

ANTICUERPOS CONTRA EL SARS-COV-2 Y MÉTODOS PARA UTILIZARLOS

1. REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio prioritario de la Solicitud Provisional de EE.UU. No. 63/336,332, presentada el 29 de abril de 2022, y de la Solicitud Provisional de EE.UU. No. 63/371,454, presentada el 15 de agosto de 2022, cada una de las cuales se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

2. REFERENCIA A LA LISTA DE SECUENCIAS PRESENTADA ELECTRÓNICAMENTE

El contenido del listado de secuencias presentado electrónicamente en archivo de texto ASCII (Nombre del archivo: 2943_218PC02_SequenceListing_ST26; Tamaño: 89.789 bytes; y Fecha de creación: 24 de abril de 2023) presentada con la solicitud se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

3. CAMPO

La presente divulgación se refiere a anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y métodos de uso de los mismos.

4. ANTECEDENTES

Ha surgido una pandemia de coronavirus 2019 (COVID 19) causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2). El SARS-CoV-2 se identificó por primera vez en Wuhan, China, en diciembre de 2019, y rápidamente causó infecciones en todo el mundo. La tasa de mortalidad del virus es actualmente incierta, pero el número de casos mundiales y de muertes es asombroso. El virus es capaz de propagarse de persona a persona a través de pequeñas gotas de la nariz o la boca, que se expulsan cuando una persona infectada tose, estornuda o habla. El periodo de incubación (tiempo desde la exposición hasta la aparición de síntomas) varía de 0 a 24 días, con una media de 3-5 días, pero puede ser contagioso durante este periodo tras la recuperación. La mayoría de las personas que contraen SARS-CoV-2 muestran síntomas en los 11.5 días posteriores a la exposición. Los síntomas incluyen fiebre, tos y dificultades para respirar. El virus tiene un mayor impacto en pacientes de edad avanzada, con diabetes tipo 2, enfermedad cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y/u obesidad. La mayoría de los pacientes que contraen el virus tienen síntomas leves, pero en algunos pacientes, la infección en el pulmón es grave y causa dificultad respiratoria grave o incluso la muerte.

Se han aprobado varias vacunas destinadas a prevenir la COVID-19, y se dispone de una combinación de anticuerpos (Evusheld) para la profilaxis previa a la exposición, pero tienen menos eficacia contra las variantes que han surgido después de su desarrollo que contra las variantes más antiguas. Así pues, existe una necesidad urgente de medicamentos capaces de prevenir y tratar el COVID-19, incluidos los casos causados por nuevas variantes del virus.

5. RESUMEN

Se proporcionan en el presente documento anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, así como composiciones y combinaciones de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2. En algunos aspectos, una composición o combinación comprende (i) un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende los VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35, y 36, respectivamente; y (ii) un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:69, 70, 71, 73, 74, y 75, respectivamente.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende (i) un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga del SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y (ii) un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga del SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende (i) un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de la proteína de espiga del SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61, y (ii) un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína en espiga del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de la proteína en espiga del SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende los VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35 y 36, respectivamente. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.

En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:69, 70, 71, 73, 74, y 74, respectivamente. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:76 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y/o un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y/o un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 y/o una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77.

En algunos aspectos, la composición o combinación neutraliza el virus SARS-CoV-2, opcionalmente en el que la composición o combinación neutraliza el SARS-CoV-2 BA.2.12.1 con una IC50 de 25 ng/mL o menos o con una IC50 de 20 ng/mL o menos. En algunos aspectos, la composición o combinación neutraliza los virus SARS-CoV-2 D614G, SARS-CoV-2 alfa, SARS-CoV-2 delta+T51I+T95I, SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA.1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 BA.2.12.1, y/o SARS-CoV-2 BA.5 virus con un IC50 igual o inferior a 75 ng/mL o con un IC50 igual o inferior a 60 ng/mL.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es totalmente humano y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es totalmente humano. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas humanas IgGκ e IgGλ, opcionalmente en el que la región constante de cadena

ligera es una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o
 fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera seleccionada
 del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas humanas
 IgGk e IgGλ, opcionalmente en el que la región constante de cadena ligera es una región
 5 constante de cadena ligera IgGk humana. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o
 fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada y/o el
 segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de
 cadena pesada. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno
 comprende una región constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en
 10 inmunoglobulinas humanas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2 regiones constantes de
 cadena pesada, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una IgG1
 humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región
 constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulinas
 humanas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2 regiones constantes de cadena pesada,
 15 opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de
 cadena pesada IgG1 humana. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión
 a antígeno comprende (i) una región constante de cadena pesada IgG1 humana y (ii) una región
 constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a
 antígeno comprende (i) una región constante de cadena pesada IgG1 humana y (ii) una región
 20 constante de cadena ligera IgGk humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende
 una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE, opcionalmente en
 donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1
 humana, y una región constante de cadena ligera, opcionalmente, en donde la región constante
 25 de cadena ligera es una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo
 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada
 que comprende una mutación YTE, opcionalmente, en donde la región constante de cadena
 pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana. En algunos aspectos, el
 primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena
 30 pesada que comprende una mutación TM, opcionalmente en donde la región constante de
 cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana, y una región
 constante de cadena ligera, opcionalmente, en donde la región constante de cadena ligera es
 una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de
 unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una
 35 mutación TM, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una región
 constante de cadena pesada IgG1 humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66.

5 En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de unión a antígeno y/o en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de unión a antígeno. En algunos aspectos, el primer fragmento de unión a antígeno comprende un Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diabocuerpo, anticuerpo de dominio único, (scFv)₂, o scFv-Fc y/o el segundo fragmento de unión a antígeno comprende un Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diabocuerpo, anticuerpo de dominio único, (scFv)₂, o scFv-Fc.

En algunos aspectos, se aísla el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno y/o se aísla el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es monoclonal y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es monoclonal. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es recombinante y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es recombinante.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende (i) un primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera; y ii) un segundo anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espiga del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera. En algunos aspectos, la región constante de cadena pesada del primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66

y/o la región constante de cadena pesada del primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo IgG1 humano comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77.

En algunos aspectos, la composición es una composición farmacéutica que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en la misma composición, opcionalmente en donde la composición es una composición farmacéutica. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en composiciones separadas, opcionalmente en las que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en una composición farmacéutica.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2, comprende los VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de: (i) SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35 y 36, respectivamente; (ii) SEQ ID NOs:25, 26, 30, 28, 67 y 29, respectivamente; o (iii) SEQ ID NOs:13, 14, 19, 16, 17 y 18, respectivamente.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 comprende: (a) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41; (b) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (c) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; (d) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; (e) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53; (f) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57; (g) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57; (h)

una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55; (i) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y/o cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; (j) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y/o cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; k) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; l) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o (m) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y/o una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno neutraliza el pseudovirus SARS-CoV-2. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo neutraliza SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 Delta, y/o SARS-CoV-2 D614G pseudovirus con una EC50 de 100 ng/mL o menos.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es totalmente humano.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera. En algunos aspectos, la región constante de cadena ligera se selecciona del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas humanas IgGk e IgGλ, opcionalmente en donde la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera de IgGk humana.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada. En algunos aspectos, la región constante de cadena pesada se selecciona del grupo que consiste en inmunoglobulinas humanas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2 regiones constantes de cadena pesada. En algunos aspectos, la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende (i) una región constante de cadena pesada IgG1 humana y (ii) una región constante de cadena ligera IgGk humana.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE, opcionalmente en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación TM, opcionalmente en

donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, opcionalmente en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo de longitud completa. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un fragmento de unión a antígeno. En algunos aspectos, el fragmento de unión a antígeno comprende un Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diabacuerpo, anticuerpo de dominio único, (scFv)₂, o scFv-Fc.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno está aislado. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es monoclonal. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es recombinante.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende además una etiqueta detectable.

También se proporcionan en el presente documento polinucleótidos.

En algunos aspectos, un polinucleótido aislado comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada y/o una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento.

En el presente documento también se proporcionan vectores, En algunos aspectos, un vector aislado comprende un polinucleótido proporcionado en el presente documento.

En el presente documento también se proporcionan células huésped. En algunos aspectos, una célula huésped comprende un polinucleótido proporcionado en el presente documento, un vector proporcionado en el presente documento, o un primer vector que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada y un segundo vector que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento.

En el presente documento también se proporcionan métodos de producción de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunos aspectos, un método de producción de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga del SARS-CoV-2 comprende el cultivo de una célula huésped proporcionada en el presente documento para que se exprese la molécula de ácido nucleico y se produzca el

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo,. En algunos aspectos, el método comprende además aislar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. También se proporcionan anticuerpos y fragmentos de unión a antígenos producidos por los métodos aquí proporcionados.

5 En el presente documento también se proporcionan composiciones. En algunos aspectos, una composición comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento. En algunos aspectos, la composición es una composición farmacéutica que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se proporcionan composiciones y combinaciones.
10 En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína pico del SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID
15 NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; y

un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de
20 espiga del SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 o (ii) una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

25 En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga de SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de
30 SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47; y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína en espiga del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de la proteína en espiga del SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable (VH) que
35 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 o (ii) una cadena pesada

variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende los VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID
5 NOs:13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47.

En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo
10 comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35, y 36, respectivamente. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende (i) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; (ii) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y un VL
15 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; (iii) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y una VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; (iv) una VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y una VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; (v) una VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y una VL que
20 comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o (vi) una VH que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una VL que comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64.

En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID
25 NOs:20, 21, 22, 23, 67, y 24, respectivamente. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 o (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de espiga de SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID
30 NOs:13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente; y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende (i) los VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de los SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35,

y 36, respectivamente o (ii) el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:20, 21, 22, 23, 67, y 24, respectivamente.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y/o un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47.

En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y/o una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61.

En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y/o una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

En algunos aspectos, la composición o combinación neutraliza el pseudovirus SARS-CoV-2, opcionalmente en los que la composición o combinación neutraliza el pseudovirus SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 Delta, y/o SARS-CoV-2 D614G con una EC50 de 75 ng/mL o menos. En algunos aspectos, la composición o combinación (i) neutraliza los pseudovirus SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, y/o SARS-CoV-2 BA.2 con una EC50 de 25 ng/mL o menos y/o (ii) neutraliza los pseudovirus SARS-CoV-2 Delta y/o SARS-CoV-2 D614G con una EC50 de 75 ng/mL o menos.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es totalmente humano y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es totalmente humano.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas humanas IgGκ e IgGλ, opcionalmente en el que la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera IgGκ humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas humanas IgGκ e IgGλ, opcionalmente en el que la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera IgGκ humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulinas humanas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4,

IgA1, e IgA2 regiones constantes de cadena pesada, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una IgG1 humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulinas humanas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2 regiones constantes de cadena pesada, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende (i) una región constante de cadena pesada IgG1 humana y (ii) una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende (i) una región constante de cadena pesada IgG1 humana y (ii) una región constante de cadena ligera IgGk humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE, opcionalmente en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana, y una región constante de cadena ligera, opcionalmente, en donde la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación TM, opcionalmente en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana, y una región constante de cadena ligera, opcionalmente, en donde la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera IgGk humana y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende una mutación TM, opcionalmente, en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada IgG1 humana.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66.

En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa. En algunos aspectos,

el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de unión a antígeno y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de unión a antígeno. En algunos aspectos, el primer fragmento de unión a antígeno comprende un Fab,

Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diabocuerpo, anticuerpo de dominio único, (scFv)₂, o scFv-Fc y/o el segundo fragmento de unión a antígeno comprende un Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diabocuerpo, anticuerpo de dominio único, (scFv)₂, o scFv-Fc.

En algunos aspectos, se aísla el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno y/o se aísla el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es monoclonal y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es monoclonal. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es recombinante y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es recombinante.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera; y un segundo anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera; y un segundo anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO:53, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera.

En algunos aspectos, una composición o combinación comprende: un primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera; y un segundo anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2, en el que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50, una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51, una región constante de cadena pesada que comprende una mutación YTE y una mutación TM, y una región constante de cadena ligera.

En algunos aspectos, la región constante de cadena pesada del primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 y/o la región constante de cadena pesada del primer anticuerpo IgG1 humano o fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66.

En algunos aspectos, la composición es una composición farmacéutica que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunos aspectos de una combinación proporcionada en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en la misma composición, opcionalmente en donde la composición es una composición farmacéutica. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en composiciones separadas, opcionalmente en las que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo están en una composición farmacéutica.

También se proporcionan en el presente documento métodos para neutralizar SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un método para neutralizar el SARS-CoV-2 comprende poner en contacto el SARS-CoV-2 con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento o una composición o combinación proporcionada en el presente documento. En algunos aspectos, la puesta en contacto es *in vitro*. En algunos aspectos, el contacto es en un sujeto.

También se proporcionan en el presente documento métodos para la profilaxis previa a la exposición de SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un método para proporcionar profilaxis

previa a la exposición de SARS-CoV-2 en un sujeto comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición o combinación proporcionada en el presente documento. En algunos aspectos, el sujeto no está actualmente infectado con SARS-CoV-2. En algunos aspectos, el sujeto no tiene una exposición reciente conocida a un individuo infectado con SARS-CoV-2. En algunos aspectos, el sujeto tiene un compromiso inmunitario de moderado a grave. En algunos aspectos, el compromiso inmunitario de moderado a grave se debe a una afección médica o a la recepción de medicamentos o tratamientos inmunosupresores. En algunos aspectos, el sujeto puede no montar una respuesta inmune adecuada a la vacunación COVID-19. En algunos aspectos, la vacunación COVID-19 no está recomendada para el sujeto. En algunos aspectos, no se recomienda la vacunación COVID-19 debido a antecedentes de reacciones adversas graves a una vacuna COVID-19 y/o a un componente de la vacuna COVID-19. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administran secuencialmente.

También se proporcionan en el presente documento métodos para tratar o prevenir una infección por SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un método para tratar o prevenir una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una combinación proporcionada en el presente documento, en la que el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administran secuencialmente. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra antes de la administración del segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra después de la administración del segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra por vía intramuscular y/o en los que el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra por vía intramuscular.

En algunos aspectos, un método para proporcionar profilaxis previa a la exposición de SARS-CoV-2 en un sujeto comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento. En algunos aspectos, un método para tratar o prevenir una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento. En algunos aspectos, la administración es intramuscular.

En algunos aspectos de los métodos aquí proporcionados, el sujeto ha estado expuesto a SARS-CoV-2 o está en riesgo de exposición a SARS-CoV-2.

En algunos aspectos de los métodos proporcionados en el presente documento, el sujeto es humano.

En algunos aspectos de los métodos aquí proporcionados, el SARS-CoV-2 es SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 Beta, SARS-CoV-2 Delta, y/o SARS-CoV-2 D614G. En algunos aspectos de los métodos aquí proporcionados, el SARS-CoV-2 es el SARS-CoV-2 BA.2.12.1.

También se proporcionan en el presente documento métodos para detectar SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un método para detectar SARS-CoV-2 en una muestra comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno proporcionado en el presente documento o una composición o combinación proporcionada en el presente documento.

6. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 muestra la neutralización de pseudovirus SARS-CoV-2 por anticuerpos RQ33, RQ40, RQ41 y RQ43. (Véase el ejemplo 17.)

La Fig. 2 muestra la neutralización del pseudovirus SARS-CoV-2 mediante combinaciones de anticuerpos. (Véase el ejemplo 17.)

La Fig. 3 muestra la actividad de neutralización in vitro de RQ33, RQ43-GL-H-LO1, y la combinación de RQ33 + RQ43-GL-H-LO1 frente a BA.2.12.1 VOC de SARS-CoV-2 mediante ensayo de neutralización por reducción de foco (FRNT). El ensayo se repitió en dos réplicas independientes, cada una por duplicado. Las curvas dosis-respuesta de regresión no lineal representan la media y la desviación estándar de ambas réplicas en cada dilución. mAb, anticuerpo monoclonal; VOC, variante de interés (véase el Ejemplo 18.)

La Fig. 4 muestra curvas de neutralización in vitro para pseudovirus con pico de SARS-CoV-2 omicron BA.2.12.1 VOC mediante ensayo de neutralización de pseudovirus. El ensayo se repitió en tres réplicas independientes, cada una por triplicado. Las curvas dosis-respuesta de regresión no lineal representan una réplica representativa con la media y la desviación estándar en cada dilución. mAb, anticuerpo monoclonal; VOC, variante de interés (Véase el Ejemplo 18.)

La Fig. 5 muestra que cilgavimab y RQ43-GL-H-LO1 se unen consecutivamente al dominio de unión al receptor de la proteína de espiga de SARS-CoV-2. Se realizó interferometría de biocapa para evaluar la unión concurrente de cilgavimab, RQ43-GL-H-LO1 y CR3022 (mAb de control no competidor) al RBD de espiga de SARS-CoV-2. Se muestra la señal de unión (nm) para la unión de mAb1 (negro) seguida del subsiguiente aumento de la señal por la unión de tampón (sin señal visible), CR3022 (gris), cilgavimab (Con hash en el gráfico de la izquierda) o RQ43-GL-H-LO1 (Con hash en el gráfico de la derecha). La señal de unión se promedió a partir de puntos de datos tomados durante 10 segundos en equilibrio para cada paso de unión. Se consideró que los mAbs se unían si el aumento de la señal de unión era superior a 0.3 nm. mAb:

anticuerpo monoclonal; SARS-CoV-2: coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo. (Véase el ejemplo 18.)

La Fig. 6 proporciona una representación lineal del sitio de unión de cilgavimab (arriba) y el sitio de unión de RQ43 (abajo) mapeado al RBD de SARS-CoV-2. Los sitios de unión del cilgavimab y el RQ43 no son contiguos y se indican mediante recuadros y letras subrayadas, mientras que los residuos situados fuera de los respectivos sitios de unión no están subrayados. (Véase el ejemplo 18.)

7. DESCRIPCIÓN DETALLADA

Se proporcionan en el presente documento anticuerpos (*p.ej.*, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y métodos de uso de los mismos.

7.1 TERMINOLOGÍA

El término "anticuerpo" significa una molécula de inmunoglobulina que reconoce y se une específicamente a una diana, tal como una proteína, polipéptido, péptido, carbohidrato, polinucleótido, lípido, o combinaciones de los anteriores a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno dentro de la región variable de la molécula de inmunoglobulina. En el presente documento, el término "anticuerpo" abarca anticuerpos policlonales intactos, anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada, siempre que los anticuerpos presenten la actividad biológica deseada. Un anticuerpo puede ser de cualquiera de las cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, o subclases (isotipos) de las mismas (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), basándose en la identidad de sus dominios constantes de cadena pesada denominados alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las diferentes clases de inmunoglobulinas tienen estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales distintas y bien conocidas. Los anticuerpos pueden estar desnudos o conjugados con otras moléculas como toxinas, radioisótopos, etc.

El término "fragmento de anticuerpo" se refiere a una porción de un anticuerpo intacto. Un "fragmento de unión al antígeno", "dominio de unión al antígeno" o "región de unión al antígeno" se refiere a una parte de un anticuerpo intacto que se une a un antígeno. Un fragmento de unión al antígeno puede contener las regiones determinantes antigénicas de un anticuerpo intacto (por ejemplo, las regiones determinantes de complementariedad (CDR)). Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos que se unen a antígenos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, anticuerpos lineales y anticuerpos monocatenarios. Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede derivar de cualquier especie animal, tal como roedores (*porejemplo*, ratón, rata o hámster) y seres humanos, o puede producirse artificialmente.

Los términos "anticuerpo contra la proteína en espiga del SARS-CoV-2", "anticuerpo contra la proteína en espiga del SARS-CoV-2" y "anticuerpo que se une a la proteína en espiga del SARS-CoV-2" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un anticuerpo que es capaz de unirse a la proteína en espiga del SARS-CoV-2 con suficiente afinidad de modo que el anticuerpo sea útil como agente diagnóstico y/o terapéutico para dirigirse al SARS-CoV-2. El grado de unión de un anticuerpo de la proteína espicular del SARS-CoV-2 a una proteína espicular no SARS-CoV-2 no relacionada puede ser menor de aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína espicular del SARS-CoV-2 según lo medido, por ejemplo, usando ForteBio o Biacore.

Un anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a una población homogénea de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno implicados en el reconocimiento y unión altamente específicos de un único determinante antigénico, o epítipo. Esto contrasta con los anticuerpos policlonales que suelen incluir diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes antigénicos. El término anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo incluye tanto anticuerpos monoclonales intactos como de longitud completa, así como fragmentos de anticuerpo (tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), mutantes monocatenarios (scFv), proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo, y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprenda un sitio de reconocimiento de antígeno. Además, el anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a dichos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos producidos de varias maneras, incluyendo, pero sin limitación, mediante hibridoma, selección de fagos, expresión recombinante y animales transgénicos.

Como se usan en el presente documento, los términos "región variable" o "dominio variable" se usan indistintamente y son comunes en la técnica. La región variable se refiere normalmente a una porción de un anticuerpo, generalmente, una porción de una cadena ligera o pesada, normalmente de manera aproximada los aminoácidos 110 a 120 del extremo amino o los aminoácidos 110 a 125 en la cadena pesada madura y aproximadamente los aminoácidos 90 a 115 en la cadena ligera madura, que difieren ampliamente en la secuencia entre los anticuerpos y se utilizan en la unión y especificidad de un anticuerpo particular por su antígeno particular. La variabilidad en la secuencia se concentra en las regiones llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR) mientras que las regiones mucho más conservadas en el dominio variable se denominan regiones estructurales (FR). Sin desear ceñirse a ningún mecanismo o teoría particular, se cree que las CDR de las cadenas ligera y pesada son las principales responsables de la interacción y la especificidad del anticuerpo con el antígeno. En algunos aspectos, la región variable es una región variable humana. En algunos aspectos, la región variable comprende CDR de roedor o murinas y regiones marco (FR) humanas. En algunos aspectos, la región variable es una región variable de primate (*por*

ejemplo, un primate no humano). En algunos aspectos, la región variable comprende CDR de roedor o murinas y regiones marco (FR) de primate (*por ejemplo*, un primate no humano).

El término "región determinante de la complementariedad" o "CDR" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en secuencia y/o forman bucles estructuralmente definidos (bucles hipervariables) y/o contienen los residuos de contacto con el antígeno. Los anticuerpos pueden comprender seis CDR, por ejemplo, tres en el VH y tres en el VL.

Los términos "VL" y "dominio VL" se utilizan indistintamente para referirse a la región variable de cadena ligera de un anticuerpo.

Los términos "VH" y "dominio VH" se utilizan indistintamente para referirse a la región variable de cadena pesada de un anticuerpo.

El término "numeración de Kabat" y términos similares son reconocidos en la técnica y se refieren a un sistema de numeración de residuos de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, las CDR se pueden determinar según el sistema de numeración de Kabat (véase, *por ejemplo*, Kabat EA y Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391 y Kabat EA *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de los NIH N.º 91-3242). Utilizando el sistema de numeración de Kabat, las CDR de dentro de una molécula de cadena pesada de anticuerpo normalmente están presentes en las posiciones de aminoácidos 31 a 35 que, opcionalmente, pueden incluir uno o dos aminoácidos adicionales, detrás de 35 (denominados en el esquema de numeración de Kabat como 35A y 35B) (CDR1), en las posiciones de aminoácidos 50 a 65 (CDR2) y en las posiciones de aminoácidos 95 a 102 (CDR3). Utilizando el sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de cadena ligera de anticuerpo suelen estar presentes en las posiciones de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), en las posiciones de aminoácidos 50 a 56 (CDR2) y en las posiciones de aminoácidos 89 a 97 (CDR3).

Chothia se refiere en cambio a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). El final del bucle CDR-H1 de Chothia cuando se numera utilizando la convención de numeración de Kabat varía entre H32 y H34 dependiendo de la longitud del bucle (esto se debe a que el esquema de numeración de Kabat sitúa las inserciones en H35A y H35B; si no están presentes ni 35A ni 35B, el bucle termina en 32; si sólo está presente 35A, el bucle termina en 33; si están presentes tanto 35A como 35B, el bucle termina en 34). Las regiones hipervariables AbM representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular.

5

10

Bucle	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34
		(Numeración de Kabat)	
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32
		(Numeración de Chothia)	
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

15

20

Como se usa en el presente documento, el término "región constante" o "dominio constante" son intercambiables y tienen su significado común en el arte. La región constante es una porción de anticuerpo, *por ejemplo*, una porción carboxilo terminal de una cadena ligera y/o pesada que no está directamente implicada en la unión de un anticuerpo al antígeno pero que puede exhibir diversas funciones efectoras, como la interacción con el receptor Fc. La región constante de una molécula de inmunoglobulina suele tener una secuencia de aminoácidos más conservada que el dominio variable de una inmunoglobulina. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante o una porción de la misma que es suficiente para la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC).

25

Como se usa en el presente documento, el término "cadena pesada" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede referirse a cualquier tipo distinto, *por ejemplo*, alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ), y mu (μ), basado en la secuencia de aminoácidos del dominio constante, que dan lugar a las clases de anticuerpos IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, respectivamente, incluyendo subclases de IgG, *por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada son bien conocidas en la técnica. En algunos aspectos, la cadena pesada es una cadena pesada humana.

30

Como se usa en el presente documento, el término "cadena ligera" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede referirse a cualquier tipo distinto, *por ejemplo*, kappa (κ) o lambda (λ) basado en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera son bien conocidas en la técnica. En algunos aspectos, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

35

El término anticuerpo "humanizado" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) o fragmentos de unión a antígeno que son cadenas de inmunoglobulina específicas o fragmentos de las mismas que contienen secuencias mínimas no humanas (por ejemplo, murinas). Por lo general, los

anticuerpos humanizados o sus fragmentos de unión a antígeno son inmunoglobulinas humanas en las que los residuos de la región determinante complementaria (CDR) se sustituyen por residuos de la CDR de una especie no humana (por ejemplo, ratón, rata, conejo, hámster) que tienen la especificidad, afinidad y capacidad deseadas ("CDR injertada") (Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536 (1988)). En algunos casos, los residuos de la región estructural (FR) Fv de una inmunoglobulina humana se reemplazan con los residuos correspondientes en un anticuerpo o fragmento de una especie no humana que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. El anticuerpo humanizado o el fragmento de unión al antígeno de este puede modificarse adicionalmente mediante la sustitución de residuos adicionales en la región estructural Fv y/o dentro de los residuos no humanos utilizados para el reemplazo para refinar y optimizar la especificidad, afinidad y/o capacidad del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este. En general, el anticuerpo humanizado o fragmento de unión al antígeno de este comprenderá sustancialmente cada uno de al menos uno, y normalmente dos o tres, dominios variables que contienen todas o sustancialmente todas las regiones CDR que corresponden a la inmunoglobulina no humana, mientras que todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno de este también puede comprender al menos una porción de un dominio (Fc) o región constante de inmunoglobulina, normalmente de una inmunoglobulina humana. Ejemplos de métodos utilizados para generar anticuerpos humanizados se describen en U.S. Pat. 5,225,539; Roguska et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973 (1994), and Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904 (1996). En algunos aspectos, un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo recubierto.

El término anticuerpo "humano" o "completamente humano" o fragmento de unión a antígeno del mismo significa un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene una secuencia de aminoácidos derivada de un locus génico de inmunoglobulina humana, donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se hace usando cualquier técnica conocida en la técnica. Esta definición de un anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno de este incluye anticuerpos intactos o de longitud completa y fragmentos de estos.

"Afinidad de unión" se refiere generalmente a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (*ej.*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo) y su pareja de unión (*ej.*, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, tal como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (*por ejemplo*, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su pareja Y puede representarse generalmente mediante la constante de disociación (K_D). La afinidad se puede medir y/o expresar de varias formas conocidas en la

técnica, que incluyen, entre otras, la constante de disociación en equilibrio (K_D) y la constante de asociación en equilibrio (K_A). El K_D se calcula a partir del cociente de k_{off}/k_{on} , mientras que el K_A se calcula a partir del cociente de k_{on}/k_{off} . k_{on} se refiere a la constante de velocidad de asociación de, *por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a un antígeno, y k_{off} se refiere a la disociación de, *por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de un antígeno. La k_{on} y la k_{off} se pueden determinar mediante técnicas conocidas por un experto en la materia, tales como BIAcore® o KinExA.

Como se usa en el presente documento, un "epítipo" es un término del arte y se refiere a una región localizada de un antígeno a la que puede unirse específicamente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Un epítipo puede ser, por ejemplo, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítipo lineal o contiguo) o un epítipo puede, por ejemplo, provenir de dos o más regiones no contiguas de un polipéptido o polipéptidos (epítipo conformacional, no lineal, discontinuo o no contiguo). En algunos aspectos, el epítipo al que se une un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede determinarse mediante, por ejemplo, espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masas (*por ejemplo*, cromatografía líquida-espectrometría de masas por electropulverización), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices y/o mapeo de mutagénesis (por ejemplo, mapeo de mutagénesis dirigida). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización puede realizarse usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, Giegé R *et al.*, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303). Los cristales de anticuerpo/fragmento de unión a antígeno del mismo:antígeno pueden estudiarse utilizando técnicas de difracción de rayos X bien conocidas y pueden refinarse utilizando programas informáticos como X-PLOR (Universidad de Yale, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; véase, por ejemplo, Meth Enzymol (1985) volúmenes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*,; U.S. 2004/0014194), y BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed. Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323). Los estudios de cartografía de mutagénesis pueden realizarse utilizando cualquier método conocido por un experto en la materia. Véase, *por ejemplo*, Champe M *et al.*, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 y Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085 para una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluidas las técnicas de mutagénesis de barrido de alanina.

Un anticuerpo que "se une al mismo epítipo" que un anticuerpo de referencia se refiere a un anticuerpo que se une a los mismos residuos de aminoácidos que el anticuerpo de referencia. La capacidad de un anticuerpo para unirse al mismo epítipo que un anticuerpo de

referencia puede determinarse mediante un ensayo de intercambio de hidrógeno/deuterio (véase, por ejemplo, Coales et al. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2009; 23: 639-647).

Como se usan en el presente documento, los términos "se une inmunoespecíficamente", "reconoce inmunoespecíficamente", "se une específicamente" y "reconoce específicamente" son términos análogos en el contexto de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Estos términos indican que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a un epítipo a través de su dominio de unión a antígeno y que la unión implica cierta complementariedad entre el dominio de unión a antígeno y el epítipo. Por consiguiente, en algunos aspectos, un anticuerpo "que se une específicamente" a la proteína espicular del SARS-CoV-2 también puede unirse a la proteína espicular de uno o más virus relacionados (por ejemplo, SARS-1) y/o también puede unirse a variantes de la proteína espicular del SARS-CoV-2, pero el grado de unión a una proteína espicular no SARS-CoV-2 no relacionada es menor de aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína espicular del SARS -CoV según lo medido, por ejemplo, usando ForteBio o Biacore.

Se dice que un anticuerpo "inhibe competitivamente" la unión de un anticuerpo de referencia a un epítipo dado si se une preferentemente a ese epítipo o a un epítipo solapante hasta el punto de bloquear, en cierto grado, la unión del anticuerpo de referencia al epítipo. La inhibición competitiva puede determinarse por cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, ensayos ELISA de competición. Se puede decir que un anticuerpo inhibe competitivamente la unión del anticuerpo de referencia a un epítipo dado en al menos un 90 %, al menos un 80 %, al menos un 70 %, al menos un 60 % o al menos un 50 %.

Un polipéptido, anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición que está "aislado" es un polipéptido, anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición que está en una forma que no se encuentra en la naturaleza. Los polipéptidos, anticuerpos, polinucleótidos, vectores, células o composiciones aisladas incluyen aquellos que se han purificado hasta un grado en el que ya no están en una forma en la que se encuentran en la naturaleza. En algunos aspectos, un anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición que están aislados son sustancialmente puros. Tal como se usa en el presente documento, "sustancialmente puro" se refiere a un material que es al menos un 50 % puro (es decir, exento de contaminantes), al menos un 90 % puro, al menos un 95 % puro, al menos un 98 % puro o al menos un 99 % puro.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede estar interrumpido por elementos distintos de aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado de manera natural o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de

marcaje. También se incluyen en la definición, por ejemplo, los polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la materia. Se sobreentiende que, dado que los polipéptidos de esta invención se basan en anticuerpos, en algunos aspectos, los polipéptidos pueden aparecer como cadenas sencillas o cadenas asociadas.

"Porcentaje de identidad" se refiere al grado de identidad entre dos secuencias (*por ejemplo*, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácidos nucleicos). El porcentaje de identidad se puede determinar alineando dos secuencias, introduciendo huecos para maximizar la identidad entre las secuencias. Los alineamientos se pueden generar usando programas conocidos en la técnica. A los efectos del presente documento, el alineamiento de las secuencias de nucleótidos se puede realizar con el programa blastn ajustado en los parámetros predeterminados, y el alineamiento de las secuencias de aminoácidos se puede realizar con el programa blastp ajustado en los parámetros predeterminados (véase el National Center for Biotechnology Information (NCBI) en la red, ncbi.nlm.nih.gov).

Como se usan en el presente documento, los aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas incluyen alanina (A), isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V), fenilalanina (F), triptófano (W) y tirosina (Y). Los aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas alifáticas incluyen alanina (A), isoleucina (I), leucina (L), metionina (M) y valina (V). Los aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas aromáticas incluyen fenilalanina (F), triptófano (W) y tirosina (Y).

Como se usan en el presente documento, los aminoácidos con cadenas laterales neutras polares incluyen asparagina (N), cisteína (C), glutamina (Q), serina (S) y treonina (T).

Como se usan en el presente documento, los aminoácidos con cadenas laterales cargadas eléctricamente incluyen ácido aspártico (D), ácido glutámico (E), arginina (R), histidina (H) y lisina (K). Los aminoácidos con cadenas laterales ácidas cargadas eléctricamente incluyen ácido aspártico (D) y ácido glutámico (E). Los aminoácidos con cadenas laterales cargadas eléctricamente básicas incluyen arginina (R), histidina (H) y lisina (K).

Como se usa en el presente documento, el término "célula huésped" puede ser cualquier tipo de célula, *por ejemplo*, una célula primaria, una célula en cultivo o una célula de una línea celular. En algunos aspectos, la expresión "célula huésped" se refiere a una célula transfectada con una molécula de ácido nucleico y la progenie o la progenie potencial de dicha célula. La progenie de dicha célula puede no ser idéntica a la célula madre transfectada con la molécula de ácido nucleico, *por ejemplo*, debido a mutaciones o influencias ambientales que pueden ocurrir en generaciones sucesivas o la integración de la molécula de ácido nucleico en el genoma de la célula huésped.

El término "formulación farmacéutica" o "composición farmacéutica" se refiere a una preparación cuya forma permite que la actividad biológica del principio activo sea eficaz, y que

no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se administraría la formulación. La formulación puede ser estéril.

Como se proporciona en el presente documento, una "combinación" de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se refiere a dos o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos para su uso conjunto. Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en la combinación pueden estar contenidos juntos en una única composición farmacéutica o pueden estar en composiciones farmacéuticas separadas. Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de una combinación en composiciones farmacéuticas separadas pueden administrarse simultánea o secuencialmente.

Los términos "administrar", "administrando", "administración" y similares, como se usan en el presente documento, se refieren a métodos que pueden usarse para permitir la administración de un fármaco, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 al sitio deseado de acción biológica (por ejemplo, administración intravenosa). Las técnicas de administración que pueden emplearse con los agentes y métodos aquí descritos se encuentran en *por ejemplo*, Goodman y Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edición actual, Pergamon; y Remington's, *Pharmaceutical Sciences*, edición actual, Mack Publishing Co., Easton, Pa.

En el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se utilizan indistintamente. El sujeto puede ser un animal. En algunos aspectos, el sujeto es un mamífero tal como un animal no humano (*por ejemplo*, vaca, cerdo, caballo, gato, perro, rata, ratón, mono u otro primate, etc.). En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco, por ejemplo, uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos eficaces para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto.

Términos como "tratar" o "tratamiento" o "tratar" o "aliviar" o "aliviar" se refieren a medidas terapéuticas que curan, ralentizan, disminuyen los síntomas de y/o detienen la progresión de una afección o trastorno patológico diagnosticado. Así pues, entre las personas que necesitan tratamiento se incluyen las que ya han sido diagnosticadas o se sospecha que padecen el trastorno. Los pacientes o sujetos que necesitan tratamiento pueden incluir los diagnosticados con coronavirus 2019 (COVID 19) y aquellos que han sido infectados con el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2 (SARS-CoV-2).

Alternativamente, el efecto farmacológico y/o fisiológico puede ser profiláctico, es decir, el efecto previene total o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma. A este respecto, el método divulgado comprende administrar una "cantidad profilácticamente eficaz" de un fármaco (por ejemplo, uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos). Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a las dosis y durante

los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado profiláctico deseado (*por ejemplo*, prevención de la infección por SARS-CoV-2 o la aparición de la enfermedad).

Como se utiliza en la presente divulgación y reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen formas plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

5 Se entiende que dondequiera que se describan aspectos en el presente documento con el lenguaje "que comprende", también se proporcionan aspectos análogos de otro modo descritos en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en". En esta divulgación, "comprende", "que comprende", "que contiene" y "que tiene" y similares pueden significar "incluye", "que incluye" y similares; "que consiste esencialmente en" o "consiste
10 esencialmente" son ilimitados, lo que permite la presencia de más de lo que se menciona, siempre que las características básicas o novedosas de lo que se menciona no se modifiquen por la presencia de más de lo que se menciona, pero excluye los aspectos de la técnica anterior.

A menos que se indique específicamente o resulte obvio por el contexto, tal como se utiliza en el presente documento, el término "o" se entiende que es inclusivo. El término "y/o" tal
15 como se usa en una expresión tal como "A y/o B" en el presente documento pretende incluir tanto "A y B", "A o B", "A" como "B". Asimismo, el término "y/o" tal como se usa en una expresión tal como "A, B y/o C" pretende abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo) y C (solo).

Como se usan en el presente documento, los términos "aproximadamente" y
20 "aproximadamente", cuando se usan para modificar un valor numérico o rango numérico, indican que las desviaciones de hasta un 10% por encima y hasta un 10% por debajo del valor o rango permanecen dentro del significado pretendido del valor o rango recitado. Se entiende que siempre que se describan en el presente documento aspectos con la expresión "aproximadamente" o "alrededor" un valor o intervalo numérico, también se proporcionan
25 aspectos análogos que se refieren al valor o intervalo numérico específico (sin "aproximadamente").

Cualquiera de las composiciones o métodos proporcionados en el presente documento pueden combinarse con uno o más de cualquiera de las otras composiciones y métodos proporcionados en el presente documento.

30 **7.2 ANTICUERPOS Y SUS FRAGMENTOS DE UNIÓN A ANTÍGENOS**

En un aspecto específico, se proporcionan en el presente documento anticuerpos (*por ejemplo*, anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos humanos) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2. La secuencia de aminoácidos de la proteína espigular de la proteína espigular del SARS-CoV-2 se proporciona
35 en la SEQ ID NO:1:

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPF
FSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSTQSLIVNN

ATNVVIKVEFCQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQ
 GNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYL
 TPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGI
 YQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFS
 5 TFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS
 NNLDKSVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTN
 GVGYPYRVVVLSEFLLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQ
 QFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHAD
 QLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAHEVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQ
 10 SIIAYTMSLGAENSVAYSNNISAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQY
 GSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDL
 LFNKVTADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLTDEMIAQYTSALLAGTITSGW
 TFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASALGKLQD
 VVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRA
 15 AEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTT
 APAICHDGKAHFPREGVFSNGTHWFVTQRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPL
 QPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKY
 EQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVK
 LHYT (SEQ ID NO:1)

20 Los aminoácidos 1-12 de SEQ ID NO:1 son el péptido señal de la proteína espiga. Por
 lo tanto, la versión madura de la proteína espicular del SARS-CoV-2 contiene los aminoácidos
 13-1273 de SEQ ID NO:1. Los aminoácidos 13-1213 de SEQ ID NO:1 corresponden al dominio
 extracelular; los aminoácidos 1214-1234 corresponden al dominio transmembrana; y los
 aminoácidos 1235-1273 corresponden al dominio citoplásmico.

25 En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito
 en el presente documento se une a la proteína pico del SARS-CoV-2 y se une específicamente
 al dominio de unión a receptor (RBD) de la proteína pico del SARS-CoV-2.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito
 en el presente documento se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y comprende las seis
 30 CDR de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1 (es decir, las tres CDR VH del anticuerpo y las
 tres CDR VL del mismo anticuerpo).

Tabla 1. Secuencias de anticuerpos con CDR definidas por Kabat

35

30

25

20

15

10

5

Clon	H/L	Región de secuencia variable	CDR1	CDR2	CDR3
RQ20	H	QVQLVESGPEMKKPGTSVKVSCASGFTFITSAVQWVRQAR GQRLEWMGWIAVGSGNTNYAQKFQDRVTINRDMSTSTAYME LSSLRSED TAVYYCAAPHCDRTSCHDGFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:38)	TSAVQ (SEQ ID NO:2)	WIAVGSGNT NYAQKFQD (SEQ ID NO:3)	PHCDRTSCHD GFDI (SEQ ID NO:4)
RQ20	L	DIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSSYLA WYQQKPG QAPRLLIYGASRRGTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39)	RASQSVRSS YLA (SEQ ID NO:5)	GASRRGT (SEQ ID NO:6)	QQYGSSPWT (SEQ ID NO:7)
RQ20- GL-LH	H	QVQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCASGFTFITSAVQWVRQAR GQRLEWMGWIAVGSGNTNYAQKFQDRVTITRDMSTSTAYME LSSLRSED TAVYYCAAPHCDRTSCHDGFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:40)	TSAVQ (SEQ ID NO:2)	WIAVGSGNT NYAQKFQD (SEQ ID NO:3)	PHCDRTSCHD GFDI (SEQ ID NO:4)
RQ20- GL-LH	L	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSSYLA WYQQKPG QAPRLLIYGASRRGTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:41)	RASQSVRSS YLA (SEQ ID NO:5)	GASRRGT (SEQ ID NO:6)	QQYGSSPWT (SEQ ID NO:7)
RQ29	H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASRGTFNTYVFTWVRQAP GGGLEWMGGIIPFFGTADYAQKFQGRVTITADDSTSTAYMEL SSLRSED TAVYYCSRLSQWDL LPMWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:42)	TYVFT (SEQ ID NO:8)	GIIPFFGTADY AQKFQG (SEQ ID NO:9)	LSQWDL LPM (SEQ ID NO:10)
RQ29	L	DIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSFTSSYLA WYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGTSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYGTSPRMYTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO:43)	RASQSFTSS YLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGTSPRMY T (SEQ ID NO:12)
RQ29- GL-LH	H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASRGTFNTYVFTWVRQAP GGGLEWMGGIIPFFGTADYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELS	TYVFT (SEQ ID NO:8)	GIIPFFGTADY AQKFQG	LSQWDL LPM (SEQ ID NO:10)

35

30

25

20

15

10

5

		SLRSED TAVYYCSRLSQWDL LPMWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:44)		(SEQ ID NO:9)	
RQ29-GL-LH	L	EIVMTQSPG T LSLSPGERAT LSCRASQSFTSSYLAWYQQKPG QAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPRMYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:45)	RASQSFTSS YLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGTSPRMY T (SEQ ID NO:12)
RQ33	H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVFGGSITSSNHYWVWIRQP PGKGLEWIGSMYYSGSTAYNP SLTNRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFDPWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:46)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNP SLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFPD (SEQ ID NO:15)
RQ33	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQG ISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYA AASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYY CQQLNSYPLTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:47)	RASQG ISSYL A (SEQ ID NO:16)	AASTLQS (SEQ ID NO:17)	QQLNSYPLT (SEQ ID NO:18)
RQ33-GL-H	H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSNHYWVWIRQP PGKGLEWIGSMYYSGSTAYNP SLTNRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFDPWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:48)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNP SLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFPD (SEQ ID NO:15)
RQ33-GL-H	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQG ISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYA AASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYY CQQLNSYPLTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:47)	RASQG ISSYL A (SEQ ID NO:16)	AASTLQS (SEQ ID NO:17)	QQLNSYPLT (SEQ ID NO:18)
RQ33-GL-H-LO1	H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSNHYWVWIRQP PGKGLEWIGSMYYSGSTAYNP SLTNRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARQIGPKRPSQVADWFEPWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:49)	SSNHYWV (SEQ ID NO:13)	SMYYSGSTA YNP SLTN (SEQ ID NO:14)	QIGPKRPSQVA DWFEP (SEQ ID NO:19)
RQ33-	L	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQG ISSYLAWYQQKPGKA	RASQG ISSYL	AASTLQS	QQLNSYPLT

35

30

25

20

15

10

5

GL-H- LO1		PKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYY CQQLNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:47)	A (SEQ ID NO:16)	(SEQ ID NO:17)	(SEQ ID NO:18)
RQ40	H	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAINWVRQAPG QGLEWMGGIIPFRTPHYAQKFQGGRVTITADESTGTAYMELSS LRSEDTAVYYCASPSCGGDCPQYLKSSKLDWYFDLWGRGTL VTVSS (SEQ ID NO:50)	SYAIN (SEQ ID NO:20)	GIIPFRTPHY AQKFQG (SEQ ID NO:21)	PSCGGDCPQY LKSSKLDWYFD L (SEQ ID NO:22)
RQ40	L	VIWMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQHYGSSPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:51)	RASQSVSST YLA (SEQ ID NO:23)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QHYGSSPLT (SEQ ID NO:24)
RQ40- GL-LH	H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAINWVRQAP GGGLEWMGGIIPFRTPHYAQKFQGGRVTITADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCASPSCGGDCPQYLKSSKLDWYFDLWGRGT LTVSS (SEQ ID NO:52)	SYAIN (SEQ ID NO:20)	GIIPFRTPHY AQKFQG (SEQ ID NO:21)	PSCGGDCPQY LKSSKLDWYFD L (SEQ ID NO:22)
RQ40- GL-LH	L	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQHYGSSPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:53)	RASQSVSST YLA (SEQ ID NO:23)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QHYGSSPLT (SEQ ID NO:24)
RQ41	H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASEIIVSRNYMSWVRQAPG KGLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDLDVVGGTDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:54)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLDVVGGTDY (SEQ ID NO:27)
RQ41	L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYGGSSPGYTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:55)	RASQSVSSS YLA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGGSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41-	H	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASEIIVSRNYMSWVRQAPG	RNYMS (SEQ	VIYSGGSTFY	DLDVVGGTDY

30

35

30

25

20

15

10

5

GL-LH		KGLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDLDVVGGTDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:56)	ID NO:25)	ADSVKG (SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:27)
RQ41- GL-LH	L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPGYTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:57)	RASQSVSSS YLA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41- GL-LH- LO1	H	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLS CAASEIIVSRNYMSWVRQAPG KGLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDLEVVG GTDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:58)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLEVVG GTDY (SEQ ID NO:30)
RQ41- GL-LH- LO1	L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPGYTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:57)	RASQSVSSS YLA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ41- LO1	H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLS CAASEIIVSRNYMSWVRQAPG KGLEWVSVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDLEVVG GTDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:59)	RNYMS (SEQ ID NO:25)	VIYSGGSTFY ADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLEVVG GTDY (SEQ ID NO:30)
RQ41- LO1	L	EIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPGYTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:55)	RASQSVSSS YLA (SEQ ID NO:28)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSPGYT (SEQ ID NO:29)
RQ43	H	EVQLLETGGGLVQPGRSLRLS CAASGFPFDDYAIHWVRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGA FPGYSSGWYYGLDVWGQGATVTVSS (SEQ ID NO:60)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GA FPGYSSGW YYGLDV (SEQ ID NO:33)

35

30

25

20

15

10

5

RQ43	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAE DEADYYCSSYAGNKGVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-H	H	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFPFDDYAIHWRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGAFPGYSSGWYYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:62)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGW YYGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43- GL-H	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAE DEADYYCSSYAGNKGVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-H- LO1	H	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFPFDDYAIHWRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGAFPGYSSGWYYGLEVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:63)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGW YYGLEV (SEQ ID NO:37)
RQ43- GL-H- LO1	L	QSVVTQPPSASGSLGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIFEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAE DEADYYCSSYAGNKGVFGGGKLTVL (SEQ ID NO:61)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43- GL-L	H	EVQLLETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFPFDDYAIHWRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGAFPGYSSGWYYGLDVWGQGATVTVSS (SEQ ID NO:60)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGW YYGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43- GL-L	L	QSAVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSYAGNKGVFSGTKVTVL (SEQ ID NO:64)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)

35

30

25

20

15

10

5

RQ43-GL-LH	H	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFPFDDYAIHWVRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGAFPGYSSGWYYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:62)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGW YYGLDV (SEQ ID NO:33)
RQ43-GL-LH	L	QSAVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSLYAGNKGVFSGTKVTVL (SEQ ID NO:64)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
RQ43-GL-LH-LO1	H	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFPFDDYAIHWVRLAPG KGLEWVSSISWDSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCAKGAFPGYSSGWYYGLEVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:63)	DYAIH (SEQ ID NO:31)	SISWDSGSIG YADSVKG (SEQ ID NO:32)	GAFPGYSSGW YYGLEV (SEQ ID NO:37)
RQ43-GL-LH-LO1	L	QSAVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIFEVSKRPSGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSLYAGNKGVFSGTKVTVL (SEQ ID NO:64)	TGTSSDVGG YNYVS (SEQ ID NO:34)	EVSKRPS (SEQ ID NO:35)	SSYAGNKGV (SEQ ID NO:36)
cilgavim ab (AZD10 61)	H	QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCASGFTFMSSAVQWVRQA RGQRLEWIGWIVIGSGNTNYAQKFQERVITRDMSTSTAYMEL SSLRSEDVAVYYCAAPYCSSLISCNDGFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:68)	GFTFMSSA (SEQ ID NO: 69)	IVIGSGNT (SEQ ID NO: 70)	AAPYCSSLISCN DGFDI (SEQ ID NO: 71)
cilgavim ab (AZD10 61)	L	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQHYGSSRGWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:72)	QSVSSSY (SEQ ID NO: 73)	GAS (SEQ ID NO: 74)	QHYGSSRGWT (SEQ ID NO: 75)
Clon	H/L	Secuencias de cadenas pesada y ligera	CDR1	CDR2	CDR3
cilgavim	H	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRDVWMSWVRQAP	GFTFMSSA	IVIGSGNT	AAPYCSSLISCN

33

35

30

25

20

15

10

5

ab (AZD10 61)		GKGLEWVGRIKSKIDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLKTEDTAVYYCTTAGSYYYDTVGPGLPEGKFDYWGGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGP SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)	(SEQ ID NO: 69)	(SEQ ID NO: 70)	DGFDI (SEQ ID NO: 71)
cilgavim ab (AZD10 61)	L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWY QQKPGQPPKLLMYWASTRESGVPDRFSGSGSGAEFTLTISL QAEDVAIYYCQYYSTLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:77)	QSVSSSY (SEQ ID NO: 73)	GAS (SEQ ID NO: 74)	QHYGSSRGWT (SEQ ID NO: 75)

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y comprende la VH de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento se une a la proteína espicular del SARS-CoV-2 y comprende la VL de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y comprende la VH y la VL de un anticuerpo enumerado en 1 (es decir, la VH del anticuerpo y la VL del mismo anticuerpo).

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento puede describirse solo por su dominio VL, o solo por su dominio VH, o solo por sus 3 CDR de VL, o solo por sus 3 CDR de VH. Véase, por ejemplo, Rader C *et al.*, (1998) PNAS 95: 8910-8915, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, que describe la humanización del anticuerpo anti $\alpha\beta 3$ de ratón identificando una cadena ligera o pesada complementaria, respectivamente, de una biblioteca de cadena ligera o cadena pesada humana, dando como resultado variantes de anticuerpos humanizados que tienen afinidades tan altas o más altas que la afinidad del anticuerpo original. Véase también Clackson T *et al.*, (1991) Nature 352: 624-628, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, que describe métodos para producir anticuerpos que se unen a un antígeno específico mediante el uso de un dominio VL específico (o dominio VH) y cribar una biblioteca para los dominios variables complementarios. El cribado produjo 14 nuevas parejas para un dominio VH específico y 13 nuevas parejas para un dominio VL específico, que eran aglutinantes fuertes, según lo determinado por ELISA. Véase también Kim SJ y Hong HJ, (2007) J Microbiol 45: 572-577, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, que describe métodos para producir anticuerpos que se unen a un antígeno específico mediante el uso de un dominio VH específico y el cribado de una biblioteca (*por ejemplo*, biblioteca VL humana) para dominios VL complementarios; los dominios VL seleccionados, a su vez, podrían usarse para guiar la selección de dominios VH complementarios adicionales (*por ejemplo*, humanos).

En algunos aspectos, las CDR de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo pueden determinarse de acuerdo con el esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la localización de bucles estructurales de inmunoglobulina (*véase, por ejemplo*, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82; y patente estadounidense nº 7.709.226). Típicamente, cuando se utiliza la convención de numeración de Kabat, el bucle Chothia CDR-H1 está presente en los aminoácidos de cadena pesada 26 a 32, 33 o 34, el bucle Chothia CDR-H2 está presente en

los aminoácidos de cadena pesada 52 a 56, y el bucle Chothia CDR-H3 está presente en los aminoácidos de cadena pesada 95 a 102, mientras que el bucle Chothia CDR-L1 está presente en los aminoácidos de cadena ligera 24 a 34, el bucle Chothia CDR-L2 está presente en los aminoácidos de cadena ligera 50 a 56, y el bucle Chothia CDR-L3 está presente en los aminoácidos de cadena ligera 89 a 97. El final del bucle CDR-H1 de Chothia cuando se numera utilizando la convención de numeración de Kabat varía entre H32 y H34 dependiendo de la longitud del bucle (esto se debe a que el esquema de numeración de Kabat sitúa las inserciones en H35A y H35B; si no están presentes ni 35A ni 35B, el bucle termina en 32; si sólo está presente 35A, el bucle termina en 33; si están presentes tanto 35A como 35B, el bucle termina en 34).

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 y comprenden las CDR de VH y VL de Chothia de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1. En algunos aspectos, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 comprenden una o más CDR, en las que las CDR de Chothia y Kabat tienen la misma secuencia de aminoácidos. En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 y comprenden combinaciones de las CDR de Kabat y CDR de Chothia.

En algunos aspectos, las CDR de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo pueden determinarse de acuerdo con el sistema de numeración IMGT descrito en Lefranc M-P, (1999) *The Immunologist* 7: 132-136 y Lefranc M-P *et al.*, (1999) *Nucleic Acids Res* 27: 209-212. Según el esquema de numeración IMGT, VH-CDR1 está en las posiciones 26 a 35, VH-CDR2 está en las posiciones 51 a 57, VH-CDR3 está en las posiciones 93 a 102, VL-CDR1 está en las posiciones 27 a 32, VL-CDR2 está en las posiciones 50 a 52, y VL-CDR3 está en las posiciones 89 a 97. En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 y comprenden las VH y VL CDR de IMGT de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1, por ejemplo, como se describe en Lefranc M-P (1999) anteriormente y Lefranc M-P *et al.*, (1999) anteriormente).

En algunos aspectos, las CDR de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo pueden determinarse según MacCallum RM *et al.*, (1996) *J Mol Biol* 262: 732-745. Véase también, por ejemplo, Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains", en *Antibody Engineering*, Kontermann y Dübel, eds., capítulo 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlín (2001). En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la

proteína espicular del SARS-CoV-2 y comprenden las VH y VL CDR de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1 como se determina por el método en MacCallum RM *et al.*

En algunos aspectos, las CDR de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo pueden determinarse de acuerdo con el esquema de numeración AbM, que se refiere a regiones hipervariables AbM que representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.). En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 y comprenden las VH y VL CDR de un anticuerpo enumerado en la Tabla 1 como se determina por el sistema de numeración de AbM.

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento anticuerpos que comprenden una cadena pesada y/o una cadena ligera. Se han descrito en la técnica ejemplos no limitantes de secuencias de la región constante humana, por ejemplo, véanse, la Patente de EE.UU. N.º 5,693,780 y Kabat EA *et al.*, (1991) anteriormente.

Con respecto a la cadena pesada, en algunos aspectos, la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento puede ser una cadena pesada alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) o mu (μ). En algunos aspectos, la cadena pesada de un anticuerpo descrito puede comprender una cadena pesada humana alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) o mu (μ). En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une inmuno-específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2, comprende una cadena pesada en donde la secuencia de aminoácidos del dominio VH comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en la Tabla 1 y en donde la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena pesada gamma (γ) humana (por ejemplo, una región constante de cadena pesada de IgG1 humana). En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2, comprende una cadena pesada en donde la secuencia de aminoácidos del dominio VH comprende una secuencia expuesta en la Tabla 1, y en donde la región constante de la cadena pesada comprende el aminoácido de una cadena pesada humana descrita en el presente documento o conocida en la técnica.

Como es conocido en la técnica, las lisinas C-terminales de cadena pesada pueden eliminarse, por ejemplo, en cultivo celular. Aunque las lisinas C-terminales se conservan en los genes de la cadena pesada de todas las subclases de IgG humanas (es decir, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), este residuo suele estar ausente en las IgG presentes en el suero. También se sabe que el procesamiento y la escisión de la lisina C-terminal de los anticuerpos es una de las fuentes más comúnmente detectadas de heterogeneidad de carga del producto durante el cultivo celular. Los residuos de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada de las IgG

recombinantes pueden ser eliminados durante el cultivo celular por carboxipeptidasas endógenas a las células huésped de mamíferos. Así, en algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada que tiene una lisina C-terminal. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada que no tiene una lisina C-terminal.

En algunos aspectos, la cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento es una cadena ligera kappa humana o una cadena ligera lambda humana. En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une inmuno-específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 comprende una cadena ligera en donde la secuencia de aminoácidos del dominio VL comprende una secuencia expuesta en la Tabla 1 y en donde la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera kappa o lambda humana.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, que se une inmuno-específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 comprende una cadena ligera en la que la secuencia de aminoácidos del dominio VL comprende una secuencia establecida en la Tabla 1, y en la que la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera kappa humana. La secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena ligera kappa humana puede comprender la secuencia de aminoácidos de

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:64).

En algunos aspectos, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento es una cadena ligera lambda. En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une inmuno-específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 comprende una cadena ligera en donde la secuencia de aminoácidos del dominio VL comprende una secuencia expuesta en la Tabla 1 y en donde la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera lambda humana. La secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena ligera kappa humana puede comprender la secuencia de aminoácidos de

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETSTP
SKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:65).

En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une inmuno-específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 comprende un dominio VH y un dominio VL que comprende cualquier secuencia de aminoácidos descrita en el presente documento, y en el que las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, o IgY, o

una molécula de inmunoglobulina humana IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, o IgY. En algunos aspectos, un anticuerpo descrito en el presente documento, que se une inmunoespecíficamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 comprende un dominio VH y un dominio VL que comprende cualquier secuencia de aminoácidos descrita en el presente documento, y en donde las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY, cualquier clase (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), o cualquier subclase (*por ejemplo*, IgG2a e IgG2b) de una molécula de inmunoglobulina. En algunos aspectos, las regiones constantes comprenden las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de una molécula de inmunoglobulina humana IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY, cualquier clase (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), o cualquier subclase (*por ejemplo*, IgG2a e IgG2b) de una molécula de inmunoglobulina.

La ingeniería de la región Fc se utiliza en la técnica, por ejemplo, para prolongar la semivida de anticuerpos terapéuticos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos y proteger de la degradación *in vivo*. En algunos aspectos, la región Fc de un anticuerpo IgG o fragmento de unión al antígeno se puede modificar para aumentar la afinidad de la molécula de IgG por el receptor neonatal Fc (FcRn), que media en el catabolismo de la IgG y protege las moléculas de IgG de la degradación. Las sustituciones o modificaciones de aminoácidos de la región Fc adecuadas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, la sustitución triple M252Y/S254T/T256E (denominada "YTE"), numerada según el índice de la UE como en Kabat (véanse, por ejemplo, la patente estadounidense 7.658.921; la publicación de solicitud de patente estadounidense 2014/0302058; y Yu et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 61(1): e01020-16 (2017)). En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o fragmento) que se une a la proteína espicular del SARS-CoV-2 comprende una región Fc que comprende la mutación YTE.

La triple mutación (TM) L234F/L235E/P331S (según la convención de numeración de la Unión Europea; Sazinsky et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:20167-20172 (2008)) en la región constante de la cadena pesada puede reducir significativamente la función efectora de la IgG.

En algunos aspectos, una secuencia IgG1 CH1-CH3 que comprende la mutación YTE y la mutación TM comprende la secuencia de aminoácidos de

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEG
GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:66).
```

En algunos aspectos, se introducen una, dos o más mutaciones (*por ejemplo*, sustituciones de aminoácidos) en la región Fc de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, en el dominio CH2 (residuos 231-340 de IgG1 humana) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de IgG1 humana) y/o la región bisagra, con numeración según el sistema de numeración de Kabat (*por ejemplo*, el índice UE en Kabat)) para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, tales como semivida sérica, fijación del complemento, unión al receptor Fc, y/o citotoxicidad celular dependiente de antígeno.

En algunos aspectos, se introducen una, dos o más mutaciones (*por ejemplo*, sustituciones de aminoácidos) en la región bisagra de la región Fc (dominio CH1) de tal manera que se altera el número de residuos de cisteína en la región bisagra (*por ejemplo*, aumentado o disminuido) como se describe en, *por ejemplo*, Patente de EE.UU. n° 5.677.425. El número de residuos de cisteína en la región bisagra del dominio CH1 puede alterarse para, *por ejemplo*, facilitar el ensamblaje de las cadenas ligera y pesada, o para alterar (*por ejemplo*, aumentar o disminuir) la estabilidad del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

En algunos aspectos, se introducen una, dos o más mutaciones (*por ejemplo*, sustituciones de aminoácidos) en la región Fc de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, dominio CH2 (residuos 231-340 de IgG1 humana) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de IgG1 humana) y/o la región bisagra, con numeración según el sistema de numeración de Kabat (*p. ej.*, el índice UE en Kabat)) para aumentar o disminuir la afinidad del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo por un receptor Fc (*por ejemplo*, un receptor Fc activado) en la superficie de una célula efectora. Las mutaciones en la región Fc que disminuyen o aumentan la afinidad por un receptor Fc y las técnicas para introducir dichas mutaciones en el receptor Fc o en un fragmento del mismo se conocen por los expertos en la materia. Los ejemplos de mutaciones en el receptor Fc que se pueden hacer para alterar la afinidad del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo por un receptor Fc se describen, por ejemplo, en Smith P *et al.*, (2012) PNAS 109: 6181-6186, Patente de EE.UU. N.º 6,737,056, y las Publicaciones Internacionales N.º WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631, que se incorporan en el presente documento por referencia.

En algunos aspectos, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (*es decir*, sustituciones, inserciones o deleciones) se introducen en un dominio constante de IgG, o fragmento de unión a FcRn del mismo (preferentemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para alterar (*por ejemplo*, disminuir o aumentar) la semivida del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo *in vivo*. Véanse, por ejemplo, las Publicaciones Internacionales N.º WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631; y las Patentes de EE.UU. N.º 5,869,046, 6,121,022, 6,277,375 y 6,165,745 para ejemplos de mutaciones que alterarán (*por ejemplo*, disminuirán o aumentarán) la semivida de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del

mismo *in vivo*. En algunos aspectos, se introducen una, dos o más mutaciones de aminoácidos (es decir, sustituciones, inserciones o deleciones) en un dominio constante de IgG, o fragmento de unión a FcRn del mismo (preferentemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para disminuir la semivida del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo *in vivo*. En algunos aspectos, se introducen una, dos o más mutaciones de aminoácidos (es decir, sustituciones, inserciones o deleciones) en un dominio constante de IgG, o fragmento de unión a FcRn del mismo (preferentemente un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc) para aumentar la semivida del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo *in vivo*. En algunos aspectos, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden tener una o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones) en el segundo dominio constante (CH2) (residuos 231-340 de IgG1 humana) y/o el tercer dominio constante (CH3) (residuos 341-447 de IgG1 humana), con la numeración según el índice EU en Kabat (Kabat EA *et al.*, (1991) anteriormente). En algunos aspectos, la región constante de la IgG1 comprende una sustitución de metionina (M) a tirosina (Y) en la posición 252, una sustitución de serina (S) a treonina (T) en la posición 254, y una sustitución de treonina (T) a ácido glutámico (E) en la posición 256, numeradas según el índice EU como en Kabat. Véase la Patente de EE.UU. N.º 7,658,921, que se incorpora en el presente documento por referencia. Se ha demostrado que este tipo de IgG mutante denominado "mutante YTE", muestra una semivida multiplicada por cuatro en comparación con las versiones de tipo silvestre del mismo anticuerpo (véase Dall'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24). En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio constante IgG que comprende una, dos, tres o más sustituciones de aminoácidos de residuos de aminoácidos en las posiciones 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436, numeradas según el índice UE como en Kabat.

En algunos aspectos, se introducen una, dos o más sustituciones de aminoácidos en una región Fc de dominio constante de IgG para alterar la(s) función(es) efectoras del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, pueden reemplazarse uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 y 322, numerados según el índice EU como en Kabat, por un residuo de aminoácidos diferente de tal forma que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una afinidad alterada por un ligando efector, pero conserva la capacidad de unión a antígeno del anticuerpo parental. El ligando efector al que se altera la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Este enfoque se describe con más detalle en las Patentes de EE.UU. N.º 5,624,821 y 5,648,260. En algunos aspectos, la delección o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión al receptor Fc del anticuerpo circulante o fragmento de unión a antígeno del mismo aumentando así la localización del tumor. Véanse, *por ejemplo*, las Patentes de EE.UU. N.º 5,585,097 y 8,591,886 para una descripción de mutaciones que eliminan o inactivan el

dominio constante y, por lo tanto, aumentan la localización del tumor. En algunos aspectos, pueden introducirse una o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc para eliminar los sitios de glucosilación potenciales en la región Fc, lo que puede reducir la unión del receptor Fc (véase, por ejemplo, Shields RL *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604).

5 En algunos aspectos, uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 322, 329 y 331 en la región constante, numerados según el índice UE como en Kabat, pueden sustituirse con un residuo de aminoácido diferente de tal manera que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene alterada la unión a C1q y/o reducida o abolida la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Este enfoque se describe con
10 más detalle en la Patente de EE.UU. N.º 6,194,551 (Idusogie *et al.*). En algunos aspectos, se alteran uno o más residuos de aminoácidos en las posiciones de aminoácidos 231 a 238 en la región del extremo N del dominio CH2 para alterar así la capacidad del anticuerpo para fijar el complemento. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional N.º WO 94/29351. En algunos aspectos, la región Fc se modifica para aumentar la capacidad del
15 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para mediar en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o para aumentar la afinidad del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo por un receptor Fcγ mediante la mutación de uno o más aminoácidos (*por ejemplo*, introduciendo sustituciones de aminoácidos) en las siguientes posiciones: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278,
20 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439, numeradas según el índice EU como en Kabat. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional N.º WO 00/42072.

25 En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG1 con una mutación (*por ejemplo*, sustitución) en la posición 267, 328, o una combinación de las mismas, numeradas según el índice UE como en Kabat. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de
30 una IgG1 con una mutación (*por ejemplo*, sustitución) seleccionada del grupo que consiste en S267E, L328F, y una combinación de las mismas. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento comprende el dominio constante de una IgG1 con una mutación S267E/L328F (*por ejemplo*, sustitución). En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el
35 presente documento que comprende el dominio constante de una IgG1 con una mutación S267E/L328F (*por ejemplo*, sustitución) tiene una mayor afinidad de unión por FcγRIIA, FcγRIIB o FcγRIIA y FcγRIIB.

Las glicoformas diseñadas pueden ser útiles para una variedad de propósitos, incluyendo pero no limitándose a mejorar o reducir la función efectora. Los métodos para generar glicoformas genomanipuladas en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento incluyen, pero sin limitación, los desvelados, por ejemplo, en Umaña P *et al.*, (1999) Nat Biotechnol 17: 176-180; Davies J *et al.*, (2001) Biotechnol Bioeng 74: 288-294; Shields RL *et al.*, (2002) J Biol Chem 277: 26733-26740; Shinkawa T *et al.*, (2003) J Biol Chem 278: 3466-3473; Niwa R *et al.*, (2004) Clin Cancer Res 1: 6248-6255; Presta LG *et al.*, (2002) Biochem Soc Trans 30: 487-490; Kanda Y *et al.*, (2007) Glycobiology 17: 104-118; las Patentes de EE.UU. N.º 6,602,684; 6,946,292; y 7,214,775; las Publicaciones de Patente de EE.UU. N.º US 2007/0248600; 2007/0178551; 2008/0060092; y 2006/0253928; las Publicaciones Internacionales N.º WO 00/61739; WO 01/292246; WO 02/311140; y WO 02/30954; tecnología Potillegent™ (Biowa, Inc. Princeton, N.J.); y tecnología de ingeniería de glucosilación GlycoMAb® (Glycart biotechnology AG, Zúrich, Suiza). Véase también, por ejemplo, Ferrara C *et al.*, (2006) Biotechnol Bioeng 93: 851-861; las Publicaciones Internacionales N.º WO 07/039818; WO 12/130831; WO 99/054342; WO 03/011878; y WO 04/065540.

En algunos aspectos, cualquiera de las mutaciones o modificaciones de la región constante descritas en el presente documento puede introducirse en una o ambas regiones constantes de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento que tiene dos regiones constantes de cadena pesada.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2 neutraliza el SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2 neutraliza el pseudovirus SARS-CoV-2. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo neutraliza SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 Delta, y/o SARS-CoV-2 D614G pseudovirus con una EC50 de 100 ng/mL o menos ((por ejemplo, una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 100 ng/mL o de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 100 ng/mL).

Pueden usarse ensayos de unión por competencia para determinar si dos anticuerpos se unen a epítopos que se solapan. La unión competitiva se puede determinar en un ensayo en el que la inmunoglobulina a prueba inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, tal como la proteína espicular del SARS-CoV-2 o el SARS-CoV-2. Se conocen numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: el ensayo de unión competitiva octeto, el radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida, el enzima inmunoensayo (EIA) directo o indirecto en fase sólida, el ensayo de competición sándwich (véase Stahl C *et al.*, (1983) Methods Enzymol 9. 242-253); EIA de biotina-avidina directo en

fase sólida (véase Kirkland TN *et al.*, (1986) J Immunol 137: 3614-9); ensayo de marcaje directo en fase sólida, ensayo de tipo sándwich de marcaje directo en fase sólida (véase Harlow E y Lane D, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA de marcaje directo en fase sólida utilizando un marcador de I-125 (véase Morel GA *et al.*, (1988) Mol Immunol 25(1): 7-15); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (Cheung RC *et al.*, (1990) Virology 176: 546-52); y RIA de marcaje directo. (Moldenhauer G *et al.*, (1990) Scand J Immunol 32: 77-82). Normalmente, tal ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que llevan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de prueba no marcada y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se puede medir determinando la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o las células en presencia de la inmunoglobulina de prueba. Normalmente, la inmunoglobulina de prueba está presente en exceso. Normalmente, cuando un anticuerpo de competición está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común en al menos el 50-55 %, 55-60 %, 60-65 %, 65-70 %, 70-75 % o más. Se puede configurar un ensayo de unión competitiva en un gran número de formatos diferentes usando un antígeno marcado o un anticuerpo marcado. En una versión común de este ensayo, el antígeno se inmoviliza en una placa de 96 pocillos. A continuación, se mide la capacidad de los anticuerpos no marcados para bloquear la unión de los anticuerpos marcados al antígeno mediante etiquetas radiactivas o enzimáticas. Para más detalles véanse, por ejemplo, Wagener C *et al.*, (1983) J Immunol 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) J Immunol Methods 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) Cancer Res 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) Immunol Invest 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) Hybridoma 11: 391-407 y Antibodies: A Laboratory Manual, Ed Harlow E & Lane D editores *supra*, pags. 386-389. En el Ejemplo 15 se proporciona un ensayo de unión competitiva.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que inhibe competitivamente la unión de otro anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión en un ensayo de unión competitiva octeto, por ejemplo, un ensayo de unión competitiva octeto como se proporciona en el Ejemplo 15 del presente documento.

En algunos aspectos, se realiza un ensayo de competición utilizando resonancia de plasmón superficial (BIAcore®), *por ejemplo*, mediante un "enfoco en tándem" como el descrito por Abdiche YN *et al.*, (2009) Analytical Biochem 386: 172-180, por lo que el antígeno se inmoviliza en la superficie del chip, por ejemplo, un chip sensor CM5 y a continuación los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno se pasan sobre el chip. Para determinar si un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compete con un anticuerpo que se une a la proteína espicular del SARS-CoV-2 como se describe en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se pasa primero sobre la superficie del chip para lograr la saturación y a continuación se añade el anticuerpo de competición potencial. A

continuación, se puede determinar y cuantificar la unión del anticuerpo de competición o fragmento de unión a antígeno del mismo en relación con un control no competitivo.

En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento anticuerpos que inhiben competitivamente (*por ejemplo*, de manera dependiente de la dosis) la unión de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito a la proteína espiga del SARS-CoV-2 o al SARS-CoV-2, según se determina utilizando ensayos conocidos por un experto en la materia o descritos en el presente documento (*por ejemplo*, ensayos competitivos ELISA, o matriz de suspensión o ensayo de resonancia de plasmón de superficie).

En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno como se describe en el presente documento que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2, se selecciona del grupo que consiste en un Fab, Fab', F(ab')₂, y scFv, en el que el Fab, Fab', F(ab')₂, o scFv comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y una secuencia de región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento que se une específicamente a la proteína pico del SARS-CoV-2 o al SARS-CoV-2. Un Fab, Fab', F(ab')₂, o scFv puede producirse mediante cualquier técnica conocida por los expertos en la materia, incluyendo, pero sin limitarse a, las descritas en el presente documento. En algunos aspectos, el Fab, Fab', F(ab')₂ o scFv comprende además un resto que prolonga la semivida del anticuerpo *in vivo*. El resto también se denomina "resto que prolonga la semivida". Puede usarse cualquier fracción conocida por los expertos en la materia para prolongar la semivida de un Fab, Fab', F(ab')₂ o scFv *in vivo*. Por ejemplo, el resto que prolonga la semivida puede incluir una región Fc, un polímero, una albúmina o una proteína o compuesto de unión a albúmina. El polímero puede incluir un polialquileño, polialquilenilo, polioxialquileño, polisacárido, polietilenglicol, polipropilenglicol, alcohol polivinílico, metoxipolietilenglicol, lactosa, amilosa, dextrano, glucógeno, o derivado de los mismos, naturales o sintéticos, opcionalmente sustituidos de cadena lineal o ramificada. Los sustituyentes pueden incluir uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi. En algunos aspectos, el Fab, Fab', F(ab')₂ o scFv pueden modificarse mediante la adición de uno o más aminoácidos del extremo C para la unión del resto que prolonga la semivida. En algunos aspectos, la fracción prolongadora de la semivida es polietilenglicol o albúmina sérica humana. En algunos aspectos, el Fab, Fab', F(ab')₂ o scFv se fusiona con una región Fc.

Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 puede fusionarse o conjugarse (*por ejemplo*, unido covalentemente o no covalentemente) a una etiqueta o sustancia detectable. Ejemplos de etiquetas o sustancias detectables incluyen etiquetas enzimáticas, tales como, glucosa oxidasa; radioisótopos, como yodo (¹²⁵I, ¹²¹I), carbono (¹⁴C) azufre (³⁵S), tritio (³H), indio (¹²¹In) y tecnecio (⁹⁹Tc); etiquetas luminiscentes, como luminol; y etiquetas fluorescentes, como fluoresceína y rodamina, y biotina. Dichos anticuerpos marcados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden usarse

para detectar la proteína espicular del SARS-CoV-2 o al SARS-CoV-2. Véase, *por ejemplo*, la Sección 7.6.2, más adelante.

7.3 COMBINACIONES DE ANTICUERPOS Y SUS FRAGMENTOS DE UNIÓN A

ANTÍGENOS

5 Se proporcionan en el presente documento combinaciones de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína de pico del SARS-CoV-2, , por ejemplo, un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína de pico del SARS-CoV-2 y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína de pico del SARS-CoV-2. En algunos aspectos, el primer y
10 segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en una combinación se encuentran en una única composición. En algunos aspectos, el primer y segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en una combinación están en composiciones separadas. Cuando los anticuerpos primero y segundo o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos en una combinación están en composiciones separadas, los anticuerpos primero y
15 segundo o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden administrarse simultánea o secuencialmente.

 También se proporcionan en el presente documento composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, que comprenden anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2, por ejemplo, un primer
20 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2 y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2. Dichas composiciones comprenden tanto el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo como el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

25 En algunos aspectos, una combinación o composición proporcionada en el presente documento comprende un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga del SARS-CoV-2 y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga del SARS-CoV-2. En algunos aspectos, un método proporcionado en el presente documento utiliza una combinación o composición de
30 anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2, por ejemplo, una combinación o composición que comprende un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2 y un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2.

35 En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer y segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se unen a epítomos no solapados de la proteína espiga de SARS-CoV-2. En

algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer y segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden unirse a la RBD de la proteína espiga de SARS-CoV-2 simultáneamente.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las secuencias 6 CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1 y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las secuencias 6 CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo cilgavimab.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1 o RQ33-GL-H-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ41,

RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender las 6 CDR del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las secuencias VH y/o VL de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1 y/o el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende las secuencias VH y/o VL de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ43-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo cilgavimab. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO:76 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ20, RQ20-GL-LH, o RQ20-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1 o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ29 o RQ29-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del

anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y la VL del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1.

5 El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ33, RQ33-GL-H, RQ33-GL-H-LO1, o RQ33-GL-H-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

10 El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1. El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ40 o RQ40-GL-LH, y el segundo anticuerpo o
15 fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender la VH y VL del anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

El primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender los VH y VL del anticuerpo RQ41, RQ41-GL-LH, RQ41-GL-LH-LO1, o RQ41-LO1, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender el VH y VL del
20 anticuerpo RQ43, RQ43-GL-H, RQ43-GL-H-LO1, RQ43-GL-L, RQ43-GL-LH, o RQ43-GL-LH-LO1.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos aquí proporcionados, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que
25 comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de
30 SEQ ID NO:68 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una
35 VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo

comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:76 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una
5 cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-
10 2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones, o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo
15 comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35 y 36, respectivamente, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:69, 70, 71, 73, 74 y 75, respectivamente.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo
20 comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de
25 la SEQ ID NO:68 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:72. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:76 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos aquí
30 proporcionados, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe
35 competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO:61. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; o un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones, o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:31, 32, 37, 34, 35 y 36, respectivamente.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO:47 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61.

5 En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos aquí proporcionados, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos
10 de SEQ ID NO:47 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe competitivamente la unión a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 de un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53. En algunos aspectos, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno
15 del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47; o un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la
20 SEQ ID NO:47. En algunos aspectos, el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53; o un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51.

25 En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47
30 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al mismo epítipo de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53.

35 En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones, o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende el VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, y VL-CDR3 de SEQ ID

NOs:13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente, y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 de SEQ ID NOs:20, 21, 22, 23, 67 y 24, respectivamente.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47 y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada variable (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52 y una cadena ligera variable (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53.

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, la combinación o composición neutraliza el pseudovirus SARS-CoV-2. En algunos aspectos, la combinación o composición neutraliza SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 Delta, y/o SARS-CoV-2 D614G pseudovirus con una EC50 de 75 ng/mL o menos (por ejemplo, una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL o de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL). En algunos aspectos, la combinación o composición neutraliza los pseudovirus SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1 y/o SARS-CoV-2 BA.2 con una EC50 de 25 ng/mL o menos (por ejemplo, una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL o de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL). En algunos aspectos, la combinación o composición neutraliza el SARS-CoV-2 Delta y/o el pseudovirus SARS-CoV-2 D614G con una EC50 de 75 ng/mL o menos (por ejemplo, una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; de aproximadamente 10 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; o de aproximadamente 20 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL). En algunos aspectos, la combinación o composición (i) neutraliza los pseudovirus SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA1.1 y/o SARS-CoV-2 BA.2 con una EC50 de 25 ng/mL o menos (p. ej., una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL o de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL) y (ii) neutraliza el SARS-CoV-2 Delta y/o el pseudovirus SARS-CoV-2 D614G con una EC50 de 75 ng/mL o inferior (por ejemplo, una EC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; de aproximadamente 10 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL; o de aproximadamente 20 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL).

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, la combinación o composición neutraliza el virus SARS-CoV-2. En algunos aspectos, la combinación o composición neutraliza SARS-CoV-2 D614G, SARS-CoV-

2 alfa, SARS-CoV-2 Delta+T51I+T95I, SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA.1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 BA.2.12.1, y/o SARS-CoV-2 BA.5 con una IC50 de 75 ng/mL o menos (por ejemplo, una IC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL, de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL, o de aproximadamente 5 ng/mL a aproximadamente 75 ng/mL). En algunos aspectos, la combinación o composición neutraliza SARS-CoV-2 D614G, SARS-CoV-2 alfa, SARS-CoV-2 Delta+T51I+T95I, SARS-CoV-2 BA.1, SARS-CoV-2 BA.1.1, SARS-CoV-2 BA.2, SARS-CoV-2 BA.2.12.1, y/o SARS-CoV-2 BA.5 con una IC50 de 60 ng/mL o menos (por ejemplo, una IC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 60 ng/mL, de aproximadamente 2.5 ng/mL a aproximadamente 60 ng/mL, o de aproximadamente 5 ng/mL a aproximadamente 60 ng/mL).

En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos proporcionados en el presente documento, la combinación o composición neutraliza el virus SARS-CoV-2 BA.2.12.1. En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos aquí proporcionados, la combinación o composición neutraliza el virus SARS-CoV-2 BA.2.12.1 con una IC50 de 25 ng/mL o menos (por ejemplo, una IC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL, de aproximadamente 5 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL, de aproximadamente 10 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL, o de aproximadamente 15 ng/mL a aproximadamente 25 ng/mL. En algunos aspectos de las combinaciones, composiciones o métodos aquí proporcionados, la combinación o composición neutraliza el virus SARS-CoV-2 BA.2.12.1 con una IC50 de 20 ng/mL o menos (por ejemplo, una IC50 de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 20 ng/mL, de aproximadamente 5 ng/mL a aproximadamente 20 ng/mL, de aproximadamente 10 ng/mL a aproximadamente 20 ng/mL, o de aproximadamente 15 ng/mL a aproximadamente 20 ng/mL).

En algunos aspectos de las combinaciones y métodos proporcionados en el presente documento, el primer y segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos están en la misma composición. En algunos aspectos de las combinaciones y métodos aquí proporcionados, el primer y segundo anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se encuentran en composiciones separadas.

7.4 PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen inmuno-específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 pueden producirse mediante cualquier método conocido en la técnica para la síntesis de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, por ejemplo, mediante síntesis química o mediante técnicas de expresión recombinante. Los métodos aquí descritos emplean, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular, microbiología, análisis genético, ADN recombinante, química orgánica, bioquímica, PCR, síntesis y modificación de oligonucleótidos, hibridación de ácidos nucleicos y campos relacionados dentro de la habilidad de la técnica.

Estas técnicas se describen, por ejemplo, en las referencias citadas en el presente documento y se explican completamente en la bibliografía. Véase, *por ejemplo*, Sambrook J *et al.*, (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales); Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

En algunos aspectos, se proporciona en el presente documento un método para fabricar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une inmuno-específicamente a la proteína de espiga de SARS-CoV-2 que comprende cultivar una célula o célula huésped descrita en el presente documento. En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona un método para elaborar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une inmuno-específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 que comprende expresar (*por ejemplo*, expresar de forma recombinante) el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo usando una célula o célula huésped descrita en el presente documento (*por ejemplo*, una célula o célula huésped que comprende polinucleótidos que codifican un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento). En algunos aspectos, la célula es una célula aislada. En algunos aspectos, los polinucleótidos exógenos se han introducido en la célula. En algunos aspectos, el método comprende además la etapa de separar o purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno obtenido de la célula, la célula huésped o el cultivo.

Los métodos para producir anticuerpos policlonales son conocidos en la técnica (véase, *por ejemplo*, el Capítulo 11 en: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5ª Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, Nueva York).

Los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden prepararse usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica, incluyendo el uso de tecnologías de hibridoma, recombinantes y de visualización de fagos, tecnologías de presentación basadas en levadura, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, se pueden producir anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos usando técnicas de hibridoma, incluidas las conocidas en la materia y enseñadas, *por ejemplo*, en Harlow E y Lane D, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, en: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981), o como se describe en Kohler G y Milstein C (1975) Nature 256: 495. Los ejemplos de métodos de presentación a base de levadura que pueden emplearse para seleccionar y generar los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen los

desvelados, por ejemplo, en los documentos WO2009/036379A2; WO2010/105256; y WO2012/009568, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

En algunos aspectos, un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno producido por una célula clonal (*por ejemplo*, hibridoma o célula hospedadora que produce un anticuerpo recombinante o fragmento de unión a antígeno), en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une inmuno-específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 como se determina, *por ejemplo*, mediante ELISA u otros ensayos de unión a antígeno conocidos en la técnica. En algunos aspectos, un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo puede ser un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo puede ser un fragmento Fab o un fragmento F(ab')₂. Los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento pueden elaborarse, por ejemplo, por el método de hibridoma como se describe en Kohler G y Milstein C (1975) Nature 256: 495, o pueden aislarse, *por ejemplo*, de bibliotecas de fagos usando las técnicas que se describen en el presente documento, por ejemplo. Se conocen bien en la materia otros métodos para la preparación de líneas celulares clonales y de anticuerpos monoclonales y fragmentos de unión a antígeno de los mismos expresados de este modo (véase, por ejemplo, el Capítulo 11 en: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5ª Ed., Ausubel FM *et al.*, anteriormente).

Los fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos descritos en el presente documento pueden generarse mediante cualquier técnica conocida por los expertos en la materia. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ descritos en el presente documento pueden producirse mediante escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Un fragmento Fab corresponde a uno de los dos brazos idénticos de una molécula de anticuerpo tetramérico y contiene la cadena ligera completa emparejada con los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. Un fragmento F(ab')₂ contiene los dos brazos de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo tetramérico unida por enlaces disulfuro en la región bisagra.

Además, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento también pueden generarse usando diversos métodos de presentación por visualización de fagos y/o basados en levadura conocidos en la técnica. En los métodos de presentación en fagos, se presentan proteínas en la superficie de las partículas de fagos que portan las secuencias polinucleotídicas que las codifican. En particular, se amplifican secuencias de ADN que codifican dominios VH y VL a partir de bibliotecas de ADNc animal (*por ejemplo*, bibliotecas de ADNc humano o murino de tejidos afectados). El ADN que codifica los dominios VH y VL se recombina junto con un enlazador scFv mediante PCR y se clona en un

vector de fagémido. El vector se somete a electroporación en *E. coli* y la *E. coli* se infecta con un fago auxiliar. Los fagos usados en estos métodos son típicamente fagos filamentosos que incluyen fd y M13, y los dominios VH y VL se fusionan normalmente de forma recombinante con el gen III o el gen VIII del fago. El fago que expresa un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a un antígeno particular puede seleccionarse o identificarse con un antígeno, *por ejemplo*, usando antígeno marcado o antígeno unido o capturado a una superficie sólida o perla. Ejemplos de métodos de presentación en fagos que se pueden usar para elaborar los anticuerpos o fragmentos descritos en el presente documento incluyen los descritos en Brinkman U *et al.*, (1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) Gene 187: 9-18; Burton DR y Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280; la Solicitud PCT N.º PCT/GB91/001134; las Publicaciones Internacionales N.º WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401 y WO 97/13844; y las Patentes de EE.UU. N.º 5,698,426, 5,223,409, 5,403,484, 5,580,717, 5,427,908, 5,750,753, 5,821,047, 5,571,698, 5,427,908, 5,516,637, 5,780,225, 5,658,727, 5,733,743 y 5,969,108.

7.4.1 POLINUCLEÓTIDOS

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento o un dominio del mismo (*por ejemplo*, una región de cadena ligera variable y/o una región de cadena pesada variable) que se une inmuno-específicamente a la proteína espiga del SARS-CoV-2, y vectores, *por ejemplo*, vectores que comprenden tales polinucleótidos para expresión recombinante en células huésped (*por ejemplo*, *E. coli* y células de mamífero).

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen inmuno-específicamente a la proteína espiga del SARS-CoV-2 y comprenden una secuencia de aminoácidos como se describe en el presente documento, así como anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que compiten con dichos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno por unirse al SARS-CoV-2 (*por ejemplo*, de manera dependiente de la dosis), o que se unen al mismo epítipo que el de dichos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno.

También se proporcionan en el presente documento polinucleótidos que codifican un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 que están optimizados, *por ejemplo*, mediante optimización de codón/ARN, sustitución con secuencias señal heterólogas y eliminación de elementos de inestabilidad de ARNm. Los métodos para generar ácidos

nucleicos optimizados que codifican un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 o un dominio del mismo (por ejemplo, cadena pesada, cadena ligera, dominio VH o dominio VL) para la expresión recombinante mediante la introducción de cambios de codón (por ejemplo, un cambio de codón que codifica el mismo aminoácido debido a la degeneración del código genético) y/o la eliminación de regiones inhibidoras en el ARNm, se pueden realizar adaptando los métodos de optimización descritos, por ejemplo, en las Patentes de EE.UU. N.º 5,965,726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; y 6,794,498, por consiguiente.

Un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento o un dominio del mismo puede generarse a partir de ácido nucleico de una fuente adecuada (*por ejemplo*, un hibridoma) usando métodos bien conocidos en la técnica (*por ejemplo*, PCR y otros métodos de clonación molecular). Por ejemplo, la amplificación por PCR usando cebadores sintéticos que pueden hibridar con los extremos 3' y 5' de una secuencia conocida se puede realizar usando ADN genómico obtenido de células de hibridoma que producen el anticuerpo de interés. Dichos métodos de amplificación por PCR pueden usarse para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la cadena ligera y/o la cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Dichos métodos de amplificación por PCR pueden usarse para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la región variable de cadena ligera y/o la región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Los ácidos nucleicos amplificados pueden clonarse en vectores para su expresión en células huésped y para una clonación adicional, por ejemplo, para generar anticuerpos quiméricos y humanizados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Los polinucleótidos proporcionados en el presente documento pueden estar, por ejemplo, en forma de ARN o en forma de ADN. El ADN incluye ADNc, ADN genómico y ADN sintético, y el ADN puede ser bicatenario o monocatenario. Si es monocatenario, el ADN puede ser la cadena codificante o la cadena no codificante (antisentido). En algunos aspectos, el polinucleótido es un ADNc o un ADN que carece de uno más intrones endógenos. En algunos aspectos, un polinucleótido es un polinucleótido de origen no natural. En algunos aspectos, un polinucleótido se produce de forma recombinante. En algunos aspectos, los polinucleótidos están aislados. En algunos aspectos, los polinucleótidos son sustancialmente puros. En algunos aspectos, un polinucleótido se purifica a partir de componentes naturales.

7.4.2 CÉLULAS Y VECTORES

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento vectores (*por ejemplo*, vectores de expresión) que comprenden polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos o un dominio de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2 para expresión

recombinante en células huésped, por ejemplo, en células de mamífero. En el presente documento también se proporcionan células, por ejemplo, células huésped, que comprenden dichos vectores para expresar de forma recombinante anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento (*por ejemplo*, anticuerpos humanos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos) que se unen a la proteína espicular del SARS-CoV-2. En un aspecto particular, en el presente documento se proporcionan métodos para producir un anticuerpo o fragmentos de unión a antígeno del mismo descritos en el presente documento, que comprenden expresar dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo en una célula huésped.

En algunos aspectos, la expresión recombinante de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o dominio del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, una cadena pesada o ligera descrita en el presente documento) que se une específicamente a la proteína espiga de SARS-CoV-2 comprende la construcción de un vector de expresión que contiene un polinucleótido que codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o dominio del mismo. Una vez que se ha obtenido un polinucleótido que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un dominio del mismo (*por ejemplo*, dominio variable de cadena pesada o ligera) descrito en el presente documento, el vector para la producción del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede producirse mediante tecnología de ADN recombinante usando técnicas bien conocidas en la técnica. Por lo tanto, en el presente documento se describen métodos para preparar una proteína mediante la expresión de un polinucleótido que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o un dominio del mismo (*por ejemplo*, cadena ligera o cadena pesada). Se pueden usar métodos que se conocen bien por los expertos en la técnica para construir vectores de expresión que contienen secuencias que codifican un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o dominio del mismo (*por ejemplo*, cadena ligera o cadena pesada) y señales de control de transcripcional y traduccional apropiadas. Estos métodos incluyen, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y recombinación genética *in vivo*. También se proporcionan vectores replicables que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, una cadena pesada o ligera, un dominio variable de cadena pesada o ligera o una CDR de cadena pesada o ligera, unida operativamente a un promotor. Dichos vectores pueden incluir, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos que codifica la región constante del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo (*véanse, por ejemplo*, las Publicaciones Internacionales N.º WO 86/05807 y WO 89/01036; y la Patente de EE.UU. N.º 5,122,464), y los dominios variables del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo pueden clonarse en tal vector para la expresión de

la totalidad de la cadena pesada, la cadena ligera o las cadenas tanto pesada como la ligera en su totalidad.

Un vector de expresión puede transferirse a una célula (*por ejemplo*, célula huésped) mediante técnicas convencionales y las células resultantes pueden entonces cultivarse mediante técnicas convencionales para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR, la VH, la VL, la VH y la VL, la cadena pesada, la cadena ligera, o la cadena pesada y la ligera de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1) o un dominio del mismo (*por ejemplo*, la VH, la VL, la VH y la VL, la cadena pesada, o la cadena ligera de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1). Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan células huésped que contienen un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR, la VH, la VL, la VH y la VL, la cadena pesada, la cadena ligera, o la cadena pesada y ligera de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1) o un dominio del mismo (*por ejemplo*, VH, VL, VH y VL, la cadena pesada o la cadena ligera de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1), unido operativamente a un promotor para la expresión de dichas secuencias en la célula huésped. En algunos aspectos, para la expresión de anticuerpos bicatenarios o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, los vectores que codifican tanto la cadena pesada como la ligera, individualmente, pueden expresarse conjuntamente en la célula huésped para la expresión de la inmunoglobulina en su totalidad, como se detalla a continuación. En algunos aspectos, una célula huésped contiene un vector que comprende un polinucleótido que codifica tanto la cadena pesada como la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, la cadena pesada y ligera de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1), o un dominio del mismo (*por ejemplo*, el VH y el VL de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1). En algunos aspectos, una célula huésped contiene dos vectores diferentes, un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, y un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera o una región variable de cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo que comprende las seis CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1), o un dominio del mismo. En algunos aspectos, una primera célula huésped comprende un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, y una segunda célula huésped comprende un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera o una región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del

mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1). En algunos aspectos, una cadena pesada/región variable de cadena pesada expresada por una primera célula asociada con una cadena ligera/región variable de cadena ligera de una segunda célula forma un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1). En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona una población de células huésped que comprende dicha primera célula huésped y dicha segunda célula huésped.

En algunos aspectos, se proporciona en el presente documento una población de vectores que comprende un primer vector que comprende un polinucleótido que codifica una región variable de cadena ligera/cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, y un segundo vector que comprende un polinucleótido que codifica una región variable de cadena pesada/cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento (*por ejemplo*, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1). Como alternativa, se puede usar un solo vector que codifica, y es capaz de expresar, polipéptidos tanto de cadena pesada como ligera.

Pueden utilizarse diversos sistemas de vectores de expresión de hospedador para expresar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1) (véase, *por ejemplo*, Patente de Estados Unidos nº 5.807.715). Dichos sistemas de expresión del huésped representan vehículos mediante los cuales las secuencias codificantes de interés pueden producirse y posteriormente purificarse, pero también representan células que, cuando se transforman o se transfectan con las secuencias codificantes de nucleótidos apropiadas, pueden expresar *in situ* un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento. Estos incluyen, pero sin limitación, microorganismos tales como bacterias (*por ejemplo*, *E. coli* y *B. subtilis*) transformadas con vectores de expresión recombinante de ADN de bacteriófago, ADN plasmídico o ADN de cósmido que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; levadura (*por ejemplo*, *Saccharomyces Pichia*) transformada con vectores de expresión recombinante de levadura que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células de insectos infectados con vectores de expresión recombinante de virus (*por ejemplo*, baculovirus) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; sistemas de células vegetales (*por ejemplo*, algas verdes tales como *Chlamydomonas reinhardtii*) infectados con vectores de expresión recombinante de virus (*por ejemplo*, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión

recombinante de plásmidos (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen secuencias codificantes de anticuerpos; o sistemas de células de mamíferos (por ejemplo, células COS (por ejemplo, COS1 o COS), CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa y NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 y BMT10) que albergan construcciones de expresión recombinante que contienen promotores procedentes del genoma de células de mamífero (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus; el promotor del virus variolovacunal 7.5K). En algunos aspectos, las células para expresar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento (*por ejemplo*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las CDR de un anticuerpo proporcionado en la Tabla 1) son células CHO, por ejemplo, células CHO del CHO GS System™ (Lonza). En algunos aspectos, las células para expresar anticuerpos descritos en el presente documento son células humanas, *por ejemplo*, líneas celulares humanas. En algunos aspectos, un vector de expresión de mamífero es pOptiVEC™ o pcDNA3.3. En algunos aspectos, se usan células bacterianas tales como *Escherichia coli*, o las células eucariotas (por ejemplo, células de mamífero), especialmente para la expresión de una molécula de anticuerpo recombinante completa, para la expresión de una molécula de anticuerpo recombinante. Por ejemplo, las células de mamífero tales como las células de ovario de hámster chino (CHO) junto con un vector tal como el elemento promotor genético temprano intermedio principal del citomegalovirus humano es un sistema de expresión eficaz para anticuerpos (Foecking MK y Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-105; y Cockett MI *et al.*, (1990) Biotechnology 8: 662-667). En algunos aspectos, se producen anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento mediante células CHO o células NS0.

Además, puede elegirse una cepa celular huésped que module la expresión de las secuencias insertadas, o modifique y procese el producto génico de la manera específica deseada. Dichas modificaciones (por ejemplo, glucosilación) y procesamiento (*por ejemplo*, escisión) de productos proteicos pueden contribuir a la función de la proteína. Para este fin, se pueden usar células huésped eucariotas que poseen la maquinaria celular para el procesamiento adecuado del transcrito primario, la glucosilación y la fosforilación del producto génico. Dichas células huésped de mamífero incluyen, pero sin limitación, células CHO, VERO, BHK, Hela, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, NS0 (una línea celular de mieloma murino que no produce endógenamente ninguna cadena de inmunoglobulina), CRL7030, COS (*por ejemplo*, COS1 o COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 y HsS78Bst. En algunos aspectos, se producen anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento que se unen específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 en células de mamífero, tales como células CHO.

Una vez que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento se ha producido por expresión recombinante, puede purificarse por cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo, por cromatografía (*ejemplo*, intercambio iónico, afinidad, particularmente por afinidad por el antígeno específico después de Proteína A, y cromatografía de exclusión por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Además, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento pueden fusionarse con secuencias polipeptídicas heterólogas descritas en el presente documento o conocidas de otro modo en la materia para facilitar la purificación.

En algunos aspectos, se aísla o purifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento. Generalmente, un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo es uno que está sustancialmente libre de otros anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos con diferentes especificidades antigénicas que el anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, en algunos aspectos, una preparación de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento está sustancialmente libre de material celular y/o precursores químicos.

7.5 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Se proporcionan en el presente documento composiciones que comprenden un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento o una combinación de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo descritos en el presente documento que tienen el grado de pureza deseado en un portador, excipiente o estabilizador fisiológicamente aceptable (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). Los portadores, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas.

En algunos aspectos, las composiciones que comprenden al menos un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 se proporcionan en formulaciones con un portador farmacéuticamente aceptable (véase, por ejemplo, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20^a ed. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7^a ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3^a ed., Pharmaceutical Press (2000). En algunos aspectos, una composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2, por ejemplo, dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a diferentes epítomos de la proteína pico del SARS-CoV-2. En algunos aspectos, una composición

farmacéutica descrita en el presente documento comprende dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que se unen a diferentes epítomos del dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína espicular del SARS-CoV-2. En algunos aspectos, una composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que se unen a epítomos no superpuestos del RBD de la proteína espicular del SARS-CoV-2. En algunos aspectos, una composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que pueden unirse a SARS-CoV-2 simultáneamente.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden ser útiles para neutralizar el SARS-CoV-2.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden ser útiles para prevenir y/o tratar una infección por SARS-CoV-2 en un paciente o una o más afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 en un paciente. En algunos aspectos, el paciente puede haber estado expuesto al SARS-CoV-2. Ejemplos de infección por SARS-CoV-2 o una o más afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 que pueden prevenirse y/o tratarse de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, fiebre, tos, cansancio, falta de aire, dificultad para respirar, dolores musculares, escalofríos, dolores musculares, escalofríos, dolor de garganta, pérdida del gusto u olfato, dolor de cabeza, dolor torácico, náuseas, vómitos y diarrea. Los ejemplos adicionales de una o más afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 en un paciente que pueden tratarse de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, complicaciones cardíacas, complicaciones respiratorias, complicaciones de la diabetes, insuficiencia orgánica y coágulos de sangre. En algunos aspectos, una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento puede ser útil para tratar o prevenir una infección por SARS-CoV-2 o una o más afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 descritas en el presente documento en un paciente con uno o más factores de riesgo para la infección por SARS-CoV-2. En algunos aspectos, los factores de riesgo incluyen, entre otros: tener 65 años o más, estar inmunodeprimido y padecer una o varias enfermedades pulmonares crónicas, asma o diabetes.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento son, en algunos aspectos, para su uso como medicamento. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento son, en algunos aspectos, para su uso como diagnóstico, por ejemplo, para detectar la presencia de SARS-CoV-2 en una muestra obtenida de un paciente (por ejemplo, un paciente humano).

Las composiciones proporcionadas en el presente documento pueden formularse para administración intramuscular (IM), por ejemplo, inyección IM.

Las composiciones proporcionadas en el presente documento para ser utilizadas para la administración *in vivo* pueden ser estériles. Esto se logra fácilmente mediante filtración a través de, *por ejemplo*, membranas de filtración estériles.

7.6 USOS Y MÉTODOS

5

7.6.1 USOS Y MÉTODOS TERAPÉUTICOS

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento métodos para prevenir y/o tratar la infección por SARS-CoV-2 en un paciente o una o más afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 en un paciente. El método de tratamiento o prevención de una infección por SARS-CoV-2 puede comprender la administración de uno o
10 más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2 a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite.

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento métodos para reducir la probabilidad de infección en un sujeto con riesgo de contraer la infección por SARS-CoV-2. El método para reducir la probabilidad de infección en un sujeto con riesgo de contraer la
15 infección por SARS-CoV-2 puede comprender la administración de uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espiga del SARS-CoV-2

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento métodos de prevención y/o tratamiento de una infección por SARS-CoV-2 o una o más afecciones o
20 complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2. Las afecciones o complicaciones relacionadas con la infección por SARS-CoV-2 incluyen, pero sin limitación, fiebre, tos, cansancio, falta de aire, dificultad para respirar, dolores musculares, escalofríos, dolores musculares, escalofríos, dolor de garganta, pérdida del gusto u olfato, dolor de cabeza, dolor torácico, náuseas, vómitos y diarrea. En algunos aspectos, en el presente documento se
25 proporcionan métodos para prevenir y/o tratar una infección por SARS-CoV-2 en un paciente con uno o más factores de riesgo de infección por SARS-CoV-2. En algunos aspectos, los factores de riesgo incluyen, pero sin limitación, tener 65 años o más, estar inmunodeprimido, padecer una o más de enfermedad pulmonar crónica, asma o diabetes y/o estar inmunodeprimido. En algunos aspectos, dichos métodos comprenden la administración de un
30 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2 proporcionada en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2 del presente documento a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite.

35

En algunos aspectos, dichos métodos comprenden administrar dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2 proporcionada en el presente documento o una composición farmacéutica que comprende

dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2 en el presente documento a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite.

5 En algunos aspectos, dichos métodos comprenden administrar una composición que comprende uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico de SARS-CoV-2 en el presente documento a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite. En algunos aspectos, un paciente padece factores de riesgo que incluyen, entre otros: tener 65 años o más, estar inmunodeprimido y padecer una o más enfermedades pulmonares crónicas, asma o diabetes.

10 En algunos aspectos, uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2, o composición farmacéutica, se administra a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) en riesgo de contraer SARS-CoV-2.

15 En algunos aspectos, uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2 se administran por vía intramuscular, por ejemplo, mediante inyección intramuscular.

Usualmente, el paciente es un humano, pero también pueden tratarse mamíferos no humanos, incluidos mamíferos transgénicos.

20 En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, una combinación de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica proporcionada en la presente para su uso como medicamento. En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, una combinación de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica proporcionada en el presente documento, para su uso en un método para la prevención o tratamiento de una infección por SARS-CoV-2. En algunos aspectos, la presente invención se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, una combinación de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica proporcionada en el presente documento, para su uso en un método para el tratamiento de una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, un , una combinación de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica proporcionada en el presente documento.

35 La cantidad de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o composición que será eficaz en el tratamiento de una afección dependerá de la naturaleza de la enfermedad. La dosis precisa a emplear en una composición también dependerá de la vía de administración y de la gravedad de la enfermedad.

7.6.2 DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO

Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espiga de SARS-CoV-2 descrita en el presente documento (véase, *por ejemplo*, la Sección 7.2) puede usarse para ensayar niveles de proteína de SARS-CoV-2 o niveles de SARS-CoV-2 en una muestra biológica usando métodos clásicos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo inmunoensayos, tales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación o Western blotting. Se conocen en la técnica marcadores de ensayo de anticuerpos adecuados e incluyen marcadores enzimáticos, tales como yodo (^{125}I , ^{121}I), carbono (^{14}C), azufre (^{35}S), tritio (^3H), indio (^{121}In) y tecnecio (^{99}Tc); marcadores luminiscentes, tales como luminol; y marcadores fluorescentes, tales como fluoresceína y rodamina, y biotina. Dichos marcadores pueden usarse para marcar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento. Como alternativa, un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que reconoce un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espigular del SARS-CoV-2 descrita en el presente documento puede marcarse y usarse en combinación con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espigular del SARS-CoV-2 para detectar niveles de proteína del SARS-CoV-2.

El análisis del nivel de expresión de la proteína SARS-CoV-2 pretende incluir la medición o estimación cualitativa o cuantitativa del nivel de proteína SARS-CoV-2 en una primera muestra biológica, ya sea directamente (*por ejemplo*, mediante la determinación o estimación del nivel absoluto de proteína) o relativamente (*por ejemplo*, mediante la comparación con el nivel de proteína asociada a la enfermedad en una segunda muestra biológica). El nivel de expresión de la proteína SARS-CoV-2 en la primera muestra biológica puede medirse o estimarse y compararse con un nivel estándar de proteína SARS-CoV-2, tomándose el estándar de una segunda muestra biológica obtenida de un individuo que no padezca el trastorno o determinándose promediando los niveles de una población de individuos que no padezcan el trastorno.

Como se usa en el presente documento, el término "muestra biológica" se refiere a cualquier muestra biológica obtenida de un sujeto, línea celular, tejido u otra fuente de células potencialmente expresadoras de SARS-CoV-2. Se conocen bien en la técnica métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de animales (*por ejemplo*, seres humanos).

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espiga de SARS-CoV-2 descrita en el presente documento pueden llevar una etiqueta detectable o funcional. Cuando se usan marcadores de fluorescencia, se pueden utilizar microscopía y análisis de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés) o una combinación de ambos métodos conocidos en la materia para identificar y cuantificar los miembros de unión específicos. Los anticuerpos o fragmentos de unión a

antígeno de los mismos que se unen a la proteína pico del SARS-CoV-2 descrita en el presente documento pueden llevar una etiqueta de fluorescencia. Los marcadores de fluorescencia de ejemplo incluyen, *por ejemplo*, sondas reactivas y conjugadas, por ejemplo, aminocoumarina, fluoresceína y rojo Texas, colorantes Alexa Fluor, colorante Cy y colorantes DyLight. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína espicular del SARS-CoV-2 puede llevar un marcador radiactivo, tal como los isótopos ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{117}Lu , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{198}Au , ^{211}At , ^{213}Bi , ^{225}Ac y ^{186}Re . Cuando se utilizan etiquetas radiactivas, se pueden utilizar los procedimientos de recuento actualmente disponibles y conocidos en la técnica para identificar y cuantificar la unión específica de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína pico del SARS-CoV-2. En el caso de que la etiqueta sea una enzima, la detección puede realizarse mediante cualquiera de las técnicas colorimétricas, espectrofotométricas, fluoroespectrofotométricas, amperométricas o gasométricas actualmente utilizadas y conocidas en la técnica. Esto se puede lograr poniendo en contacto una muestra o una muestra de control con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espicular del SARS-CoV-2 en condiciones que permitan la formación de un complejo entre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y la proteína espicular del SARS-CoV-2. Cualquier complejo formado entre los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno y las proteínas de espiga de SARS-CoV-2 puede detectarse y compararse en la muestra (y opcionalmente un control). A la luz de la unión específica de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína espicular del SARS-CoV-2 descrita en el presente documento para el SARS-CoV-2, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden usarse para detectar específicamente el SARS-CoV-2 (por ejemplo, en un sujeto).

También se incluye en el presente documento un sistema de ensayo que puede prepararse en forma de kit de ensayo para el análisis cuantitativo del grado de presencia de, por ejemplo, proteínas de espiga de SARS-CoV-2. El sistema o kit de prueba puede comprender un componente marcado, *por ejemplo*, un anticuerpo marcado o un fragmento de unión a antígeno, y uno o más reactivos inmunoquímicos adicionales. Véase, *por ejemplo*, la Sección 7.7 a continuación para obtener más información sobre los kits.

En algunos aspectos, se proporcionan en el presente documento métodos para *detectar in vitro* proteínas de espiga de SARS-CoV-2 en una muestra, que comprenden poner en contacto la muestra con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona el uso de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo proporcionado en el presente documento para detectar *in vitro* proteínas espiculares del SARS-CoV-2 en una muestra. En un aspecto, en el presente documento se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o

composición farmacéutica proporcionados en el presente documento para su uso en la detección de proteínas espiculares del SARS-CoV-2 en un sujeto o una muestra obtenida de un sujeto. En un aspecto, en el presente documento se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o composición farmacéutica proporcionados en el presente documento para su uso como un diagnóstico. En algunos aspectos, el anticuerpo comprende un marcador detectable. En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano.

7.7 PAQUETES

Se proporcionan en el presente documento paquetes que comprenden uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento. En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona un paquete farmacéutico o kit que comprende uno o más recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, tales como uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos proporcionados en el presente documento. Opcionalmente puede haber asociado con dicho recipiente o recipientes un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, cuyo aviso refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta para administración en seres humanos.

También se proporcionan en el presente documento kits que pueden utilizarse en métodos de diagnóstico. En algunos aspectos, un kit comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo purificado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en uno o más envases. En algunos aspectos, los kits descritos en el presente documento contienen un antígeno de proteína espicular del SARS-CoV-2 sustancialmente aislado que puede usarse como control. En algunos aspectos, los kits descritos en el presente documento comprenden además un anticuerpo de control o fragmento de unión a antígeno del mismo que no reacciona con un antígeno de proteína de espiga de SARS-CoV-2. En algunos aspectos, los kits descritos en el presente documento contienen uno o más elementos para detectar la unión de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a un antígeno de la proteína espicular del SARS-CoV-2 (*por ejemplo*, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede conjugarse con un sustrato detectable tal como un compuesto fluorescente, un sustrato enzimático, un compuesto radiactivo o un compuesto luminiscente, o un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que reconoce el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede conjugarse con un sustrato detectable). En algunos aspectos, un kit proporcionado en el presente documento puede incluir un antígeno de proteína espicular del SARS-CoV-2 producido de forma recombinante o sintetizado químicamente. El antígeno de proteína espicular del SARS-CoV-2 proporcionado en el kit también se puede unir a un soporte

sólido. En algunos aspectos, los medios de detección del kit descrito anteriormente incluyen un soporte sólido al que se une un antígeno de proteína de pico de SARS-CoV-2. Tal kit también puede incluir un anticuerpo anti-humano marcado con indicador no unido o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un anticuerpo anti-ratón/rata o fragmento de unión a antígeno del mismo. En este aspecto, la unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína espicular del SARS-CoV-2 al antígeno de proteína espicular del SARS-CoV-2 puede detectarse mediante la unión del anticuerpo marcado con indicador o el fragmento de unión a antígeno del mismo.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a título ilustrativo y no limitativo.

8. EJEMPLOS

Los ejemplos de esta Sección de Ejemplos (es decir., Sección 8) se ofrecen a título ilustrativo, y no limitativo.

8.1 EJEMPLO 1: PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS Y PROTEÍNAS

Se clonaron fragmentos de ADN VH y VL de anticuerpos en un plásmido de expresión de mamífero dirigido por CMV que contenía IgG1 Fc humana con las modificaciones de prolongación de la semivida sérica YTE y de ablación de la función efectora TM. La secuencia de los plásmidos se verificó mediante secuenciación Sanger. Los anticuerpos se expresaron transitoriamente en células HEK293F utilizando 293Fectin (Gibco #12347019) según las instrucciones del fabricante y se cultivaron en medio Freestyle (Gibco #12338018) durante 6 días. A los 6 días, el medio se clarificó por centrifugación, se filtró y se purificó utilizando resina MabSelect SuRe (Cytiva #11-0034-94). La pureza de los anticuerpos se determinó mediante HP-SEC, como se describe a continuación, y la masa correcta de los anticuerpos se verificó mediante espectrometría de masas. Las secuencias de anticuerpos ejemplares figuran en la Tabla 1.

SARS-CoV-2 RBD (residuos 334-526) se clonó con una secuencia líder CD33 N-terminal y un enlazador GSSG C-terminal, AviTag, enlazador GSSG y 8xHisTag, se expresó en células FreeStyle 293 (Thermo Fisher) y se aisló mediante cromatografía de afinidad utilizando una columna HisTrap (GE Healthcare), seguida de cromatografía de exclusión por tamaño con una columna Superdex200 (GE Healthcare). Las proteínas purificadas se analizaron mediante SDS-PAGE para garantizar la pureza y los pesos moleculares adecuados. Los niveles de endotoxinas se midieron con el cartucho Endosafe® de Charles River (Charles River) y resultaron ser inferiores a 1EU/mg.

8.2 EJEMPLO 2: HP-SEC

Las muestras de anticuerpos se analizaron mediante HP-SEC para determinar los niveles de agregado, monómero y fragmento. Las muestras (100µg en tampón PBS) se inyectaron en un instrumento de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) Agilent serie 1200 y se separaron utilizando una columna de exclusión por tamaño TSKgel G3000SWxl

(Tosoh Bioscience #08541). La fase móvil fue fosfato sódico 100mM (pH 6.8), y el caudal de muestra fue de 1 mL/min. La detección ultravioleta (UV) se realizó a 280 nm. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.3 EJEMPLO 3: ELISA PARA BACLOVIRUS

5 La prueba ELISA de partículas de baculovirus (BVP) se realizó esencialmente como se ha descrito previamente (Hotzel I, Theil FP, Bernstein LJ, Prabhu S, Deng R, Quintana L, et al. MAbs 2012; 4:753-60), con algunas modificaciones. Brevemente, se utilizó una suspensión de baculovirus (BV) al 1% en tampón carbonato sódico 50mM (pH 9.6) para recubrir la mitad de
10 mitad de las placas ELISA se dejó sin recubrir para comprobar la unión de los anticuerpos a la placa. Todos los pasos siguientes se realizaron a temperatura ambiente. Al día siguiente, los pocillos se lavaron con PBS de Dulbecco (DPBS) y, a continuación, se incubaron con tampón de bloqueo (PBS de Dulbecco con 0.5% de BSA) durante 1 h, seguido de tres lavados con DPBS. A continuación, se añadieron anticuerpos a 100 nM y 10 nM en tampón de bloqueo a los
15 pocillos recubiertos y no recubiertos con BVP y se incubaron durante 1 h, seguidas de tres lavados con DPBS. A continuación, se añadieron a los pocillos anticuerpos secundarios IgG-HRP antihumanos de cabra (dilución 1:5000, Sigma-Aldrich #A0170) en tampón de bloqueo y se incubaron durante 1 h, seguidas de tres lavados con DPBS. Por último, se añadió sustrato TMB (SeraCare #5120-0075) a cada pocillo y se incubó durante 2 minutos. Las reacciones se
20 detuvieron añadiendo un volumen igual de ácido sulfúrico 0.2 M a cada pocillo. La absorbancia se leyó a 450 nm. La puntuación del BVP y la unión a la placa se determinó normalizando la absorbancia a los pocillos de control sin anticuerpo de prueba. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.4 EJEMPLO 4: ENSAYO DE UNIÓN A HEK

25 La unión no específica de células HEK se midió utilizando un citómetro de fluorescencia Mirrorball (SPT Labtech). En primer lugar, se añadieron 10uL de anticuerpo anti-IgG humana de cabra Alexa Fluor 647 (H+L) (Invitrogen #A-21445) diluido a 16nM en tampón Mirrorball (solución salina equilibrada de Hanks con 0.5% de BSA) a los pocillos de una placa de fondo transparente de 384 pocillos. A continuación, se añadieron a los pocillos 10uL de anticuerpo de
30 prueba diluido en serie en tampón Mirrorball. Por último, se añadieron a los pocillos 20uL de células HEK293f diluidas a 250.000 células/mL en tampón Mirrorball. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 2 h y la fluorescencia de cada pocillo se midió con el citómetro de fluorescencia Mirrorball. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.5 EJEMPLO 5: AC-SINS

35 AC-SINS se realizó esencialmente como se ha descrito previamente (Geng SB, Wu J, Alam ME, Schultz JS, Dickinson CD, Seminer CR, et al. Facile Preparation of Stable Antibody-Gold Conjugates and Application to Affinity-Capture Self-Interaction Nanoparticle Spectroscopy.

Bioconjug Chem 2016; 27:2287-300), con algunas modificaciones. Brevemente, tanto la IgG entera de cabra (Jackson ImmunoResearch #005-000-003) (sin captura) como los anticuerpos policlonales IgG Fc antihumanos de cabra (Jackson ImmunoResearch #109-005-098) (captura) se dializaron en tampón de acetato potásico 20mM (pH 4.3) y luego se conjugaron con nanopartículas de oro de 20nm (Innova Biosciences #3201-0100) en una proporción 3:2 de anticuerpos de captura:sin captura. Los anticuerpos se incubaron con nanopartículas de oro en una proporción de 9:1 durante 1h a temperatura ambiente, y después se bloquearon añadiendo 0.1µM de poli-(etilenglicol) metil éter tiol (2000 MW, Sigma-Aldrich #729140) durante 1h. Las nanopartículas recubiertas y bloqueadas se concentraron 12.5 veces mediante centrifugación y se almacenaron a 4 °C. Para evaluar la autoasociación, se mezclaron 5µL de nanopartículas con 45µL de anticuerpo purificado a 50 ug/mL en PBS, pH 7.2 o un tampón en una placa de 384 pocillos. Las nanopartículas se mezclaron solo con amortiguador (sin anticuerpo) como control. La absorbancia se midió en un lector de placas SPECTROstar Nano UV/vis de 490 a 700 nm. La longitud de onda del pico de absorbancia se calculó en el software de análisis de datos MARS y se utilizó para determinar el desplazamiento de la longitud de onda en comparación con el control de nanopartículas solamente. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.6 EJEMPLO 6: ESTUDIO DE ESTRÉS TÉRMICO DE ESTABILIDAD ACELERADA

Para las pruebas de estabilidad acelerada, las muestras se diluyeron a 1mg/mL en PBS (pH 7.2) y se incubaron durante 2 semanas a 4°C o 45°C. A continuación, las muestras de los días 0, 7 y 14 se analizaron mediante mapeo peptídico HP-SEC y ensayo de unión DELFIA como se describe en el presente documento. Los porcentajes de monómero, agregado y fragmento para cada muestra se calcularon en función de la integración de la curva utilizando el software HPLC ChemStation (Agilent). El cambio en el contenido de monómeros, agregados y fragmentos se calculó a partir de la diferencia entre cada muestra incubada a 45°C frente a 4°C. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

8.7 EJEMPLO 7: ENSAYO DE FOTOESTABILIDAD

Para las pruebas de fotoestabilidad, los anticuerpos se formularon a 2.5 mg/mL en PBS (pH 7.2), se llenaron en viales de vidrio Schott de 1 cc, se taparon/sellaron y se colocaron en una cámara de fotoestabilidad conforme a ICH (Caron Modelo 6545-2). Las muestras se expusieron a luz blanca fría a 3000 lux en el transcurso de 1 semana, para una exposición total de aproximadamente 500000 lux horas. Las muestras se analizaron mediante HP-SEC y mapeo peptídico como se describe en dichas secciones. Los resultados se muestran en la tabla 3.

8.8 EJEMPLO 8: ENSAYO DE ESTABILIDAD SÉRICA

Los anticuerpos se diluyeron a 0.5mg/ml en suero humano (Sigma) y se incubaron a 37°C durante 14 días. Se tomaron muestras de control del día 0 y se congelaron a -80°C hasta la realización de las pruebas. A los 14 días, las muestras incubadas también se congelaron a -80°C hasta que se pudieron realizar pruebas en todas las muestras. La unión de la muestra

estresada y no estresada se evaluó mediante el ensayo de unión DELFIA frente a RBD, tal como se describe en el presente documento. Los resultados se muestran en la tabla 3.

8.9 EJEMPLO 9: CDB

Las transiciones térmicas de fusión se determinaron utilizando el sistema de calorimetría diferencial de barrido Microcal VP (Malvern, PA). Las soluciones de anticuerpos monoclonales se diluyeron a 1mg/ml en el tampón final, y se midió el cambio en la capacidad calorífica (C_p) a medida que las muestras se calentaban de 20°-95°C utilizando una rampa de temperatura de 90°C/h. Los datos normalizados de capacidad calorífica se obtuvieron tras restar el blanco de tampón y normalizar a la concentración del anticuerpo monoclonal. Los datos se analizaron con el software de origen Microcal LLC para calcular las transiciones térmicas de fusión asociadas al desdoblamiento de los distintos dominios. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.10 EJEMPLO 10: VISCOSIDAD

Las soluciones concentradas de anticuerpos se diluyeron en una formulación a 100mg/mL. Cada muestra se sometió a tensiones rotacionales de cizallamiento de 1000 s⁻¹ a 23°C en un reómetro MCR301 que utilizaba el sistema de cono y placa CP20-1 (Anton Parr, pieza 3274). Se tomaron 5 mediciones cada minuto durante la recogida de datos y se promediaron para obtener los valores de viscosidad. Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.11 EJEMPLO 11: DLS

El panel anticuerpo se reformuló en un tampón alternativo. Las mediciones del coeficiente de difusión aparente de la media Z se realizaron utilizando el lector de placas Dynapro (Wyatt technology, Santabarbara, CA) equipado con una fuente láser de 833 nm de longitud de onda. La luz dispersa se recogió en un modo de retrodispersión con un ángulo de 153°. Para cada anticuerpo, se distribuyeron por triplicado 40 ul a las concentraciones respectivas de 2, 4, 6, 8 y 10 mg/ml en una placa de 384 pocillos de bajo volumen (Corning, Tewksbury, MA), se cubrió con una película de parafina y se centrifugó a 3000 RPM durante 1 minuto para eliminar cualquier burbuja de aire. La cámara de muestras se equilibró durante 1 hora antes de las mediciones, y los datos se recogieron durante 10 adquisiciones de 10 segundos y se promediaron para cada pocillo. El coeficiente de difusión traslacional medio Z se determinó a partir del análisis cumulante de la función de autocorrelación y se modelizó como:

$$D = D_0(1 + kDC)$$

para obtener "kD" coeficiente virial de difusión (parámetro de interacción).

Los resultados se muestran en la tabla 2.

8.12 EJEMPLO 12: CARTOGRAFÍA DE PÉPTIDOS

Se realizó un mapeo de péptidos tripticos reducido basado en las recomendaciones de fabricación. Brevemente, 100µg de muestra de anticuerpo se desnaturalizaron y redujeron en un tampón de clorhidrato de guanidina con ditiotreitól (DTT, 20291, Thermo Scientific) a 37°C durante 30 minutos. A continuación, la muestra se alquiló con yodoacetamida (IAM, 786-078,

G-Biosciences) durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla de muestras se dializó en Urea 6M y se diluyó con tampón Tris pH 7.5 para permitir la digestión con tripsina. Se añadió tripsina (V5280, Promega) en proporción 1:20 proteasa: proteína y se incubó a 37°C durante 4h. La reacción se apagó añadiendo ácido trifluoroacético (TFA, T6508, Sigma-Aldrich). Los digestos de la muestra se analizaron con un espectrómetro de masas Fusion Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) conectado a un cromatógrafo líquido de ultra alta resolución AQUITY (UPLC; Waters). Para la separación se utilizó una columna AQUITY UPLC BEH300 C18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm; Waters). La temperatura de la columna se mantuvo a 55°C. La fase móvil A era TFA al 0.02% en agua, y la fase móvil B era TFA al 0.02% en acetonitrilo. Los péptidos digeridos se eluyeron de la columna con un gradiente lineal de 0-35% y el perfil cromatográfico se monitorizó mediante absorbancia UV a 220 nm y MS. Los datos de MS se procesaron con BiopharmaFinder 3.0 (Thermo Fisher Scientific). Los resultados se muestran en la tabla 3.

8.13 EJEMPLO 13: ENSAYO DE UNIÓN A DELFIA

Se utilizó un método DELFIA® (PerkinElmer) para medir la unión de anticuerpos al dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína de espiga de SARS-CoV-2 antes y después del estrés térmico. Las placas de 96 pocillos Nunc MaxiSorp™ se recubren durante la noche con proteína RBD Omicron purificada. A continuación, se lavaron las placas de ensayo con tampón 1X TBS-Tween (PerkinElmer) y se bloquearon con albúmina sérica bovina (Sigma). Las muestras de anticuerpos se diluyeron en serie y se añadieron a la placa durante 1 h. El anticuerpo unido se detectó con DELFIA® Europium-N1 anti-human IgG (PerkinElmer), y la señal se cuantificó mediante fluorescencia resuelta en el tiempo en un lector de placas Envision (PerkinElmer). El IC₅₀ se calculó con una curva logística de cuatro parámetros (4PL) utilizando GraphPad Prism v 8.0. El IC₅₀ de la muestra estresada se comparó con una muestra de referencia para generar un porcentaje de potencia relativa.

8.14 EJEMPLO 14: CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD FCRN

Se cargaron aproximadamente 40ug/40uL de anticuerpo en una columna de afinidad de sefarosa acoplada a huFcRN de 1ml usando un HPLC Agilent, seguido de un gradiente lineal de 3CV desde el tampón A (20mM MES, 150mM NaCl, pH5.5) al 40% de tampón B (20mM tris + 150mM NaCl, pH8.8) y un gradiente lineal de 18CV del 40% al 100% de tampón B. El experimento se realizó a un caudal de 0.5ml/min a temperatura ambiente utilizando el Agilent - DAD para medir el A280 del perfil de elución. El tiempo de retención se normalizó al tiempo de retención relativo con la siguiente fórmula y utilizando el anticuerpo de control bien comportado NIP228 en el formato WT y YTE:

RT relativo= ([RT de la muestra- RT del NIP228]/[RT del NIP228-YTE - RT del NIP228]). Los resultados se muestran en la Tabla 3.

8.15 EJEMPLO 15: CONCURSO DE OCTETOS

La competición de unión se realizó con un instrumento de interferometría de biocapa Octet modelo QK 384 (FortéBio). Las puntas de estreptavidina se empaparon primero en tampón cinético 1x durante 10 minutos, seguido de una medición de la señal de referencia en tampón cinético 1x durante 60 segundos. A continuación, se cargó en las puntas la RBD de espiga de SARS-CoV-2 biotinilada diluida en tampón cinético hasta 4 nM durante 300 segundos. A continuación, se añadieron puntas que contenían antígeno a pocillos que contenían el primer mAb (mAb1) a 1 μ M como anticuerpo de referencia mAb1, y se midió la asociación durante 300 segundos. A continuación, se sumergieron las puntas en pocillos que contenían un segundo mAb, (mAb2) a 1 μ M, y se midió una segunda asociación durante 300 segundos. La señal de unión al final de cada paso se promedió a partir de los puntos de datos tomados durante los últimos 10 segundos en equilibrio para determinar el cambio en la señal. Se determinó que los mAbs no competían si la señal aumentaba más de 0.5 nm tras la adición de mAb2. Los resultados se muestran en la Tabla 4 y demuestran que RQ40 y RQ43 no compiten con RQ33.

8.16 EJEMPLO 16: UNIÓN A RBD CON MUTACIONES PUNTUALES

Las tasas cinéticas (k_a , k_d , y K_D) de la unión de mAb a RBD de espiga de SARS-CoV-2 (wt y mutantes puntuales) se evaluaron con un instrumento de interferometría de biocapa Octet modelo QK 384 (FortéBio). Las puntas de Anti-Penta-His (HIS1K) se sumergieron primero en tampón cinético 1x durante 10 minutos, seguido de una medición de la señal de referencia en tampón cinético 1x durante 60 segundos. A continuación, se cargó en las puntas la RBD de espiga de SARS-CoV-2 marcada con His diluida en tampón cinético hasta 5 μ g/ml durante 240 segundos. A continuación, se añadieron puntas que contenían antígeno a pocillos que contenían el mAb a una concentración inicial de 200 nM, con diluciones subsiguientes de 2 veces, y se midió la asociación durante 300 segundos. A continuación, se midió la disociación en tampón cinético 1x durante 300 segundos. Los datos se sustrajeron de las referencias y se ajustaron a un modelo de unión 1:1 utilizando el software de análisis de datos Octet 12.0. (Los datos recogidos se ajustaron a una ecuación de unión de un solo sitio utilizando el software Biacore para obtener mediciones de cinética de unión). Los resultados se muestran en la Tabla 5 y demuestran que RQ33 y RQ43 no son sensibles a las mutaciones K444A y F486A RBD.

8.17 EJEMPLO 17: ENSAYO DE NEUTRALIZACIÓN DE PSEUDOVIRUS

Se sembraron células Freestyle 293X y se transfectaron con un vector lentiviral de tercera generación basado en el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que expresa luciferasa junto con plásmidos de empaquetamiento que codifican lo siguiente: SARS-CoV-2 spike protein with C-terminus 19 amino acids deletion, Rev, and Gag-pol. El sobrenadante viral se recogió 48 horas después. Los restos celulares se eliminaron mediante centrifugación a baja velocidad y el sobrenadante se pasó por una unidad de filtrado de 0.45 μ m. El sobrenadante se

concentró 100 veces por ultracentrifugación para generar el stock de virus utilizado en este ensayo.

Se prepararon diluciones seriadas de mAbs en una placa de microtitulación de 384 pocillos y se preincubaron con pseudovirus durante 1 hora a 37 °C, a las que se añadieron células Ad293 que expresan ACE2 humana de forma estable. La placa se volvió a colocar en la incubadora a 37 °C durante 48 horas y se midió la actividad de la luciferasa en un lector de placas multimodo EnVision 2105 (Perkin Elmer) utilizando el Bright-Glo™ Luciferase Assay System (Promega) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El porcentaje de inhibición se calculó en relación con el control de pseudovirus solo, y la potencia (valor IC_{50}) se determinó mediante regresión no lineal utilizando el software GraphPad Prism versión 8.1.0. El valor medio de IC_{50} para cada mAb se determinó a partir de un mínimo de dos experimentos independientes. Los resultados del ensayo de neutralización de pseudovirus se muestran en las figuras 1 y 2. AZD7442 se utilizó como control en los ensayos de neutralización que probaban combinaciones de mAbs. AZD7442 es una combinación de dos anticuerpos (tixagevimab (AZD8895) y cilgavimab (AZD1061)) derivados de células B donadas por pacientes convalecientes del virus SARS-CoV-2.

20

25

30

35

Tabla 2

Anticuerpo	in silico (+pl)	Título (CHO pequeña escala, % de NIP228)	Contenido en monómeros	Tiempo ret. monómero (vs. NIP228)	autoasociación (AC-SINS PBS/buffer)	BVP(unión a células HEK)	DSC TmOnset, °C	DSC - Tm Fab 1ª Transición, °C	DLS kD (g/ml),	Viscosidad a 150mg/mL, (cP)
RQ33 (TM-YTE)	DP*	17	98.62	-0.004	1.9/2.6	1.01 (No)	45.1	79.3	19.9	4.6
RQ33-GL-H (TM-YTE)	DP		98.32	-0.024	1.6/1.6	0.96 (No)				
RQ33-GL-H-LO1 (TM-YTE)		46.2	98.3	0.04	2.1/1.6	0.97 (No)	46.1	77.3	17.4	5.1
RQ40 (TM-YTE)	Cys loop**	38.3	92.9; 90	0.078	1.6/2.4	0.95 (No)	47.9	75	13.9	
RQ40-GL-LH (TM-YTE)	Bucle de Cys		97.4	0.08	0.5/0.5	1.23 (No)	47.2	75.2	11.7	7.2
RQ41 (TM-YTE)	Integrina BS***	28	99.37	-0.009	2.1/2.1	1.11 (No)	46.6	61.9	7	5.5
RQ41-GL-LH (TM-YTE)	Integrina BS	36.1	98	0.003	1.1/1.1	1 (No)				5.5
RQ41-GL-LH-LO1 (TM-YTE)			99.26	-0.016						

			35	30	25	20	15	10	5	
RQ41-LO1 (TM-YTE)			99.25	-0.017						
RQ43 (TM-YTE)	Integrina BS	69.5	99.35	0.043	1.9/1.1	1.08 (No)	47.6	61.8	5.8	8
RQ43-GL-L (TM-YTE)	Integrina BS		98.7	0.021	1.4/1.6	0.92 (No)				
RQ43-GL-H (TM-YTE)	Integrina BS		99.3	0.014	1.6/0.9	0.84 (No)	45.7	65.5		
RQ43-GL-LH (TM-YTE)	Integrina BS		99.17	-0.007	1.1/0.0	0.7 (No)			1.2	
RQ43-GL-LH-LO1 (TM-YTE)			98.6	0.008						
RQ43-GL-H-LO1 (TM-YTE)		51.15	97.6	0.03	0.5/0.5	1.21 (No)	45.1	60.9	2.5	6.8

* DP = secuencia de aminoácidos "DP" que puede causar fragmentación

**Bucle de Cys = bucle disulfuro en CDR

***Integrin BS = sitio de unión de la integrina

Tabla 3

Anticuerpo	Calor 7 días Agregación (Fragmentación) Unión en caliente de 7 días	Calor 14 días Agregación (Fragmentación) Unión en caliente de 14 días	Agregación de Fotos 7 días (Fragmentación)	Unión de fotos 7 días	Estabilidad sérica 7 días de unión	Estabilidad sérica 14 días de unión	Unión de la columna FcRn antes/después	Cartografía de péptidos
------------	--	--	--	-----------------------	------------------------------------	-------------------------------------	--	-------------------------

	35	30	25	20	15	10	5			
RQ33 (TM-YTE)	0.03 (0.26)	102%	0.20 (0.65)	109%	0.04 (0.16)	94%	98%	95%	Supera	CDRH1 Desamidación; CDRH3 Isomerización
RQ33-GL-H (TM-YTE)										
RQ33-GL-H-LO1 (TM-YTE)	0.09 (0.23)	107%	0.48 (0.68)		0.00 (0.14)	102%	108%			
RQ40 (TM-YTE)	0.85 (0.00)	93%	3.84 (1.75)	102%	2.14 (1.19)	86%	88%	89%		
RQ40-GL-LH (TM-YTE)	0.71 (0.19)	117%	1.58 (0.52)	96%	1.06 (0.00)	95%	106%	111%	Supera	Oxidación CDRH3
RQ41 (TM-YTE)	1.15 (0.48)	101%	2.34 (1.39)	118%	0.11 (0.18)	94%	97%	89%		
RQ41-GL-LH (TM-YTE)	1.05 (0.23)	108%	2.24 (1.15)	121%	0.05 (0.00)	106%	100%	98%		
RQ41-GL-LH-LO1 (TM-YTE)										
RQ41-LO1 (TM-YTE)										
RQ43 (TM-YTE)	0.13 (0.62)	105%	0.69 (1.34)	111%	0.18 (0.24)	98%	100%	97%	Supera	
RQ43-GL-L (TM-YTE)										

	35	30	25	20	15	10	5			
RQ43-GL-H (TM-YTE)										
RQ43-GL-LH (TM-YTE)	0.09 (0.29)	106%			0.50 (0.00)	100%	86%			
RQ43-GL-LH-LO1 (TM-YTE)										
RQ43-GL-H-LO1 (TM-YTE)	0.59 (0.28)	99%	0.57 (0.66)	102%	0.20 (0.13)	93%	106%	96%	Supera	

Tabla 4

mAb1 (abajo) // mAb2 (derecha)	RQ33	RQ40	RQ41	RQ43
RQ33		Pareja no competidora	Pareja competidora	Pareja no competidora
RQ40	Pareja no competidora		Pareja competidora	Pareja competidora
RQ41	Pareja competidora	Pareja competidora		Pareja competidora
RQ43	Pareja no competidora	Pareja competidora	Pareja competidora	

Tabla 5: Avidencia a los mutantes puntuales RBD

	Valor KD (M)		
mAb	RBD-wt	K444A*	F486A**
RQ33	3.65E-09	3.13E-09	3.28E-09
RQ40	<1.0E-12	<1.0E-12	4.71E-08
RQ43	<1.0E-12	<1.0E-12	<1.0E-12

8.18 EJEMPLO 18: PERFIL DE NEUTRALIZACIÓN DIVERGENTE DE RQ33

RQ33, RQ43-GL-H-LO1, y la combinación (RQ33 + RQ43-GL-H-LO1) se evaluó en ensayos de neutralización para medir su actividad antiviral frente a las variantes preocupantes (VOC) de SARS-CoV-2. Se observó una actividad antivírica dependiente de la dosis, lo que dio lugar a una relación sigmoideal entre la concentración de anticuerpos y el porcentaje de neutralización para la mayoría de los COV. Sin embargo, cuando se midió la neutralización para la variante BA.2.12.1 del auténtico virus SARS-CoV-2, se observó una neutralización negativa (es decir, una infección potenciada) a bajas concentraciones de RQ33 (Figura 3). Esta observación contrastaba con las observaciones realizadas con RQ43-GL-H-LO1 y la combinación (RQ33 + RQ43-GL-H-LO1), en las que las concentraciones bajas de anticuerpo daban lugar a una neutralización baja o nula, pero no a una neutralización negativa (es decir, un aumento de la infección). Esta observación de infección mejorada sólo se observó al ensayar virus BA.2.12.1 auténticos y no se observó utilizando pseudovirus (Figura 4), ni con virus auténticos de otras variantes.

Esta observación de un aumento de la infección del virus BA.2.12.1 auténtico a concentraciones bajas de RQ33 no es coherente con el perfil de producto objetivo para un producto de anticuerpo monoclonal que debería proteger frente a la enfermedad SARS-CoV-2 en el contexto de la profilaxis previa a la exposición. Por lo tanto, se evaluó la combinación de cilgavimab (en lugar de RQ33) con RQ43-GL-H-LO1. Cilgavimab y RQ43-GL-H-LO1 son bioquímicamente compatibles en el sentido de que se demostró que RQ43-GL-H-LO1 no compite con cilgavimab mediante ensayos de competencia Octet utilizando el RBD BA.2 (Figura 5). Esto también se demuestra comparando las huellas de unión de RQ43 (el progenitor de RQ43-GL-H-LO1) y cilgavimab en la superficie RBD (Figura 6). Además, juntos, cilgavimab y RQ43-GL-H-LO1 proporcionan una cobertura amplia y potente de todas las variantes de interés analizadas (Tabla 6).

Tabla 6: Actividad antiviral de RQ43-GL-H-LO1 y cilgavimab contra el SARS-CoV-2 mediante ensayo de neutralización vírica auténtica

Nombre mAb	Neutralización auténtica del virus IC50 (ng/ml)							
	D614 G	Alfa	Delta+T51I+ T95I	BA. 1	BA.1. 1	BA. 2	BA.2.1 2.1	BA. 5
cilgavimab	66	6	14	377 9	>100 00	21	29	131
RQ43-GL-H-LO1	99	60	21	11	7	31	28	17
RQ43-GL-H- LO1+cilgavimab	58	7	24	29	16	18	20	24

Nota: Los valores IC50 de la tabla se calculan a partir de la media de 2 réplicas independientes, cada una por duplicado.

IC50: concentración inhibitoria semimáxima; mAb: anticuerpo monoclonal; SARS-CoV-2: coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave.

5

* * *

La invención no debe limitarse en su alcance por los aspectos aquí descritos. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las descritas, resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas. Se pretende que tales modificaciones estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

10

Todas las referencias (*por ejemplo*, publicaciones o patentes o solicitudes de patentes) aquí citadas se incorporan aquí por referencia en su totalidad y a todos los efectos en la misma medida que si se indicara específica e individualmente que cada referencia individual (*por ejemplo*, publicación o patente o solicitud de patente) se incorpora por referencia en su totalidad a todos los efectos.

15

Algunos aspectos están comprendidos en las reivindicaciones siguientes.

20

25

30

35