀ calculado para casirivimab, imdevimab, o casirivimab+imdevimab en la presencia de pseudopartículas de pVSV-SARS-CoV-2-S de referencia.

^c Los valores de IC₅₀ e IC₉₀ para la neutralización de esta variante por el mAb15160 e imdevimab se compararon con diferentes conjuntos de datos de virus de referencia que casirivimab y casirivimab+imdevimab.

del, delección; ins, inserción; NA, no corresponde; NC, no calculado debido a mala o falta de neutralización; NT, no evaluado

Cambio en veces calculado con relación al control de D614G

Tabla 19: Resumen de los valores de IC₅₀ e IC₉₀ para la neutralización mediada por REGN14284

de la entrada de pVSV-Luc-SARS-CoV-2-S pseudotipado con variantes de la proteína S en células Vero

Variante de la proteína S del SARS-CoV-2		IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
Secuencias completas o residuos clave de las variantes en vigilancia ^a y otros linajes de múltiples variantes				
Alfa	B.1.1.7 ^a	1.14E-11	7.58E-11	1.14
Beta	B.1.351 ^a	9.73E-12	6.15E-11	0.98
Gamma	P.1 ^a	8.34E-12	7.52E-11	0.84
Delta	B.1.617.2 ^a	6.09E-12	6.07E-11	0.69
	K417N+L452R+T478K (AY.1) *	3.42E-12	3.53E-11	0.50
	Y145H+A222V+L452R+T478K (AY4.2)	2.53E-11	2.34E-10	0.75
Épsilon	W152C+L452R (B.1.427/B.1.429)	1.28E-11	9.23E-11	1.18
Iota	E484K ^(B.1.526)	5.40E-11	5.30E-10	1.61
Kappa	B.1.617.1 ^a	4.24E-11	3.84E-10	1.26

	Variante de la proteína S del SARS-CoV-2		IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
5	Lambda	F490S+L452Q (C.37) *	1.20E-11	1.58E-10	1.17
	Mu	R346K+E484K+N501Y (B.1.621)	9.89E-12	8.66E-11	0.99
	Ómicron	BA.1 ^a *	8.86E-12	1.09E-10	1.63
		BA.1.1 ^a	1.00E-11	1.03E-10	0.58
		BA.2 ^a *	1.13E-11	1.54E-10	0.98
		BA.2.12.1 ^a *	2.55E-11	2.12E-10	1.40
		BA.3 ^a	2.22E-11	4.41E-10	2.52
BA.4/BA.5 ^a *	1.85E-11	1.89E-10	0.79		
10	NA	C.1.2	3.16E-11	3.20E-10	0.94
Todas las variantes de una sola mutación					
15	W152C		9.40E-12	6.46E-11	0.81
	S247R		3.70E-12	3.53E-11	0.90
	V308L		1.38E-11	1.30E-10	1.19
	N334D		6.69E-12	1.75E-10	1.01
	G339D		4.01E-11	2.86E-10	1.68
	E340A		1.43E-11	1.28E-10	1.86
	E340K		1.16E-11	8.07E-11	1.51
	R346K		1.04E-11	9.43E-11	1.41
	R346S		2.73E-11	1.05E-10	1.59
	S371F		4.66E-11	2.80E-10	12.75
20	S371Y		4.00E-11	3.21E-10	7.78
	A372T		1.16E-11	1.14E-10	1.56
	T376A		2.64E-12	4.44E-11	0.72
	T376S		1.54E-11	1.59E-10	0.65
	D405N		8.15E-12	7.93E-11	0.47
	E406W		1.67E-11	4.82E-10	1.91
	R408S		9.12E-12	6.38E-11	2.49
	K417T		6.45E-12	7.44E-11	1.76
	Y421F		4.47E-12	8.04E-11	0.51
	N439K		4.13E-11	8.23E-10	1.98
25	N439V		1.59E-11	1.97E-10	0.76
	N440D		5.16E-11	5.34E-10	2.47
	N440K		3.09E-11	7.31E-10	1.48
	L441F		1.80E-11	1.36E-10	0.86
	L441Q		2.78E-11	2.69E-10	1.33
	K444L		NC	NC	> 957.40 ^b
	K444M		5.23E-10	5.92E-09	25.03
	K444N		NC	NC	> 957.40 ^b
	K444Q		4.93E-09	5.90E-08	236.00
	K444R		4.33E-12	4.92E-11	1.54

	Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
	K444T	NC	NC	> 5,599.10 ^b
5	V445A	1.88E-10	2.81E-09	57.18
	V445T	9.18E-10	8.56E-09	53.44
	G446D	2.34E-10	1.94E-09	20.28
	G446R	3.37E-11	2.51E-10	10.23
	G446S	8.96E-12	6.40E-11	2.72
	G446V	3.38E-11	7.30E-10	9.46
	G447V	2.35E-11	3.12E-10	8.34
10	N448S	2.62E-12	4.64E-11	0.30
	Y449D	8.48E-12	1.01E-10	2.57
	Y449F	7.32E-12	4.74E-11	0.85
	Y449H	1.04E-11	8.45E-11	1.36
	Y449N	7.92E-12	9.05E-11	0.46
	Y449S	8.70E-12	8.60E-11	2.64
	N450K	8.36E-12	1.19E-10	0.72
15	L452M	8.87E-12	6.13E-11	2.16
	L452Q	2.61E-11	1.79E-10	1.10
	L452R	5.49E-11	7.32E-10	1.63
	F456L	5.87E-12	1.05E-10	0.67
	Y473F	6.01E-12	8.57E-11	0.68
	A475V	7.47E-12	8.37E-11	0.65
	S477N	1.37E-11	2.02E-10	1.70
20	T478K	1.34E-11	1.69E-10	1.66
	E484A	1.38E-11	1.74E-10	0.58
	E484K	5.40E-11	5.30E-10	1.61
	E484Q	3.04E-12	4.51E-11	0.35
	G485S	8.52E-12	9.47E-11	0.50
	G485V	9.62E-12	9.33E-11	1.10
	F486S	1.79E-11	5.36E-10	2.03
25	F486V	6.23E-11	3.18E-10	7.72
	Y489H	8.93E-13	4.43E-11	0.15
	F490L	2.12E-11	1.41E-10	2.76
	F490S	2.04E-11	1.19E-10	2.65
	F490Y	1.20E-11	7.26E-11	0.70
	Q498H	1.10E-11	1.41E-10	3.09
	Q498R	2.24E-11	1.35E-10	0.94
30	T500A	1.46E-11	1.02E-10	4.07
	T500F	8.56E-12	3.85E-11	2.40
	T500N	2.28E-11	1.52E-10	3.45
	N501T	5.57E-12	3.47E-11	1.69

Variante de la proteína S del SARS-CoV-2	IC ₅₀ [M]	IC ₉₀ [M]	Cambio en veces en la IC ₅₀ sobre el virus de referencia
N501Y	1.22E-11	1.42E-10	1.51
Y505H	2.46E-11	2.00E-10	1.03

* Los valores mostrados para el virus de referencia/variante indicada representan la media geométrica de al menos 3 ensayos replicados.

^a Se evaluaron secuencias de la proteína S completas y/o residuos clave de variantes bajo vigilancia. Los residuos clave evaluados y los linajes que representan se muestran en la tabla. Las secuencias completas se indican mediante la nota al pie 'a' dentro de la tabla y contienen las siguientes sustituciones en la secuencia de referencia de la proteína S de Wuhan-Hu-1: B.1.1.7 (H69del, V70del, Y145del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H), B.1.351 (D80Y, D215G, L241del, L242del, A243del, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V), P.1 (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I, V1176F), B.1.617.2 (T19R, G142D, E156G, F157del, R158del, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N), B.1.617.1 (T95I, G142D, E154K, L452R, E484Q, D614G, P681R, Q1071H), BA.1 (A67V, del69-70, T95I, G142D/del143-145, del211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F), BA.1.1 (BA.1+R346K), BA.2 (T19I, del24-26, A27S, G142D, V213G, G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, S477N, T478K, E484A, Q493R, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K), BA.2.12.1 (BA.2+L452Q), BA.3 (G142D, G339D, S371F, S373P, S375F, D405N, K417N, D614G, H655Y, N679K, P681H, D796Y, Q954H, N969K), BA.4/BA.5 (ambos linajes tienen una secuencia de la proteína S idéntica [T19I, L24del, P25del, P26del, A27S, H69del, V70del, G142D, V213G, G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, L452R, S477N, T478K, E484A, F486V, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K])

^b Cuando no pudo calcularse con exactitud un valor de IC₅₀, el cambio en la potencia del mAb en presencia de cada mutante se calculó al dividir la concentración máxima de anticuerpos analizada (20 nM) por el valor de IC₅₀ calculado para el anticuerpo en la presencia de pseudopartículas de pVSV-SARS-CoV-2-S de referencia.

del, delección; ins, inserción; NC, no calculado debido a mala o falta de neutralización

El mAb14284 se evaluó en concentraciones que oscilaron entre aproximadamente 300 fM y 20 nM. El cambio en veces sobre el virus de referencia (ref) se calculó al dividir el valor de IC₅₀ determinado para el anticuerpo en presencia de una variante particular por el valor de IC₅₀ determinado para el anticuerpo en presencia de pseudopartículas de referencia (pVSV-SARS-CoV-2 pseudotipado con la mutación D614G) del mismo ensayo.

Ejemplo 5: Anticuerpos anti-SARS-CoV-2 bloquean la unión del RBD a la hACE2 según lo determinado mediante un ELISA

Se usó un ensayo de bloqueo basado en ELISA para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 para bloquear la unión del dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 a su receptor, la enzima convertidora de angiotensina humana 2 (hACE2).

La proteína del SARS-CoV-2 usada en este ensayo estaba compuesta por la porción del dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (aminoácidos Arg319-Phe541) expresada con una etiqueta myc-myc-6-Histidina en el extremo C terminal (SARS-CoV-2 RBD.mmh). La proteína ACE-2 humana usada en los experimentos se compró de R&D Systems, que comprende una porción del dominio extracelular de la ACE-2 humana (aminoácidos Leu18-Ser740) y una etiqueta 10-Histidina en el extremo C terminal (hACE-2-10His; ACE2 núm. de acceso del NCBI Q9BYF1).

Los experimentos se llevaron a cabo mediante el uso del siguiente procedimiento. El receptor hACE-2-10His se recubrió a 2 µg/ml en PBS en una placa de microtitulación de 96 pocillos durante toda la noche a 4 °C. Los sitios de unión no específicos se bloquearon subsecuentemente mediante el uso de una solución al 0.5 % (p/v) de BSA en PBS. En otras placas de microtitulación, una cantidad constante de 300 pM de proteína RBD.mmh del SARS-CoV-2 se unió durante una hora con anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S o un control de anticuerpo IgG1 humano irrelevante a diluciones de 1.7 pM a 100 nM en PBS + BSA al 0.5 %. La concentración fija del RBD del SARS-CoV-2 se seleccionó para estar cerca de la concentración que generó el 50 % de la unión máxima (valor de EC₅₀) a la hACE-2 adherida a la placa. Los complejos anticuerpo-proteína se transfirieron a la placa de microtitulación hACE-2-10His recubierta. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, los pocillos se lavaron, y se detectó SARS-CoV-2 RBD.mmh unido a una placa con un anticuerpo anti-myc de cabra policlonal conjugado con peroxidasa de rábano (HRP) (NovusBio). Las placas se desarrollaron después mediante el uso de solución de sustrato TMB (BD Biosciences, #51-2606KC y #51-2607KC) de acuerdo con el procedimiento

recomendado por el fabricante y la absorbancia a 450 nm se midió en un lector de placas Victor X5 (PerkinElmer, Shelton CT).

Los datos de unión se analizaron mediante el uso de un modelo sigmoïdal de respuesta a la dosis dentro del software Prism™ (GraphPad). El valor de IC50 calculado, definido como la concentración de anticuerpo necesaria para bloquear el 50 % de la unión del RBD del SARS-CoV-2 a la hACE2 recubierta con placas, se usó como un indicador de la potencia de bloqueo. El porcentaje de bloqueo del anticuerpo anti-SARS-CoV-2-S a una concentración dada se calculó en función de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de bloqueo} = 100 - \left(\frac{[\text{Señal experimental (conc. más alta de Ab)} - \text{Señal de fondo (amortiguador)}]}{[\text{Señal máxima (hEGF.mFc sola)} - \text{Señal de fondo (amortiguador)}]} \right) \times 100$$

Los anticuerpos que bloquearon la unión en un 50 % o menos en la concentración más alta evaluada se clasificaron como no bloqueadores y los valores de IC50 no se informaron para esos anticuerpos.

La capacidad de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 para bloquear la unión del RBD del SARS-CoV-2 a la ACE2 humana se evaluó mediante el uso de un ELISA de bloqueo. En este ensayo se titularon 300 pM de SARS-COV-2 RBD.mmh con un amplio intervalo de concentración del anticuerpo anti-SARS-COV-2-S. Se evaluó la inhibición de la unión del RBD del SARS-COV-2 a la hACE-2 en presencia del anticuerpo contra el SARS-COV-2. El SARS-COV-2 RBD.mmh unido a la placa se detectó con un anticuerpo anti-myc de cabra conjugado con la HRP. Los valores de IC50 y el bloqueo máximo en las concentraciones más altas evaluadas de los anticuerpos contra el SARS-COV-2 se resumen en la Tabla 20.

De los cincuenta y seis anticuerpos analizados, cuarenta y dos mostraron un bloqueo dependiente de la concentración de anticuerpos de la unión del RBD del SARS-COV-2 a la hACE-2 con un bloqueo máximo que varía de 61 % a aproximadamente 100 % a la concentración de anticuerpos más alta analizada (100 nM). Los valores de IC50 para los anticuerpos de bloqueo identificados oscilaron entre 102 pM y 19.7 nM. Los catorce anticuerpos restantes mostraron menos del 50 % de actividad de bloqueo en la concentración más alta evaluada y se clasificaron como no bloqueadores. También se usó un control de isotipo, mAb193281, como control.

Tabla 20: Potencia de bloqueo de los anticuerpos Anti-SAR-COV-2-S en la unión del RBD-hFc de la espícula a la ACE-2 humana inmovilizada

5

10

15

20

25

30

mAb#	Bloqueo de anticuerpos 300 pM de unión de SARS-COV-2.mmh a hACE-2	
	IC ₅₀ , M	% de bloqueo a una concentración de mAb de 100 nM
mAb13457	1.97E-08	75
mAb13458	8.73E-10	81
mAb13459	4.43E-09	78
mAb14230	9.97E-09	85
mAb14231	Nbl	2
mAb14232	1.80E-08	87
mAb14233	Nbl	-7
mAb14234	4.62E-09	92
mAb14235	2.34E-10	96
mAb14247	4.46E-10	95
mAb14248	Nbl	-12
mAb14249	Nbl	-12
mAb14255	1.57E-10	92
mAb14256	4.80E-10	95
mAb14257	3.65E-10	95
mAb14258	1.21E-10	93
mAb14259	1.03E-08	89
mAb14260	1.27E-10	96
mAb14280	1.74E-09	98
mAb14281	3.97E-10	100
mAb14282	5.02E-10	96
mAb14283	3.73E-10	97
mAb14284	3.67E-10	98
mAb14285	1.70E-09	96
mAb14286	6.41E-10	94
mAb14287	Nbl	2
mAb14288	Nbl	5
mAb14290	Nbl	-1
mAb14289	3.78E-10	98
mAb14291	Nbl	-8
mAb14292	2.54E-10	95
mAb14293	Nbl	-1
mAb14294	2.44E-10	94
mAb14295	Nbl	5
mAb14296	Nbl	20
mAb14297	Nbl	16
mAb14312	1.34E-10	98
mAb14313	1.64E-08	63

mAb14314	Nbl	21
mAb14315	1.72E-08	61
mAb14316	Nbl	-9
mAb15156	2.69E-10	103
mAb15157	3.57E-10	103
mAb15158	3.09E-10	103
mAb15159	1.56E-10	102
mAb15160	2.04E-10	96
mAb15161	5.84E-10	94
mAb15162	7.56E-10	95
mAb15163	2.17E-10	95
mAb15164	2.45E-10	99
mAb15165	1.89E-10	99
mAb15166	4.75E-10	98
mAb15167	1.06E-09	96
mAb15170	1.02E-10	82
mAb15150	2.54E-10	98
mAb15151	6.41E-10	98
mAb193281	Nbl	15
mAb193281	Nbl	16

Nbl: Sin bloqueo, el % de bloqueo es menor o igual a 50 %.

Ejemplo 6: Sensibilidad al pH de anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S que se unen a reactivos monoméricos del RBD del SARS-CoV-2-S medidos a 37 °C

Las constantes de la tasa de disociación (k_d) para 56 anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S purificados en condiciones de pH neutro y ácido se determinaron mediante el uso de un biosensor de resonancia de plasmones superficiales (SPR) en tiempo real basado en Biacore T200 o Biacore 4000. Todos los estudios de unión se realizaron a 37 °C mediante el uso de amortiguadores de corrida de PBS que contiene el tensioactivo Tween-20 v/v al 0.05 % con pH 7.4, pH 6.0 y pH 5.0 (PBS-T-pH7.4, -pH6.0 y -pH5.0, respectivamente). La superficie del chip del sensor Biacore CM5 se derivatizó primero por acoplamiento de amina con un mAb específico de Fc antihumano de ratón (Regeneron, mAb2567) para capturar anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2. El ligando examinado para la unión a anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2 fue una proteína recombinante que comprende el dominio extracelular RBD del SARS-COV-2 expresado con una etiqueta C-terminal de myc-myc-hexahistidina (SARS-COV-2 RBD-MMH; SEQ ID NO: 1069). Las soluciones de 90 nM de SARS-COV-2 RBD-MMH se prepararon en amortiguador PBS-T-pH7.4 y después se inyectaron sobre las superficies del anticuerpo a un régimen de flujo de 25 µl/min durante 3 minutos seguido de una fase de disociación de SARS-

COV-2 RBD-MMH unido con los amortiguadores de ejecución a pH 7.4, pH 6.0 o pH 5.0 que fluían durante 8 minutos. También se usó un control de isotipo, mAb1932, como control.

Las constantes de tasa de disociación (k_d) en tres corridas de pH se determinaron mediante el ajuste de los sensogramas de unión en tiempo real a un modelo de unión 1:1 de masa mediante el uso del software de ajuste de curva Scrubber 2.0c. La semivida de disociación ($t_{1/2}$) se calculó a partir de los valores k_d como:

$$t_{1/2}(\text{min}) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

Los valores de k_d y $t_{1/2}$ resultantes para la unión de SARS-COV-2 RBD-MMH monomérico a los anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2 capturados en superficies anti-hFc a pH 6.0 y pH 5.0 a 37 °C se resumen en la Tabla 21 y la Tabla 22, respectivamente, y los resultados a pH 7.4 se enumeran en ambas tablas para comparación.

Tabla 21: Comparación de la tasa de disociación constante y la semivida de disociación de la interacción de SARS-COV-2 RBD-MMH monomérico con anticuerpos monoclonales Anti-SARS-CoV-2 a pH 7.4 y pH 6.0 a 37 °C.

									Relación t1/2 de	
mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	RBD.mmh unido a pH 7.4	kd a pH 7.4	t½	Nivel de captura del mAb (RU)	RBD.mmh unido a pH 7.4 (RU)	Kd a pH 6.0	t½ a pH 6.0	pH 7.4 a	
		(RU)		a pH 7.4						pH 6.0
			(1/s)	(min)				(1/s)	(min)	
mAb14284	386.5	146.9	6.24E-04	18.5	369.4	144.5	5.74E-04	20.1	0.9	
mAb14312	276.1	95.2	8.59E-04	13.5	257.6	94.8	1.77E-03	6.5	2.1	
mAb14294	222.4	83.2	9.20E-04	12.6	207	91.1	5.65E-04	20.5	0.6	
mAb14315	238	83.3	9.80E-04	11.8	217.5	82.5	9.46E-04	12.2	1	
mAb14292	241.2	73.4	1.41E-03	8.2	218.6	74	1.78E-03	6.5	1.3	
mAb14235	202.9	71.2	1.48E-03	7.8	185.2	80.8	1.14E-03	10.1	0.8	
mAb14247	137.5	40.8	1.58E-03	7.3	107.4	43.8	1.67E-03	6.9	1.1	
mAb13458	290.7	96.5	1.61E-03	7.2	265.5	98.6	1.99E-03	5.8	1.2	
mAb14283	246.6	87.7	1.69E-03	6.9	224.5	86.3	2.00E-03	5.8	1.2	
mAb14289	246.7	86.1	1.85E-03	6.2	224	84	2.72E-03	4.2	1.5	
mAb14260	208	74.5	1.88E-03	6.2	192.7	83	1.66E-03	6.9	0.9	
mAb14258	245.1	85.9	2.13E-03	5.4	221.1	85	5.48E-04	21.1	0.3	
mAb13457	309	103.3	2.14E-03	5.4	279.3	100.8	3.09E-03	3.7	1.5	
mAb14234	133.8	37.9	2.21E-03	5.2	103	44.5	1.43E-03	8.1	0.6	
mAb13459	301.6	106.8	2.29E-03	5.1	290	114.8	2.39E-03	4.8	1.1	
mAb14313	275.7	94.2	2.51E-03	4.6	255	97.1	4.10E-03	2.8	1.6	
mAb14255	288.4	97.5	4.93E-03	2.3	262.3	96.4	5.13E-03	2.3	1	

5	mAb14281	256.9	83.5	6.59E-03	1.8	233.5	85.2	7.34E-03	1.6	1.1
	mAb14230	224.5	67.6	7.71E-03	1.5	193.5	70.7	7.97E-03	1.4	1.1
	mAb14257	234.8	82.3	7.78E-03	1.5	220.2	91.3	8.42E-03	1.4	1.1
	mAb14286	259	84.3	9.68E-03	1.2	234.5	87.2	9.99E-03	1.2	1
	mAb14256	258.4	80.2	1.11E-02	1	234.3	84.4	9.55E-03	1.2	0.8
10	mAb14282	215.3	73.5	1.26E-02	0.9	199.9	83.5	9.85E-03	1.2	0.8
	mAb14280	255	72.4	2.40E-02	0.5	230.3	78.4	1.90E-02	0.6	0.8
	mAb14285	213	64.2	2.58E-02	0.4	200.2	77.1	1.44E-02	0.8	0.5
	mAb14232	58.1	8.2	3.11E-02	0.4	34.4	23	1.24E-02	0.9	0.4
	mAb14259	233.1	12	IC	IC	210.5	16.7	IC	IC	IC
15	mAb14314	255.1	5.8	IC	IC	244.4	12.5	IC	IC	IC
	mAb14231	272	0.1	NB	NB	244.5	5	NB	NB	NB
	mAb14233	197	1.7	NB	NB	164.3	3.3	NB	NB	NB
	mAb14248	230.5	0.9	NB	NB	205.6	5.5	NB	NB	NB
	mAb14249	215.1	0.2	NB	NB	198.1	8.7	NB	NB	NB
20	mAb14287	254.4	1.1	NB	NB	233	4.3	NB	NB	NB
	mAb14288	216.2	0.9	NB	NB	201.3	8.8	NB	NB	NB
	mAb14290	245	0.3	NB	NB	223.1	5.1	NB	NB	NB
	mAb14291	200.5	0.9	NB	NB	185	9.5	NB	NB	NB
	mAb14293	257.1	1.4	NB	NB	233.3	5.8	NB	NB	NB
25	mAb14295	259.7	2.1	NB	NB	239.1	1.6	NB	NB	NB
	mAb14296	276.5	1.7	NB	NB	257.1	4.1	NB	NB	NB
	mAb14297	229	2.2	NB	NB	214.7	9.3	NB	NB	NB
	mAb14316	201.7	2.1	NB	NB	180.1	5.6	NB	NB	NB
	mAb15156	268.5	92.6	6.73E-03	1.7	258.3	96.4	9.70E-03	1.2	1.4
30	mAb15157	311.9	106.3	4.05E-03	2.9	301.7	107.8	7.66E-03	1.5	1.9
	mAb15158	306.9	111.4	3.10E-04	37	294.7	118.1	2.90E-04	40.1	0.9
	mAb15159	92.9	31.9	2.31E-04	50	79.8	36.3	4.12E-04	28.1	1.8
	mAb15160	178.8	58.2	2.18E-03	5.3	164.8	59.9	2.83E-03	4.1	1.3
	mAb15161	121.5	39.8	1.13E-03	10.3	106.2	43.7	1.07E-03	10.8	0.9
	mAb15162	330.8	116.4	3.00E-03	3.9	321.2	120.1	3.54E-03	3.3	1.2
	mAb15163	230.9	81.9	4.94E-04	23.4	211.7	82.4	1.04E-03	11.1	2.1
	mAb15164	400.6	144.9	2.26E-03	5.1	398.3	154.4	2.10E-03	5.5	0.9
	mAb15165	290.4	110	1.64E-03	7.1	279.8	115	1.28E-03	9.1	0.8
	mAb15166	244.5	65.2	3.00E-02	0.4	234.8	66	3.01E-02	0.4	1
	mAb15167	419.3	117.5	2.08E-02	0.6	415.8	124.2	1.62E-02	0.7	0.8
	mAb15170	309.8	120.5	1.07E-04	108.4	304.6	128.6	8.00E-05	144.5	0.7
	mAb15150	246.1	87.8	1.12E-04	103.4	233.4	89.7	3.81E-05	303.5	0.3
	mAb15151	611.4	219.4	6.80E-03	1.7	612.7	227.1	4.54E-03	2.5	0.7
	mAb1932	314	0.6	NB	NB	294.3	7.7	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

Tabla 22: Comparación de la tasa de disociación constante y la semivida de disociación de la interacción de SARS-COV-2 RBD-MMH (SEQ ID NO: 1069) monomérico con anticuerpos monoclonales Anti-SARS-CoV-2 a pH 7.4 y pH 5.0 a 37 °C.

	mAb capturado	Nivel de captura del mAb (RU)	RBD.mmh unido a pH 7.4 (RU)	kd a pH 5.0 (1/s)	t½ a pH 5.0 (min)	Nivel de captura del mAb (RU)	RBD.mmh unido a pH 7.4 (RU)	Kd a pH 5.0 (1/s)	t½ a pH 5.0 (min)	Relación de t1/2 de pH 7.4 a pH 5.0
5	mAb14284	386.5	146.9	6.24E-04	18.5	387.2	158.8	7.36E-04	15.7	1.2
	mAb14312	276.1	95.2	8.59E-04	13.5	274.5	96.7	5.58E-03	2.1	6.4
	mAb14294	222.4	83.2	9.20E-04	12.6	210.4	97.6	4.52E-04	25.5	0.5
	mAb14315	238	83.3	9.80E-04	11.8	228.3	101.2	7.00E-04	16.5	0.7
10	mAb14292	241.2	73.4	1.41E-03	8.2	229.2	85	2.19E-03	5.3	1.5
	mAb14235	202.9	71.2	1.48E-03	7.8	184.9	80.8	1.19E-03	9.7	0.8
	mAb14247	137.5	40.8	1.58E-03	7.3	107.1	51.9	1.91E-03	6.1	1.2
	mAb13458	290.7	96.5	1.61E-03	7.2	270.3	90.9	4.01E-03	2.9	2.5
	mAb14283	246.6	87.7	1.69E-03	6.9	237.7	91.7	5.12E-03	2.3	3
	mAb14289	246.7	86.1	1.85E-03	6.2	235.5	89.3	4.60E-03	2.5	2.5
	mAb14260	208	74.5	1.88E-03	6.2	193.8	82.4	2.02E-03	5.7	1.1
15	mAb14258	245.1	85.9	2.13E-03	5.4	230.8	103.4	5.08E-04	22.7	0.2
	mAb13457	309	103.3	2.14E-03	5.4	293.7	104.7	4.52E-03	2.6	2.1
	mAb14234	133.8	37.9	2.21E-03	5.2	98.5	40.4	1.66E-03	7	0.7
	mAb13459	301.6	106.8	2.29E-03	5.1	293.9	105.8	3.70E-03	3.1	1.6
	mAb14313	275.7	94.2	2.51E-03	4.6	265.2	80.8	5.73E-03	2	2.3
	mAb14255	288.4	97.5	4.93E-03	2.3	274.8	94.1	6.35E-03	1.8	1.3
	mAb14281	256.9	83.5	6.59E-03	1.8	241	51.7	1.17E-02	1	1.8
20	mAb14230	224.5	67.6	7.71E-03	1.5	201.1	60.3	9.24E-03	1.3	1.2
	mAb14257	234.8	82.3	7.78E-03	1.5	224.7	45.2	1.72E-02	0.7	2.1
	mAb14286	259	84.3	9.68E-03	1.2	246.3	82.4	6.64E-03	1.7	0.7
	mAb14256	258.4	80.2	1.11E-02	1	239.7	54.1	9.27E-03	1.2	0.8
	mAb14282	215.3	73.5	1.26E-02	0.9	201.9	62.4	6.71E-03	1.7	0.5
	mAb14280	255	72.4	2.40E-02	0.5	241.4	61.7	1.03E-02	1.1	0.5
	mAb14285	213	64.2	2.58E-02	0.4	202	51.5	2.50E-03	4.6	0
25	mAb14232	58.1	8.2	3.11E-02	0.4	22.3	10.1	6.56E-04	17.6	0
	mAb14259	233.1	12	IC	IC	214.1	1.8	IC	IC	IC
	mAb14314	255.1	5.8	IC	IC	252.9	3.4	IC	IC	IC
	mAb14231	272	0.1	NB	NB	249.9	-1.3	NB	NB	NB
	mAb14233	197	1.7	NB	NB	173.5	6.6	NB	NB	NB
	mAb14248	230.5	0.9	NB	NB	210.3	-0.8	NB	NB	NB
	mAb14249	215.1	0.2	NB	NB	198.6	1.9	NB	NB	NB
30	mAb14287	254.4	1.1	NB	NB	240.6	0.3	NB	NB	NB
	mAb14288	216.2	0.9	NB	NB	203.7	4	NB	NB	NB
	mAb14290	245	0.3	NB	NB	228.9	-0.6	NB	NB	NB

5	mAb14291	200.5	0.9	NB	NB	188.5	3.2	NB	NB	NB
	mAb14293	257.1	1.4	NB	NB	243.1	-0.2	NB	NB	NB
	mAb14295	259.7	2.1	NB	NB	250.3	8.7	NB	NB	NB
	mAb14296	276.5	1.7	NB	NB	267.7	-1	NB	NB	NB
	mAb14297	229	2.2	NB	NB	218.2	3.1	NB	NB	NB
10	mAb14316	201.7	2.1	NB	NB	181.3	0.9	NB	NB	NB
	mAb15156	268.5	92.6	6.73E-03	1.7	259.6	103.6	1.58E-02	0.7	2.3
	mAb15157	311.9	106.3	4.05E-03	2.9	301.7	107.5	7.02E-03	1.6	1.7
	mAb15158	306.9	111.4	3.10E-04	37	296.4	121.6	9.70E-05	118.9	0.3
	mAb15159	92.9	31.9	2.31E-04	50	73.6	45.5	4.29E-04	27	1.9
15	mAb15160	178.8	58.2	2.18E-03	5.3	160.8	61.3	2.28E-03	5.1	1
	mAb15161	121.5	39.8	1.13E-03	10.3	100.8	51.4	9.80E-04	11.8	0.9
	mAb15162	330.8	116.4	3.00E-03	3.9	335.3	130.8	5.40E-03	2.1	1.8
	mAb15163	230.9	81.9	4.94E-04	23.4	221.3	83.2	3.77E-03	3.1	7.6
	mAb15164	400.6	144.9	2.26E-03	5.1	409.6	159	2.00E-03	5.8	0.9
20	mAb15165	290.4	110	1.64E-03	7.1	289.5	126.8	9.73E-04	11.9	0.6
	mAb15166	244.5	65.2	3.00E-02	0.4	233.6	60	3.50E-02	0.3	1.2
	mAb15167	419.3	117.5	2.08E-02	0.6	422.4	126	1.33E-02	0.9	0.6
	mAb15170	309.8	120.5	1.07E-04	108.4	314.3	141.1	6.62E-05	174.4	0.6
	mAb15150	246.1	87.8	1.12E-04	103.4	236.7	92.6	1.00E-05	1,155	0.1
25	mAb15151	611.4	219.4	6.80E-03	1.7	632.9	230.7	4.39E-03	2.6	0.6
	mAb1932	314	0.6	NB	NB	305.2	1.9	NB	NB	NB

NB: No se observó unión (NB) en las condiciones experimentales actuales.

IC: La unión observada no se adaptó al modelo de simulación de unión y no se determinaron parámetros cinéticos de unión en las condiciones experimentales actuales.

20 Ejemplo 7: Competencia cruzada entre anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S

La competencia de unión entre 41 anticuerpos monoclonales (mAb) anti-SARS-CoV-2-S se determinó mediante el uso de un ensayo de interferometría (BLI) de biocapas libre de etiquetas en tiempo real en la plataforma del biosensor Octet HTX (Pall ForteBio Corp.). El experimento completo se realizó a 25 °C en un amortiguador que contenía HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo Tween-20 v/v al 0.05 % y BSA 1 mg/ml, amortiguador de pH 7.4 (HBS-EBT) agitando la placa de la muestra a 1,000 rpm. Para evaluar si los mAb compiten entre sí para unirse a sus epítomos respectivos en el dominio extracelular RBD del SARS-COV-2 expresado con una etiqueta myc-myc-hexahistidina en el extremo C terminal (SARS-COV-2 RBD-MMH; SEQ ID NO: 1069), ~ 0.52-0.63 nm de SARS-COV-2 RBD se capturaron primero en las puntas del biosensor Octet recubierto con el anticuerpo anti-Penta-His (Fortebio Inc, # 18-5122) al sumergir las puntas del biosensor durante 90 segundos en pocillos que contenían una solución de 10 µg/ml de SARS-COV-2 RBD-MMH. Las puntas de biosensor capturadas con SARS-COV-2

RBD-MMH se saturaron después con un primer anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 (mAb-1) al sumergirse en pocillos que contenían 50 µg/ml de mAb-1 durante 4 minutos. Las puntas se sumergieron después en pocillos que contenían 50 µg/ml de un segundo anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 (mAb-2) durante 4 minutos. Entre cada etapa, las puntas se enjuagaron con HBS-ETB. La respuesta de unión en tiempo real se monitoreó durante todo el transcurso del experimento y se registró la respuesta de unión al final de cada etapa. La respuesta de la unión del mAb-2 a SARS-COV-2 RBD-MMH previamente compleja con el mAb-1 se comparó con la señal de unión del mAb-2 donde el mAb-1 era un control de isotipo sin unión, y se calculó el porcentaje de la reducción de la unión del mAb-2. Si la unión previa del mAb-1 dio como resultado una reducción > 50 % de la unión del mAb-2, y si invertir el orden de unión para el par de mAb también mostró una reducción > 50 % en la unión, el mAb-1 y el mAb-2 se clasificaron como mAb competidores. La Figura 1 muestra los resultados de estudios de competencia cruzada para los mAb anti-SARS-CoV-2 en un formato de matriz. La Tabla 23 enumera los mAb competidores para cada mAb anti-SARS-CoV-2 que se incluye en el experimento.

Tabla 23. Competencia cruzada de anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S al unirse a SARS-Cov-2 RBD-MMH inmovilizado (SEQ ID NO: 1069)

mAb-1	mAb-2 que compite con mAb-1
mAb14312	mAb14256
	mAb14255
	mAb14257
	mAb14285
	mAb14286
	mAb14280
	mAb14282
	mAb14281
mAb14256	mAb14312
	mAb14286
	mAb14280
	mAb14282
	mAb14284
	mAb10985
mAb14255	mAb14312
	mAb14258
	mAb14257
	mAb14285
	mAb14286
	mAb14280
	mAb14282

5	mAb10933	mAb14258
		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
10	mAb14258	mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
15	mAb14257	mAb14283
		mAb14312
		mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
20	mAb14285	mAb14313
		mAb14283
		mAb14312
		mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
25	mAb14286	mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14312
		mAb14256
30	mAb14286	mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14257

5		mAb14285
		mAb14280
		mAb14282
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14260
		mAb14312
10		mAb14256
		mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
15	mAb14280	mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14312
		mAb14256
		mAb14255
		mAb10933
		mAb14258
		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
20		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14312
		mAb14256
		mAb14255
25	mAb14282	mAb10933
		mAb14258
		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14281
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14312
		mAb14280
		mAb14282
30	mAb14281	mAb13457

5		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14315
10	mAb13457	mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14281
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
15		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
20	mAb13458	mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13459
25		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14285
		mAb14286
30	mAb13459	mAb14285
		mAb14285

5		mAb14286
		mAb14280
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
mAb14313		
mAb14283		
mAb10987		
mAb14289		
mAb14294		
mAb14235		
mAb14234		
mAb14247		
mAb14260		
mAb14315		
mAb14230		
mAb14284		
15		mAb14257
		mAb14285
		mAb14286
	mAb14280	
	mAb14281	
	mAb13457	
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14283	
	mAb10987	
	mAb14289	
	mAb14294	
	mAb14235	
	mAb14234	
	mAb14247	
20	mAb14260	
	mAb14315	
	mAb14230	
	mAb14284	
25	mAb14258	
	mAb14257	
	mAb14285	
	mAb14286	
	mAb14280	
	mAb14281	
	mAb13457	
	mAb13458	
30	mAb14283	

5		mAb13459
		mAb14313
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
10		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb14289
		mAb14235
		mAb14234
15	mAb10987	mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
20		mAb14313
		mAb14283
		mAb14289
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14285
		mAb14286
		mAb14280
25		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14285
		mAb14286
30	mAb14289	mAb14280
		mAb14282
		mAb14281
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14285
		mAb14286

		mAb14247
		mAb14260
		mAb14230
		mAb14284
5	mAb14294	mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
mAb14283		
mAb14289		
mAb14235		
mAb14234		
10		mAb14247
		mAb14230
		mAb14284
		15
mAb13458		
mAb13459		
mAb14313		
mAb14283		
mAb10987		
mAb14289		
mAb14294		
mAb14234		
mAb14247		
mAb14260		
mAb14315		
mAb14230		
mAb14284		
20	mAb13457	
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14313	
	mAb14283	
	mAb10987	
	mAb14289	
	mAb14294	
	mAb14234	
	mAb14247	
	mAb14260	
	mAb14315	
	mAb14230	
	mAb14284	
25	mAb13457	
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14313	
	mAb14283	
	mAb10987	
	mAb14289	
	mAb14294	
	mAb14235	
	mAb14247	
	mAb14260	
	mAb14315	
	mAb14230	
	mAb14284	
30	mAb14234	mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
mAb14283		
mAb10987		
mAb14289		
mAb14294		
mAb14235		
mAb14247		
mAb14260		
mAb14315		
mAb14230		
mAb14284		
	mAb14247	mAb13457

5		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
mAb14289		
mAb14294		
mAb14235		
mAb14234		
mAb14260		
mAb14315		
mAb14230		
mAb14284		
10		mAb14286
		mAb13457
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14313	
15	mAb14283	
	mAb10987	
	mAb14289	
	mAb14235	
	mAb14234	
20	mAb14247	
	mAb14315	
	mAb14230	
	mAb14284	
	mAb14281	
25	mAb13457	
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14313	
	mAb14283	
30	mAb10987	
	mAb14235	
	mAb14234	
	mAb14247	
	mAb14260	
	mAb14230	
	mAb13457	
	mAb13458	
	mAb13459	
	mAb14313	
	mAb14283	

5		mAb10987
		mAb14289
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14315
		mAb14284
10	mAb14284	mAb14256
		mAb13457
		mAb13458
		mAb13459
		mAb14313
		mAb14283
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14294
		mAb14235
		mAb14234
		mAb14247
		mAb14260
		mAb14230
15	mAb10985	mAb14256

La competencia de unión entre 15 anticuerpos monoclonales anti-SARS-Cov-2-S adicionales se realizó sustancialmente como se describió anteriormente. La competencia se determinó mediante el uso de un ensayo de interferometría (BLI) de biocapas libre de etiquetas en tiempo real en la plataforma del biosensor Octet HTX (Pall ForteBio Corp.). El experimento completo se realizó a 25 °C en un amortiguador que contenía HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo Tween-20 v/v al 0.05 % y BSA 1 mg/ml, amortiguador de pH 7.4 (HBS-EBT) agitando la placa a 1,000 rpm. Para evaluar si los mAb son capaces de competir entre sí para unirse a sus epítomos respectivos en el dominio extracelular RBD del SARS-COV-2 expresado con una etiqueta myc-myc-hexahistidina en el extremo C terminal (SARS-COV-2 RBD-MMH; SEQ ID NO: 1069), ~ 0.51 nm de SARS-COV-2 RBD se capturaron primero en las puntas del biosensor Octet recubierto con el anticuerpo anti-Penta-His (ForteBio Inc, # 18-5122) al sumergir las puntas del biosensor durante 90 segundos en pocillos que contenían 10 µg/ml de SARS-COV-2 RBD-MMH. Las puntas de biosensor capturadas con SARS-COV-2 RBD-MMH se saturaron después con un primer anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 (mAb-1) al sumergirse en pocillos que contenían 50

5 $\mu\text{g/ml}$ de mAb-1 durante 4 minutos. Las puntas del biosensor se sumergieron después en pocillos que contenían 50 $\mu\text{g/ml}$ de un segundo anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 (mAb-2) durante 4 minutos. Entre cada etapa, las puntas del biosensor se enjuagaron con un amortiguador HBS-ETB. La respuesta de unión en tiempo real se monitoreó durante todo el transcurso del experimento y se registró la respuesta de unión al final de cada etapa. La respuesta de la unión del mAb-2 a SARS-COV-2 RBD-MMH previamente compleja con el mAb-1 se comparó con la señal de unión del mAb-2 donde el mAb-1 era un control de isotipo sin unión, y se calculó el porcentaje de la reducción de la unión del mAb-2. Si la unión previa del mAb-1 dio como resultado una reducción $> 50\%$ de la unión del mAb-2, y si invertir el orden de unión para el par de mAb también mostró una reducción $> 50\%$ de la unión, el mAb-1 y el mAb-2 se clasificaron como mAb competidores. La Figura 2 muestra los resultados de estudios de competencia cruzada para los mAb anti-SARS-CoV-2 en un formato de matriz. La Tabla 24 enumera los mAb competidores para cada mAb anti-SARS-CoV-2 que se incluye en el experimento.

15 Tabla 24. Competencia cruzada de anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-S al unirse a SARS-Cov-2 RBD-MMH inmovilizado (SEQ ID NO: 1069)

mAb-1	mAb-2 que compite con mAb-1
mAb10934	mAb10989
	mAb15158
	mAb15156
	mAb15157
	mAb15166
	mAb15164
	mAb15165
	mAb15161
	mAb15160
	mAb10933
	mAb15163
	mAb14312
	mAb14232
	mAb10987
	mAb14289
	mAb14283
	mAb14247
	mAb14234
	mAb14230
	mAb14315
	mAb14284
	mAb14235

	mAb14294	
mAb10989	mAb10934	
	mAb15158	
	mAb15156	
	mAb15157	
	mAb15166	
	mAb15167	
	mAb15150	
	mAb10954	
	mAb15162	
	mAb15159	
	mAb15170	
	mAb15164	
	mAb15165	
	mAb15151	
	mAb15161	
	mAb15160	
	mAb10933	
	mAb15163	
	mAb14255	
	mAb14256	
	mAb14312	
	mAb10986	
	mAb10987	
	mAb14289	
	mAb14283	
	mAb15158	mAb10934
		mAb10989
mAb15156		
mAb15157		
mAb15166		
mAb15167		
mAb15150		
mAb10954		
mAb15162		
mAb15159		
mAb15170		
mAb15164		
mAb15165		
mAb15151		
mAb15161		
mAb15160		
mAb10933		
mAb15163		

5		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10985
		mAb14289
10	mAb15156	mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb14289
		mAb14283
25	mAb15157	mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
30		

	mAb15161
	mAb15160
	mAb10933
	mAb15163
	mAb14255
	mAb14256
	mAb14312
	mAb10986
	mAb10985
	mAb14247
mAb15166	mAb10934
	mAb10989
	mAb15158
	mAb15156
	mAb15157
	mAb15167
	mAb15150
	mAb10954
	mAb15162
	mAb15159
	mAb15170
	mAb15164
	mAb15165
	mAb15151
	mAb15161
	mAb15160
	mAb10933
	mAb15163
	mAb14255
	mAb14256
mAb15167	mAb14312
	mAb10986
	mAb10989mAb
	mAb15158
	mAb15156
	mAb15157
	mAb15166
	mAb15150
	mAb10954
	mAb15162
mAb15159	
mAb15170	
mAb15164	
mAb15165	

5		mAb15151		
		mAb15161		
		mAb15160		
		mAb10933		
		mAb15163		
		mAb14255		
		mAb14256		
		mAb14312		
		mAb10986		
10	mAb15150	mAb10989		
		mAb15158		
		mAb15156		
		mAb15157		
		mAb15166		
		mAb15167		
		mAb10954		
		mAb15162		
		mAb15170		
		mAb15164		
		mAb15165		
		mAb15151		
		mAb15161		
		mAb15160		
		mAb10933		
		mAb15163		
		mAb14255		
		15		mAb14256
mAb14312				
mAb10986				
mAb10985				
20				mAb10989
				mAb15158
		mAb15156		
		mAb15157		
		mAb15166		
		mAb15167		
		mAb15150		
		mAb15162		
		mAb15159		
		mAb15170		
		mAb15164		
		mAb15165		
25		mAb15151		
		mAb15161		
		mAb15160		
		mAb10933		
		mAb15163		
		mAb14255		
30		mAb14256		
		mAb14312		
		mAb10986		
		mAb10985		
		mAb10989		
		mAb15158		

5		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10985
10	mAb15162	mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933
15		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10985
		mAb10989
		mAb15158
20	mAb15159	mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
25		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10985
		mAb10989
30	mAb15159	mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160

5		mAb10933		
		mAb15163		
		mAb14255		
		mAb14256		
		mAb14312		
		mAb10986		
		mAb10985		
10	mAb15170	mAb10989		
		mAb15158		
		mAb15156		
		mAb15157		
		mAb15166		
		mAb15167		
		mAb15150		
		mAb10954		
		mAb15162		
		mAb15159		
		mAb15164		
		mAb15165		
		mAb15151		
		mAb15161		
		mAb15160		
		mAb10933		
		mAb15163		
		mAb14255		
		mAb14256		
		20		mAb14312
mAb10986				
mAb10985				
25	mAb15164			mAb10934
				mAb10989
				mAb15158
				mAb15156
		mAb15157		
		mAb15166		
		mAb15167		
		mAb15150		
		mAb10954		
		mAb15162		
		mAb15159		
		mAb15170		
		mAb15165		
30		mAb15151		
		mAb15161		

5		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
10	mAb15165	mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
20	mAb15151	mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160

	mAb10933
	mAb15163
	mAb14255
	mAb14256
	mAb14312
	mAb10986
mAb15161	mAb10934
	mAb10989
	mAb15158
	mAb15156
	mAb15157
	mAb15166
	mAb15167
	mAb15150
	mAb10954
	mAb15162
	mAb15159
	mAb15170
	mAb15164
	mAb15165
	mAb15151
	mAb15160
	mAb10933
	mAb15163
	mAb14255
	mAb14256
	mAb14312
	mAb10986
	mAb15160
mAb10989	
mAb15158	
mAb15156	
mAb15157	
mAb15166	
mAb15167	
mAb15150	
mAb10954	
mAb15162	
mAb15159	
mAb15170	
mAb15164	
mAb15165	
mAb15151	
mAb15161	

5		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
10	mAb10933	mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb15163
15		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10934
		mAb10989
20	mAb15163	mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
25		mAb15160
		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10986
30		mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161

5		mAb15160	
		mAb10933	
		mAb14255	
		mAb14256	
		mAb14312	
		mAb10986	
10	mAb14255	mAb10989	
	mAb15158		
	mAb15156		
	mAb15157		
	mAb15166		
	mAb15167		
	mAb15150		
	mAb10954		
	mAb15162		
	mAb15159		
	mAb15170		
	mAb15164		
	mAb15165		
	mAb15151		
	mAb15161		
	mAb15160		
	mAb10933		
	mAb15163		
	mAb14256		
	mAb14312		
	mAb10986		
	20	mAb14256	mAb10989
		mAb15158	
		mAb15156	
mAb15157			
mAb15166			
mAb15167			
mAb15150			
mAb10954			
mAb15162			
mAb15159			
mAb15170			
mAb15164			
mAb15165			
mAb15151			
mAb15161			
mAb15160			
mAb10933			
30			

		mAb15163
		mAb14255
		mAb14312
		mAb10986
		mAb10985
5	mAb14312	mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
		mAb14255
10		mAb14256
		mAb10986
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
15		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
20		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
25		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933
		mAb15163
30		mAb14255
		mAb14256
		mAb10986
		mAb10989
		mAb15158
	mAb10986	mAb15156
		mAb15157
		mAb15166
		mAb15167
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb15164
		mAb15165
		mAb15151
		mAb15161
		mAb15160
		mAb10933

5		mAb15163
		mAb14255
		mAb14256
		mAb14312
		mAb10985
10	mAb10985	mAb15158
		mAb15157
		mAb15150
		mAb10954
		mAb15162
		mAb15159
		mAb15170
		mAb14256
15	mAb14232	mAb10986
		mAb10934
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14235
		mAb14294
20	mAb10987	mAb10934
		mAb10989
		mAb14232
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14235
		mAb14294
25	mAb14289	mAb10934
		mAb10989
		mAb15158
		mAb15156
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14283
30		mAb14283

5		mAb14247		
		mAb14234		
		mAb14230		
		mAb14315		
		mAb14284		
		mAb14235		
		mAb14294		
10	mAb14283	mAb10934		
		mAb10989		
		mAb15158		
		mAb15156		
		mAb14312		
		mAb14232		
		mAb10987		
		mAb14289		
		mAb14247		
		mAb14234		
		mAb14230		
		mAb14315		
		mAb14284		
15		mAb14235		
		mAb14294		
		20	mAb14247	mAb10934
				mAb14232
				mAb10987
mAb14289				
mAb14283				
mAb14234				
mAb14230				
mAb14315				
mAb14284				
mAb14235				
25		mAb14294		
		30	mAb14234	mAb10934
				mAb14232
				mAb10987
				mAb14289
mAb14283				
mAb14247				
mAb14230				
mAb14315				
mAb14284				
mAb14235				
		mAb14294		

5	mAb14230	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14235
		mAb14294
10	mAb14315	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14284
		mAb14235
		mAb14294
15	mAb14284	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14235
		mAb14294
20	mAb14235	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14235
		mAb14294
25	mAb14235	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14294
30	mAb14235	mAb10934
		mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14294

5	mAb14294	mAb14232
		mAb10987
		mAb14289
		mAb14283
		mAb14247
		mAb14234
		mAb14230
		mAb14315
		mAb14284
		mAb14235

Ejemplo 8: Caracterización de los mAb anti-SARS-CoV-2-S en un ensayo sustituto de ADCC (ensayo de señalización de Val176 FcγR3a)

La capacidad de los anticuerpos que se dirigen a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 para interactuar con FcγR3a, un receptor Fc que se expresa prominentemente en los linfocitos NK que induce citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), se midió en un bioensayo sustituto mediante el uso de células indicadoras y células diana unidas a anticuerpos. En este ensayo, los linfocitos T Jurkat modificados genéticamente expresaron la luciferasa del gen indicador bajo el control del factor de transcripción NFAT (NFAT-Luc) junto con el receptor de alotipo 176Val de FcγR3a humano de alta afinidad (Jurkat/NFAT-Luc/hFcγR3a 176Val). Las células diana se modificaron genéticamente para linfocitos T Jurkat que expresan CD20 humana (usado como un control positivo con CD20 dirigido al anticuerpo IgG1 humana) solo o en combinación con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 de longitud completa. Las células indicadoras se incubaron con células diana, y el acoplamiento de FcγR3a a través del dominio Fc de anticuerpos IgG1 humana unidos a células diana condujo a la activación del factor de transcripción NFAT en las células indicadoras e impulsó la expresión de luciferasa que después se midió mediante una lectura de luminiscencia.

25 Células diana

Jurkat/hCD20: Los linfocitos T Jurkat se modificaron genéticamente para expresar constitutivamente la longitud completa de la CD20 humana (aminoácidos M1-P297 del número de acceso del NCBI NP_690605.1). Los linfocitos Jurkat/hCD20 se tiñeron para la expresión de CD20 y se mantuvieron en RPMI + FBS al 10 % + P/S/G + 250 g/ml de medio de crecimiento de higromicina. Estas células se usaron como control negativo.

Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2: Los linfocitos T Jurkat/hCD20 se modificaron genéticamente para expresar constitutivamente la longitud completa de la proteína de la espícula de

SARS-CoV-2 (aminoácidos M1-T1,273 del número de acceso del NCBI YP_009724390.1). Las células Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2 se clasificaron para la alta expresión de la proteína de la espícula y se mantuvieron en RPMI + FBS al 10 % + P/S/G + 1 µg/ml de puromicina + 250 g/ml de medio de crecimiento de higromicina.

5 Células indicadoras

Jurkat/NFAT-Luc/FcγR3a 176Val: Los linfocitos T Jurkat se modificaron genéticamente para expresar de manera estable un constructo indicador de luciferasa del factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT) junto con el receptor de alotipo 176Val de FcγR3a humano de alta afinidad (aminoácidos M1-K254 del número de acceso P08637 VAR_003960). Las células indicadoras
10 modificadas genéticamente se mantuvieron en RPMI1640 + FBS al 10 % + P/S/G + 0.5 µg/ml de puromicina + 500 µg/ml de medio de crecimiento G418.

Configuración del ensayo

Un día antes del experimento, los linfocitos Jurkat indicadores se dividieron en 7.5×10^5 células/ml en medio de crecimiento RPMI1640 + FBS al 10 % + P/S/G + 0.5 µg/ml de puromicina + 500
15 µg/ml de medio de crecimiento G418. Los linfocitos Jurkat diana se dividieron en 5×10^5 células/ml en medio de crecimiento RPMI1640 + FBS al 10 % + P/S/G + 0.5 µg/ml de puromicina + 250 µg/ml de medio de crecimiento de higromicina.

El día del experimento, las células indicadoras y diana se transfirieron a los medios de ensayo (RPMI + FBS al 10 % + P/S/G) y se agregaron en una relación 3:2 (3×10^4 células diana/pocillo y
20 2×10^4 células indicadoras/pocillo) a placas de microtitulación blancas de 384 pocillos.

Los anticuerpos anti-proteína de la espícula de SARS-CoV-2, un anticuerpo de control con compatibilidad de isotipo negativo, y un anticuerpo de control positivo para ADCC (anti-CD20) se titularon en una dilución serial 1:3 de 11 puntos con una concentración final que varía de 1.7 pM a 100 nM, con el 12mo punto final que no contiene ningún anticuerpo. Todas las muestras se
25 analizaron por duplicado. Las placas se incubaron a 37 °C/CO₂ al 5 % durante 5 h seguido de la adición de un volumen igual de reactivo ONE-Glo™ (Promega) para lisar las células y detectar la actividad de luciferasa. La luz emitida se capturó en unidades de luz relativas (RLU) en un lector de placas de etiquetas múltiples Envision (PerkinElmer). Los valores de EC₅₀ de los anticuerpos se determinaron a partir de una ecuación logística de 4 parámetros sobre una curva de respuesta a
30 la dosis de 12 puntos (que incluye la señal de fondo) mediante el uso del software GraphPad Prism. La inducción máxima de veces se calculó mediante el uso de la siguiente ecuación:

Inducción en veces = RLU promedio máximas dentro del rango de dosis evaluado de cada anticuerpo/RLU promedio (señal de fondo = sin anticuerpo)

Los valores de EC50 y las inducciones de veces se resumen en la Tabla 25.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2

- 5 Cada uno de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S evaluados mostró una inducción de veces mayor que el anticuerpo de control negativo. Los valores de EC50 oscilaron entre 60.4 pM y 3.4 nM, y los valores de inducción de veces oscilaron entre 3.9x y 13.5x. El anticuerpo de control positivo para CD20 mostró una inducción en veces de 29.9x con un valor de EC50 de 18.1 pM.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20

- 10 Cada uno de los 41 anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S, excepto uno (mAb14312), se comportó de manera similar al anticuerpo de control negativo que muestra actividad mínima. El mAb14312 tuvo un valor de EC50 de 18.4 nM y un valor de inducción multiplicado de 2.0. El anticuerpo de control positivo para CD20 mostró un valor de inducción en veces de 29.4x con un valor de EC50 de 33.7 pM.

- 15 Tabla 25: Resultados del ensayo de ADCC sustituto

mAb #	Jurkat CD20		Jurkat/CD20/espícula	
	EC50 (M)	Inducción en veces	EC50 (M)	Inducción en veces
mAb13457	ND	1.2	1.50E-10	9.1
mAb13458	ND	1.2	1.43E-10	10.2
mAb13459	ND	1.2	1.42E-10	9.9
20 mAb14230	ND	1.1	1.79E-10	9.8
mAb14231	ND	1.2	3.25E-09	7.9
mAb14232	ND	1.2	1.31E-10	10.8
mAb14233	ND	1.1	2.80E-10	11.0
mAb14234	ND	1.1	2.69E-10	12.6
mAb14235	ND	1.0	1.43E-10	10.8
mAb14247	ND	1.0	1.79E-10	11.3
25 mAb14248	ND	1.0	1.79E-10	12.8
mAb14249	ND	1.2	2.51E-10	10.3
mAb14255	ND	1.0	1.67E-10	9.5
mAb14256	ND	1.0	4.48E-10	6.1
mAb14257	ND	1.0	2.39E-10	8.8
mAb14258	ND	1.0	2.82E-10	7.5
mAb14259	ND	1.0	3.94E-10	8.7
30 mAb14260	ND	1.1	3.63E-10	6.0
mAb14280	ND	1.1	2.67E-10	13.5
mAb14281	ND	1.1	1.65E-10	10.3
mAb14282	ND	1.1	2.57E-10	10.7

5	mAb14283	ND	1.1	1.39E-10	9.1
	mAb14284	ND	1.1	1.56E-10	9.0
	mAb14285	ND	1.1	2.43E-10	11.0
	mAb14286	ND	1.0	2.04E-10	11.0
	mAb14287	ND	1.0	1.23E-09	6.2
	mAb14288	ND	1.0	5.10E-10	6.7
	mAb14289	ND	1.0	1.30E-10	6.3
	mAb14290	ND	1.0	3.42E-09	9.5
	mAb14291	ND	1.1	3.02E-10	9.7
	mAb14292	ND	1.0	3.86E-10	9.2
10	mAb14293	ND	1.1	7.88E-10	9.3
	mAb14294	ND	1.0	6.04E-11	10.5
	mAb14295	ND	1.0	1.93E-10	11.5
	mAb14296	ND	1.0	4.11E-10	8.1
	mAb14297	ND	1.0	1.24E-10	7.9
15	mAb14312	1.84E-08	2.0	1.68E-10	7.5
	mAb14313	ND	1.1	1.55E-10	7.1
	mAb14314	ND	1.1	NC	3.9
	mAb14315	ND	1.1	6.24E-11	9.3
	mAb14316	ND	1.0	1.89E-10*	9.1
	mAb1932 – Control negativo	ND	1.3	ND	1.5
	mAb2959 – Control positivo	3.37E-11	29.4	1.81E-11	29.9

* A altas concentraciones, la señal disminuyó (efecto de gancho); los puntos del gancho se eliminaron antes de la determinación de EC50

20 NC: No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros

ND: No se determinó porque no se observó una respuesta dependiente de la concentración

Inducción en veces = RLU promedio máximas dentro del rango de dosis evaluado de cada anticuerpo/RLU promedio (señal de fondo = sin anticuerpo)

A partir de los mAb iniciales analizados, se eligieron unos pocos selectos para un seguimiento
25 adicional para correr junto con los anticuerpos descritos en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501. Los valores de EC50 y las inducciones de veces se resumen en la Tabla 26.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2

Cada uno de los anticuerpos contra la espícula de SARS-CoV-2 recientemente purificados mostró
30 una inducción de veces mayor que el anticuerpo de control negativo. Los valores de EC50 los anticuerpos contra la espícula de SARS-CoV-2 recientemente purificados oscilaron entre 188 pM y 575 pM, y los valores de inducción en veces oscilaron entre 2.0x y 3.2x. El anticuerpo de control positivo para CD20 mostró una inducción en veces de 27.0x con un valor de EC50 de 51.8 pM.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20

Cada uno de los anticuerpos contra la espícula de SARS-CoV-2 recientemente purificados se comportó de manera similar al anticuerpo de control negativo, lo que muestra una actividad mínima. Por el contrario, el anticuerpo de control positivo para CD20 mostró un valor de inducción en veces de 23.5x con un valor de EC50 de 142 pM.

Tabla 26: Resultados del ensayo de ADCC sustituto

mAb# o nombre	Jurkat CD20		Jurkat/CD20/espícula	
	EC50 (M)	Inducción en veces	EC50 (M)	Inducción en veces
mAb14255	ND	1.1	1.88E-10	3.2
mAb14256	ND	1.1	5.75E-10	2.0
mAb14257	ND	1.2	2.63E-10	2.2
mAb14258	ND	1.2	2.06E-10	2.7
mAb10984†	ND	1.0	5.86E-10	1.3
mAb10986†	ND	1.0	NC	1.4
mAb10964†	ND	1.2	1.11E-10	1.8
mAb10977†	ND	1.3	NC	4.1
mAb10933†	ND	1.1	6.47E-10	2.9
mAb10987†	ND	1.0	4.71E-10	4.5
mAb10989†	ND	1.1	6.23E-10	6.5
mAb1932 – Control negativo	ND	1.2	ND	1.2
mAb2959 – Control positivo	1.42E-10	23.5	5.18E-11	27.0

†Anticuerpo descrito en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501

NC: No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros.

ND: No se determinó porque no se observó una respuesta dependiente de la concentración

Inducción en veces = RLU promedio máximas dentro del rango de dosis evaluado de cada anticuerpo/RLU promedio (señal de fondo = sin anticuerpo)

También se realizó una ronda subsecuente de pruebas sobre anticuerpos recientemente purificados. Los valores de EC50 y las inducciones de veces se resumen en la Tabla 27.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2

Cada uno de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2-S recientemente purificados mostró una inducción de veces mayor que el anticuerpo de control negativo. Los valores de EC50 los anticuerpos anti-espícula de SARS-CoV-2 oscilaron entre 81.7 pM y 905 pM, y los valores de inducción de veces oscilaron entre 4.2x y 13.0x. El anticuerpo de control positivo para CD20 mostró una inducción en veces de 46.7x con un valor de EC50 de 74.4 pM.

Resultados con células diana Jurkat/hCD20

Todos los anticuerpos SARS-CoV-2-S recientemente purificados se comportó de manera similar al anticuerpo de control negativo, lo que muestra una actividad mínima. Por el contrario, el anticuerpo de control positivo para CD20 mostró un valor de inducción en veces de 62.1x con un valor de EC50 de 145 pM.

5 Tabla 27: Resultados del ensayo de ADCC sustituto

mAb# o nombre	Jurkat CD20		Jurkat/CD20/espícula	
	EC50 (M)	Inducción en veces	EC50 (M)	Inducción en veces
mAb15156	ND	1.1	3.47E-10	4.2
mAb15157	ND	1.3	3.98E-10	4.8
mAb15158	ND	1.2	3.81E-10	7.0
mAb15159	ND	1.0	4.17E-10	5.0
mAb15160	ND	1.2	2.98E-10	5.4
mAb15161	ND	1.2	4.94E-10	5.9
mAb15162	ND	1.1	9.05E-10	5.8
mAb15163	ND	1.1	3.42E-10*	8.2
mAb15164	ND	1.2	2.23E-10*	12.7
mAb15165	ND	1.1	2.01E-10	13.0
mAb15166	ND	1.1	8.17E-11	9.5
mAb15167	ND	1.0	1.11E-10	7.3
mAb15170	ND	1.0	6.26E-10	5.4
mAb15150	ND	1.1	4.59E-10	5.2
mAb15151	ND	1.4	3.51E-10	6.0
mAb14255§	ND	1.1	1.37E-10	8.6
mAb14256§	ND	1.0	2.63E-10	3.7
mAb14315§	ND	1.0	9.96E-11*	11.5
mAb10985†	ND	1.1	4.72E-10	3.7
mAb10933†	ND	1.0	8.76E-11	7.7
mAb10987†	ND	1.0	7.20E-11	10.2
mAb1932 – Control negativo	ND	1.2	ND	3.7
mAb2959 – Control positivo	1.45E-10	62.1	7.44E-11	46.7

†Anticuerpo descrito en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501

§Anticuerpo descrito en la Tabla 25 y/o la Tabla 26

* A altas concentraciones, la señal disminuyó (efecto de gancho); los puntos del gancho se eliminaron antes de la determinación de EC50

ND: No se determinó porque no se observó una respuesta dependiente de la concentración

Inducción en veces = RLU promedio máximas dentro del rango de dosis evaluado de cada anticuerpo/RLU promedio (señal de fondo = sin anticuerpo)

Ejemplo 9: Caracterización de los mAb anti-SARS-CoV-2-S en un ensayo de ADCP

Se evaluó la capacidad de los anticuerpos dirigidos a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 para inducir la fagocitosis de los linfocitos Jurkat modificados genéticamente para expresar la proteína de la espícula de longitud completa de SARS-CoV-2. Los macrófagos diferenciados de los monocitos en presencia del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) se usaron como células efectoras en un ensayo de fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). Se evaluó un isotipo de IgG1 como control negativo en paralelo. La fagocitosis se evaluó al medir la cantidad de células diana marcadas con fluorescencia que se colocan con macrófagos marcados con fluorescencia mediante el uso de un sistema de detección de alto contenido Opera Phenix.

10 Células diana

Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2: Los linfocitos T Jurkat se modificaron genéticamente para expresar constitutivamente CD20 humana de longitud completa (aminoácidos M1-P297 del número de acceso del NCBI NP_690605.1) así como también la longitud completa de la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (aminoácidos M1-T1,273 del número de acceso del NCBI YP_009724390.1). Las células Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2 se clasificaron para la alta expresión de la proteína de la espícula y se mantuvieron en RPMI + FBS al 10 % + P/S/G + 1 µg/ml de puromicina + 250 µg/ml de medio de crecimiento de higromicina.

Células efectoras

Los macrófagos se diferenciaron de los monocitos en presencia de M-CSF: Los monocitos CD14+ congelados (Lonza) se descongelaron, se resuspendieron en los medios de ensayo (RPMI 1640 complementado con FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µg/ml, y L-glutamina 292 µg/ml, NaPyr, HEPES y NEAA), se suplementaron con M-CSF 100 ng/ml, y se colocaron en placas de 5.2×10^4 células/pocillo en placas negras de 96 pocillos recubiertas con colágeno de fondo translúcido para su diferenciación en macrófagos en 9 días.

25 Configuración del ensayo

Un día antes del experimento, los linfocitos Jurkat diana se dividieron en 5×10^5 células/ml en sus respectivos medios de crecimiento.

El día del experimento, las células diana y los macrófagos derivados de monocitos se incubaron en PBS suplementado con el tinte CellTrace CFSE o el tinte CellTrace Violet, respectivamente, durante 15 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 %.

Las células diana marcadas con CFSE se lavaron y se resuspendieron en medios de ensayo (RPMI 1640 suplementado con FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µg/ml, y L-

glutamina 292 µg/ml, NaPyr, HEPES, NEAA, y BME 10 µM) y se añadieron por duplicado a placas de fondo U de 96 pocillos a una densidad de 5×10^4 células/pocillo. Los anticuerpos anti-espícula de SARS-CoV-2 y los de control IgG1 se titularon en medios de ensayo en una dilución en serie 1:5 que oscila de 51 fM a 20 nM de concentración final y se añadieron a las placas. El punto cero de anticuerpo fue representado por 10 fM en GraphPad Prism.

Después de 15 minutos de incubación en hielo, la mezcla de células diana, con o sin anticuerpo titulado, se transfirió después a placas que contenían los macrófagos marcados con violeta y las placas se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 30 minutos. Los pocillos se lavaron con PBS 3 veces, seguido de la adición de formaldehído al 4.21 % en PBS suplementado con DRAQ5 2.5 µM.

Después de una incubación de 20 minutos, los pocillos se lavaron con PBS y se tomaron imágenes tanto en los canales de excitación de 488 nm (células diana marcadas con CFSE) como de 375 nm (macrófagos marcados con violeta) mediante el uso de un sistema de detección de alto contenido Opera Phenix. El análisis de imágenes se realizó en el software Harmony. Se usó la segmentación de imágenes en el canal de excitación de 375 nm para identificar la población de macrófagos. Se usó la segmentación de imágenes en el canal de excitación de 488 nm para identificar las células diana. La fagocitosis se cuantificó mediante la identificación de la población de macrófagos que contenía células diana dentro de ellos.

El por ciento de fagocitosis se calculó mediante la comparación la cantidad de macrófagos que se sometieron a fagocitosis con la cantidad total de células de macrófagos.

$$\% \text{ de ADCP} = \frac{\text{macrófagos marcados con violeta que contienen células diana marcadas con CFSE}}{\text{Total de macrófagos marcados con violeta}}$$

Para las determinaciones de EC₅₀, el % de ADCP se analizó con GraphPad Prism mediante el uso de una ecuación logística de 4 parámetros sobre una curva de respuesta a la dosis de 10 puntos, que incluye el control sin anticuerpos. El % máximo (Max) de ADCP se determinó como la media más alta del valor del % de ADCP medida dentro del intervalo de dosis evaluado. El experimento se realizó mediante el uso de un solo donante por duplicado excepto por los siguientes anticuerpos que se realizaron sin replicaciones: mAb10933, mAb10987, mAb10989, mAb1932, mAb10985, mAb14234, mAb10986 y mAb14259.

Los valores de EC₅₀ y el % máximo (Max) de ADCP se resumen en la Tabla 28.

Resultados con células Jurkat/hCD20/espícula de SARS-CoV-2: Cada uno de los 21 anticuerpos anti-espícula de SARS-CoV-2 mostró un % Max de ADCP mayor en comparación con el

anticuerpo de control IgG1. Los valores de EC₅₀ los anticuerpos anti-espícula de SARS-CoV-2 oscilaron entre 5.22 pM y 1.12 nM, y un % Max de ADCP oscilaron entre 16.72 % y 39.89 %.

Tabla 28: Actividad de ADCP

	Tratamiento con anticuerpos	ADCP	
		% Max de ADCP	EC50 [M]
5	mAb10933†	33.12	3.88E-11
	mAb10987†	36.30	3.19E-11
	mAb10989†	33.02	4.82E-11
	mAb1932	7.69	ND
	mAb10985†	31.80	2.17E-10
	mAb14234	32.84	7.27E-11
10	mAb14249	32.60	1.69E-10
	mAb14255	21.17	1.73E-11
	mAb14256	19.50	NC
	mAb14287	33.24	NC
	mAb14288	25.86	6.14E-10
	mAb14290	16.72	NC
	mAb14291	32.85	4.12E-10
15	mAb14295	35.30	4.57E-10
	mAb14296	31.60	5.07E-10
	mAb14312	27.77	1.69E-11
	mAb14314	16.72	1.12E-09
	mAb14315	34.80	6.30E-11
	mAb14316	37.72	2.54E-10
20	mAb10964†	34.03	5.22E-12
	mAb10986†	39.89	7.13E-11
	mAb14259	39.56	NC

†Anticuerpo descrito en la patente de Estados Unidos núm. 10,787,501

ND: No se determinó porque no se observó una respuesta dependiente de la concentración.

NC: No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros.

25 El Max (% de ADCP) es la media más alta del valor del % de ADCP dentro del intervalo de dosis evaluado.

Ejemplo 10: Determinación de la estructura de la proteína de la espícula unida a anticuerpos e interacciones

30 Para comprender mejor la unión del mAb10987 y el mAb14256 al RBD de la proteína de la espícula, se realizó un análisis estructural mediante microscopía de crioelectrones (crioEM). Los fragmentos Fab del mAb14256 y el mAb10987 se aislaron mediante el uso del kit FabALACTICA (Genovis). Se mezclaron 25 µg del Fab del mAb14256 y 25 µg del Fab del mAb10987 con 15 µg

del RBD del SARS-CoV-2-S y se incubaron en hielo durante 30 min. Para la preparación de la cuadrícula crioEM, la muestra de proteína se diluyó a 0.94 mg/ml y se añadió anfipol PMAL-C8 al 0.15 %. Se depositaron 3 μ l de proteína en una cuadrícula UltraAufoil recién limpiada en plasma (malla 0.6/1.0, 300). El exceso de solución se absorbió mediante el uso de papel de filtro y se congeló por inmersión en etano líquido mediante el uso de Vitrobot Mark IV. La rejilla crioEM se transfirió a un Titan Krios (Thermo Fisher) equipado con un detector K3 (Gatán). Las películas se recolectaron mediante el uso de EPU (Thermo Fisher) a un aumento de 105,000x, correspondiente a un tamaño de píxel de 0.86 Å. Se usó una tasa de dosis de 15 electrones por píxel por segundo y cada película fue de 2 segundos, correspondiente a una dosis total de ~40 electrones por Å².

Todo el procesamiento de datos de crioEM se realizó mediante el uso de crioSPARC v3.2.0. Se recolectaron 6,106 micrografías alineadas y se seleccionaron 5,735 micrografías alineadas para un procesamiento adicional sobre la base de valores de desenfoque estimados y resoluciones de ajuste del CTF. Un conjunto inicial de partículas recogidas mediante el uso de un recolector de masas se sometió a una clasificación 2D para generar plantillas para la recolección de plantillas. ~1,4 millones de partículas recogidas mediante selección de plantillas se sometieron a múltiples rondas de clasificación 2D para eliminar los Fab no unidos y partículas que contenían un complejo incompleto. La reconstrucción *inicial de Ab* con tres clases generó dos clases que contenían 301,461 partículas que correspondían al complejo completo mAb10987 Fab - mAb14256 Fab - RBD. Se realizó un refinamiento heterogéneo de esas dos clases, donde una clase mostró un mapa de buena calidad, mientras que la otra mostró una alta orientación preferida. El refinamiento no uniforme de las partículas en la clase “buena” que contiene 189,200 partículas fue seguido por el refinamiento local, lo que dio como resultado un mapa de resolución de 3.86 Å (FSC = 0.143) que se usó para la construcción del modelo. En este mapa, los modelos del RBD (tomado del código PDB 6M0J) se colocaron manualmente y los dos Fab (tomados de estructuras de anticuerpos anteriores, mAb10987 del PDB 6XDG y mAb14256 de otro modelo de mAb14256) . Estos modelos se reconstruyeron manualmente mediante el uso de Coot y el espacio real se refinó contra el mapa mediante el uso de Phenix.

Al confirmar los datos descritos anteriormente, la crioEM de una sola partícula del complejo de RBD de la espícula de SARS-CoV-2 unido a fragmentos Fab de mAb14256 y mAb10987 muestra que los dos anticuerpos en este cóctel pueden unirse simultáneamente a regiones distintas del RBD (Figura 3, Figura 4). Un mapa reconstruido 3D del complejo con una resolución nominal de 3.9 Å mostró que ambos fragmentos Fab se unieron a regiones no solapadas en la superficie del RBD, lo

que confirma que son anticuerpos no competidores. El mAb14256 se unió en la parte superior del RBD, lo que solapa ampliamente el sitio de unión para la ACE2. Por otro lado, el epítipo para el mAb10987 se ubicó en el lado del RBD, muy lejos del epítipo del mAb14256, y tenía poco o ninguna superposición con el sitio de unión de la ACE2. La estructura también reveló que el mAb14256 compitió con el mAb10933 y el mAb10985, aunque las combinaciones de estos anticuerpos aún pueden ser convenientes debido a la unión a microepítopos diferentes y la necesidad de unirse y neutralizar diferentes variantes de la proteína de la espícula de SARS-CoV-2. Mediante el uso de técnicas similares, se investigó la base estructural para la unión del mAb15160 al RBD del SARS-CoV-2. La crio-EM se usó para determinar la estructura del RBD del SARS-CoV-2 en complejo con los fragmentos de unión al antígeno (Fab) del mAb15160 y el mAb14315. La estructura de resolución de 3.18 Å resultante reveló que el mAb15160 se une a una superficie pequeña de epítipo en la parte superior (es decir, más cercana a la membrana de la célula diana) del RBD del SARS-CoV-2 (Figura 5). El análisis de la interfaz de unión entre el RBD del SARS-CoV-2 y el fragmento Fab del anticuerpo indica que el Fab del mAb15160 entra en contacto con el RBD tanto con su cadena pesada (13 interacciones de residuos con residuos) como con la cadena ligera (13 interacciones de residuos con residuos). Un total de 13 residuos del RBD del SARS-CoV-2 participan en la unión del mAb15160. El impacto funcional de K417N, E484A y Q493R, todos los cuales están presentes en la variante Ómicron, así como también otras sustituciones dentro del epítipo de unión, se evaluó en los estudios de neutralización descritos anteriormente. El mAb15160 retuvo la potencia de neutralización contra las mutaciones individuales K417N y E484A. Hubo un impacto en la potencia de neutralización contra la mutación individual Q493R (reducción de 5 veces en comparación con las pseudopartículas de referencia); sin embargo, la potencia de neutralización del mAb15160 estuvo dentro de 1.5 veces contra las pseudopartículas pseudotipadas con la secuencia de proteína S completa de los linajes BA.1, BA.1.1 y BA.2 (Ómicron) en comparación con las pseudopartículas de referencia. Mediante el uso de técnicas similares, se investigó la base estructural para la unión del mAb14284 a los RBD del SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 y del BA.1 (linaje ómicron). La crio-EM se usó para determinar la estructura de los fragmentos de unión al antígeno (Fab) del mAb14284 y el mAb15160 con el RBD de la cepa Wuhan-Hu-1 y el linaje BA.1. Las estructuras de resolución de 3.3 y 3.4 Å resultantes, respectivamente, revelaron que el mAb14284 se une a un parche superior tanto en el RBD de Wu-1 como en de BA.1 de una manera que es competitiva con la unión a la ACE2 (Figura 6). El análisis de la interfaz de unión entre el fragmento Fab del mAb14284 y los

RBD del SARS-CoV-2 de Wu-1 y BA.1 indica que el mAb14284 se une a la misma ubicación en los RBD de Wu-1 y BA1, con los mismos residuos de epítomos, excepto por 4 cambios localizados en la periferia (Tabla 29, más abajo). Los residuos de epítomos mutados en la variante BA.1 (N440K, G446S, Q498R, N501Y) con relación a la cepa Wu-1 ancestral se alojan en la estructura sin cambios importantes en la interfaz anticuerpo-antígeno.

Tabla 29: Resumen de interacciones entre los residuos Fab del mAb14284 y los residuos del RBD del SARS-CoV-2

Tipo de interacción	Residuo del RBD Wuhan-Hu-1	Residuo(s) del mAb14284 que interactúa(n) con el residuo RBD indicado		Residuo del RBD de BA.1	Residuo(s) del mAb14284 que interactúa(n) con el residuo RBD indicado	
		Cadena Pesada	Cadena ligera		Cadena Pesada	Cadena ligera
Enlace de hidrógeno/puente de sal (< 4 Å)	Asn439	-	Tyr34	-	-	-
	Lys444	Trp55, Asp56	-	Lys444	Trp55	-
	Val445	Arg60	-	-	-	-
	Gly447	Arg60	-	Gly447	Arg60	-
	Gln498*	-	Thr95	Arg498*	-	Thr95
	-	-	-	Thr500	-	Val31
Hidrófobo (< 5 Å)	Asn440*	Ile102, Pro103	-	Lys440*	Ile102, Pro103	-
	Leu441	Ser32, Gly33	-	Leu441	Ser32	-
	Ser443	Ile102	-	Ser443	Ile102	-
	Lys444	Tyr54, Trp55, Asp56, Asp58, Arg60, Ile102	-	Lys444	Tyr54, Trp55, Asp58, Ile102	-
	Val445	Trp49, Leu52, Tyr54, Arg60, His100	Tyr93, Ser97, Thr98	Val445	Trp49, Leu52, Tyr54, Arg60, His100	Tyr93, Ser97, Thr98
	Gly446*	Arg60	Ser96	Ser446*	Arg60	Ser96
	Gly447	Arg60	-	Gly447	Arg60	-
	-	-	-	Tyr449	Arg60	-
	Gln498*	-	Thr95	Arg498*	-	Thr95
	Pro499	Ile102	Tyr34, Tyr93	Pro499	Ile102	Tyr34, Tyr93
	Thr500	-	Leu29, Gly30, Tyr93, Thr94	Thr500	-	Leu29, Thr94, Thr95
	Asn501*	-	Val31	Tyr501*	-	Val31
	Gly502	-	Val31	Gly502	-	Val31

Se indican residuos del RBD de la proteína S del SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 y BA.1 que interactúan con residuos de la cadena pesada y la cadena ligera del mAb14284 Fab. Un guión “-” indica que no se observó ninguna interacción entre el residuo del RBD indicado y la cadena de anticuerpos indicada. Los residuos se seleccionaron en función de la presencia de enlaces de hidrógeno/puentes de sal con distancias interatómicas < 4 Å (sin incluir átomos de hidrógeno) o

superficies hidrófobas con distancias interatómicas $< 5 \text{ \AA}$. Un asterisco “*” indica un residuo del RBD mutado en los linajes BA (Ómicron).

Para evaluar el grado de variabilidad del epítipo del mAb14284 en los virus del SARS-CoV-2 actualmente en circulación, se utilizaron las secuencias de 3,825,870 genomas del SARS-CoV-2 disponibles públicamente identificados entre el 01 de enero de 2022 y el 16 de junio de 2022 (es decir, durante la ola Ómicron). Las secuencias recogidas durante este período probablemente consisten principalmente en secuencias de Ómicron; sin embargo, otras variantes circulantes, como Delta, también pueden incluirse en este análisis.

Entre el 01 de enero de 2022 y el 16 de junio de 2022, los residuos del RBD unidos por el mAb14284 se conservaron $\geq 99.96 \%$ con relación a la cepa Wuhan-Hu-1 en cada posición, con la excepción de 4 residuos, N440, G446, Q498, y N501 que mutan en la variante Ómicron (es decir, linajes BA) (Tabla 30). Las frecuencias de N440, G446, Q498 y N501 en este período de monitoreo fueron 22, 59, 13 y 12 %, respectivamente; en su lugar, N440K, Q498R y N501Y, todos los cuales están presentes en la variante Ómicron, se habían vuelto predominantes. Si bien G446 sigue siendo el residuo predominante durante este período, el 39 % de las secuencias contienen la mutación G446S, que está presente en el linaje BA.1 de la variante Ómicron

El impacto funcional de N440K, G446S, Q498R y N501Y, así como también otras sustituciones dentro del epítipo de unión identificado durante el análisis de conservación (especificado más abajo en la Tabla 30) se evaluó en estudios de neutralización como se describió en el Ejemplo 4. El mAb14284 retuvo la potencia de neutralización contra todas las variantes de residuos de epítipos evaluadas, excepto las mutaciones de K444. Las sustituciones individuales K444L, K444M, K444N, K444Q y K444T dieron como resultado un cambio > 5 veces en comparación con las pseudopartículas de referencia; sin embargo, la potencia de neutralización del mAb14284 estuvo dentro de 1.5 veces contra las pseudopartículas pseudotipadas con la variante de K444 más predominante (es decir, 0.0141 %), K444R (Tabla 19).

Tabla 30: Resumen de frecuencias de variantes de epítipos de REGN14284 en genomas del SARS-CoV-2 disponibles públicamente desde el 01 de enero de 2022 hasta el 16 de junio de 2022

Puesto AA en el RBD	Secuencia de referencia (Wuhan-Hu-1)		Orden de frecuencia observado para las variantes de epítipos (Alto a bajo)			
			1 ^{er}		2 ^{do}	
	Residuo	Frecuencia (%)	Residuo	Frecuencia (%)	Residuo	Frecuencia (%)
440	N	22.3472	K	78.1540	del	0.0026

Puesto AA en el RBD	Secuencia de referencia (Wuhan-Hu-1)		Orden de frecuencia observado para las variantes de epítomos (Alto a bajo)			
			1 ^{er}		2 ^{do}	
	Residuo	Frecuencia (%)	Residuo	Frecuencia (%)	Residuo	Frecuencia (%)
441	L	99.9942	del	0.0025	F	0.0016
443	S	99.9964	del	0.0024	N	0.0002
444	K	99.9699	R	0.0141	N	0.0095
445	V	99.9834	A	0.0082	I	0.0033
446	G	58.9933	S	38.6232	V	0.0133
447	G	99.9948	del	0.0033	S	0.0005
449	Y	99.9643	H	0.0199	N	0.0137
498	Q	12.7255	R	87.5676	L	0.0115
499	P	99.9840	del	0.0095	R	0.0025
500	T	99.9832	del	0.0097	S	0.0031
501	N	12.3329	Y	87.9706	del	0.0101
502	G	99.9853	del	0.0104	L	0.0007

Se analizaron un total de 3,825,870 secuencias del genoma del SARS-CoV-2 disponibles al público identificadas entre el 1 de enero de 2022 y el 16 de junio de 2022 contra el genoma del SARS-CoV-2 de referencia (Wuhan-Hu-1). Los datos recogidos durante este período probablemente reflejan principalmente las secuencias de Ómicron; sin embargo, otras variantes circulantes, como Delta, también pueden incluirse en este análisis. Se calculó la frecuencia (freq) de variantes dentro del epítipo del mAb14284 (según lo determinado por los estudios estructurales descritos en la presente descripción). La posición del aminoácido (AA) indica el residuo del RBD de la proteína S del SARS-CoV-2 (como se muestra en la Tabla 29). Para cada posición del AA dentro del epítipo, se muestran las frecuencias de los residuos de referencia y los 2 residuos variantes más frecuentes. “Del” indica una delección en esa posición del AA. El impacto funcional de las variantes de residuos de epítomos circulantes más predominantes evaluadas hasta el 16 de junio de 2022 (N439K, N439V, N440D, N440K, L441F, L441Q, K444L, K444M, K444N, K444Q, K444R, K444T, V445A, V445T, G446D, G446R, G446S, G446V, G447V, N448S, Y449D, Y449F, Y449H, Y449N, Y449S, Q498H, Q498R, T500A, T500F, T500N, N501T, N501Y) se resume en la Tabla 19.

Ejemplo 11: Selección de mutantes de escape del virus VSV-SARS-CoV-2-S in vitro en presencia del mAb15160

Para evaluar la selección del mutante de escape del SARS-CoV-2, las células Vero se infectaron con la replicación del VSV-SARS-CoV-2-S (cepa Wuhan-Hu-1) y se incubaron con un intervalo

de concentraciones del mAb15160 o control de isotipo IgG1 durante 4 días. Las células infectadas se monitorearon para detectar el efecto citopático (CPE) inducido por virus como una lectura para la replicación del virus. La pérdida de la eficacia de neutralización, evaluada mediante el CPE observable en presencia de una concentración creciente de anticuerpos, indicó una posible selección de mutantes de escape. Los sobrenadantes que contenían virus se recolectaron de los pocillos con la concentración más alta de mAb y CPE observable, y se pasaron en presencia del mismo mAb. Después del pasaje, los sobrenadantes que contenían virus se sometieron a análisis de secuencia de ARN y todos los cambios de aminoácidos en la proteína S se designaron como “mutaciones de escape putativas” si el cambio de aminoácidos estaba presente en las muestras tratadas con el mAb de la proteína S anti-SARS-CoV-2, pero no en las muestras de virus de entrada (inóculo) ni de control (control de IgG1 o control sin mAb).

Se observó un CPE a ≥ 90 % en presencia de 0.016 a 50 $\mu\text{g/ml}$ del mAb15160 dentro del primer pasaje. La secuenciación profunda de los genomas virales después del primer pasaje bajo selección con el mAb15160 identificó 2 mutaciones de escape putativas en el epítipo de unión al RBD del SARS-CoV-2 para el mAb15160—F486V e Y489H. Cabe destacar que ninguna de estas mutaciones individuales se encuentra en las variantes prominentes Ómicron y Delta ni en ninguna otra variante previa de preocupación, lo que indica que no hay preocupación clínica actual con respecto a estas mutaciones.

El impacto funcional de cada mutante de escape putativo en la actividad del mAb15160 se evaluó en ensayos de neutralización, como se describió anteriormente. F486V e Y489H redujeron la actividad de neutralización del mAb15160 en > 531 y 122 veces, respectivamente, en comparación con las pseudopartículas de referencia, lo que confirma que F486V e Y489H son mutantes de escape del mAb15160.

Ejemplo 12: Actividades de la función efectora in vitro del mAb15160

Se evaluó la capacidad del mAb15160 de mediar la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) de células diana marcadas con fluorescencia modificadas genéticamente para expresar la proteína S del SARS-CoV-2 de longitud completa (FL) (Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL) en presencia de células efectoras de MDM primarias marcadas con fluorescencia de dos donantes independientes que se diferenciaron en el factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF). Los resultados demostraron que la ADCP dependiente de la concentración mediada por el mAb15160 de células Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL con valores de EC_{50} en el intervalo picomolar (Tabla 31), mientras que no se observó ADCP con células parentales que no expresaron

la proteína S del SARS-CoV-2. Un control de isotipo de IgG1 no medió la ADCP de ninguna de las líneas celulares Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL o Jurkat/hCD20, mientras que una ADCP sí medió por el control de IgG1 anti-CD20 de las líneas celulares Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL y Jurkat/hCD20, lo que demuestra la capacidad de las células efectoras usadas en el ensayo de fagocitos.

Tabla 31: Resumen de la EC₅₀ y valores máximos de fagocitosis para la ADCP de células diana mediadas por el mAb15160

mAb	Donante de MDM #1				Donante de MDM #2			
	Jurkat/hCD20/ SARS-CoV-2 S FL		Jurkat/hCD20		Jurkat/hCD20/ SARS-CoV-2 S FL		Jurkat/hCD20	
	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)
mAb15160	7.81E-11	27.5	ND	14.7	4.76E-11	31.1	ND	11.1
mAb10933 (casirivimab)	9.70E-12	28.3	ND	14.0	2.23E-11	28.6	ND	11.5
mAb10987 (imdevimab)	2.91E-11	32.3	ND	14.8	1.98E-11	30.4	ND	10.7
casirivimab+imdevimab	1.20E-10	49.5	ND	15.5	5.78E-11	48.2	ND	15.1
Control de isotipo de IgG1	ND	13.1	ND	16.9	ND	9.6	ND	14.6
IgG1 anti-CD20	1.01E-09	31.1	7.75E-10	45.4	1.49E-10	30.3	4.67E-10	45.2

^a La ADCP máxima (máx) se define como el valor de porcentaje medio más alto de la ADCP observado dentro del intervalo de concentración evaluado (0 nM a 20 nM, donde 0 nM es el control sin anticuerpos).

ND, no se determinó porque no se observó un aumento dependiente de la concentración

El mAb15160 se evaluó para determinar la capacidad de mediar la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) contra células diana Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL y Jurkat/hCD20 mediante el uso de células citolíticas naturales (NK) primarias humanas de tres donantes independientes como células efectoras. Los resultados demuestran que el mAb15160 media la ADCC contra las células diana Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL, pero no contra las células parentales negativas para SARS-CoV-2, con actividad variable demostrada con cada donante de NK (donante # 3 > donante # 2; el donante # 1 no mostró actividad (Tabla 32). Un control de IgG1 no medió la ADCC de ninguna de las líneas celulares Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL o Jurkat/hCD20, mientras que un control positivo, IgG1 anti-CD20, sí medió la ADCC de las líneas celulares Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL y Jurkat/hCD20, lo que demuestra el potencial citotóxico de todas las células NK usadas en el ensayo contra cada línea celular evaluada.

Tabla 32: Resumen de la EC₅₀ y valores máximos de citotoxicidad para la ADCC contra células diana mediadas por el mAb15160

mAb	Donante de NK #1				Donante de NK #2				Donante de NK #3			
	Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL		Jurkat/hCD20		Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL		Jurkat/hCD20		Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL		Jurkat/hCD20	
	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Máx ^a (%)
mAb15160	ND	1.8	NC	4.6	NC	6.3	ND	3.1	6.32E-11	12.9	ND	0.0
mAb10933 (casirivimab)	ND	1.4	NC	4.7	NC	5.0	NC	3.6	4.89E-11	11.1	ND	1.2
mAb10987 (imdevimab)	7.42E-10	8.1	NC	3.9	5.05E-09	10.5	ND	1.9	6.44E-11	26.6	ND	1.3
casirivimab+imdevimab	ND	1.6	ND	0.8	NC	4.1	ND	4.8	3.60E-11	15.4	ND	0.0
Control de isotipo de IgG1	ND	1.8	ND	0.7	ND	0.0	NC	6.4	ND	0.0	ND	0.5
IgG1 anti-CD20	2.63E-12	20.0	3.03E-12	21.0	8.19E-12	15.1	8.08E-13	26.8	3.53E-14	14.5	NC	37.7

^a La citotoxicidad máxima (máx) se define como el valor del porcentaje de citotoxicidad medio más alto observado dentro del intervalo de concentración evaluado

NC, No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros; ND, no determinado porque no se observó un aumento dependiente de la concentración.

Se evaluó el mAb15160 para determinar la capacidad de mediar la activación de la señalización de FCGR3A en un bioensayo indicador de la ADCC sustituto mediante el uso de linfocitos T Jurkat modificados genéticamente para expresar un gen indicador del factor nuclear de la luciferasa de linfocitos T activados (NFAT-Luc) y FCGR3A humano (Jurkat/NFAT-Luc/FCGR3A) en presencia de células diana Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL. El acoplamiento de FCGR3A a través del dominio Fc de anticuerpos IgG1 humanos unidos a células diana conduce a la activación de NFAT e impulsa la expresión de la luciferasa, que luego se mide mediante una lectura de luminiscencia. De acuerdo con los resultados de los ensayos de la ADCC que usan células NK primarias, los resultados del ensayo indicador sustituto de la ADCC demuestran que el mAb15160 media un aumento dependiente de la concentración en la actividad de la luciferasa de las células indicadoras que expresan FCGR3A en presencia de células diana de Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL con una EC₅₀ de 2.97×10^{-10} M. El control negativo de IgG1 no activó el FCGR3A en presencia de las líneas celulares Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL o Jurkat/hCD20.

El mAb15160 se evaluó para determinar la capacidad de mediar la CDC contra las células diana Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL y Jurkat/hCD20 en presencia de NHS agrupados al 5 % (es decir, de varios donantes). Los resultados demuestran que el mAb15160 no media la CDC contra células Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 S FL o Jurkat/hCD20 en presencia de NHS al 5 % en concentraciones de anticuerpos que oscilan entre 0.95 pM y 1 µM. El NHS usado en el ensayo se

evaluó en las mismas líneas celulares diana para determinar la capacidad de mediar la CDC mediante el uso del control positivo, IgG1 anti-CD20. En presencia del NHS, la IgG1 anti-CD20 medió la CDC contra las líneas celulares diana de manera dependiente de la concentración. En ausencia de NHS, la IgG1 anti-CD20 no medió la lisis contra ninguna de las líneas celulares dianas evaluadas.

Ejemplo 13: Selección de mutantes de escape del virus VSV-SARS-CoV-2-S in vitro en presencia del mAb14284

Para evaluar la selección del mutante de escape del SARS-CoV-2, las células Vero se infectaron con la replicación del VSV-SARS-CoV-2-S (cepa Wuhan-Hu-1) pseudotipado y se incubaron con un intervalo de concentraciones del mAb14284 o control de isotipo IgG1 durante 4 días. Las células infectadas se monitorearon para detectar el efecto citopático (CPE) inducido por virus como una lectura para la replicación del virus. La pérdida de la eficacia de neutralización, evaluada mediante el CPE observable en presencia de una concentración creciente de anticuerpos, indicó una posible selección de mutantes de escape. Los sobrenadantes que contenían virus se recolectaron de los pocillos con la concentración más alta de mAb y CPE observable, y se pasaron en presencia del mismo mAb. Después del pasaje, los sobrenadantes que contenían virus se sometieron a análisis de secuencia de ARN y todos los cambios de aminoácidos en la proteína S se designaron como “mutaciones de escape putativas” si el cambio de aminoácidos estaba presente en la muestra tratada con el mAb14284, pero no en la muestra de control de IgG1.

Se observó un CPE a ≥ 90 % en presencia de 0.016 a 50 $\mu\text{g/ml}$ del mAb14284 dentro del primer pasaje (Tabla 33). La secuenciación profunda de los genomas virales después del primer pasaje bajo selección con el mAb14284 identificó 3 mutaciones de escape putativas en el epítipo de unión al RBD del SARS-CoV-2 para REGN14284—K444E, K444N y V445D (Tabla 34).

El impacto funcional del mutante de escape putativo, K444N, en la actividad del mAb14284 se evaluó en ensayos de neutralización, como se describió en el Ejemplo 4. La variante K444N produjo una pérdida completa de la actividad de neutralización del mAb14284 en comparación con las pseudopartículas de referencia (Tabla 19), lo que confirma que K444N es un mutante de escape del mAb14284.

Se están realizando ensayos funcionales de K444E y V445D. Sin embargo, las mutaciones K444L, K444M, K444N, K444Q, K444T, V445A y V445T dieron como resultado una reducción o pérdida completa de la actividad de neutralización del mAb14284; la actividad de neutralización del mAb14284 se retuvo contra la mutación K444R (Tabla 19).

Tabla 33: Selección de mutantes de escape del virus VSV-SARS-CoV-2-S putativos

Anticuerpo	CPE (%)						
	50 µg/ml	10 µg/ml	2 µg/ml	0.4 µg/ml	0.08 µg/ml	0.016 µg/ml	Sin mAb
	Pasaje 1						
mAb14284	<u>≥ 90</u>	≥ 90	≥ 90	≥ 90	≥ 90	≥ 90	≥ 90
Control de IgG1	<u>≥ 90</u>	≥ 90	≥ 90	≥ 90	≥ 90	≥ 90	<u>≥ 90</u>

Las células Vero se infectaron con el virus VSV-SARS-CoV-2-S en presencia del mAb14284 o el mAb de control de isotipo IgG1 en un intervalo de concentraciones (0.016 a 50 µg/ml en total) durante 4 días. Las células se evaluaron para la replicación del virus mediante el monitoreo del CPE inducido por virus. Los sobrenadantes que contenían virus se recolectaron de pocillos con las concentraciones más altas de anticuerpos y replicación vírica detectable (≥ 20 % de CPE). Se realizó una secuenciación profunda del ARN viral de para determinar la identidad de las posibles mutaciones de escape. No se secuenciaron anticuerpos de control (0 µg/ml) para monitorear la adaptación del cultivo tisular. El texto en **negrita y subrayado** indica las muestras que se secuenciaron.

Tabla 34: La secuenciación profunda de virus pasados identifica las mutaciones de escape putativas en el dominio de unión a receptores

Posición genómica	4407	4409	4411
Nucleótido de referencia	A	G	T
Variante de nucleótidos	G	T	A
Posición del gen	1330	1332	1334
Naturaleza de la mutación	nSNP	nSNP	nSNP
Posición del AA	444	444	445
Referencia del AA	K	K	V
Variante del AA	E	N	D
Inóculo	0 %	0 %	0 %
mAb14284	7 %	19 %	67 %
Control de isotipo de IgG1	0 %	0 %	0 %
Sin anticuerpos	0 %	0 %	0 %

El ARN viral de los pocillos con la concentración más alta de mAb que mostró un CPE detectable se aisló 4 días después de la infección. Se realizó una secuenciación profunda para identificar cambios en la secuencia de proteína S con relación a la secuencia de referencia Wuhan-Hu-1. En esta tabla, solo se resumen las variantes del RBD.

Ejemplo 14: Actividades de la función efectora in vitro del mAb14284

Los anticuerpos IgG que se unen a las células diana pueden mediar las funciones efectoras a través de su región constante (Fc) al interactuar con FCGR específicas expresadas en macrófagos y

linfocitos citolíticos naturales (NK), lo que conduce a la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), respectivamente, o al unirse a proteínas del complemento, lo que conduce a la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), lo que resulta en la destrucción de las células.

- 5 Se realizó una serie de estudios in vitro para evaluar la capacidad del mAb14284 para mediar la ADCP, ADCC y CDC contra células diana que expresan la proteína S del SARS-CoV-2 de longitud completa (FL) de la cepa Wuhan-Hu-1 (AA 1-1273), y linajes ómicron BA.1 y BA.2 (AA 1-1,270). Para permitir la prueba simultánea de un anticuerpo de control positivo IgG1 anti-CD20, las líneas celulares diana también se modificaron genéticamente para expresar de manera estable la
- 10 CD20 humana (hCD20).

Específicamente, se evaluó el mAb14284 para determinar la capacidad de: 1) mediar la ADCP de las células diana mediante el uso de macrófagos derivados de monocitos (MDM) como células efectoras; 2) mediar la ADCC de las células diana mediante el uso de células citolíticas naturales (NK) primarias como células efectoras; 3) activar la señalización FCGR3A en un ensayo de

15 indicador indirecto de ADCC; y 4) mediar la CDC de las células diana en presencia de suero humano normal (NHS).

La capacidad del mAb14284 de mediar la ADCP de células diana Jurkat/hCD20 marcadas con fluorescencia que expresan la proteína S FL de Wu-1, BA.1 o BA.2 se evaluó en presencia de células efectoras primarias de MDM marcadas con fluorescencia de dos donantes independientes

20 que se diferenciaron con el factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF). El mAb14284 media la ADCP dependiente de la concentración de células Jurkat/hCD20 que expresan la proteína S del SARS-CoV-2 Wu-1, BA.1, o BA.2 con valores de EC_{50} en el intervalo picomolar (Tabla 35), mientras que no se observó ADCP con células parentales que no expresan la proteína S del SARS-CoV-2. Un control de isotipo de IgG1 no medió la ADCP de ninguna de las líneas celulares

25 evaluadas, mientras que un control de IgG1 anti-CD20 medió la ADCP de todas las líneas celulares evaluadas, lo que demuestra la capacidad de las células efectoras usadas en el ensayo para fagocitar cada línea celular evaluada.

Tabla 35: Resumen de la EC_{50} y valores máximos de fagocitosis para la ADCP de células diana mediadas por el mAb14284

mAb	Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 Wu-1 S		Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 BA.1 S		Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 BA.2 S		Jurkat/hCD20	
	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)	EC ₅₀ (M)	ADCP ^a Máx (%)
Donante de MDM #1								
mAb14284	NC	38.6	3.11E-11	44	4.37E-11	46.5	ND	0
Control de isotipo de IgG1	8.78E-11	45.5	7.97E-11	61.5	2.30E-10	37.4	1.77E-10	54.9
IgG1 anti-CD20	ND	2	ND	4.4	ND	4.1	ND	4.5
Donante de MDM #2								
mAb14284	1.64E-11	49.7	3.73E-11	60.9	8.74E-11	43.8	ND	0
Control de isotipo de IgG1	8.10E-11	87.3	8.21E-11	80.4	2.23E-10	22.5	3.18E-10	37.9
IgG1 anti-CD20	ND	7.4	ND	1.5	ND	0	ND	0

^a La ADCP máxima (máx) se define como el valor de porcentaje medio más alto de la ADCP observado dentro del intervalo de concentración evaluado (0 nM a 20 nM, donde 0 nM es el control sin anticuerpos).

NC, No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros; ND, no determinado porque no se observó un aumento dependiente de la concentración

El mAb14284 se evaluó para determinar la capacidad de mediar la ADCC contra células diana Jurkat/hCD20 que expresan la proteína S FL Wu-1, BA.1 o BA.2 mediante el uso de células NK primarias humanas agrupadas de 3 donantes como células efectoras. Los resultados demuestran que el mAb14284 media la ADCC dependiente de la concentración contra la proteína S de Jurkat/hCD20 que expresa la proteína S del SARS-CoV-2 Wu-1, BA.1 o BA.2 con valores de EC₅₀ en el intervalo picomolar (Tabla 36), pero no contra las células parentales que no expresan la proteína S del SARS-CoV-2. Un control de IgG1 no medió la ADCC contra ninguna de las líneas celulares evaluadas, mientras que un control positivo, IgG1 anti-CD20, medió la ADCC contra todas las líneas celulares evaluadas, lo que demuestra el potencial citotóxico de las células NK usadas en el ensayo contra cada línea celular evaluada.

Tabla 36: Resumen de la EC₅₀ y valores máximos de citotoxicidad para la ADCC contra células diana mediadas por REGN14284

mAb	Jurkat/hCD20/ SARS-CoV-2 Wu-1 S		Jurkat/hCD20/ SARS-CoV-2 BA.1 S		Jurkat/hCD20/ SARS-CoV-2 BA.2 S		Jurkat/hCD20	
	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Max ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Max ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Max ^a (%)	EC ₅₀ (M)	Citotoxicidad Max ^a (%)
mAb14284	6.41E-12	7.9	2.64E-11	8.3	5.37E-12	8.3	ND	0.4
Control de isotipo de IgG1	ND	0.6	ND	0.2	ND	0.6	ND	0.6
IgG1 anti-CD20	5.83E-12	16.9	3.03E-12	18.8	1.49E-11	18.7	1.17E-11	15.1

^a La citotoxicidad máxima (máx) se define como el valor del porcentaje de citotoxicidad medio más alto observado dentro del intervalo de concentración evaluado

NC, No calculado porque los datos no encajan en una ecuación logística de 4 parámetros; ND, no determinado porque no se observó un aumento dependiente de la concentración.

Se evaluó el mAb14284 para determinar la capacidad de mediar la activación de la señalización de FCGR3A en un bioensayo indicador de la ADCC sustituto mediante el uso de linfocitos T Jurkat modificados genéticamente para expresar un gen indicador del factor nuclear de la luciferasa de linfocitos T activados (NFAT-Luc) y FCGR3A humano (Jurkat/NFAT-Luc/FCGR3A) en presencia de células diana Jurkat/hCD20 que expresan la proteína S FL SARS-CoV-2 Wu-1, BA.1 o BA.2. El acoplamiento de FCGR3A a través del dominio Fc de anticuerpos IgG1 humanos unidos a células diana conduce a la activación de NFAT e impulsa la expresión de la luciferasa, que luego se mide mediante una lectura de luminiscencia.

De acuerdo con los resultados de los ensayos de la ADCC que usan células NK primarias, los resultados del ensayo indicador sustituto de la ADCC demuestran que el mAb14284 media un aumento dependiente de la concentración en la actividad de la luciferasa de las células indicadoras que expresan FCGR3A en presencia de células diana que expresan la proteína S del SARS-CoV-2 Wu-1, BA.1 o BA.2 con valores de EC₅₀ de la proteína picomolar, pero que no expresan la proteína S del SARS-CoV-2. El control negativo de IgG1 no activó FCGR3A en presencia de ninguna línea celular evaluada.

El mAb14284 se evaluó para determinar la capacidad de mediar la CDC contra las células diana Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 Wu-1 S, Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 BA.1 S, Jurkat/hCD20/SARS-CoV-2 BA.2 S y Jurkat/hCD20 en presencia de NHS agrupados al 5 % (es decir, de varios donantes). Los resultados demuestran que el mAb14284 no medió la CDC contra las células Jurkat/hCD20 parentales ni las o Jurkat/hCD20 que expresan la proteína S de longitud completa

del SARS-CoV-2 Wu.1, BA.1 o BA.2 en presencia de NHS al 5 % en concentraciones de anticuerpos que oscilan entre 0.95 pM y 1 µM.

El NHS usado en el ensayo se evaluó en las mismas líneas celulares diana para determinar la capacidad de mediar la CDC mediante el uso del control positivo, IgG1 anti-CD20. En presencia del NHS, la IgG1 anti-CD20 medió la CDC contra las líneas celulares diana de manera dependiente de la concentración. En ausencia de NHS, la IgG1 anti-CD20 no medió la lisis contra ninguna de las líneas celulares dianas evaluadas.

Ejemplo 15: Ensayo clínico en fase 3 para evaluar la seguridad y la eficacia del mAb15160

Después de obtener datos de seguridad y tolerabilidad de voluntarios sanos tratados con el mAb15160, se inicia un estudio de fase 3, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado con placebo para evaluar la seguridad y la eficacia del mAb15160 para prevenir COVID-19 sintomática (Tabla 37). Este es un estudio guiado por eventos que se prevé que inscriba a aproximadamente 5,000 participantes de ≥ 18 años de edad con y sin factores de riesgo de infección grave por SARS-CoV-2, que son negativos para la PCR para SARS-CoV-2 en el momento de la aleatorización. Los participantes del estudio son aleatorizados en una relación 1:1 a uno de los 2 grupos de tratamiento (300 mg de mAb15160 administrados una vez cada 12 semanas (Q12W) o placebo) administrados como inyecciones subcutáneas (SC) durante 6 meses.

El criterio de valoración principal de este estudio es la infección por SARS-CoV-2 sintomática confirmada mediante la RT-qPCR. Los criterios de valoración secundarios incluyen la seguridad y tolerabilidad de inyecciones SC repetidas de mAb15160. Las evaluaciones de seguridad incluyen, pero no se limitan a, la recopilación de eventos adversos causados por el tratamiento, los signos vitales y los análisis de laboratorio de seguridad. También se extrae sangre para medir la concentración del fármaco, la inmunogenicidad y los títulos séricos neutralizantes. La administración del mAb15160 provoca una reducción en el porcentaje de infección sintomática por el SARS-CoV-2 en comparación con el grupo de placebo.

Tabla 37: Diseño del estudio de fase 3

Hipótesis:	La profilaxis con el mAb15160 previene la infección sintomática por el SARS-CoV-2.
Grupos de tratamiento y dosis:	mAb15160 (300 mg SC Q12W x2 dosis) Placebo SC
Elementos clave de diseño	Este es un estudio de fase 3, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado con placebo, guiado por eventos, para evaluar la seguridad y la eficacia del mAb15160 para prevenir COVID-19 sintomática

	En este estudio se inscriben aproximadamente 5,000 participantes de ≥ 18 años con y sin factores de riesgo de infección grave por el SARS-CoV-2. Los participantes del estudio serán aleatorizados en una relación 1:1 a uno de los 2 grupos de tratamiento (mAb15160 o placebo) administrados como inyecciones subcutáneas durante 6 meses.
Duración:	253 días
Población:	≥ 18 años de edad con una RT-qPCR negativa para el SARS-CoV-2 con y sin factores de riesgo de COVID-19 grave
Número de sujetos planificados:	Aproximadamente 5,000 participantes
Criterio de valoración primario:	Casos de infección sintomática por el SARS-CoV-2 confirmada mediante la RT-qPCR durante el período de evaluación de la eficacia de 6 meses
Criterio de valoración secundario:	Seguridad y tolerabilidad de inyecciones SC repetidas del mAb15160 Concentración sérica e inmunogenicidad del mAb15160

Q12W = administrado una vez cada 12 semanas

Ejemplo 16: Ensayo clínico en fase 3 para evaluar la seguridad y la eficacia del mAb15160 en profilaxis previa a la exposición

Este es un estudio de fase 3, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado con placebo en adultos y adolescentes para evaluar la seguridad y la eficacia del mAb15160 como profilaxis previa a la exposición para prevenir COVID-19. En este estudio basado en eventos, se inscriben aproximadamente 5,000 participantes de ≥ 12 años. Los participantes del estudio son aleatorizados en una relación 1:1 a uno de los 2 grupos de tratamiento (mAb15160 o placebo) administrados como inyecciones subcutáneas durante 6 meses. El estudio consiste de tres períodos: un período de selección de 1 a 14 días, un período de profilaxis y evaluación de la eficacia (EAP) de 6 meses y un período de seguimiento de 3 meses (ver la Tabla 38). La administración del mAb15160 provoca una reducción en el porcentaje de infección sintomática por el SARS-CoV-2 en comparación con el grupo de placebo.

Selección/inicio

Después de que los participantes otorguen su consentimiento informado, son evaluados para su elegibilidad en el estudio. La visita de selección tiene lugar hasta 14 días antes de la aleatorización y la visita inicial, y en algunos sujetos la selección, la aleatorización y la visita inicial pueden tener lugar el mismo día. Para ser incluidos en el estudio, los participantes tienen un resultado negativo en la prueba del SARS-CoV-2, preferentemente a partir de un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa de la transcriptasa inversa (RT-PCR) de una muestra obtenida dentro de las 72 horas

previas a la visita inicial. La aleatorización se estratificará para la asignación del grupo de tratamiento por categoría de grupo etario (≥ 12 años a < 18 años, ≥ 18 años a ≤ 65 años, > 65 años), estado de inmunodepresión (sí/no) y por vacunación previa (sí/no). Aproximadamente el 20 % o más de los participantes inscritos tendrán un estado de inmunodepresión.

5 Período de evaluación de la eficacia (EAP) y tratamiento

En el día 1, después de evaluar los resultados de laboratorio disponibles, completar las evaluaciones iniciales, la obtención de muestras y la aleatorización, todos los participantes recibirán su primera dosis del fármaco del estudio. El fármaco del estudio se administra como una inyección subcutánea (SC) de 2.5 ml de manera enmascarada. Los participantes son aleatorizados en una relación 1:1 a uno de los dos grupos de tratamiento: mAb15160 (300 mg administrados por vía subcutánea una vez cada 8 semanas (SC Q8W) o placebos administrados por vía subcutánea una vez cada 8 semanas.

Tabla 38: Diseño del estudio de fase 3

15	HIPÓTESIS	La profilaxis con el mAb15160 subcutáneo prevendrá la infección sintomática por el SARS-CoV-2. Nota: La infección sintomática por SARS-CoV-2 se determina mediante un resultado positivo de la RT-qPCR para el SARS-CoV-2 durante el período de evaluación de la eficacia (EAP) con al menos un síntoma que se produce dentro de ± 10 días después de una RT-qPCR positiva. El EAP es desde el inicio hasta los 6 meses.	
20	OBJETIVOS Y CRITERIOS DE VALORACIÓN DEL ESTUDIO	Objetivo primario: • Evaluar la eficacia del mAb15160, en comparación con el placebo, en la prevención de la infección sintomática por el SARS-CoV-2.	Criterio de valoración primario: • Incidencia acumulativa de casos de infección por SARS-CoV-2 sintomáticos confirmados mediante RT-PCR durante el período de evaluación de la eficacia (EAP)
25		Objetivos secundarios: • Evaluar la seguridad y tolerabilidad de inyecciones SC repetidas del mAb15160 en la población del estudio	Criterios de valoración secundarios: • Proporción de participantes con eventos adversos causados por el tratamiento (TEAE), durante el EAP y el período de seguimiento • Proporción de participantes con TEAE que provocaron la interrupción del fármaco del estudio durante el EAP y el período de seguimiento • Proporción de participantes con eventos adversos serios (SAE) causados por el tratamiento durante
30			

5	• Evaluar las concentraciones del mAb15160 en suero a lo largo del tiempo • Evaluar la inmunogenicidad del mAb15160	el EAP y el período de seguimiento • Proporción de participantes con eventos adversos de interés especial (AESI) durante el EAP • Concentraciones del mAb15160 en suero a lo largo del tiempo • Incidencia y título de anticuerpos antifármaco (ADA), e incidencia de anticuerpos neutralizantes (NAb) contra el mAb15160 a lo largo del tiempo
10	Objetivos exploratorios:	Criterios de valoración exploratorios:
15	• Evaluar indicadores adicionales de eficacia clínica del mAb15160 y prevención de la enfermedad, en comparación con el placebo • Evaluar la respuesta inmunitaria humoral al SARS-CoV-2 al inicio y después de la administración del mAb15160	• Incidencia acumulativa de casos de infección por SARS-CoV-2 sintomáticos confirmados mediante RT-PCR durante el período de seguimiento • Incidencia acumulativa de casos de infección por SARS-CoV-2 confirmados mediante RT-PCR (independientemente de los síntomas) durante el EAP
20	• Evaluar el potencial de neutralización sérica del mAb15160 • Caracterizar las variantes víricas mediante la secuenciación del SARS-CoV-2 en participantes que se infectan después del inicio	• Incidencia acumulativa de casos de infección por SARS-CoV-2 sintomáticos confirmados mediante RT-PCR durante el período de evaluación de la eficacia (EAP), en subgrupos de aquellos con uno o más factores de riesgo para la COVID grave • Proporción de participantes con ≥ 1 síntoma moderado de COVID-19 durante el EAP y el período de seguimiento
25	• Explorar los biomarcadores predictivos o indicativos de seguridad y/o eficacia del mAb15160, COVID-19, la infección por SARS-CoV-2 y la respuesta inmunitaria, la progresión de la enfermedad por COVID-19 y los resultados clínicos del mAb15160	• Proporción de participantes con hospitalización, visita a la sala de urgencias, visita al centro de atención de urgencia o muerte relacionada con COVID-19 durante el EAP y el período de seguimiento • Proporción de participantes con hospitalización o muerte relacionada con COVID-19 durante el EAP y el período de seguimiento
30	• Explorar las relaciones entre la exposición al mAb15160 y los criterios de valoración de eficacia y seguridad y/o los biomarcadores seleccionados	• Proporción de participantes que

5		requieren oxígeno suplementario debido a COVID-19 durante el EAP y el período de seguimiento • Proporción de participantes ingresados en una unidad de cuidados intensivos (ICU) debido a COVID-19 hasta el final del período de seguimiento • Proporción de participantes que requieren ventilación mecánica debido a COVID-19 hasta el final del período de seguimiento • Niveles absolutos, cambio con respecto al inicio y cambio en el porcentaje respecto al inicio en los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 séricos, como la proteína IgG antinucleocápside medida al inicio y después de la administración del mAb15160 a lo largo del tiempo • Valores absolutos de los títulos de dilución inhibitoria neutralizante sérica del 50 % (ID50) al inicio y posterior al tratamiento con el mAb15160 contra las variantes D614G y ómicron • Cambio con respecto al inicio en ID50 después del tratamiento con el mAb15160 contra variantes de D614G y ómicron
10		
15		
20		
	POBLACIÓN DE PACIENTES	
	Cantidad de sujetos	Se inscriben aproximadamente 5,000 participantes en el estudio.
25	Población del estudio	En este estudio se inscriben participantes con o sin factores de riesgo de progresión a COVID-19 grave, y que son negativos para la RT-PCR al ingresar en el estudio.
30	Criterios de inclusión	1. Edad ≥ 12 años en la selección. Nota: los participantes ≥ 12 y < 18 años de edad deben estar inmunodeprimidos y solo se inscribirán cuando lo permitan los requisitos locales. 2. Tiene un resultado negativo de la RT-PCR para detectar el SARS-CoV-2 a partir de una muestra obtenida ≤ 72 horas antes de la aleatorización o mediante una prueba de la RT-PCR local y la obtención de muestras según los estándares de ensayo. Notas: El resultado debe revisarse y confirmarse como negativo antes de la administración de la dosis. La muestra de hisopado nasofaríngeo es muy preferente, pero son

5		aceptables otros tipos de muestras (como nasales, orofaríngeas [OP] o salivales) que cumplan con los estándares locales. 3. Está dispuesto y es capaz de: a. Proporcionar el consentimiento informado firmado por el participante del estudio o su representante legal aceptable b. Cumplir con las visitas a la clínica y los procedimientos relacionados con el estudio, lo que incluye proporcionar muestras de hisopado nasofaríngeo 4. Es considerado por el investigador como en estado de salud estable (que incluye aquellos que tienen una afección médica estable crónica) en función de la historia clínica, el examen físico, las mediciones de los signos vitales y las mediciones de laboratorio realizadas en la selección y/o antes de la administración del fármaco del estudio
10	Criterios de exclusión	1. Tiene una esperanza de vida de menos de 2 años 2. Tiene síntomas consistentes con COVID-19 (según lo determinado por el investigador) 3. Tiene antecedentes de infección por COVID-19 o haber recibido una vacuna en investigación, autorizada o aprobada contra el SARS-CoV-2 dentro de los 90 días previos a la aleatorización 4. Uso previsto de cualquier vacuna en investigación, autorizada o aprobada para COVID-19 durante el EAP 5. Uso previo, actual o planificado de cualquiera de los siguientes tratamientos: Plasma de convalecencia de COVID-19, otros anticuerpos monoclonales contra el SARS-CoV-2 (por ejemplo, bamlanivimab y etesevimab, tixagevimab y cilgavimab, sotrovimab) o cualquier otro tratamiento para COVID-19 (autorizado, aprobado o en investigación) Nota: el uso previo se define como los últimos 30 días o dentro de las 5 semividas del tratamiento (lo que sea más prolongado) desde la selección 6. Está previsto iniciar una terapia con inmunoglobulina intravenosa (IVIG) o una terapia con inmunoglobulina subcutánea (SCIG) 7. Tener infección sintomática activa conocida con influenza u otro patógeno respiratorio, confirmado por una prueba de diagnóstico 8. Hospitalización actual o anterior (es decir, > 24 horas) por cualquier motivo dentro de los 30 días previos a la visita de selección 9. Tener alergias conocidas o hipersensibilidad a los componentes del fármaco del estudio 10. Está embarazada o en período de lactancia. 11. Es una mujer en edad fértil (WOCBP)¹ que no estén dispuestas a usar métodos anticonceptivos altamente efectivos antes de la dosis inicial/el inicio del primer tratamiento, durante el estudio y durante al menos 6 meses después de la última dosis. Los métodos anticonceptivos muy eficaces incluyen los siguientes:
15		
20		
25		
30		

5	a. Abstinencia^{2,3} b. Uso estable de anticonceptivos hormonales combinados (que contengan estrógeno y progesterona; orales, intravaginales, transdérmicos) u hormonales solo con progestágeno (orales, inyectables, implantables) asociados a inhibición de la ovulación e iniciados 2 o más ciclos menstruales antes de la selección c. Dispositivo intrauterino (IUD) o sistema intrauterino de liberación de hormonas (IUS) d. Ligadura de trompas bilateral
10	¹Las WOCBP se definen como mujeres fértiles después de la menarquia hasta la posmenopausia, a menos que sean estériles de forma permanente. Los métodos de esterilización permanente incluyen histerectomía, extirpación bilateral de trompas de Falopio y extirpación bilateral de ovarios. El estado posmenopáusico se define como la ausencia de menstruaciones durante 12 meses sin causa médica alternativa. Se podría usar un nivel alto de hormona foliculoestimulante (FSH) en el intervalo de la posmenopausia para confirmar el estado posmenopáusico en mujeres que no usen métodos anticonceptivos hormonales ni terapia de reemplazo hormonal.
15	Sin embargo, en ausencia de amenorrea durante 12 meses, una sola medición de la FSH es insuficiente para determinar el estado posmenopáusico. Las definiciones previas están de acuerdo con las directrices del Grupo de facilitación de ensayos clínicos (Clinical Trial Facilitation Group, CTFG). En mujeres con histerectomía o ligadura de trompas documentada, no es necesario realizar pruebas de embarazo ni usar métodos anticonceptivos.
20	²La abstinencia sexual se considera un método altamente efectivo solo si se define como evitar por completo las relaciones heterosexuales durante todo el período de riesgo asociado con los fármacos del estudio. Debe evaluarse la fiabilidad de la abstinencia sexual en relación con la duración del ensayo clínico y el estilo de vida preferido y habitual del paciente.
25	³La abstinencia periódica (métodos del calendario, sintotérmico, posovulatorio), el retiro (coito interrumpido), el uso de espermicidas únicamente y el método de amenorrea de la lactancia (LAM), no se consideran métodos anticonceptivos aceptables
30	12. Está en un centro de cuarentena o tiene previsto ingresar a este 13. Ser miembro del personal del estudio del centro clínico y/o familiares directos

Tabla 39: Secuencias excluidas de la lista de secuencias con formato ST.26

SEQ ID NO:	Secuencia
13	gaggtcagt
14	EVS
33	gagggcaat
34	EGN
67	gagggcact
68	EGT
85	gaggacagt
86	EDS
105	gctgcatcc
106	AAS
125	ggtgcatcc
126	GAS
163	ggtaacagc
164	GNS
183	agtaatgat
184	SND
203	gacaatgat
204	DND
241	gatgcatcc
242	DAS
261	ggtgcaaca
262	GAT
299	agtgataat
300	SDN
319	gtcaataat
320	VNN
391	aaggcatct
392	KAS
445	gataaaaac
446	DKN
464	gaactcact
465	ELT
484	gatgtcact
485	DVT
504	gaggtcact
505	EVT
524	gagggcagt
525	EGS
541	gatgtcagt
542	DVS
577	gaaaataat
578	ENN
633	ttgggttct

	634	LGS
	653	ttgggatct
	705	tctgcatcc
	706	SAS
	775	aaagacagt
5	776	KDS
	795	ggtaacacc
	796	GNT
	846	aagatttct
	847	KIS
	915	ggtcacacc
	916	GHT
10	932	aggaataat
	933	RNN
	968	tgggcatct
	969	WAS
	1000	ggtgcatcc
	1001	GAS
	1021	gctgcatcc
	1022	AAS
15	1041	gatgtcagt
	1042	DVS
	1061	ggtaacagc
	1062	GNS

Todas las referencias citadas en la presente descripción se incorporan como referencia en la misma
 medida que si cada publicación individual, entrada de base de datos (por ejemplo, secuencias de
 Genbank o entradas de GeneID), solicitud de patente, o patente, se indicara específicamente e
 individualmente que se incorporara como referencia. Esta declaración de incorporación por
 referencia está destinada a que los Solicitantes se relacionen con todas y cada una de las
 publicaciones individuales, entradas de bases de datos (por ejemplo, secuencias de Genbank o
 entradas de GeneID), solicitudes de patentes o patentes identificadas incluso si dicha mención no
 es inmediatamente adyacente a una declaración de incorporación dedicada por referencia. La
 inclusión de declaraciones de incorporación dedicadas como referencia, si las hubiera, dentro de la
 especificación no debilita de ninguna manera esta declaración general de incorporación como
 referencia. La mención de las referencias en la presente descripción no pretende ser una admisión
 de que la referencia es de la técnica previa pertinente, ni constituye ninguna admisión con respecto
 al contenido o la fecha de estas publicaciones o documentos