

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 954 629**

51 Int. Cl.:

C07K 16/10 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2021** **E 21159353 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2023** **EP 3872091**

54 Título: **Anticuerpos contra SARS-CoV-2**

30 Prioridad:

26.02.2020 US 202062981984 P
27.02.2020 US 202062982661 P
09.03.2020 US 202062987298 P
13.03.2020 US 202062989522 P
16.03.2020 US 202062990369 P
19.03.2020 US 202062992082 P
24.03.2020 US 202062994235 P
27.03.2020 US 202063001204 P
31.03.2020 US 202063003214 P
03.04.2020 US 202063005206 P
15.04.2020 US 202063010589 P
17.04.2020 US 202063011971 P
22.04.2020 US 202063014024 P
12.05.2020 US 202063023788 P
14.05.2020 US 202063025133 P
16.06.2020 US 202063039813 P
24.06.2020 US 202063043653 P
10.07.2020 US 202063050331 P
16.07.2020 US 202063052810 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.11.2023

73 Titular/es:

VIR BIOTECHNOLOGY, INC. (100.0%)
1800 Owens Street Suite 900
San Francisco, CA 94158, US

72 Inventor/es:

LEMP, FLORIAN A.;
TELENTI, AMALIO;
CORTI, DAVIDE;
FINK, KATJA;
BELTRAMELLO, MARTINA;
CAMERONI, ELISABETTA;
PINTO, DORA y
SNELL, GYORGY

74 Agente/Representante:

BUENO FERRÁN, Ana María

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 954 629 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos contra SARS-CoV-2

Antecedentes

- 5 Un nuevo betacoronavirus surgió en Wuhan, China, a finales de 2019. A partir del 19 de febrero de 2021, se confirmaron en todo el mundo aproximadamente 110 millones de casos de infección por este virus (denominado, entre otros nombres, SARS-CoV-2 e identificado originalmente como coronavirus de Wuhan) en todo el mundo, lo que resultó en aproximadamente 2,45 millones de muertes. Son necesarios estudios para prevenir o tratar la infección por SARS-CoV-2 y herramientas de diagnóstico para diagnosticar una infección por SARS-CoV-2.
- 10 Tian X. et al., Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb 17;9(1):382-385 describe un anticuerpo monoclonal específico humano de SARS-CoV, CR3022, que podría unirse al dominio del receptor de unión (RBD) de SARS-CoV-2.
- 15 Breve descripción de las figuras
- Figuras 1A y 1B: muestran la unión de los anticuerpos (1A) S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67) y (1B) S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) de la presente descripción al RBD de SARS-CoV-2 recombinante, como se describe en el Ejemplo 2.
- Figuras 2A y 2B: muestran la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por ciertos anticuerpos de la presente descripción, como se describe en el Ejemplo 4.
- 20 Figuras 3A-3I: muestran la neutralización de la infección por SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 4. La Figura 3A muestra la neutralización por el plasma de un donante sobreviviente de SARS-CoV-1. Las Figuras 3B-3D y 3I muestran la neutralización por sobrenadante de células B que expresan ciertos anticuerpos de la presente descripción. Las Figuras 3E-3H muestran la neutralización por ciertos anticuerpos IgG1 recombinantes.
- 25 Figuras 4A y 4B: muestran la unión del sobrenadante que contiene células B y anticuerpos a la proteína S del SARS-CoV-2 expresado en células ExpiCHO, como se describe en el Ejemplo 1. Los gráficos que muestran los perfiles de unión de los anticuerpos S300-S310 se indican con recuadros.
- Figuras 5A y 5B: muestran la unión de los anticuerpos S311 y S312 al SARS-CoV-1 y al SARS-CoV-2 en el sobrenadante de células B cultivadas, como se describe en el Ejemplo 6. Las concentraciones de anticuerpos son estimaciones. SARS S1 Sino: proteína de Sino Biological. RBD2: RBD de SARS-CoV-2 de producción propia.
- 30 Figuras 6A-6E: muestran (arriba) las curvas de unión de ciertos anticuerpos de la presente descripción para el RBD de SARS-CoV-1 (SARS1) y el RBD de SARS-CoV-2 (SARS2), medidas por Octeto y (abajo) valores KD. Los valores de KD para anticuerpos (p. ej. $<1,0 \times 10^{-12}$ M) con unión muy fuerte y disociación lenta son estimaciones. Estos datos y experimentos se describen con más detalle en el Ejemplo 3.
- Figura 7: muestra la neutralización de la infección por los anticuerpos S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83) y S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), solos o en combinación, contra el virus pseudotipado SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 5.
- 40 Figuras 8A-8K: muestran las curvas de unión de ciertos anticuerpos para RBD de SARS-CoV-1, RBD de SARS-CoV-2 y ectodominios de diversos coronavirus medidos por ELISA. Ver el Ejemplo 8.
- Figura 9: muestra la neutralización de la infección por S309 rIgG1 y (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) y S315 rIgG1 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182) contra el virus SARS-CoV-2 pseudotipado, como se describe en el Ejemplo 7.
- 45 Figura 10: muestra la neutralización de la infección por S309 rIgG1 de longitud completa y S309 rFab (ambos comprenden un VH de SEQ ID NO.:105 y un VL de SEQ ID NO.:168) contra el virus pseudotipado de SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 7.

Figura 11: muestra la unión del anticuerpo S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) a la proteína de la espícula de SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2 expresada en células ExpiCHO, como se describe en el Ejemplo 9. Los histogramas apilados de los gráficos de citometría de flujo muestran la unión dependiente de la dosis de los anticuerpos de S309 a SARS-CoV y SARS-CoV-2.

- 5 Figuras 12A y 12B: muestran la unión dependiente de la concentración medida por citometría de flujo para ciertos anticuerpos, como se describe en el Ejemplo 9. La figura 12A muestra la unión a SARS-CoV-2. La figura 12B muestra la unión a SARS-CoV-1.

- Figura 13: muestra la neutralización de la infección por anticuerpos S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S310 (VH SEQ ID NO.:155; VL SEQ ID NO.:159), y S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182) contra el virus pseudotipado SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 4.
- 10

- Figuras 14A-14D: muestran la afinidad/avidez de unión de los anticuerpos S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), y S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182) a RBD de SARS-CoV-1 (paneles derechos) y de SARS-CoV-2 (paneles izquierdos), como se describe en el Ejemplo 10.
- 15

- Figuras 15A y 15B: muestran la competencia de pares de anticuerpos de la presente descripción por unirse a RBD de SARS-CoV-1 (Figura 15A) y de SARS-CoV-2 (Figura 15B), como se describe en el Ejemplo 12. Para cada gráfico, el eje X muestra el tiempo (0 a 1000 segundos) y el eje Y muestra la unión a RBD medida por BLI (0 a 3 nm). El primer anticuerpo se indica a la izquierda de la matriz y el segundo anticuerpo se indica en la parte superior de la matriz. Las líneas verticales discontinuas de la Figura 15B muestran el cambio del primer anticuerpo al segundo anticuerpo. A la derecha ("I"-IV" en la Figura 15A, "II" y "IV" en la Figura 15B) están los sitios antigénicos determinados por información estructural, análisis de mutantes de escape y agrupación de epítomos basada en BLI.
- 20

- Figura 16: muestra la capacidad de S309 para interferir con RBD de SARS-CoV-1 (izquierda) o de SARS-CoV-2 (derecha) uniéndose a ACE2 humano (hACE2), como se describe en el Ejemplo 13. hACE2 se cargó en sensores BLI, seguido de incubación de los sensores con RBD solo o con RBD en combinación con anticuerpo. La línea discontinua vertical indica el inicio de la asociación de RBD con o sin anticuerpo. En el gráfico de la izquierda, se usó el anticuerpo S230 como control positivo de la inhibición de la unión de RBD de SARS-CoV-1 a ACE2 según estudios previos (véase Walls et al., Cell 176(5): 1023-1039.e15 (2019)).
- 25
- 30

- Figura 17A y 17B: muestran los efectos dependientes de anticuerpos de ciertos anticuerpos de la presente descripción contra células modelo infectadas, como se describe en el Ejemplo 14. La figura 17A muestra la citotoxicidad dependiente de anticuerpos utilizando células efectoras NK primarias y células ExpiCHO que expresan SARS-CoV-2 como células diana. El gráfico de barras de la derecha muestra la ADCC para los anticuerpos indicados, calculada como área bajo la curva (AUC). La Figura 17B muestra la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos utilizando PBMC como células fagocíticas y ExpiCHO que expresa SARS-CoV-2 marcado con PKF67 como células diana. Los gráficos de líneas muestran la intensidad de fluorescencia media (MFI) de las PBMC después de la incubación con células diana y anticuerpos, determinada para un donante representativo con FcγRIIIa de alta afinidad (los símbolos muestran la media ± SD de los duplicados).
- 35

- Figuras 18A-18J: muestran las curvas de unión de ciertos anticuerpos recombinantes para RBD de SARS-CoV-1, RBD de SARS-CoV-2 y ectodominios de varias cepas de coronavirus, medidas por ELISA. Ver el Ejemplo 8. Los mAb recombinantes se analizaron mediante ELISA en un intervalo de concentración de 5 a 0,00028 mg/ml. RBD2: Dominio de unión al receptor del SARS-CoV-2. RBD1: Dominio de unión al receptor del SARS-CoV (también denominado aquí como SARS-CoV-1). Spike: trímero de prefusión estabilizado del coronavirus indicado. Algunos anticuerpos se expresaron de forma recombinante como IgG1 (rlgG1) y algunos anticuerpos se expresaron de forma recombinante como IgG1 con la mutación MLNS (M428L y N434S (numeración de la UE)) en la Fc (rlgG1-LS).
- 40
- 45

- Figuras 19A y 19B: muestran la capacidad de ciertos anticuerpos para interferir con la unión de RBD a ACE2 humana, como se describe en el Ejemplo 13. Se cargó ACE2 humano (hACE2) en sensores BLI, seguido de incubación de los sensores con RBD solo o RBD en combinación con anticuerpo recombinante. La línea discontinua vertical indica el inicio de la carga de RBD con o sin anticuerpo. RBD: Dominio de unión al receptor. La Figura 19A muestra la unión de RBD de SARS-CoV-1 a ACE2. La Figura 19B muestra la unión de RBD de SARS-CoV-2 a ACE2.
- 50

- Figuras 20A y 20B: muestran la afinidad de unión y la avidez del anticuerpo S309 IgG (Figura 20A) frente a S309 Fab (Figura 20B) para RBD de SARS-CoV-1 (parte inferior de cada figura) y RBD de SARS-CoV-2 (parte
- 55

superior de cada figura), como se describe en el ejemplo 10. Tanto para IgG como para Fab: VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168. Se cargó RBD en pines BLI y se midió la asociación de diferentes concentraciones de S309-IgG-MLNS o S309 Fab. Las líneas discontinuas verticales indican el inicio de la fase de disociación cuando los pines BLI se cambiaron a un tampón.

- 5 Figuras 21A-21C: muestran la reactividad de los anticuerpos S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) y S310 (VH SEQ ID NO.:155; VL SEQ ID NO.:159) contra SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 15. La Figura 21A muestra la reactividad de los anticuerpos S304, S306, S309 y S310 contra el lisado extraído con TX100 de células Vero E6 infectadas con SARS-CoV-2. La Figura 21B muestra la reactividad de los mismos anticuerpos
10 contra lisado extraído con SDS de células Vero E6 infectadas con SARS-CoV-2. La Figura 21C muestra la reactividad de suero de convaleciente de SARS-CoV-1 humano frente al lisado extraído con TX100 o extraído con SDS de células Vero E6 infectadas con SARS-CoV-2. Las Figuras 21A y 21B también muestran datos para el anticuerpo comparativo LCA57, que es específico para la proteína de la espícula de MERS-CoV (Corti et al. PNAS 112(33):10473-10478 (2015)).

- 15 Figuras 22A-22D: muestran la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 mediante anticuerpos evaluada mediante inhibición de la expresión de nucleoproteínas (NP) a las 24 y 45 horas posteriores a la infección. Ver el Ejemplo 16. La Figura 22A muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 mediante S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83). La Figura 22B muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 mediante S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168). La Figura 22C muestra la neutralización de la
20 infección por SARS-CoV-2 mediante la combinación de S304 y S309. La figura 22D muestra la neutralización de control de la infección por SARS-CoV-2 mediante el anticuerpo comparativo LCA57, que es específico para la proteína de la espícula de MERS-CoV (Corti et al. PNAS 112(33):10473-10478 (2015)).

- Figura 23: muestra la neutralización de la infección por los anticuerpos S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) y S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182), solos o en combinación, contra el virus
25 pseudotipado SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 5.

- Figuras 24A y 24B: muestran los efectos dependientes de anticuerpos de ciertos anticuerpos de la presente descripción contra células infectadas modelo, como se describe en el Ejemplo 14. La Figura 24A muestra la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) utilizando células efectoras NK primarias y células ExpiCHO que expresan SARS-CoV-2 como células diana. El gráfico muestra el % de muerte
30 de células diana después de incubación con el anticuerpo o con la combinación de anticuerpos que se muestra en la leyenda. La Figura 24B muestra la ADCC para el(los) anticuerpo(s) indicado(s), calculada como área bajo la curva (AUC). Panel izquierdo: AUC determinada usando células FcγRIIIa con genotipo VV; panel derecho: AUC determinada para células FcγRIIIa con genotipo FF o FV.

- Figuras 25A y 25B: muestran otros efectos dependientes de anticuerpos de ciertos anticuerpos de la presente descripción, como se describe en el Ejemplo 14. La Figura 25A muestra la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) utilizando PBMC como células fagocíticas y células ExpiCHO que expresan SARS-CoV-2
35 marcadas con PKF67 como células diana. El gráfico muestra la intensidad de fluorescencia media (MFI) de las PBMC después de la incubación con células diana y anticuerpos, determinada para un donante representativo con alta afinidad para FcγRIIIa (los símbolos muestran la media ± SD de duplicados). La Figura 25B muestra la ADCP para el(los) anticuerpo(s) indicado(s), calculada como área bajo la curva (AUC).

Figura 26: muestra la unión de anticuerpos medida por citometría de flujo. La unión del anticuerpo S309 a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 expresada en células Expi-CHO se detectó con un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia.

- Figura 27: muestra la unión del anticuerpo S309 (marcado como "11" en la clave de la figura) y cuatro variantes
45 diseñadas de S309 (marcadas como "12" a "15", respectivamente) a la proteína S, medida por citometría de flujo. Ver el Ejemplo 9. Los cuatro anticuerpos variantes diseñados son los siguientes: S309 N55Q comprende una mutación N55Q en CDRH2, resultando en una secuencia VH variante (SEQ ID NO: 113) y una secuencia VL de tipo salvaje (SEQ ID NO: 168) de S309; S309 W50F comprende una secuencia de VH variante de W50F (SEQ ID NO: 129) y la secuencia de VL de tipo salvaje (SEQ ID NO: 168) de S309; S309 W105F comprende
50 una secuencia VH variante de W105F (SEQ ID NO: 119) y la secuencia VL de tipo salvaje (SEQ ID NO: 168) de S309; y S309 W50F/G56A/W105F comprende una secuencia VH variante W50F/G56A/W105F (SEQ ID NO: 172) y la secuencia VL de tipo salvaje de S309. En la Figura 27, S309 N55Q está etiquetado como "12", S309 W50F está etiquetado como "13", S309 W105F está etiquetado como "14" y S309 W50F-G56A-W105F está etiquetado como "15". La unión del anticuerpo a la proteína de la espícula del SARS-CoV-2 expresada en
55 células Expi-CHO se detectó con un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia. Se muestran los datos de dos experimentos.

Figura 28: muestra la neutralización de la infección por el anticuerpo S309 (denominado en la figura "Variante-11 (wt)") y cuatro anticuerpos variantes de S309 contra virus pseudotipados de SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 19. En la Figura 28, S309 N55Q está etiquetado como "Variante-12", S309 W50F está etiquetado como "Variante-13", S309 W105F está etiquetado como "Variante-14" y S309 W50F-G56A- W105F está etiquetado como "Variante-15". Los virus pseudotipados son VSV pseudotipados con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2.

Figura 29: muestra un resumen de los resultados de los ensayos de unión y neutralización de pseudovirus para el anticuerpo S309 ("S309-WT") y cuatro variantes diseñadas de S309 ("N55Q"; "W50F"; "W105F"; "W50F/G56A/W105F"). La línea horizontal discontinua muestra el cambio de función de variantes diseñadas frente a la línea de base S309-WT. Las barras sombreadas de forma diferente muestran la unión a RBD glicosilado según se mide mediante SPR, la unión a RBD desglucosilado según se mide mediante SPR, la unión a células que expresan antígenos según se mide mediante FACS y la neutralización según se mide empleando pseudovirus de SARS-CoV-2.

Figuras 30A-30F: muestran la cinética de unión de anticuerpos de ejemplo a RBD glicosilado o desglucosilado de SARS-CoV-2 medida mediante SPR. Ver el Ejemplo 18. Se ensayaron los anticuerpos S309 (con secuencias de aminoácidos VH (SEQ ID NO.:105) y VL (SEQ ID NO.:168) de tipo salvaje S309), S309 N55Q, S309 W50F, S309 W105F y S309 W50F/G56A/W105F. La Figura 30A muestra la cinética de unión del anticuerpo de tipo salvaje S309 (2 réplicas del experimento). La Figura 30B muestra la cinética de unión de S309 N55Q (abajo), en comparación con el anticuerpo de tipo salvaje S309 (arriba). La Figura 30C muestra la cinética de unión de S309 W50F (abajo) en comparación con el anticuerpo de tipo salvaje S309 (arriba). La figura 30D muestra la cinética de unión de S309 W105F (abajo) en comparación con el anticuerpo de tipo salvaje S309 (arriba). La Figura 30E muestra la unión de S309 W50F/G56A/W105F (abajo) en comparación con el anticuerpo de tipo salvaje S309 (arriba). La Figura 30F muestra la unión de S309 W50F/G56A/W105F utilizando un período de inyección de 10 minutos (panel superior) o un período de inyección de 3 minutos (panel inferior).

Figura 31: muestra la activación de FcγRIIIa de alta afinidad (158V) (panel izquierdo) o de baja afinidad (158F) (panel derecho) por los anticuerpos S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) y una combinación de S309 y S315, junto con el anticuerpo comparativo S230. Ver Ejemplo 20. La activación se midió usando células ExpiCHO que expresan S de SARS-CoV-2 como células diana y células reporter Jurkat transfectadas de manera estable con el gen reporter de luciferasa dirigido por NFAT. La activación de FcγRIIIa resulta en la expresión mediada por NFAT del gen reporter de luciferasa. Los resultados son de un experimento, una o dos medidas por mAb.

Figura 32: muestra la activación de FcγRIIIa por anticuerpos de ejemplo S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) y una combinación de S309 y S315, junto con el anticuerpo monoclonal comparativo S230. Ver el Ejemplo 20. La activación se midió usando células ExpiCHO que expresan S de SARS-CoV-2 como células diana y células reporter Jurkat transfectadas de manera estable con el gen reporter de luciferasa dirigido por NFAT. La activación de FcγRIIIa resulta en la expresión mediada por NFAT del gen reporter de luciferasa.

Figuras 33A y 33B: muestran la unión de los anticuerpos S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S310 (VH SEQ ID NO.:155; VL SEQ ID NO.:159) y S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182), junto con los anticuerpos comparativos S110, S230 y S109, contra la proteína S expresada en una superficie celular. Ver el Ejemplo 9. La Figura 33A muestra la unión a células ExpiCHO transfectadas con proteína S de SARS-CoV-2. La Figura 33B muestra la unión a células ExpiCHO transfectadas con proteína S de SARS-CoV-1. La intensidad de fluorescencia media se midió por citometría de flujo para cada anticuerpo. Las concentraciones de anticuerpos analizadas se indican en el eje X.

Figura 34: muestra la neutralización de la infección por los anticuerpos de ejemplo S303 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S310 (VH SEQ ID NO.:155; VL SEQ ID NO.:159) y S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182) contra el virus pseudotipado SARS-CoV-1. Ver el Ejemplo 4.

Figuras 35A y 35B: muestran la conservación de los residuos de la proteína de la espícula, como se describe en el Ejemplo 21. La Figura 35A muestra variantes de la proteína de la espícula con una frecuencia $n > 1$ como esferas mapeadas en la forma cerrada (izquierda) y abierta (derecha) del ectodominio trimérico completo de la espícula. El RBD y otros dominios de la proteína de la espícula se muestran como se indica. Se muestran 40 mutaciones (de un total de 2229). Solo el residuo 367 ($n=8$) está resaltado en el RBD y los residuos 476 ($n=7$)

y 483 (n=17) no lo están. La Figura 35B muestra la prevalencia de variantes en la glicoproteína de la espícula por aminoácido. Cada punto es una variante distinta. Se muestran las ubicaciones del Dominio A y RBD. Las variantes que superan un umbral de frecuencia del 0,1 % son como se indicada.

Figura 36: muestra la neutralización de SARS-CoV-2 -MLV por el anticuerpo S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) combinado con una cantidad equimolar del anticuerpo S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.: 83). Para cócteles de anticuerpos, la concentración mostrada en el eje X es la de los anticuerpos individuales. Ver el Ejemplo 4.

Figura 37: muestra la neutralización de SARS-CoV2-MLV por S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) combinado con una cantidad equimolar del anticuerpo S315 (VH SEQ ID NO.:178; VL SEQ ID NO.:182). Para cócteles de anticuerpos, la concentración mostrada en el eje X es la de los anticuerpos individuales. Ver el Ejemplo 4.

Figuras 38A-38D: muestran la unión de ciertos anticuerpos a RBD de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1, como se describe en el Ejemplo 6. Los anticuerpos se expresaron de forma recombinante y la unión se ensayó mediante ELISA. Se recubrieron placas ELISA de 96 pocillos con RBD de SARS-CoV-2 (producción propia; residuos 331-550 de la proteína de la espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947) a 10 µg/ml y con RBD de SARS-CoV-1 (Sino Biological, 40150-V08B1) a 1 µg/ml. Después de bloquear con 1% de BSA en PBS, se añadieron anticuerpos a las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante una hora. Las placas se lavaron y se añadió el anticuerpo secundario IgG-AP antihumano de cabra (Southern Biotechnology, 2040-04). Se usó el sustrato p-nitrofinilfosfato (pNPP, Sigma-Aldrich, 337 71768) para el desarrollo del color. La DO405 se analizó en un lector de placas ELx808IU (Biotek). El panel izquierdo de cada figura muestra la unión a RBD SARS-CoV-2 y el panel derecho muestra la unión a RBD SARS-CoV-1.

Figuras 39A y 39B: muestran la unión de ciertos anticuerpos a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1, como se describe en el Ejemplo 9. Se transfectaron células Expi-CHO transitoriamente con phCMV1-SARS-CoV-2 -S, SARS-spike-pcDNA.3 (cepa SARS) o phCMV1 vacío usando Expifectamine CHO Enhancer. Dos días después de la transfección, se recolectaron las células para inmunotinción con anticuerpos. Para la detección se utilizó un anticuerpo secundario FC anti-IgG marcado con Alexa647. La unión de los anticuerpos a las células transfectadas se analizó por citometría de flujo utilizando un analizador de células ZE5 (BioRad). La Figura 39A muestra la unión del anticuerpo recombinante S300 (VH SEQ ID NO.:1; VL: SEQ ID NO.:5). La Figura 39B muestra la unión del anticuerpo recombinante S307. Los símbolos muestran los valores de una sola medida. El panel izquierdo de cada figura muestra los datos como % de células positivas y el panel derecho muestra los datos como intensidad de fluorescencia media (MFI).

Figuras 40A y 40B: muestran la unión de anticuerpos de ejemplo a glicoproteínas S de SARS-CoV-2 (Figura 40A) o SARS-CoV-1 (Figura 40B) expresadas en la superficie de células ExpiCHO, como se describe en el Ejemplo 9. Los símbolos son la media de duplicados a partir de un experimento.

Figuras 41A y 41B: muestran la afinidad de unión y la avidéz de S309 IgG (Figura 41A) y S309 Fab (Figura 41B) para RBD de SARS-CoV-2 (panel superior) o la proteína espícula de SARS-CoV-2 (panel inferior). Tanto para IgG como para Fab: VH SEQ ID NO.:105 y VL SEQ ID NO.:168. Ver el Ejemplo 11. El RBD biotinilado de SARS-CoV-2 o el trímero de ectodominio S de prefusión de SARS-CoV-2 biotinilado se cargaron en biosensores de estreptavidina y se midió la asociación con diferentes concentraciones de S309-IgG-MLNS (que comprende las mutaciones M428L y N434S Fc (numeración de la UE)) o S309 Fab. Las líneas discontinuas verticales indican el inicio de la fase de disociación cuando los biosensores se cambiaron a un tampón.

Figuras 42A y 42B: muestran la unión de los anticuerpos S303, S304, S306, S309, S310 y S315, junto con los anticuerpos comparativos S110, S124, S230 y S109, a la proteína S expresada en una superficie celular. Ver el Ejemplo 9. La figura 42A muestra la unión a células ExpiCHO transfectadas con proteína S de SARS-CoV-2. La Figura 42B muestra la unión a células ExpiCHO transfectadas con proteína S de SARS-CoV-1. La intensidad de fluorescencia media se midió por citometría de flujo para cada anticuerpo. Las concentraciones de anticuerpos analizadas se indican en el eje X.

Figura 43: muestra la conservación de los residuos de la proteína de la espícula, como se describe en el Ejemplo 21. Variantes de la proteína de la espícula se soportaron en al menos dos secuencias indicadas como esferas mapeadas en forma cerrada (izquierda) y abierta (derecha) del ectodominio de la espícula trimérico completo. El RBD y otros dominios de la proteína de la espícula se muestran como se indica. Se muestran 171 variantes (de un total de 11.839 secuencias de la proteína de la espícula analizadas).

Figuras 44A-44C: muestran la selección de resistencia del SARS-CoV-2, como se describe en el Ejemplo 23. La Figura 44A es un diagrama de flujo que muestra un método para la selección de resistencia. La figura 44B es una línea de tiempo que muestra el procedimiento utilizado para cada paso del proceso de selección de

resistencia. La Figura 44C muestra los resultados de la selección de SARS-CoV-2 resistente al anticuerpo S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende un VH según la SEQ ID NO.:113 y un VL según la SEQ ID NO.:168, con las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S en la Fc (numeración UE).

Figura 45: muestra la citotoxicidad dependiente de anticuerpos de ciertos anticuerpos de la presente descripción utilizando células NK primarias como células efectoras y células ExpiCHO que expresan SARS-CoV-2 como células diana. Ver el Ejemplo 14. El gráfico muestra el porcentaje de eliminación de células diana después de incubación con anticuerpos S309 LS (también denominado aquí S309 MLNS), S309 GRLR (G236R/L328R; variante de unión sin FcR) o S309 LS GAALIE (también denominado aquí S309 MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)).

Figura 46: muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 en células de pulmón humano Calu-3 y células VeroE6 por el anticuerpo S309 N55Q MLNS, como se describe en el Ejemplo 24.

Figura 47: muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por el anticuerpo S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), según se detecta en el ensayo de nano luciferasa. Ver el Ejemplo 25. El eje X muestra la concentración de anticuerpos. Las tres curvas representan ensayos que utilizan tres concentraciones virales diferentes en unidades MOI (multiplicidad de infección), como se muestra en la Figura clave de la derecha. Los datos se recopilaron seis horas después de la infección con el virus SARS-CoV-2. Los valores IC50 calculados para cada MOI se muestran en los recuadros debajo del gráfico.

Figuras 48A y 48B: muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por el anticuerpo S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) analizado por IFA (ensayo de anticuerpos de inmunofluorescencia). Ver el Ejemplo 25. Los datos se recopilaron seis horas después de la infección con el virus SARS-CoV-2. La Figura 48A muestra fotografías de pocillos representativos en los que los núcleos celulares se tiñeron de azul y la nucleocápside del SARS-CoV-2 se tiñó de rojo, apareciendo más brillante en las fotografías. Cada punto rojo en cada imagen representa una célula infectada individual. La neutralización de la infección por el anticuerpo S309 se puede observar como una disminución del número de puntos brillantes, que indican las células infectadas, a medida que aumenta la concentración de S309. Las concentraciones de anticuerpos se muestran en la parte superior y las concentraciones virales en unidades MOI (multiplicidad de infección) se muestran a la izquierda. La Figura 48B muestra datos cuantificados del ensayo IFA. Los valores IC50 calculados para cada MOI se muestran en los recuadros debajo del gráfico.

Figura 49: muestra la neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por los anticuerpos S309 N55Q LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprenden mutaciones M428L/N434S Fc (numeración de la UE)) y S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)). Ver el Ejemplo 26. Cada uno de S309 N55Q LS y S309 N55Q LS GAALIE comprende un VH con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:113 y un VL con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:168. Los datos representan la media de cuadruplicados $\pm$ desviación estándar. El gráfico que se muestra es representativo de tres experimentos independientes.

Figuras 50A y 50B: muestran la neutralización de la infección por virus pseudotipados de SARS-CoV-2 utilizando anticuerpos S309 N55Q LS (también denominados aquí S309 N55Q MLNS, que comprenden mutaciones M428L/N434S Fc (numeración de la UE)) (Figura 50A) y S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración UE)) (Figura 50B). Ver el Ejemplo 27. Los virus pseudotipados son VSV pseudotipados con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2. Los datos representan la media de duplicados $\pm$ desviación estándar. Cada gráfico que se muestra es representativo de cuatro experimentos independientes.

Figuras 51A y 51B: muestran la unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS (Figura 51A) y S309 N55Q MLNS GAALIE (Figura 51B) al RBD de SARS-CoV-2, medida por resonancia de plasmón superficial (SPR). Ver el Ejemplo 28. Los valores son de dos experimentos independientes.

Figuras 52A y 52B: muestran la unión de los anticuerpos S309 N55Q LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc (numeración de la UE)) (Figura 52A) y S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)) (Figura 52B) a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 expresada en la superficie celular, medida por citometría de flujo. Ver el Ejemplo 29. Los datos se expresan como porcentaje de células identificadas como positivas para la unión de anticuerpos. Los resultados mostrados son de un experimento y representativos de tres experimentos individuales independientes realizados.

Figura 53: muestra la unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE a FcγRIIIa humano (alelo R131 de baja afinidad y H131 de alta afinidad), FcγRIIIa (alelo F158 de baja afinidad y V158 de alta afinidad) y FcγRIIb, usando SPR. Ver el Ejemplo 30. Los FcγR purificados biotinilados se capturaron en la superficie del chip sensor antes de la inyección del anticuerpo. Los perfiles de asociación y disociación (separados por la línea de puntos vertical en cada gráfico) se midieron en tiempo real como cambio en la señal SPR.

Figura 54: muestra la unión de anticuerpos S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc), S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc (numeración de la UE)), y S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)) para complementar el componente C1q, medido por BLI en un instrumento Octet. Ver el Ejemplo 31. Los perfiles de asociación y disociación (separados por la línea de puntos vertical en el gráfico) se midieron en tiempo real como cambio en el patrón de interferencia.

Figuras 55A-55D: muestran la activación *in vitro* de FcγR humanos por los anticuerpos S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc), S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc) (numeración de la UE) y S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)), junto con el anticuerpo de control negativo S309 GRLR. Ver el Ejemplo 32. Las células CHO transfectadas de manera estable con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 sirvieron como dianas de anticuerpos. Se incubaron diluciones seriadas del anticuerpo con las células diana a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se resuspendieron células efectoras Jurkat que expresan el FcγR indicado y diseñadas con un indicador de luciferasa mediado por NFAT en tampón de ensayo y luego se agregaron a las placas de ensayo. Después de incubación a 37 °C durante 18 horas, se añadió el reactivo de ensayo de luciferasa Bio-Glo™ (Promega) y se cuantificó la luminiscencia con un luminómetro (Bio-Tek). Los gráficos muestran la activación de FcγRIIIa humano (arriba a la izquierda), FcγRIIb (arriba a la derecha), FcγRIIIa alelo F158 de baja afinidad (abajo a la izquierda) y FcγRIIb alelo V158 de alta afinidad (abajo a la derecha). Los datos mostrados son medias±desviación estándar de los duplicados.

Figuras 56A y 56B: muestran *in vitro* la muerte mediada por células NK (ADCC) de células que expresan la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 en presencia de anticuerpos S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc), S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc (numeración de la UE)), o S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)), o el anticuerpo de control S309 GRLR. Ver el Ejemplo 33. Se incubaron diluciones en serie de anticuerpo (diluidas en serie 10 veces en medio AIM-V de 40.000 ng/ml a 0,075 ng/ml) con células CHO-CoV-2 Spike durante 10 minutos antes de mezclarlas con células NK durante 4 horas. Las células NK se aislaron recientemente de dos donantes previamente genotipados para la expresión homocigótica de baja afinidad (F/F158; Figura 56A) o alta afinidad (V/V158; Figura 56B). La ADCC se midió utilizando el ensayo de liberación de LDH. Los datos mostrados son medias±desviación estándar de cuadruplicados.

Figura 57: muestra la fagocitosis mediada por monocitos (ADCP) *in vitro* de células que expresan la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 en presencia de los anticuerpos S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 MLNS, que comprende mutaciones M428L/N434S Fc), S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168) LS (también denominado aquí S309 N55Q MLNS, que comprende M428L y mutaciones N434S Fc (numeración de la UE)) o S309 N55Q LS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc (numeración de la UE)), o el anticuerpo de control S309 GRLR. Ver el Ejemplo 33. Los anticuerpos se incubaron con células CHO-CoV-2-Spike marcadas con PKH67 recién aisladas, durante 10 minutos, antes de mezclarlas con PBMC marcado con trazas de violeta. La actividad de ADCP se midió después de la incubación durante la noche mediante citometría de flujo como porcentaje de monocitos CD14+ que eran doblemente positivos para PKH67 y las células de PBMC etiquetadas con trazas de violeta. Los datos mostrados son medias±desviación estándar de los duplicados.

Figuras 58A y 58B: muestran que el anticuerpo S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) inhibe la fusión célula-célula mediada por la proteína de la espícula de SARS-CoV-2. Ver el Ejemplo 34. La Figura 58A muestra micrografías de células diseñadas para sobreexpresar la proteína Spike de SARS-CoV-2 en presencia (panel inferior) o ausencia (panel superior) de S309. La Figura 58B muestra los datos cuantificados del ensayo de inhibición de la fusión a varias concentraciones de anticuerpo.

- Figura 59: proporciona datos de un ensayo de unidades formadoras de colonias (FFU) que muestran que los anticuerpos variantes S309 N55Q no provocan una mejora mediada por anticuerpos de la replicación de SARS-CoV-2 en células dendríticas o PBMC derivadas de donantes humanos. Ver el Ejemplo 35.
- 5 Figura 60: muestra la expresión (inmunofluorescencia) de los transgenes DC-SIGN/L-SIGN, DC-SIGN y ACE2 en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar la proteína indicada. Ver el Ejemplo 37.
- Figura 61: muestra los niveles de infección por pseudovirus VSV en células HEK293T de tipo salvaje y en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN o ACE2. El pseudovirus expresó una proteína de recombinante de la espícula de SARS-CoV-2 con reporter de luciferasa. Ver el Ejemplo 37.
- 10 Figura 62: muestra la neutralización por el anticuerpo monoclonal S309 (VH de SEQ ID NO.:105, VL de SEQ ID NO.:168) de la infección por pseudovirus VSV en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN o ACE2. En este ejemplo, el anticuerpo S309 incluye las mutaciones M428L y N434S Fc (numeración de la UE). Ver el Ejemplo 37.
- 15 Figura 63: muestra los niveles de infección por SARS-CoV-2 vivo en células HEK293T de tipo salvaje y en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN o ACE2. La infección se determinó utilizando una proteína S recombinante con reporter de luciferasa. Ver el Ejemplo 37.
- Figura 64: muestra la neutralización por ejemplo del anticuerpo monoclonal S309 (VH de SEQ ID NO.:105, VL de SEQ ID NO.:168) de infección viva por SARS-CoV-2 en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN, o ACE2. En este ejemplo, el anticuerpo S309 incluye las mutaciones M428L y N434S Fc (numeración de la UE). Ver el Ejemplo 37.
- 20 Figura 65: muestra la expresión (inmunofluorescencia) de los transgenes L-SIGN, DC-SIGN, SIGLEC1 y ACE2 en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar la(s) proteína(s) indicada(s). Ver el Ejemplo 37.
- Figura 66: muestra los niveles de infección por SARS-CoV-2 vivo en células HEK293T de tipo salvaje y en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2. La infección se determinó utilizando una proteína S recombinante con reporter de luciferasa. Ver el Ejemplo 37.
- 25 Figura 67: muestra la neutralización por ejemplo del anticuerpo monoclonal S309 (VH de SEQ ID NO.:105, VL de SEQ ID NO.:168) de la infección viva por SARS-CoV-2 en células HEK293T diseñadas para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2. En este ejemplo, el anticuerpo S309 incluye las mutaciones M428L y N434S Fc (numeración de la UE). Ver el Ejemplo 37.
- 30 Figuras 68A y 68B: muestran el análisis de expresión de proteínas receptoras que incluyen CD209 (DC-SIGN) y proteínas SIGLEC en varios tipos de células. El tamaño del punto se correlaciona con el porcentaje de células del tipo indicado que expresan la proteína y la intensidad del sombreado del punto se correlaciona con el nivel de expresión de la proteína. Ver el Ejemplo 37.
- Figura 69: muestra la infección por SARS-CoV-2 vivo que expresa N-luciferasa en células HEK293T ("parentales") o células HEK293T que expresan de manera estable DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2. Los datos representan experimentos que ensayan SARS-CoV-2 en tres multiplicidades de infección (MOI). Ver el Ejemplo 37.
- 35 Figura 70: muestra la infección por VSV seudotipado de SARS-CoV-2 en células HEK293T, células HeLa y células MRC5 transducidas transitoriamente con lentivirus para expresar DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2. Las células no infectadas se muestran como control negativo. Ver el Ejemplo 37.
- 40 Figuras 71A y 71B: muestran la unión (medida por interferometría de biocapa) de S309, S309 N55Q MLNS, S309 N55Q MLNS GAALIE (Figura 71A) y los anticuerpos comparativos REGN10933 y REGN10987 (Figura 71B) a WT y variantes mutadas de RBD. Ver el Ejemplo 39.
- Figura 72: muestra la neutralización de SARS-CoV-2 ("WT" = Wuhan-Hu-1; "UK" = SARS-CoV-2 variante B.1.1.7; y "SA" = variante B.1.351) pseudovirus MLV en células Vero-E6 por anticuerpos S309, como se describe en el Ejemplo 39. También se evaluaron los anticuerpos comparativos REGN10987, REGN10933 y la combinación de REGN10987 + REGN10933.
- 45 Figuras 73A-73D: muestran que S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) proporciona una protección sólida *in vivo* contra el desafío de SARS-CoV-2. Se inyectó a hámsteres sirios la cantidad indicada de mAb 48 horas antes del desafío intranasal con SARS-CoV-2. (A) Cuantificación de ARN viral en los pulmones 4 días después de la infección. (B) Cuantificación del virus replicante en homogeneizados de pulmón recolectados 4
- 50

días después de la infección usando un ensayo TCID50. (C) La puntuación histológica del tejido pulmonar se evaluó 4 días después de la infección. (D) La concentración de mAb medida en suero antes de la infección (día 0) se correlaciona inversamente con la carga de ARN viral en el pulmón 4 días después de la infección. Ver el Ejemplo 38.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Se proporcionan aquí anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que son capaces de unirse a SARS-CoV-2 (p. ej. una glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 y/o RBD, como se describe aquí, en un virión de SARS-CoV-2 y/o expresado en la superficie de una célula huésped, tal como una célula infectada por SARS-CoV-2). Específicamente, se proporciona un anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad (CDR) H1 indicada en la SEQ ID NO.:106, la secuencia de aminoácidos CDRH2 indicada en la SEQ ID NO.:121, y la secuencia de aminoácidos CDRH3 indicada en la SEQ ID NO.:108, y un dominio de variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos CDRL1 indicada en la SEQ ID NO.:169, la secuencia de aminoácidos CDRL2 indicada en la SEQ ID NO.:170 y la secuencia de aminoácidos CDRL3 indicada en la SEQ ID NO.:171, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie (S) de SARS-CoV-2. Una célula huésped puede ser, por ejemplo, una célula de pulmón o una célula CHO (tal como, por ejemplo, una célula ExpiCHO transfectada para expresar la glicoproteína de superficie). En determinadas realizaciones, los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno pueden neutralizar una infección por SARS-CoV-2 en un modelo de infección *in vitro*. También se proporcionan el uso de los anticuerpos para tratar (p. ej. reducir, retrasar, eliminar o prevenir) una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto.

Antes de exponer esta descripción con más detalle, puede ser útil para su comprensión proporcionar definiciones de ciertos términos que se utilizarán en este documento.

Se establecen definiciones adicionales a lo largo de esta descripción.

Tal como se usa aquí, "SARS-CoV-2", también denominado aquí "coronavirus de Wuhan" o "virus de la neumonía del mercado de mariscos de Wuhan" o "Wuhan CoV", o "nuevo CoV" o "nCoV" o "2019 nCoV" o "Wuhan nCoV", es un betacoronavirus que se cree que es del linaje B (sarbecovirus). El SARS-CoV-2 se identificó por primera vez en Wuhan, provincia de Hubei, China, a fines de 2019 y se propagó dentro de China y a otras partes del mundo a principios de 2020. Los síntomas del SARS-CoV-2 incluyen fiebre, tos seca y disnea.

La secuencia genómica del SARS-CoV-2 aislado Wuhan-Hu-1 se proporciona en la SEQ ID NO.:163 (ver también GenBank MN908947.3, 23 de enero de 2020) y la traducción de aminoácidos del genoma se proporciona en la SEQ ID NO.:164 (ver también GenBank QHD43416.1, 23 de enero de 2020). Al igual que otros coronavirus (p. ej. SARS CoV), el SARS-CoV-2 comprende una glicoproteína transmembrana tipo I de "espícula" o superficie ("S") que contiene un dominio de unión al receptor (RBD). Se cree que RBD media la entrada del coronavirus SARS de linaje B en las células epiteliales respiratorias mediante su unión al receptor de superficie celular-enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). En particular, se cree que un motivo de unión al receptor (RBM) en el RBD del virus interactúa con ACE2.

La secuencia de aminoácidos de la glicoproteína de superficie (S) del SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 se proporciona en la SEQ ID NO.:165. Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno de la presente descripción son capaces de unirse a una glicoproteína (S) de superficie del SARS CoV-2, tal como la de Wuhan-Hu-1. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a un epítipo en la proteína S RBD de Wuhan-Hu-1.

La secuencia de aminoácidos de SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 RBD se proporciona en la SEQ ID NO.:166. La proteína S de SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 tiene aproximadamente un 73 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la proteína S de SARS-CoV. La secuencia de aminoácidos de SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 RBM se proporciona en la SEQ ID NO.:167. El SARS-CoV-2 RBD tiene aproximadamente un 75 % a un 77 % de similitud en la secuencia de aminoácidos con el RBD del coronavirus SARS y el SARS-CoV-2 Wuhan Hu-1RBM tiene aproximadamente un 50 % de similitud en la secuencia de aminoácidos con el RBM del coronavirus SARS.

A menos que se indique lo contrario en el presente documento, SARS-CoV-2 Wuhan Hu-1 se refiere a un virus que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en uno o más de las SEQ ID NO.:164, 165 y 166, opcionalmente con la secuencia genómica establecida en la SEQ ID NO.:163.

Existe una serie de variantes emergentes del SARS-CoV-2. Algunas variantes de SARS-CoV-2 contienen una mutación N439K, que ha mejorado la afinidad de unión al receptor ACE2 humano (Thomson, E.C., et al., The circulating SARSCoV2 spike variant N439K maintains fitness while evading antibody-mediated immunity. bioRxiv, 2020). Algunas variantes del SARS-CoV-2 contienen una mutación N501Y, que se asocia con una mayor transmisibilidad, incluidos los linajes R1.1.7 (también conocidos como 20I/501Y.V1 y VOC 202012/01; (del69-70, del144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A y mutaciones D1118H)) y B.1.351 (también conocidas como mutaciones 20H/501Y.V2; L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G y A701V), que fueron descubiertos en Reino Unido y Sudáfrica respectivamente (Tegally, H., et al., Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv, 2020: p. 2020.12.21.20248640; Leung, K., et al., Early empirical assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, October to November 2020. medRxiv, 2020: p. 2020.12.20.20248581). B.1.351 también incluye otras dos mutaciones en el dominio RBD de la proteína espícula de SARS-CoV2, K417N y E484K (Tegally, H., et al., Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv, 2020: p. 2020.12.21.20248640). Otras variantes de SARS-CoV-2 incluyen el linaje B.1.1.28, que fue informado por primera vez en Brasil; la Variante P.1, linaje B.1.1.28 (también conocida como 20J/501Y.V3), que fue informada por primera vez en Japón; la Variante L452R, que fue informada por primera vez en California, Estados Unidos (Pan American Health Organization, Epidemiological update: Occurrence of variants of SARS-CoV-2 in the Americas, 20 de enero de 2021, disponible en reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/2021-jan-20-phe-epi-update-SARS-CoV-2.pdf). Otras variantes de SARS-CoV-2 incluyen SARS CoV-2 clado 19A; SARS CoV-2 clado 19B; CoV-2 clado 20A; SARS CoV-2 clado 20B; SARS CoV-2 clado 20C; SARS CoV-2 clado 20D; SARS CoV-2 clado 20E (EU1); SARS CoV-2 clado 20F; SARS CoV-2 clado 20G; y SARS CoV-2 B 1.1.207; y otros linajes de SARS CoV-2 descritos en Rambaut, A., et al., A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat Microbiol 5, 1403-1407 (2020).

En la presente descripción, se debe entender que cualquier rango de concentración, rango de porcentaje, rango de relación o rango de números enteros incluye el valor de cualquier número entero dentro del rango indicado y, cuando corresponda, fracciones del mismo (como una décima y una centésima de un entero), a menos que se indique lo contrario. Además, se debe entender que cualquier rango de números aquí mencionado en relación con cualquier característica física, como subunidades de polímero, tamaño o espesor, incluye cualquier número entero dentro del rango mencionado, a menos que se indique lo contrario. Tal como se usa aquí, el término "aproximadamente" significa $\pm 20\%$ del rango, valor o estructura indicados, a menos que se indique lo contrario. Debe entenderse que los términos "un" y "una" como se usan aquí se refieren a "uno o más" de los componentes enumerados. El uso de la alternativa (por ejemplo, "o") debe entenderse como una, ambas o cualquier combinación de las alternativas. Tal como se usa aquí, los términos "incluyen", "tienen" y "comprenden" se usan como sinónimos, siendo los términos y variantes de los mismos interpretados como no limitativos.

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

Además, debe entenderse que los constructos individuales o grupos de constructos derivados de las diversas combinaciones de estructuras y subunidades aquí descritas se describen en la presente solicitud en la misma medida que si cada constructo o grupo de constructos se estableciera individualmente. Por tanto, la selección de estructuras particulares o subunidades particulares está dentro del alcance de la presente descripción.

El término "que consiste esencialmente en" no es equivalente a "comprende" y se refiere a los materiales o pasos especificados de una reivindicación o a aquellos que no afectan materialmente a las características básicas de un objeto reivindicado. Por ejemplo, un dominio, región o módulo de proteína (p. ej. un dominio de unión) o una proteína "consiste esencialmente en" una secuencia de aminoácidos particular cuando la secuencia de aminoácidos de un dominio, región, módulo o proteína incluye extensiones, deleciones, mutaciones o combinaciones de éstos (p. ej. aminoácidos en los extremos amino o carboxi o entre dominios) que, en combinación, contribuyen como máximo al 20 % (p. ej. como máximo al 15 %, 10 %, 8 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de la longitud de un dominio, región, módulo o proteína y no afecta esencialmente (es decir, no reduce la actividad en más del 50 %, tal como no más del 40 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 % o 1 % de la actividad de los dominios, regiones, módulos o proteínas (por ejemplo, la afinidad de unión a la diana de una proteína de unión).

Tal como se usa aquí, "aminoácido" se refiere a aminoácidos sintéticos y de origen natural, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos naturales son aquellos codificados por el código genético, así como aquellos aminoácidos se modifican posteriormente, por ejemplo hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los

análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, es decir, un carbono α unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo homoserina, norleucina, metionina sulfóxido, metionina metil sulfonio. Dichos análogos tienen grupos R modificados (p. ej. norleucina) o estructuras peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido natural. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos químicos que tienen una estructura diferente a la estructura química general de un aminoácido pero que funciona de manera similar a un aminoácido natural.

Tal como se usa en el presente documento, "mutación" se refiere a un cambio en la secuencia de una molécula de ácido nucleico o molécula polipeptídica en comparación con una molécula de ácido nucleico o molécula polipeptídica de referencia o de tipo salvaje, respectivamente. Una mutación puede dar como resultado varios tipos diferentes de cambios en la secuencia, incluyendo sustitución, inserción o eliminación de nucleótidos o aminoácidos.

Una "sustitución conservadora" se refiere a sustituciones de aminoácidos que no afectan o alteran significativamente las características de unión de una proteína particular. Generalmente, las sustituciones conservadoras son aquellas donde un residuo aminoácido sustituido se reemplaza por un residuo aminoácido con una cadena lateral similar. Sustituciones conservadoras incluyen una sustitución de uno de los siguientes grupos: Grupo 1: Alanina (Ala o A), Glicina (Gly o G), Serina (Ser o S), Treonina (Thr o T); Grupo 2: Ácido aspártico (Asp o D), Ácido glutámico (Glu o Z); Grupo 3: Asparagina (Asn o N), Glutamina (Gln o Q); Grupo 4: Arginina (Arg o R), Lisina (Lys o K), Histidina (His o H); Grupo 5: Isoleucina (Ile o I), Leucina (Leu o L), Metionina (Met o M), Valina (Val o V); y Grupo 6: Fenilalanina (Phe o F), Tirosina (Tyr o Y), Triptófano (Trp o W). Adicional o alternativamente, los aminoácidos se pueden agrupar en grupos de sustitución conservadores por su función, estructura química o composición similar (por ejemplo ácido, básico, alifático, aromático o que contiene azufre). Por ejemplo, una agrupación alifática puede incluir, con fines de sustitución, Gly, Ala, Val, Leu e Ile. Otros grupos de sustituciones conservadoras incluyen: contienen azufre: Met y cisteína (Cys o C); ácido: Asp, Glu, Asn y Gln; pequeños residuos alifáticos, no polares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr, Pro y Gly; residuos polares cargados negativamente y sus amidas: Asp, Asn, Glu y Gln; residuos polares cargados positivamente: His, Arg y Lys; grandes residuos alifáticos no polares: Met, Leu, Ile, Val y Cys; y grandes residuos aromáticos: Phe, Tyr y Trp. Se puede encontrar información adicional en Creighton (1984) *Proteins*, W.H. Freeman and Company.

Tal como se usa aquí, "proteína" o "polipéptido" se refiere a un polímero de residuos aminoácidos. Las proteínas se aplican a polímeros de aminoácidos de origen natural, así como a polímeros de aminoácidos donde uno o más residuos aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, y polímeros de aminoácidos de origen no natural. También se contemplan variantes de proteínas, péptidos y polipéptidos de esta descripción. Variantes de proteínas, péptidos y polipéptidos pueden comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 99,9 % idéntica a una secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos definida o de referencia como se describe aquí.

"Molécula de ácido nucleico" o "polinucleótido" o "ácido polinucleico" se refiere a un compuesto polimérico que incluye nucleótidos unidos covalentemente, que pueden estar formados por subunidades naturales (por ejemplo bases purina o pirimidina) o subunidades no naturales (por ejemplo un anillo morfolina). Las bases de purina incluyen adenina, guanina, hipoxantina y xantina y las bases de pirimidina incluyen uracilo, timina y citosina. Las moléculas de ácido nucleico incluyen ácido polirribonucleico (ARN), incluyendo ARNm, microARN, siARN, ARN genómico viral y ARN sintético, y ácido polidesoxirribonucleico (ADN), incluyendo ADNc, ADN genómico y ADN sintético, cualquiera de ellos de hebra simple o doble. Si es monocatenario, la molécula de ácido nucleico puede ser la cadena codificante o la no codificante (antisentido). Una molécula de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos incluye todas las secuencias de nucleótidos que codifican la misma secuencia de aminoácidos. Algunas versiones de las secuencias de nucleótidos también pueden incluir intrones en la medida en que los intrones se eliminarían mediante mecanismos transcripcionales o postranscripcionales. En otras palabras, diferentes secuencias de nucleótidos pueden codificar la misma secuencia de aminoácidos como resultado de la redundancia o degeneración del código genético, o por corte y empalme.

También se contemplan variantes de moléculas de ácido nucleico de esta descripción. Las moléculas variantes de ácido nucleico son al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, y preferiblemente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 99,9 % idénticas a una molécula de ácido nucleico de un polinucleótido definido o de referencia como se describe en el presente documento o que hibridan a un polinucleótido en condiciones de hibridación estrictas en cloruro de sodio 0,015 M, citrato de sodio 0,0015 M, a 65-68 °C, o cloruro de sodio 0,015 M, citrato de sodio 0,0015 M y formamida al 50 %, a 42 °C. Las variantes de moléculas de ácido nucleico retienen la capacidad de codificar un dominio de unión de las mismas con una funcionalidad tal como la aquí descrita, tal como la unión a una molécula diana.

"Porcentaje de identidad de secuencia" se refiere a una relación entre dos o más secuencias, según se determina por comparación de las secuencias. Los métodos preferidos para determinar la identidad de la secuencia están diseñados para dar la mejor coincidencia entre las secuencias que se comparan. Por ejemplo, las secuencias se alinean para fines de comparación óptimos (p. ej. se pueden introducir huecos en uno o ambos de un primer y segundo aminoácido o secuencia de ácido nucleico para un alineamiento óptimo). Además, las secuencias no homólogas pueden descartarse con fines de comparación. El porcentaje de identidad de secuencia al que se hace referencia aquí se calcula sobre la longitud de la secuencia de referencia, a menos que se indique lo contrario. Métodos para determinar la identidad y la similitud de secuencias se pueden encontrar en programas informáticos disponibles públicamente. Los alineamientos de secuencias y los cálculos de porcentaje de identidad se pueden realizar utilizando un programa BLAST (p. ej. BLAST 2.0, BLASTP, BLASTN o BLASTX). El algoritmo matemático utilizado en los programas BLAST se puede encontrar en Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997. Dentro del contexto de esta descripción, se entenderá que cuando se utiliza software de análisis de secuencias para el análisis, los resultados del análisis se basan en los "valores predeterminados" del programa al que se hace referencia. "Valores predeterminados" se refiere a cualquier conjunto de valores o parámetros cargados originalmente en el software cuando se inicializa por primera vez.

El término "aislado" significa que el material se extrae de su entorno original (p. ej. del entorno natural si es natural). Por ejemplo, no se aísla un ácido nucleico o polipéptido natural presente en un animal vivo, sino que se aísla el mismo ácido nucleico o polipéptido separado de algunos o todos los materiales coexistentes en el sistema natural. Dicho ácido nucleico podría ser parte de un vector y/o dicho ácido nucleico o polipéptido podría ser parte de una composición (p. ej. un lisado celular) y aun así aislarse en el sentido de que dicho vector o composición no es parte del entorno natural para el ácido nucleico o polipéptido. "Aislado", en algunos aspectos, puede también describir un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno, un polinucleótido, un vector, una célula huésped o una composición que está fuera del cuerpo humano.

El término "gen" significa el segmento de ADN o ARN implicado en la producción de una cadena polipeptídica; en ciertos contextos, incluye regiones que preceden y siguen a la región de codificación (p. ej. región 5' no traducida (UTR) y 3' UTR), así como secuencias intermedias (intrones) entre segmentos de codificación individuales (exones).

Una "variante funcional" se refiere a un polipéptido o polinucleótido que es estructuralmente similar o esencialmente similar estructuralmente a un compuesto original o de referencia de esta descripción, pero difiere ligeramente en su composición (por ejemplo una base, átomo o grupo funcional es diferente, se ha añadido o se ha eliminado), de modo que el polipéptido o el polipéptido codificado es capaz de realizar al menos una función del polipéptido original con al menos un 50 % de eficiencia, preferiblemente al menos un 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,9 % o 100 % de nivel de actividad del polipéptido original. En otras palabras, una variante funcional de un polipéptido o polipéptido codificado de esta descripción tiene una "unión similar", "afinidad similar" o "actividad similar" cuando la variante funcional muestra no más de un 50 % de reducción del rendimiento en un ensayo seleccionado en comparación con el polipéptido original o de referencia, tal como un ensayo para medir la afinidad de unión (p. ej. tinción con Biacore® o tetrámero que mide una constante de asociación (K_a) o disociación (K_D)).

Tal como se usa en este documento, "parte funcional" o "fragmento funcional" se refiere a un polipéptido o polinucleótido que comprende solo un dominio, una parte o un fragmento de un compuesto original o de referencia, reteniendo el polipéptido o polipéptido codificado al menos el 50 % de la actividad asociada al dominio, parte o fragmento del compuesto original o de referencia, preferiblemente al menos el 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,9 % o 100 % del nivel de actividad del polipéptido original, o proporciona un beneficio biológico (p. ej. una función efectora). Una "parte funcional" o "fragmento funcional" de un polipéptido o polipéptido codificado de esta descripción tiene una "unión similar" o una "actividad similar" cuando la parte o el fragmento funcional muestra una reducción de no más del 50 % del rendimiento en un ensayo seleccionado en comparación con el polipéptido original o de referencia (preferiblemente no más del 20 % o el 10 %, o no más de una diferencia logarítmica en comparación con el original o la referencia con respecto a la afinidad).

Tal como se usa aquí, el término "diseñado", "recombinante" o "no natural" se refiere a un organismo, microorganismo, célula, molécula de ácido nucleico o vector que incluye al menos una alteración genética o que ha sido modificado mediante la introducción de una molécula de ácido nucleico exógena o heteróloga, donde dichas alteraciones o modificaciones se introducen mediante ingeniería genética (es decir, por intervención humana). Alteraciones genéticas incluyen, por ejemplo, modificaciones que introducen moléculas de ácido nucleico expresables que codifican un ARN funcional, proteínas, proteínas de fusión o enzimas, u otras adiciones, deleciones, sustituciones de moléculas de ácido nucleico u otra alteración funcional del material genético de una célula. Modificaciones adicionales incluyen, por ejemplo, regiones reguladoras no codificantes en las que las modificaciones alteran la expresión de un polinucleótido, gen u operón.

Como se usa en este documento, "heterólogo", "no endógeno" o "exógeno" se refiere a cualquier gen, proteína, compuesto, molécula de ácido nucleico o actividad que no sea nativa de una célula huésped o un sujeto, o cualquier gen, proteína, compuesto, molécula de ácido nucleico o actividad nativa de una célula huésped o de un sujeto que ha sido alterado. Heterólogo, no endógeno o exógeno incluye genes, proteínas, compuestos o moléculas de ácido nucleico que han sido mutados o alterados de manera que la estructura, la actividad o ambas son diferentes entre los genes, proteínas, compuestos o moléculas de ácido nucleico nativos o alterados. Los genes, proteínas o moléculas de ácido nucleico heterólogos, no endógenos o exógenos (p. ej. receptores, ligandos, etc.) pueden no ser endógenos para una célula huésped o un sujeto, sino, en su lugar, ácidos nucleicos que codifican dichos genes proteínas o moléculas de ácido nucleico que pueden haber sido añadidos a una célula huésped mediante conjugación, transformación, transfección, electroporación, donde la molécula de ácido nucleico añadida puede integrarse en el genoma de una célula huésped o puede existir como material genético extracromosómico (por ejemplo como un plásmido u otro vector autorreplicante). El término "homólogo" u "homólogos" se refiere a un gen, proteína, compuesto, molécula de ácido nucleico o actividad que se encuentra en o se deriva de una célula huésped, especie o cepa. Por ejemplo, un polinucleótido o gen heterólogo o exógeno que codifica un polipéptido puede ser homólogo a un polinucleótido o gen nativo y codificar un polipéptido o actividad homólogos, pero el polinucleótido o polipéptido puede tener una estructura, secuencia, nivel de expresión o cualquier combinación de éstos alterados. Un polinucleótido o gen no endógeno, así como el polipéptido o la actividad codificados, pueden ser de la misma especie, de una especie diferente o de una combinación ambas cosas.

Una molécula de ácido nucleico o una parte de la misma nativa de una célula huésped se considerará heteróloga de la célula huésped si se ha alterado o mutado, o una molécula de ácido nucleico nativa de una célula huésped se puede considerar heteróloga si ha sido alterada con una secuencia de control de expresión heteróloga o ha sido alterada con una secuencia de control de expresión endógena no asociada normalmente con la molécula de ácido nucleico nativa de una célula huésped. Además, el término "heterólogo" puede referirse a una actividad biológica que es diferente, está alterada o es no endógena de una célula huésped. Como se describe aquí, se puede introducir más de una molécula de ácido nucleico heteróloga en una célula huésped como moléculas de ácido nucleico separadas, como una pluralidad de genes controlados individualmente, como una molécula de ácido nucleico policistrónica, como una sola molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno (u otro polipéptido) o cualquier combinación de los mismos.

Tal como se usa en este documento, el término "endógeno" o "nativo" se refiere a un polinucleótido, gen, proteína, compuesto, molécula o actividad que normalmente está presente en una célula huésped o en un sujeto.

El término "expresión", tal como se usa aquí, se refiere al proceso mediante el cual se produce un polipéptido basado en la secuencia codificante de una molécula de ácido nucleico, tal como un gen. El proceso puede incluir transcripción, control postranscripcional, modificación postranscripcional, traducción, control postraduccion, modificación postraduccion o cualquier combinación de los mismos. Una molécula de ácido nucleico expresada normalmente se une operativamente a una secuencia de control de la expresión (p. ej. un promotor).

El término "unido operativamente" se refiere a la asociación de dos o más moléculas de ácido nucleico en un solo fragmento de ácido nucleico de manera que la función de una se ve afectada por la otra. Por ejemplo, un promotor se une operativamente con una secuencia codificante cuando es capaz de afectar la expresión de esa secuencia codificante (es decir, la secuencia codificante está bajo el control transcripcional del promotor). "Desvinculado" significa que los elementos genéticos asociados no están estrechamente relacionados entre sí y la función de uno no afecta al otro.

Tal como se describe en este documento, se puede introducir más de una molécula de ácido nucleico heterólogo en una célula huésped como moléculas de ácido nucleico separadas, como una pluralidad de genes controlados individualmente, como una molécula de ácido nucleico policistrónica, como una única molécula de ácido nucleico que codifica una proteína (p. ej. una cadena pesada de un anticuerpo), o cualquier combinación de éstos. Cuando se introducen dos o más moléculas de ácido nucleico heterólogas en una célula huésped, se entiende que las dos o más moléculas de ácido nucleico heterólogas se pueden introducir como una sola molécula de ácido nucleico (p. ej. en un único vector), en vectores separados, integrados en el cromosoma huésped en un solo sitio o múltiples sitios, o cualquier combinación de lo anterior. El número de moléculas de ácido nucleico o actividades proteicas heterólogas a las que se hace referencia se refiere al número de moléculas de ácido nucleico codificantes o al número de actividades proteicas, no al número de moléculas de ácido nucleico separadas introducidas en una célula huésped.

El término "constructo" se refiere a cualquier polinucleótido que contiene una molécula de ácido nucleico recombinante (o, cuando el contexto lo indique claramente, una proteína de fusión de la presente descripción).

Un constructo (polinucleótido) puede estar presente en un vector (por ejemplo un vector bacteriano, un vector viral) o puede estar integrado en un genoma. Un "vector" es una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otra molécula de ácido nucleico. Vectores pueden ser, por ejemplo, plásmidos, cósmidos, virus, un vector de ARN o una molécula de ADN o ARN lineal o circular que puede incluir moléculas de ácido nucleico cromosómico, no cromosómico, semisintético o sintético. Vectores de la presente descripción también incluyen sistemas de transposones (por ejemplo Sleeping Beauty, véase, por ejemplo, Geurts et al., Mol. Ther. 8:108, 2003; Mates y col., Nat. Genet. 41:753, 2009). Ejemplos de vectores son aquellos capaces de replicación autónoma (vector episomal), capaces de administrar un polinucleótido a un genoma celular (p. ej. vector viral) o capaces de expresar moléculas de ácido nucleico a las que están unidos (vectores de expresión).

Tal como se usa aquí, "vector de expresión" o "vector" se refiere a un constructo de ADN que contiene una molécula de ácido nucleico unida operativamente a una secuencia de control adecuada capaz de efectuar la expresión de la molécula de ácido nucleico en un huésped adecuado. Tales secuencias de control incluyen un promotor para efectuar la transcripción, una secuencia operadora opcional para controlar dicha transcripción, una secuencia que codifica sitios de unión a ribosomas de ARNm adecuados y secuencias que controlan la terminación de la transcripción y la traducción. El vector puede ser un plásmido, una partícula de fago, un virus o simplemente un inserto genómico potencial. Una vez transformado en un huésped adecuado, el vector puede replicarse y funcionar independientemente del genoma del huésped o, en algunos casos, puede integrarse en el propio genoma o suministrar el polinucleótido contenido en el vector en el genoma sin la secuencia del vector. En la presente especificación, "plásmido", "plásmido de expresión", "virus" y "vector" se usan a menudo de forma intercambiable.

El término "introducido" en el contexto de la inserción de una molécula de ácido nucleico en una célula significa "transfección", "transformación" o "transducción" e incluye la referencia a la incorporación de una molécula de ácido nucleico en una célula eucariota o procariota donde la molécula de ácido nucleico puede incorporarse en el genoma de una célula (p. ej. cromosoma, plásmido, plástido o ADN mitocondrial), convertirse en un replicón autónomo o expresarse transitoriamente (p. ej. ARNm transfectado).

Los polinucleótidos de la presente descripción pueden unirse operativamente a ciertos elementos de un vector. Por ejemplo, las secuencias de polinucleótidos necesarias para la expresión y el procesamiento de las secuencias de codificación a las que están ligadas pueden unirse operativamente. Las secuencias de control de la expresión pueden incluir secuencias de iniciación, parada, promotoras y potenciadoras de la transcripción apropiadas; señales de procesamiento de ARN eficientes, tales como señales de empalme y poliadenilación; secuencias que estabilizan el ARNm citoplasmático; secuencias que mejoran la eficacia de la traducción (es decir secuencias de consenso Kozak); secuencias que mejoran la estabilidad de la proteína; y posiblemente secuencias que potencian la secreción de proteínas. Las secuencias de control de la expresión pueden unirse operativamente si son contiguas al gen de interés y las secuencias de control de la expresión que actúan en *trans* o a distancia para controlar el gen de interés.

El vector comprende un vector plasmídico o un vector viral (p. ej. un vector lentiviral o un vector γ-retroviral). Vectores virales incluyen retrovirus, adenovirus, parvovirus (p. ej. virus adenoasociados), coronavirus, ARN-virus de cadena negativa, como orto-mixovirus (p. ej. virus de la influenza), rabdovirus (p. ej. virus de la rabia y de la estomatitis vesicular), paramixovirus (p. ej. sarampión y Sendai), ARN-virus de cadena positiva como picornavirus y alfavirus, y virus de ADN de doble cadena, incluidos adenovirus, herpesvirus (p. ej. virus del herpes simple tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus) y poxvirus (p. ej. viruela aviar y viruela del canario). Otros virus incluyen, por ejemplo, virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus y virus de la hepatitis. Ejemplos de retrovirus incluyen leucosis-sarcoma aviar, virus de tipo C y B de mamíferos, virus de tipo D, grupo HTLV-BLV, lentivirus, spumavirus (Coffin, J. M., Retroviridae: Thevirus and their replication, en Fundamental Virology, Tercera Edición; B.N. Fields et al., Eds., Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, 1996).

Los "retrovirus" son virus que tienen un genoma de ARN que se transcribe inversamente en ADN usando una enzima transcriptasa inversa, incorporándose luego el ADN transcrito inversamente al genoma de la célula huésped. "Gammaretrovirus" se refiere a un género de la familia retroviridae. Ejemplos de gammaretrovirus incluyen el virus de células madre de ratón, el virus de la leucemia murina, el virus de la leucemia felina, el virus del sarcoma felino y los virus de la reticuloendoteliosis aviar.

Los "vectores lentivirales" incluyen vectores lentivirales basados en VIH para la administración de genes, que pueden ser integradores o no integradores, con una capacidad de empaquetamiento relativamente grande y pueden transducir una variedad de tipos de células diferentes. Los vectores lentivirales generalmente se generan después de la transfección transitoria de tres (empaquetado, envoltura y transferencia) o más plásmidos en células productoras. Al igual que el VIH, los vectores lentivirales entran en la célula diana a través de la interacción de las glicoproteínas de la superficie viral con los receptores de la superficie celular. Al entrar, el ARN viral sufre una transcripción inversa, que está mediada por el complejo de transcriptasa inversa viral. El

producto de la transcripción inversa es un ADN viral lineal de doble hebra, que es el sustrato para la integración viral en el ADN de las células infectadas.

El vector viral puede ser un retrovirus gamma, por ejemplo vectores derivados del virus de la leucemia murina de Moloney (MLV). Alternativamente, el vector viral puede ser un vector derivado de un retrovirus más complejo, por ejemplo un vector derivado de lentivirus. Los vectores derivados de VIH-1 pertenecen a esta categoría. Otros ejemplos incluyen vectores de lentivirus derivados de HIV-2, FIV, virus de anemia infecciosa equina, SIV y virus Maedi-Visna (lentivirus ovino). En la técnica se conocen métodos para usar vectores virales retrovirales y lentivirales y células de empaquetamiento para transducir células huésped de mamíferos con partículas virales que contienen transgenes y ya se han descrito, por ejemplo, en: Patente de EE.UU. 8.119.772; Walchli et al., PLoS One 6:327930, 2011; Zhao y col., J. Immunol. 174:4415, 2005 ; Engels y col., Hum. Gene Ther. 14:1155, 2003; Frecha et al., Mol. Ther. 18:1748, 2010; y Verhoeven y col., Methods Mol. Biol. 506:97, 2009. Los constructos de vectores retrovirales y lentivirales y los sistemas de expresión también están disponibles comercialmente. También se pueden usar otros vectores virales para la administración de polinucleótidos, incluyendo vectores virales de ADN que incluyen, por ejemplo, vectores basados en adenovirus y vectores basados en virus adenoasociados (AAV); vectores derivados de virus del herpes simple (HSV), incluidos vectores de amplicón, HSV con replicación defectuosa y HSV atenuado (Krisky et al., Gene Ther. 5:1517, 1998).

Otros vectores que pueden emplearse con las composiciones y métodos de esta descripción incluyen aquellos derivados de baculovirus y α -virus. (Jolly, D J. 1999. Emerging Viral Vectors. pp 209-40 in Friedmann T. ed. The Development of Human Gene Therapy. New York: Cold Spring Harbor Lab), o vectores de plásmidos (como la bella durmiente u otros vectores de transposones).

Cuando el genoma de un vector viral comprende una pluralidad de polinucleótidos para ser expresados en una célula huésped como transcritos separados, el vector viral también puede comprender secuencias adicionales entre los dos (o más) transcritos que permiten la expresión bicistónica o multicistónica. Ejemplos de tales secuencias utilizadas en vectores virales incluyen sitios internos de entrada al ribosoma (IRES), sitios de escisión de furina, péptido 2A viral o cualquier combinación de los mismos.

Vectores de plásmidos, incluidos los vectores de plásmidos que codifican fragmentos de unión a antígenos o anticuerpos basados en ADN para la administración directa a un sujeto, se describen aquí más adelante.

Tal como se usa en este documento, el término "huésped" se refiere a una célula o un microorganismo objetivo de la modificación genética con una molécula de ácido nucleico heteróloga para producir un polipéptido de interés (p. ej. un anticuerpo de la presente descripción).

Una célula huésped puede incluir cualquier célula individual o cultivo celular que pueda recibir un vector o la incorporación de ácidos nucleicos o expresar proteínas. El término también abarca la progenie de la célula huésped, ya sea genética o fenotípicamente igual o diferente. Las células huésped adecuadas pueden depender del vector y pueden incluir células de mamífero, células animales, células humanas, células de simio, células de insecto, células de levadura y células bacterianas. Estas células pueden ser inducidas para incorporar el vector u otro material mediante el uso de un vector viral, mediante transformación por precipitación con fosfato de calcio, DEAE-dextrano, electroporación, microinyección u otros métodos. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2ª ed. 1330 (Laboratorio de Cold Spring Harbor, 1989).

En el contexto de una infección por SARS-CoV-2, un "huésped" se refiere a una célula o un sujeto (p. ej. un ser humano) infectado con SARS-CoV-2.

"Antígeno" o "Ag", tal como se usa aquí, se refiere a una molécula inmunogénica que provoca una respuesta inmune. Esta respuesta inmune puede implicar la producción de anticuerpos, la activación de células inmunológicamente competentes específicas, la activación del complemento, la citotoxicidad dependiente de anticuerpos o cualquier combinación de las mismas. Un antígeno (molécula inmunogénica) puede ser, por ejemplo, un péptido, glicopéptido, polipéptido, glicopolipéptido, polinucleótido, polisacárido o lípido. Es evidente que un antígeno se puede sintetizar, producir de forma recombinante o derivar de una muestra biológica. Ejemplos de muestras biológicas que pueden contener uno o más antígenos incluyen muestras de tejido, muestras de heces, células, fluidos biológicos o sus combinaciones. Los antígenos pueden ser producidos por células que han sido modificadas o manipuladas genéticamente para expresar un antígeno. Los antígenos también pueden estar presentes en un SARS-CoV-2 (p. ej. una glicoproteína de superficie o una parte de la misma), tales como los presentes en un virión, o ser expresados o presentados en la superficie de una célula infectada por SARS-CoV-2.

El término "epítipo" o "epítipo antigénico" incluye cualquier molécula, estructura, secuencia de aminoácidos o proteína determinante que es reconocida y se une específicamente a una molécula de unión afín, tal como una

- inmunoglobulina u otra molécula, dominio o proteína de unión. Los determinantes epitópicos generalmente contienen agrupaciones superficiales de moléculas químicamente activas, como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Cuando un antígeno es o comprende un péptido o una proteína, el epítipo puede estar compuesto por aminoácidos consecutivos (p. ej. un epítipo lineal) o puede estar compuesto por aminoácidos de diferentes partes o regiones de la proteína que se aproximan por la acción del plegamiento de la proteína (por ejemplo un epítipo discontinuo o conformacional), o por aminoácidos no contiguos que están muy próximos independientemente del plegamiento de la proteína.

Anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno

- En un aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 tal como se define en la reivindicación 1, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 tal como se define en la reivindicación 1, y que es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie (S) de SARS-CoV-2. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie (S) de SARS-CoV-2 expresada en la superficie celular de una célula huésped y/o en un virión de SARS-CoV-2.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se asocia o une con un epítipo o antígeno de glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 que comprende el epítipo, mientras que no se asocia ni se une significativamente con ninguna otra molécula o componente en una muestra.

- En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se asocia o une (p. ej. se une) a un epítipo de glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 y también puede asociarse o unirse a un epítipo de otro coronavirus (p. ej. SARS CoV) presentes en la muestra, pero no se asocia ni se une significativamente con ninguna otra molécula o componente de la muestra. En otras palabras, en ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno tiene una reacción cruzada para el SARS-CoV-2 y uno o más coronavirus adicionales.

- El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la presente invención se une específicamente a una glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2. Tal como se usa aquí, "se une específicamente" se refiere a una asociación o unión de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno a un antígeno con una afinidad o K_a (es decir, una constante de asociación de equilibrio de una interacción de unión particular con unidades de $1/M$) igual o superior a $10^5 M^{-1}$ (que es igual a la relación entre la tasa "on" [K_{on}] y la tasa "off" [K_{off}] para esta reacción de asociación), sin asociarse o unirse significativamente con ninguna otra molécula o componente en una muestra. Alternativamente, la afinidad puede definirse como una constante de disociación de equilibrio (K_d) de una interacción de unión particular con unidades de M (p. ej. $10^{-5} M$ a $10^{-13} M$). Los anticuerpos pueden clasificarse como anticuerpos de "alta afinidad" o como anticuerpos de "baja afinidad". Anticuerpos de "alta afinidad" se refiere a aquellos anticuerpos con una K_a de al menos $10^7 M^{-1}$, al menos $10^8 M^{-1}$, al menos $10^9 M^{-1}$, al menos $10^{10} M^{-1}$, al menos $10^{11} M^{-1}$, al menos $10^{12} M^{-1}$ o al menos $10^{13} M^{-1}$. Anticuerpos de "baja afinidad" se refiere a aquellos anticuerpos con una K_a de hasta $10^7 M^{-1}$, hasta $10^6 M^{-1}$, hasta $10^5 M^{-1}$. Alternativamente, la afinidad puede definirse como una constante de disociación de equilibrio (K_d) de una interacción de unión particular con unidades de M (p. ej. $10^{-5} M$ a $10^{-13} M$).

- En algunos contextos, los fragmentos de unión a anticuerpos y antígenos pueden describirse con referencia a la afinidad y/o la aidez por el antígeno. A menos que se indique lo contrario, la aidez se refiere a la fuerza de unión total de un anticuerpo o fragmento de unión de antígeno del mismo al antígeno y refleja la afinidad de unión, la valencia del anticuerpo o del fragmento de unión de antígeno de antígeno (p. ej. cuando el anticuerpo o el fragmento de unión de antígeno comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más sitios de unión) y, por ejemplo, si está presente otro agente que pueda afectar a la unión (p. ej. un inhibidor no competitivo del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno).

- Se conocen diversos ensayos para identificar anticuerpos de la presente descripción que se unen a una diana particular, así como para determinar el dominio de unión o las afinidades de la proteína de unión, tales como Western blot, ELISA (por ejemplo directo, indirecto o sándwich), ultracentrifugación analítica, espectroscopia y análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore®) (véase, por ejemplo, Scatchard et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, 1949; Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 55:2560, 1993; y las patentes US N° 5.283.173, 5.468.614). También se conocen ensayos para evaluar la afinidad o la afinidad aparente o la afinidad relativa.

- En ciertos ejemplos, la unión se puede determinar mediante la expresión recombinante de un antígeno SARS-CoV-2 en una célula huésped (por ejemplo mediante transfección) y por inmunotinción de la célula huésped (por ejemplo fijada o fijada y permeabilizada) con el anticuerpo y analizando la unión por citometría de flujo (p.

ej. utilizando un analizador de células ZE5 (BioRad®) y el software FlowJo (TreeStar). En algunas realizaciones, la unión positiva puede definirse mediante tinción diferencial por anticuerpo de células que expresan SARS-CoV-2 frente a células control (p. ej. "mock").

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a la proteína S del SARS-CoV-2, tal como se mide mediante interferometría de biocapa. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a la proteína S de SARS-CoV-2 con una K_D inferior a $4,5 \times 10^{-9}$ M, inferior a 5×10^{-9} M, inferior a 1×10^{-10} M, inferior a 5×10^{-10} M, inferior a 1×10^{-11} M, inferior a 5×10^{-11} M, inferior a 1×10^{-12} M o inferior a 5×10^{-12} M. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a la proteína Se del RBD del SARS-CoV-2 con una K_D inferior a $4,5 \times 10^{-9}$ M, inferior a 5×10^{-9} M, inferior a 1×10^{-10} M, inferior a 5×10^{-10} M, inferior a 1×10^{-11} M, inferior a 5×10^{-11} M, inferior a 1×10^{-12} M o inferior a 5×10^{-12} M. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a la proteína S del SARS-CoV-2 (p. ej. una proteína S glicosilada o desglucosilada RBD) con una K_D , una k_a y/o una k_d como se muestra en la Tabla 8, la Tabla 9 o la Tabla 10 del presente documento.

En realizaciones particulares, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a una proteína S glicosilada de RBD con una K_D de 0,35 nM, 0,36 nM, 0,37 nM, 0,38 nM, 0,39 nM, 0,40 nM, 0,41 nM, 0,42 nM, 0,43 nM, 0,44 nM, 0,45 nM, 0,46 nM, 0,47 nM, 0,48 nM, 0,49 nM, 0,50 nM, 0,51 nM o 1,7 nM, opcionalmente tal como es medido por resonancia de plasmones de superficie, y/o con un k_a de $8,5 \times 10^4$ 1/Ms, $8,6 \times 10^4$ 1/Ms, $8,7 \times 10^4$ 1/Ms, $8,8 \times 10^4$ 1/Ms, $8,9 \times 10^4$ 1/Ms, $9,0 \times 10^4$ 1/Ms, $9,1 \times 10^4$ 1/Ms, $9,2 \times 10^4$ 1/Ms, $9,3 \times 10^4$ 1/Ms, $9,4 \times 10^4$ 1/Ms, $9,5 \times 10^4$ 1/Ms, $9,6 \times 10^4$ 1/Ms, $9,7 \times 10^4$ 1/Ms, de $9,8 \times 10^4$ 1/Ms, $9,9 \times 10^4$ 1/Ms o $1,0 \times 10^5$ 1/Ms, opcionalmente tal como es medido por resonancia de plasmón superficial, y/o con una k_d de $1,6 \times 10^{-4}$ 1/S, $3,3 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,4 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,5 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,6 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,7 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,8 \times 10^{-5}$ 1/S, $3,9 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,0 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,1 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,2 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,3 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,4 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,5 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,6 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,7 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,8 \times 10^{-5}$ 1/S, $4,9 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,0 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,1 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,2 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,3 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,4 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,5 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,6 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,7 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,8 \times 10^{-5}$ 1/S, $5,9 \times 10^{-5}$ 1/S, $6,0 \times 10^{-5}$ 1/S, $6,1 \times 10^{-5}$ 1/S, $6,2 \times 10^{-5}$ 1/S, $6,3 \times 10^{-5}$ 1/S, $6,4 \times 10^{-5}$ 1/S o $6,5 \times 10^{-5}$ 1/S, opcionalmente tal como es medida por resonancia de plasmones superficiales.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a una proteína S desglucosilada RBD con una K_D de 0,95, 0,96 nM, 0,97 nM, 0,98 nM, 0,99 nM, 1,0 nM, 1,1 nM, 1,2 nM, 1,3 nM, 1,4 nM, 1,5 nM o 1,6 nM, opcionalmente tal como es medido por resonancia de plasmón superficial, y/o con un k_a de (1/S) $2,5 \times 10^5$, $2,6 \times 10^5$, $2,7 \times 10^5$, $2,8 \times 10^5$, $2,9 \times 10^5$, $3,0 \times 10^5$, $3,1 \times 10^5$, opcionalmente tal como es medido por resonancia de plasmón superficial, y/o con una k_d (1/S) de $2,8 \times 10^{-4}$, $2,9 \times 10^{-4}$, $3,0 \times 10^{-4}$, $3,1 \times 10^{-4}$, $3,2 \times 10^{-4}$, $3,3 \times 10^{-4}$, $3,4 \times 10^{-4}$, $3,5 \times 10^{-4}$, $3,6 \times 10^{-4}$, $3,7 \times 10^{-4}$, $3,8 \times 10^{-4}$, $3,9 \times 10^{-4}$, $4,0 \times 10^{-4}$, $4,1 \times 10^{-4}$, $4,2 \times 10^{-4}$, $4,3 \times 10^{-4}$, $4,4 \times 10^{-4}$, $4,5 \times 10^{-4}$, $4,6 \times 10^{-4}$, $4,7 \times 10^{-4}$, $4,8 \times 10^{-4}$, $4,9 \times 10^{-4}$ o $5,0 \times 10^{-4}$, opcionalmente tal como se mide por resonancia de plasmón superficial.

En algunas realizaciones para determinar la unión a RBD, la resonancia de plasmones superficiales comprende el uso de un chip sensor con Fc antihumano inmovilizado covalentemente (por ejemplo, de GE). El tampón puede ser HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y detergente P20 0,05 %. La SPR se puede realizar a 25 °C. Los anticuerpos se pueden diluir del sobrenadante a aproximadamente 2 µg/ml. La concentración de RBD puede ser de 0,8 nM, 3,1 nM, 12,5 nM, 50 nM y/o 200 nM.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a un dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 cuando el RBD está glicosilado y/o cuando el RBD está desglucosilado, siendo determinada la unión mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR), donde, opcionalmente: (1) la SPR se realiza usando un instrumento Biacore T200 usando un enfoque de cinética de ciclo único, además opcionalmente con un período de inyección de 3 minutos y un período de disociación de 20 minutos; (2) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno es capturado en una superficie; (3) el RBD está presente en una concentración de 0,8 nM, 3,1 nM, 12,5 nM, 50 nM o 200 nM; (4) el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une al RBD glicosilado con una K_D de 2,0 nM, 1,9 nM, 1,8 nM, 1,7 nM, 1,6 nM, 1,5 nM, 1,4 nM, 1,3 nM, 1,2 nM, 1,1 nM, 1,0 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, o 0,4 nM, o con una K_D de $0,4 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $0,45 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $0,5 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $0,6 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $0,7 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $1,7 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$; y/o (5) el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une al RBD desglucosilado con una K_D de 37,0 nM, 8,0 nM, 2,0 nM, 1,9 nM, 1,8 nM, 1,7 nM, 1,6 nM, 1,5 nM, 1,4 nM, 1,3 nM, 1,2 nM, 1,1 nM, 1,0 nM o 0,9 nM, o con una K_D de $37,0 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $8,0 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $1,0 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $0,9 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $1,3 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $1,8 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$, o con una K_D de $1,7 \text{ nM} \pm 0,05 \text{ nM}$.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo es capaz de neutralizar la infección por SARS-CoV-2. Tal como se usa aquí, un "anticuerpo neutralizante" es aquel que puede neutralizar, es decir, prevenir, inhibir, reducir, impedir o interferir con la capacidad de un patógeno para iniciar y/o perpetuar una infección en un huésped. La neutralización se puede cuantificar, por ejemplo, evaluando los niveles de ARN de SARS-CoV-2 en una muestra (p. ej. pulmón), evaluando la carga viral de SARS-CoV-2 en una muestra (p. ej. pulmón), evaluando la histopatología de una muestra (p. ej. pulmón) muestra. Los términos "anticuerpo neutralizante" y "un anticuerpo

que neutraliza" o "anticuerpos que neutralizan" se usan aquí indistintamente. En cualquiera de las realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de prevenir y/o neutralizar una infección por SARS-CoV-2 en un modelo de infección *in vitro* y/o en un modelo animal de infección *in vivo* (p. ej. utilizando un modelo de hámster sirio con administración intranasal de SARS-CoV-2). En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 con una IC₉₀ de 9 µg/ml. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 con una IC₅₀ de 16 a 20 µg/ml. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 o un virus pseudotipado con SARS-CoV-2 con una IC₅₀ de 0,3 a 0,4 µg/ml. En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, o una composición que comprende dos o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, de la presente descripción es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 o un virus pseudotipado con SARS-CoV-2 con una IC₅₀ de 0,07 a 0,08 µg/ml.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno (i) reconoce un epítipo en el motivo de unión al receptor ACE2 (RBM, SEQ ID NO.:167) de SARS-CoV-2; (ii) es capaz de bloquear una interacción entre SARS-CoV-2 y ACE2; (iii) es capaz de unirse a la proteína S del SARS-CoV-2 con mayor avidez que a la proteína S del coronavirus SARS; (iv) es capaz de teñir el 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 55 %, 56 %, 57 %, 58 %, 59 %, 60 % o más de células diana que expresan la glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 en una muestra que comprende 50.000 de las células diana (p. ej. células ExpiCHO) en aproximadamente 100 µl cuando el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno está presente a 10 µg/ml (p. ej. tinción determinada por ELISA de citometría de flujo); (v) reconoce un epítipo que se conserva en el RBM ACE2 del SARS-CoV-2 y en un RBM ACE2 del coronavirus del SARS; (vi) tiene reacción cruzada contra SARS-CoV-2 y el coronavirus del SARS; (vii) reconoce un epítipo en la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 que no está en el RBM de ACE2; o (viii) cualquier combinación de (i)-(vii).

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de inhibir una interacción entre: (i) el SARS-CoV-2 y un DC-SIGN humano; (ii) SARS-CoV-2 y un L-SIGN humano; (iii) SARS-CoV-2 y un SIGLEC-1 humano; o (iv) cualquier combinación de (i)-(iii). Como se describe aquí, DC-SIGN, L-SIGN y SIGLEC-1 pueden participar en una infección por SARS-CoV-2 con roles que comprenden las de los receptores de unión. La inhibición de una interacción entre SARS-CoV-2 y DC-SIGN, L-SIGN y/o SIGLEC-1 puede, en algunos contextos, neutralizar la infección por SARS-CoV-2.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie de: (i) SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (SEQ ID NO.:165); (ii) SARS-CoV-2 B.1.1.7; (iii) SARS-CoV-2 B.1.351; (iv) SARS-CoV-2 que comprende una cualquiera o más de las siguientes mutaciones de sustitución en relación con la SEQ ID NO.:165: N501Y; S477N; N439K; L452R; E484K; Y453F; A520S; K417N; K417V; S494P; N501T; S477R; V367F; P384L; A522S; A522V; V382L; P330S; T478I S477I; P479S; o (v) cualquier combinación de (i)-(iv).

Los términos entendidos por aquellos técnicos en la tecnología de anticuerpos tienen en cada caso el significado adquirido en la técnica, a menos que se definan expresamente aquí de manera diferente. Por ejemplo, el término "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo intacto que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como cualquier porción o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo intacto que retiene o conserva la capacidad de unirse a la molécula diana del antígeno reconocida por el anticuerpo intacto, tal como un fragmento scFv, Fab o Fab'. Así, el término "anticuerpo" en el presente documento se utiliza en el sentido más amplio e incluye anticuerpos policlonales y monoclonales, incluidos anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos funcionales (de unión a antígeno) de los mismos, incluidos fragmentos de unión a antígeno (Fab), fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fab', fragmentos Fv, fragmentos de IgG recombinante (rlgG), fragmentos de anticuerpos de cadena sencilla, incluidos fragmentos variables de cadena sencilla (scFv) y fragmentos de anticuerpos de dominio único (por ejemplo sdAb, sdFv, nanocuerpos). El término abarca formas de inmunoglobulinas diseñadas genéticamente y/o modificadas de otro modo, tales como intracuerpos, peptidocuerpos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos completamente humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos heteroconjugados, multispecíficos, p. ej. anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, tándem di-scFv y tándem tri-scFv. A menos que se indique lo contrario, debe entenderse que el término "anticuerpo" abarca fragmentos de anticuerpos funcionales del mismo. El término también abarca anticuerpos intactos o de longitud completa, incluidos anticuerpos de cualquier clase o subclase, incluyendo IgG y subclases (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgE, IgA e IgD.

Los términos "V_L" o "VL" y "V_H" o "VH" se refieren a la región de unión variable de una cadena ligera de anticuerpo y una cadena pesada de anticuerpo, respectivamente. En ciertas realizaciones, un VL es una clase kappa (κ) (también "VK" en este documento). En ciertas realizaciones, un VL es una clase lambda (λ). Las regiones de unión variable comprenden subregiones discretas bien definidas conocidas como "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR) y "regiones marco" (FR). Los términos "región determinante

de complementariedad" y "CDR" son sinónimos de "región hipervariable" o "HVR" y se refieren a secuencias de aminoácidos dentro de regiones variables de anticuerpos que, en general, en su conjunto confieren la especificidad antigénica y/o la afinidad de unión del anticuerpo, donde las CDR consecutivas (es decir CDR1 y CDR2, CDR2 y CDR3) están separadas entre sí en la estructura primaria por una región marco. Hay tres CDR en cada región variable (HCDR1, HCDR2, HCDR3; LCDR1, LCDR2, LCDR3; también denominados CDRH y CDRL, respectivamente). En ciertas realizaciones, un anticuerpo VH comprende cuatro FR y tres CDR de la siguiente manera: FR1-HCDR1-FR2-HCDR2-FR3-HCDR3-FR4; y un anticuerpo VL comprende cuatro FR y tres CDR como sigue: FR1-LCDR1-FR2-LCDR2-FR3-LCDR3-FR4. En general, VH y VL juntos forman el sitio de unión al antígeno a través de sus respectivas CDR.

- 10 Como se usa aquí, una "variante" de una CDR se refiere a una variante funcional de una secuencia de CDR que tiene hasta 1-3 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo sustituciones conservativas o no conservativas), delecciones o sus combinaciones.

La numeración de las regiones marco y CDR puede estar de acuerdo con cualquier método o esquema conocido, como los esquemas de numeración de Kabat, Chothia, EU, IMGT y AHo (ver, por ejemplo, Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5ª ed.; Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)); Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003; Honegger and Plückthun, J. Mol. Bio. 309:657-670 (2001)). Las posiciones de residuos equivalentes se pueden anotar y ser comparadas en diferentes moléculas utilizando la herramienta de software de clasificación y numeración de receptores de antígenos (ANARCI) (2016, Bioinformatics 15: 298-300). En consecuencia, la identificación de las CDR de una secuencia de dominio variable de ejemplo (VH o VL) como se proporciona aquí de acuerdo con un esquema de numeración no es exclusiva de un anticuerpo que comprende las CDR del mismo dominio variable determinado usando un esquema de numeración diferente. En ciertos aspectos, se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende una CDR de una secuencia de VH según la SEQ ID NO.:113 y a partir de una secuencia VL según la SEQ ID NO.:168, según se determina utilizando cualquier método de numeración de CDR conocido, incluidos los métodos de numeración Kabat, Chothia, EU, IMGT, Martin (Enhanced Chothia), Contact y AHo. En ciertos aspectos, las CDR están de acuerdo con el método de numeración IMGT. En ciertos aspectos, las CDR están de acuerdo con el método de numeración de anticuerpos desarrollado por el Chemical Computing Group (CCG); por ejemplo, utilizando el software Molecular Operating Environment (MOE) (www.chemcomp.com).

En la invención, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende CDRL1, CDRL2 y CDRL3, donde: (i) CDRH1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:106; (ii) CDRH2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:121; (iii) CDRH3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:108; (iv) CDRL1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:169; (v) CDRL2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:170 y (vi) CDRL3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:171, donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 expresada en la superficie celular de una célula huésped, en un virión o ambas cosas.

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende secuencias de aminoácidos VH y VL que están codificadas por:

- i. un gen VH1-18 y un gen VK3-20, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH1-18 y VK3-20, respectivamente;
- ii. un alelo VH3-7 y un alelo VL3-25, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH3-7 y VL3-25, respectivamente;
- iii. un alelo VH3-23 y un alelo VK1-5, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH3-23 y VK1-5, respectivamente;
- iv. un alelo VH3-13 y un alelo VK1-39 respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con VH3-13 y VK1-39, respectivamente;

- v. un alelo VH1-18 y un alelo VK3-11, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con VH1-18 y VK3-11, respectivamente; o
- 5 vi. un alelo VH1-69 y un alelo VL2-23, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con VH1-69 y VL2-23, respectivamente.
- 10 En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de prevenir y/o neutralizar una infección por SARS-CoV-2 en un modelo de infección *in vitro* y/o en un modelo animal de infección *in vivo*.
- El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 según las SEQ ID NO.:106, 121, 108 y 169-171, respectivamente.
- 15 En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la presente invención se une a la proteína S de SARS-CoV-2 con una K_D inferior a $4,5 \times 10^{-9}$ M, inferior a 5×10^{-9} M, inferior a 1×10^{-10} M, inferior a 5×10^{-10} M, inferior a 1×10^{-11} M, inferior a 5×10^{-11} M, inferior a 1×10^{-12} M o inferior a 5×10^{-12} M. En aún otras realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la presente invención es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 y/o de neutralizar la infección de una célula diana por un virus pseudotipado con SARS-CoV-2 con una IC50 de 0,3 a 0,4 µg/ml.
- 20 Así, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende: un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 de la secuencia de aminoácidos de VH establecida en la SEQ ID NO.:113; y un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 como se establece en la SEQ ID NO.:168 (es decir, de acuerdo con cualquier método de determinación o numeración de CDR conocido en la técnica, como IMGT, Kabat, Chothia, Aho, North, Contact, CCG, EU o Martin (Chotia mejorada)).
- 25 En realizaciones adicionales, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una VH que tiene al menos un 85 % de identidad (es decir, 85 %, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 % de identidad) con la SEQ ID NO.:113, proporcionada en la Tabla 1, y/o una VL que tiene al menos un 85 % de identidad (es decir, 85 %, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 %) de identidad con la SEQ ID NO.:168 proporcionada en la Tabla 1. En aún otras realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una VH que tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO.:113 y/o una VL que tiene al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO.:168. Aún en otras realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una VH que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO.:113 y/o una VL que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO.:168. En aún otras realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una VH que tiene al menos un 99 % de identidad con la SEQ ID NO.:113 y/o una VL que tiene al menos un 99 % de identidad con la SEQ ID NO.:168.
- 30 En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos VH según la SEQ ID NO.:113 y una secuencia de aminoácidos VL de acuerdo con la SEQ ID NO.:168
- 35

Tabla 1. CDR (IMGT) y secuencias de aminoácidos de región variable de ciertos anticuerpos S309

CDRH1	GYPFTSYG (SEQ ID NO.:106)
CDRH2	ISTYNGNT (SEQ ID NO.:107); ISTYQGNT (SEQ ID NO.:121); ISTYNSNT (SEQ ID NO.:122); ISTYNANT (SEQ ID NO.:123); ISTYNQNT (SEQ ID NO.:124); ISTYLGNT (SEQ ID NO.:125); ISTYTGNT (SEQ ID NO.:126)
CDRH3	ARDYTRGAWFGESLIGGFDN (SEQ ID NO.:108); ARDYTRGAFFGESLIGGFDN (SEQ ID NO.:127); ARDYTRGAYFGESLIGGFDN (SEQ ID NO.:128)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYG ISWVRQAPGQGL

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:105) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYQGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:113) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNSNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:114) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNANTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:115) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNQNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:116) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYLGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:117) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYTGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:118) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:119) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:120) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGFISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:129) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGFISTYQGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD	
--	--

TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:130) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYNSNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:131) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYNANT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:132) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYNQNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:133) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYLGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:134) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYTGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:135) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYNGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAFFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:136) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGF ISTYNGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAYFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:137) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGY ISTYNGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:138) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGY ISTYQGNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:139) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGY ISTYNSNT NYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:140)
--

	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYNANTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:141) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYNQNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:142) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYLGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:143) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYTGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:144) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAFFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:145) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGYISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAYFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:146) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGFISTYNANTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDD TAVYYCCARDYTRGAFFGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO.:172) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGX₁ISTYX₂X₃NTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRS DDTAVYYCCARDYTRGAX₄FGESLIGGFDNWGQGLTVTVSS
	donde X ₁ = W, F o Y; X ₂ = N, Q, L o T; X ₃ = G, S, A, o Q; X ₄ = W, F, o Y (SEQ ID NO.:267)
CDRL1	QTVSSTS (SEQ ID NO.:169)
CDRL2	GAS (SEQ ID NO.:170)
CDRL3	QQHDTSLT (SEQ ID NO.:171)
VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQTVSSTSLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQHDTS LTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO.:168)

El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende la CDRH1, CDRH2 y CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 según las SEQ ID NO.:106, 121, 108, 169, 170 y 171, respectivamente.

- 5 En realizaciones adicionales, VH comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO.:113 y VL comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de en SEQ ID NO.:168.

El término "CL" se refiere a una "región constante de cadena ligera de inmunoglobulina" o una "región constante de cadena ligera", es decir, una región constante de una cadena ligera de anticuerpo. El término "CH" se refiere a una "región constante de cadena pesada de inmunoglobulina" o una "región constante de cadena pesada", que se puede dividir, según el isotipo del anticuerpo, en CH1, CH2 y CH3 (IgA, IgD, IgG), o dominios CH1, CH2, CH3 y CH4 (IgE, IgM). La región Fc de una cadena pesada de anticuerpo se describe adicionalmente aquí. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende uno cualquiera o más de un CL, un CH1, un CH2 y un CH3. En determinadas realizaciones, un CL comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:174 o SEQ ID NO.:193. En determinadas realizaciones, un CH1-CH2-CH3 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:173 o SEQ ID NO.:175 o SEQ ID NO.:265 o SEQ ID NO.:266. Se entenderá que, por ejemplo, la producción en una línea celular de mamífero puede eliminar una o más lisinas C-terminales de una cadena pesada de anticuerpo (ver, por ejemplo, Liu et al. mAb 6(5):1145-1154 (2014)). Por consiguiente, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno puede comprender una cadena pesada, un polipéptido CH1-CH3, un CH3 o un Fc en el que está presente o ausente un residuo de lisina C-terminal. En determinadas realizaciones, una composición comprende una pluralidad de anticuerpos y/o fragmentos de unión a antígeno donde uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno no comprenden un residuo de lisina en el extremo C-terminal del polipéptido pesado CH1-CH3 o Fc y donde uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno comprenden un residuo de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada, CH1-CH3 o polipéptido Fc.

Un "Fab" (fragmento de unión a antígeno) es la parte de un anticuerpo que se une a antígenos e incluye la región variable y CH1 de la cadena pesada unida a la cadena ligera mediante un enlace disulfuro intercatenario. Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la unión al antígeno, es decir, tiene un único sitio de unión al antígeno. El tratamiento con pepsina de un anticuerpo produce un solo fragmento F(ab')₂ grande que corresponde aproximadamente a dos fragmentos Fab unidos por disulfuro con actividad de unión a antígeno divalente y que aún es capaz de reticular el antígeno. Tanto Fab como F(ab')₂ son ejemplos de "fragmentos de unión a antígeno". Los fragmentos Fab' se diferencian de los fragmentos Fab en que tienen pocos residuos adicionales en el extremo carboxilo del dominio CH1 que incluye una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación aquí para Fab' donde el o los residuos de cisteína de los dominios constantes llevan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpos F(ab')₂ originalmente se producían como pares de fragmentos Fab' que tenían cisteínas bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

Los fragmentos Fab se pueden unir, por ejemplo, mediante un conector peptídico, para formar un Fab de cadena sencilla, también denominado aquí "scFab". En estas realizaciones, un enlace disulfuro entre cadenas que está presente en un Fab nativo puede no estar presente y el enlazador sirve total o parcialmente para enlazar o conectar los fragmentos Fab en una sola cadena polipeptídica. Un fragmento Fab derivado de cadena pesada (p. ej. que comprende, consiste en o consiste esencialmente en VH + CH1, o "Fd") y un fragmento Fab derivado de cadena ligera (p. ej. que comprende, consiste en o consiste esencialmente en VL + CL) pueden unirse en cualquier arreglo para formar un scFab. Por ejemplo, un scFab puede disponerse, en dirección N-terminal a C-terminal, de acuerdo con (fragmento Fab de cadena pesada - enlazador - fragmento Fab de cadena ligera) o (fragmento Fab de cadena ligera - enlazador - fragmento Fab de cadena pesada). Los enlazadores peptídicos y las secuencias de enlazadores de ejemplo para usar en scFab se analizan con más detalle en este documento.

Un scFab puede comprender las secuencias VH y VL o la combinación de las secuencias CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 aquí descritas. Esto es, un scFab puede comprender la secuencia VH tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 113 y la secuencia VL tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 168. Esto es, un scFab puede comprender una secuencia CDRH1 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 106, una secuencia CDRH2 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 121, una secuencia CDRH3 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 108, una secuencia CDRL1 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 169, una secuencia de CDRL2 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 170 y una secuencia CDRL3 tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 171. En determinadas realizaciones, un scFab comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos proporcionada en cualquiera de las SEQ ID NO.:226-227.

"Fv" es un pequeño fragmento de anticuerpo que contiene un sitio completo de reconocimiento de antígenos y de unión a antígenos. Este fragmento consiste generalmente en un dímero de un dominio de región variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en una estrecha asociación no covalente. Sin embargo, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque normalmente con una afinidad menor que el sitio de unión completo.

"Fv monocatenario", también abreviado como "sFv" o "scFv", son fragmentos de anticuerpos que comprenden los dominios de anticuerpos VH y VL unidos en una única cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, el polipéptido scFv comprende un conector polipeptídico dispuesto entre los dominios VH y VL y que los une, lo que permite que el scFv retenga o forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Tal conector peptídico se puede incorporar en un polipéptido de fusión usando tecnologías estándar bien conocidas en la técnica. Adicional o alternativamente, Fv puede tener un enlace disulfuro entre y estabilizando el VH y el VL. Para una revisión de scFv, véase Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pag. 2126-269-315 (1994); Borrebaeck 1995, *infra*. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende un scFv que comprende un dominio VH, un dominio VL y un conector peptídico que une el dominio VH al dominio VL. En realizaciones particulares, un scFv comprende un dominio VH unido a un dominio VL por un enlazador peptídico que puede estar en una orientación VH-enlazador-VL o en una orientación VL-enlazador-VH. Cualquier scFv de la presente descripción puede diseñarse de modo que el extremo C-terminal del dominio VL esté unido mediante una secuencia peptídica corta al extremo N-terminal del dominio VH o viceversa (es decir, (N)VL(C)-enlazador-(N)VH(C) o (N)VH(C)-enlazador-(N)VL(C)). Alternativamente, en algunas realizaciones, un enlazador puede estar enlazado a una porción o extremo N-terminal del dominio VH, del dominio VL o de ambos.

Las secuencias del conector peptídico pueden elegirse, por ejemplo, basándose en: (1) su capacidad para adoptar una conformación extendida flexible; (2) su incapacidad o falta de capacidad para adoptar una estructura secundaria que pudiera interaccionar con epítomos funcionales en el primer y segundo polipéptido y/o en una molécula diana; y/o (3) la falta o relativa falta de residuos hidrófobos o cargados que puedan reaccionar con los polipéptidos y/o la molécula diana. Otras consideraciones relacionadas con el diseño del conector (por ejemplo, la longitud) pueden incluir la conformación o el rango de conformaciones en las que VH y VL pueden formar un sitio de unión a antígeno funcional. En ciertas realizaciones, las secuencias de enlace peptídico contienen, por ejemplo, residuos Gly, Asn y Ser. Otros aminoácidos casi neutros, como Thr y Ala, también pueden incluirse en una secuencia enlazadora. Otras secuencias de aminoácidos que pueden emplearse de manera útil como conector incluyen las descritas en Maratea et al., *Gene* 40:39-46 (1985); Murphy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:8258-8262 (1986); Patente US 4.935.233 y patente US. 4.751.180. Otros ejemplos ilustrativos y no limitativos de enlazadores pueden incluir, por ejemplo, Glu-Gly-Lys-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Glu-Ser-Lys-Val-Asp (SEQ ID NO: 215) (Chaudhary et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1066-1070 (1990)) y Lys-Glu-Ser-Gly-Ser-Val-Ser-Ser-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Phe-Arg-Ser-Leu-Asp (SEQ ID NO: 216) (Bird et al., *Science* 242:423-426 (1988)) y el pentámero Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 217) cuando está presente en una sola iteración o repetido 1 a 5 o más veces, o más; ver, por ejemplo, SEQ ID NO: 213. Se puede usar cualquier enlazador adecuado y, en general, puede ser de aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 15-23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 aminoácidos de longitud, o menos de aproximadamente 200 aminoácidos de longitud, y preferiblemente comprenderá una estructura flexible (puede proporcionar flexibilidad y espacio para el movimiento conformacional entre dos regiones, dominios, motivos, fragmentos o módulos conectados por el enlazador), y preferiblemente será biológicamente inerte y/o tendrá un bajo riesgo de inmunogenicidad en un ser humano. Ejemplos de enlazadores incluyen aquellos que comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos según cualquiera o las SEQ ID NO: 206-217. En determinadas realizaciones, el enlazador comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 % (es decir, al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más) de identidad con la secuencia de aminoácidos según cualquiera de las SEQ ID NO: 206-217.

Un scFv puede comprender la secuencia VH proporcionada en la SEQ ID NO:113 y la secuencia VL proporcionada en la SEQ ID NO: 168. Un scFab puede comprender una secuencia CDRH1 como se proporciona en la SEQ ID NO:106, una secuencia CDRH2 como se proporciona en la SEQ ID NO:121, una secuencia CDRH3 como se proporciona en la SEQ ID NO:108, una secuencia CDRL1 como se proporciona en la SEQ ID NO: 169, una secuencia CDRL2 como se proporciona en la SEQ ID NO: 170 y una secuencia CDRL3 como se proporciona en la SEQ ID NO: 171. En ciertas realizaciones, un scFv puede comprender la secuencia de aminoácidos proporcionada en las SEQ ID NO:228-229.

En algunas realizaciones no se requieren secuencias enlazadoras; por ejemplo cuando los polipéptidos primero y segundo tienen regiones de aminoácidos N-terminales no esenciales que pueden usarse para separar los dominios funcionales y evitar la interferencia estérica.

Durante el desarrollo de anticuerpos, el ADN en los loci de los genes variable (V), de unión (J) y de diversidad (D) de la línea germinal puede reorganizarse y pueden ocurrir inserciones y/o deleciones de nucleótidos en la secuencia codificante. Las mutaciones somáticas pueden estar codificadas por la secuencia resultante y pueden identificarse por referencia a una secuencia de línea germinal conocida correspondiente. En algunos contextos, las mutaciones somáticas que no son críticas para una propiedad deseada del anticuerpo (p. ej. la unión a un antígeno de SARS-CoV-2) o que confieren una propiedad indeseable al anticuerpo (p. ej. un mayor riesgo de inmunogenicidad en un sujeto al que se administró el anticuerpo), o ambas pueden ser reemplazadas

- por el aminoácido codificado en la línea germinal correspondiente o por un aminoácido diferente, de modo que se mejore o mantenga una propiedad deseable del anticuerpo y se reduzca o elimine la propiedad indeseable del anticuerpo. Así, en algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende al menos un aminoácido más codificado en la línea germinal en una región variable en comparación con un anticuerpo original o fragmento de unión a antígeno, siempre que el anticuerpo o antígeno original del fragmento de unión comprenda una o más mutaciones somáticas. Secuencias ilustrativas de aminoácidos de la región variable y CDR de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 de la presente descripción se proporcionan aquí en la Tabla 2.
- 5 En determinadas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una modificación de un aminoácido (p. ej. una mutación de sustitución) para eliminar un riesgo no deseado de oxidación, desamidación y/o isomerización.
- 10 También se proporcionan aquí variantes de anticuerpos que comprenden una o más alteraciones de aminoácidos en una región variable (p. ej. VH, VL, marco o CDR) en comparación con un anticuerpo ("padre") actualmente descrito donde la variante de anticuerpo es capaz de unirse a un antígeno de SARS-CoV-2.
- 15 En determinadas realizaciones, el VH comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 % (es decir, un 85 %, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100%) de identidad con la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:113 donde la variación está limitada a una o más regiones estructurales y, opcionalmente, la variación comprende una o más sustituciones de un aminoácido codificado en la línea germinal; y/o (ii) el VL comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene
- 20 al menos un 85 % (es decir, un 85 %, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100%) de identidad con la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:168, donde la variación está limitada a una o más regiones marco y, opcionalmente, la variación comprende una o más sustituciones de un aminoácido codificado en la línea germinal.
- 25 En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende las secuencias de aminoácidos VH y VL que están codificadas por o que son las mismas que las secuencias de aminoácidos VH y VL que están codificadas por:
- 30 (i) un gen VH1-18 y un gen VK3-20, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH1-18 y VK3-20, respectivamente;
- 35 (ii) un alelo VH3-7 y un alelo VL3-25, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH3-7 y VL3-25, respectivamente;
- 40 (iii) un alelo VH3-23 y un alelo VK1-5, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH3-23 y VK1-5, respectivamente;
- 45 (iv) un alelo VH3-13 y un alelo VK1-39 respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con VH3-13 y VK1-39, respectivamente;
- 50 (v) un alelo VH1-18 y un alelo VK3-11, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH1-18 y VK3-11, respectivamente; o
- (vi) un alelo VH1-69 y un alelo VL2-23, respectivamente, o que están codificados por un polinucleótido que tiene al menos el 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% de identidad con VH1-69 y VL2-23, respectivamente.
- En realizaciones particulares, VH y VL comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos según las SEQ ID NO.: 113 y 168, respectivamente.
- 50 En determinadas realizaciones, el antígeno o el fragmento de unión a antígeno comprende un VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:113 y un VL que comprende o

consiste en la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO.:168 y se une a la proteína S de RBD de SARS-CoV-2 con una CE50 de 9 a 23 ng/ml.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es monoespecífico (por ejemplo se une a un solo epítipo) o es multiespecífico (por ejemplo se une a múltiples epítipos y/o moléculas diana). Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno pueden construirse en diversos formatos. Formatos de anticuerpos ilustrativos se describen en Spiess et al., Mol. Immunol. 67(2):95 (2015), y en Brinkmann and Kontermann, mAbs 9(2): 182-212 (2017), e incluyen, por ejemplo, Bispecific T Engagers celulares (BiTE), DART, ensamblajes Knobs- Into-Holes (KIH), ensamblajes scFv-CH3-KIH, anticuerpos de cadena ligera común KIH, TandAbs, cuerpos triples, minicuerpos TriBi, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')₂-scFv₂, HCab tetraivalentes, intracuerpos, CrossMabs, Fab de doble acción (DAF) (dos en uno o cuatro en uno), DutaMabs, DT-IgG, pares de carga, brazo Fab Exchange, cuerpos SEED, Triomabs, ensamblajes LUZ-Y, Fcabs, cuerpos κλ, Fab ortogonales, DVD-Igs (p. ej. patente US 8.258.268), scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L)IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KIH IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, Zyboby y DVI-IgG (cuatro en uno), así como los denominados FIT-Ig (por ejemplo Publicación PCT N°. WO 2015/103072), los llamados formatos WuxiBody (por ejemplo Publicación PCT N°. WO 2019/057122), y los llamados formatos In-Elbow-Insert Ig (IEI-Ig; por ejemplo Publicaciones PCT N°. WO 2019/024979 y WO 2019/025391).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende dos o más dominios VH, dos o más dominios VL, o ambos (es decir, dos o más dominios VH y dos o más dominios VL). En realizaciones particulares, un fragmento de unión a antígeno comprende el formato (dirección N-terminal a C-terminal) VH-enlazador-VL-enlazador-VH-enlazador-VL, donde las dos secuencias VH pueden ser iguales o diferentes y las dos secuencias VL pueden ser iguales o diferentes. Dichos scFv enlazados pueden incluir cualquier combinación de dominios VH y VL dispuestos para unirse a una diana dada, y en formatos que comprenden dos o más VH y/o dos o más VL, se pueden unir uno, dos o más epítipos o antígenos diferentes. Se apreciará que los formatos que incorporan múltiples dominios de unión a antígeno pueden incluir secuencias VH y/o VL en cualquier combinación u orientación. Por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno puede comprender el formato VL-enlazador-VH-enlazador-VL-enlazador-VH, VH-enlazador-VL-enlazador-VL-enlazador-VH o VL-enlazador-VH-enlazador-VH-enlazador-VL.

Los anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos o los fragmentos de unión a antígeno de la presente descripción comprenden (i) las secuencias CDR tal como se definen en la reivindicación 1 y (ii) pueden comprender además cualquier combinación de las secuencias VH y VL y/o cualquier combinación de las secuencias CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 aquí descritas. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia VH proporcionada en la SEQ ID NO.:113 y la secuencia VL proporcionada en la SEQ ID NO.:168. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una secuencia CDRH1 como se proporciona en la SEQ ID NO.:106, una secuencia CDRH2 como se proporciona en la SEQ ID NO.:121, una secuencia CDRH3 como se proporciona en la SEQ ID NO.:108, una secuencia CDRL1 como se proporciona en la SEQ ID NO.:169, una secuencia CDRL2 como se proporciona en la SEQ ID NO.:170 y una secuencia CDRL3 como se proporciona en la SEQ ID NO.:171. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos proporcionada en cualquiera de las SEQ ID NO.:230- 233. En algunos aspectos, un anticuerpo biespecífico o multiespecífico o un fragmento de unión a antígeno puede comprender uno, dos o más dominios de unión a antígeno (por ejemplo, un VH y un VL) de la presente descripción, donde uno o más dominios de unión a antígeno son como se define en las reivindicaciones. Pueden estar presentes dos o más dominios de unión que se unen al mismo epítipo de SARS-CoV-2 o a uno diferente, y un anticuerpo biespecífico o multiespecífico o un fragmento de unión a antígeno como se proporciona aquí puede comprender, en algunos aspectos, un dominio de unión a SARS-CoV-2 adicional y/o puede comprender un dominio de unión que se une a un antígeno o patógeno diferente por completo.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno puede ser multiespecífico, por ejemplo biespecífico o triespecífico.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende: (i) un primer VH y un primer VL; y (ii) un segundo VH y un segundo VL, donde el primer VH y el segundo VH son diferentes y cada uno comprende, independientemente, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 85% (es decir, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NO.: 1, 9-15, 23, 24, 27-46, 55, 63, 79, 87, 95, 103, 105, 113-120, 129-146, 155, 172, 176-178, 194, 196, 198, 200, 202 y 239, y donde el primer VL y el segundo VL son diferentes y cada uno comprende independientemente una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 % (es decir, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NO.:5, 47-50, 59, 67, 71, 72, 75, 76, 83, 91, 99, 109, 147-150, 159, 168, 182, 190, 234 y 243, y donde el primer VH y el primer VL juntos forman un primer sitio de unión a antígeno y donde el

segundo VH y el segundo VL juntos forman un segundo sitio de unión a antígeno y donde o bien el primer VH y el primer VL o bien el segundo VH o el segundo VL comprenden la combinación de seis secuencias CDR tal como se definen en la reivindicación 1.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende un polipéptido Fc o un fragmento del mismo. El "Fc" comprende las porciones carboxi-terminales (es decir, los dominios CH2 y CH3 de IgG) de ambas cadenas H del anticuerpo que se mantienen unidas por disulfuros. Las "funciones efectoras" de anticuerpos se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o una región Fc variante de la secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo y varían con el isotipo del anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen: unión a C1q y citotoxicidad dependiente del complemento; unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación a la baja de los receptores de la superficie celular (p. ej. receptor de células B); y activación de células B. Como se analiza aquí, se pueden hacer modificaciones (p. ej. sustituciones de aminoácidos) en un dominio Fc para modificar (p. ej. mejorar, reducir o eliminar) una o más funcionalidades de un polipéptido que contiene Fc (p. ej. un anticuerpo de la presente descripción). Dichas funciones incluyen, por ejemplo, la unión al receptor Fc (FcR), la modulación de la vida media del anticuerpo (por ejemplo mediante la unión a FcRn), la función ADCC, la unión a la proteína A, la unión a la proteína G y la unión al complemento. Las modificaciones de aminoácidos que modifican (por ejemplo mejoran, reducen o eliminan) las funcionalidades de Fc incluyen, por ejemplo, las mutaciones T250Q/M428L, M252Y/S254T/T256E, H433K/N434F, M428L/N434S, E233P/L234V/L235A/G236 + A327G/A330S/P331S, E333A, S239D/A330L/I332E, P257I/Q311, K326W/E333S, S239D/I332E/G236A, N297Q, K322A, S228P, L235E+E318A/K320A/K322A, L234A/L235A (también denominada aquí "LALA") y L234A/L235A/P329G, estas mutaciones se resumen y anotan en "Engineered Fc Regions", publicado por InvivoGen (2011) y disponible en línea invivogen.com/PDF/review/review-Engineered-Fc-Regions-invivogen.pdf?utm_source=review&utm_medium=pdf&utm_campaign=review&utm_content=Engineered-Fc-Regions. A menos que el contexto indique lo contrario, los residuos de aminoácidos de Fc se numeran en este documento de acuerdo con el sistema de numeración de la UE.

Por ejemplo, para activar la cascada de complemento, el complejo proteico C1q puede unirse a al menos dos moléculas de IgG1 o una molécula de IgM cuando la(s) molécula(s) de inmunoglobulina se unen a la diana antigénica (Ward, E. S., and Ghetie, V., *Ther. Immunol.* 2 (1995) 77-94). Burton, D. R., (*Mol. Immunol.* 22 (1985) 161-206) describieron que la región de la cadena pesada que comprende los residuos de aminoácidos 318 a 337 está implicada en la fijación del complemento. Duncan, A. R. y Winter, G. (*Nature* 332 (1988) 738-740), usando mutagénesis dirigida al sitio, informaron que Glu318, Lys320 y Lys322 forman el sitio de unión a C1q. El papel de los residuos Glu318, Lys320 y Lys 322 en la unión de C1q fue confirmado por la capacidad de un péptido sintético corto que contiene estos residuos de inhibir la lisis mediada por el complemento.

Por ejemplo, la unión de FcR puede estar mediada por la interacción del resto Fc (de un anticuerpo) con los receptores Fc (FcR), que son receptores de superficie celular especializados en células que incluyen células hematopoyéticas. Los receptores Fc pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y se ha demostrado que intervienen tanto en la eliminación de patógenos recubiertos de anticuerpos mediante fagocitosis de complejos inmunitarios como en la lisis de eritrocitos y otros objetivos celulares (p. ej. células tumorales) recubiertos con el anticuerpo correspondiente, vía citotoxicidad mediada por células dependientes (ADCC; Van de Winkel, J. G. y Anderson, C. L., *J. Leukoc. Biol.* 49 (1991) 511-524). Los FcR se definen por su especificidad para las clases de inmunoglobulinas; los receptores Fc para anticuerpos IgG se denominan FcγR, para IgE FcεR, para IgA FcαR, etc. y los receptores Fc neonatales se denominan FcRn. La unión al receptor Fc se describe, por ejemplo, en Ravetch, J. V. y Kinet, J. P., *Annu. Rev. Immunol.* 9 (1991) 457-492; Capel, P. J. y col., *Immunomethods* 4 (1994) 25-34; de Haas, M. y col., *J. Lab. Clin. Med.* 126 (1995) 330-341; y Gessner, J.E. y col., *Ann. Hematol.* 76 (1998) 231-248.

La reticulación de los receptores mediante el dominio Fc de los anticuerpos IgG nativos (FcγR) desencadena una amplia variedad de funciones efectoras, incluyendo fagocitosis, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y liberación de mediadores inflamatorios, así como eliminación de complejos inmunitarios y regulación de la producción de anticuerpos. Los restos Fc proporcionados por la reticulación de los receptores (p. ej. FcγR) se contemplan en este documento. En humanos, hasta la fecha se han caracterizado tres clases de FcγR, que son: (i) FcγRI (CD64), que se une a IgG monomérica con alta afinidad y se expresa en macrófagos, monocitos, neutrófilos y eosinófilos; (ii) FcγRII (CD32), que se une a IgG complejada con afinidad media a baja, se expresa ampliamente, en particular en los leucocitos, se cree que es un actor central en la inmunidad mediada por anticuerpos, y que se puede dividir en FcγRIIA, FcγRIIB y FcγRIIC, que realizan diferentes funciones en el sistema inmunológico, pero se unen con baja afinidad similar a la IgG-Fc, y los ectodominios de estos receptores son altamente homólogos; y (iii) FcγRIII (CD16), que se une a IgG con afinidad media a baja y se ha encontrado en dos formas: FcγRIIIA, que se ha encontrado en células NK, macrófagos, eosinófilos y algunos monocitos y células T, y se cree que media ADCC; y FcγRIIIB, que se expresa en gran medida en los neutrófilos.

FcγRIIA se encuentra en muchas células implicadas en la muerte (p. ej. macrófagos, monocitos, neutrófilos) y parece capaz de activar el proceso de muerte. FcγRIIB parece desempeñar un papel en los procesos inhibidores y se encuentra en las células B, macrófagos y mastocitos y eosinófilos. Es importante señalar que se ha demostrado que el 75 % de todo el FcγRIIB se encuentra en el hígado (Ganesan, L. P. et al., 2012: "FcγRIIB on liver sinusoidal endothelium clears small immuno complexes", *Journal of Immunology* 189: 4981-4988). FcγRIIB se expresa abundantemente en el endotelio sinusoidal hepático, llamado LSEC, y en las células de Kupffer del hígado, y las LSEC son el sitio principal de eliminación de pequeños complejos inmunitarios (Ganesan, L. P. et al., 2012: FcγRIIB on liver sinusoidal endothelium clears small immune complexes. *Journal of Immunology* 189: 4981-4988).

En algunas realizaciones, los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden un polipéptido Fc o un fragmento del mismo para unirse a FcγRIIB, en particular una región Fc, por ejemplo anticuerpos de tipo IgG. Además, es posible diseñar el resto Fc para mejorar la unión de FcγRIIB mediante la introducción de las mutaciones S267E y L328F como se describe en Chu, S. Y. et al., 2008: Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and FcγRIIB with Fc-engineered antibodies. *Molecular Immunology* 45, 3926-3933. Así, se puede mejorar la eliminación de complejos inmunitarios (Chu, S., et al., 2014: Accelerated Clearance of IgE In Chimpanzees Is Mediated By Xmap7195, An Fc-Engineered Antibody With Enhanced Affinity For Inhibitory Receptor FcγRIIB. *Am J Respir Crit, American Thoracic Society International Conference Abstracts*). En algunas realizaciones, los anticuerpos o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden un resto Fc diseñado con las mutaciones S267E y L328F, en particular como se describe en Chu, S. Y. et al., 2008: Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and FcγRIIB with Fc-engineered antibodies. *Molecular Immunology* 45, 3926-3933.

En células B, FcγRIIB puede funcionar para suprimir la producción de inmunoglobulinas y el cambio de isotipo, por ejemplo, a la clase IgE. En macrófagos, se cree que FcγRIIB inhibe la fagocitosis mediada por FcγRIIA. En eosinófilos y mastocitos, la forma B puede ayudar a suprimir la activación de estas células a través de la unión de IgE a su receptor separado.

Con respecto a la unión a FcγRI, la modificación en la IgG nativa de al menos uno de E233-G236, P238, D265, N297, A327 y P329 reduce la unión a FcγRI. Los residuos de IgG2 en las posiciones 233-236, sustituidos en las posiciones correspondientes IgG1 e IgG4, reducen la unión de IgG1 e IgG4 a FcγRI en 103 veces y eliminan la respuesta de los monocitos humanos a los glóbulos rojos sensibilizados con anticuerpos (Armour, K. L., et al. *Eur. J. Immunol.* 29 (1999) 2613-2624).

Con respecto a la unión de FcγRII, se encuentra una unión reducida para FcγRIIA, por ejemplo, para la mutación de IgG de al menos uno de E233-G236, P238, D265, N297, A327, P329, D270, Q295, A327, R292 y K414.

Dos formas alélicas de FcγRIIA humano son la variante "H131", que se une a IgG1 Fc con alta afinidad y la variante "R131", que se une a IgG1 Fc con baja afinidad. Véase, por ejemplo, Bruhns et al., *Blood* 113:3716-3725 (2009).

Con respecto a la unión de FcγRIII, se encuentra una unión reducida a FcγRIIIA, por ejemplo, para la mutación de al menos uno de E233-G236, P238, D265, N297, A327, P329, D270, Q295, A327, S239, E269, E293, Y296, V303, A327, K338 y D376. El mapeo de los sitios de unión en IgG1 humana para receptores Fc, los sitios de mutación mencionados anteriormente y los métodos para medir la unión a FcγRI y FcγRIIA, se describen en Shields, R. L., et al., *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 6591-6604.

Dos formas alélicas de FcγRIIIA humano son la variante "F158", que se une a IgG1 Fc con baja afinidad, y la variante "V158", que se une a IgG1 Fc con alta afinidad. Véase, por ejemplo, Bruhns et al., *Blood* 113:3716-3725 (2009).

Con respecto a la unión a FcγRII, dos regiones de IgG Fc nativo parecen estar involucradas en las interacciones entre FcγRII e IgG, a saber (i) el sitio de bisagra inferior de IgG Fc, en particular los residuos de aminoácidos L, L, G, G (234 - 237, numeración EU), y (ii) la región adyacente del dominio CH2 de IgG Fc, en particular un bucle y hebras en el dominio CH2 superior adyacente a la región bisagra inferior, p. ej. en una región de P331 (Wines, B.D., et al., *J. Immunol.* 2000; 164: 5313 - 5318). Además, FcγRI parece unirse al mismo sitio en IgG Fc, mientras que FcRn y la Proteína A se unen a un sitio diferente en IgG Fc, que parece estar en la interfaz CH2-CH3 (Wines, B.D., et al., *J. Immunol.* 2000; 164: 5313 - 5318).

También se contemplan mutaciones que aumentan la afinidad de unión de un polipéptido Fc o fragmento del mismo de la presente descripción a un (es decir, uno o más) receptor Fcγ (por ejemplo, en comparación con un polipéptido Fc de referencia o un fragmento del mismo o que contiene el mismo que no comprenden la(s)

mutación(es); por ejemplo, un polipéptido Fc de tipo salvaje o un fragmento del mismo (por ejemplo, del mismo isotipo que el polipéptido Fc o un fragmento del mismo que comprende la mutación o mutaciones) o un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que por lo demás es idéntico o es esencialmente idéntico al polipéptido Fc o fragmento del mismo que comprende la mutación o mutaciones). Véase, por ejemplo, Delillo y Ravetch, Cell 161(5):1035-1045 (2015) y Ahmed et al., J. Struc. Biol. 194(1):78 (2016).

En cualquiera de las realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno puede comprender un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que comprende una mutación seleccionada de G236A; S239D; A330L; y I332E; o una combinación que comprende dos o más de las mismas; por ejemplo, S239D/I332E; S239D/A330L/I332E; G236A/S239D/I332E; G236A/A330L/I332E (también denominada aquí "GAALIE"); o G236A/S239D/A330L/I332E. En algunas realizaciones, el polipéptido Fc o fragmento del mismo no comprende S239D. En algunas realizaciones, el polipéptido Fc o fragmento del mismo comprende S en la posición 239.

En ciertas realizaciones, el polipéptido Fc o un fragmento del mismo puede comprender o consistir en al menos una parte de un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que está implicado en la unión a la unión de FcRn. En determinadas realizaciones, el polipéptido Fc o el fragmento del mismo comprende una o más modificaciones de aminoácidos que mejoran la afinidad de unión (por ejemplo, aumentan la unión a) por FcRn (por ejemplo a un pH de aproximadamente 6,0) y, en algunas realizaciones, extienden así la vida media *in vivo* de una molécula que comprende el polipéptido Fc o un fragmento del mismo (p. ej. en comparación con un polipéptido Fc de referencia (p. ej. de tipo salvaje) o un fragmento del mismo o un anticuerpo que es por lo demás igual pero que no comprende la(s) modificación(es)). En ciertas realizaciones, el polipéptido Fc o el fragmento del mismo comprende o se deriva de un IgG Fc y una mutación que prolonga la vida media comprende una cualquiera o más de: M428L; N434S; N434H; N434A; N434S; M252Y; S254T; T256E; T250Q; P257I; Q311I; D376V; T307A; E380A (numeración UE). En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende M428L/N434S (también denominada aquí "MLNS" o "LS"). En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende M252Y/S254T/T256E. En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende T250Q/M428L. En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende P257I/Q311I. En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende P257I/N434H. En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende D376V/N434H. En ciertas realizaciones, una mutación que prolonga la vida media comprende T307A/E380A/N434A.

En algunas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno incluye un resto Fc que comprende las mutaciones de sustitución M428L/N434S. En algunas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno incluye un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que comprende las mutaciones de sustitución G236A/A330L/I332E. En ciertas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno incluye un resto Fc (p. ej. IgG) que comprende una mutación G236A, una mutación A330L y una mutación I332E (GAALIE), y no comprende una mutación S239D (p. ej. comprende un S nativo en la posición 239). En realizaciones particulares, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno incluye un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que comprende las mutaciones de sustitución: M428L/N434S y G236A/A330L/I332E, y opcionalmente no comprende S239D. En ciertas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno incluye un polipéptido Fc o un fragmento del mismo que comprende las mutaciones de sustitución: M428L/N434S y G236A/S239D/A330L/I332E.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una mutación que altera la glicosilación, comprendiendo la mutación que altera la glicosilación N297A, N297Q o N297G, y/o el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno está parcial o totalmente aglicosilado y/o está parcial o totalmente afucosilado. Se conocen líneas de células huésped y métodos para producir anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno parcial o totalmente aglicosilados o parcial o totalmente afucosilados (véase, por ejemplo, la publicación PCT N°. WO 2016/181357; Suzuki et al. Clin. Cáncer Res. 13(6):1875-82 (2007); Huang et al. MAb 6:1-12 (2018)).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de provocar una protección continua *in vivo* en un sujeto incluso cuando no se pueden encontrar niveles detectables del anticuerpo o del fragmento de unión al antígeno en el sujeto (es decir, cuando el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno el fragmento de unión se ha eliminado del sujeto después de la administración). Dicha protección se denomina aquí efecto vacunal. Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que las células dendríticas pueden internalizar los complejos anticuerpo y antígeno y, posteriormente, inducir o contribuir a una respuesta inmunitaria endógena contra el antígeno. En ciertas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una o más modificaciones, tales como, por ejemplo, mutaciones en Fc que comprenden G236A, A330L e I332E, que son capaces de activar células dendríticas que pueden inducir, por ejemplo, inmunidad de células T al antígeno.

En cualquiera de las realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende un polipéptido Fc o un fragmento del mismo, incluyendo un CH2 (o un fragmento del mismo), un CH3 (o un fragmento del mismo) o un CH2 y un CH3, donde CH2, CH3 o ambos pueden ser de cualquier isotipo y pueden contener sustituciones de aminoácidos u otras modificaciones en comparación con un CH2 o CH3 de tipo salvaje correspondiente, respectivamente. En ciertas realizaciones, un polipéptido Fc comprende dos polipéptidos CH2-CH3 que se asocian para formar un dímero.

En cualquiera de las realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno puede ser monoclonal. El término "anticuerpo monoclonal" (mAb), tal como se usa aquí, se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos esencialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos excepto por posibles mutaciones naturales que pueden estar presentes, en algunos casos en casos, en pequeño número. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos y se dirigen contra un solo sitio antigénico. Además, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes epítomos, cada anticuerpo monoclonal está dirigido contra un solo epítomo del antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos porque pueden sintetizarse sin estar contaminados por otros anticuerpos. El término "monoclonal" no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales útiles en la presente invención pueden prepararse mediante la metodología de hibridoma descrita por primera vez por Kohler et al., *Nature* 256:495 (1975), o pueden prepararse utilizando métodos de ADN recombinante en células bacterianas, animales eucariotas o vegetales. (véase, por ejemplo, la patente US 4.816.567). Los anticuerpos monoclonales también pueden aislarse de librerías de anticuerpos de fagos usando las técnicas descritas en Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991), por ejemplo. Los anticuerpos monoclonales también se pueden obtener usando los métodos descritos en la publicación PCT WO 2004/076677A2.

Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno de la presente descripción incluyen "anticuerpos quiméricos" en los que parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la o las cadenas son idénticas u homólogas a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada. (ver, US 4.816.567; 5.530.101 y 7.498.415; y Morrison y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Por ejemplo, los anticuerpos quiméricos pueden comprender residuos humanos y no humanos. Además, los anticuerpos quiméricos pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para perfeccionar aún más el rendimiento de los anticuerpos. Para más detalles, véase Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann y col., *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). Los anticuerpos quiméricos también incluyen anticuerpos primatizados y humanizados.

Generalmente se considera un "anticuerpo humanizado" como un anticuerpo humano que tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en él desde una fuente que no es humana. Estos residuos de aminoácidos no humanos normalmente se toman de un dominio variable. La humanización puede realizarse siguiendo el método de Winter y col. (Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986); Reichmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)), sustituyendo secuencias variables no humanas por las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano. Por consiguiente, dichos anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos (patente US 4.816.567; 5.530.101 y 7.498.415) donde esencialmente menos de un dominio variable humano intacto ha sido sustituido por la secuencia correspondiente de una especie no humana. En algunos casos, un anticuerpo "humanizado" es aquel producido por una célula o animal no humano y comprende secuencias humanas, por ejemplo, dominios H_C.

Un "anticuerpo humano" es un anticuerpo que contiene solo secuencias que están presentes en un anticuerpo producido por un ser humano. Sin embargo, tal como se usa aquí, los anticuerpos humanos pueden comprender residuos o modificaciones que no se encuentran en un anticuerpo humano natural (p. ej. un anticuerpo que se aísla de un ser humano), incluyendo aquellas modificaciones y secuencias variantes aquí descritas. Típicamente se fabrican para refinar o mejorar aún más el rendimiento de los anticuerpos. En algunos casos, los anticuerpos humanos son producidos por animales transgénicos. Véase, por ejemplo, las patentes US 5.770.429; 6.596.541 y 7.049.426.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es quimérico, humanizado o humano.

55 Polinucleótidos, vectores y células huésped

En otro aspecto, la presente descripción proporciona polinucleótidos aislados, no contemplados en las reivindicaciones, que codifican los anticuerpos aquí descritos o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

o parte de los mismos (por ejemplo un CDR, VH, VL, una cadena pesada o una cadena ligera). En ciertos aspectos, el polinucleótido tiene codones optimizados para la expresión en una célula huésped. Una vez que se conoce o identifica una secuencia de codificación, la optimización de codones se puede realizar usando técnicas y herramientas conocidas, por ejemplo la herramienta GenScript® OptimumGene™ o Gene Synthesis by GeneArt® (ThermoFisher); véase también Scholten et al., Clin. Immunol. 119:135, 2006). Las secuencias con codones optimizados incluyen secuencias que están parcialmente optimizadas con codones (es decir, uno o una pluralidad de codones están optimizados para la expresión en la célula huésped) y aquellas que están completamente optimizadas con codones.

También se apreciará que los polinucleótidos que codifican anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de la presente descripción pueden poseer diferentes secuencias de nucleótidos mientras aún codifican un mismo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno debido, por ejemplo, a la degeneración del código genético, empalme y similares.

En ciertos aspectos, el polinucleótido comprende un polinucleótido que tiene al menos un 50 % (es decir, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad con la secuencia de polinucleótidos de acuerdo con una o más de las SEQ ID NO.:186-189, 191-192, 238, 247, 248-250, 254-255 y 257-262.

Se apreciará que, en ciertos aspectos, un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno está comprendido en un polinucleótido que incluye otras secuencias y/o características para, por ejemplo, la expresión del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno en una célula huésped. Ejemplos de características incluyen una secuencia promotora, una secuencia de poliadenilación, una secuencia que codifica un péptido señal (p. ej. ubicado en el extremo N-terminal de una cadena pesada o ligera de un anticuerpo expresado). Por consiguiente, en algunos aspectos, un polinucleótido comprende además una secuencia de polinucleótidos que tiene al menos un 50 % de identidad con, comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NO.:251-253 y 263. En algunas realizaciones, un polinucleótido comprende una secuencia que codifica un péptido señal (también denominado secuencia líder) que tiene al menos un 90 %, comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO.:256 o SEQ ID NO.:264.

En cualquiera de los aspectos aquí descritos, el polinucleótido puede comprender ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN). En algunos aspectos, el ARN comprende ARN mensajero (ARNm).

También se proporcionan vectores, no contemplados en las reivindicaciones, donde los vectores comprenden o contienen un polinucleótido como se describe aquí (p. ej. un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a SARS-CoV-2). Un vector puede comprender cualquiera o más de los vectores aquí descritos. En aspectos particulares, se proporciona un vector que comprende un constructo plásmido de ADN que codifica el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno o parte del mismo (por ejemplo el denominado "DMAb"; véase, por ejemplo, Muthumani et al., J Infect Dis. 214(3):369-378 (2016); Muthumani et al., Hum Vaccin Immunother 9:2253-2262 (2013)); Flingai et al., Sci Rep. 5:12616 (2015); y Elliott et al., NPJ Vaccines 18(2017). En ciertos aspectos, un constructo plásmido de ADN comprende un único marco de lectura abierto que codifica una cadena pesada y una cadena ligera (o VH y VL) del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, donde la secuencia que codifica la cadena pesada y la secuencia que codifica la cadena ligera están separadas opcionalmente por un polinucleótido que codifica un sitio de escisión de proteasa y/o por un polinucleótido que codifica un péptido autoescindible. En algunos aspectos, los componentes sustituyentes del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno están codificados por un polinucleótido comprendido en un único plásmido. En otros aspectos, los componentes sustituyentes del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno están codificados por un polinucleótido comprendido en dos o más plásmidos (p. ej. un primer plásmido comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada, VH o VH+CH y un segundo plásmido comprende un polinucleótido que codifica la cadena ligera afin, VL o VL+CL). En determinados aspectos, un solo plásmido comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada y/o una cadena ligera de dos o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno. Un ejemplo de vector de expresión es pVax1, disponible de Invitrogen®. Un plásmido de ADN de la presente descripción se puede administrar a un sujeto, por ejemplo mediante electroporación (p. ej. electroporación intramuscular) o mediante una formulación apropiada (p. ej. hialuronidasa). En algunos aspectos, un vector comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido señal. El péptido señal puede estar presente o no (p. ej. se puede escindir enzimáticamente) en el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno maduro. En ciertos aspectos, el péptido señal está codificado por una secuencia de nucleótidos como se establece en SEQ ID NO.:252 o SEQ ID NO.:263, y/o el péptido señal comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO.:256 o SEQ ID NO.:264. En algunos aspectos, un vector de la presente descripción comprende una secuencia señal de poliadenilación. En ciertos aspectos, la secuencia señal de poliadenilación comprende o consiste en la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID NO.:253.

En algunos aspectos, un vector de la presente descripción comprende un promotor CMV. En ciertos aspectos, el promotor comprende o consiste en la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID NO.:251.

El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno según la presente descripción puede ser expresado en una célula huésped, la cual comprende o contiene un vector o polinucleótido según la presente descripción.

- 5 Ejemplos de tales células incluyen, pero no se limitan a, células eucariotas, por ejemplo células de levadura, células animales, células de insectos, células vegetales; y células procarióticas, incluyendo *E. coli*. En algunos aspectos, las células son células de mamífero. En ciertos de tales aspectos, las células son una línea celular de mamífero, tal como células CHO (p. ej. células DHFR-CHO (Urlaub et al., PNAS 77:4216 (1980)), células de riñón embrionario humano (p. ej. células HEK293T), células PER.C6, células Y0, células Sp2/0, células NS0, 10 células hepáticas humanas, p. ej. células Hepa RG, células de mieloma o células de hibridoma. Otros ejemplos de líneas de células huésped de mamífero incluyen células de sertoli de ratón (p. ej. células TM4); línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); células de riñón de cría de hámster (BHK); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células de riñón de mono (CV1); células de carcinoma cervical humano (HELA); células de pulmón humano (W138); células hepáticas humanas (Hep G2); células de riñón canino (MDCK); células de hígado de rata de búfalo (BRL 3A); tumor mamario de ratón (MMT 060562); células TRI; 15 células MRC 5; y células FS4. Las líneas de células huésped de mamífero adecuadas para la producción de anticuerpos también incluyen las descritas, por ejemplo, en Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003).

- 20 En ciertos aspectos, una célula huésped es una célula procariótica, tal como *E. coli*. La expresión de péptidos en células procarióticas tales como *E. coli* está bien establecida (véase, por ejemplo, Pluckthun, A. *Bio/Technology* 9:545-551 (1991)). Por ejemplo, se pueden producir anticuerpos en bacterias, en particular cuando no se necesita la glicosilación y la función efectora Fc. Para la expresión de fragmentos de anticuerpos y polipéptidos en bacterias, véase, por ejemplo, las patentes US 5.648.237, 5.789.199 y 5.840.523.

- 25 En aspectos particulares, la célula puede transfectarse con un vector según la presente descripción con un vector de expresión. El término "transfección" se refiere a la introducción de moléculas de ácido nucleico, como moléculas de ADN o ARN (por ejemplo ARNm), en células, tal como en células eucariotas. En el contexto de la presente descripción, el término "transfección" abarca cualquier método conocido por el experto en la materia para introducir moléculas de ácido nucleico en células, como en células eucariotas, incluyendo células de mamífero. Dichos métodos abarcan, por ejemplo, electroporación, lipofección, por ejemplo basada en lípidos 30 catiónicos y/o liposomas, precipitación con fosfato de calcio, transfección basada en nanopartículas, transfección basada en virus o transfección basada en polímeros catiónicos, como DEAE-dextrano o polietiliminina, etc. En ciertos aspectos, la introducción no es viral.

- Además, las células huésped de la presente descripción pueden transfectarse de manera estable o transitoria con un vector de acuerdo con la presente descripción, p. ej. para expresar un anticuerpo o un fragmento de 35 unión a antígeno del mismo, según la presente descripción. En estos aspectos, las células pueden transfectarse de manera estable con el vector tal como se describe aquí. Alternativamente, las células pueden transfectarse transitoriamente con un vector según la presente descripción que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno como se describe aquí. En cualquiera de los aspectos aquí descritos, un polinucleótido puede ser heterólogo para la célula huésped.

- 40 El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la presente descripción puede expresarse de forma heteróloga mediante células huésped recombinantes. Por ejemplo, la célula puede ser de una especie diferente a la especie de la que se obtuvo total o parcialmente el anticuerpo (por ejemplo células CHO que expresan un anticuerpo humano o un anticuerpo humano modificado). En algunos aspectos, el tipo de célula huésped no expresa el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno en la naturaleza. Además, la célula huésped puede 45 impartir una modificación postraducciona (PTM; p. ej. glicosilación o fucosilación) al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que no está presente en un estado nativo del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno (o en un estado nativo de un anticuerpo parental a partir del cual se diseñó o derivó el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno). Tal PTM puede dar como resultado una diferencia funcional (p. ej. inmunogenicidad reducida). Así, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente descripción que es producido por una célula huésped como se describe aquí puede incluir una o más modificaciones postraduccionales que son 50 distintas del anticuerpo (o anticuerpo original) en su estado nativo (por ejemplo un anticuerpo humano producido por una célula CHO puede comprender una modificación más postraducciona que es distinta del anticuerpo cuando se aísla del ser humano y/o es producido por la célula B o célula plasmática humana nativa).

- 55 Células de insecto útiles que expresan una proteína de unión de la presente descripción son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, células de *Spodoptera frugiperla* Sf9, células *Trichoplusia* ni BTI-TN5B1-4 y células *Spodoptera frugiperla* SfSWT01 "Mimic™". Véase, por ejemplo, Palmberger et al., *J. Biotechnol.* 153(3-

4): 160-166 (2011). Se han identificado numerosas cepas de baculovirus que pueden usarse junto con células de insectos, en particular para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

5 Los microbios eucariotas, tales como hongos filamentosos o levaduras, también son huéspedes adecuados para la clonación o la expresión de vectores que codifican proteínas, e incluyen cepas de hongos y levaduras con vías de glicosilación "humanizadas", lo que resulta en la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano. Véase Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004); Li y col., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

10 Las células vegetales también se pueden utilizar como huéspedes para expresar una proteína de unión de la presente descripción. Por ejemplo, la tecnología PLANTIBODIES™ (descrita, por ejemplo, en las patentes US 5.959.177; 6.040.498; 6.420.548; 7.125.978; y 6.417.429) emplea plantas transgénicas para producir anticuerpos.

En ciertos aspectos, la célula huésped comprende una célula de mamífero. En aspectos particulares, la célula huésped es una célula CHO, una célula HEK293, una célula PER.C6, una célula Y0, una célula Sp2/0, una célula NS0, una célula de hígado humano, una célula de mieloma o una célula de hibridoma.

15 El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se puede producir por métodos que comprenden cultivar una célula huésped de la presente descripción en condiciones y durante un tiempo suficiente para producir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno. A modo de ejemplo, métodos útiles para aislar y purificar anticuerpos producidos de forma recombinante pueden incluir la obtención de sobrenadantes de sistemas de células huésped/vectores adecuados que secretan el anticuerpo recombinante en medios de cultivo y luego
20 concentrar los medios usando un filtro disponible comercialmente. Después de concentración, el concentrado se puede aplicar a una única matriz de purificación adecuada o a una serie de matrices adecuadas, como una matriz de afinidad o una resina de intercambio iónico. Se pueden emplear uno o más pasos de HPLC de fase inversa para purificar adicionalmente un polipéptido recombinante. Estos métodos de purificación también pueden emplearse cuando se aísla un inmunógeno de su entorno natural. Los métodos para la producción a
25 gran escala de uno o más de los anticuerpos aislados/recombinantes aquí descritos incluyen el cultivo celular por lotes, que se monitoriza y controla para mantener las condiciones de cultivo adecuadas. La purificación de anticuerpos solubles se puede realizar de acuerdo con los métodos aquí descritos y conocidos en la técnica y que cumplen con las leyes y directrices de las agencias reguladoras nacionales y extranjeras.

Composiciones

30 Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno aquí descritos pueden estar comprendidos en una composición, pudiendo comprender además la vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los vehículos, excipientes y diluyentes se analizan con mayor detalle en este documento.

En ciertos aspectos, una composición comprende una pluralidad de un anticuerpo y/o un fragmento de unión a antígeno donde uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno no comprenden un residuo de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada, CH1-CH3 o el polipéptido Fc, y donde uno o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno comprenden un residuo de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada, CH1-CH3 o polipéptido Fc. En algunos aspectos, una composición comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en las SEQ ID NO.:173, SEQ ID NO.:175, SEQ ID NO.:265 o SEQ ID NO.:266.

40 En determinados aspectos, una composición comprende dos o más anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno diferentes. En ciertos aspectos, los anticuerpos o los fragmentos de unión a antígeno que se van a usar en una combinación tienen cada uno independientemente una o más de las siguientes características: neutralizan las variantes de SARS-CoV-2 de origen natural; no compiten entre sí por la unión a la proteína Spike; se unen a distintos epítomos de la proteína Spike; tienen una formación reducida de resistencia al SARS-
45 CoV-2 ; cuando están en combinación, tienen una formación reducida de resistencia al SARS-CoV-2 ; neutralizan potencialmente el virus SARS-CoV-2 vivo; exhiben efectos aditivos o sinérgicos en la neutralización del virus SARS-CoV-2 vivo cuando se usa en combinación; exhibe funciones efectoras; son protectoras en modelos animales relevantes de infección; son capaces de ser producidos en cantidades suficientes para la producción a gran escala.

50 En otros aspectos, una composición es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 o por un virus pseudotipado con SARS-CoV-2 con una IC50 de 0,07 a 0,08 µg/ml.

Métodos y usos

A continuación, las referencias a métodos de tratamiento mediante métodos terapéuticos o diagnósticos *in vivo* tal como los aquí descritos más abajo en esta sección, se interpretan como referencias al anticuerpo o al fragmento de unión a antígeno tal como se define en las reivindicaciones y a medicamentos respectivos para su uso en tales métodos.

- 5 También se proporcionan aquí métodos para el uso de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente descripción para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (p. ej. en un sujeto humano o en una muestra obtenida de un sujeto humano).

- Los métodos de diagnóstico *in vitro* o *ex vivo* pueden incluir poner en contacto un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo (p. ej. un fragmento de unión a antígeno) con una muestra. Dichas muestras pueden aislarse de un
10 sujeto, por ejemplo, una muestra de tejido aislada tomada de, por ejemplo, fosas nasales, cavidades sinusales, glándulas salivales, pulmón, hígado, páncreas, riñón, oído, ojo, placenta, tubo digestivo, corazón, ovarios, pituitaria, suprarrenales, tiroides, cerebro, piel o sangre. Los métodos de diagnóstico también pueden incluir la detección de un complejo antígeno/anticuerpo, en particular después del contacto de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo con una muestra. Tal paso de detección se puede realizar en el banco, es decir, sin ningún
15 contacto con el cuerpo humano o animal. Ejemplos de métodos de detección son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), que incluye ELISA directo, indirecto y tipo sándwich.

- También se proporcionan aquí métodos para tratar a un sujeto usando un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de la presente descripción, o una composición que lo comprende, donde el sujeto tiene, se cree que
20 tiene o está en riesgo de tener una infección por SARS-CoV-2. "Tratar", "tratamiento" o "mejora" se refiere al manejo médico de una enfermedad, trastorno o condición de un sujeto (por ejemplo un mamífero humano o no humano, como un primate, caballo, gato, perro, cabra, ratón o rata). En general, una dosis o régimen de tratamiento apropiado que comprende un anticuerpo o una composición de la presente descripción se administra en una cantidad suficiente para obtener un beneficio terapéutico o profiláctico. El beneficio
25 terapéutico o profiláctico/preventivo incluye mejores resultados clínicos; disminución o alivio de los síntomas asociados con una enfermedad; disminución de la aparición de síntomas; mejor calidad de vida; estado libre de enfermedad por más tiempo; disminución de la extensión de la enfermedad, estabilización del estado de la enfermedad; retraso o prevención de la progresión de la enfermedad; remisión; supervivencia; supervivencia prolongada; o cualquier combinación de éstos. En ciertos aspectos, el beneficio terapéutico o
30 profiláctico/preventivo incluye la reducción o prevención de la hospitalización para el tratamiento de una infección por SARS-CoV-2 (es decir, de manera estadísticamente significativa). En ciertos aspectos, el beneficio terapéutico o profiláctico/preventivo incluye una duración reducida de la hospitalización para el tratamiento de una infección por SARS-CoV-2 (es decir, de manera estadísticamente significativa). En ciertos aspectos, el beneficio terapéutico o profiláctico/preventivo incluye una necesidad reducida o anulada de
35 intervención respiratoria, tal como intubación y/o el uso de un dispositivo de respiración. En ciertos aspectos, el beneficio terapéutico o profiláctico/preventivo incluye revertir una patología de enfermedad en etapa tardía y/o reducir la mortalidad.

- Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno, polinucleótido, vector, célula huésped o composición de esta descripción se refiere a una cantidad de la
40 composición o molécula suficiente para producir un efecto terapéutico, que incluye resultado clínico mejorado; disminución o alivio de los síntomas asociados con una enfermedad; disminución de la aparición de síntomas; mejor calidad de vida; estado libre de enfermedad por más tiempo; disminución de la extensión de la enfermedad, estabilización del estado de la enfermedad; retraso de la progresión de la enfermedad; remisión; supervivencia; o supervivencia prolongada de manera estadísticamente significativa. Cuando se hace referencia a un ingrediente activo individual, administrado solo, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a los efectos de ese ingrediente o célula que expresa ese ingrediente solo. Cuando se hace referencia a una
45 combinación, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a las cantidades combinadas de ingredientes activos o ingrediente activo complementario combinado con una célula que expresa un ingrediente activo que da como resultado un efecto terapéutico, ya sea se administre en serie, secuencial o simultáneamente. Una
50 combinación puede comprender, por ejemplo, dos anticuerpos diferentes que se unen específicamente a un antígeno del SARS-CoV-2, que en ciertos aspectos, puede ser el mismo o diferente antígeno del coronavirus de Wuhan y/o puede comprender epítopos iguales o diferentes.

- Por consiguiente, en ciertos aspectos, se proporcionan métodos para tratar una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto, comprendiendo los métodos administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo, fragmento
55 de unión a antígeno, polinucleótido, vector, célula huésped o composición tal como se describen aquí.

Los sujetos que pueden ser tratados por la presente descripción son, en general, sujetos humanos y otros primates, tales como monos y simios para fines de medicina veterinaria. Otros organismos modelo, tales como ratones y ratas, también pueden tratarse de acuerdo con la presente descripción. En cualquiera de los aspectos

antes mencionados, el sujeto puede ser un sujeto humano. Los sujetos pueden ser hombres o mujeres y pueden tener cualquier edad adecuada, incluidos sujetos lactantes, juveniles, adolescentes, adultos y geriátricos.

- 5 Se cree que varios criterios contribuyen al alto riesgo de síntomas graves o muerte asociados con una infección por SARS CoV-2. Estos incluyen, entre otros, edad, ocupación, salud general, condiciones de salud preexistentes y hábitos de estilo de vida. En algunos aspectos, un sujeto tratado según la presente descripción comprende uno o más factores de riesgo.

- 10 En ciertos aspectos, un sujeto humano tratado de acuerdo con la presente descripción es un bebé, un niño, un adulto joven, un adulto de mediana edad o una persona mayor. En ciertos aspectos, un sujeto humano tratado de acuerdo con la presente descripción tiene menos de 1 año o tiene de 1 a 5 años o tiene entre 5 y 125 años (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 o 125 años de edad, incluidas todas y cada una de las edades intermedias). En ciertos aspectos, un sujeto humano tratado de acuerdo con la presente descripción tiene de 0 a 19 años, de 20 a 44 años, de 45 a 54 años, de 55 a 64 años, de 65 a 74 años, de 75 a 84 años u 85 años de edad, o más. Se cree que las personas de mediana edad y especialmente las de edad avanzada corren un riesgo particular. En aspectos particulares, el sujeto humano tiene 45-54 años, 55-64 años, 65-74 años, 75-84 años u 85 años o más. En algunos aspectos, el sujeto humano es un hombre. En algunos aspectos, el sujeto humano es una mujer.

- 20 En ciertos aspectos, un sujeto humano tratado de acuerdo con la presente descripción es un residente de un hogar de ancianos o una residencia de atención a largo plazo, es un trabajador de cuidados paliativos, es un proveedor de atención médica o un trabajador de atención médica, es un socorrista, es un miembro de la familia, miembro u otro contacto cercano de un sujeto diagnosticado o sospechoso de tener una infección por SARS-CoV-2, tiene sobrepeso o es clínicamente obeso, es o ha sido fumador, tiene o ha tenido enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), es asmático (p. ej. tiene asma de moderada a grave), tiene una enfermedad o afección autoinmune (p. ej. diabetes) y/o tiene un sistema inmunitario debilitado o debilitado (p. ej. debido a una infección por SIDA/VIH, un cáncer como el de sangre, una terapia inmunodepresora como quimioterapia, un trasplante de médula ósea o de órganos, o una condición inmunitaria genética), tiene una enfermedad hepática crónica, tiene una enfermedad cardiovascular, tiene un defecto pulmonar o cardíaco, trabaja o pasa tiempo en estrecha proximidad con otras personas, como en una fábrica, una central de envío, un entorno hospitalario o similar.

- 30 En ciertos aspectos, un sujeto tratado de acuerdo con la presente descripción ha recibido una vacuna para el SARS-CoV-2 y se determina que la vacuna es ineficaz, por ejemplo debido a infección o síntomas posteriores a la vacuna en el sujeto, por diagnóstico clínico o científico o criterios regulatorios.

- 35 En ciertos aspectos, el tratamiento se administra como profilaxis periexposición. En determinados aspectos, el tratamiento se administra a un sujeto con una enfermedad de leve a moderada, que puede ser en un entorno ambulatorio. En ciertos aspectos, el tratamiento se administra a un sujeto con una enfermedad de moderada a grave, por ejemplo que requiere hospitalización.

- 40 Las vías típicas de administración de las composiciones aquí descritas incluyen así, sin limitación, la vía oral, tópica, transdérmica, por inhalación, parenteral, sublingual, bucal, rectal, vaginal e intranasal. El término "parenteral", tal como se usa aquí, incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intraesternal o técnicas de infusión. En ciertos aspectos, la administración comprende la administración por una vía seleccionada de oral, intravenosa, parenteral, intragástrica, intrapleuraleal, intrapulmonar, intrarrectal, intradérmica, intraperitoneal, intratumoral, subcutánea, tópica, transdérmica, intracisternal, intratecal, intranasal e intramuscular. En aspectos particulares, un método comprende administrar vía oral el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno, el polinucleótido, el vector, la célula huésped o la composición al sujeto.

- 45 Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para permitir que los ingredientes activos contenidos en ellas estén biodisponibles tras la administración de la composición a un paciente. Las composiciones que se administrarán a un sujeto o paciente pueden estar en forma de una o más unidades de dosificación, donde, por ejemplo, una tableta puede ser una unidad de dosificación única, y un contenedor de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno como se describe aquí, en aerosol, puede contener una pluralidad de unidades de dosificación. Los métodos reales para preparar dichas formas de dosificación son conocidos o serán evidentes para los expertos en la técnica; véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª Edición (Philadelphia College of Pharmacy and Science, 2000). La composición que se administrará, en cualquier caso, contendrá una cantidad eficaz de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno, polinucleótido, vector, célula huésped o composición de la presente descripción para el tratamiento de una enfermedad o afección de interés de acuerdo con las enseñanzas aquí contenidas.

Una composición puede estar en forma de un sólido o líquido. En algunos aspectos, el o los vehículos son particulados, de modo que las composiciones están, por ejemplo, en forma de tabletas o polvo. El o los vehículos pueden ser líquidos, siendo las composiciones, por ejemplo, un aceite oral, un líquido inyectable o un aerosol, que es útil, por ejemplo, en la administración por inhalación. Cuando se destina a la administración oral, la composición farmacéutica se encuentra preferentemente en forma sólida o líquida, donde las formas semisólida, semilíquida, en suspensión y en gel se incluyen dentro de las formas consideradas aquí como sólidas o líquidas.

Como composición sólida para la administración oral, la composición farmacéutica se puede formular en forma de polvo, gránulos, tableta comprimida, píldora, cápsula, goma de mascar u oblea. Tales composiciones sólidas contendrán típicamente uno o más diluyentes inertes o vehículos comestibles. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; excipientes como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes como ácido algínico, alginato de sodio, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes como sacarosa o sacarina; un agente aromatizante como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja; y un agente colorante. Cuando la composición está en forma de cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol o aceite.

La composición puede estar en forma de líquido, por ejemplo elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser para la administración oral o para el suministro por inyección, como dos ejemplos. Cuando están destinadas a la administración oral, las composiciones preferidas contienen, además de los presentes compuestos, uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y potenciador del sabor. En una composición destinada a ser administrada por inyección se puede incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizador y agente isotónico.

Las composiciones farmacéuticas líquidas, ya sean soluciones, suspensiones u otra forma similar, pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos como como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes como ácido etilendiaminotetraacético; tampones como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables o viales multi dosis hechos de vidrio o plástico. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido. Una composición farmacéutica inyectable es preferiblemente estéril.

Una composición líquida destinada a la administración parenteral u oral debe contener una cantidad de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno como se describe aquí de manera que se obtenga una dosificación adecuada. Normalmente, esta cantidad es al menos el 0,01 % del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno en la composición. Cuando está destinada a la administración oral, esta cantidad puede variar entre el 0,1 y aproximadamente el 70 % del peso de la composición. Ciertas composiciones farmacéuticas orales contienen entre aproximadamente el 4 % y aproximadamente el 75 % del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno. Las composiciones y preparaciones farmacéuticas se preparan de modo que una unidad de dosificación parenteral contenga entre 0,01 y 10 % en peso de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno antes de la dilución.

La composición puede estar destinada a la administración tópica, en cuyo caso el vehículo puede comprender adecuadamente una base de solución, emulsión, ungüento o gel. La base, por ejemplo, puede comprender uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes como agua y alcohol, y emulsionantes y estabilizantes. Los agentes espesantes pueden estar presentes en una composición para la administración tópica. Si está destinada a la administración transdérmica, la composición puede incluir un parche transdérmico o un dispositivo de iontoforesis. La composición farmacéutica puede estar destinada a la administración rectal, en forma, por ejemplo, de supositorio, que se derretirá en el recto y liberará el fármaco. La composición para administración rectal puede contener una base oleosa como excipiente no irritante adecuado. Tales bases incluyen, sin limitación, lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

Una composición puede incluir diversos materiales que modifican la forma física de una unidad de dosificación sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que formen una cubierta de revestimiento alrededor de los ingredientes activos. Los materiales que forman la cubierta de revestimiento son normalmente inertes y pueden seleccionarse, por ejemplo, entre azúcares, goma laca y otros agentes de revestimiento entérico. Alternativamente, los ingredientes activos pueden encerrarse en una cápsula de gelatina. La composición en forma sólida o líquida puede incluir un agente que se une al anticuerpo o fragmento de unión

a antígeno de la descripción y, por tanto, ayuda en la administración del compuesto. Agentes adecuados que pueden actuar con esta capacidad incluyen anticuerpos monoclonales o policlonales, una o más proteínas o un liposoma. La composición puede consistir esencialmente en unidades de dosificación que pueden administrarse en forma de aerosol. El término aerosol se usa para denotar una variedad de sistemas que van desde aquellos de naturaleza coloidal hasta sistemas que consisten en paquetes presurizados. El suministro puede ser mediante un gas licuado o comprimido o por un sistema de bomba adecuado que dispensa los ingredientes activos. Los aerosoles pueden administrarse en sistemas monofásicos, bifásicos o trifásicos para administrar los ingredientes activos. El suministro del aerosol incluye el contenedor, los activadores, las válvulas, los subcontenedores y similares necesarios, que juntos pueden formar un kit. El experto medio en la técnica, sin excesiva experimentación, puede determinar los aerosoles preferidos.

Se entenderá que las composiciones de la presente descripción también abarcan moléculas transportadoras para polinucleótidos, como se describe aquí (p. ej. nanopartículas lipídicas, plataformas de administración a nanoescala y similares).

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición destinada a ser administrada por inyección se puede preparar combinando una composición que comprende un anticuerpo, un fragmento del mismo que se une al antígeno o un conjugado de anticuerpo como se describe aquí y, opcionalmente, una o más sales, tampones y/o estabilizadores, con agua destilada estéril hasta formar una solución. Puede añadirse un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que interactúan de forma no covalente con la composición peptídica para facilitar la disolución o suspensión homogénea del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo en el sistema de suministro acuoso.

En general, una dosis y un régimen de tratamiento apropiados proporcionan la(s) composición(es) en una cantidad suficiente para un beneficio terapéutico y/o profiláctico (tal como se describe aquí, incluyendo un resultado clínico mejorado (p. ej. una disminución en la frecuencia, duración o gravedad) de diarrea o deshidratación asociada o inflamación, o una mayor supervivencia libre de enfermedad y/o general, o una disminución de la gravedad de los síntomas). Para uso profiláctico, una dosis debe ser suficiente para prevenir, retrasar el inicio o disminuir la gravedad de una enfermedad asociada con una enfermedad o trastorno. El beneficio profiláctico de las composiciones administradas según los métodos aquí descritos se puede determinar realizando estudios preclínicos (incluyendo estudios en animales *in vitro* e *in vivo*) y clínicos y analizando los datos obtenidos de los mismos mediante métodos y técnicas estadísticos, biológicos y clínicos apropiados, todo lo cual puede ser practicado fácilmente por un experto en la materia.

Las composiciones se administran en una cantidad eficaz (por ejemplo, para tratar una infección por SARS-CoV-2), que variará dependiendo de diversos factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la estabilidad metabólica y la duración de la acción del compuesto; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del sujeto; el modo y tiempo de administración; la tasa de excreción; la combinación de drogas; la gravedad del trastorno o condición en particular; y el sujeto sometido a terapia. En ciertos aspectos, después de la administración de la terapia de acuerdo con las formulaciones y métodos de esta descripción, los sujetos de ensayo exhibirán una reducción del 10 % hasta el 99 % en uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno que se está tratando en comparación con los tratados con placebo u otros sujetos de control adecuados.

Generalmente, una dosis diaria terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es (para un mamífero de 70 kg) de 0,001 mg/kg (es decir, 0,07 mg) a 100 mg/kg (es decir, 7,0 g); preferiblemente, una dosis terapéuticamente eficaz es (para un mamífero de 70 kg) de 0,01 mg/kg (es decir, 0,7 mg) a 50 mg/kg (es decir, 3,5 g); más preferiblemente, una dosis terapéuticamente eficaz es (para un mamífero de 70 kg) de 1 mg/kg (es decir, 70 mg) a 25 mg/kg (es decir, 1,75 g). Para polinucleótidos, vectores, células huésped y composiciones de la presente descripción, una dosis terapéuticamente eficaz puede ser diferente que para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.

En ciertos aspectos, un método comprende administrar el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno, el polinucleótido, el vector, la célula huésped o la composición al sujeto 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 veces o más.

En ciertos aspectos, un método comprende administrar el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno o la composición al sujeto una pluralidad de veces, donde se realiza una segunda o sucesiva administración a las 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 74, 96 horas o más después de una primera o anterior administración, respectivamente.

En determinados aspectos, un método comprende administrar el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno, el polinucleótido, el vector, la célula huésped o la composición al menos una vez antes de que el sujeto se infecte con SARS-CoV-2.

Las composiciones que comprenden un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno, un polinucleótido, un vector, una célula huésped o una composición de la presente descripción también pueden administrarse simultáneamente, antes o después de la administración de uno o más agentes terapéuticos. Esta terapia de combinación puede incluir la administración de una formulación de dosificación farmacéutica única que contiene un compuesto de la invención y uno o más agentes activos adicionales, así como la administración de composiciones que comprenden un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la descripción y cada agente activo en su propia formulación de dosificación separada. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe aquí y el otro agente activo pueden administrarse al paciente juntos en una única composición de dosificación oral, como una tableta o cápsula, o cada agente puede administrarse en formulaciones de dosificación orales separadas. De manera similar, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno como se describe aquí y el otro agente activo pueden administrarse al sujeto juntos en una composición de dosificación parenteral única, como una solución salina u otra solución fisiológicamente aceptable, o cada agente puede administrarse en formulaciones de dosificación parenteral separadas. Cuando se usan formulaciones de dosificación separadas, las composiciones que comprenden un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno y uno o más agentes activos adicionales se pueden administrar esencialmente al mismo tiempo, es decir, simultáneamente, o en momentos escalonados por separado, es decir, secuencialmente y en cualquier orden; se entiende que la terapia de combinación incluye todos estos regímenes.

En ciertos aspectos, se proporciona una terapia de combinación que comprende uno o más anticuerpos anti-SARS-CoV-2 (o uno o más ácidos nucleicos, células huésped, vectores o composiciones) de la presente descripción y uno o más agentes antiinflamatorios y/o uno o más agentes antivirales. En aspectos particulares, uno o más agentes antiinflamatorios comprenden corticosteroides, por ejemplo dexametasona o prednisona. En algunos aspectos, los uno o más agentes antiinflamatorios comprenden un antagonista de citoquinas, por ejemplo un anticuerpo que se une a IL6 (como siltuximab) o a IL-6R (como tocilizumab) o a IL-1 β , IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, FGF, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1, MIP-1A, MIP1-B, PDGR, TNF- α , o VEGF. En algunos aspectos, se usan agentes antiinflamatorios como ruxolitinib y/o anakinra. En algunos aspectos, uno o más agentes antivirales comprenden análogos de nucleótidos o profármacos de análogos de nucleótidos tales como, por ejemplo, remdesivir, sofosbuvir, aciclovir y zidovudina. En aspectos particulares, un agente antiviral comprende lopinavir, ritonavir, favipiravir o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, una terapia de combinación comprende leronlimab. Los agentes antiinflamatorios para su uso en una terapia de combinación de la presente descripción también incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Se apreciará que, en dicha terapia de combinación, el uno o más anticuerpos (o uno o más ácidos nucleicos, células huésped, vector o composición) y el uno o más agentes antiinflamatorios y/o uno o más agentes antivirales pueden administrarse en cualquier orden y secuencia, o conjuntamente.

En algunos aspectos, se administra un anticuerpo (o uno o más ácidos nucleicos, células huésped, vectores o composiciones) a un sujeto que ha recibido previamente uno o más agentes antiinflamatorios y/o uno o más agentes antivirales. En algunos aspectos, se administra uno o más agentes antiinflamatorios y/o uno o más agentes antivirales a un sujeto que ha recibido previamente un anticuerpo (o uno o más ácidos nucleicos, células huésped, vectores o composiciones).

En ciertos aspectos, se proporciona una terapia de combinación que comprende dos o más anticuerpos anti-SARS-CoV-2 de la presente descripción. Un método puede comprender la administración de un primer anticuerpo a un sujeto que ha recibido un segundo anticuerpo o puede comprender la administración conjunta de dos o más anticuerpos. Por ejemplo, en aspectos particulares, se proporciona un método que comprende administrar al sujeto de (a) un primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, cuando el sujeto ha recibido un segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno; (b) el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, cuando el sujeto ha recibido el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno; o (c) el primer anticuerpo o fragmento de unión a antígeno y el segundo anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.

En ciertos aspectos, se proporciona el uso de los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno, vectores, células huésped y composiciones en un método de tratamiento de una infección por SARS-CoV-2 en un sujeto.

En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno tal como se describe aquí es capaz de neutralizar la infección por SARS-CoV-2 con una IC₅₀ de 3,0 nM, 3,1 nM, 3,2 nM, 3,3 nM, 3,4 nM, 3,5 nM, 3,6 nM, 3,7 nM, 3,8 nM, 3,9 nM o 4,0 nM. En algunos aspectos, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno tal como se describe aquí es capaz unirse a la glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2 cuando la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 está comprendida en un trímero de fusión.

Tabla 2. Secuencias

Descripción	SED ID NO.	Secuencia
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb VH (aa)	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWVRQAPGQGPEWLGWVNGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRH1 (aa)	2	GYTFTDYY
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRH2 (aa)	3	VNGYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRH3 (aa)	4	ARDRPSHEWAMYFFDN
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb VL (Vκ) (aa)	5	QIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSC LAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTIRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PLTFGGGTKVEIK
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRL1 (aa)	6	QSVSSC
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRL2 (aa)	7	GAS
SARS-CoV-2 S300-v1 mAb CDRL3 (aa)	8	QQYGSSPLT
SARS-CoV-2 S300-v1.1 mAb VH (aa)	9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWVRQAPGQGPEWLGWVQGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.2 mAb VH (aa)	10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWVRQAPGQGPEWLGWVNAYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.3 mAb VH (aa)	11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWVRQAPGQGPEWLGWVNSYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS

SARS-CoV-2 S300-v1.4 mAb VH (aa)	12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVNPYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD
		TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.5 mAb VH (aa)	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVNQYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.6 mAb VH (aa)	14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVLGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.7 mAb VH (aa)	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVTGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v1.1 mAb CDRH2 (aa)	16	VQGYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.2 mAb CDRH2 (aa)	17	VNAYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.3 mAb CDRH2 (aa)	18	VNSYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.4 mAb CDRH2 (aa)	19	VNPYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.5 mAb CDRH2 (aa)	20	VNQYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.6 mAb CDRH2 (aa)	21	VLGYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.7 mAb CDRH2 (aa)	22	VTGYSGAT
SARS-CoV-2 S300-v1.8 mAb VH (aa)	23	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVNGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEFAMYFFDNWGQGLV TVSS

SARS-CoV-2 S300-v1.9 mAb VH (aa)	24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGWVNGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEYAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 5300-v1.8 mAb CDRH3 (aa)	25	ARDRPSHEFAMYFFDN
SARS-CoV-2 S300-v1.9 mAb CDRH3 (aa)	26	ARDRPSHEYAMYFFDN
SARS-CoV-2 S300-v2 mAb VH (aa)	27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVNGYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.1 mAb VH (aa)	28	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVQGYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.2 mAb VH (aa)	29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVNAYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.3 mAb VH (aa)	30	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVNSYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.4 mAb VH (aa)	31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVNPYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.5 mAb VH (aa)	32	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGFVNQYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLVT VSS

SARS-CoV-2 S300-v2.6 mAb VH (aa)	33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG FLGY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.7 mAb VH (aa)	34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG FTGY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.8 mAb VH (aa)	35	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG FVNGY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEF AMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v2.9 mAb VH (aa)	36	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG FVNGY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEY AMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v3 mAb VH (aa)	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG YVNGY SGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.1 mAb VH (aa)	38	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG YVQGY SGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.2 mAb VH (aa)	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG YVNAY SGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.3 mAb VH (aa)	40	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG YVNSY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLVT VSS
SARS-CoV-2 S300-v3.4 mAb VH (aa)	41	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIH WVRQAPGQGPEWLG YVNPY SGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEW AMYFFDNWGQGLVT VSS

SARS-CoV-2 S300-v3.5 mAb VH (aa)	42	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGYVNQYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.6 mAb VH (aa)	43	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGYVLGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.7 mAb VH (aa)	44	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGYVTGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEWAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.8 mAb VH (aa)	45	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGYVNGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEFAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v3.9 mAb VH (aa)	46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLGYVNGYSGATR YAQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDD TAVYYCARDRPSHEYAMYFFDNWGQGLV TVSS
SARS-CoV-2 S300-v10 mAb VL (V _K) (aa)	47	QIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVPSY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PLTFGGGKVEIK
SARS-CoV-2 S300-v11 mAb VL (V _K) (aa)	48	QIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVPSY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PLTFGGGKVEIK
SARS-CoV-2 S300-v12 mAb VL (V _K) (aa)	49	QIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVPSY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PLTFGGGKVEIK
SARS-CoV-2 S300-v13 mAb VL (V _K) (aa)	50	QIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVPSA LAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PLTFGGGKVEIK

SARS-CoV-2 S300-v10 mAb CDRL1 (aa)	51	QSVPSY
SARS-CoV-2 S300-v11 mAb CDRL1 (aa)	51	QSVPS
SARS-CoV-2 S300-v12 mAb CDRL1 (aa)	53	QSVPS
SARS-CoV-2 S300-v13 mAb CDRL1 (aa)	54	QSVPSA
SARS-CoV-2 S302 mAb VH (aa)	55	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCA KDISSGWDRVFDY WGQGTLLTVSS
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRH1 (aa)	56	GFTFSSYG
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRH2 (aa)	57	ISYDGSNK
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRH3 (aa)	58	AKDISSGWDRVFDY
SARS-CoV-2 S302 mAb VL (V _L) (aa)	59	EILLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRTS QSVGSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYAASSRAIGIPDRFSG SGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPW TFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRL1 (aa)	60	QSVGSSY
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRL2 (aa)	61	AAS
SARS-CoV-2 S302 mAb CDRL3 (aa)	62	QQYGSSPWT
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb VH (aa)	63	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFLT YSMNWVRQTPGKRLQWVSA ISGSGGATYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNTVTADDT AIYFCARER DDIFPMGLNAFDI WGQGAMVI VSS

SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRH1 (aa)	64	GFTFLTY
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRH2 (aa)	65	ISGSGGAT
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRH3 (aa)	66	ARERDDIFPMGLNAFDI
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb VL (V _L) (aa)	67	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ ISISNW LAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDDSATYYCQQYDTYS WTFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRL1 (aa)	68	Q ISISNW
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRL2 (aa)	69	KAS
SARS-CoV-2 S303-v1 mAb CDRL3 (aa)	70	QQYDTYSW
SARS-CoV-2 S303-v2 mAb VL (V _L) (aa)	71	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ ISISNFL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPDDSATYYCQQYDTYSW TFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S303-v3 mAb VL (V _L) (aa)	72	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ ISISNYL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPDDSATYYCQQYDTYSW TFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S303-v2 mAb CDRL1 (aa)	73	Q ISISNF
SARS-CoV-2 S303-v3 mAb CDRL1 (aa)	74	Q ISISNY
SARS-CoV-2 S303-v4 mAb VL (V _L) (aa)	75	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ ISISNW LAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDDSATYYCQQYDTYS F TFGQGTKVEIK

SARS-CoV-2 S303-v5 mAb VL (V _L) (aa)	76	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS Q SISNW LAWYQQKPGKAPKLLIY K ASSLESGVPSRFS GSGSGTEFTLTISSLQPDDSATYYC Q Q Y D T Y S Y TFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S303-v4 mAb CDRL3 (aa)	77	Q Q Y D T Y S F T
SARS-CoV-2 S303-v5 mAb CDRL3 (aa)	78	Q Q Y D T Y S Y T
SARS-CoV-2 S304 mAb VH (aa)	79	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS G F T F S S Y D M H W V R Q T T G K G L E W V S T I G T A G D T Y Y P DSVKGRFTISREDAKNSLYLQMNSLRAGDTA VYYC A R G D S S G Y Y Y Y F D Y WGQGTLTSS
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRH1 (aa)	80	G F T F S S Y D
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRH2 (aa)	81	I G T A G D T
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRH3 (aa)	82	A R G D S S G Y Y Y Y F D Y
SARS-CoV-2 S304 mAb VL (V _L) (aa)	83	DIQMTQSPSSLSAAVVGDRVTITCRAS Q SIGSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFAIYYC Q Q S Y V S P T Y TFGPGTKVDIK
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRL1 (aa)	84	Q S I G S Y
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRL2 (aa)	85	A A S
SARS-CoV-2 S304 mAb CDRL3 (aa)	86	Q Q S Y V S P T Y T
SARS-CoV-2 S306 mAb VH (aa)	87	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAST Y T F T S F G I S W V R Q A P G Q G L E W M G W I T T Y S G D T N Y A QKFQGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTA VYYC A S D Y F D S S G Y Y H S F D Y WGQGLTVTS S
SARS-CoV-2 S306 mAb CDRH1 (aa)	88	T Y T F T S F G
SARS-CoV-2 S306 mAb CDRH2 (aa)	89	I T T Y S G D T

SARS-CoV-2 S306 mAb CDRH3 (aa)	90	ASDYFDSSGGYYHSFDY
SARS-CoV-2 S306 mAb VL (V _κ) (aa)	91	EIVLTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYL AWYQQRPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGS GSGTDFTLTISLPEPDAVYYCQQRSNWPP GCSFGQGTKVEIK
SARS-CoV-2 S306 mAb CDRL1 (aa)	92	QSVSSY
SARS-CoV-2 S306 mAb CDRL2 (aa)	93	DAS
SARS-CoV-2 S306 mAb CDRL3 (aa)	94	QQRSNWPPGCS
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb VH (aa)	95	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASRFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGNNKH YGDSVKGRVTISRDN SKNTLYLQMTSLRAED TAVYYCARAVTTFKGSGRARMRGMDVWG QGT TVTVSS
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRH1 (aa)	96	RFTFSSYG
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRH2 (aa)	97	IWHDGNNK
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRH3 (aa)	98	ARAVTTFKGSGRARMRGMDV
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb VL (V _κ) (aa)	99	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCRASQGINTYL AWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQHLDTYPEF TFGPGTKVDIK
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRL1 (aa)	100	QGINTY
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRL2 (aa)	101	AAS
SARS-CoV-2 S308-v1 mAb CDRL3 (aa)	102	QHLDTYPEFT

SARS-CoV-2 S308-v2 mAb VH (aa)	103	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASRFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGNNKH YGDSVKGRVTISRDN SKNTLYLQMTSLRAED TAVYYCARAVTTFKGSGRARLRGMDVWG QGTTVTVSS
SARS-CoV-2 S308-v2 mAb CDRH3 (aa)	104	ARAVTTFKGSGRARLRGMDV
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb VH (aa)	105	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFNDWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRH1 (aa)	106	GYPTSYG
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRH2 (aa)	107	ISTYNGNT
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRH3 (aa)	108	ARDYTRGAWFGESLIGGFND
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb VL (V _κ) (aa) (no productivo)	109	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITICRASQGINNY VAWYQQKPGKVPKLLIYGASTLQSGVPSRFR GSGSGTGFTLTISLQPEDVASYYCRKYNSAP WTFGQGTRVEIK
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRL1 (aa) (no productivo)	110	QGINNY
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRL2 (aa) (no productivo)	111	GAS
SARS-CoV-2 S309-v1 mAb CDRL3 (aa) (no productivo)	112	RKYNSAPWT

SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb VH (aa)	113	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYQGNTN YAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWG QGTLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.2 mAb VH (aa)	114	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNSNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.3 mAb VH (aa)	115	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNANTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.4 mAb VH (aa)	116	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNQNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.5 mAb VH (aa)	117	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYLGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.6 mAb VH (aa)	118	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYTGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA WFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.7 mAb VH (aa)	119	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA FFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS
SARS-CoV-2 S309-v1.8 mAb VH (aa)	120	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGA YFGES LIGG FDNWGQG TLTVSS

SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb CDRH2 (aa)	121	ISTYQGNT
SARS-CoV-2 S309-v1.2 mAb CDRH2 (aa)	122	ISTYNSNT
SARS-CoV-2 S309-v1.3 mAb CDRH2 (aa)	123	ISTYNANT
SARS-CoV-2 S309-v1.4 mAb CDRH2 (aa)	124	ISTYNQNT
SARS-CoV-2 S309-v1.5 mAb CDRH2 (aa)	125	ISTYLGNT
SARS-CoV-2 S309-v1.6 mAb CDRH2 (aa)	126	ISTYTGNT
SARS-CoV-2 S309-v1.7 mAb CDRH3 (aa)	127	ARDYTRGAFFGESLIGGF DN
SARS-CoV-2 S309-v1.8 mAb CDRH3 (aa)	128	ARDYTRGAYFGESLIGGF DN
SARS-CoV-2 S309-v2 mAb VH (aa)	129	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.1 mAb VH (aa)	130	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYQGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQG TLVTVSS

SARS-CoV-2 S309-v2.2 mAb VH (aa)	131	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNSNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.3 mAb VH (aa)	132	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNANTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.4 mAb VH (aa)	133	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNQNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.5 mAb VH (aa)	134	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYLGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.6 mAb VH (aa)	135	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYTGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.7 mAb VH (aa)	136	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAFFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v2.8 mAb VH (aa)	137	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGFISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAYFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3 mAb VH (aa)	138	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS

SARS-CoV-2 S309-v3.1 mAb VH (aa)	139	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYQGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.2 mAb VH (aa)	140	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNSNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.3 mAb VH (aa)	141	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNANTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.4 mAb VH (aa)	142	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNQNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.5 mAb VH (aa)	143	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYLGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.6 mAb VH (aa)	144	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYTGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.7 mAb VH (aa)	145	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAFFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 S309-v3.8 mAb VH (aa)	146	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGYISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCARDYTRGAYFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSS

SARS-CoV-2 S309-v9 mAb VL (VK) (aa) (no productivo)	147	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRAS QGINNY VAWYQQKPGKVPKLLIY GASTLQSGVPSRFR GSGSGTGFTLTISSLQPEDVASYY CRKYN SAP GTFGQGTRVEIK
SARS-CoV-2 S309-v10 mAb VL (VK) (aa) (no productivo)	148	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRAS QGINNY VAWYQQKPGKVPKLLIY GASTLQSGVPSRFR GSGSGTGFTLTISSLQPEDVASYY CRKYN SAP RTFGQGTRVEIK
SARS-CoV-2 S309-v11 mAb VL (VK) (aa) (no productivo)	149	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRAS QGINNY VAWYQQKPGKVPKLLIY GASTLQSGVPSRFR GSGSGTGFTLTISSLQPEDVASYY CRKYN SAP FTFGQGTRVEIK
SARS-CoV-2 S309-v12 mAb VL (VK) (aa) (no productivo)	150	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRAS QGINNY VAWYQQKPGKVPKLLIY GASTLQSGVPSRFR GSGSGTGFTLTISSLQPEDVASYY CRKYN SAP YTFGQGTRVEIK
SARS-CoV-2 S309-v9 mAb CDRL3 (aa) (no productivo)	151	RKYN SAPGT
SARS-CoV-2 S309-v10 mAb CDRL3 (aa) (no productivo)	152	RKYN SAPRT
SARS-CoV-2 S309-v11 mAb CDRL3 (aa) (no productivo)	153	RKYN SAPFT
SARS-CoV-2 S309-v12 mAb CDRL3 (aa) (no productivo)	154	RKYN SAPYT
SARS-CoV-2 S310 mAb VH (aa)	155	QVQLVQSGAELKKPGSSVKV SCKASGGTFNS YSFNWVRQAPGQGLEWLG GIIPVLGTSNYA QKFQGRVAVTADEFTTTAYMELSSLRSEDTA
		VYYCATR TYDSSGYR PYYYGLDVWGQ GTP VTVSS

SARS-CoV-2 S310 mAb CDRH1 (aa)	156	GGTFNSYS
SARS-CoV-2 S310 mAb CDRH2 (aa)	157	IIPVLGTS
SARS-CoV-2 S310 mAb CDRH3 (aa)	158	ATRTYDSSGYRPYYYGLDV
SARS-CoV-2 S310 mAb VL (V _L) (aa)	159	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYN LVSWYQQRPGKAPELMIYEVTKRPSGLSNRF SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAG SDTVIFGGGKVTVL
SARS-CoV-2 S310 mAb CDRL1 (aa)	160	SSDVGSYNL
SARS-CoV-2 S310 mAb CDRL2 (aa)	161	EVT
SARS-CoV-2 S310 mAb CDRL3 (aa)	162	CSYAGSDTVI
Secuencia genómica del virus de la pneumonía aislado del Mercado de pescado de Wuhan Wuhan-Hu-1 (Gen Bank: MN908947, 23 de enero 2020)	163	1 attaaaggtt tataccttcc caggttaaca accaaccaac tttcgatctc ttgtagatct 61 gttctctaaa cgaactttaa aatctgtgtg gctgtcactc ggctgcatgc ttagtgact 121 cacgcagtat aattaataac taattactgt cgttgacagg acacagagtaa ctcgtctatc 181 ttctgcaggc tgcttacggt ttcgtccgtg ttgcagccga tcatcagcac atctagggtt 241 cgtccgggtg tgaccgaaag gtaagatgga gacccgtgc cctggtttca acgagaaaac 301 acacgtccaa ctcagtttgc ctgttttaca ggttcgcgac gtgctcgtac gtggctttgg 361 agactccgtg gaggaggctt tcatcagaggc cgtcaacat cttaaagatg gcacttgtgg 421 cttagtagaa gttgaaaaag gcgttttgcc tcaacttgaa cagccctatg tgttcatcaa 481 acgttcggat gctcgaactg caccatcatgg tcatgttatg gttgagctgg tagcagaact 541 cgaaggcatt cagtacggtc gtagtggta gacacttggg gtccttgcc ctcagtggg 601 cgaaatacca gtggettacc gcaaggttct tcttcgtaag aacggtaata aaggagctgg 661 tggccatagt tacggcgccg atctaaagtc atttgactta ggcgacgagc ttggcactga 721

		tccuaigaa ganncaag aaaacigga cactaaacat agcagtggg ttaccctga 781 actcatgcgt gagcttaacg gaggggcata cactcgctat gtcgataaca acttctgtgg 841 ccttgatggc taccctcttg agtgcattaa agacctteta gcacgtgctg gtaaagcttc 901 atgcactttg tccgaacaac tggactttat tgacactaag aggggtgtat actgctgccg 961 tgaacatgag catgaaattg ctggtacac ggaacgttct gaaaagagct atgaattgca 1021 gacacctttt gaaattaaat tggcaaagaa atttgacacc ttaaatgggg aatgtccaaa 1081 tttgtattt ccttaaatt ccataatcaa gactattcaa ccaagggtg aaaagaaaa 1141 gcttgatggc tttatgggta gaattcgatc tgtctatcca gttgcgtcac caaatgaatg 1201 caaccaaatg tgcctttcaa ctctcatgaa gtgtgatcat tgtgtgtaaa cttcatggca 1261 gacgggcgat tttgttaaag ccacttgca attttgtggc actgagaatt tgactaaaga 1321 aggtgccact acttgtgtt acttaccceaa aaatgctgtt gtaaaattt attgtccagc 1381 atgtcacaat tcagaagtag gacctgagca tagcttggc gaataccata atgaatctgg 1441 ctgaaaacc attctctga aggggtgtcg cactattgac ttggaggct gtgtgttc 1501 ttatgttgtt tgccataaca agtgtgccta ttgggtcca cgtgctagcg ctaacatagg 1561 ttgtaacct acaggtgttg ttggagaagg ttccgaagg ttaatgaca accttctga 1621 aatactcaa aaagagaaag tcaacatcaa tattgttgtt gactttaac ttaatgaaga 1681 gatgccatt attttggcat cttttctgc ttccacaagt gctttgttg aaactgtgaa 1741 aggtttgat tataaagcat tcaacaaaat tttgaaatc tgtgtgaatt ttaaagttac 1801 aaaaggaaaa gctaaaaaag gtgcctggaa tattgttgaa cagaaatcaa tactgagtc 1861 tcttatgca ttgcatcag aggtgctcg tgtgtacga tcaatttct ccgcactct 1921 tgaaactgct caaaattctg tgcgtgttt acagaaggcc gctataacaa tactagatgg 1981 aattcacag tattactga gactcattga tgetatgat ttacatctg atttgctac 2041 taacaacta gttgtaattg cctacattac aggtgtgtt gttcagttga cttgcagtg 2101 gctaactaac atctttggca ctgtttatga aaaactcaa cccgtcctg attggctga 2161 agagaagttt aaggagggtg tagagttct tagagacgt tgggaaattg taaatttat 2221 ctcaacctgt gctgtgaaa ttgtcgggtg acaaattgct acctgtgcaa aggaaattaa 2281 ggagagtgtt cagacattct ttaagctgt aaataaattt ttggcttgt gtgctgactc 2341 tatcattatt ggtggagcta aacttaaagc cttgaattta ggtgaacat ttgtcacgca 2401 ctcaaaggga ttgtacagaa agtgtgttaa atccagagaa gaaactggcc tactcatgcc 2461 tctaaaagcc ccaaaagaaa ttacttctt agaggagaa acacttcca cagaagtgt 2521 aacagaggaa gttgtctga aaactggtga ttacaacca ttagaacaac
--	--	--

	ctactagtga 2581 agctgttgaa gctccattgg ttggtacacc agtttgatt aacgggctta tgtgctcga 2641 aatcaaagac acagaaaagt actgtgccct tgcaccta atgatgtaa caaacaatac 2701 cttcacactc aaaggcgggtg caccaacaaa gggtactttt ggtgatgaca ctgtgataga 2761 agtgcaaggt tacaagagtg tgaatatcac tttgaactt gatgaaagga ttgataaagt 2821 acttaatgag aagtgcctcg cctatacagt tgaactcggg acagaagtaa atgagttcgc 2881 ctgtgttg gcagatgctg tcaaaaaac ttgcaacca gtatctgaat tacttacacc 2941 actgggcatt gatttagatg agtggagat ggctacatac tacttattt atgagtcctg 3001 tgagttaaa ttggcttcac atatgtattg ttctttctac cctccagatg aggatgaaga 3061 agaaggtgat tgtgaagaag aagagttga gccatcaact caatatgagt atggtactga 3121 agatgattac caagtaaac cttggaatt tgggtccact tctgctgctc tcaacctga 3181 agaagagcaa gaagaagatt ggtagatga tgatagcaa caaactgttg gtcaacaaga 3241 cggcagtga gacaatcaga caactactat tcaacaatt gttgaggtc aacctcaatt 3301 agagatggaa cttacaccag ttgtcagac tattgaagt aatagtttta gtggttattt 3361 aaaacttact gacaatgat acattaaaaa tgcagacatt gtggaagaag ctaaaaaggt 3421 aaaaccaaca gtggttgta atgcagccaa tgtttacett aaacatggag gaggtgttc 3481 aggagccta aataaggcta ctaacaatgc catgcaagtt gaatctgatg attacatagc 3541 tactaatgga ccacttaaag tgggtgtag ttgtttta agcggacaca atcttgctaa 3601 aactgtctt catgtgtcg gccc aaatgt taacaaaggt gaagacattc aactcttaa 3661 gagtgcctat gaaaatttta atcagcacga agttctact gcaccattat tatcagctgg 3721 tatttttggg gctgacccta tacattctt aagagttgt gtagatactg ttcgcacaaa 3781 tgtctacta gctgtcttg ataaaaatct ctatgacaaa ctgtttcaa gcttttga 3841 aatgaagagt gaaaagcaag ttgaacaaaa gatcgtgag attcctaaag aggaagttaa 3901 gccattata actgaaagta aaccttcagt tgaacagaga aaacaagatg ataagaaaat 3961 caaagcttgt gttgaagaag ttacaacaac tctggaagaa actaagtcc tcacagaaaa 4021 ctgttactt tatattgaca ttaatggcaa tcttcacca gattctgcca ctctgttag 4081 tgacattgac atcactttct taaagaaaga tgcctatat atagtgggtg atgtgttca 4141 agagggtgtt ttaactgctg tgggtatacc tactaaaaag gctggtggca ctactgaaat 4201 gctagcgaaa gctttgagaa aagtccaac agacaattat ataaccactt acccggtca 4261 gggtttaa ggttacactg tagaggaggc aaagacagt ctaaaaagt gtaaaagtgc
--	--

	4321 cttttacatt ctaccatcta ttatctetaa tgagaagcaa gaaattcttg gaactgttc 4381 ttggaatttg cgagaaatgc ttgcacatgc agaagaaaca cgcaaattaa tgctgtctg 4441 tgtggaaact aaagccatag ttcaactat acagegtaaa tataagggtg ttaaaataca 4501 agagggtgtg gttgattatg gtgclagatt ttacttttac accagtaaaa caactgtagc 4561 gtcacttate aacacactta acgatctaaa tgaaactctt gttacaatgc cacttggtc 4621 tgtaacacat ggcttaatt tggagaagc tgctcggtat atgagatctc tcaaagtgc 4681 agctacagtt tctgtttctt cacctgatgc tgttacagcg tataatgggt atcttacttc 4741 ttcttctaaa acacctgaag aacattttat tgaaaccatc tcacttgctg gttcctataa 4801 agattggtcc tattctggac aatctacaca actaggtata gaatttctta agagaggtga 4861 taaaagtga tattacacta gtaactctac cacattccac ctataggtg aagtatcac 4921 ctttgacaat cttaagacac ttctttctt gagagaagtg aggactatta aggtgtttac 4981 aacagtagac aacattaacc tccacacgca agttgtggac atgtcaatga catatggaca 5041 acagtttggc ccaacttatt tggatggagc tgatgttact aaaataaaac ctcataattc 5101 acatgaaggt aaaacatttt atgttttacc taatgatgac actctacgtg ttgaggcttt 5161 tgagtactac cacacaactg atcctagttt tctgggtagg tacatgtcag cattaaatca 5221 cactaaaaag tggaaatacc cacaagttaa tggtttaact tctattaaat gggcagataa 5281 caactgttat ctgcccactg cattgttaac actccaacaa atagagttga agtttaatcc 5341 acctgtctc caagatgctt attacagagc aagggtggt gaagctgcta acttttgtc 5401 acttatctta gcctactgta ataagacagt agggtgagta ggtgatgta gagaacaat 5461 gagtacttg ttcaacatg ccaattaga ttctgcaaa agagtctga acgtggtgtg 5521 taaaacttgt ggacaacagc agacaaccct taagggtgta gaagctgtta tgtacatggg 5581 cacactttct tatgaacaat ttaagaaagg tttcagata cttgtactg gtgtaaaaca 5641 agctacaaaa tatctagtagc aacaggagtc accttttgtt atgatgtcag caccacctgc 5701 tcagtatgaa cttaagcatg gtacatttac ttgtgtagt gtagtactg gtaattacca 5761 gtgtggtcac tataacata taactctaa agaaactttg tattgcatag acggtgcttt 5821 acttacaag tcctcagaat acaaaggtcc tattacggat gtttctaca aagaaaacag 5881 ttacacaaca accataaaac cagttactta taaattggat ggtgtgttt gtacagaaat 5941 tgaccttaag ttgacaatt attataagaa agacaattct tatttcacag agcaaccaat 6001 tgatcttga ccaaccaac catatccaaa cgcaagctc gataatttta agttgtatg 6061 tgataatate aaatttgctg atgatttaaa ccagttaact ggttataaga aacctgctc
--	--

		6121 aagagagctt aaagttacat tttccctga cttaaatggt gatgtggtgg ctattgatta 6181 taaacactac acacctctt ttaagaaagg agctaaattg ttacataaac ctattgttg 6241 gcatgttaac aatgcaacta ataaagccac gtataaacca aatacctggt gtatacgttg 6301 tcttggagc acaaaaccag ttgaaacatc aaattcggtt gatgtactga agtcagagga 6361 cgcgagggga atggataatc ttgcctgcga agatctaaaa ccagtctctg aagaagtagt 6421 ggaaaatcct accatacaga aagaggttct tgagtgtaat gtgaaaacta ccgaagttgt 6481 aggagacatt atacttaac cagcaataa tagtttaaaa attacagaag aggttgcca 6541 cacagatcta atggctgctt atgtagaaa ttctagtctt actattaaga aacctaata 6601 attatctaga gtattaggtt tgaaccctt tgctactcat gggttagctg ctgttaatag 6661 tgcctctgg gatactatag ctaattatgc taagccttt ctaacaaag ttgttagtac 6721 aactactaac atagttacac ggtgtttaa ccgtgttgt actaattata tgccttattt 6781 ctttacttta ttgctacaat tgtgtacttt tactagaagt acaaattcta gaattaaagc 6841 atctatgccg actactatag caaagaatac tgtaagagt gtcggtaaat ttgtctaga 6901 ggcttcattt aattattga agtcaccta ttttctaaa ctgataata ttataattg 6961 gttttacta ttaagtgtt gcctagggtc tttaactac tcaaccgtg ctttaggtgt 7021 ttaatgtct aatttaggca tgccttcta ctgtactggt tacagagaag gctattgaa 7081 ctctactaat gtcactattg caacctactg tactggttct atacctgta gtgtttgtct 7141 tagtggttta gattcttag acacctatec ttcttagaa actatacaaa ttaccatttc 7201 atcttttaa tgggatttaa ctgctttgg cttagtgca gagtgggttt tggcatatat 7261 tctttcact aggttttct atgtactgg attggctgca atcatgcaat tgttttcag 7321 ctatttgca gtacattta ttagtaattc ttggcttatg ttgtaataa ttaatctgt 7381 acaaatggcc ccgatttcag ctatggttag aatgtacatc ttcttgcat cattttatta 7441 tgtatggaaa agttatgtgc atgtttaga cgggtgtaat tcatcaacti gtatgatgtg 7501 ttacaaacgt aatagagcaa caagagtcga atgtacaact attgtaatg gtgttagaag 7561 gtcctttat gtctatgcta atggaggtaa aggcctttgc aaactacaca attggaattg 7621 tgtaattgt gatacttct gtgctggtag tacatttatt agtgatgaag ttgcgagaga 7681 ctgtcacta cagttaaaa gaccaataa tctactgac cagtcttct acatcgtga 7741 tagtgttaca gtgaagaatg gttccatcca tctttacttt gataaagctg gtcaaaagac 7801 ttatgaaaga cattctctct ctcattttgt taacttagac aacctgagag ctaataacac 7861 taaagggtca ttgcctatta atgttatagt tttgatggt aaatcaaat gtgaagaatc 7921 atctgcaaaa tcagegtctg ttactacag tcagcttatg tgtcaaccta tactgttact 7981 agatcaggca ttatgtctg
--	--	---

	atgttggtga tagtgcggaa gttgcagtta aaatgttga 8041 tgcttacgtt aatacgtttt catcaacttt taacgtacca atggaaaaac tcaaaacact 8101 agttgcaact gcagaagctg aacttgcaaa gaatgtgtcc ttagacaatg tcttatctac 8161 tttatttca gcagctcggc aagggtttgt tgattcagat gtagaaacta aagatgttgt 8221 tgaatgtctt aaattgtcac atcaatctga catagaagtt actggcgata gttgtaataa 8281 ctatatgtc acctataaca aagttgaaaa catgacaccc cgtgacctg gtgcttgtat 8341 tgactgtagt gcgcgtcata ttaatgcgca ggtagcaaaa agtcacaaca ttgctttgat 8401 atggaacgtt aaagatttca tgtcattgtc tgaacaacta cgaaaacaaa tacgtagtgc 8461 tgctaaaaag aataacttac cttttaagtt gacatgtgca actactagac aagttgttaa 8521 tgttgaaca acaaagatag cacttaaggg tggtaaaatt gttaataatt ggttgaagca 8581 gttaattaaa gttacacttg tgttcctttt tgttgctgct attttctatt taataacacc 8641 tgttcattgc atgtctaac atactgactt ttcaagtga atcataggat acaaggctat 8701 tgatgggtgt gtcactcgtg acatagcatc tacagatact tgttttgcta acaaacatgc 8761 tgattttgac acatggttta gccagcgtgg tggtagttat actaatgaca aagcttgccc 8821 attgattgct gcagtcataa caagagaagt gggttttgc gtgcctggtt tgcctggcac 8881 gatattacgc acaactaatg gtgacttttt gcatttctta cctagagttt ttagtcagt 8941 tggtaacatc tgttacacac catcaaaact tatagagtac actgactttg caacatcagc 9001 ttgtgtttg gctgctgaat gtacaatttt taaagatgct tctggtaage cagtaccata 9061 ttgttatgat accaatgtac tagaaggttc tgttgcttat gaaagtttac gccctgacac 9121 acgttatgtg ctcattggtg gctctattat tcaatttctt aacacctacc ttgaaggttc 9181 tgttagagtg gtaacaactt ttgattctga gtactgtagg cacggcactt gtgaaagatc 9241 agaagctggt gtttgtgat ctactagtgg tagatgggta cttacaatg attattacag 9301 atctttacca ggagtittct gtggtgtaga tgctgtaaat ttacttacta atatgtttac 9361 accactaatt caacctattg gtgctttgga catatcagca tctatagtag ctggtggtat 9421 thtagctatc gtagtaacat gccttgccca ctattttatg aggtttagaa gagcttttgg 9481 tgaatacagt catgtagttg cctttaatac ttactattc cttatgtcat tcaactgtact 9541 ctgtttaaca ccagtttact cattcttacc tgggttttat tctgttattt actgttactt 9601 gacattttat ctactaatg atgtttcttt tttagcacat attcagtgga tggttatgtt 9661 cacaccttta gtacctttct ggataacaat tgcttatatc atttgtattt ccacaaagca 9721 ttctatttgg ttcttagta attacctaaa gagacgtgta gctttaatg gtgttccct 9781 tagtactttt gaagaagctg cgctgtgcac cttttgtta aataaagaaa tgtatctaaa 9841 gttgcgtagt gatgtgctat
--	--

	tacctcttac gcaatataat agatacttag ctctttataa 9901 taagtacaag tattttagtg gagcaatgga tacaactagc tacagagaag ctgcttggtg 9961 tcactcgcga aaggctctca atgacttcag taactcaggt tctgatgttc ttaccaacc 10021 accacaaaacc tctatcacct cagctgtttt gcagagtggg tttagaaaaa tggcattccc 10081 atctggtaaa gttgaggggt gtatggtaca agtaacttgt ggtacaacta cacttaacgg 10141 tctttggctt gatgacgtag ttactgtcc aagacatgtg atctgcacct ctgaagacat 10201 gcttaaccct aattatgaag atttacctat tcgtaagtct aatcataatt tcttggtaca 10261 ggctggtaat gttcaactca ggggtattgg acattctatg caaaattgtg tacttaagct 10321 taaggttgat acagccaatc ctaagacacc taagtataag ttgttcgca tcaaccagg 10381 acagactttt tcagtgttag ctgttataa tggttacca tctggtgtt accaatgtgc 10441 tatgagggcc aatttacta ttaaggggtc attccttaat ggttcagt gtagtgttg 10501 tttaacata gattatgact gtgtctctt ttgtacatg caccatatgg aattaccaac 10561 tggagtcat gctggcacag acttagaagg taactttat ggacctttg ttgacaggca 10621 aacagcaca gcagctggtg cggacacaac tattacagtt aatgttttag ctggttgta 10681 cgctgctgtt ataatggag acaggtggtt tctcaatga ttaccacaa ctctaatga 10741 cttaacctt gtggtatga agtacaatta tgaacctta acacaagacc atgttgacat 10801 actaggacct cttctgtc aaactggaat tgcgtttta gatagtgtg cttcattaaa 10861 agaattactg caaatggtg tgaatggacg taccatattg ggtagtgtt tattagaaga 10921 tgaattaca cctttgatg ttgttagaca atgctcaggt gttacttcc aaagtgcagt 10981 gaaaagaaca atcaagggtg cacaccactg gttgtactc acaattttga cttcacttt 11041 agtttagtc cagagtactc aatggctctt gttctttt ttgtatgaaa atgcctttt 11101 accttttct atgggtatta ttgctatgtc tgcctttgca atgatgttg tcaaacataa 11161 gcatgcattt cctgtttgt tttgttacc ttctctggcc actgtagctt atttaatat 11221 ggtctatatg cctgctagt ggtgatgag tattatgaca tgggtggata tgggtgatac 11281 tagttgtct ggttttaagc taaaagactg tggtatgtat gcatcagctg tagtgttact 11341 aatccttatg acagcaagaa ctgtgtatga tgatggtgct aggagagtgt ggacacttat 11401 gaatgtctg acactcgtt ataaagtta ttatggtaat gcttagatc aagccattc 11461 catgtgggct cttataatct ctgtacttc taactactca ggtgtagtta caactgtcat 11521 gttttggcc agaggtattg ttttatgtg tgttgagtat tgccttattt tctcataac 11581 tggtaataca cttcagtgtg taatgctagt ttattgttc ttaggtatt tttgtactg 11641 ttactttggc ctctttgtt tactcaaccg ctactttaga ctgactcttg ggtttatga 11701 ttacttagt tctacacagg
--	---

	agtttagata tatgaattca cagggactac tcccacccaa 11761 gaatagcata gatgccttca aactcaacat taaattgttg gggtgttggtg gcaaaccttg 11821 tatcaaagta gccactgtac agtctaaaat gtcagatgta aagtgcacat cagtagtctt 11881 actctcagtt ttgcaacaac tcagagtaga atcatcatct aaattgtggg ctcaatgtgt 11941 ccagttacac aatgacattc tcttagctaa agatactact gaagccttg aaaaaatggt 12001 ttcactactt tctgtttgc ttccatgca ggggtgctgta gacataaca agctttgtga 12061 agaaatgctg gacaacaggg caaccttaca agctatagcc tcagagtta gtcccttcc 12121 atcatatgca gcttttgcta ctgctcaaga agcttatgag caggctgttg ctaattgtga 12181 ttctgaagtt gttcttaaaa agttgaagaa gtctttgaat gtggctaaat ctgaattga 12241 ccgtgatgca gccatgcaac gtaagttgga aaagatggct gatcaagcta tgacccaaat 12301 gtataaacag gctagatctg aggacaagag ggcaaaagt actagtgtga tgcagacaat 12361 gcttttact atgcttagaa agttggataa tgatgcactc aacaacatta teaacaatgc 12421 aagagatggt tgtgttccct tgaacataat acctcttaca acagcagcca aactaatggt 12481 tgcatacca gactataaca catataaaaa tacgtgtgat ggtacaacat ttacttatgc 12541 atcagcattg tgggaaatcc aacagggtgt agatgcagat agtaaaattg tcaacttag 12601 tgaaattagt atggacaatt cacctaatt agcatggcct ctattgtaa cagcttaag 12661 ggccaattct gctgtcaaat tacagaataa tgagcttagt cctgttgcaac tacgacagat 12721 gtcttgctgct gccggtacta cacaaactgc ttgactgat gacaatgcgt tagcttacta 12781 caacacaaca aagggaggta ggtttgtact tgcactgtta tccgatttac aggattgaa 12841 atgggctaga ttcctaaga gtgatggaac tggactatc tatacagaac tggaaaccac 12901 tttagagttt gttacagaca cacctaaagg tctaaagt aagtatttat actttattaa 12961 aggattaaac aacctaaata gaggatggt acttgtagt ttagctgcca cagtacgtct 13021 acaagctggt aatgcaacag aagtgcctgc caattcaact gtattatctt tctgtgctt 13081 tgctgtagat gctgctaaag cttacaaga ttatctagct agtgggggac aaccaatcac 13141 taattgtgtt aagatgtgt gtacacacac tggtagtggt caggcaataa cagttacac 13201 ggaagccaat atggatcaag aatcctttgg tggtagcatg tttgtctgt actgccgttg 13261 ccacatagat catccaaatc cttaaaggatt ttgtgactta aaaggtaagt atgtacaaat 13321 acctacaact tgtgctaag acctgtggg ttctacatt aaaaacacag tctgtaccgt 13381 ctgcggtatg tggaaagggt atggctgtag ttgtgatcaa ctccgcgaac ccatgcttca 13441 gtcagctgat gcacaatcg ttttaaaccg gtttgcggtg taagtgcagc cgtcttaca 13501
--	--

	c c g t g c g g c a c a g g c a c t a g t a c t g a t g t c g t a t a c a g g g c t t t t g a c a t c t a c a a t g a t 13561 a a a g t a g c t g g t t t g c t a a a t t c c t a a a a a c t a a t t g t t g t c g c t t c c a a g a a a a g g a c 13621 g a a g a t g a c a a t t a a t t g a t t c t a c t t t g t a g t t a a g a g a c a c a c t t t c t c t a a c t a c 13681 c a a c a t g a a g a a c a a t t t a t a a t t t a c t t a a g g a t t g t c c a g c t g t t g c t a a c a t g a c 13741 t t c t t l a a g t t t a g a a t a g a c g g t g a c a t g g t a c c a t a t a t c a c g t c a a c g t c t t a c t 13801 a a a t a c a c a a t g g c a g a c c t c g t c t a t g c t t t a a g g c a t t t t g a t g a a g g t a a t t g t g a c 13861 a c a t t a a a a g a a a t a c t t g t c a c a t a c a a t t g t t g t a t g a t g a t t a t t c a a t a a a a a g 13921 g a c t g g t a t g a t t t t g t a g a a a c c c a g a t a t a t t a c g c g t a t a c g c c a a c t a g g t g a a 13981 c g t g t a c g c c a a g c t t t g t t a a a a c a g t a c a a t t c t g t g a t g a t g c c a t g c g a a a t g c t g g t 14041 a t t g t t g g t g t a c t g a c a t t a g a t a a t c a a g a t c t c a a t g g t a a c t g g t a t g a t t t c g g t 14101 g a t t t c a t a c a a a c c a c g c c a g g t a g t g g a g t t c c t g t g t a g a t t c t t a t t a t c a t t g 14161 t t a a t g c c t a t a t a a c c t t g a c c a g g g c t t t a a c t g c a g a g t c a c a t g t g a c a c t g a c 14221 t t a a c a a a g c c t t a c a t t a a g t g g g a t t t g t t a a a t a t g a c t t c a c g g a a g a g a g g t t a 14281 a a a c t c t t g a c c g t t a t t t t a a a t a t t g g a t c a g a c a t a c c a c c c a a a t t g t g t t a a c 14341 t g t t t g g a t g a c a g a t g c a t t c t g c a t t g t g c a a a c t t t a a t g t t t a t t c t c t a c a g t g 14401 t t c c c a c c t a c a a g t t t t g g a c c a c t a g t g a g a a a a a t a t t t g t t g a t g g t g t t c c a t t t 14461 g t a g t t t c a a c t g g a t a c c a c t t c a g a g a g c t a g g t g t t g t a c a t a t c a g g a t g t a a a c 14521 t t a c a t a g c t c t a g a c t t a g t t t t a a g g a a t t a c t t g t g t a t g c t g c t g a c c t g c t a t g 14581 c a c g c t g c t t c t g g t a a t c t a t t a c t a g a t a a a c g c a c t a c g t g c t t t c a g t a g c t g c a 14641 c t t a c t a a c a a t g t t g c t t t t c a a a c t g t c a a a c c c g g t a a t t t a c a a a g a c t t c t a t 14701 g a c t t t g c t g t g t c t a a g g g t t t c t t t a a g g a a g g a a g t t c t g t t g a a t t a a a c a c t t c 14761 t t c t t t g c t c a g g a t g g t a a t g c t g c t a t c a g c g a t t a t g a c t a c t a t c g t t a t a t c t a 14821 c c a a c a a t g t g t g a t a t c a g a c a a c t a c t a t t t g t a g t t g a a g t t g t t g a t a g t a c t t t 14881 g a t t g t t a c g a t g g t g g c t g t a t t a a t g c t a a c c a a g t c a t c g t c a a c a a c c t a g a c a a a 14941 t c a g c t g g t t t t c c a t t t a a t a a t g g g g t a a g g c t a g a c t t t a t t a t g a t t c a a t g a g t 15001 t a t g a g g a t c a a g a t g c a c t t t t c g c a t a t a c a a a a c g t a a t g t c a t c c c t a c t a t a a c t 15061 c a a a t g a a t c t t a a g t a t g c c a t t a g t g c a a a g a a t a g a g c t c g c a c c g t a g c t g g t g t c 15121 t c t a t c t g t a g t a c t a t g a c c a a t a g a c a g t t t c a t c a a a a a t t a t t g a a a t c a a t a g c c 15181 g c c a c t a g a g g a g c t a c t g t a g t a a t t g g a a c a a g c a a a t t c t a t g g t g g t t g g c a c a a c 15241 a t g t t a a a a a c t g t t t a t a g t g a t g t a g a a a a c c c t c a c c t t a t g g g t t g g g a t t a c c t
--	---

	15301 aaatgtgata gagccatgcc taacatgctt agaattatgg cctcacttgt tcttgctcgc 15361 aaacatacaa cgtgttgtag ctgtcacac cgtttctata gattagctaa tgagtgtgct 15421 caagtattga gtgaaatggt catgtgtggc ggttcactat atgttaaacc aggtggaacc 15481 tcatcaggag atgccacaac tgcttatgct aatagtgtt ttaacatttg tcaagctgc 15541 acggccaatg ttaatgcact ttatctact gatgtaaca aaattgccga taagtatgc 15601 cgcaattac aacacagact ttatgagtgt ctctatagaa atagagatgt tgacacagac 15661 ttgtgaatg agttttacgc atatttgcgt aaacatttct caatgatgat actctctgac 15721 gatgctgttg tgtgttcaa tagcacttat gcatctcaag gtctagtggc tagcataaag 15781 aactttaagt cagttcttta ttatcaaac aatgttttta tgtctgaage aaaatgttg 15841 actgagactg acctactaa aggacctcat gaatttgcct ctaacatac aatgctagt 15901 aaacagggtg atgattatgt gtaccttct taccagatc catcaagaat cctaggggcc 15961 ggctgtttg tagatgat cgtaaaaaca gatgttacac ttatgattga acggttcgtg 16021 tctttagta tagatgctta cccacttact aaacatccta atcaggagta tgctgatgc 16081 ttcatattgt acttacaata cataagaag ctacatgatg agttaacagg acacatgta 16141 gacatgtatt ctgttatgct tactaatgat aacacttcaa ggtattggga acctgagtt 16201 tatgaggcta tgtacacacc gcatacagtc ttacaggctg ttggggcctg tgttcttgc 16261 aattcacaga ctctattaag atgtgggtgc tgcatacgta gaccattctt atgttgtaa 16321 tgctgttacg accatgcat atcaacatca cataaattag tctgtctgt taatccgtat 16381 gttgcaatg ctccaggtg tgatgcaca gatgtgactc aacttactt aggaggtatg 16441 agctattatt gtaaatcaca taaaccaccc attagtttct cattgtgtgc taatggacaa 16501 gtttttggt tatataaaaa tacatgtgt ggtagcgata atgttactga cttaaatgca 16561 attgcaacat gtgactggac aaatgctggt gattacatt tagctaacac ctgtactgaa 16621 agactcaage ttttgcagc agaaacgctc aaagctactg aggagacatt taaactgtct 16681 tatggtattg ctactgtacg tgaagtgtg tctgacagag aattacatct ttcatgggaa 16741 gttggtaaac ctagaccacc acttaaccga aattatgctt ttactggta tctgttaact 16801 aaaaacagta aagtacaaat aggagagtac accttgaaa aaggtgacta tggtgatgct 16861 gttgtttacc gaggtacaac aacttaaaa ttaaatgtg gtgattatt tgtgctgaca 16921 tcacatacag taatgccatt aagtgcacct aactagtgc cacaagagca ctatgttaga 16981 attactggct tataccaac actcaatc tcagatgagt ttctagcaa tgttgcaaat 17041 tatcaaaagg ttggtatgca aaagtattct acactcagg gaccacctg tactgtaag 17101 agtcatttgc ctattggcct agctctctac
--	---

		tacccttctg ctgcatagt gtatacagct 17161 tgctctcatg ccgctgttga tgcactatgt gagaaggcat taaaatattt gcctatagat 17221 aaatgtagta gaattatacc tgcacgtgct cgtgtagagt gtttgataa attcaaagt 17281 aattcaacat tagaacagta tgtctttgt actgtaaatg cattgcctga gacgacagca 17341 gatatagttg tctttgatga aatttcaatg gccacaaatt atgatttgag tgttgtcaat 17401 gccagattac gtgctaagca ctatgtgtac attggcgacc ctgctcaatt acctgcacca 17461 cgcacattgc taactaaggg cacactagaa ccagaatatt tcaattcagt gtgtagactt 17521 atgaaaacta taggtccaga catgttctc ggaactgtc ggcgttgctc tgctgaaatt 17581 gttgacactg tgagtgttt ggtttatgat aataagctta aagcacataa agacaaatca 17641 gctcaatgct ttaaattgtt ttataagggt gttatcacgc atgatgttc atctgcaatt 17701 aacaggccac aaataggcgt ggtaagagaa ttcttacac gtaaccctgc ttggagaaaa 17761 gctgtcttta ttacacctta taattcacag aatgctgtag cctcaaagat ttgggacta 17821 ccaactcaaa ctgttgatc atcacagggc tcagaatatg actatgcat attactcaa 17881 accactgaaa cagctcactc ttgtaatga aacagattta atgttctat taccagagca 17941 aaagtaggca tactttgcat aatgtctgat agagaccttt atgacaagt gcaattlaca 18001 agtcttgaaa ttccacgtag gaatgtggca actttacaag ctgaaaatgt aacaggactc 18061 tttaaagatt gtagtaagg aatcactggg ttacatccta cacaggcacc tacacacctc 18121 agtgttgaca ctaaattcaa aactgaagg ttatgtgttg acatacctgg catacctaag 18181 gacatgacct atagaagact catctctatg atgggtttta aatgaatta tcaagttaat 18241 ggttacccta acatgtttat caccgcgaa gaagctataa gacatgtacg tgcattgatt 18301 ggcttcgatg tcgaggggtg tcatgctact agagaagctg ttgtaccaa ttaccttta 18361 cagctagggt ttctacagg tgttaacct gttgctgtac ctacaggta tgttgataca 18421 cctaataata cagattttc cagagttagt gctaaaccac cgctggaga tcaatttaa 18481 cacctacac cacttatgta caaaggactt ccttggaatg tagtgcgtat aaagattgta 18541 caaatgttaa gtgacacact taaaatctc tctgacagag tcgtatttgt ctatgggca 18601 catggcttfg agttgacatc tatgaagtat ttgtgaaa taggacctga gcgcacctgt 18661 tgtctatgtg atagacgtgc cacatgcttt tccactgctt cagacactta tgcctgttgg 18721 catcattcta ttggatttga ttacgtctat aatccgttta tgattgatgt tcaacaatgg 18781 ggttttacag gtaacctaca aagcaacct gatctgtatt gtcaagtcca tggtaatgca 18841 catgtagcta gttgtgatgc aatcatgact aggtgtctag ctgtccacga gtgctttgtt 18901
--	--	--

		aagcgtgttg actggactat tgaatcct ataattggtg atgaactgaa gattaatgcg 18961 gctttagaa aggttcaaca catggtgtt aaagctcat tattgcaga caaatccca 19021 gtcttcacg acattggtaa ccctaaagct attaagtggtg tacctcaagc tgatgtagaa 19081 tggaagtct atgatgcaca gcctttagt gacaaagctt ataaataga agaattatc 19141 tattctatg ccacacattc tgacaaatc acagatggtg tatgctatt ttggaattgc 19201 aatgtcgata gatcctgc taattccatt gtttgtagat ttgacactag agtctatct 19261 aacctaaat tgctgtgtg tgatggtggc agttgtatg taaataaaca tgcatccac 19321 acaccagctt tgataaaag tgctttgtt aatttaaac aattaccatt ttctattac 19381 tctgacagtc catgtgagtc tcatggaaa caagtagtgt cagatataga ttatgtacca 19441 ctaaagtctg ctacgtgtat aacacgttg aatttagtg gtgctgtctg tagacatcat 19501 gctaagtagt acagattga tctgatgct tataacatga tgatctcagc tggtttagc 19561 ttgtgggtt acaacaatt tgatactat aacctctgga acactttac aagactcag 19621 agtttagaaa atgtggctt taatgtgtg aataaggac actttgatgg acaacagggt 19681 gaagtaccag ttctatcat taataacact gtttacacaa aagttgatgg tgtgatgta 19741 gaattgttg aaaataaac aacattacct gtaattgtag catttgagct ttgggctaag 19801 cgcaacatta aaccagtacc agaggtgaaa atactcaata atttgggtg ggacattgct 19861 gctaatactg tgatctggga ctacaaaaga gatgtccag cacatatatc tactattgt 19921 gttgttcta tgactgacat agccaagaaa ccaactgaaa cgattgtgc accactcact 19981 gtctttttg atggtagagt tgatgtcaa gtagacttat ttgaaatgc ccgtaattgt 20041 gttctatta cagaaggtg tgtaaaggt ttacaacct ctgtaggtcc caacaagct 20101 agtctaatg gagtcacatt aattggagaa gccgtaaaa cacagtcaa ttattataag 20161 aaagttgatg gtgtgtcca acaattacct gaaacttact ttactcagag tagaaattta 20221 caagaattta aaccaggag tcaaatgaa attgattct tagaattagc tatggatgaa 20281 ttattgaac ggtataaatt agaaggctat gccttgaac atatgttta tggagattt 20341 agtcatagtc agttaggtg ttacatcta ctgattggac tagctaaacg tttaaggaa 20401 tcacctttg aattagaaga ttattacct atggacagta cagttaaaa ctattcata 20461 acagatgcgc aacagggtc atctaagtgt gtgtgtctg ttattgattt attactgat 20521 gattttgtg aaataataaa atcccaagat ttatctgtag ttctaaagt tgcaaaagt 20581 actattgact atacagaaat ttcatttatg cttgggtgta aagatggcca ttagaagaa 20641 ttttaccaa aattacaatc tagtcaagcg tggcaaccgg gtgtgtctat gcctaattt 20701 taaaaatgc aaagaatgct
--	--	--

	attagaaaag tgtgaccttc aaaattatgg tgatagtgc 20761 acattaccta aaggcataat gatgaatgc gcaaaatata ctcaactgtg tcaatattta 20821 aacacattaa cattagctgt accctataat atgagagtta tacattttgg tgctggttct 20881 gataaaggag ttgcaccagg tacagctgtt ttaagacagt gggtgcctac gggtagctg 20941 cttgtcgatt cagatcttaa tgactttgtc tctgatgcag attcaacttt gattggtgat 21001 tgtgcaactg tacatacagc taataaatgg gatctcatta ttagtatat gtacgacct 21061 aagactaaaa atgttaciaa agaaaatgac tctaaaggagg gtttttcac ttacattgt 21121 gggtttatac aacaaaagct agctcttggg gggtccgtgg ctataaagat aacagaacat 21181 tcttggaaatg ctgatcttta taagctcatg ggacacttcg catggtggac agcctttgtt 21241 actaatgtga atgcgtcacc atctgaagca ttttaattg gatgttaatta tcttggcaaa 21301 ccacgcgaac aaatagatgg ttatgtcatg catgcaaatt acatattttg gaggaatata 21361 aatccaattc agttgtcttc ctattcttta ttgacatga gtaaatttcc ccttaaat 21421 aggggtactg ctgttatgtc tttaaaagaa ggtaaatca atgatatgat tttatctct 21481 cttagtaaag gtagacttat aattagagaa aacaacagag ttgttattc tagtgatgtt 21541 cttgttaaca actaaacgaa caatgtttgt tttcttgtt ttattgccac tagtctctag 21601 tcagtgtgtt aatcttacia ccagaactca attaccctc gcatacacta attcttcac 21661 acgtggtgtt tattaccctg acaaagtttt cagatcctca gttttacatt caactcagga 21721 cttgttetta cttttctttt ccaatgttac ttggttccat gctatacatg tctctgggac 21781 caatggtact aagaggtttg ataaccctgt cctaccattt aatgatggtg tttattttg 21841 ttccactgag aagtctaaca taataagagg ctggaatttt gggtactact tagattcgaa 21901 gaccagtcct ctactattg ttaataacgc tactaatgtt gttattaaag tctgtgaatt 21961 tcaattttgt aatgatccat tttgggtgt ttattaccac aaaaacaaca aaagttggat 22021 ggaaagttag ttcagagttt attctagtgc gaataattgc acttttgaat atgtctctca 22081 gccttttctt atggaccttg aaggaaaaca gggtaatttc aaaaatctta gggaatttgt 22141 gtttaagaat attgatggtt attttaaaat atatctaaag cacacgccta ttaatttagt 22201 gcgtgatctc cctcagggtt tttcggctt agaaccattg gtagatttgc caataggtat 22261 taacatcact aggtttcaaa ctttacttgc ttacataga agttattga ctctgggtga 22321 ttcttctca gggtggacag ctggtgctgc agcttattat gtgggttacc ttcaacctag 22381 gactttteta ttaaaatata atgaaaatgg aaccattaca gatgctgtag actgtgcact 22441 tgacctctc tcagaaacaa agtgtacgtt gaaatccttc actgtagaaa aaggaaatcta 22501 tcaaacttct aactttagag tccaaccaac
--	---

		agaatctatt gttagatttc ctaatattac 22561 aaacttgctc ccttttggtg aagtttttaa cgccaccaga ttgcatctg tttatgctg 22621 gaacaggaag agaatcagca actgtgtgc tgattattct gtcctatata attccgcac 22681 atttccact ttaagtgtt atggagtgc tctactaaa ttaaatgac tctgctttac 22741 taatgtctat gcagattcat ttgtaattag aggtgatgaa gtcagacaaa tcgctccagg 22801 gcaactgga aagattgctg attataatta taaattacca gatgattta caggctgctg 22861 tatagttgg aattctaaca atcttgatc taaggttggt ggtaattata attacctga 22921 tagattgtt aggaagtcta atctcaaacc tttgagaga gatattcaa ctgaaatcta 22981 tcaggccggt agcacacctt gtaattggtg tgaaggttt aattgttact ttctttaca 23041 atcatatggt ttccaacca ctaatggtgt tggttacca ccatacagag tagtagtact 23101 ttctttgaa ctctacatg caccagcaac tgtttgtgga cctaaaaagt ctactaattt 23161 ggtaaaaaac aatgtgtca attcaactt caatggttta acaggcacag gtgttcttac 23221 tgagtctaac aaaaagttc tgctttcca acaatttggc agagacattg ctgacactac 23281 tgatgtgtc cgtgatccac agacactga gattctgac attacacat gttcttttg 23341 tgggtcagt gttataaac caggaacaaa tacttctaac cagggtgtg ttctttata 23401 ggatgttaac tgcacagaag tccctgttgc tattcatgca gatcaacta ctctactg 23461 gcgtgttat tctacaggt ctaattttt tcaaacacgt gcaggctgtt taataggggc 23521 tgaacatgc aacaactcat atgagtgtga cataccatt ggtgcagga tatgcgctag 23581 ttacagact cagactaatt ctctcgggc ggcacgtagt gtagtagtc aatccatcat 23641 tgcctacact atgtcactg gtgcagaaaa ttcagtgtct tactctaata actctattg 23701 cataccaca aattttacta ttagtgttac cacagaaatt ctaccagtgt ctatgacaa 23761 gacatcagta gattgtacaa tgtacattg tgggtattca actgaatgca gcaatttt 23821 gttgcaatat ggcagtttt gtacacaatt aaaccgtgt ttaactggaa tagctgtga 23881 acaagacaaa aacaccaag aagttttgc acaagtcaa caaatttaca aaacaccacc 23941 aaltaaagat ttgggtggt ttaattttc acaatatta ccagatccat caaaaccaag 24001 caagaggtca ttattgaag atctacttt caacaaagt acactgcag atgtggctt 24061 catcaacaa tatgggtgatt gccttggtga tattgtgtct agagacctca ttgtgcaca 24121 aaagttaac ggccttactg ttgtgccacc ttgttcaca gatgaaatga ttgtcaata 24181 cacttctgca ctgttagcgg gtacaatcac ttctggttg acctttggtg cagggtgtgc 24241 attacaaata ccatttgcta tgcaaatggc ttatagggtt aatggtattg gagttacaca 24301 gaattgtctc tatgagaacc aaaaattgat tgccaacca ttaatagtg
--	--	---

	ctattggcaa 24361 aattcaagac tcaactttctt ccacagcaag tgcacttgga aaacttcaag atgtggtcaa 24421 ccaaaatgca caagctttaa acacgcttgt taaacaactt agtccaatt ttggtgcaat 24481 ttaagtgtt ttaaatgata tctttcacg tcttgacaaa gttgaggctg aagtgcacaa 24541 tgatagggtg atcacaggca gacttcaaag ttgcagaca tatgtgactc aacaattaat 24601 tagagctgca gaaatcagag ctctgctaa tcttgctget actaaaatgt cagagtgtgt 24661 acttgacaa tcaaaaagag ttgattttg tggaaagggc tateatetta tgccttccc 24721 tcagtcagca cctcatggtg tagtcttctt gcattgact tatgtcctg cacaagaaaa 24781 gaacttcaca actgtcctg ccattgtca tgatggaaaa gcacacttc ctctgaagg 24841 tcttctgtt tcaaatggca cacactggtt tgtaacaca aggaattttt atgaaccaca 24901 aatcattact acagacaaca catttgctc ttgtaactgt gatgttgtaa taggaattgt 24961 caacaacaca gtttatgac ctctgaacc tgaattagac tcattcaagg aggagttaga 25021 taaatattt aagaatcata catcaccaga tgttgattt ggtgacatct ctggcattaa 25081 tgcttcagt gtaaacattc aaaaagaaat tgaccgcctc aatgaggtg ccaagaattt 25141 aatgaatct ctcatgac tccaagaact tggaaagtat gagcagtata taaaatggcc 25201 atggtacatt tggctagggt ttatagctgg ctgattgcc atagtaatgg tgacaattat 25261 gcttgctgt atgaccagt gctgtagt tctcaagggc tgtgttctt gtggatcctg 25321 ctgcaattt gatgaagacg actctgagcc agtgcataa ggagtcacaa tacattacac 25381 ataacgaac ttatggattt gtttatgaga atcttcacaa ttggaactgt aacttgaag 25441 caaggtgaaa tcaaggatgc tactcctca gatttgttc gcgctactgc aacgataccg 25501 atacaagcct cactccctt cggatgctt attgttggcg ttgcactct tctgtttt 25561 cagagcgctt ccaaaatcat aacctcaaa aagagatggc aactagcact ctccaagggt 25621 gttcactttg ttgcaactt gctgtgtg tttgaacag ttactaca cctttgctc 25681 gttgctgctg gcttgaagc ccttttctc tatcttatg cttagtcta ctcttgacg 25741 agtataaact ttgtaagaat aataatgagg ctttgctt getggaaatg cegttccaa 25801 aaccattac ttatgatgc caactttt ctctgctgc atactaattg ttacgactat 25861 tgtatacctt acaatagtgt aacttctca attgcatta ctcaggtga tggcacaaca 25921 agtctattt ctgaacatga ctaccagatt ggtggttata ctgaaaaatg ggaatctgga 25981 gtaaaagact gtgtgtatt acacagttac ttaactcag actattacca gctgtactca 26041 actcaattga gtacagacac tgggttgaa catgttacct tctcatcta caataaaatt 26101 gttgatgagc ctgaagaaca tgtccaaatt cacacaatcg acggttcac
--	---

	cggagttggt 26161 aatccagtaa tggaaccaat ttatgatgaa ccgacgacga ctactagcgt gcctttgtaa 26221 gcacaagctg atgagtacga acttatgtac tcattcgttt cggaagagac aggtacgta 26281 atagttaata gcgtacttct ttttcttgc ttcgtggtat tcttgctagt tacactagcc 26341 atccttactg cgcttcgatt gtgtgcgtac tgctgcaata ttgtaacgt gagtcttgta 26401 aaaccttctt ttacgttta ctctcgtgtt aaaaatctga attctctag agttcctgat 26461 cttctggtct aaacgaacta aatattatat tagttttct gtttgaact ttaatttag 26521 ccatggcaga ttccaacggt actattaccg ttgaagagct taaaaagctc ctggaacaat 26581 ggaacctagt aataggtttc ctattcetta catggatttg tcttctacaa ttgcctatg 26641 ccaacaggaa taggttttg tatataatta agttaattt cctctgctg ttatggccag 26701 taactttage ttgtttgtg cttgctgctg ttacagaat aaattggatc accggtggaa 26761 ttgctatgc aatggcttct cttgtaggt tgatgtggt cagctactc attgcttct 26821 tcagactgt tgcgcgtacg cgttccatgt ggtcattcaa tccagaaact aacattctc 26881 tcaacgtgcc actccatggc actattctga ccagaccgt tctagaaagt gaactcgtaa 26941 teggagctgt gatccttct ggacatctc gtattgctgg acaccatcta ggacgctgtg 27001 acatcaagga cctgcctaaa gaaatcactg ttgctacatc acgaacgctt tcttattaca 27061 aattgggagc ttgcagcgt gtagcaggtg actcaggtt tgctgcatac agtcgtctaca 27121 ggattggcaa ctataaatta aacacagacc attccagtag cagtgacaat attgctttgc 27181 ttgtacagta agtgacaaca gatgttcat ctggttact ttcaggttac tatagcagag 27241 atattactaa ttattatgag gacttttaa gtttccattt ggaatctga ttacatcata 27301 aacctcataa ttaaaaattt atctaagtca ctaactgaga ataatattc tcaattagat 27361 gaagagcaac caatggagat tgattaaacg aacatgaaaa ttattctttt ctggcactg 27421 ataacactcg ctacttctga gctttatcac taccaagagt gtgtagagg tacaacagta 27481 cttttaaag aacctgctc ttctggaaca tacgagggca attcaccatt tcactctta 27541 gctgataaca aatttgcact gacttgctt agcactcaat ttgctttgc ttgctctgac 27601 ggcgtaaaac acgtctatca gttacgtgcc agatcagtt cacctaaact gttcatcaga 27661 caagaggaag tcaagaact ttactctcca attttctta ttgtgcggc aatagtgtt 27721 ataacacttt gcttcact caaaagaaag acagaatgat tgaacttca ttaattgact 27781 tctattgtg ctttttagcc ttctgctat tcttgtttt aattatgctt attatcttt 27841 ggttctcact tgaactgcaa gatcataatg aaacttgca cgcctaaacg aacatgaaat 27901 ttctgtttt cttaggaatc atcacaactg tagctgcatt tcaccaagaa tgtagttac
--	--

	27961 agtcatgtac tcaacatcaa ccatatgtag ttgatgacc gtgtcctatt cacttctatt 28021 ctaaattgga tattagagta ggagctagaa aatcagcacc ttaattgaa ttgtcgtgg 28081 atgaggtgg ttctaatca cccattcagt acatcgatat cggttaattat acagtttct 28141 gtttacctt tacaattaat tgccaggaac ctaaattggg tagtcttga gtgcgttgt 28201 cgttctatga agactttta gagtatcatg acgttcgtgt tgtttagat ttcatctaaa 28261 cgaacaaact aaaatgtctg ataattggacc ccaaaatcag cgaaatgcac ccgcattac 28321 gtttggtgga ccctcagatt caactggcag taaccagaat ggagaacgca gtggggcgcg 28381 atcaaaacaa cgtcggcccc aaggtttacc caataatact ggcgttggg taccgctct 28441 cactcaacat ggcaaggaag acctaaatt cctcgagga caaggcggtc caattaacac 28501 caatagcagt ccagatgacc aaattggcta ctaccgaaga gctaccagac gaattcgtgg 28561 tggtgacggt aaaatgaaag atctcagtc aagatggtat ttctactacc taggaactgg 28621 gccagaagct ggacttcct atggtgctaa caaagacggc atcatatggg ttgcaactga 28681 gggagccttg aatacacaa aagatcacat tggcaccgc aatctgcta acaatgetgc 28741 aatcgtgcta caactctc aaggaaacac attgcaaaa ggcttctacg cagaaggag 28801 cagaggcggc agtcaagcct cttctcgtc ctcacagt agtgcaca gttcaagaaa 28861 ttcaactcca ggcagcagta ggggaacttc tctgctaga atggctggca atggcggtga 28921 tgctgctctt gcttgctgc tgcctgacag attgaaccag cttgagagca aaatgtctgg 28981 taaaggccaa caacaacaag gccaaactgt cactaagaaa tctgctgctg aggttctaa 29041 gaagcctcgg caaaaacgta ctgccactaa agcatacaat gtaacacaag ctttcggcag 29101 acgtggtcca gaacaaccc aaggaaattt tggggaccag gaactaatca gacaaggaac 29161 tgattacaaa cattggccgc aaattgcaca atttgcccc agcgcttcag cgttctcgg 29221 aatgtcgcgc attggcatgg aagtcacacc ttcgggaacg tgggtgacct acacaggtgc 29281 catcaaattg gatgacaaag atccaaattt caaagatcaa gtcattttgc tgaataagca 29341 tattgacgca taaaaacat tcccaccaac agagcctaaa aaggacaaaa agaagaaggc 29401 tgatgaaact caagccttac cgcagagaca gaagaaacag caaactgtga ctctcttcc 29461 tgctgcagat ttggatgatt tctccaaaca attgcaacaa tccatgagca gtgctgactc 29521 aactcaggcc taaactcatg cagaccacac aaggcagatg ggctatataa acgttttcgc 29581 tttccgtt acgatatata gtctactctt gtgcagaatg aattctcgta actacatagc 29641 acaagtagat gtagttaact ttaatctcac atagcaatct ttaatcagtg tgtaacatta 29701 gggaggactt gaaagagcca ccacatttc accgaggcca cgcggagtac
--	--

		gatcgagtgt 29761 acagtgaaca atgctaggga gagctgccta tatggaagag ccctaatttg taaaattaat 29821 tttagtagtg ctatcccat gtgattttaa tagcttctta ggagaatgac aaaaaaaaa 29881 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa
Secuencia genómica del virus de la neumonía aislado del Mercado de pescado de Wuhan Wuhan- Hu-1 (Gen Bank: MN908947, 23 de enero 2020) – traducción de aminoácidos	164	MESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGF GDSVEEVLSEARQHLKDGTCGLVEVEKGVLP QLEQPYVFIKRS DARTAPHGHVMVELVAELE GIQYGRSGETLGVLVPHVGEIPVAYRKVLLR KNGNKGAGGHSYGADLKSFDLGDELGTDPY EDFQENWNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTR YVDNNFCGPDGYPLECIKDLLARAGKASCTL SEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIAWYTERSEK SYELQTPFEIKLAKKFDTFNGECPNFVFPNLSII KTIQPRVEKKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECN QMCLSTLMKCDHCGETSWQTGDFVKATCEF CGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPACH NSEVGPEHSLAEYHNESGLKTILRKGGRTIAF GGCVFSYVGCHNKCAYWVPRASANIGCNHT GVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFK LNEEIAIILASFSASTSAFVETVKGLDYKAFKQ IVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSILSPL YAFASEAARVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKA AITILDGISQYSLRLIDAMMFTSDLATNNLVV MAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPV DWLEEKFKEGVEFLRDGWEIVKFISTCACEIV GGQIVTCAKEIKESVQTFFKLVNKFLALCADS IIIGGAKLALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSR EETGLLMPLKAPKEIIFLEGETLPTEVLTEEVV LKTGDLQPLEQPTSEAVEAPLVGTPVCINGLM LLEIKDTEKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGA TKVTFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERIDKV LNEKCSAYTVELGTEVNEFACVVADAVIKTL QPVSELLTPLGIDLDEWSMATYYLFDESGEFK LASHMYCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQY EYGTEDDYQGKPLEFGATSAALQPEEEQEED WLDDDSQQTVGQDGSSEDNQTITQITIVEVQ PQLEMELTPVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIK NADIVEEAKKVKPTVVVNAANVYLKHGGGV AGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVG SCVLSGHNLAHCLHVVGPNVKNKGEDIQLLK SAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPIHSLRV CVDTVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKS EKQVEQKIAEIPKEEVKPFITESKPSVEQRKQD DKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYIDING

	NLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYIVGDVVQE GVLTAUVIPTKKAGGTTEMLAKALRKVPTDN YITTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAFYIL PSIISNEKQEILGTVSWNLREMLAHAEETRKL MPVCVETKAIVSTIQRKYKGIKIQEGVVDYGA RFYFYTSKTTVASLINTLNDLNETLVTMPLGY VTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAV TAYNGYLTSSSKTPEEHFIETISLAGSYKDWS YSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYTSNPPTFHL GEVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLH TQVVDMSMTYGQQFGPTYLDGADVTKIKPH NSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDP FLGRYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWAD NNCYLATALLTLQQIELKFNPPALQDAYYRA RAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMS YLFQHANLDSCKRVLNVVCKTCGQQQTTLK GVEAVMYMGTLSEYQFKKGVQIPCTCGKQA TKYLVQQESPVMMSAPPAQYELKHGFTTCA SEYTGNYQCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKS SEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVTYKLDGVV CTEIDPKLDNYYKKDNSYFTEQPIDLVPNQPY PNASFDNFKFVCDNIKFADDLNQLTGYYKPA SRELKVTFPPDLNGDVVAIDYKHYTPSFKKG AKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRC LWSTKPVETSNSFDVLKSEDAQGMDNLACED LKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKTTEVVGDI ILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTI KKPNELSRVLGLKTLATHGLAAVNSVPWDTI ANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNYM PYFFTLLQLCTFTRSTNSRIKASMPPTIAKNT VKSVGKFCLEASFNYLKSPNFSKLINIIWFL LSVCLGSLIYSTAALGVLMNSNLGMPSYCTGY REGYLNSTNVTIATYCTGSIPCSVCLSGLD SLDTYPSLETIQITISSFKWDLTAFGLVAEWFLAYI LFTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWL MWLIINLVQMAPISAMVRMYIFFASFYVVK SYVHVVDGCNSSTCMMCYKRNRRATRVECTT IVNGVRRSFYVYANGGKGFCCKLHNWNCVNC DTFCAGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSS YIVDSVTVKNGSIHL YFDKAGQKTYERHSL HFNLDNLNRANNTKGSLPINVIVFDGKSKCEE SSAKSASVYYSQLMCQPILLDDQALVSDVGD SAEVAVKMFDAYVNTFSSTFNVPMEKLT LVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDS DVETKDVVECLKLSHQSDIEVTGDSNNYML
--	--

	TYNKVENMTPRDLGACIDCSARHINAQVAKS HNIALIWNVVKDFMSLSEQLRKQIRSAACKNN LPFKLTCATTRQVVNVVTTKIALKGGKIVNN WLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVMMSKHT DFSSEIIGYKAIDGGVTRDIASTDTCFANKHA DFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITREVGF VVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNIC YTPSKLIEYTDFAVSACVLA AECTIFKDASGK PVPYCYDTNVLEGSVAYESLRPDTRYVLMDG SIIQFPNTYLEGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERS EAGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVD AVNLLTNMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAI VVTCLAYYFMRFRRAFGEYSHVVAFNLLFL MSFTVLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTN DVSFLAHIQWMVMFTPLVPFWITIAYIICISTK HFYWFFSNYLRKRRVVFNGVSFSTFEEAALCTF LLNKEMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNK YKYFSGAMDTTSYREAAACCHLAKALNDFSNS GSDVLYQPPQTSITS AVLQSGFRKMAFPSGKV EGCMVQVTCGTTTLNGLWLDDVVYCPRHVI CTSEDMLNP NYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQ LRVIGHSMQNCVLKLKVD TANPKTPKYKFVR IQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQCAMRPNFTIK GSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYMHMELP TGVHAGTDLEGNFYGP FVDRQTAQAAGTDT TITVNVLA WL YAAVINGDRWFLNRFTTTLND FNLVAMKYNYEPLTQDHVDILGPLSAQTGIA VLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLEDEF TPFDDVVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHHWLL TILTSLLVLVQSTQWSLFFFLYENAFLPFAMGI IAMSAFAMMFVKHKHAFCLCLFLLPSLATVAY FNMVYMPASWVMRIMTWLDMVDTSLSGFK LKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARRV WTLMNVLTLVYKVYYGNALDQAISMWALII SVTSNYSGVVTTVMFLARGIVFMCVEYCPIFF ITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNR YFRLTLGVYDYL VSTQEFYRMNSQGLLPKN SIDAFKLNKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDV KCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHN DILLAKDTTEAFEKMSVLLSVLLSMQGAVDI NKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAFAT AQEAYEQAVANGDSEVVLLKKLKKSLNVAKS EFDRDAAMQRKLEK MADQAMTQMYKQARS EDKRAKVTSAMQTM LFTMLRKLDNDALNNII NNARDGCVPLNIPLTTAAKLMVIPDYNTYK
--	---

	NTCDGTTFTYASALWEIQVVDADSKIVQLS EISMDNSPNLAWPLIVTALRANSVVKLQNN LSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYN TTKGGRFVLALLSDLQDLKWARFPKSDGTGT IYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYLYFIKGLNN LNRGMVLGSLAATVRLQAGNATEVPANSTV LSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQPITNCVK MLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESFGGASCC LYCRCHIDHPNPKGFCDLKGKYVQIPTTCAN DPVGFTLKNTVCTVCGMWKGYGCSCDQLRE PMLQSADAQSFLNRVCGVSAARLTPCGTGTS TDVVYRAFDIYNDKVAGFAKFLKTNCCRFQE KDEDDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLL KDCPAVAKHDFKFRIDGDMVPHISRQRLTK YTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCC DDDYFNKKDWYDFVENPDILRVYANLGERV RQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDL NGNWDYDFGDFIQTPGSGVPVV DSYYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPYI KWDLLKYDFTEERLKLFDYFYKYWDQTYHP NCVNCLDDRCILHCANFNVLSTVFPPTSFGP LVRKIFVDGVPFVSTGYHFRELGVVHNQDV NLHSSRSLFKELLVYAADPAMHAASGNLLLD KRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYD FAVSKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDY DYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVVDKYFDCY DGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARL YYDSMSYEDQDALFAYTKRNVIPITITQMNK YSAKRNARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLL KSIAATRGATVVIGTSKFYGGWHNMLKTVYS DVENPHLMGWDYPKCDRAMPNMLRIMASL VLARKHTTCCSLSHRFYRLANCAQVLSEMV MCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQ AVTANVNALLSTDGNKIADKYVRNLQHRLY ECLYRNRDVDTDVNEFYAYLRKHFSMMILS DDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQN NVFMSEAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLV KQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKTD GTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADV FHL YLQYIRKLHDEL TGHMLDMYSVMLTNDNTS RYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQ TSLRCGACIRRPFLCCKCCYDHVISTSHKLVL SVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGGMSYYCK SHKPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVTD FNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKLFAAE
--	---

		TLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWE VGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNSKVQIGEYT FEKGDYGDVAVVYRGTTTTYKLNVDYFVLTS HTVMPLSAPTLVPQEHYVRITGLYPTLNISDE FSSNVANYQKVGMQKYSTLQGPPGTGKSHF AIGLALYYPSARIVYTACSHAAMDALCEKAL KYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFVNSTLEQY VFCTVNALPETTADIVVFDEISMATNYDLSVV NARLRAKHVYVYIGDPAQLPAPRTLTKGTLE PEYFNSVCRLMKTIGPDMFLGTCRRCPAEIVD TVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGV THDVSSAINRPQIGVVREFLTRNPAWRKAVFI SPYNSQNAVASKILGLPTQTVDSQSGSEYDYV IFTQTTETAHSCNVNRFNVAITRAKVGLCIMS DRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQAENVGTGLF KDCSKVITGLHPTQAPTHLSVDTKFKTEGLCV DIPGIPKDMTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPN MFITREEAIRHVRAWIGFDVEGCHATREAVG TNLPLQLGFSTGVNLVAVPTGYVDTPNNTDF SRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVR KIVQMLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTSM KYFVKIGPERTCCLCDRRATCFSTASDTYAC WHHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTGNLQSN HDLYCQVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECF VKRVDWTIEYPIIGDELKINAACRKVQHMVV KAALLADKFPVLHDIGNPKAIKCVPADVEW KFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYATHSDKFTD GVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVLSNLN LPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFDKSAFVNLKQ LPFFYYSDSPCESHGKQVVSIDIDYVPLKSATCI TRCNLGGAVCRHHANEYRLYLDAYNMMISA GFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQSLNFAF NVVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGV DVELFENKTTLPVNVAFELWAKRNIKPVPEV KILNNLGVDAANTVIWDYKRDAPAHISTIGV CSMTDIAKKPTETICAPLTVFFDGRVDGQVDL FRNARNGVLITEGSVKGLQPSVGPKQASLNG VTLIGEAVKTQFNYYKKVDGTVVQQLPETYFT QSRNLQEFKPRSQMEIDFLELAMDEFIERYKL EGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFK ESPFELEDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKCVC SVIDLLDDFVEIISQDLSVSVSKVVKVTIDYT EISFMLWCKDGHVETFYPKLQSSQAWQPGVA MPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGDSATLPKGI MMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHF
--	--	---

		GAGSDKGVAPGTAVLRQWLPTGTLLVDSDL NDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDM YDPKTKNVTKEKDSKEGFFTYICGFIQKAL GGSVAIKITEHSWNADLYKLMGHFAWWTAF VTNVNASSSEAFILGCNYLGKPREQIDGYVM HANYIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPLKLRG TAVMSLKEGQINDMILSLLSKGRLLIRENNRV VISSDVLVNN
Glicoproteína de superficie del virus de la neumonía del Mercado de pescado de Wuhan (Gen Bank: QHD43416.1, 23 de enero 2020)	165	mfvflvllpl vssqcvnlrt rtqlppaytn sftgrvyypd kvfrssvlhs tqdlflpffs 61 nvtwfhaihv sgtngtkrfd npvlpfndgv yfasteksni irgwifgttl dsktqsliv 121 nnatnvvikv cefqfcndpf lgvyhknk swmesefrvy ssannctfey vsqpflmdle181 gkqgnfknr efvfkidgy fkiyskhtpi nlvrldpqqf saleplvdlp iginitrft 241 llalhrsylt pgdsssgwta gaaayyvgy qprtlilkyn engttdavd caldplsetk 301 ctkstfvek giyqtsnfrv qptesivrfp nitnlcpfge vfnatrfasv yawnrkrisn 361 cvadysvlyn sasfstfkey gvsptklndl cftnvysdf virgdevrqi apgqtgkiad 421 ynyklpddft gcviawnsnn ldskvggyn ylyrlfrksn lkpferdist eiyqagstpc 481 ngvegfncyf plqsygqpt ngvgypyrv vvlsfellha patvegpkks tnlvknkcvn 541 fnfngltgtg vltesnkkfl pfqqfgdia dtdavrdpq tleilditpc sfggvsvitp 601 gtntsnqvav lyqdvntev pvaihadqlt ptwrvystgs nvfqtragcl igaehvnnsy 661 ecdipigagi easyqtqns prarsvasq siiaytmslg aensvaysnn siaiptnfti 721 svtteilpvs mtktsvdcetm yicgstecs nllqygsfc tqlnraltgi aveqdkntqe 781 vfaqvkiyk tppikdfggf nfsqilpdps kpskrsfied llfnkvtlad agfikqygdc 841 lgdiaardli caqkfngltv lpplldemi aqytsallag titgwtfga gaalqipfam 901 qmayrfngig vtqnvlyenq klianqfnsa igkiqdslls tasalgklqd vvnqnaqaln 961 tlvkqlssnf gaissvlndi lsrlkveae vqidrlitgr lqlqtyvtq qliraaeira 1021 sanlaatkms ecvlqskrv dfcgkgyhlm sfpqsaphgv vflhvtyvpa qeknftapa 1081 ichdgkahfp regvfvsgt hwfvtqrnfy epqiitdnt fvsngcdvvi givnntvydp 1141 lqpeldsfke eldkyfnht spdvdldis ginasvniq keidrlneva knlneslidl 1201 qelgkyeqyi kwpwyiwlgf iagliaimv timlccmtsc esclkgccsc gsceckfdeed 1261 sepvlgvkl hyt

RBD de glicoproteína de superficie [virus de la neumonía del Mercado de pescado de Wuhan]; Gen Bank: QHD43416.1, 23 de enero 2020)	166	nitnlcpfgevfnatrfasvyawnrkrisncvadysvlynsasfstfkc ygvspstklnclftnvyadsfvirgdevrqiapgqtkiadynyklpd dftgcviawnsnnldskvggnynylyrlfrksnlkpferdisteiyqa gstpcngvegfnicyfplqsygfpqptngvgypyrvvvlsfellhapa tvcgpkkstnlvknkcvnfnfnlgtgtg
Motivo receptor de unión (RMB) de RBD glicoproteína de superficie [virus neumonía Mercado pescado Wuhan]; Gen Bank: QHD43416.1, 23 de enero 2020)	167	Nsnldskvggnynylyrlfrksnlkpferdisteiyqagstpcngve gfncyfplqsygfpqptngvgypy
SARS-CoV-2 S309-v13 mAb VL (Vκ) (aa)	168	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIK
SARS-CoV-2 S309-v13 mAb CDRL1 (aa)	169	QTVSSTS
SARS-CoV-2 S309-v13 mAb CDRL2 (aa)	170	GAS
SARS-CoV-2 S309-v13 mAb CDRL3 (aa)	171	QQHDTSLT
SARS-CoV-2 S309-v2.9 mAb VH (aa)	172	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFT SY GISWVRQAPGQGLEWMGF ISTYNANTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGAFFGESLIGGF DNWGQG TLVTVSS
SARS-CoV-2 CH1-CH3 G1m17; IgG 1 *01 LS (aa)	173	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHE ALHSHYTQKSLSLSPGK

SARS-CoV-2 mAb CL (Ck) IgKC*01 klm3 (aa)	174	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SARS-CoV-2 CH1-CH3 G1m17; IgG 1 *01 LS GAALIE (aa)	175	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHE ALHSHYTQKSLSLSPGK
SARS-CoV-2 S300-v2.10 mAb VH (aa)	176	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLG FVNAYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEF AM YFFDN WGQGT
SARS-CoV-2 S300-v2.11 mAb VH (aa)	177	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYIHWRQAPGQGPEWLG FVQGYSGATRY AQKYQGRVTMTRDTSISTAYMQLSRLRPDDT AVYYC CARDRPSHEF AM YFFDN WGQGT
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb VH (aa)	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSN YWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKY YVDSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAED TAVYYC ARDLWWNDQA H YYGMDV WGQGT
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRH1 (aa)	179	GFTFSNYW
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRH2 (aa)	180	IKQDGSEK
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRH3 (aa)	181	ARDLWWNDQA HYYGMDV

SARS-CoV-2 S315-v1 mAb VL (aa)	182	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDA AFPNQYA YWYQQKPGQAPV MLIYKDS ERPSGIPER FFGS SSGTTVTLTIRGVQAEDEADYYC QSADSSGT VFGGGTKLTVL
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRL1 (aa)	183	AFPNQY
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRL2 (aa)	184	KDS
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb CDRL3 (aa)	185	QSADSSGTV
SARS-CoV-2 S315-v1mAb VH (nt - wt)	186	gagggtgcagctgggtggagctctgggggaggcttggtccagcctggggg gtccctgagactctctgtgcagcctct ggattcacctttagtaattatt ggat gacctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggt ggccaacata aagcaagatggaagt gagaaatactatgtggactct gtgaagggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcactg tatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattact gtgcgagagatctttgggtggaacgaccaggctcactactacggtat ggacgtct ggggccaagggaccacgggtcaccgtctcctcag
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb VL (nt - wt)	187	tcctatgagctgacacagccaccctcgggtgcagtgtcccaggacag acggccaggatcacctgctctggagat gcattcccaaaccaatat gct tattggtaccagcagaagccaggccaggccctgtgatgctgatctata aagacagt gagaggccctcagggtacccctgagcgattctttggetcca gctcagggaacaacagtcacgttgaccatcagaggagtccaggcagaa gacgaggtgactattactgt caatcagcagacagcagtggtaccgt gttcggcg gagggaccaagctgaccgtcctag
SARS-CoV-2 S315-v1 mAb VH (nt: optimizado por codón)	188	GAAGTGCAGCTTGTCTGAGAGCGGCGGAGG CCTCGTTCAGCCAGGTGGGAGTCTCCGTCTT TCATGCGCCGCTTCAGGATTTACGTTCTCC AACTACTGGATGACATGGGTGAGGCAGGC ACCTGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCTA
		ACATCAAGCAGGACGGATCTGAAAAATAT TATGTAGATTCTGTGAAGGGGCGGTTTACC ATCTCAAGGGATAATGCCAAAACTCTTTG TATTACAGATGAACTCTCTCGAGCCGAG GACACCGCCGTTTACTACTGTGCCCCGAGA TCTATGGTGGAAATGACCAGGCTCACTATT ATGGAATGGACGTGTGGGGCCAGGGTACT ACCGTTACCGTCTCCTCA

SARS-CoV-2 S315-v1 mAb VL (nt: optimizado por codón)	189	TCTTACGAGCTCACCCAGCCACCCTCAGTG TCAGTGAGCCCTGGCCAAACAGCTCGCATC ACCTGTTTCAGGTGAC GCCTTTCCAAATCA GTACGCCT ACTGGTATCAGCAGAAACCCGG CCAGGCACCCGTTATGCTCATCTACAA AGA TTCT GAGCGGCCATCCGGTATCCCCGAACG CTTTTTCGGAAGCTCCAGTGGGACTACAGT TACACTTACTATCCGGGGAGTGCAAGCTGA AGATGAGGCCGACTATTATTGCC AGAGCG CAGACTCCTCAGGCACAGT GTTTGGGGGC GGGACTAACTAACTGTGCTG
SARS-CoV-2 S315-v2 mAb VL (aa)	190	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDA FPNQYA YWYQQKPGQAPVMLIY KDS ERPSGIPERFFGS SSGTTVTLTISGVQAEDEADYYC QSADSSGT V FGGGTKLTVL
SARS-CoV-2 S315-v2 mAb VL (nt-wt)	191	· tcctatgagctgacacagccaccctcggtgtcagtggtcccgaggacag acggccaggatcacctgctctggagat gcattcccaaccaatatgt tattggtaccagcagaagccaggccaggccctgtgatgctgatctata aagacagt gagaggccctcagggtaccctgagcgattctttggtcca gctcagggaacaacagtcacgttgaccatcagtgagtgccaggcagaa gacgaggctgactattactgt caatcagcagacagcagtggtaccgt gttc ggcggagggaaccaagctgaccgtcctag
SARS-CoV-2 S315-v2 mAb VL (nt: optimizado por codón)	192	TCCTACGAGCTCACCCAGCCCCCCTCAGTCT CTGTGTCTCCTGGACAGACAGCCAGAATCA CCTGCTCGGGAGAT GCTTTTCCCAACCAA TACGCCT ACTGGTACCAACAGAAACCAGGT CAGGCGCCTGTCATGCTGATTTATA AAAGAC TCAGAGCGGCCTTCAGGAATTCCCGAAAGA TTCTTCGGGAGTTCAAGCGGAACTACCGTG ACCTTAACCATAAGCGGGGTGCAGGCCGAA GATGAAGCAGACTATTATTGCC CAGAGTGC CGATAGTAGTGGCACAGTCTTTGGGGGGG GGACAAAGCTGACAGTACTC
SARS-CoV-2 mAb CL IgLC*01	193	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS

SARS-CoV-2 S315-v3 mAb VH (aa)	194	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YFMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYY VDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYC CARDLWWNDQAHYYGMDVWGQGT T TV TVSS
SARS-CoV-2 S315-v3 mAb CDRH1 (aa)	195	GFTFSNYF
SARS-CoV-2 S315-v4 mAb VH (aa)	196	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDASEKY YVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYC CARDLWWNDQAHYYGMDVWGQG T TV TVSS
SARS-CoV-2 S315-v4 mAb CDRH2 (aa)	197	IKQDASEK
SARS-CoV-2 S315-v5 mAb VH (aa)	198	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQEGSEKY YVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYC CARDLWWNDQAHYYGMDVWGQG T TV TVSS
SARS-CoV-2 S315-v5 mAb CDRH2 (aa)	199	IKQEGSEK
SARS-CoV-2 S315-v6 mAb VH (aa)	200	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKY YVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYC CARDLFWNDQAHYYGMDVWGQGT T TV TVSS
SARS-CoV-2 S315-v6 mAb CDRH3 (aa)	201	ARDLFWNDQAHYYGMDV
SARS-CoV-2 S315-v7 mAb VH (aa)	202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKY YVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYC CARDLWFNDQAHYYGMDVWGQGT T TV TVSS
SARS-CoV-2 S315-v7 mAb CDRH3 (aa)	203	ARDLWFNDQAHYYGMDV

SARS-CoV-2 Cadena pesada IgHG1*01 Fd (aa)	204	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSC
SARS-CoV-2 Cadena ligera IgKC*01 (aa)	205	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Enlazador (aa)	206	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
Enlazador (aa)	207	GSGKPGSGEG
Enlazador (aa)	208	GKPGSGEG
Enlazador (aa)	209	SGKPGSGE
Enlazador (aa)	210	BPXXXZ, donde cada X es , independientemente, una glicina (G) o serina (S), B es un aminoácido cargado positivamente y Z es glicina (G) o un aminoácido cargado negativamente
Enlazador (aa)	211	(GxS)y, donde x es 1-10 e y es 1-10
Enlazador (aa)	212	GGGGSGGGSGGGGS
Enlazador (aa)	213	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
Enlazador (aa)	214	GSTSGGGSGGGSGGGGS
Enlazador (aa)	215	EGKSSGSGSESKVD
Enlazador (aa)	216	KESGSVSSEQLAQFRSLD
Enlazador (aa)	217	GGGGS
SARS-CoV-2 S309-scFab (H-L) (aa)	218	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYC CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCGGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS

[illegible]

SARS-CoV-2 S309-scFv (VH-VL)-(VH-VL) (aa)	222	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQTVSSTSLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQHDTSLTFGGGTKVEI KGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVT MTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYYCCARD YTRGAWFGESLIGGFDNWGQGTTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERA TLSCRASQTVSSTSLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQHDTSLTFGGGTKVEIK
SARS-CoV-2 S309-scFv-(VH-VL)-(VL-VH) (aa)	223	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNY AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDT AVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFDNWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQTVSSTSLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQHDTSLTFGGGTKVEI KGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQTVSSTSLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQHDTSLTFGGGTKVEI KGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGL EWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTTDT STTTGYMELRRLRSDDTAVYYCCARDYTRGA WFGESLIGGFDNWGQGTTLVTVSS

SARS-CoV-2		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGW ISTYNGNT NYAQKFQ GRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYTRGA WFGESLIGGF DNWGQGLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVR QAPGQGLEWMGW ISTYNGNT NYAQKFQGR VTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYYCA RDYTRGA WFGESLIGGF DNWGQGLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLL IY G ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIK
S309-scFv-(VL-VH)-(VH-VL) (aa)	224	
SARS-CoV-2		EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGW ISTYNGNT NYAQKFQ GRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYTRGA WFGESLIGGF DNWGQGLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSP GTLSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQ KPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTK VEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPG QGLEWMGW ISTYNGNT NYAQKFQGRVTMT TDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYYCARDYT RGAW FGESLIGGF DNWGQGLVTVSS
S309-scFv-(VL-VH)-(VL-VH) (aa)	225	

SARS-CoV-2		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYQGNTN YAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFFDNWG QGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCGGGSGGGGSGGGG GSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAS QTVSSTSLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QHDTSLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
S309-scFab-(H-L) v1.1 (aa)	226	
SARS-CoV-2		EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQTVSSTSL LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQHDTSLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQGLEWMG WISTYQGNTNYAQKFQGRVTMTTDTSTTTG YMELRRLRSDDTAVYYCCARDYTRGAWFGE SLIGGFFDNWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
S309-scFab-(L-H) v1.1 (aa)	227	
SARS-CoV-2		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYQGNTN YAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYYCCARDYTRGAWFGESLIGGFFDNWG QGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQS PGTLLSPGERATLSCRASQTVSSTSLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQHDTSLTFGGGTK VEIK
S309-scFv-(VH-VL) v1.1 (aa)	228	

SARS-CoV-2 S309-scFv-(VL-VH)v1.1 (aa)	229	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGW ISTYQGNT NYAQKFQ GRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGT
SARS-CoV-2 S309-scFv-(VH-VL)-(VH-VL) v1.1 (aa)	230	LVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYQGNTN Y AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYY CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWG QGT
SARS-CoV-2 S309-scFv-(VH-VL)- (VL-VH)v1.1 (aa)	231	LVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFT SYGISWVRQAPGQGLEWMGWISTYQGNTN Y AQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSD DTAVYY CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWG QGT

SARS-CoV-2 S309-scFv-(VL-VH)-(VH-VL) v1.1 (aa)	232	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGW ISTYQGNT NYAQKFQ GRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVR QAPGQGLEWMGW ISTYQGNT NYAQKFQGR VTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYYCA RDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGE RATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLL IY G ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIK
SARS-CoV-2 S309-scFv-(VL-VH)-(VL-VH) v1.1 (aa)	233	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQKPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGW ISTYQGNT NYAQKFQ GRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYTRGAWFGESLIGGF DNWGQGLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSP GTLSSLSPGERATLSCRAS QTVSSTS LAWYQQ KPGQAPRLLIY G ASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLISRLEPEDFAVYYC QQHDTSLT FGGGTK VEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKAS GYPFTSYGISWVRQAPG QGLEWMGW ISTYQGNT NYAQKFQGRVTMT TDTSTTTGYMELRRLRSDDTAVYY CARDYT RGAWFGESLIGGF DNWGQGLVTVSS
SARS-CoV-2 S300-v14 mAb VL (VK) (aa)	234	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLYS SNNKNY LAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC Q QYYSAPGIT FGQGTRLEIK
SARS-CoV-2 S300-v14 mAb CDRL1 (aa)	235	QSVLYSSNNKNY

SARS-CoV-2 S300-v14 mAb CDRL2 (aa)	236	WAS
SARS-CoV-2 S300-v14 mAb CDRL3 (aa)	237	QQYYSAPGIT
SARS-CoV2 S300-v14 mAb VL (VK) (nt)	238	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCA CTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC ATCAACTGTAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTA TACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGC TTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCC TAAGCTGCTCATTTCCT TGGGCTTCT ACCCG GGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGG CAGCGGGTCTGGGACAGATTTCCTCTCAC CATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGC AGTTTATTACTGTCAACAATATTATAGTGC TCCCGGGATCACCTTCGGCCAGGGGACAC GACTGGAGATTAAAC
SARS-CoV2 S307 mAb VH (aa)	239	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVTSG SY YWSWIRQPPGKGLEWIGY MY YSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYC ARAGCTGITCLRYD YYYGLDVWGQGT TVTVSS
SARS-CoV2 S307 mAb CDRH1 (aa)	240	GGSVTSGSYY
SARS-CoV2 S307 mAb CDRH2 (aa)	241	MYYSGST
SARS-CoV2 S307 mAb CDRH3 (aa)	242	ARAGCTGITCLRYDYYYGLDV
SARS-CoV2 S307 mAb VL(VK) (aa)	243	EIVLTQSPGTLSPGKRATLSCRASQSVSSSY LAWYQQRPGQAPRLLIY GASSRAAGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSS WTFGQGTKVEIK
SARS-CoV2 S307 mAb CDRL1 (aa)	244	QSVSSSY

SARS-CoV2 S307 mAb CDRL2 (aa)	245	GAS
SARS-CoV2 S307 mAb CDRL3 (aa)	246	QQYGSSSWT
SARS-CoV2 S307 mAb VH (nt)	247	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGG ACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACCTGCACTGTCTCT GGTGGCTCCGTCAC CAGTGGTAGTTACTACT GGAGCTGGATCC GGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGG ATTGGGTATAT GTATTACAGTGGGAGCAC CAATTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGT CACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCT GCGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAG GGCAGGTTGTACTGGTATCACCTGCTTA CGTTACGACTACTACTACGGTCTGGACG TCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT CCTCA
SARS-CoV2 S307 mAb VL(V _K) (nt)	248	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACC CTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAAGAGCCACC CTCTCCTGCAGGGCCAGT CAGAGTGTTAG CAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGA GACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT AT GGTGCATCC AGCAGGGCCGCTGGCATC CCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG
		ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGT CAGCAGTATGGTAGCTCATCGTGGACGT TCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA C

SARS-CoV-2 S309-v1 mAb VH (nt)	249	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAG GTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC TCCTGCAAGGCTTCTGTTACCCCTTTACC AGTTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGC CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATG GATCAGCACTTACAATGGTAACACAAATT ATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCA TGACCACAGACACATCCACGACCACAGGCT ACATGGAGCTGAGGAGGCTGAGATCTGACG ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATT ATACTCGTGGTGCTTGGTTCGGGGAGTC ATTGATAGGGGGCTTTGACAACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
SARS-CoV-2 S309-v13 mAb VL(VK) (nt)	250	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACC CTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGACTGTTAGC AGCACCTCCTTAGCCTGGTACCAGCAGAAA CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA GACAGGTTCAGCGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGC AGCATGATACCTCACTCACTTTCGGCGGAG GGACCAAGGTGGAGATCAAAC
CMV Promotor (nt)	251	GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTA ATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCC ATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTAC GGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAA CGACCCCGCCCATGACGTCAATAATGACG TATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACT TTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTA CGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAA GTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATT GACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGG CATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGAC TTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTG

		GCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTT TGA CTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCC CATTGACGTCAATGGGAGTTTGT TTTTGGCA CCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCG TAACA ACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGG CGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATAT AAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAT CGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGA CCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAG CCTCCGCGGCCGGGAACGGTGCATTGGAAC GCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGACGTAAG TACCGCCTATAGAGTCTATAGGCCACCCC CTTGGCTTCGTTAG
Péptido señal (nt)	252	ATGGGATGGTCATGTATCATCCTTTTTCTAG TAGCAACTGCAACCGGTGT
Secuencia señal de poliadenilación (nt)	253	AAC TTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACA AATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAA ATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTG TGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTAT CATGTCTGGATC
SARS-CoV-2 Cadena ligera IgKC*01 (nt)	254	GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGA AACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCC ATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGA GCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
SARS-CoV-2 CH1-CH3 G1m17; IgG1*01 (nt)	255	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCTGTGACGGTCTCG TGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC

		AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCA AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCG TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAA ATGA
Péptido señal (aa)	256	MGWSCILFLVATATG
SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb CH1-CH3 G1m17; IgGHG1*01 LS; GAALIE; Péptido señal (nt-CO)	257	<u>atgggctggctcctgtatcatcctgttctcggctcgccacagccaccggagt</u> <u>gcacagccaagtgcagctggtccagagcggcgccgaggtgaagaag</u> cccggcgctagegtgaaggtgtcctgtaaagccagcggatattcttta ccagctacggcatctcctgggtgcggcaggcccctggccagggcctg gaatggatgggctggatcagcacctaccagggaataccaactacgc ccagaagtccagggaagagtgacaatgaccacagatacatctacaac caccggctacatggaactgaggcggctgagaagcgacgacaccgcc gtgtactactgcgccagagattacaccagaggcgcttggtcggcgag agcctgatcggcggcttcgacaactggggccagggaaccctggtgac agtgtctagcgcttctaccaaaaggcccttctgtcttctctgtgccccctt agcaagtctacaagcggaggcaccgccccctgggctgcttggtgaa ggactactccccagcccgtgaccgtgagctggaatagcggcgccct gacaagcggcgtgcacacctccagctgtgtgcagagcagcggcc tgtatagcctgagcagcgtggtcaccgtgccagcagcagcctggga acacagacctatctgcaacgtgaaccacaagccttctaataccaagg tggataagaaggtggaacctaaagagctgcgacaaaacacacatgc cctccatgtcctgctccagagctgctggccggccccagcgttttctgttc

		ccccccaaacctaaagacacctgatgatcagcagaacctctgaggtg acctgtgtggtggtggacgtgtccacgaagatcctgaggtgaagtta actggttacgtggtgagtggaagtgcacaacccaagaccaaacct agagaagagcagtacaacagcacatatagagtcgtgtccgtgcttaca gtgtctgcaccaggactggctgaatggaaaggaatacaagtgaaggt gtccaacaaggccctgcctctgcctgaggagaagacaatctctaagc caaggccaacctcgggaacctcaggtgtacacactgccccagcc gggacgagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgctgtgaag ggcttctacctctgatatgccgtggaatgggagagcaacggccaa cctgagaacaactacaagaccacctccagtgtgtgacagcgacgg cagcttctctgtacagcaagctgaccgttgacaagtcagatggcag cagggcaacgtgttcagctgtagcgtcctgcacgaggccctgcattctc actacaccagaagagcctgtccctcagccctggcaagtga
SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb CH1-CH3 G1m17; IgGHG 1 * 01 LS; GAALIE; (nt-CO)	258	caagtgcagctggtccagagcggcgccgaggtgaagaagcccggcg ctagcgtgaaggtgtcctgtaaagccagcggatctctttaccagctac ggcatctctgggtgctggcaggccctggccaggccctggaaaggat gggctggatcagcacctaccagggaataccaactacgccagaagtt ccagggaagagtgaatgaccacagatacatctacaaccaccggct acatggaactgaggcggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactac tgcgccagagattacaccagagcgcttgggttcggcgagagcctgatc ggcggcttcgacaactggggccagggaacctggtgacagtgtctag cgcttctacaaaggcccttctgtcttctcttggcccttctagcaagct acaagcggaggcaccgccgccctgggctgcctggtgaaggactactt ccccgagcccgtgaccgtgagctggaatagcggcgccctgacaagc ggcgtgcacaccttccagctgtgtgcagagcagcggcctgtatagc ctgagcagcgtggtcaccgtgcccagcagcagcctgggaacacaga cctacatctgcaacgtgaaccacaagccttctaataccaaggtggataa gaaggtggaacctaaagagctgcgacaaaacacacatgccctccat gtctgtctccagagctgtgtggccggccccagcgttttctgtcccccc aaacctaaagacacctgatgatcagcagaacctctgaggtgacctgt gtggtggtggacgtgtccacgaagatcctgaggtgaagttaactggt acgtggatggagtggaaagtgcacaacccaagaccaaacctagagaa gagcagtacaacagcacatatagagtcgtgtccgtgcttacagtgtgc accaggactggctgaatggaaaggaatacaagtgaaggtgtccaac aaggccctgcctctgcctgaggagaagacaatctctaagccaaggg ccaacctcgggaacctcaggtgtacacactgccccagccgggacg agctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgctgtcaagggcttcta cccctctgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccaacctgaga acaactacaagaccacctccagtgtgtgacagcgacggcagcttct tctgtacagcaagctgaccgttgacaagtcagatggcagcagggca acgtgttcagctgtagcgtcctgcacgaggccctgcattctcactacacc cagaagagcctgtccctcagccctggcaagtga

SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb CH1-CH3 G1m17; IgGHG1*01 LS; péptido señal (nt-CO)	259	atgggctggctcctgtatcatcctgttcctggctcgccacagccaccggagt gcacagccaagtgcagctgggtccagagcggcgccgaggtgaagaag ccggcgctagcgtgaaggtgtcctgtaaagccagcggatattcttta ccagctacggcatctcctgggtgcggcaggccctggccagggcctg gaatggatgggctggatcagcacctaccagggaataccaactacgc ccagaagtccagggaagagtgaatgaccacagatacatctacaac caccggctacatggaactgaggcggctgagaagcgacgacaccgcc gtgtactactgcgccagagattaccagagcgcttggttcggcgag agcctgatcggcggttcgacaactggggccagggaaccctgggtgac agtgtctagcgttctaccaaaaggcccttctgtcttctctggcccttct agcaagtctacaagcggaggcaccgccccctgggtgcctgggtgaa ggactactccccgagcccgtagcgtgagctggaatagcggcgccct gacaagcggcgtgcacacctccagctgtgtgcagagcagcggcc tgtatagcctgagcagcgtggtcaccgtgccagcagcagcctggga acacagacctacatctgaacgtgaaccacaagccttctaataccaagg tggaagaaggtggaacctaagagctgcgacaaaacacacatgc cctccatgtcctgtccagagctgctggcgggccccagcgttttctgtt ccccccaaacctaaagacacctgatgatcagcagaacctctgaggt gacctgt aactgt tagagaagagcagtacaacagcacatataagtgctgtgtgtgtgtgt gt gtccaacaaggccctgctgtccctatcgagaagacaatctctaaggc caaggggccaacctcgggaacctcaggtgtacacactgccccccagcc gggacgagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggtaag ggcttctacctctgtatcgcctgtgaatgggagagcaacggccaa cctgagaacaactacaagaccacctccagtgctggacagcagcgg cagcttctctgtacagcaagctgaccttgacaagtcagatggcag caggggcaacgtgttcagctgtagcgtcctgcagaggccctgcattctc actacaccagaagagcctgtccctcagccctggcaagtga
SARS-CoV-2 S309-v1.1 mAb CH1-CH3 G1m17; IgGHG1*01 LS (nt-CO)	260	caagtgcagctgggtccagagcggcgccgaggtgaagaagcccgcg ctagcgtgaaggtgtcctgtaaagccagcggatattctttaccagctac ggcatctcctgggtgcggcaggccctggccagggcctggaatggat gggctggatcagcacctaccagggaataccaactacgcccagaagtt ccagggaagagtgaatgaccacagatacatctacaaccaccggct acatggaactgaggcggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactac tgcgccagagattaccagagcgcttggttcggcgagagcctgatc ggcggcttcgacaactggggccagggaaccctgggtgacagtgttag cgcttctaccaaaaggcccttctgtcttctctgtggcccttctagcaagtct acaagcggaggcaccgcccgccctgggctgcctgggtgaaggactactt ccccgagcccgtagcgtgagctggaatagcggcgccctgacaagc ggcgtgcacacctccagctgtgtgcagagcagcggcctgtatagc ctgagcagcgtgggtaccgtgccagcagcagcctgggaacacaga cctacatctgaacgtgaaccacaagccttctaataccaaggtggataa

		gaaggtggaacctaagagctgcgacaaaacacacatgccctccat gtcctgctccagagctgctggcgccccagcglttttctgtcccccc aaacctaagacacccctgatgatcagcagaacccctgaggtgacctgt gtggtggtggacgtgtccacgaagatcctgaggtgaagttcaactggt acgtggatggagtggagtgacacacgccaagaccaaactagagaa gagcagtacaacagcacatatagagtcgtgtccgtgcttacagtgtgc accaggactggctgaatggaaaggaatacaagtgcagggtgtccaac aaggccctgctgcccctatcgagaagacaatctctaaagccaagggc caacctcggaacctcaggtgtacacactgccccccagccgggacga gctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgctgtcaagggttctac ccctctgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccaacctgagaa caactacaagaccacccctccagtgtgtgacagcgacggcagcttct cctgtacagcaagctgacctgtgacaagtccagatggcagcaggga acgtgttcagctgtagcgtcctgcacgaggccctgcattctactacac cagaagagcctgtccctcagccctggcaagtga
S309-v13 Cadena ligera klm3; IgkC*01; péptido señal (nt-CO)	261	<u>tgggctggtcctgcatcatcctgttctggtggccacagccaccggcgt</u> <u>gcacagcgagatcgtcctgacacagagccccggcacactgagcctct</u> ccccaggcgagcgggtacactgtctttagagcttctcagacctgtc cagcaccagcctggcctggtatcagcagaacctggccagggcccta gactgtgtatctacggcgccagcagcagagccaccggcatccctgat agattcagcggcagcggatctggaaccgacttcacctgacctcagc cggctggaacccgaggactttgcccgtgtactactgccagcaacacgac accagcctgaccttcggcgggcggaacaaaggtggaaatcaagagaac cgtggccgcccctagcgtgttcattctccccccagcgacgagcagct gaagagcgggtacagcttctgtgtgtgcctgtgaacaacttctacccg cgggaagccaaggtgcagtggaggtggacaacgccctgcagagcg gcaacagccaggagagcgtgacagagcaggacagcaaggacagca cctacagcctgagcagcaccctgacctgagcaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgtgaagtgaccaccaggggcctgtctagc cctgtgaccaagtctttaacagaggcgagtgctga
S309-v13 Cadena ligera klm3; IgkC*01; (nt-CO)	262	Gagatcgtcctgacacagagccccggcacactgagccttccccagg cgagcgggtacactgtctttagagcttctcagacctgtccagcacc agcctggcctggtatcagcagaacctggccagggccctagactgtgt atctacggcgccagcagcagagccaccggcatccctgatagattcagc ggcagcggatctggaaccgacttcacctgacctcagccggtgtga acccgaggactttgccgtgtactactgccagcaacacgacaccagcct gaccttcggcgggcggaacaaaggtggaaatcaagagaacctgtggc gcccctagcgtgttcattctccccccagcgacgagcagctgaagagc ggtacagcttctgtgtgtgcctgtgtgaacaacttctacccgcggaag ccaaggtgcagtggaggtggacaacgccctgcagagcggcaacag ccaggagagcgtgacagagcaggacagcaaggacagcacctacag cctgagcagcaccctgacctgagcaaggccgactacgagaagcac aaggtgtacgcctgtgaagtgaccaccaggggcctgtctagccctgtg accaagtctttaacagaggcgagtgctga

Péptido señal (nt-CO)	263	Atgggctggctcctgcacatcctgttctctgggtggccacagccaccggc gtgcacagc
Péptido señal (aa)	264	MGWSCILFLVATATGVHS
SARS-CoV-2 CH1-CH3 G1m17; IgG1*01LSnoC-term Lys (aa)	265	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHE ALHSHYTQKSLSLSPG
SARS-CoV-2 CH1-CH3 G1m17; IgG1*01LS GAALIE no C-term Lys (aa)	266	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVLHE ALHSHYTQKSLSLSPG
SARS-CoV-2 S309 VH Secuencia consenso	267	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPT SYGISWVRQAPGQGLEWMGX ₁ ISTYX ₂ X ₃ NTN YAQKFQGRVTMTTDTSTTTGYMELRRLRS DTAVYYCARDYTRGAX ₄ FGESLIGGFDNWG QGTLTVSS donde X ₁ =W, F o Y; X ₂ =N, Q, L o T; X ₃ =G, S, A o Q; X ₄ =W, F o Y

Ejemplos

Ejemplo 1: Anticuerpos monoclonales humanos que se unen a la proteína de la espícula del SARS-CoV-2

- 5 Se clasificaron e inmortalizaron células B de un donante con infección previa por SARS-CoV con EBV y se examinaron en placas de 384 pocillos (método descrito en la patente europea EP1597280B1).

Dos semanas después de la inmortalización, se analizó la unión de anticuerpos a la proteína de la espícula ("S") del SARS-CoV-2 en los sobrenadantes de células B inmortalizadas utilizando un método basado en citometría de flujo. Brevemente, se transfectaron células ExpiCHO con proteína S de SARS-CoV-2 (cepa BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019) o con un plásmido vacío como control negativo. Se identificaron catorce anticuerpos monoclonales que se unen a S de SARS-CoV-2 y se denominaron SARS-CoV-2 S300 hasta SARS-CoV-2 S312 y SARS-CoV-2 S315, respectivamente. Los datos de unión del SARS-CoV-2 S300 al SARS-CoV-2 S310 se muestran en las Figuras 4A y 4B (en estas figuras, los anticuerpos se identifican como "S300"- "S310", respectivamente). Los gráficos que muestran unión positiva se indican con cuadros.

- 10
- 15 Las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de la cadena pesada (CDR) 3 y de la cadena ligera (L) CDR3 de algunos de estos anticuerpos, junto con el porcentaje de identidad

de las secuencias del gen de la región variable con respecto a la línea germinal (IMGT; imgt.org) se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

mAb	Fecha muestra sangre	VH (% Identidad)	HCDR3 Longitud	HCDR3 Secuencia	VL (% Identidad)	LCDR3 Secuencia	SARS-CoV	SARS-CoV-2	Especificidad
S309	2013	VH1-18 (97.22)	20	ARDYTRGAWFGES LIGGFDN (SEQ ID NO.:108)	VK3-20 (97.52)	QQHDTSLT (SEQ ID NO.:171)	+	+	RBD
S315	2013	VH3-7 (97.92)	17	ARDLWVNDQAHY YGMDV (SEQ ID NO.:181)	VL3-25 (97.57)	QSADSSGTV (SEQ ID NO.:185)	+	+	RBD
S303	2013	VH3-23 (90.28)	17	ARERDDIFPMGLNA FDI (SEQ ID NO.:66)	VK1-5 (97.49)	QQYDTYSW T (SEQ ID NO.:70)	+	+	RBD
S304	2013	VH3-13 (97.89)	14	ARGDSSGGYYFYD Y (SEQ ID NO.:82)	VK1-39 (93.55)	QQSYVSPTY T (SEQ ID NO.:86)	+	+	RBD
S306	2013	VH1-18 (95.49)	16	ASDYDFSSGGYYHSF DY (SEQ ID NO.:90)	VK3-11 (98.92)	QQRSNWPPG CS (SEQ ID NO.:94)	+	+	Non-RBD
S310	2013	VH1-69 (92.71)	19	ATRTYDSSGYPY YYGLDV (SEQ ID NO.:158)	VL2-23 (97.57)	CSYAGSDTV I (SEQ ID NO.:162)	+	+	Non-RBD

Ejemplo 2: Unión de anticuerpos a RBD del SARS-CoV-2 empleando OCTET

Se utilizaron biosensores de estreptavidina (Pall ForteBio) para inmovilizar el anticuerpo anti-Strep Tag II a 3 µg/ml (clon 5A9F9, Biotin, LabForce AG, Muttentz CH), después de un paso de hidratación durante 10 minutos con Kinetics Buffer (KB; 0,01% de endotoxina-BSA libre, 0,002% Tween-20, 0,005% NaN₃ en PBS). Luego se cargó RBD de SARS-CoV-2 con Strep Tag II (producido internamente) durante 6 minutos a una concentración de 4 µg/ml en KB. Se permitió que los anticuerpos del sobrenadante de células B se asociaran durante 1620 segundos (27 minutos). Para observar la disociación, los sensores se movieron de la solución de anticuerpos a KB y se controló la disociación de anticuerpos.

El mAb "S303" comprende las secuencias de aminoácidos VH y VL de S303-v1 mostradas en la Tabla 2 (SEQ ID NO: 63 y 67, respectivamente). El mAb "S309" comprende las secuencias de aminoácidos VH S309-v1 y VL S309-v13 mostradas en la Tabla 2 (SEQ ID NO: 105 y 168, respectivamente). Se determinó que los alelos que codifican las SEQ ID NO.:109 y 147-150 de S309 de la célula B no eran productivos; SEQ ID NO.:168 era el alelo productivo.

La comparación de las curvas de unión de los mAb S303 y S309 al RBD de SARS-CoV-2 (Figuras 1A y 1B) indica que S303 tiene una tasa de activación y una tasa de desactivación más rápidas que S309, lo que sugiere que S309 puede unirse a RBD de SARS-CoV-2 con mayor afinidad.

Ejemplo 3: Evaluación de la unión de anticuerpos a RBD de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 empleando OCTET

A menos que el contexto indique claramente lo contrario (p. ej. que los anticuerpos estaban presentes en el sobrenadante de células B o que se usó un fragmento Fab de anticuerpo), los anticuerpos de la presente descripción se describen en este y los ejemplos posteriores como IgG1 humana expresada de forma recombinante, en algunos casos con mutaciones de aminoácidos en la Fc, como se describe aquí.

La afinidad de unión de tres anticuerpos recombinantes de reacción cruzada contra SARS-CoV/SARS-CoV-2 (S303 rIgG1, S304 rIgG1, S309 rIgG1) y dos anticuerpos específicos contra SARS-CoV-1 (S109 rIgG1, S230 rIgG1) se probó mediante interferometría de biocapa (BLI) usando Octet. La afinidad se midió inmovilizando el anticuerpo en los sensores y sumergiendo los sensores en pozos que contenían diferentes concentraciones de RBD.

La cinética de la unión del anticuerpo al RBD se registró durante la fase de asociación, después de lo cual los sensores se sumergieron en un tampón sin anticuerpo para observar la cinética del anticuerpo que se separa del RBD durante la fase de disociación. Brevemente, se utilizaron biosensores de proteína A (Pall ForteBio) para inmovilizar anticuerpos recombinantes a 2,7 µg/ml durante 1 minuto, después de un paso de hidratación durante 10 minutos con Kinetics Buffer (KB; 0,01 % de BSA libre de endotoxinas, 0,002 % Tween-20, NaN₃ al 0,005 % en PBS). Las curvas de asociación se registraron durante 5 minutos incubando los sensores recubiertos de anticuerpos con diferentes concentraciones de RBD de SARS-CoV-1 (Sino Biological) o RBD de SARS-CoV-2 (producido internamente en células Expi-CHO; residuos 331- 550 de la espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947). La concentración de RBD más alta probada fue de 10 µg/ml, luego se diluyó en serie 1:2,5. La disociación se registró durante 9 minutos moviendo los sensores a pocillos que contenían KB. Las afinidades, representadas por valores KD, se calcularon utilizando un modelo de ajuste global (Octet). Se utilizó el equipo Octet Red96 (ForteBio).

Las Figuras 6A-6E muestran las curvas de asociación y disociación de los anticuerpos utilizando la concentración de RBD más alta ensayada (10 µg/ml). El cambio de solución RBD a tampón se indica con una línea discontinua vertical. Se ensayaron tres anticuerpos de reacción cruzada (S303 rIgG1, S304 rIgG1 (VH de SEQ ID NO.:79, VL de SEQ ID NO.:73), S309 rIgG1 (VH de SEQ ID NO.:105, VL de SEQ ID NO.:168) y dos anticuerpos específicos contra SARS-CoV-1 (S230 y S109). Todos los anticuerpos mostraron una fuerte unión a RBD de SARS-CoV-1. S230 y S109 no se unieron a RBD de SARS-CoV-2. La unión de S303 rIgG1, S304 rIgG1 y S309 rIgG1 a SARS-CoV-2 RBD estaba en el rango nanomolar a subpicomolar y S309 rIgG1 mostró la mayor afinidad. Los valores de KD se indican debajo de los gráficos en las Figuras 6A-6E. Los valores de KD son estimados ($KD \leq 1,0 \times 10^{-12} M$) si la unión del anticuerpo es muy fuerte y la disociación es lenta. Este ensayo no pudo medir una KD exacta para S309 rIgG1, ya que la disociación era demasiado lenta.

Ejemplo 4: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2

Los virus incompetentes para la replicación pseudotipados con el gen de S de SARS-CoV-2 (aislado BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019; número de acceso MN908947) se produjeron usando métodos como se describió anteriormente (Temperton NJ, et al. (2005) Longitudinally profiling neutralizing antibody response to SARS coronavirus with pseudotypes. Emerg Infect Dis 11(3):411-416 Emerg Infect Dis 11(3):411-416. Brevemente, se cotransfectaron células HEK293T/17 con un plásmido que expresa S de SARS-CoV-2

- (phCMV1, Genlantis) y con un vector de un gen reporter viral complementario, pNL4-3.Luc+.E-R+. Se utilizó un ensayo de infectividad de ciclo único para medir la neutralización de viriones que codifican luciferasa seudotipados con la proteína S de SARS-CoV-2, como se describió anteriormente (Temperton NJ, et al. (2007) A sensitive retroviral pseudotype assay for influenza H5N1 neutralizing antibodies, *Influenza Other Respi* Viruses 1(3):105-112). Brevemente, se preincubaron diluciones apropiadas de los sobrenadantes de cultivo que contenían viriones a 37 °C durante 1 h con anticuerpos en diversas concentraciones y luego se agregaron las mezclas de virus-mAb a células Vero E6 que se habían sembrado el día antes de la infección. A continuación, las células se lisaron con el reactivo Steady-Glo (Promega, E2520) y se determinaron las unidades relativas de luminiscencia (RLU) en los lisados celulares lector de microplacas con luminómetro (Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader; Biotek). La reducción de la infectividad se determinó comparando las RLU en presencia y ausencia de anticuerpo y se expresó como porcentaje de neutralización.

- Se ensayaron los anticuerpos S300-v1 (VH: SEQ ID NO.:1; VL: SEQ ID NO.:5), S301, S302, S303-v1 (VH SEQ ID NO.:63; VL SEQ ID NO.:67), S304 (VH SEQ ID NO.:79; VL SEQ ID NO.:83), S306 (VH SEQ ID NO.:87; VL SEQ ID NO.:91), S307 (VH SEQ ID NO.:239; VL SEQ ID NO.: 243), S308-v1, S309 (que comprende la secuencia VH de S309-v1 mostrada en la SEQ ID NO.:105 y la secuencia VL de S309-v13 mostrada en la SEQ ID NO.:168) y S310 en un ensayo de neutralización (Tabla 4, Figura 2A). Los anticuerpos SARS-CoV-2 S300-v1 y SARS-CoV-2 S309 neutralizaron la infección por SARS-CoV-2 (Figuras 2A y 2B).

Tabla 4. Porcentaje de neutralización de la infección por anticuerpos (serie de titulación)

Dilución	S300	S301	S302	S303	S304	S306	S307	S308	S309	S310
2	93	-31	-47	6	-21	-19	36	-46	65	-4
6	94	10	6	5	25	15	5	19	11	-15
18	75	21	-16	2	-22	-9	2	32	-29	-15
54	-41	7	-60	12	7	6	32	16	14	-6

- Se llevaron a cabo ensayos de neutralización adicionales utilizando plasma de sobrevivientes de SARS CoV-1 y los anticuerpos de SARS-CoV-2 S309, S311, S312, S303-v1 (rlgG1), S304 (rlgG1), S306 (rlgG1), S310 (rlgG1) y S315 (Figura 3A-3I). La Figura 3A muestra la actividad neutralizante del plasma de donante de SARS-CoV. Las Figuras 3B-3D y 3I muestran la actividad neutralizante del sobrenadante de las células B que producen S309, S311, S312 y S315, respectivamente. Las Figuras 3E-3H muestran la actividad neutralizante del anticuerpo recombinante a varias concentraciones. Con este ensayo, el sobrenadante que contiene el anticuerpo S309, S311, S312 o S315 neutraliza la infección por SARS-CoV-2.

- Se llevaron a cabo ensayos de neutralización adicionales usando los anticuerpos S303, S304, S306, S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S310 y S315. La Figura 13 muestra la actividad neutralizante de estos anticuerpos a varias concentraciones contra MLV pseudotipado de SARS-CoV-2. Como células diana se emplearon células DBT transfectadas de manera estable con ACE2 (DBT-ACE2). La Figura 34 muestra la actividad neutralizante contra MLV pseudotipado de SARS-CoV-1 por parte de estos anticuerpos a diversas concentraciones. En las Figuras 36 y 37 se muestran datos de neutralización adicionales para S304, S309, S304 + S309, S315 y S315 + S309.

Ejemplo 5: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2

- Se evaluó la actividad neutralizante de dos anticuerpos de neutralización cruzada de SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2, S304 rlgG1 y S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) rlgG1, contra virus pseudotipados de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 pp).

- Se utilizó el virus de la leucemia murina (MLV) pseudotipado con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 pp). Como células diana se emplearon células DBT transfectadas de manera estable con ACE2 (DBT-ACE2). SARS-CoV-2 pp se activó con tripsina TPCK a 10 µg/ml. Se añadió SARS-CoV-2 pp activado a una serie de diluciones de anticuerpos (comenzando con una concentración final de 50 µg/ml por anticuerpo, dilución triple). Los anticuerpos se ensayaron a concentraciones de 50 µg/ml a 0,02 µg/ml. Para la combinación de S304 rlgG1 y S309 rlgG1, las concentraciones iniciales fueron de 50 µg/ml para cada anticuerpo, es decir, la concentración inicial total de anticuerpos fue de 100 µg/ml. Se añadieron células DBT-ACE2 a las mezclas anticuerpo-virus y se incubaron durante 48 horas. Se midió la luminiscencia después de aspirar el sobrenadante del cultivo celular y agregar sustrato GLO estable (Promega).

En este ensayo, S309 rIgG1 exhibió una neutralización de la infección IC50 de 0,37 µg/ml y S304 rIgG1 exhibió una IC50 de aproximadamente 17 µg/ml. Una combinación de estos dos anticuerpos mostró una IC50 de 0,077 µg/ml. Véase la Figura 7 y la Tabla 5.

Tabla 5. IC50 (µg/ml) de anticuerpos

	S309	S304	S304 + S309
IC50	0.3707	~16.95	0.07704

5

Se llevaron a cabo más ensayos de neutralización usando el mismo procedimiento para los anticuerpos monoclonales recombinantes S309 y S315, solos y en combinación. En este ensayo, S309 exhibió una IC50 de 1,091 µg/ml y S315 exhibió una IC50 de 25,1 µg/ml. La combinación de estos dos anticuerpos mostró una IC50 de 0,3047 µg/ml. Ver la Figura 23 y la Tabla 6.

10

Tabla 6. IC50 (µg/ml) de anticuerpos y combinación de anticuerpos

	S309 + S315	S309	S315
IC50	0.3047	1.091	25.10

Ejemplo 6: Reactividad de anticuerpos monoclonales humanos frente al SARS-CoV y SARS-CoV-2

Se evaluó la reactividad de los mAb humanos adicionales "S311" y "S312" contra la proteína de la subunidad S1 de la espícula y el RBD de la proteína SARS-CoV y SARS-CoV-2 mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

15

Se recubrieron placas de 96 pocillos con proteína recombinante de la subunidad S1 de la espícula de SARS-CoV-2 (Sino Biological), RBD de SARS-CoV-2 (Sino Biological o producido internamente; residuos 331-550 de la espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947), proteína recombinante de la subunidad S1 de la espícula de SARS-CoV (Sino Biological) o RBD de SARS-CoV (Sino Biological).

20

Los pocillos se lavaron y bloquearon con PBS+BSA al 1 % durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se incubaron con diluciones en serie de mAb durante 1 hora a temperatura ambiente. Los mAb unidos se detectaron incubando IgG antihumana de cabra conjugada con fosfatasa alcalina (Southern Biotechnology: 2040-04) durante 1 hora a temperatura ambiente y se desarrollaron con 1 mg/ml de sustrato de p-nitrofenilfosfato en tampón de glicina 0,1 M (pH 10,4) durante 30 min a temperatura ambiente. Los valores de densidad óptica (OD) se midieron a una longitud de onda de 405 nm en un lector ELISA (espectrofotómetro Powerwave 340/96, BioTek).

25

Los resultados se muestran en la Figura 5A (SARS-CoV-2 S311) y la Figura 5B (SARS-CoV-2 S312).

Se realizaron más ensayos para investigar la reactividad de las variantes de anticuerpos modificadas genéticamente a partir de S300, S305 o S307 a RBD de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 utilizando el mismo procedimiento descrito anteriormente en este ejemplo. Los resultados se muestran en las Figuras 38A-38D. El anticuerpo "S300 V4-rIgG1", como se muestra en la Figura 38C, comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:1 y una VL (Vk) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:234. El anticuerpo "S307 V3-rIgG1", como se muestra en la Figura 38D, comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:239 y una VL (Vk) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:243.

35

Ejemplo 7: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por S309 Y S315

Se determinó la actividad neutralizante de los anticuerpos recombinantes S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168) rIgG1-MLNS y S315 rIgG1-MLNS contra virus pseudotipados SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 pp). Estos anticuerpos recombinantes incluían las mutaciones M428L y N434S en el dominio Fc (ver, por ejemplo, Zalevsky et al., Nat. Biotech. 28(2):157-159 (2010); esta combinación de mutaciones Fc también se denomina "MLNS" o "LS" en esta descripción, incluidos las figuras).

40

Se utilizó el virus de la leucemia murina (MLV) pseudotipado con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 pp). Se emplearon células DBT transfectadas de manera estable con ACE2 (DBT-ACE2) como células diana. SARS-CoV-2 pp se activó con tripsina TPCK a 10 µg/ml. Se agregó SARS-CoV-2 pp activado a una serie de diluciones del anticuerpo ensayado. Se añadieron células DBT-ACE2 a las mezclas de anticuerpo-virus y se incubaron durante 48 horas. Se midió la luminiscencia después de aspirar el sobrenadante del cultivo

45

celular y agregar sustrato GLO constante (Promega). Se usó la señal de luciferasa de las células infectadas para calcular el porcentaje de neutralización en relación con un control sin anticuerpos.

5 S309 rIgG1 MLNS ("S309-rIgG1-LS" en la Figura 9) exhibió una neutralización de la infección IC50 de aproximadamente 3,9 nM y S315 rIgG1 MLNS ("S315-rIgG1-LSv1" en la Figura 9) exhibió una IC50 de aproximadamente 111,7 mM. Véase la Figura 9.

La actividad neutralizante de S309-rFab se comparó con la de S309 rIgG1 MLNS de longitud completa ("S309-rIgG1-LS" en la Figura 10). S309 rIgG-LS de longitud completa exhibió una IC50 de 3,821 nM, mientras que S309-rFab exhibió una IC50 de 3,532 nM. Véase la Figura 10.

10 Ejemplo 8: reactividad de anticuerpos frente a RBD de SARS-CoV-1, RBD de SARS-CoV-2 y ectodominios de diversos coronavirus

Se estudió la reactividad de los anticuerpos monoclonales contra los RBD de SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2 y las proteínas de la espícula de SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, coronavirus OC43 y coronavirus MERS mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Se recubrieron placas ELISA poco profundas de 384 pocillos con trimero de proteína de la espícula de prefusión estabilizada de SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, OC43 o MERS a 1 µg/ml o con SARS-CoV-2 RBD (producido internamente; residuos 331-550 de la espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947) a 10 µg/ml o SARS-CoV-1 RBD (Sino Biological) a 1 µg/ml.

20 Los pocillos se lavaron y bloquearon con PBS+BSA al 1 % durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se incubaron con diluciones en serie de anticuerpos durante 1-2 horas a temperatura ambiente. Los anticuerpos se probaron en un rango de concentración de 5 a 0,00028 µg/ml. Las placas se lavaron y los anticuerpos unidos se detectaron incubando IgG antihumana de cabra conjugada con fosfatasa alcalina (Southern Biotechnology: 2040-04) durante 1 hora a temperatura ambiente, seguido del desarrollo del color usando 1 mg/ml de sustrato de p-nitrofenilfosfato (Sigma-Aldrich 71768) en tampón de glicina 0,1 M (pH 10,4) durante 30 min a temperatura ambiente. Los valores de densidad óptica (DO) se midieron a una longitud de onda de 405 nm en un lector ELISA (espectrofotómetro Powerwave 340/96, BioTek).

Los resultados del ensayo ELISA se muestran en las Figuras 8A-8K y 18A-18J. Los anticuerpos recombinantes, algunos con mutaciones MLNS Fc, se indican con rIgG1.

Ejemplo 9: Unión de anticuerpos a la proteína de la espícula de SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2

30 Se transfectaron células ExpiCHO con phCMV1-SARS-CoV-2 -S, SARS-spike_pcDNA.3 (cepa SARS) o phCMV1 vacío usando Expifectamine CHO Enhancer. Dos días después de la transfección, se recolectaron las células para inmunotinción con anticuerpo. Para la detección se utilizó un anticuerpo secundario anti-IgG Fc humano marcado con Alexa647. La unión del anticuerpo monoclonal a las células transfectadas se analizó mediante citometría de flujo usando un analizador de células ZE5 (Biorad) y el software FlowJo (TreeStar). La unión positiva se definió mediante tinción diferencial de transfectantes CoV-S frente a transfectantes mock. El anticuerpo S309 (VH de SEQ ID NO.:105; VL de SEQ ID NO.:168) se analizó mediante citometría de flujo a 10 µg/ml para determinar la capacidad de teñir células ExpiCHO que expresan la proteína S de SARS-CoV-1 o SARS-CoV-2. Los gráficos de los histogramas apilados de citometría de flujo muestran la unión dependiente de la dosis de los anticuerpos por S309 a la proteína S del SARS-CoV-1 o del SARS-CoV-2. Los resultados se muestran en la Figura 11.

40 La unión de los anticuerpos monoclonales S303, S304, S306, S309, S310, S315, S110, S124, S230 y S109 (todos expresados como rIgG1) a la proteína S del SARS-CoV-1 y la proteína S del SARS-CoV-2 se midió por citometría de flujo. Los resultados se muestran en las Figuras 12A, 12B, 40A y 40B. Ocho de los anticuerpos probados exhibieron valores EC50 que oscilaron entre 1,4 ng/ml y 6.100 ng/ml para la unión a la proteína S del SARS-CoV-2 y entre 0,8 ng/ml y 254 ng/ml para la unión a la proteína S del SARS-CoV-1.

45 Se llevaron a cabo más ensayos de unión usando el mismo procedimiento para S309 y cuatro variantes diseñadas de S309 que tenían diferentes mutaciones en VH (N55Q, W50F, W105F o W50F + G56A + W105F). Los resultados se muestran en la Figura 27. Los valores de EC50 para cada anticuerpo probado en estos ensayos se muestran en la Tabla 7; los números entre paréntesis en la columna "Anticuerpo" en la Tabla 7 corresponden a la clave de la figura en la Figura 27.

50

Tabla 7

Anticuerpo	VH SEQ ID NO.	VL SEQ ID NO.	EC50 (ng/ml) - Exp. 1	EC50 (ng/ml) - Exp. 2
S309 WT ("11")	105	168	23.1	11.5
S309 N55Q ("12")	113	168	22.3	9.6
S309 W50F ("13")	129	168	21.8	8.9
S309 W105F ("14")	119	168	21.4	8.4
S309 W50F-G56A-W105F ("15")	172	168	18.8	7.8

Se llevaron a cabo ensayos de unión adicionales usando el mismo procedimiento usando los anticuerpos S303, S304, S306, S309, S310, S315 y los anticuerpos comparativos S109, S110, S124 y S230. Los resultados se muestran en las Figuras 33A y 42A (unión a la proteína S del SARS-CoV-2) y 33B y 42B (unión a la proteína S del SARS-CoV-1). MFI: intensidad de fluorescencia media medida por citometría de flujo.

Se realizó el mismo ensayo usando los anticuerpos recombinantes S300 y S307. Los resultados del anticuerpo S300-rlgG1, que comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:1 y una VL (Vk) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:234, se muestran en la Figura 39A. Los resultados del anticuerpo S307-rlgG1, que comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:239 y una VL (Vk) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:24, se muestran en la Figura 39B.

Ejemplo 10: Unión de los anticuerpos S309, S303, S304 y S315 a RBD de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1

La afinidad de los anticuerpos recombinantes S309, S303, S304 y S315 por RBD de CoV-1 y CoV-2 se ensayó mediante interferometría de biocapa (BLI; octet). Brevemente, el RBD marcado con His de SARS-CoV-1 o SARS-CoV-2 se cargó a 3 µg/ml en tampón kinetics (KB) durante 15 minutos en biosensores anti-HIS (HIS2) (Molecular Devices, ForteBio). La asociación de los anticuerpos de longitud completa se realizó en KB a 15 µg/ml durante 5 minutos. La asociación de fragmentos Fab se realizó en KB a 5 µg/ml durante 5 minutos. Se midió la disociación en KB durante 10 minutos. Las afinidades, representadas por valores KD, se calcularon utilizando un modelo de ajuste global (Octet). Se utilizó el equipo Octet Red96 (ForteBio).

Las Figuras 14A-14D muestran las curvas de asociación y disociación para S309, S303, S304 y S315, respectivamente. Cada uno de estos anticuerpos se unió a SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 RBD con afinidad nanomolar a subpicomolar. Las Figuras 20A y 20B muestran las curvas de asociación y disociación para S309 IgG y S309 Fab, respectivamente. En estas figuras, el cambio de solución de anticuerpo (o Fab) a tampón se indica con una línea discontinua vertical.

Ejemplo 11: enlace de S309 IgG y S309 Fab al trímero del ectodominio de la proteína S de SARS-CoV-2 y RBD

Determinación de afinidad y avidez de IgG1 y fragmento Fab: RBD biotinilado de SARS-CoV-2 (producido internamente; residuos de aminoácidos 331-550 de la proteína espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947, biotinilado con EZ-Link NHS-PEG4-Biotin de ThermoFisher) y SARS-CoV-2 2P S biotinilado con etiquetas avi se cargaron a 7,5 µg/ml en tampón Kinetics (KB; 0,01 % de BSA sin endotoxinas, 0,002 % de Tween-20, 0,005 % NaN₃ en PBS) durante 8 minutos en biosensores de estreptavidina (Molecular Devices, ForteBio). La asociación de IgG1 y Fab con el objetivo se realizó en KB a 100, 33, 11, 3,6, 1,2 nM durante 5 minutos. Se midió la disociación en KB durante 10 minutos. Los valores de KD se calcularon usando un modelo de ajuste global 1:1 (Octet).

Los resultados se muestran en las Figuras 41A y 41B. En este ensayo, S309 IgG se unió al RBD de SARS-CoV-2 y al trímero de ectodominio S con avidez subpicomolar y picomolar, respectivamente. S309 Fab se unió tanto al RBD de SARS-CoV-2 como al trímero de ectodominio S con afinidades nanomolares a subnanomolares.

Ejemplo 12: Unión competitiva de anticuerpos a RBD de SARS-CoV-1 o SARS-CoV-2

Se midió la unión competitiva de pares de anticuerpos monoclonales a RBD de SARS-CoV-1 o de SARS-CoV-2 para identificar los respectivos sitios de unión de los anticuerpos.

Se utilizaron biosensores de estreptavidina (Pall ForteBio) para inmovilizar el anticuerpo anti-Strep Tag II a 3 µg/ml (clon 5A9F9, Biotin, LabForce AG, Muttentz CH), después de un paso de hidratación de 10 min con tampón KDinetics (KB; 0,01 % de endotoxina-BSA libre, 0,002% Tween-20, 0,005% NaN₃ en PBS). Luego se

cargó RBD de SARS-CoV-1 o de SARS-CoV-2 con Strep Tag II (producido internamente) durante 6 min a una concentración de 4 µg/ml en KB. Se permitió que el primer anticuerpo se asociara durante un período de tiempo y luego se permitió que el segundo anticuerpo se asociara durante 7 minutos (420 segundos). La Figura 15A muestra la competencia de los pares de anticuerpos por unirse al RBD de SARS-CoV-1. La Figura 15B muestra la competencia de los pares de anticuerpos por unirse al RBD de SARS-CoV-2. Las líneas verticales discontinuas de las Figuras 15A y 15B indican el cambio del primer anticuerpo, indicado a la izquierda de la matriz, al segundo anticuerpo, indicado en la parte superior de la matriz. Usando estos y otros datos, se identificaron cuatro regiones o sitios antigénicos (I-IV en las Figuras 15A y 15B).

Ejemplo 13: Interferencia con RBD: unión a ACE2 humano

- 10 Se midió la capacidad de los anticuerpos para interferir con la unión de RBD a ACE2 humano. Se cargó ACE2-His (Bio-Techne AG) durante 30 minutos a 5 µg/ml en tampón kinetics (KB) en biosensores anti-HIS (HIS2) (molecular Devices-ForteBio), se asoció SARS-CoV-1 RBD-conejo Fc o SARS-CoV-2 RBD-ratón Fc (Sino Biological Europe GmbH) a 1 µg/ml durante 15 minutos, después de preincubación con o sin anticuerpo a 30 µg/ml durante 30 minutos. La disociación se controló durante 5 minutos. La Figura 16 muestra los datos obtenidos usando el anticuerpo S309 o S230. Las Figuras 19A y 19B muestran los datos obtenidos utilizando los anticuerpos S304, S303 o S230 (Figura 19A) o RBD y el anticuerpo S315 (Figura 19B). La línea discontinua vertical en cada una de las Figuras 16, 19A y 19B indica el comienzo de la carga de RBD con o sin anticuerpo.

Ejemplo 14: Función efectora de los anticuerpos

- 20 La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) mediada por el asesino natural (NK) puede contribuir al control viral al matar las células infectadas que presentan la proteína viral en su superficie. Para investigar la capacidad de los anticuerpos de aprovechar esta función, se ensayó la ADCC *in vitro* usando células NK humanas (aisladas de sangre fresca de donantes sanos usando el kit MACSxpress NK Isolation (Miltenyi Biotec, Cat. Nr.:130-098-185)) como células efectoras y células ExpiCHO transfectadas con SARS-CoV-2 S como células diana. Las células diana se incubaron con diferentes cantidades de anticuerpo y después de 10 minutos se incubaron con células NK humanas primarias como células efectoras en una relación diana:efectora de 9:1. La muerte celular dependiente de anticuerpos se midió utilizando un ensayo de liberación de LDH (Kit de detección de citotoxicidad (LDH) (Roche; Cat. Nr.:11644793001)) después de 4 horas de incubación a 37 °C.

- 30 La fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) mediada por macrófagos o células dendríticas también puede contribuir al control viral, eliminando las células infectadas y estimulando potencialmente la respuesta de las células T con la presentación del antígeno viral. Se ensayó ADCP usando células mononucleares de sangre periférica como fagocitos y ExpiCHO transfectadas con S de SARS-CoV-2 marcada con fluorescencia con kits PKH67 Fluorescent Cell Linker (Sigma Aldrich, Cat. Nr.:MINI67) como células diana. Las células diana se incubaron con diferentes cantidades de anticuerpo durante 10 minutos, seguido de incubación con PBMC humanas aisladas de donantes sanos que se marcaron con fluorescencia con Cell Trace Violet (Invitrogen, Cat. Nr.:C34557) a una relación efector:diana de 20:1. Después de incubación durante la noche a 37 °C, las células se tiñeron con anticuerpo anti-CD14-APC humano (BD Pharmingen, Cat. Nr.:561708, Clon M5E2) para teñir células fagocíticas. La fagocitosis mediada por anticuerpos se determinó mediante citometría de flujo, midiendo el % de monocitos que fueron positivos para la fluorescencia con PKH67.

- 40 Se ensayaron los anticuerpos S309 (VH SEQ ID NO.:105; VL SEQ ID NO.:168), S304, S306, S315, S230 y la combinación de S309 y S304.

La Figura 17A muestra la función ADCC de los anticuerpos que utilizan células efectoras NK primarias y ExpiCHO que expresa SARS-CoV-2 S como células diana. Los símbolos muestran media ± SD de mediciones duplicadas. La Figura 17B muestra la función ADCP de los anticuerpos usando PBMC como células fagocíticas y ExpiCHO que expresa S de SARS-CoV-2 marcado con PKH67 como células diana. Los símbolos muestran media ± SD de mediciones duplicadas.

Las variantes Fc de S309 se probaron para ADCC. S309-LS incluye las mutaciones M428L y N434S Fc. S309-GRLR incluye la mutación G236R/L328R Fc, que presenta una unión mínima a los FcγR. S309-LS-GAALIE incluye las mutaciones Fc MLNS y GAALIE (G236A/A330L/I332E). Los resultados se muestran en la Figura 45.

- 50 Los anticuerpos S303, S304, S306, S309, S315 y la combinación de S309 y S315 se analizaron para la función ADCC y ADCP. La figura 24A muestra ADCC de anticuerpos que utilizan células efectoras NK primarias y ExpiCHO que expresa S de SARS-CoV o SARS-CoV-2 como células diana. El gráfico de la Figura 24A muestra el % de destrucción determinado para un homocigoto donante representativo para FcγRIIIa de alta afinidad (los símbolos muestran media ± SD). La Figura 24B muestra el área bajo la curva (AUC) para las respuestas de células de donantes homocigotos para la variante de alta afinidad FcγRIIIa 158V (VV), en comparación con

células de donantes heterocigotos para 158V (FV) u homocigotos para la variante de baja afinidad 158F (FF) (media±SD). La Figura 25A muestra ADCP que usa PBMC como células fagocíticas y ExpiCHO que expresa S de SARS-CoV-2 marcado con PKH67 como células diana, para un donante representativo. % ADCP indica el porcentaje de monocitos positivos para PKH67. La Figura 25B muestra el área bajo la curva (AUC) para las respuestas de múltiples donantes.

Ejemplo 15: Reactividad de anticuerpos contra el lisado celular de células infectadas por SARS-CoV-2

Se midió la reactividad de los anticuerpos S304, S306, S309 y S310 contra el lisado celular de células VeroE6 infectadas con SARS-CoV-2. La Figura 21A muestra la reactividad de los anticuerpos, medida mediante ELISA S indirecto, contra lisado extraído con TX100 de células VeroE6 infectadas con SARS-CoV-2. La Figura 21B muestra la reactividad de los anticuerpos, medida mediante ELISA S indirecto, contra lisado extraído (desnaturalizado) con SDS de células VeroE6 infectadas con SARS-CoV-2. La Figura 21C muestra la reactividad del suero convaleciente de SARS-CoV-1 humano, medida mediante ELISA S indirecto, contra lisado extraído con TX100 o extraído con SDS de células VeroE6 infectadas con SARS-CoV-2.

Ejemplo 16: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por los anticuerpos S304 y S309, solos o en combinación

La neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por los anticuerpos monoclonales S304 y S309 se evaluó mediante un ensayo con virus vivo de SARS-CoV-2. El ensayo de neutralización de virus vivo cuantifica el número de células infectadas mediante la tinción de nucleoproteína viral (NP) con un suero de conejo policlonal específico de NP. La inhibición se evaluó midiendo la expresión de NP 24 y 45 horas después de la infección. Se usó inmunoensayo enzimático (EIA) para cuantificar el nivel de infección para cada dilución de anticuerpo ensayada.

Los datos se muestran en las Figuras 22A-22D. La neutralización se llevó a cabo durante una hora a temperatura ambiente a las concentraciones de anticuerpo indicadas utilizando células Vero E6 en monocapa en placas de 96 pocillos. Los pocillos se infectaron con 100 TCID₅₀ de virus. Después de 24 o 45 horas, las monocapas se fijaron y tiñeron para inhibir la expresión de NP. Cuando se combinan, S304 y S309 muestran una mejora sinérgica de la neutralización.

Ejemplo 17: Producción de anticuerpos variantes de S309 rIgG

Se produjeron anticuerpos IgG1 recombinantes usando las secuencias VH y VL del anticuerpo S309. En este ejemplo, los anticuerpos se denominan "S309-11", "S309-12", "S309-13", "S309-14" y "S309-15", respectivamente.

"S309-11" comprende la secuencia de VH de tipo salvaje (SEQ ID NO.:105) y la secuencia de VL de tipo salvaje (SEQ ID NO.:168) de S309. "S309-12" comprende una mutación N55Q en CDRH2, que proporciona una secuencia variante de VH (SEQ ID NO.:113) y la secuencia VL de tipo salvaje (SEQ ID NO.:168) de S309. "S309-13" comprende una mutación W50F en VH (SEQ ID NO.:129) y la secuencia de VL de tipo salvaje (SEQ ID NO.:168) de S309. "S309-14" comprende una secuencia variante de W105F VH (SEQ ID NO.:119) y la secuencia VL de tipo salvaje (SEQ ID NO.:168) de S309. "S309-15" comprende una variante de VH W50F/G56A/W105F (SEQ ID NO.:172) y la secuencia VL de tipo salvaje de S309 (SEQ ID NO.:168). El anticuerpo recombinante S309 (S309-11) y cada una de las cuatro variantes S309-12 - S309-15 se produjeron mediante transfección transitoria y expresión de un vector plasmídico que codifica el anticuerpo recombinante en células HD 293F (GenScript). Un vector de plásmido que codifica los anticuerpos S309 también codifica un péptido señal como el mostrado en la SEQ ID NO.:252. Este péptido señal proporcionó una producción de anticuerpos superior en comparación con otros péptidos señal ensayados. Datos no mostrados. Las células se recogieron el día 4 y la expresión de IgG se validó mediante transferencia Western y análisis de títulos de proteína A.

Ejemplo 18: Unión de S309 rIgG y variantes a RBD de SARS-CoV-2

La unión del anticuerpo monoclonal recombinante S309 y las cuatro variantes de S309 descritas en el Ejemplo 17 (S309-12 - S309-15) a RBD se midió usando resonancia de plasmón superficial (SPR). Los experimentos SPR se llevaron a cabo con un instrumento Biacore T200 utilizando un enfoque de cinética de ciclo único. El anticuerpo expresado como IgG se capturó en la superficie y se inyectaron concentraciones crecientes de RBD de SARS-CoV-2 purificado, ya sea en forma glicosilada o desglicosilada. La SPR se llevó a cabo utilizando un chip sensor con Fc antihumano inmovilizado covalentemente (GE). El tampón utilizado fue HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM y detergente P20 al 0,05%. Los ensayos se realizaron a 25 °C. Los anticuerpos recombinantes se diluyeron del sobrenadante a aproximadamente 2 µg/ml. Las concentraciones de RBD fueron 0,8 nM, 3,1 nM, 12,5 nM, 50 nM y 200 nM. El RBD glicosilado se obtuvo mediante expresión en células HEK293

y se purificó mediante purificación por afinidad Ni en un solo paso. El RBD desglicosilado se obtuvo mediante expresión interna en células Expi293 cultivadas en presencia de kifunensina, purificación mediante purificación por afinidad Ni en un paso y tratamiento con endoglicosidasa H. Se llevaron a cabo ensayos cinéticos de ciclo único de inyecciones con periodos de disociación de 3 minutos y de 20 minutos. Se controlaron las cinéticas de asociación y disociación y se ajustaron a un modelo de unión para determinar la afinidad. Los resultados se muestran en las Figuras 30A-30F y la Tabla 8.

Tabla 8

Sobrenadante mAb	RBD glicosilado			RBD desglicosilado		
	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)
S309 WT o variante						
S309-11 (WT)	0.50 nM	10.0e4	5.0e-5	0.91 nM	3.0e5	2.8e-4
S309-11 (WT) replicado	0.68 nM	9.5e4	6.5e-5	0.98 nM	2.9e5	2.9e-4
S309-12 (N55Q)	0.46 nM	9.2e4	4.2e-5	1.3 nM	2.7e5	3.6e-4
S309-13 (W50F)	0.51 nM	9.9e4	5.0e-5	1.8 nM	3.0e5	5.3e-4
S309-14 (W105F)	0.38 nM	1.0e5	3.9e-5	7.9 nM	9.8e5	7.7e-3
S309-15 (W50F/G56A/W 105F)	1.7 nM	9.9e4	1.6e-4	>10 nM	Kd estimada con ajuste de estado estable	

La unión a RBD desglicosilado se midió en dos ensayos SPR diferentes usando diferentes parámetros. El Experimento 1 usó inyecciones de 10 minutos y una serie de diluciones de concentración RBD de 4 veces desde 100 nM. El Experimento 2 usó inyecciones de 3 minutos y una serie de diluciones de concentraciones de 4 veces desde 200 nM, como se describe anteriormente. Los resultados se muestran en la Tabla 9. Los resultados del Experimento 1 para S309-15 también se muestran en la Figura 30F, dos paneles superiores.

Tabla 9

Sobrenadante mAb	Experimento 1			Experimento 2		
	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)
S309 WT o variante						
S309-11 (WT)	0.83 nM	3.0e5	2.5e-4	0.91 nM	3.0e5	2.8e-4
S309-11 (WT) replicado	0.91 nM	3.0e5	2.7e-4	0.98 nM	2.9e5	2.9e-4
S309-12 (N55Q)	1.2 nM	2.7e5	3.2e-4	1.3 nM	2.7e5	3.6e-4
S309-13 (W50F)	1.7 nM	2.8e5	4.6e-4	1.8 nM	3.0e5	5.3e-4
S309-14 (W105F)	14 nM	ajuste a est. estable	7.9 nM	9.8e5	7.7e-3	
S309-15 (W50F/G56A/W 105F)	37 nM	ajuste a est. estable	ajuste a estado estable imposible			

La unión del anticuerpo recombinante S309 y las cuatro variantes modificadas a RBD se midió mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) usando el mismo procedimiento descrito anteriormente, excepto que se usaron anticuerpos recombinantes purificados en lugar de sobrenadante de cultivo celular. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10

	RBD glicosilado			RBD desglicosilado		
	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)
S309 WT o variante VH						
S309-11 (WT)	0.26 nM	9.3e4	2.4e-5	0.67 nM	3.4e5	2.3e-4
S309-12 (N55Q)	0.39 nM	8.5e4	3.3e-5	1.1 nM	3.1e5	3.2e-4
S309-13 (W50F)	0.39 nM	9.2e4	3.6e-5	1.4 nM	3.5e5	4.9e-4
S309-14 (W105F)	0.35 nM	9.6e5	3.4e-5	5.1 nM	1.5e6	7.9e-3
S309-15 (W50F/G56A/ W105F)	1.6 nM	9.4e4	1.5e-4	>10 nM	Kd estimada con ajuste de estado estable	
S309 G56A	0.54 nM	9.3e4	5.1e-5	0.70 nM	3.4e5	2.4e-4

Ejemplo 19: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por anticuerpos S309

- La actividad neutralizante de S309 y las cuatro variantes de S309 diseñadas descritas en los Ejemplos 17 y 18 ("S309-12" - "S309-15") se determinó utilizando un sistema de pseudotipado reporter de luciferasa basado en VSV (Kerafast). Las pseudopartículas de VSV y el anticuerpo se mezclaron en DMEM y se dejaron incubando durante 30 minutos a 37 °C. A continuación, se permitió que la mezcla de infección se incubara con células Vero E6 durante 1 hora a 37 °C, seguido de la adición de DMEM con Pen-Strep y FBS al 10 % (la mezcla de infección no se elimina). Las células se incubaron a 37 °C durante 18-24 horas. La luciferasa se midió utilizando un lector de placas Ensight (Perkin Elmer) después de la adición del reactivo Bio-Glo (Promega). Los resultados se muestran en la Figura 28. En la Figura 28, las variantes 11 - 15 corresponden a S309-11 - S309-15, respectivamente. Los valores de EC50 calculados basados en este experimento se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

Anticuerpo	EC50 (ng/ml)
S309-11 (WT VH)	109
S309-12 (N55Q VH)	103
S309-13 (W50F VH)	97
S309-14 (W105F VH)	65
S309-15 (W50F/G56A/W105F VH)	53

Ejemplo 20: Activación dependiente de anticuerpos de FcγRIIIa o FcγRIIa humano

- Se examinó la activación dependiente de anticuerpos de FcγRIIIa o FcγRIIa humanos. Se transfectaron células ExpiCHO transitoriamente con S de SARS-CoV-2 (BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019) y se incubaron con concentraciones tituladas de anticuerpo durante 10 minutos. A continuación, las células ExpiCHO se incubaron con células Jurkat que expresaban FcγRIIIa o FcγRIIa en su superficie y se transfectaron de forma estable con el gen de luciferasa dirigido por NFAT (Promega, Cat. Nr.:G9798 y G7018) en una proporción efector:diana de 6:1 para FcγRIIIa y 5:1 para FcγRIIa. La activación de FcγR humanos en este bioensayo da como resultado la expresión mediada por NFAT del gen indicador de luciferasa. La luminiscencia se midió después de 21 horas de incubación a 37 °C con 5 % de CO₂, usando el reactivo de ensayo de luciferasa Bio-Glo-TM de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se analizaron los anticuerpos S303, S304, S306, S309, S315 y una combinación de S309 y S315, junto con el anticuerpo comparativo S230. Los resultados se muestran en las Figuras 31 y 32.

Ejemplo 21: Análisis de secuencias de glicoproteínas S de SARS-CoV-2

- El análisis de las secuencias de la glicoproteína S de 2229 aislados de SARS-CoV-2 indicó que se han producido varias mutaciones con frecuencia variable en el ectodominio S del SARS-CoV-2. La Figura 35A muestra variantes de la proteína espícula que ocurren con una frecuencia $n > 1$ como esferas mapeadas en la forma abierta y cerrada del ectodominio de espícula trimérico completo. El RBD y otros dominios de la proteína espícula se muestran como se indica. Se muestran 40 mutaciones (de un total de 2229). Debido a la falta de detalles en las estructuras PDB, solo el residuo 367 ($n=8$) está resaltado en el RBD y los residuos 476 ($n=7$) y 483 ($n=17$) no lo están. La Figura 35B muestra la prevalencia de variantes en la glicoproteína espícula por aminoácido. Cada punto es una variante distinta. Se muestran las ubicaciones del Dominio A y RBD. Las variantes que superan un umbral de frecuencia del 0,1 % son las indicadas.
- Se llevó a cabo un análisis adicional de las secuencias de la glicoproteína S utilizando 11.839 aislados de SARS-CoV-2. La Figura 43 muestra variantes compatibles con al menos dos secuencias (prevalencia superior al 0,01 %) representadas como esferas indicadas asignadas a la forma cerrada (izquierda) y abierta (derecha) del ectodominio espícula trimérico completo. Cada punto es una variante distinta. La Figura 43 muestra variantes de la proteína espícula respaldadas por al menos dos secuencias como esferas indicadas mapeadas en la forma cerrada (izquierda) y abierta (derecha) del ectodominio de la espícula trimérico completo. El RBD y otros dominios de la proteína espícula se muestran en los colores indicados. Se muestran 171 variantes (de un total de 11.839 secuencias de proteína S analizadas). Las variantes se etiquetan si su prevalencia es superior al 1 % (solo D614G) o si se encuentran dentro de la RBD. También se indica la ubicación del N343 conservado.

Ejemplo 22: Competencia del anticuerpo S309 con anticuerpos aislados de pacientes con SARS-CoV-2

- Se analizaron anticuerpos monoclonales humanos aislados de pacientes que se recuperaron de la infección por SARS-CoV-2 para detectar sitios de unión RBD superpuestos con el anticuerpo S309 (VH: SEQ ID NO.:105;

VL: SEQ ID NO.:113). Los ensayos de competencia se realizaron utilizando Octet (instrumento: Octet Red96, ForteBio). Se usaron sensores anti-His (BIOSENSOR ANTI-PENTA-HIS (HIS1K)1*1ST) para inmovilizar el RBD marcado con His producido internamente del SARS-CoV-2 (residuos 331-550 de la proteína de la espícula de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de registro MN908947) a una concentración de 3 µg/ml. Los anticuerpos se asociaron durante 6 min a 15 µg/ml. Todas las proteínas se diluyeron en tampón kinetics (KB). A continuación, se asociaron anticuerpos competitivos a la misma concentración durante 6 minutos más. Se demostró que dos anticuerpos competían con S309 por unirse a RBD pero, a diferencia de S309, no neutralizaban el SARS-CoV-2. Datos no mostrados.

Ejemplo 23: Selección de resistencia del SARS-CoV-2 frente al anticuerpo monoclonal S309-12-MLNS

- 10 Para examinar la selección de resistencia, se puso en contacto SARS-CoV-2 durante más de un mes en presencia de células Vero E6 y concentraciones fijas de anticuerpo S309 N55Q MLNS GAALIE (VH de SEQ ID NO.:113 y VL de SEQ ID NO.:168, con mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S en la Fc). El esquema experimental se ilustra en la Figura 44A. Los detalles de la infección y el cultivo viral continuo se resumen en la Figura 44B. El efecto citopatógeno (CPE) se evaluó mediante inspección visual de las placas.
- 15 Incluso cuando no se observó CPE, los títulos virales se evaluaron mediante un ensayo de formación de focos con una superposición de metilcelulosa. Los resultados se muestran en la Figura 44C. No se observó evidencia de avance viral en los pocillos tratados con anticuerpos, incluso a la concentración mínima de anticuerpos ensayada. Los datos son representativos de pocillos por triplicado.

20 Ejemplo 24: Neutralización de la infección por SARS-CoV-2 de células del pulmón humano CALU-3 por el anticuerpo S309

- El anticuerpo S309 N55Q MLNS (VH de SEQ ID NO.:113 y VL de SEQ ID NO.:168, con mutaciones M428L y N434S en Fc) se analizó para determinar su capacidad de neutralizar la infección viva por SARS-CoV-2 de células de pulmón humano Calu-3 (que son positivas para la proteasa transmembrana TMPRSS2) y células VeroE6 utilizando un ensayo de nano luciferasa. Los resultados, incluidos los valores IC50 calculados, se muestran en la Figura 46.
- 25

Ejemplo 25: neutralización de la infección por SARS-CoV-2 por el anticuerpo S309

- Se ensayó la capacidad del anticuerpo S309 de neutralizar la infección por el virus SARS-CoV-2 vivo mediante un ensayo de nano luciferasa y un ensayo IFA. Brevemente, se infectaron células Vero E6 con virus luciferasa SARS-CoV-2 vivo durante seis horas. Los datos se recopilaron utilizando tres concentraciones de anticuerpos diferentes: 1, 0,1 y 0,01 MOI. En la Figura 47 se muestran los resultados del ensayo de nano luciferasa. Los resultados del ensayo IFA se muestran en las Figuras 48A (pocillos representativos contados en IFA) y 48B (datos cuantificados usando Cytation 5). Los valores IC50 calculados para cada MOI se muestran en los recuadros debajo del gráfico en las Figuras 47 y 48B. En particular, no se observaron grupos de infección (o focos) en este formato de infección.
- 30

35 Ejemplo 26: Neutralización de la infección viva por SARS-CoV-2 por los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE

- Se analizaron los anticuerpos S309 N55Q MLNS (también denominado aquí S309 N55Q LS, que comprende las mutaciones M428L/N434S Fc) y S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q LS GAALIE, que comprende las mutaciones G236A, A330L, I332E, M428L y N434S Fc) para determinar la capacidad de neutralizar la infección por el virus SARS-CoV-2 vivo. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia según la SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en la SEQ ID NO.:168. Los resultados se muestran en la Figura 49. La CE50 calculada para S309 N55Q MLNS fue de 100,1 ng/ml. La CE50 calculada para S309 N55Q MLNS GAALIE fue de 78,3 ng/ml.
- 40

45 Ejemplo 27: Neutralización del virus pseudotipado SARS-CoV-2 mediante los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE

- Se ensayó la neutralización del virus pseudotipado SARS-CoV-2 por los anticuerpos S309 N55Q MLNS (también denominado aquí S309 N55Q LS) y S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q MLNS GAALIE). Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en la SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en la SEQ ID NO.:168. El virus pseudotipado fue pseudotipado VSV con la proteína espícula del SARS-CoV-2. Los resultados se muestran en la Figura 50A (S309 N55Q MLNS) y la Figura 50B (S309 N55Q MLNS GAALIE). El valor EC50 calculado para S309 N55Q MLNS fue de 24,06 ng/ml. El valor EC50 calculado para S309 N55Q MLNS GAALIE fue de 22,09 ng/ml.
- 50

Ejemplo 28: unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE a RBD de SARS-CoV-2

La unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE al RBD de SARS-CoV-2 se midió mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168. Los resultados se muestran en la Figura 51A (S309 N55Q MLNS) y la Figura 51B (S309 N55Q MLNS GAALIE).

Ejemplo 29: unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2

La unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS (también denominados aquí S309 N55Q LS) y S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominados aquí S309 N55Q LS GAALIE) a la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 se midió por citometría de flujo. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168. Los resultados se muestran en la Figura 52A (S309 N55Q MLNS) y la Figura 52B (S309 N55Q MLNS GAALIE). Los datos se expresan como porcentaje de células identificadas como positivas para la unión de anticuerpos.

Ejemplo 30: Unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE a los receptores Fcγ humanos

La unión de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE a los receptores Fcγ humanos se ensayó mediante SPR. Se midió la unión a FcγRIIa (alelos R131 de baja afinidad y H131 de alta afinidad), FcγRIIIa (alelos F158 de baja afinidad y V158 de alta afinidad) y FcγRIIb. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168.

El reactivo Biotin CAPture (estreptavidina modificada) se inyectó en todas las celdas de flujo de un chip sensor CAP acoplado en un Biacore T200 (Cytiva). Se inyectaron receptores Fc biotinilados a 1 µg/ml a través de una única celda de flujo a 10 µl/min durante 60 segundos (un receptor por celda de flujo), con una celda de flujo reservada como superficie de referencia. Se inyectó anticuerpo a 100 µg/ml (diluido en HBS-EP+) en todas las celdas de flujo durante 200 segundos usando una velocidad de flujo de 30 µl/min y se controló la asociación. Se controló la disociación durante otros 200 segundos después de la inyección. Los datos se recogieron a 10 Hz. Después de cada medida de unión, se inyectó el reactivo CAP Regeneration para preparar la superficie para un nuevo ciclo. Los experimentos se realizaron a 25 °C, manteniendo las muestras a 15 °C en el instrumento antes de la inyección. Los resultados se muestran en la Figura 53 (donde la mutación MLNS se indica como "LS" en la clave de la figura).

Ejemplo 31: Unión de los anticuerpos S309 MLNS, S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE al componente complemento C1q

La unión de los anticuerpos S309 MLNS (también denominado aquí S309 LS), S309 N55Q MLNS (también denominado aquí S309 N55Q LS) y S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q LS GAALIE) al componente de complemento C1q se midió por interferometría de biocapa (BLI) en un instrumento Octet. S309 MLNS comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:105 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en la SEQ ID NO.:168.

Se usaron sensores anti-Fab humano (específico de CH1) para capturar el anticuerpo a 10 µg/ml durante 10 minutos. A continuación, los sensores cargados con IgG se expusieron a un tampón kinetics que contenía 3 µg/ml de C1q humano purificado durante 4 minutos, seguido de un paso de disociación en el mismo tampón durante 4 minutos más. Los perfiles de asociación y disociación se midieron en tiempo real como cambios en el patrón de interferencia. Los resultados se muestran en la Figura 54.

Ejemplo 32: Activación *in vitro* de receptores GAMMA Fc humanos mediante los anticuerpos S309 MLNS, S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE

Se analizó *in vitro* la capacidad de los anticuerpos S309 MLNS, S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE para provocar la activación dependiente de anticuerpos de los receptores Fcγ humanos. S309 MLNS comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:105 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un

VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168.

- 5 Cada uno de S309 MLNS (también denominado aquí S309 LS), S309 N55Q MLNS (también denominado aquí S309 N55Q LS), S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q LS GAALIE) y el anticuerpo de control S309-GRLR se diluyó en serie 6 veces en tampón de ensayo de 10.000 ng/ml a 0,006 ng/ml. Se incubaron diluciones en serie de nueve puntos de anticuerpo con 12.500 (para FcγRIIIa y FcγRIIb) o 10.000 (para FcγRIIIa) células CHO-CoV-2-Spike por pocillo en placas de 96 pocillos de fondo blanco plano durante 15 minutos a temperatura ambiente. Las células efectoras Jurkat que expresan los FcγR indicados y transfectadas de forma estable con un gen de luciferasa impulsado por NFAT se descongelaron, diluyeron en
- 10 tampón de ensayo y se añadieron a la placa en una proporción células efectoras:células diana de 6:1 para FcγRIIIa y FcγRIIb o 5:1 para FcγRIIIa. Se incluyeron pocillos de control para medir la activación independiente de anticuerpos (que contenían células diana y células efectoras pero no anticuerpos) y la luminiscencia de fondo de la placa (pocillos que contenían tampón de ensayo solamente). Las placas se incubaron durante 18 horas a 37 °C con 5 % de CO₂. La activación de FcγR humanos en este bioensayo da como resultado la expresión mediada por NFAT del gen indicador de luciferasa. La luminiscencia se midió con un luminómetro después de agregar el reactivo de ensayo de luciferasa Bio-Glo™ de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los resultados se muestran en la Figura 55.

Ejemplo 33: Función efectora de los anticuerpos S309 MLNS, S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE

- 20 Se ensayaron los anticuerpos S309 MLNS (también denominado aquí S309 LS), S309 N55Q MLNS (también denominado aquí S309 N55Q LS) y S309 N55Q MLNS GAALIE (también denominado aquí S309 N55Q LS GAALIE) para determinar su capacidad para promover citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos mediada por células NK (ADCC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpos mediada por monocitos (ADCP) contra células que expresan la proteína de la espícula de CoV-2.

- 25 S309 MLNS comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:105 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168.

- 30 La ADCC se midió *in vitro* mediante la exposición de células NK humanas recién aisladas de dos donantes genotipados que expresaban homocigotos de baja afinidad (F/F158) o alta afinidad (V/V158) FcγRIIIa al anticuerpo preincubado con células CHO-CoV-2-Spike y medir la liberación de LDH como una lectura de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Kit de detección de citotoxicidad (LDH), Roche) después de 4 horas de incubación a 37 °C. En resumen, las placas se centrifugaron durante 4 minutos a 400 x g y se transfirieron 35 µl de sobrenadante a una placa plana de 384 pocillos. Se preparó el reactivo LDH y se añadieron 35 µl a cada pocillo. Utilizando un protocolo cinético, se midió la absorbancia a 490 nm y 650 nm una vez cada
- 35 2 minutos durante 8 minutos, y como resultado se utilizó la pendiente de la curva cinética. El porcentaje de lisis específica se determinó aplicando la siguiente fórmula: (liberación específica - liberación espontánea) / (liberación máxima - liberación espontánea) x 100. Los resultados se muestran en la Figura 56.

- 40 La capacidad de los anticuerpos S309 MLNS, S309 N55Q MLNS, S309 N55Q MLNS GAALIE y el anticuerpo de control S309-GRLR para promover la ADCP por monocitos CD14+ primarios se midió *in vitro* mediante la exposición de PBMC humanas recién aisladas (marcadas con trazas de células violetas) a células que expresan CHO-CoV-2-Spike (marcadas con el kit de unión de células fluorescentes PKH67 (Sigma Aldrich)) que se preincubaron con anticuerpo. Se incubaron diluciones en serie de mAbs (diluidos en serie 5 veces desde 5.000 ng/ml hasta 0,32 ng/ml en RPMI-1640 + L-glutamina suplementada con Hyclone FBS al 10% + 2x anti-anti (antibiótico-antimicótico)) con 10.000 células CHO-CoV-2-Spike por pocillo de una placa de polipropileno de 96 pocillos durante 10 minutos. Las PBMC primarias se marcaron con fluorescencia con Cell Trace Violet de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A continuación, las mezclas de células diana y anticuerpos se incubaron con PBMC marcadas en una proporción efector:diana de 16:1. La actividad de ADCP se midió después de la incubación durante la noche marcando la población de monocitos para CD14 y midiendo el porcentaje de células violeta+ PKH67+ entre los monocitos CD14+ mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la Figura 57.
- 50

Ejemplo 34: Efecto del anticuerpo S309 en la fusión celular mediada por la proteína de la espícula de SARS-CoV-2

- 55 El efecto del anticuerpo S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) en la fusión mediada por la proteína de la espícula del SARS-CoV-2 se probó utilizando células diseñadas para sobreexpresar la proteína espícula en la superficie celular. La adición de S309 a estos cultivos celulares inhibió la fusión célula-célula. Los resultados se muestran en las Figuras 58A (micrografías) y 58B (datos cuantificados).

Ejemplo 35: Efecto de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE en la replicación del SARS-CoV-2

- El efecto de los anticuerpos S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE en la replicación del SARS-CoV-2 se probó en células VeroE6, PBMC y células dendríticas. Cada uno de S309 N55Q MLNS y S309 N55Q MLNS GAALIE comprende un VH que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:113 y un VL que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO.:168.

- El virus SARS-CoV-2 se incubó durante una hora con S309 N55Q MLNS o S309 N55Q MLNS GAALIE. A continuación, se añadió la mezcla virus/anticuerpo a células VeroE6, PBMC o dendríticas derivadas de monocitos (MoDC) en placas. Después de incubar las células con la mezcla virus/anticuerpo durante una hora a 37 °C, las células se lavaron y se incubaron durante 72 horas más en medio fresco. A continuación, se analizó el sobrenadante de las células cultivadas para determinar las unidades formadoras de focos (FFU). El sobrenadante se diluyó 1:5 y se añadió a las células VeroE6. Después de una hora a 37 °C, las células VeroE6 se cubrieron con metilcelulosa. Después de 24 horas de incubación adicional, los cultivos de células VeroE6 se tiñeron para la nucleoproteína SARS-CoV-2. Los resultados se muestran en la Figura 59. Los datos del anticuerpo S309 N55Q MLNS se muestran en el panel superior. Los datos del anticuerpo S309 N55Q MLNS GAALIE se muestran en el panel inferior. Estos datos de replicación de 72 horas son representativos de los hallazgos a las 24 y 48 horas.

Ejemplo 36: Materiales y métodos

Detección basada en citometría de flujo para la unión a la proteína CoV S expresada en células de mamífero

- Se transfectaron células ExpiCHO con proteína S de SARS-CoV-2, SARS-CoV y MERS-CoV o con un plásmido vacío como control negativo. Luego, los anticuerpos monoclonales se analizaron mediante citometría de flujo a 10 µg/ml para determinar su capacidad para teñir células ExpiCHO que expresan la proteína S de transfectantes de células 2019-nCoV, SARS-CoV, MERS-CoV o Mock.

Expresión transitoria de la proteína recombinante SARS-CoV-2

- El gen S de longitud completa de la cepa SARS-CoV-2 (2019-nCoV-S) aislado BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019 (número de acceso MN908947) se optimizó por codón para la expresión de células humanas y se clonó en el vector de expresión pHCMV1 (Genlantis). Se transfectaron células Expi-CHO transitoriamente con pHCMV1-SARS-CoV-2-S, pHCMV1-MERS-CoV-S (London1/2012), SARS-spike_pcDNA.3 (cepa SARS) o pHCMV1 vacío (mock) usando el potenciador Expifectamine CHO. Dos días después de la transfección, las células se recolectaron, fijaron o fijaron y permeabilizaron con saponina para la inmunotinción con un panel de anticuerpos monoclonales reactivos con el dominio de unión al receptor (RBD) del SARS-CoV. Para la detección se utilizó un anticuerpo secundario anti-IgG Fc humano marcado con Alexa647. La unión de anticuerpos a las células transfectadas se analizó mediante citometría de flujo utilizando un analizador de células ZE5 (Biorad) y el software FlowJo (TreeStar). La unión positiva se definió mediante tinción diferencial de transfectantes CoV-S frente a transfectantes simulados.

Experimentos de competición utilizando Octet (BLI, interferometría de biocapa)

- A menos que se indique aquí lo contrario, se usaron sensores anti-His (BIOSENSOR ANTI-PENTA-HIS (HIS1K)) para inmovilizar la proteína de la subunidad S1 del SARS-CoV (Sino Biological Europe GmbH). Los sensores se hidrataron durante 10 min con tampón Kinetics (KB; BSA sin endotoxinas al 0,01 %, 0,002% Tween-20, NaN₃ al 0,005 % en PBS). A continuación, se cargó la proteína de la subunidad S1 del SARS-CoV durante 8 min a una concentración de 10 µg/ml en KB. Los anticuerpos se asociaron durante 6 min a 15 µg/ml para mAb nCoV-10 y nCoV-6 de longitud completa o 5 µg/ml para Fab nCoV-4, y en un experimento posterior que comprendía nCoV-1 todos a 10 µg/ml. A continuación, se asociaron anticuerpos competitivos a la misma concentración durante 6 minutos más.

- Experimentos de competición utilizando Octet (BLI, interferometría de biocapa)

Para los experimentos de competición de ACE2, se cargó ACE2-His (Bio-Techne AG) durante 30 minutos a 5 µg/ml en KB en biosensores anti-HIS (HIS2) (Molecular Devices-ForteBio). Se asoció SARS-CoV-1 RBD-rabbitFc o SARS-CoV-2 RBD-mouseFc (Sino Biological Europe GmbH) a 1 µg/ml durante 15 minutos, después de preincubación con o sin anticuerpo (30 µg/ml, 30 minutos). La disociación se controló durante 5 minutos.

- Determinación de la afinidad usando Octet (BLI, interferometría de biocapa)

Para la determinación de KD de anticuerpos de longitud completa, se utilizaron biosensores de proteína A (Pall ForteBio) para inmovilizar anticuerpos recombinantes a 2,7 µg/ml durante 1 minuto, después de un paso de hidratación durante 10 minutos con tampón Kinetics. Las curvas de asociación se registraron durante 5 minutos incubando los sensores recubiertos con anticuerpos con diferentes concentraciones de SARS-CoV-1 RBD (Sino Biological) o SARS-CoV-2 RBD (producido internamente; residuos 331-550 de pico de BetaCoV/Wuhan-Hu-1/2019, número de acceso MN908947). La concentración de RBD más alta ensayada fue de 10 µg/ml, luego se diluyó en serie 1:2,5. La disociación se registró durante 9 minutos moviendo los sensores a pocillos que contenían KB. Los valores de KD se calcularon usando un modelo de ajuste global (Octet). Se utilizó el equipo Octet Red96 (ForteBio).

- 10 Para la determinación de KD de anticuerpos de longitud completa en comparación con fragmentos Fab, se cargaron RBD de SARS-CoV-1 o SARS-CoV-2 marcados con His a 3 µg/ml en KB durante 15 minutos en biosensores anti-HIS (HIS2) (Molecular Devices, ForteBio). La asociación de anticuerpo completo y Fab se realizó en KB a 15 µg/ml y 5 µg/ml respectivamente durante 5 minutos. Se midió la disociación en KB durante 10 min.

15 Unión ELISA

- Las reactividades de los mAb con la proteína de la subunidad Spike S1 de SARS-CoV (cepa WH20) se determinaron mediante ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). Brevemente, las placas de 96 pocillos se recubrieron con 3 µg/ml de proteína recombinante de la subunidad Spike S1 del SARS-CoV (Sino. Biológico). Los pocillos se lavaron y bloquearon con PBS+BSA al 1 % durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se incubaron con series de diluciones de mAb durante 1 hora a temperatura ambiente. Los mAb unidos se detectaron incubando IgG antihumana de cabra conjugada con fosfatasa alcalina (Southern Biotechnology: 2040-04) durante 1 h a temperatura ambiente y se desarrollaron con 1 mg/ml de sustrato de p-nitrofenilfosfato en tampón de glicina 0,1 M (pH 10,4) durante 30 min a temperatura ambiente. Los valores de densidad óptica (DO) se midieron a una longitud de onda de 405 nm en un lector ELISA (espectrofotómetro Powerwave 340/96, BioTek).

Ensayo de neutralización

- A menos que se indique lo contrario, se utilizó el virus de la leucemia murina (MLV) pseudotipado con la proteína Spike del SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 pp) o la proteína Spike del SARS-CoV-1 (SARS-CoV-1pp). Como células diana se emplearon células DBT transfectadas de manera estable con ACE2 (DBT-ACE2). SARS-CoV-2 pp o SARS-CoV-1pp se activaron con tripsina TPCK a 10 µg/ml. Se añadió SARS-CoV-2 pp o SARS-CoV-1pp activado a una serie de diluciones de anticuerpos (comenzando con una concentración final de 50 µg/ml por anticuerpo, dilución triple). Se añadieron células DBT-ACE2 a las mezclas de anticuerpo-virus y se incubaron durante 48 h. La luminiscencia se midió después de aspirar el sobrenadante del cultivo celular y agregar sustrato GLO estable (Promega).
- 35 A menos que se indique lo contrario, los ensayos de neutralización de pseudopartículas utilizan un sistema de pseudotipado de indicador de luciferasa basado en VSV (Kerafast). Las pseudopartículas de VSV y el anticuerpo se mezclan en DMEM y se dejan incubando durante 30 minutos a 37 °C. A continuación, se permite que la mezcla de infección se incube con células Vero E6 durante 1 hora a 37 °C, seguido de la adición de DMEM con Pen-Strep y FBS al 10 % (la mezcla de infección no se elimina). Las células se incuban a 37 °C durante 18-24 horas. La luciferasa se mide utilizando un lector de placas Ensight (Perkin Elmer) después de la adición del reactivo Bio-Glo (Promega).

Cinética de ciclo único SPR

- Los experimentos de SPR se llevaron a cabo con un instrumento Biacore T200 utilizando un enfoque de cinética de ciclo único. Se capturó S309 IgG en la superficie y se inyectaron concentraciones crecientes de SARS-CoV-2 RBD purificado, glicosilado o desglucosilado. Se controlaron las cinéticas de asociación y disociación y se ajustaron a un modelo de unión para determinar la afinidad.

Expresión de anticuerpos recombinantes

- Los anticuerpos recombinantes se expresaron en células ExpiCHO cotransfectadas transitoriamente con plásmidos que expresaban la cadena pesada y ligera como se describió anteriormente (Stettler et al. (2016) Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. Science, 353(6301), 823-826). Los anticuerpos monoclonales S303, S304, S306, S309, S310 y S315 se expresaron como anticuerpos rlgG-MLNS. La mutación MLNS confiere una vida media más prolongada *in vivo* (Zalevsky et al. (2010) Enhanced antibody half-life improves *in vivo* activity. Nature Biotechnology, 28(2), 157-159).

Alineación de secuencia

Las secuencias genómicas del SARS-CoV-2 se descargaron de GISAID el 29 de marzo de 2020, utilizando los filtros "completo (>29 000 pb)" y "exclusión de baja cobertura". Se eliminaron las secuencias de murciélago y pangolín para producir secuencias solo humanas. El ORF de la espícula se localizó realizando alineaciones del

5 genoma de la proteína de referencia (YP_009724390.1) con GeneWise2. Las coincidencias incompletas y los ORF que contenían indel se rescataron y se incluyeron en el análisis posterior. Las secuencias de nucleótidos se tradujeron in silico usando un seqkit. Se eliminaron las secuencias con más del 10% de aminoácidos indeterminados (debido a N llamadas de bases). La alineación de secuencias múltiples se realizó utilizando MAFFT. Las variantes se determinaron por comparación de las secuencias alineadas (n=2229) con la

10 secuencia de referencia utilizando el paquete Biostrings de R/Bioconductor. Se utilizó una estrategia similar para extraer y traducir secuencias de las proteínas espícula de los genomas del SARS-CoV obtenidos de ViPR (criterios de búsqueda: coronavirus relacionado con el SARS, genomas completos, huésped humano, depositados antes de diciembre de 2019 para excluir el SARS-CoV-2, n =53). Las secuencias del genoma del SARS-CoV de origen comprendían todas las principales cepas publicadas, como Urbani, Tor2, TW1, P2, Frankfurt1, entre otras. Las secuencias de pangolín mostradas por Tsan-Yuk Lam et al se obtuvieron de

15 GISAID. Las secuencias de murciélagos de los tres clados de Sarbecovirus, como se indica en Lu et al (Lancet 2020), se obtuvieron de Genbank. Las secuencias de perros civeta y mapache se obtuvieron de manera similar de Genbank.

Ejemplo 37: mecanismo independiente de ACE2 de neutralización de SARS-CoV2 por el anticuerpo S309

20 En los siguientes experimentos, el anticuerpo S309 (VH de SEQ ID NO.:105, VL de SEQ ID NO.:168) se expresó como IgG1 recombinante con las mutaciones M428L y N434S Fc. Se investigó el efecto de la sobreexpresión de ACE2 sobre la neutralización de la infección por anticuerpos S309. Se infectaron células Vero E6 o Vero E6-TMPRSS2 con SARS-CoV-2 (aislado USA-WA1/2020) a una MOI de 0,01 en presencia de S309 (10 µg/ml). Las células se fijaron 24 h después de la infección, la proteína de la nucleocápside viral se

25 inmunotizó y cuantificó. La tinción de nucleocápside estuvo efectivamente ausente en las células tratadas con anticuerpos. S309 tenía una IC50 (ng/ml) en células Vero E6 de 65 y en Vero E6-TMPRSS2 de 91 (datos no mostrados).

Un panel de 7 líneas celulares (HeLa, 293T (wt), Vero E6, Huh7, 293T ACE2, MRC 5-ACE2- TMPRSS2, A549-ACE2-TMPRSS2 clon 5, A549-ACE2-TMPRSS2 clon 10) se infectaron con SARS-CoV-2-Nluc o VSV pseudotipado con la proteína de la espícula de SARS-CoV-2 en presencia de S309. La señal de luciferasa se cuantificó 24 horas después de la infección. Los valores máximos de neutralización de S309 fueron los que se muestran en la Tabla 12.

30

Tabla 12. Valores máximos de neutralización de S309

Tipo de célula	Virus/Pseudotipo	
	SARS-CoV-2-Nluc	Pseudotipo VSV
Vero E6	>99%	>99%
Vero E6-TMPRSS2	>99%	96%
Huh7	98%	78%
293T ACE2	26%	34%
MRC5-ACE2-TMPRSS2	87%	45%
A549-ACE2-TMPRSS2 clon 5	89%	65%
A549-ACE2-TMPRSS2 clon 10	81%	42%

35

La unión de la proteína espícula de SARS-CoV-2 purificada y marcada con fluorescencia a estas líneas celulares se cuantificó mediante citometría de flujo. Las células HeLa y 239T WT tenían las MFI más bajas, seguidas de las células Huh7 y VeroE6. Las células 293T ACE2 (la más alta), MRC 5-ACE2-TMPRSS2 (la tercera más alta), el clon 5 A549-ACE2-TMPRSS2 (la cuarta más alta) y el clon 10 A549-ACE2-TMPRSS2 (la

40 segunda más alta) tenían MFI más altas. Se determinó el análisis de correlación entre el potencial de neutralización máximo de unión de las espículas de S309; los valores de correlación Spearman de S309 fueron: $r = -0,94$ para ambos modelos virales. $p = 0,017$.

Para caracterizar aún más las líneas celulares sensibles al SARS-CoV-2, las siete líneas celulares descritas anteriormente se incubaron con la proteína espícula de SARS-CoV-2 purificada marcada con fluorescencia o

45 proteína RBD y la unión a proteínas se cuantificó mediante citometría de flujo. En orden descendente de MFI,

las líneas celulares fueron: A549-ACE2-TMPRSS2 clon 10; 293T ACE2; MRC 5-ACE2-TMPRSS2; A549-ACE2-TMPRSS2 clon 5; Vero E6; Huh7; 293T (wt); y HeLa.

5 Las lectinas seleccionadas y los candidatos a receptores publicados se examinaron utilizando células HEK293T infectadas con pseudovirus SARS-CoV-2 VSV. ACE2, DC-SIGN, L-SIGN y SIGLEC-1 dieron las señales más altas. ACE2 proporcionó una señal de aproximadamente 10^5 unidades de luminiscencia relativa (RLU) y DC-SIGN, SIGLEC-1 y L-SIGN tenían señales de aproximadamente 10^4 RLU. Todas las demás lectinas/candidatas probadas dieron señales de aproximadamente 10^2 - 10^3 RLU.

10 Las células HEK 293T, HeLa y MRC5 se transdujeron transitoriamente para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC1 o ACE2 y se infectaron con pseudovirus SARS-CoV-2 VSV. Como control se incluyeron células no infectadas y células no transducidas. Las células HEK293T, ACE2, DC-SIGN, SIGLEC-1 y L-SIGN proporcionaron aumentos sustanciales de la infección. En las células HeLa y MRC5, solo ACE2 aumentó la infección.

15 Las líneas celulares HEK293T estables que sobreexpresan DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2 se infectaron con SARS-CoV-2 auténtico (MOI 0.1), se fijaron y se inmunotifieron a las 24 horas para la nucleoproteína SARS-CoV-2. Se usaron células de tipo salvaje (infectadas y no infectadas) como controles. Se observó una mayor tinción en las células que sobreexpresaban DC-SIGN, L-SIGN o SIGLEC-1 y la tinción aumentó significativamente en las células que sobreexpresaban ACE2.

20 Las líneas celulares estables se infectaron con SARS-CoV-2-Nluc y se cuantificaron los niveles de luciferasa a las 24 horas. En orden ascendente de RLU: no infectado (aprox. 10^2 - 10^3 RLU); parental 293T (aprox. 10^4 RLU); DC-SIGN (aprox. 10^5 RLU); L-SIGN (aprox. 10^5 RLU); SIGLEC-1 (aprox. 10^5 - 10^6 RLU); ACE2 ($>10^7$ RLU).

25 Las líneas celulares estables se incubaron con diferentes concentraciones de mAb anti-SIGLEC1 (clon 7-239) y se infectaron con SARS-CoV-2 -Nluc. La infección como porcentaje de células no tratadas permaneció cerca de superar el 100 % en células 293T que expresan DC-SIGN, L-SIGN o ACE2, pero cayó por debajo del 50 % (0,2 µg/ml anti-SIGLEC) a cerca de 0 (1 µg /ml o 5 µg/ml anti-SIGLEC) en células 293T que expresan SIGLEC-1.

Se determinaron los niveles de expresión de células individuales de posibles candidatos a (co)receptores de SARS-CoV-2 seleccionados en diferentes tipos de células pulmonares derivados del Human Lung Cell Atlas ([nature.com/articles/s41586-020-2922-4](https://www.nature.com/articles/s41586-020-2922-4)). DC-SIGN, L-SIGN y SIGLEC-1 se expresan en una variedad de tipos de células en el pulmón a niveles similares o incluso superiores a ACE2.

30 La unión de anticuerpos dirigidos a DC-/L-SIGN, DC-SIGN, SIGLEC1 o ACE2 en células HEK293T que sobreexpresan de forma estable el receptor de unión respectivo se analizó mediante citometría de flujo y análisis de inmunofluorescencia. Las células HEK 293T que sobreexpresaban los respectivos receptores de unión se infectaron con VSV seudotipado con mutaciones de espícula o espícula de tipo salvaje del SARS-CoV-2 del linaje B.1.1.7. La luminiscencia se analizó un día después de la infección. La infección aumentó en las células que expresan los receptores de unión. La infección por VSV pseudotipado con cualquiera de las espículas fue similar para cada grupo de prueba. Las células que expresaban ACE2 dieron la señal de luminiscencia más alta.

40 Se infectaron células Vero E6 diferenciadas *in vitro* moDC o PBMC con SARS-CoV-2 a una MOI de 0,01. 24 h después de la infección, las células se fijaron, se inmunotifieron para la proteína de la nucleocápside viral y se cuantificaron las células infectadas. Solo las células VeroE6 mostraron infección (aproximadamente el 7% de las células). Se tomó el sobrenadante de las células infectadas a las 24, 48 y 72 h y se cuantificó el título viral infeccioso mediante ensayo FFU en las células Vero E6.

45 Se evaluaron los principales tipos de células con genoma SARS-CoV-2 detectable en líquido de lavado broncoalveolar (BALF) y esputo de pacientes graves con COVID-19. Se generó un gráfico t-SNE y se determinó el recuento de cada tipo de célula SARS-CoV-2+ (n total = 3.085 células de 8 sujetos en Ren et al. Cell 2021). Los tipos de células fueron T, NK, plasma, neutrófilos, macrófagos, ciliadas, escamosas y secretoras. Se evaluó la expresión de ACE2, DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 y sus combinaciones para cada tipo de célula.

50 Los recuentos de transcritos de ACE2, DC-SIGN (CD209), L-SIGN (CLEC4M), SIGLEC 1 se correlacionaron con los recuentos de ARN del SARS-CoV-2 en macrófagos y células secretoras. La correlación se basó en los recuentos (antes de la transformación logarítmica) de Ren et al. Cell 2021.

En la Figura 60 se muestran datos representativos que muestran la expresión de los receptores en líneas celulares HEK293T estables. Se generaron líneas celulares para sobreexpresar DC-SIGN, L-SIGN o ACE2

mediante la transducción de células HEK293T con lentivirus que codifican el transgén y se realizaron ensayos de inmunofluorescencia para evaluar la expresión del transgén.

5 Los datos representativos que muestran la capacidad del pseudovirus VSV que expresa la proteína S del SARS-CoV-2 con indicador de luciferasa para infectar las células HEK293T (usando un ensayo de luminiscencia) se muestran en la Figura 61; la expresión de DC-SIGN o L-SIGN aumentó los niveles de infección por pseudovirus en más de 10 veces, en comparación con la infección de células WT HEK293T, y la expresión de ACE2 aumentó los niveles de infección por pseudovirus en más de 100 veces, en comparación con la infección de células WT HEK293T.

10 Se evaluó la actividad neutralizante del mAb S309 ejemplar contra el pseudovirus VSV en las células HEK293T manipuladas. Los datos se muestran en la Figura 62; S309 neutralizó completamente la infección a través de DC-SIGN y L-SIGN y, en menor medida, ACE2.

15 La capacidad del SARS-CoV-2 vivo con indicador de luciferasa para infectar las células HEK293T se examinó mediante un ensayo de luminiscencia. Los datos se muestran en la Figura 63; la expresión de DC-SIGN o L-SIGN aumentó los niveles de infección por virus vivo en más de 3 veces en comparación con la infección de células WT HEK293T y la expresión de ACE2 aumentó los niveles de infección por virus vivo en más de 100 veces en comparación con la infección de células WT HEK293T.

Se evaluó la actividad neutralizante de mAb S309 contra el pseudovirus VSV en las células HEK293T diseñadas. Los datos se muestran en la Figura 64; S309 neutralizó completamente la infección a través de DC-SIGN y L-SIGN y por ACE2 en menor medida.

20 Se realizaron experimentos para investigar si el anticuerpo S309 puede neutralizar la entrada de SARS-CoV-2 a través de SIGLEC-1. Brevemente, se generaron líneas HEK293T de células estables como se describe anteriormente para sobreexpresar DC-SIGN/L-SIGN, DC-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2. Los datos de expresión se muestran en la Figura 65. Como se muestra en la Figura 66, la expresión de DC-SIGN, L-SIGN o SIGLEC aumentó los niveles de infección por virus vivo en más de 10 veces en comparación con la infección de células WT HEK293T y la expresión de ACE2 aumentó los niveles de infección por pseudovirus en más de 100 veces en comparación con la infección de células WT HEK293T. Como se muestra en la Figura 67, S309 neutralizó completamente la infección a través de DC-SIGN, L-SIGN y SIGLEC-1.

Se determinó la expresión de DC-SIGN (CD209) y otras proteínas receptoras de la superficie celular, incluidas SIGLEC-1 y otras SIGLEC en diversos tipos celulares. Los datos se resumen en las Figuras 68A y 68B.

30 Se realizaron más experimentos para investigar las funciones de DC-SIGN, L-SIGN y SIGLEC-1 en la infección por SARS-CoV-2. En un conjunto de experimentos, las células HEK293T que expresaban de forma estable DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2 se infectaron con SARS-CoV-2 Nluc vivo en tres multiplicidades de infección (MOI) diferentes: 0,01, 0,1 y 1. La infección se determinó utilizando unidades de luminiscencia relativa y se comparó con la infección en células HEK293T (parentales). Los datos se muestran en la Figura 69. En el MOI más bajo ensayado, se observó un aumento de la infección en las células que expresaban DC-SIGN, L-SIGN o SIGLEC. En el MOI más alto ensayado, la infección no aumentó más frente a la parental por la expresión de DC-SIGN, L-SIGN o SIGLEC. Estos datos indican que las células 293T parentales son susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 y L-SIGN, DC-SIGN y SIGLEC-1 aumentan los niveles de infección pero no funcionan como receptores primarios de la infección.

40 En otro conjunto de experimentos, se transdujeron transitoriamente células 293T, células HeLa y células MRC5 con lentivirus que codifican DC-SIGN, L-SIGN, SIGLEC-1 o ACE2 y se infectaron con pseudovirus VSV tres días después de la transducción. Los datos se muestran en la Figura 70. Mientras que las células 293T mostraron un bajo nivel de susceptibilidad (comparar las no infectadas con las no transducidas), las células HeLa y MRC5 fueron completamente refractarias al virus. El bajo nivel de infección en las células 293T puede incrementarse mediante la expresión de L-SIGN, DC-SIGN o SIGLEC-1, de acuerdo con el papel de estas proteínas como factores de unión. Las células HeLa y MRC5 permanecieron refractarias a la infección incluso después de la expresión de L-SIGN, DC-SIGN o SIGLEC-1, y solo se volvieron susceptibles después de la expresión de ACE2. Estos datos indican que L-SIGN, DC-SIGN y SIGLEC-1 no son receptores primarios del SARS-CoV-2.

50 Ejemplo 38: Eficacia *in vivo* del anticuerpo S309

Se investigó la eficacia de S309 en hámsters sirios. Este modelo animal representa hasta la fecha el modelo más relevante de infección por SARS-CoV-2 que no requiere sobreexpresión *in vivo* de ACE2 para apoyar la infección productiva y la enfermedad. La administración profiláctica de S309 indujo una protección dependiente de la dosis contra la infección por SARS-CoV-2 y el daño tisular en hámsteres, como lo demuestran los niveles

de ARN viral, la carga viral y la puntuación histopatológica en los pulmones (Fig. 73A-7C). Estos datos indican que la neutralización deficiente e incompleta de la entrada por parte de S309 *in vitro* cuando se utilizan células que sobreexpresan ACE2 no comprometía la eficacia *in vivo* de los mAb no RBM.

- 5 El S309 que porta la mutación N297A tiene una capacidad reducida para desencadenar funciones efectoras como consecuencia de la disminución de la participación en los receptores Fcγ. Esto se confirmó además por la unión reducida de la variante S309-N297A a los monocitos de hámster en el bazo. La eficacia *in vivo* medida con el mAb N297A es similar o ligeramente inferior a la del S309 wt, lo que sugiere que la capacidad de neutralización del mAb prevalece sobre su capacidad de función efectora en estas condiciones. La concentración sérica de S309 requerida para reducir el ARN viral en el pulmón en un 90 % fue de 9 µg/ml, Fig. 73D.

Ejemplo 39: Actividad de los anticuerpos contra las variantes del SARS-CoV-2

Han surgido varias variantes del SARS-CoV-2, con un número creciente de infecciones por variantes informadas a fines de 2020. El motivo de unión al receptor (RBM) parece ser particularmente variable a la mutación. Se han observado variantes emergentes notables en Escocia, el Reino Unido, Sudáfrica, California, Columbus y en visones en Dinamarca, y se ha informado que algunas mutaciones confieren escape de anticuerpos o neutralización del suero. Se realizaron experimentos para evaluar la capacidad de los anticuerpos S309 de neutralizar variantes. S309 N55Q MLNS (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168; con mutaciones M428L y N434S Fc) se ensayó contra SARS-CoV-2 con un panel de las 20 variantes mutacionales de RBD de SARS-CoV-2 más frecuentes, determinadas por lecturas de secuencia. Los anticuerpos REGN10933 y REGN10987 (Hansen et al., Science 369(6506):1010-1014; eabd0827-0810 (2020) y PDB 6XDG (rcsb.org/structure/6XDG)) se incluyeron con fines comparativos. Los resultados se resumen en la Tabla 13.

Y = disminución de menos de tres veces en la neutralización de virus o pseudovirus vivos;

N = disminución de más de tres veces en la neutralización de virus o pseudovirus vivos;

P = se predice la neutralización por el anticuerpo debido a que el aminoácido variante está fuera del epítipo;

? = desconocido.

Tabla 13. Resumen de neutralización por anticuerpos contra variantes del SARS CoV-2

Variante mutación	S309 N55Q MLNS	REGN10933	REGN10987
N501Y (UK, mutante Sudáfrica y Brasil)	Y	Y	Y
S477N	Y	Y	Y
N439K (mutante escocés)	Y	Y	N
L452R (mutante California)	Y	P	P
E484K (mutante Sudáfrica y Brasil)	Y	N	Y
Y453F (mutante de visión)	Y	N	N
			(disminución 4x)
A520S	Y	Y	Y
K417N (mutante Sudáfrica)	Y	N	Y
	(K417N/V)		(K417N/E/V)
S494P	Y	N	P
S477R	P	?	P
V367F	Y	Y	Y
P384L	Y	P	P
A522S	Y	P	P
A522V	Y	P	P
V382L	Y	P	P
N501T	Y	P	P
P330S	Y	P	P
T478I	Y	?	P
S477I	Y	?	P
P479S	Y	P	P

Y = disminución de menos de tres veces en la neutralización de virus o pseudovirus vivos;

N = disminución de más de tres veces en la neutralización de virus o pseudovirus vivos;

P = se predice la neutralización por el anticuerpo debido a que el aminoácido variante está fuera del epítipo;

? = desconocido.

Los recuentos totales de mutantes secuenciados de SARS-CoV-2 que se sabe que escapan de los anticuerpos (a 29 de enero de 2021) eran: S309 N55Q MLNS = 29; REG10987 = 10.425; REG10933 = 3.621.

5 Se evaluó la unión de los anticuerpos S309 a los RBD variantes del SARS-CoV-2 por BLI. Se evaluaron las mutaciones S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) con Fc de tipo salvaje y S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168) portando MLNS o MLNS + GAALIE Fc. REGN10987 y REGN10933 se incluyeron como comparadores. Brevemente, los anticuerpos se diluyeron en tampón kinetics a 3 µg/ml y se cargaron en sensores de proteína A durante 75 segundos. Después de un breve paso de equilibrio en tampón kinetics, los sensores cargados se movieron en pocillos que contenían las variantes de RBD a 5 µg/ml en tampón kinetics y se registró la asociación durante 3 minutos. La disociación del complejo se realizó en tampón kinetics durante 3 minutos. Los datos se muestran en las Figuras 71A-71B; "WT" = Wuhan-Hu-1 con D614G; "Triple mutante" en la fila inferior = Wuhan-Hu-1 con D614G y se agregó la variante de Sudáfrica B.1.351 RBD mutaciones K417N, E484K y N501Y. Otras mutaciones presentes en la variante de Sudáfrica B.1.351 no estaban presentes en el RBD "SA" analizado.

10 La neutralización de los anticuerpos S309 contra las variantes del SARS-CoV-2 se evaluó utilizando pseudovirus MLV y células diana Vero-E6 que expresan TMPRSS2. Se evaluaron las mutaciones S309 (VH: SEQ ID NO.:105; VL: SEQ ID NO.:168) con Fc de tipo salvaje y S309 N55Q (VH: SEQ ID NO.:113; VL: SEQ ID NO.:168) que lleva MLNS o MLNS + GAALIE Fc. También se evaluaron REGN10987, REGN10933 y la combinación de REGN10987 + REGN10933. Los datos se muestran en la Figura 72. "WT" = Wuhan-Hu-1; "Reino Unido" = SARS-CoV-2 variante B.1.1.7; y "SA" = variante B.1.351.

20

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad (CDR)H1 mostrada en la SEQ ID NO.:106, la secuencia de aminoácidos CDRH2 mostrada en la SEQ ID NO.:121 y la secuencia de aminoácidos CDRH3 mostrada en la SEQ ID NO.:108 y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos CDRL1 mostrada en la SEQ ID NO.:169, la secuencia de aminoácidos CDRL2 mostrada en la SEQ ID NO.:170 y la secuencia de aminoácidos CDRL3 mostrada en la SEQ ID NO.:171, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse a un la glicoproteína de superficie (S) de SARS-CoV-2.
2. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, que es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2:
 - (i) en un modelo de infección *in vitro*;
 - (ii) en un modelo animal de infección *in vivo*; o
 - (iii) cualquier combinación de (i)-(ii).
3. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1 o 2, donde:
 - (i) la VH comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113; y/o
 - (ii) la VL comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:168.
4. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde:
 - (i) la VH comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113; y/o
 - (ii) la VL comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:168.
5. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde:
 - (i) la VH comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113; y/o
 - (ii) la VL comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:168.
6. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde VH comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113 y VL comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la expuesta en la SEQ ID NO.:168.
7. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que:
 - (i) es capaz de unirse a la glicoproteína de superficie (S) del SARS-CoV-2 con mayor avidez que a una proteína S del coronavirus SARS;
 - (ii) tiene reactividad cruzada contra el SARS-CoV-2 y el coronavirus SARS;
 - (iii) reconoce un epítipo en la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 que no se encuentra en RBM ACE2 RBM; o
 - (iv) cualquier combinación de (i)-(iii).
8. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que es un isotipo IgG, IgA, IgM, IgE o IgD, y es preferiblemente un isotipo IgG seleccionado entre IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.
9. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-8:
 - (i) que es humano, humanizado o quimérico;

- (ii) donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende un anticuerpo humano, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo purificado, un anticuerpo de cadena sencilla, un Fab, un Fab', un F(ab')₂, un Fv, un scFv o un scFab; y/o
- (iii) donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo multiespecífico o un fragmento de unión a antígeno donde, opcionalmente, el fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo biespecífico o un fragmento de unión a antígeno.
10. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende además un polipéptido Fc o un fragmento del mismo.
11. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 10, donde el polipéptido Fc o su fragmento comprende:
- (1) una mutación que mejora la unión a un FcRn en comparación con un polipéptido Fc de referencia que no comprende la mutación, donde, opcionalmente, la mutación que mejora la unión a un FcRn comprende M428L, N434S, N434H, N434A, N434S, M252Y, S254T, T256E, T250Q, P257I, Q311I, D376V, T307A, E380A, o cualquier combinación de los mismos, donde, además, opcionalmente, la mutación que mejora la unión a un FcRn comprende: (i) M428L/N434S; (ii) M252Y/S254T/T256E; (iii) T250Q/M428L; (iv) P257I/Q311I; (v) P257I/N434H; (vi) D376V/N434H; (vii) T307A/E380A/N434A o (viii) cualquier combinación de (i)-(vii); y/o
- (2) una mutación que mejora la unión a un FcγR en comparación con un polipéptido Fc de referencia que no comprende la mutación, donde, opcionalmente, la mutación que mejora la unión a un FcγR comprende S239D, I332E, A330L, G236A, o cualquier combinación de los mismos, donde, además, opcionalmente, la mutación que potencia la unión a un FcγR comprende: (i) S239D/I332E; (ii) S239D/A330L/I332E; (iii) G236A/S239D/I332E; o (iv) G236A/A330L/I332E.
12. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 11, donde la mutación que mejora la unión a un FcRn comprende M428L/N434S y/o la mutación que mejora la unión a un FcγR comprende G236A/A330L/I332E.
13. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende:
- (i) un CH1-CH3 que tiene un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la SEQ ID NO.:173 o 175; y/o
- (ii) una CL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO.:174.
14. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende una mutación que altera la glicosilación del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno, donde la mutación que altera la glicosilación del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno comprende N297A, N297Q o N297G, y/o donde el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno está aglicosilado y/o afucosilado.
15. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a una glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 con una KD de menos de $4,5 \times 10^{-9}$ M, menos de 5×10^{-9} M, menos de 1×10^{-10} M, menos de 5×10^{-10} M, menos de 1×10^{-11} M, menos de 5×10^{-11} M o menos de 1×10^{-12} M, tal como se mide por interferometría de biocapa, donde, opcionalmente, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se une a la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 con una KD inferior a 1×10^{-12} M, medida mediante interferometría de biocapa.
16. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de inducir una citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o una fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) contra un célula diana infectada por un SARS-CoV-2, donde, opcionalmente, la ADCC inductora activar una célula asesina natural que comprende una variante V158 FcγRIIIa, una célula asesina natural que comprende una variante F158 FcγRIIIa o ambas, y/o la célula inductora ADCP comprende acoplar un FcγRIIIa expresado en la superficie de una célula fagocítica, tal como un monocito, un macrófago o una célula dendrítica.

17. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de neutralizar la infección por SARS-CoV-2 y no compete con ACE2 humano por unirse a la glicoproteína de superficie de SARS-CoV-2.
- 5 18. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, que es capaz de unirse a la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 cuando la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 está comprendida en un trímero de prefusión.
19. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, que es capaz de unirse a un dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2 cuando el RBD está glicosilado y/o cuando el RBD está desglucosilado, donde la unión se determina usando resonancia de plasmón superficial (SPR), en el que:
- 10 (1) la SPR se realiza usando un instrumento Biacore T200 usando un enfoque cinético de ciclo único, además opcionalmente con un período de inyección de 3 minutos y un período de disociación de 20 minutos;
- (2) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se captura en una superficie;
- 15 (3) el RBD está presente en una concentración de 0,8 nM, 3,1 nM, 12,5 nM, 50 nM o 200 nM;
- (4) el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une al RBD glicosilado con una KD de 2,0 nM, 1,9 nM, 1,8 nM, 1,7 nM, 1,6 nM, 1,5 nM, 1,4 nM, 1,3 nM, 1,2 nM, 1,1 nM, 1,0 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM o 0,4 nM, o con una KD de 0,4 nM $\pm$ 0,05 nM, o con una KD de 0,45 nM $\pm$ 0,05 nM, o con una KD de 0,5 nM $\pm$ 0,05 nM, o con una KD de 0,6 nM $\pm$ 0,05 nM, o con una KD de 0,7 nM $\pm$ 0,05 nM o con una KD de 1,7 nM $\pm$ 0,05 nM ; y/o
- 20 (5) el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une al RBD desglucosilado con una KD de 1,6 nM, 1,5 nM, 1,4 nM, 1,3 nM, 1,2 nM, 1,1 nM, 1,0.
20. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, que es capaz de neutralizar una infección por SARS-CoV-2 en una célula de pulmón humano, donde, opcionalmente, la célula de pulmón humano comprende una célula Calu-3, donde, además opcionalmente, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno tiene una IC50 de neutralización de aproximadamente 97 ng/ml.
- 25 21. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, que es capaz de unirse a un componente del complemento humano C1q, donde, opcionalmente, la unión al C1q se determina usando interferometría de biocapa (BLI), tal como usando un instrumento Octet.
- 30 22. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, que es capaz de inhibir la fusión célula-célula mediada por glicoproteínas de superficie de SARS-CoV-2.
23. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que no provoca una mejora mediada por anticuerpos de la replicación del SARS-CoV-2 en una célula mononuclear de sangre periférica (PBMC) derivada de un donante humano o una célula dendrítica.
- 35 24. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, que es capaz de inhibir una interacción entre:
- (i) SARS-CoV-2 y un DC-SIGN humano;
- (ii) SARS-CoV-2 y un L-SIGN humano;
- (iii) SARS-CoV-2 y un SIGLEC-1 humano; o
- 40 (iv) cualquier combinación de (i)-(iii).
25. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, que es capaz de unirse a una glicoproteína de superficie de:
- (i) un SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (SEQ ID NO.:165);
- (ii) un SARS-CoV-2 B.1.1.7;
- 45 (iii) un SARS-CoV-2 B.1.351;
- (iv) un SARS-CoV-2 que comprende una o más de cualquiera de las siguientes mutaciones de sustitución relativas a la SEQ ID NO.:165: N501Y; S477N; N439K; L452R; E484K; Y453F; A520S; K417N; K417V; S494P; N501T; S477R; V367F; P384L; A522S; A522V; V382L; P330S; T478I; S477I; P479S; o
- (v) cualquier combinación de (i)-(iv).

26. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-25, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es capaz de neutralizar la infección por SARS-CoV-2 con una IC50 de 3,0 nM, 3,1 nM, 3,2 nM, 3,3 nM, 3,4 nM, 3,5 nM, 3,6 nM, 3,7 nM, 3,8 nM, 3,9 nM o 4,0 nM.
27. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, que comprende:
- 5 (i) una cadena pesada que comprende (i)(1) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113 y (i)(2) un CH1-CH3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:173; y
- 10 (ii) una cadena ligera que comprende (ii)(1) una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.: 168 y (ii)(2) una CL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.: 174.
28. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, que comprende:
- 15 (i) una cadena pesada que comprende (i)(1) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:113, y (i)(2) un CH1-CH3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:175; y
- (ii) una cadena ligera que comprende (ii)(1) una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:168, y (ii)(2) una CL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:174.
29. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, que comprende un CH1-CH3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO.:265 o
- 20 266.

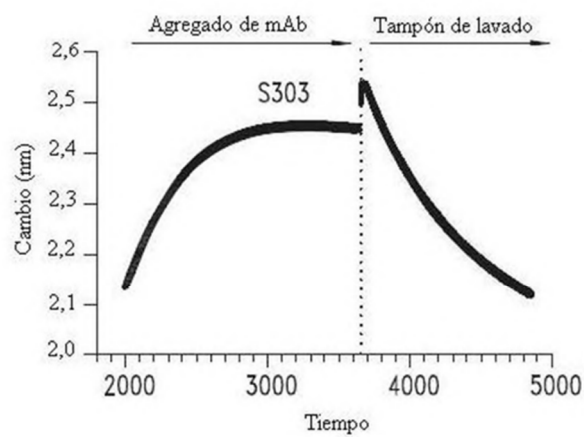


FIG. 1A

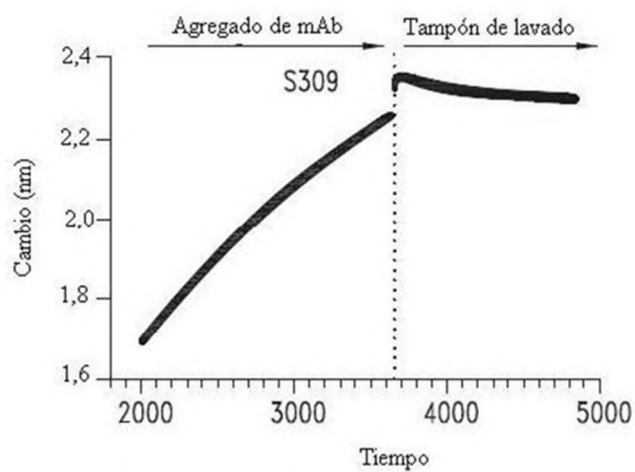


FIG. 1B

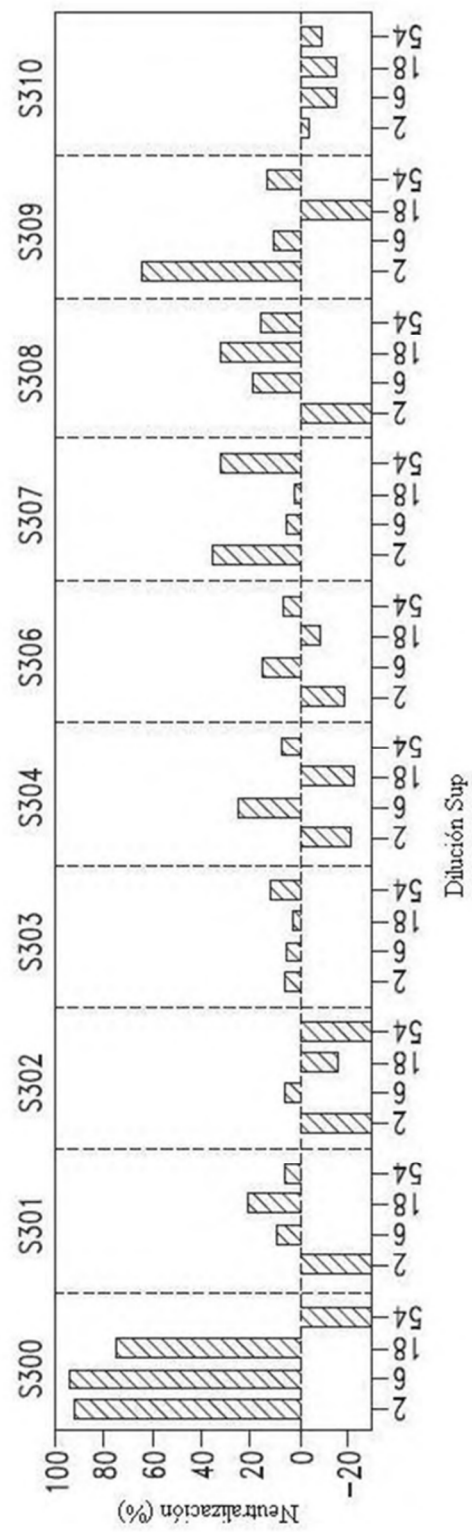


FIG. 2A

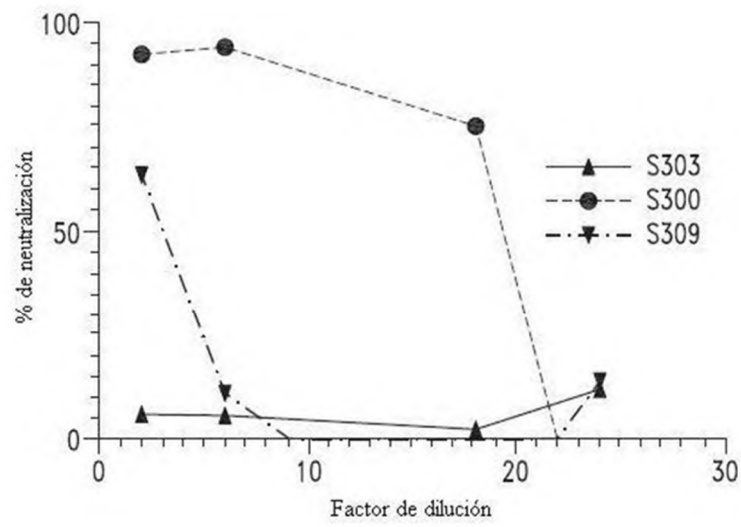


FIG. 2B

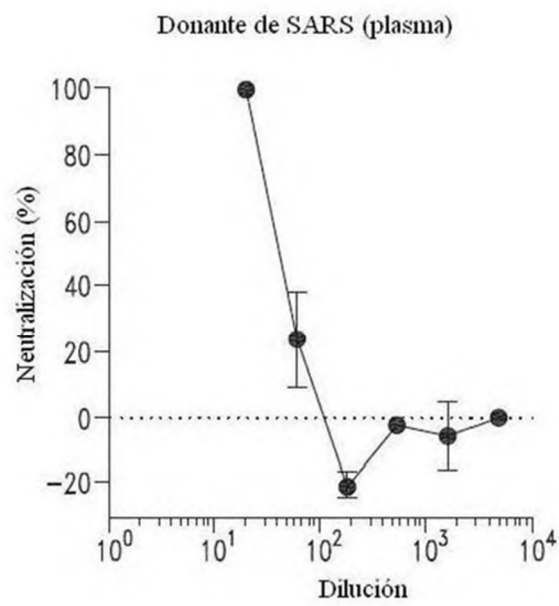


FIG. 3A

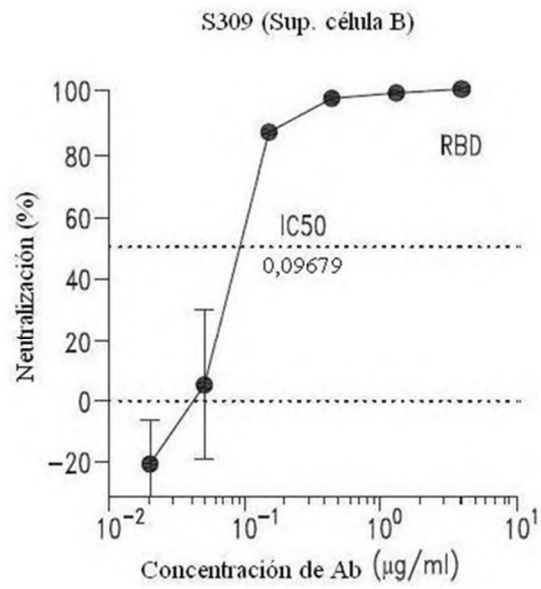


FIG. 3B

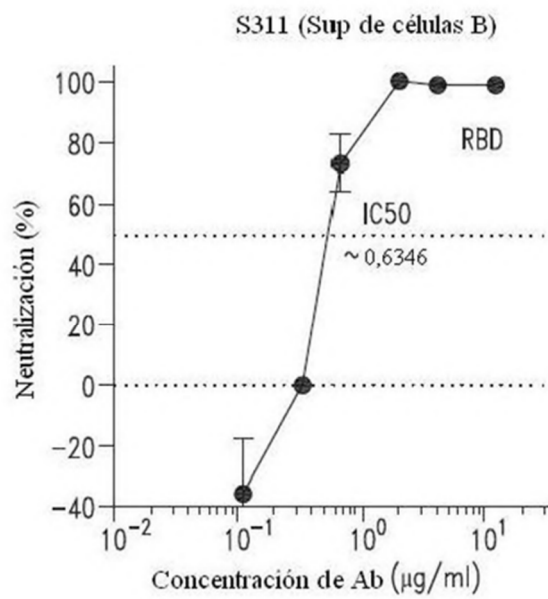


FIG. 3C

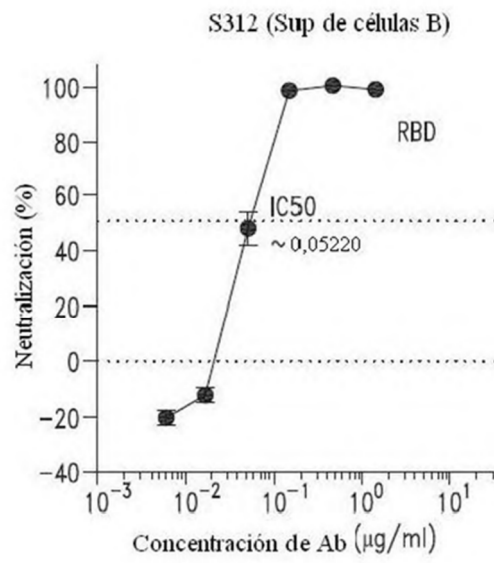


FIG. 3D

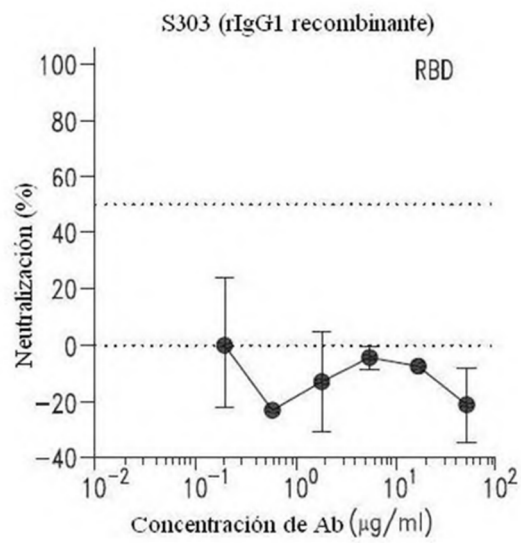


FIG. 3E

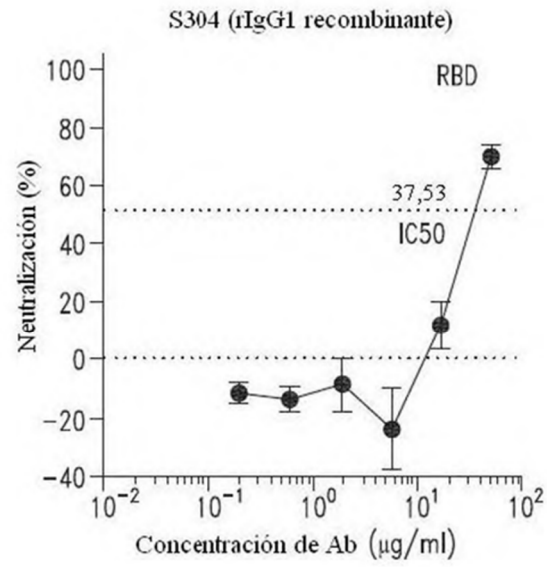


FIG. 3F

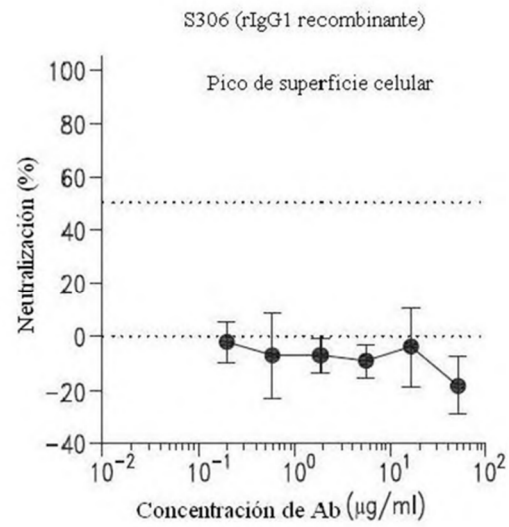


FIG. 3G

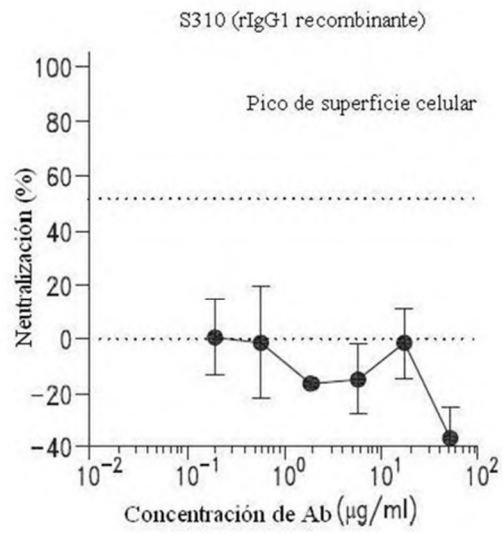


FIG. 3H

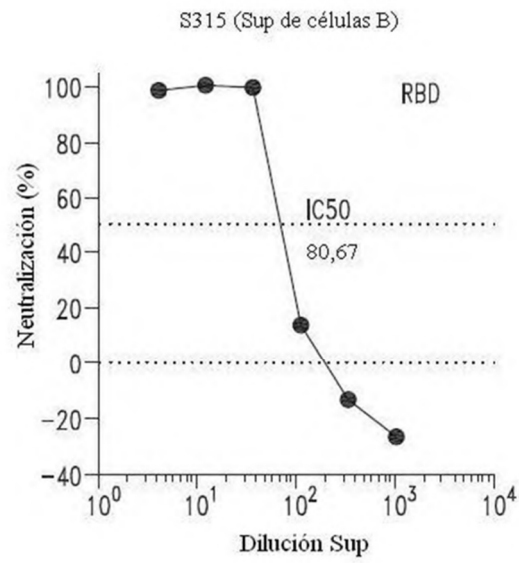


FIG. 3I

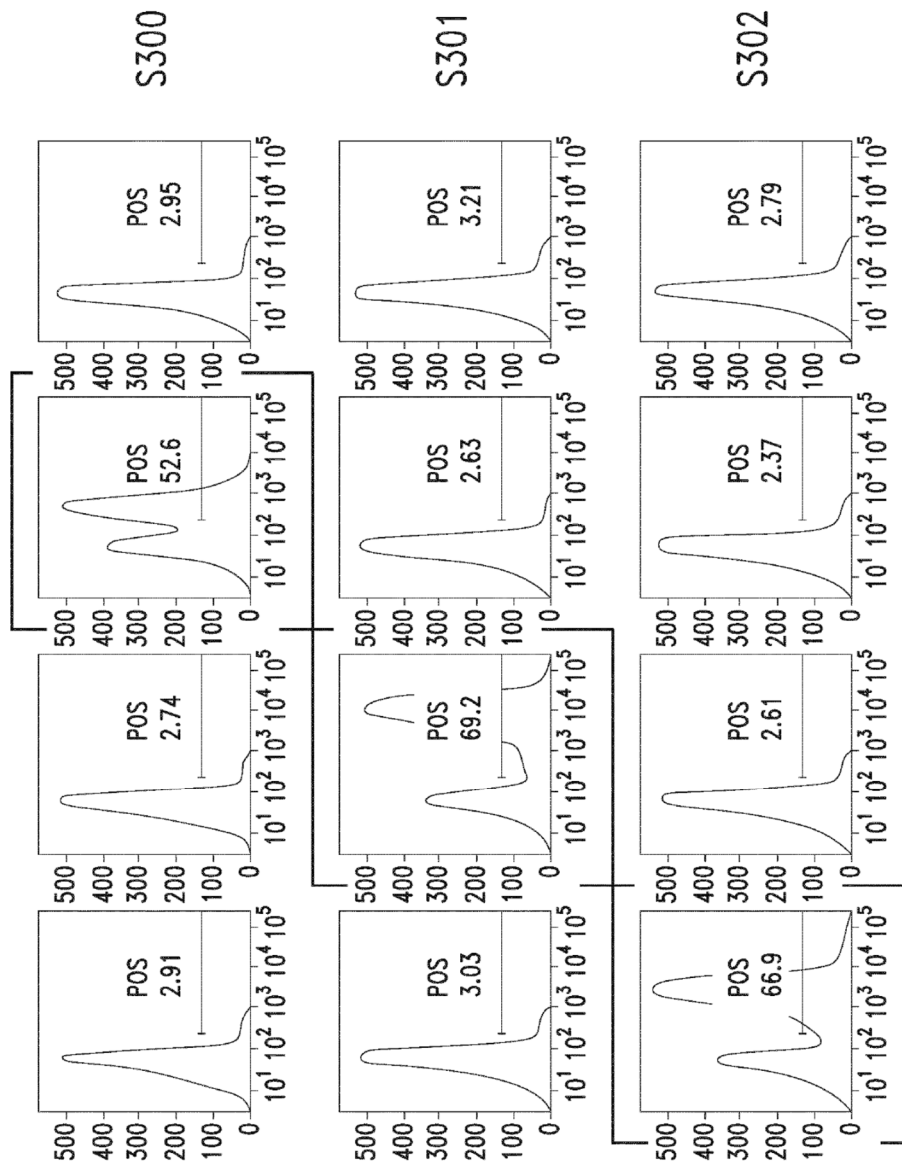


FIG. 4A (1)

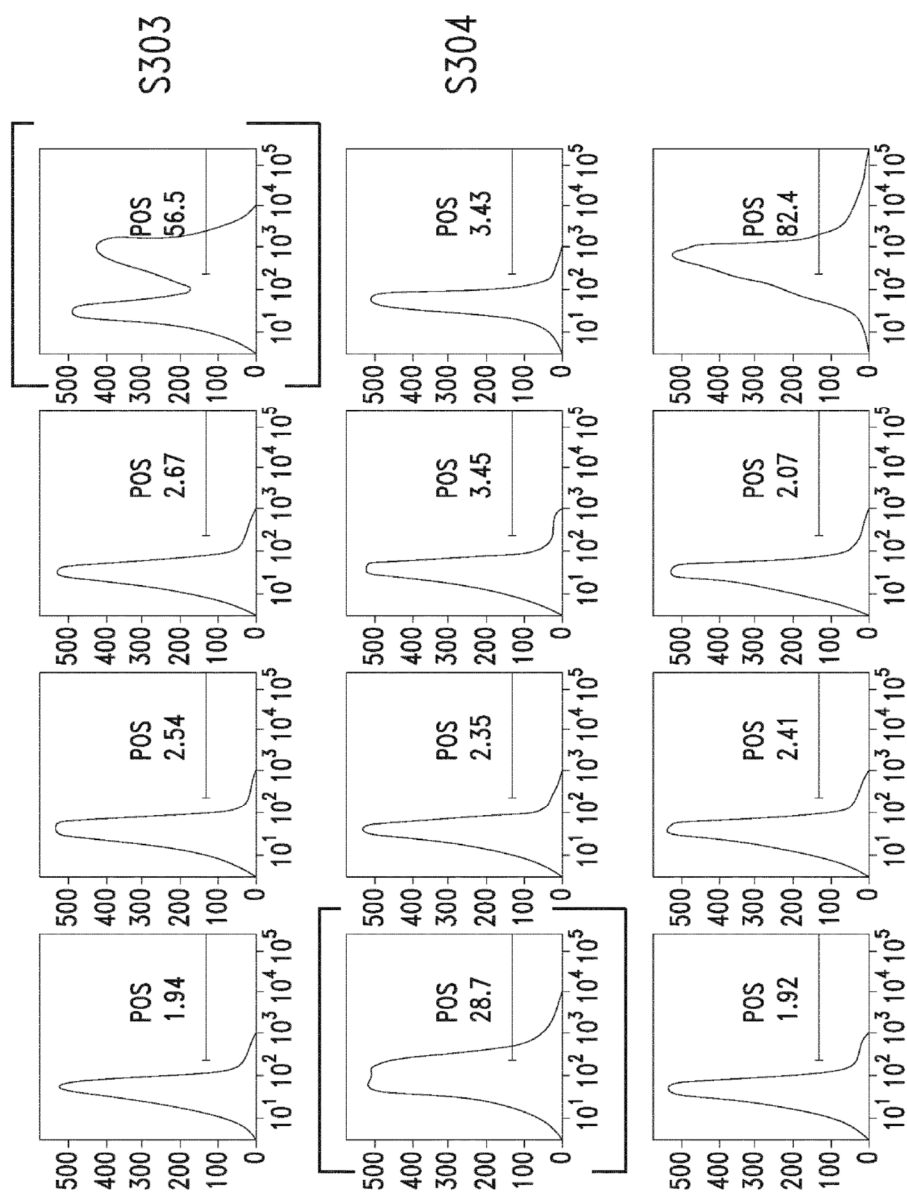


FIG. 4A (2)

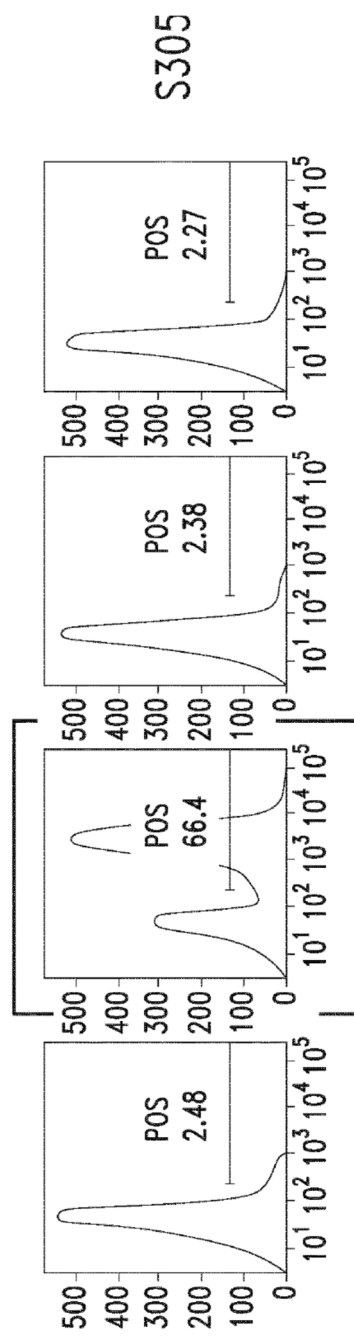


FIG. 4A(3)

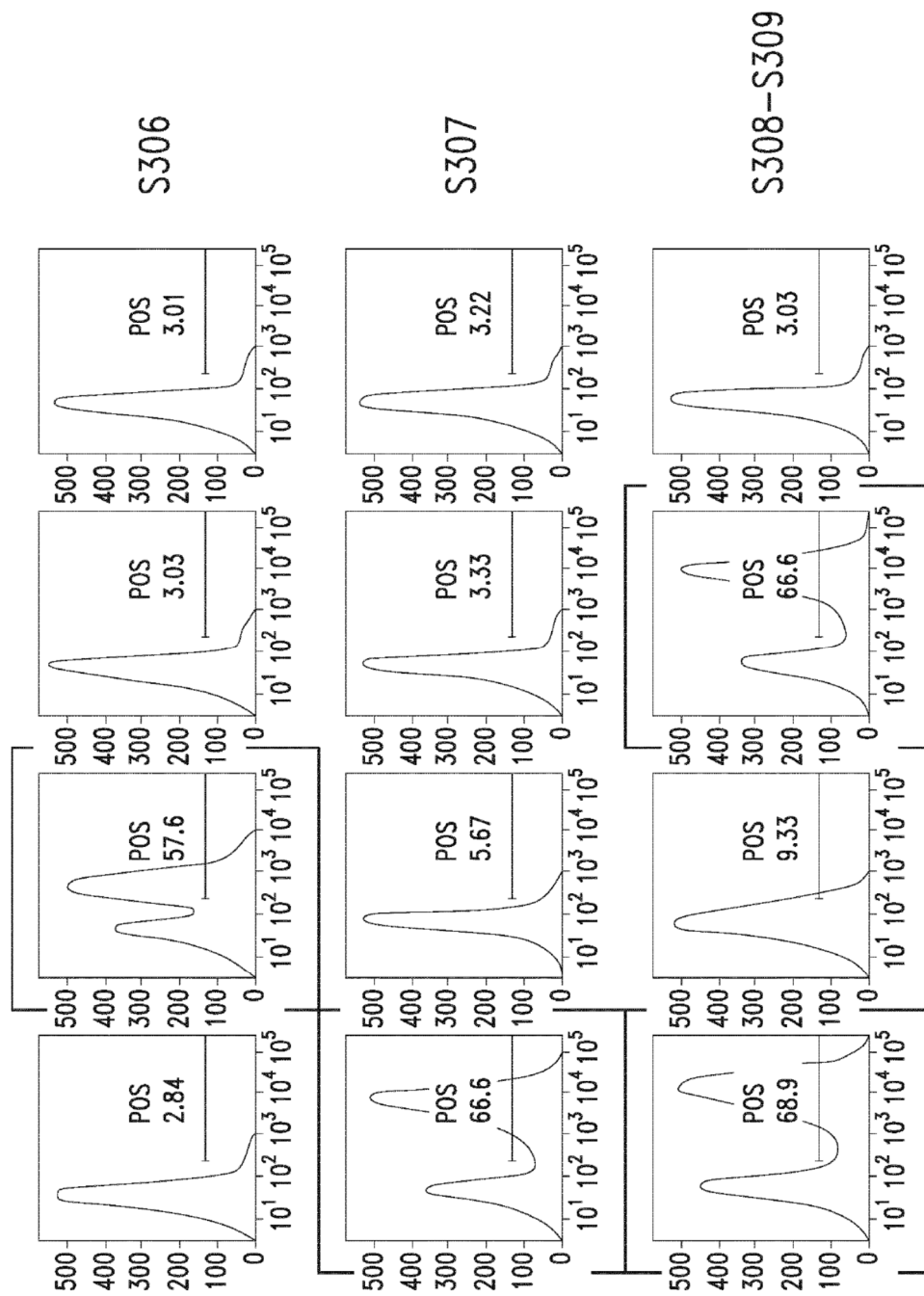


FIG. 4B(1)

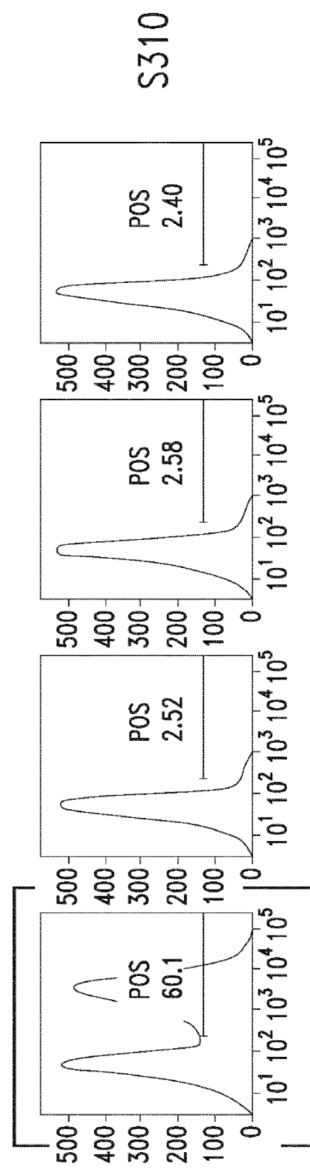


FIG. 4B(2)

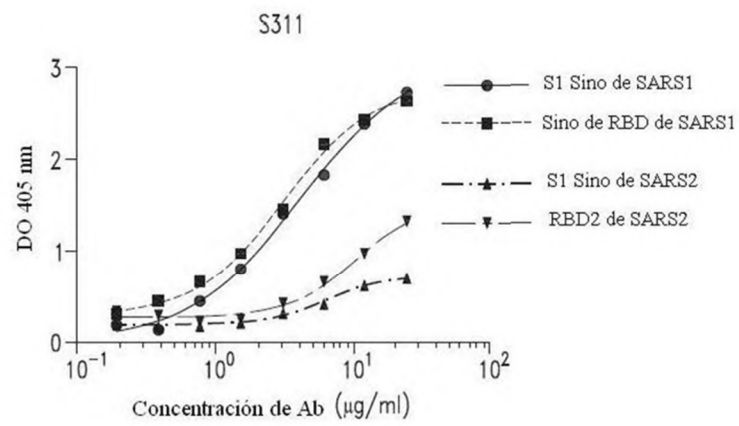


FIG. 5A

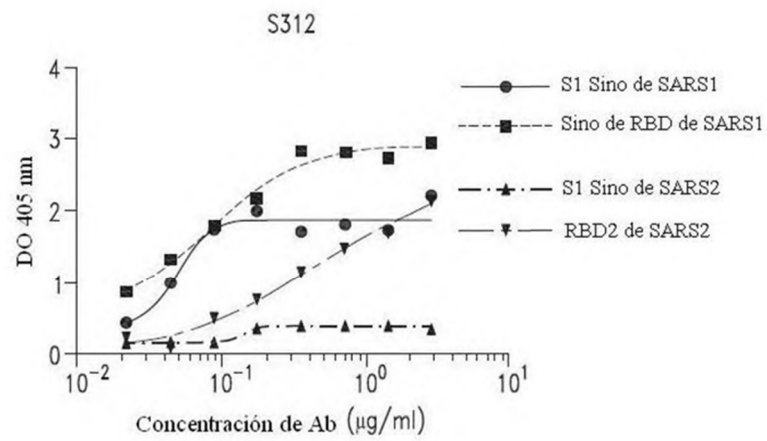


FIG. 5B

S309: asociación RBD de espícula de SARS

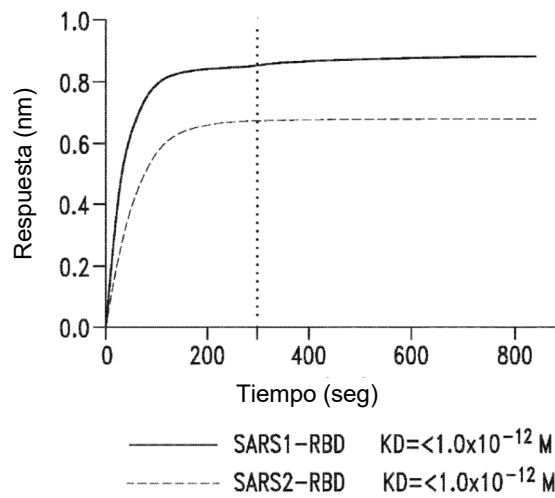


FIG. 6A

S303: asociación RBD de espícula de SARS

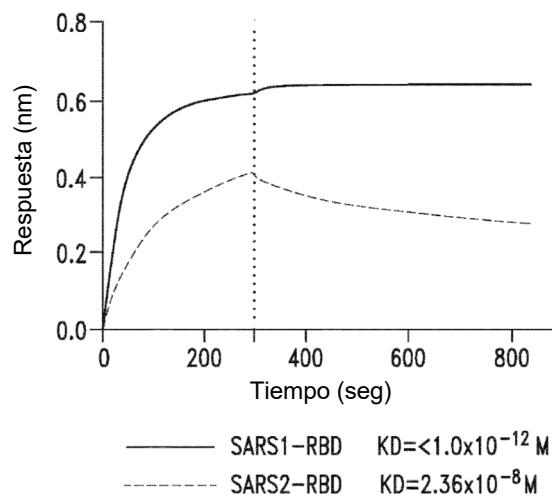


FIG. 6B

S304: asociación RBD de espícula de SARS

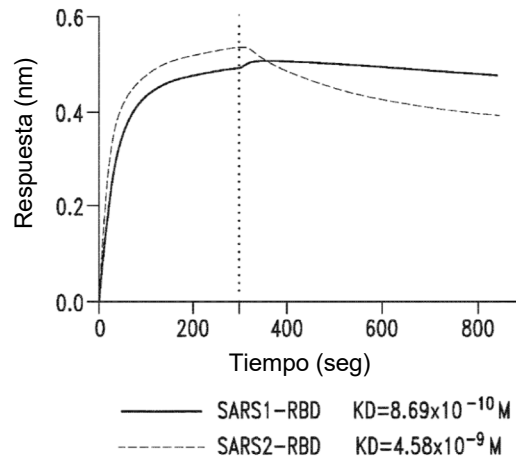


FIG. 6C

S303: asociación RBD de espícula de SARS

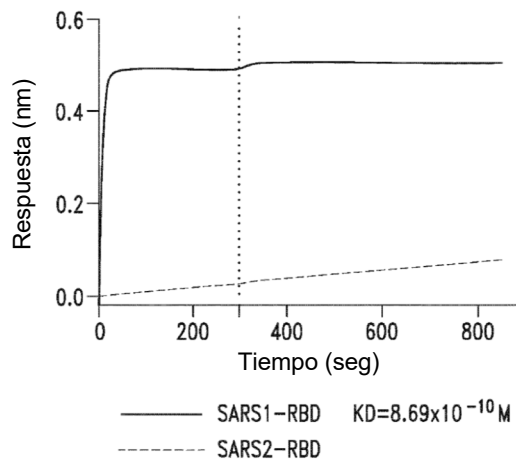


FIG. 6D

S109: asociación RBD de espícula de SARS

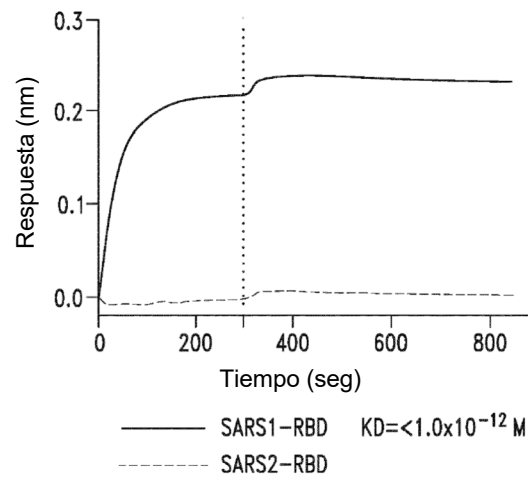


FIG. 6E

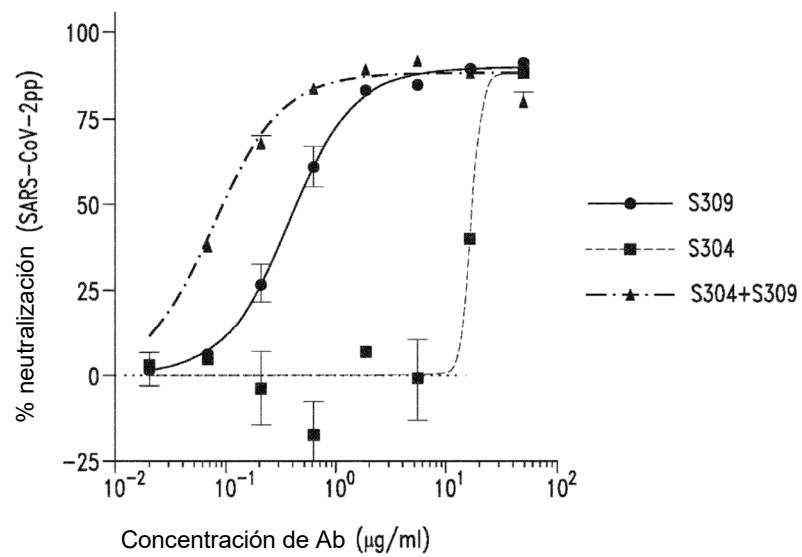


FIG. 7

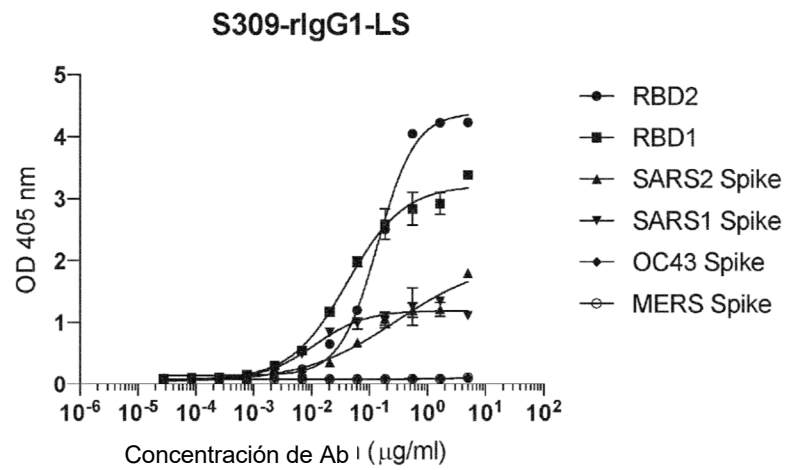


FIG. 8A

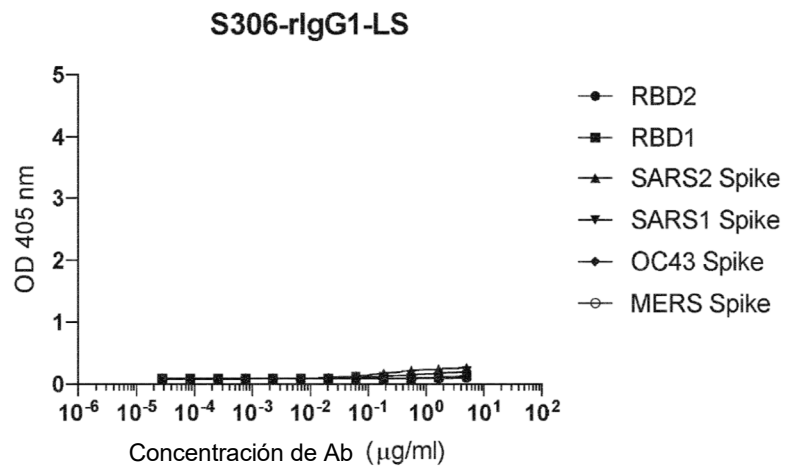


FIG. 8B

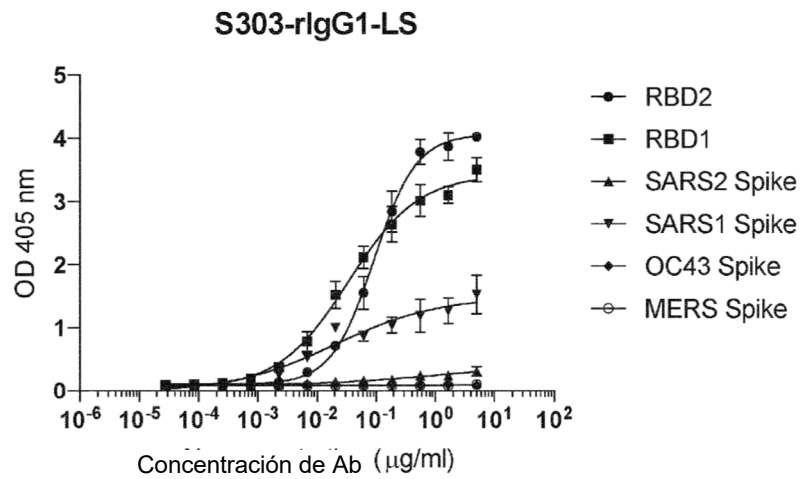


FIG. 8C

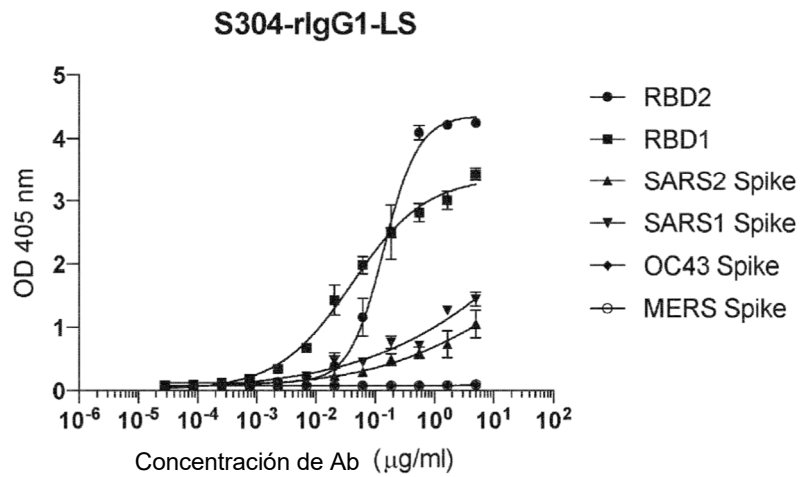


FIG. 8D

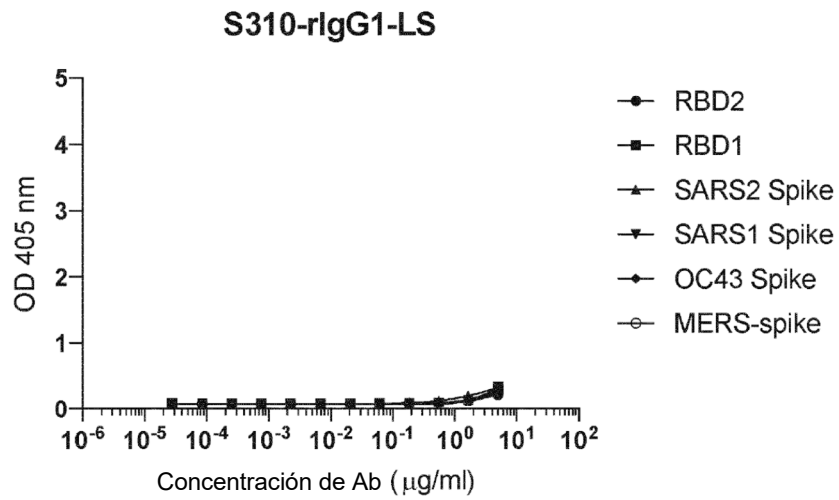


FIG. 8E

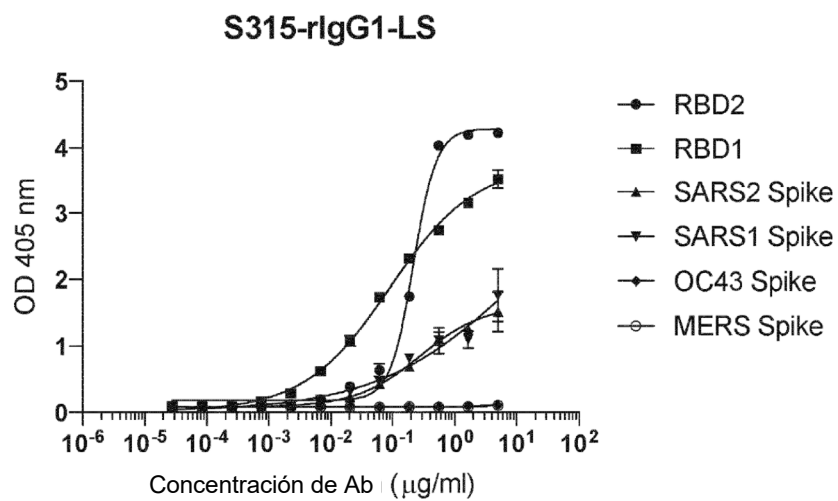


FIG. 8F

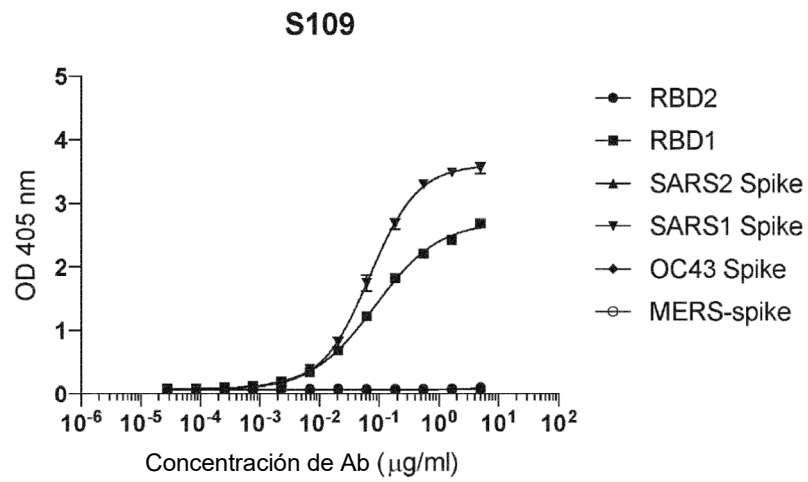


FIG. 8G

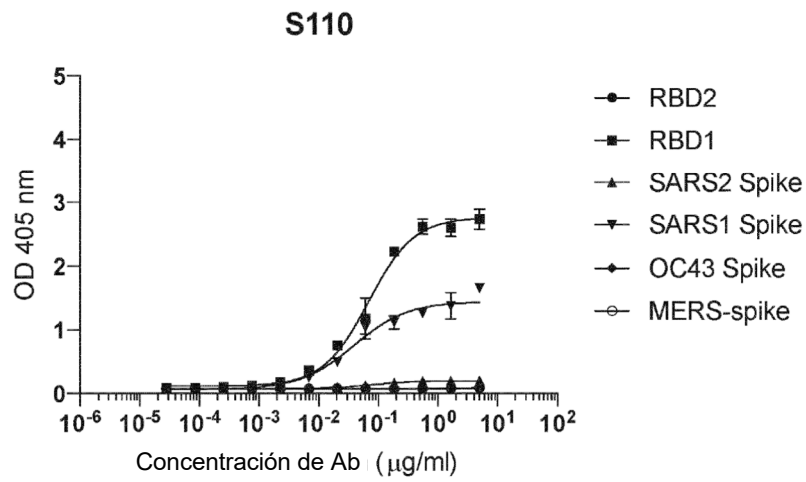


FIG. 8H

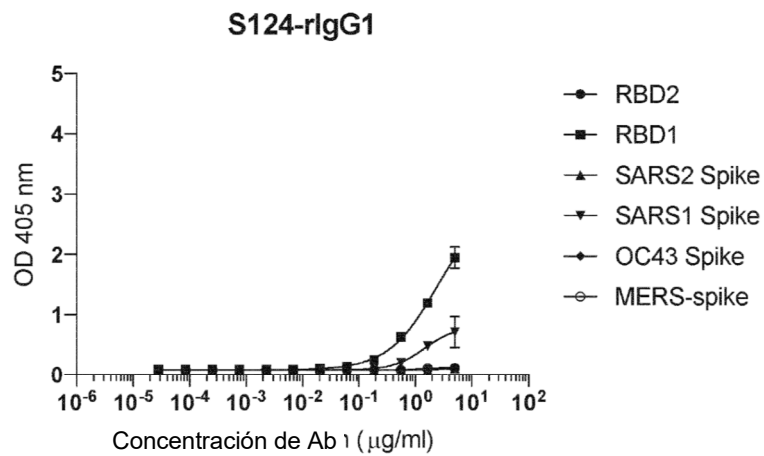


FIG. 8I

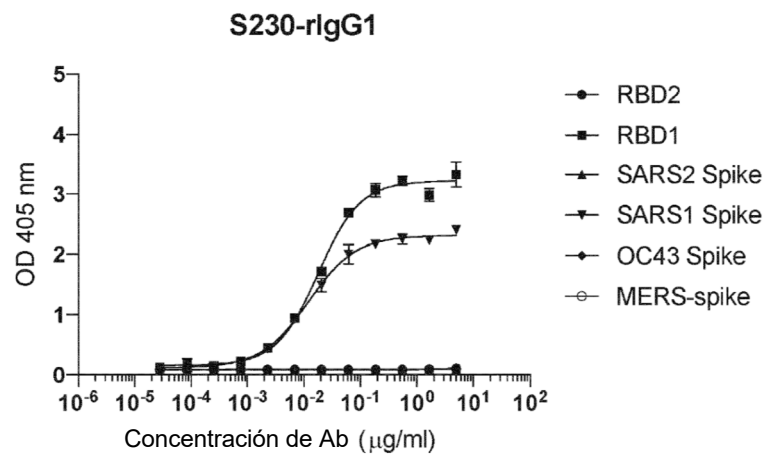


FIG. 8J

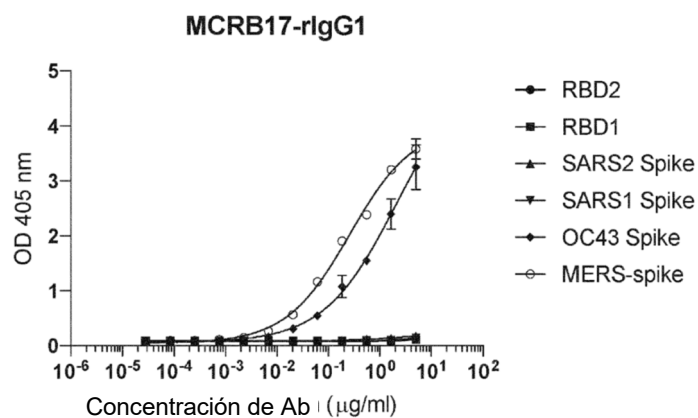


FIG. 8K

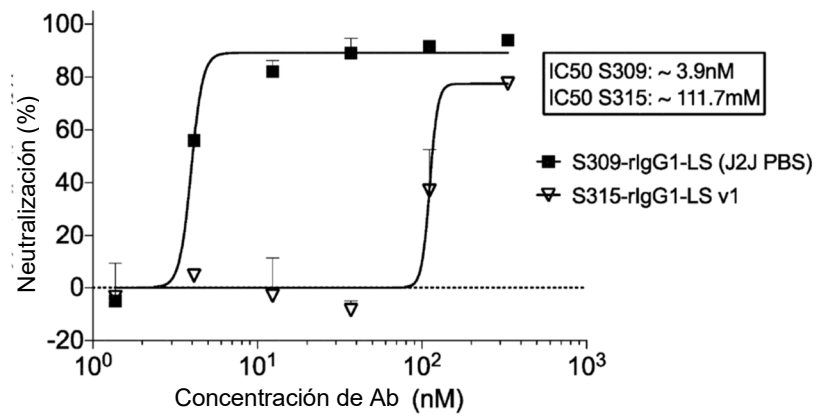


FIG. 9

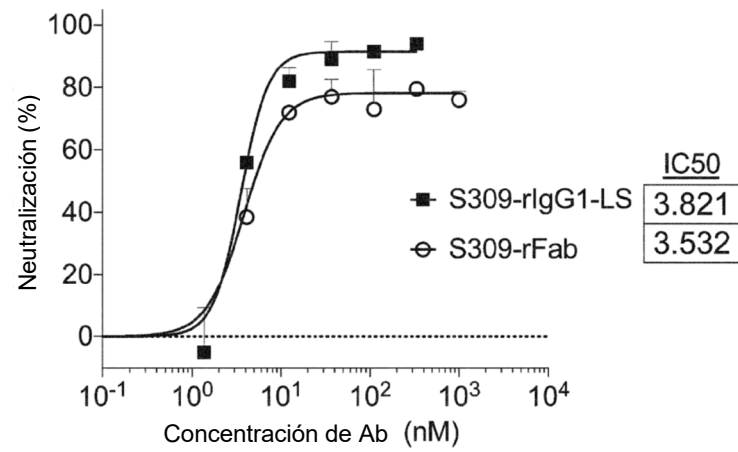


FIG. 10

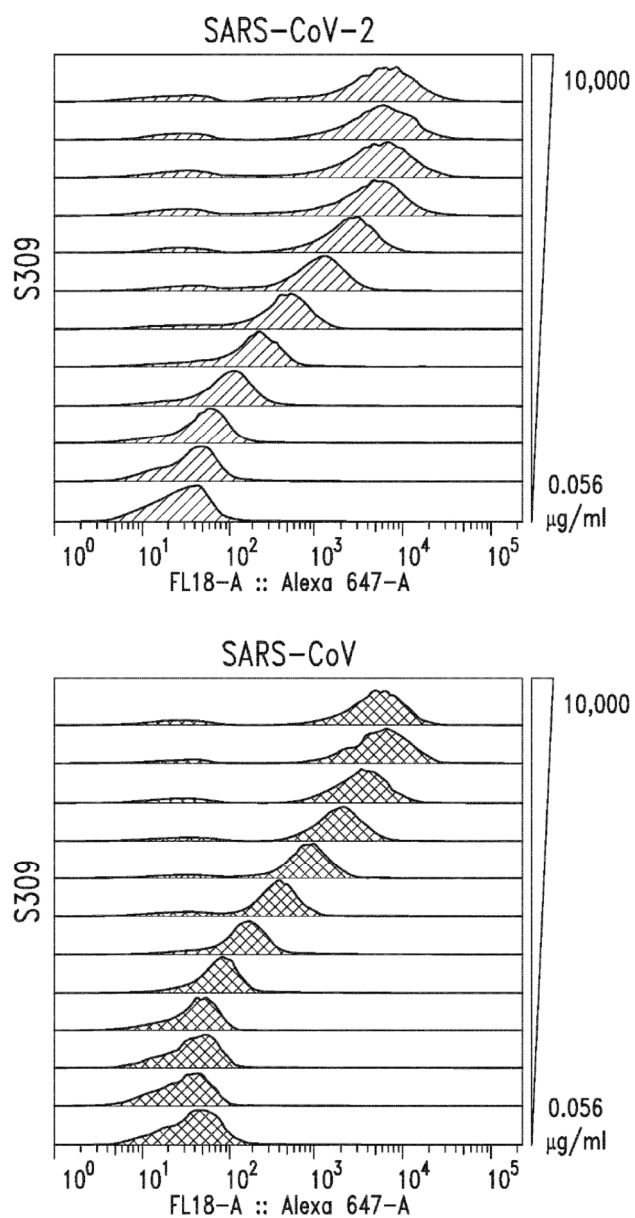


FIG. 11

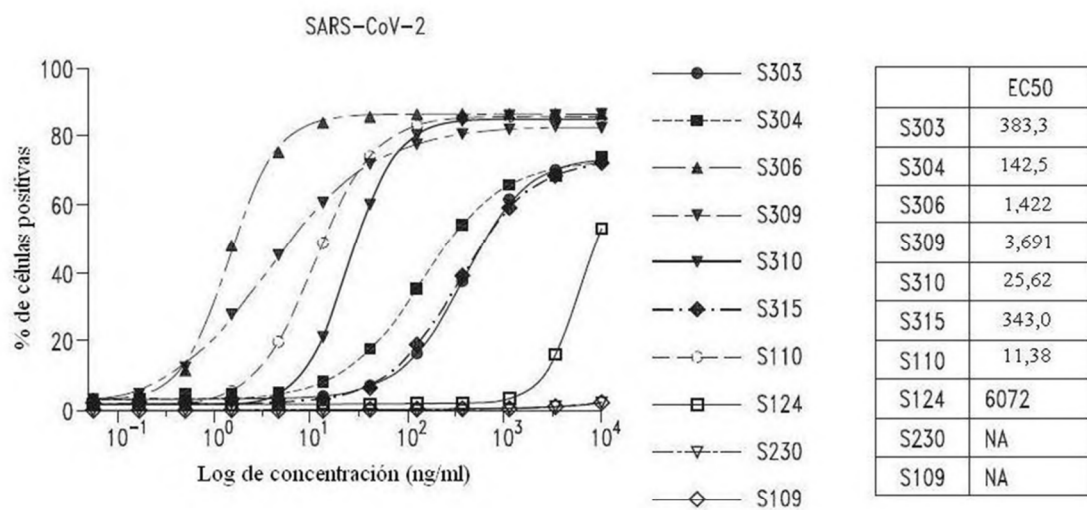


FIG. 12A

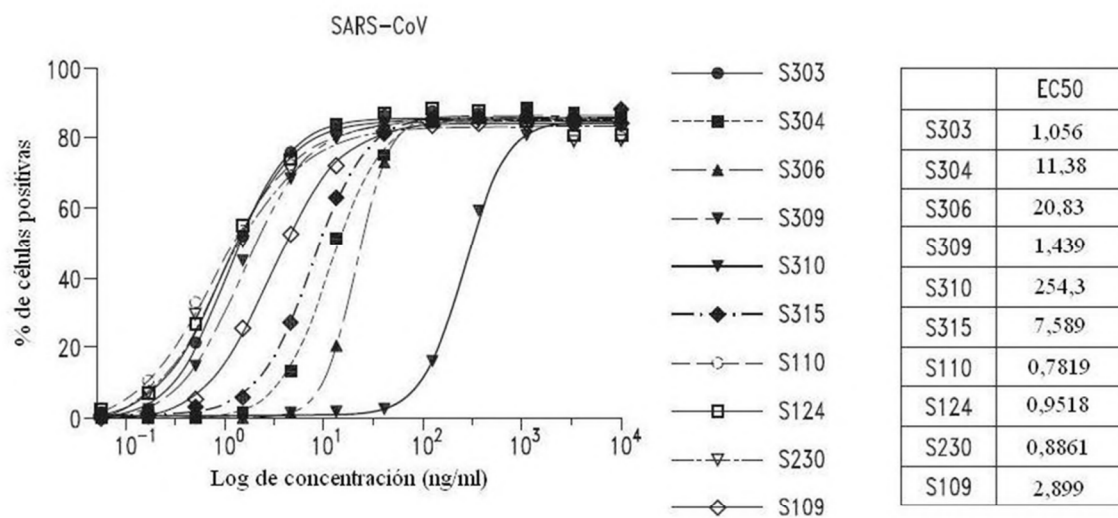


FIG. 12B

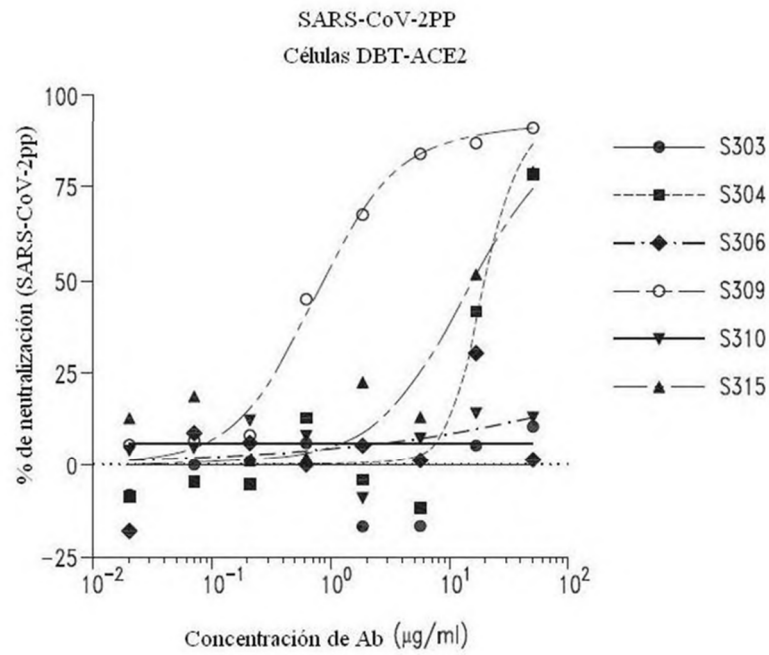


FIG. 13

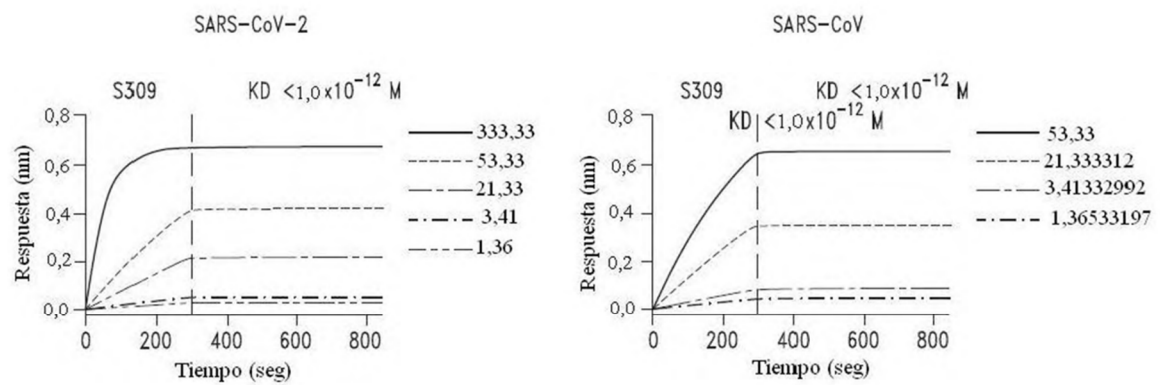


FIG. 14A

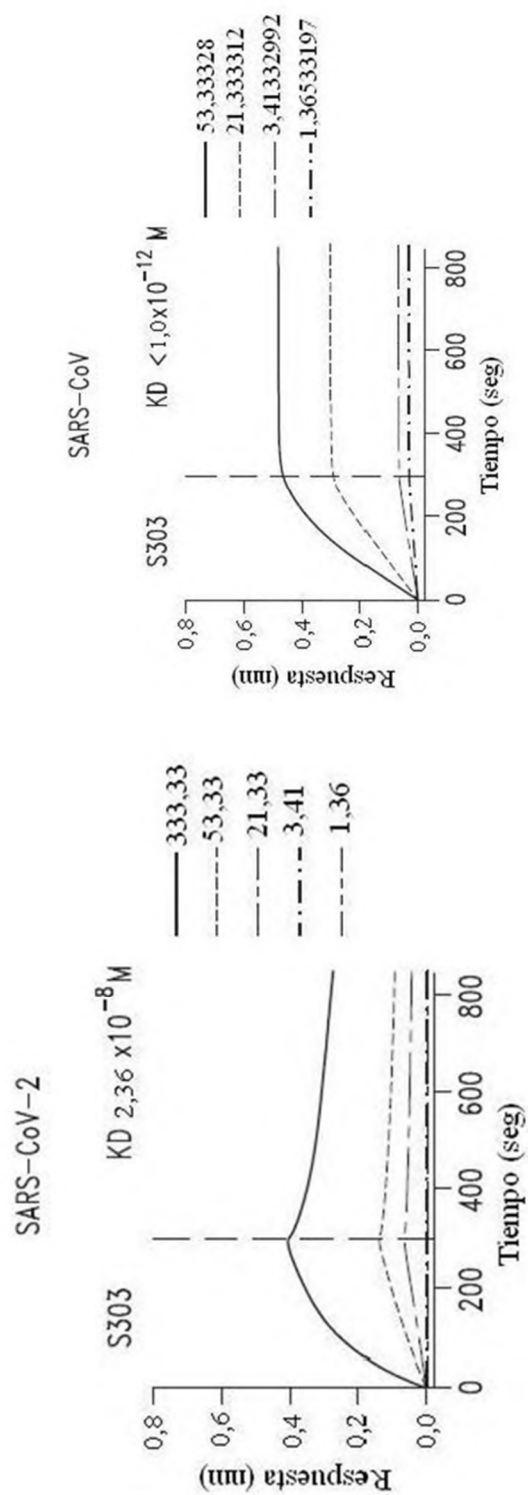


FIG. 14B

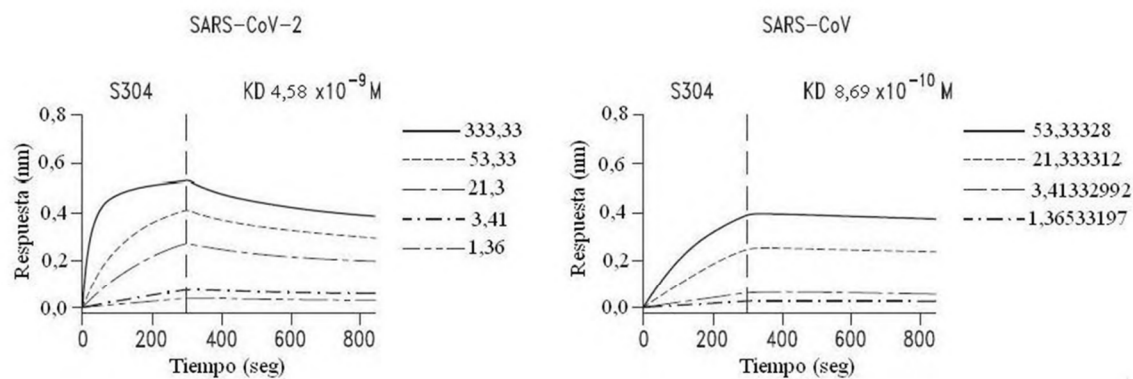


FIG. 14C

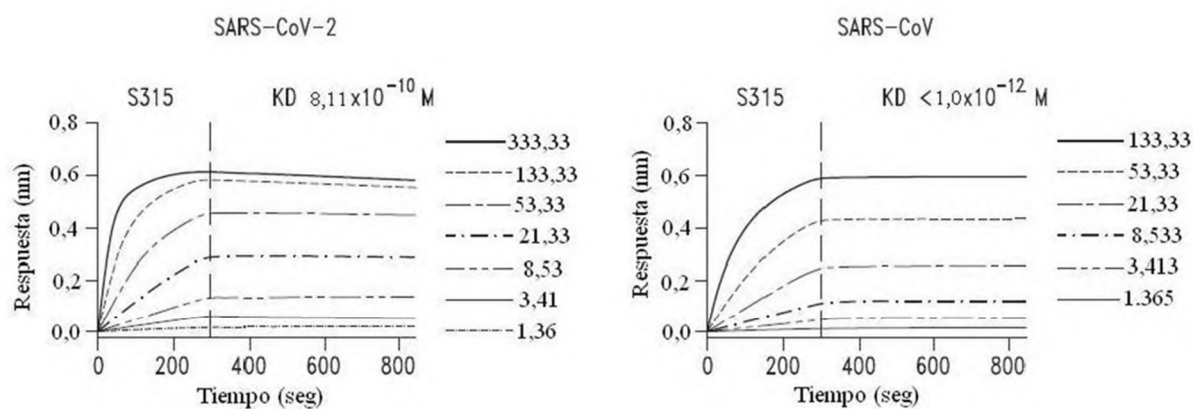


FIG. 14D

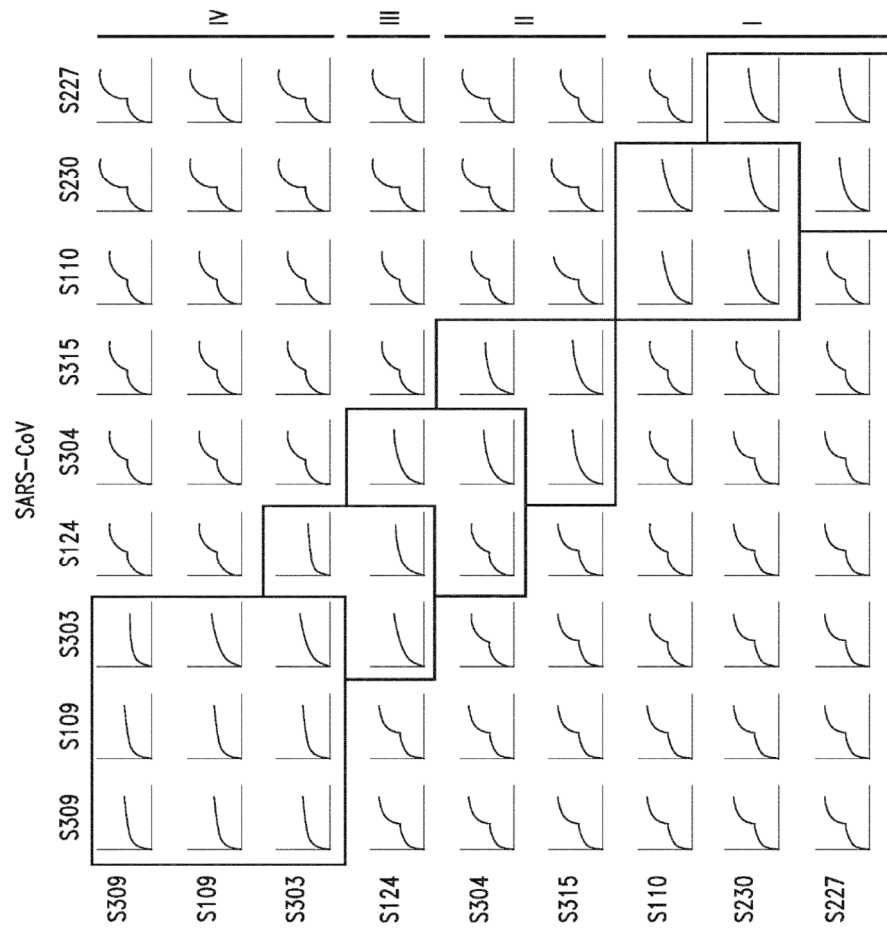


FIG. 15A

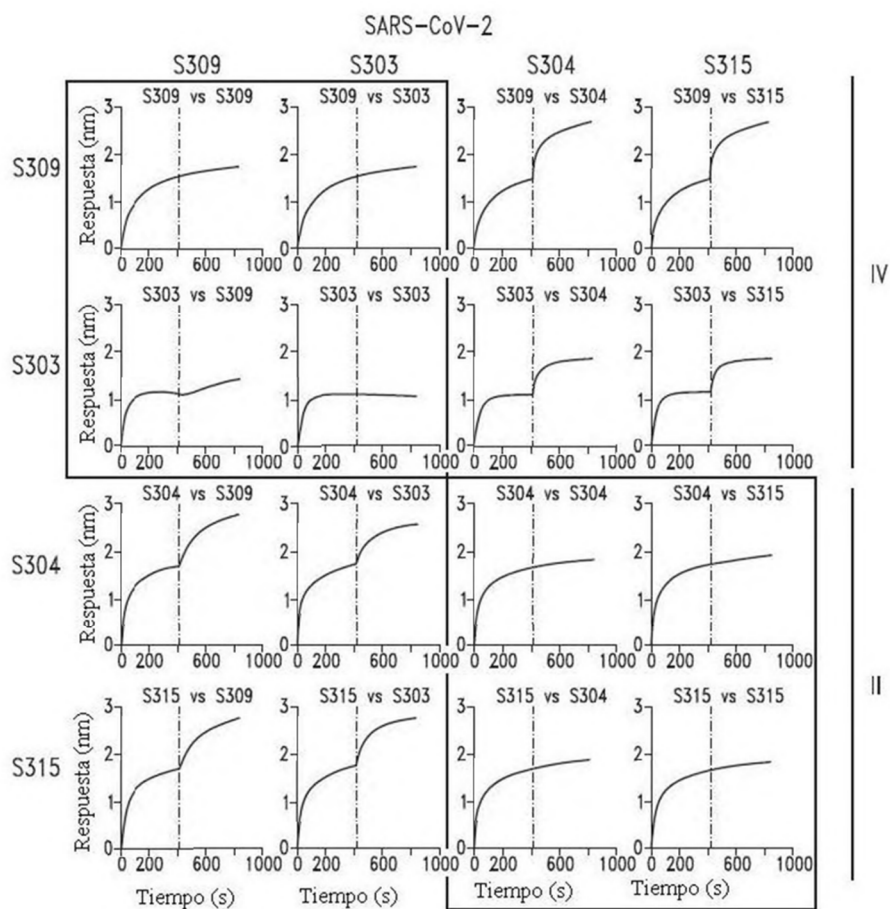


FIG. 15B

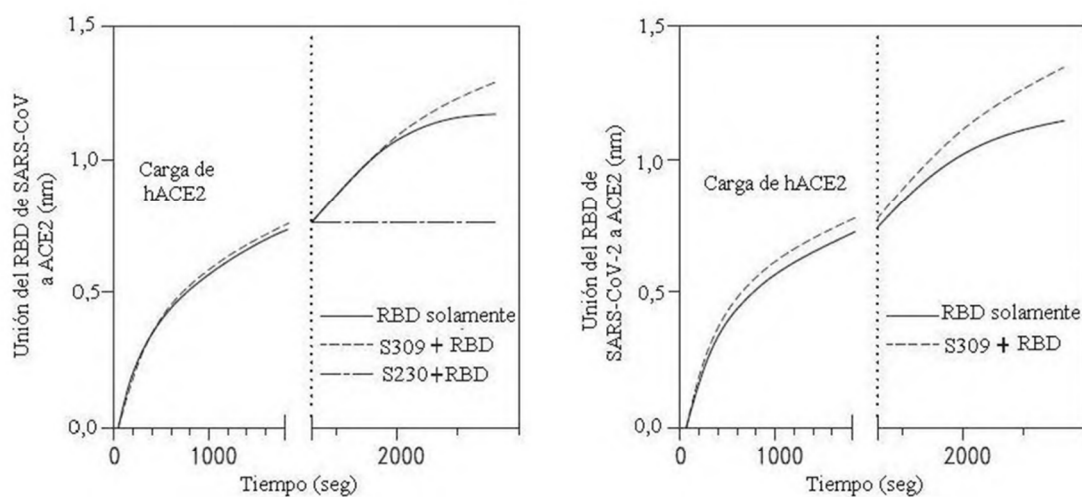


FIG. 16

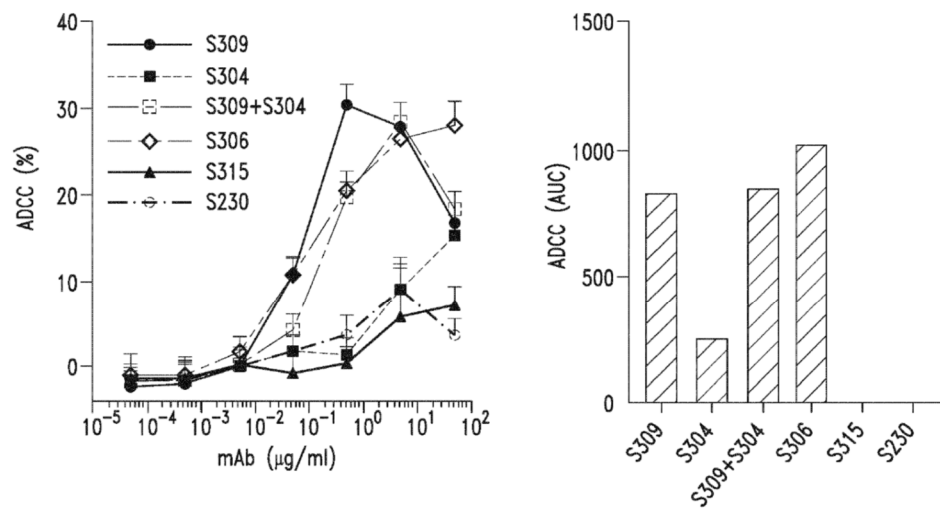


FIG. 17A

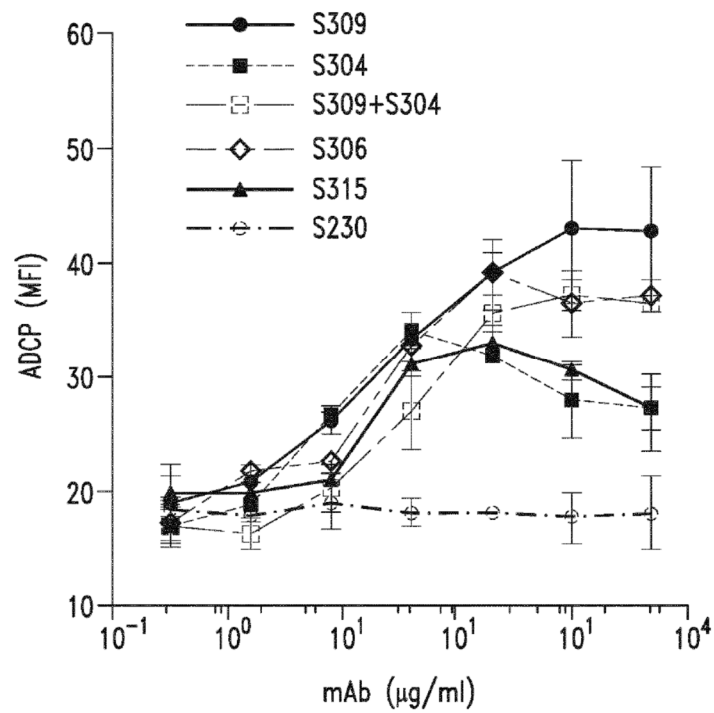


Fig. 17B

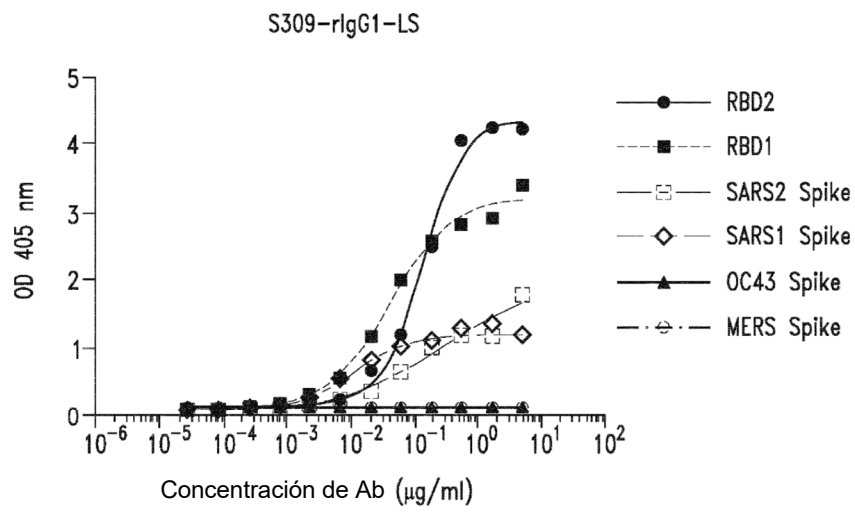


FIG. 18A

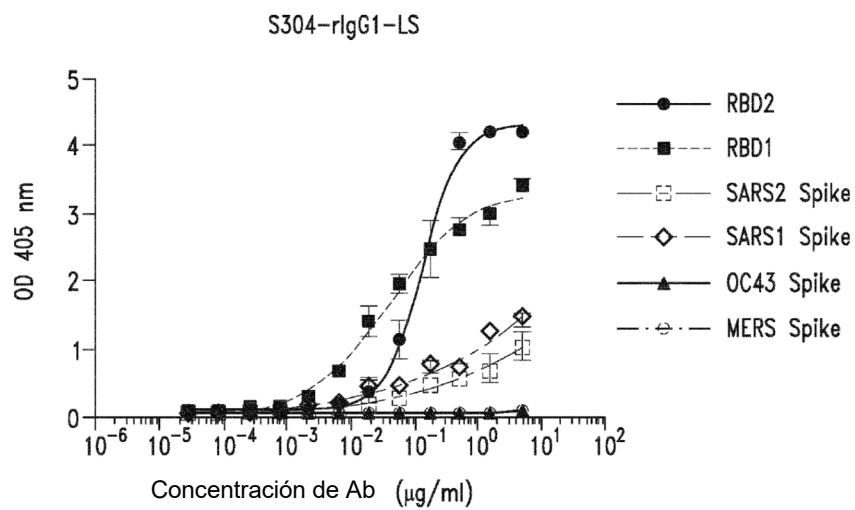


FIG. 18B

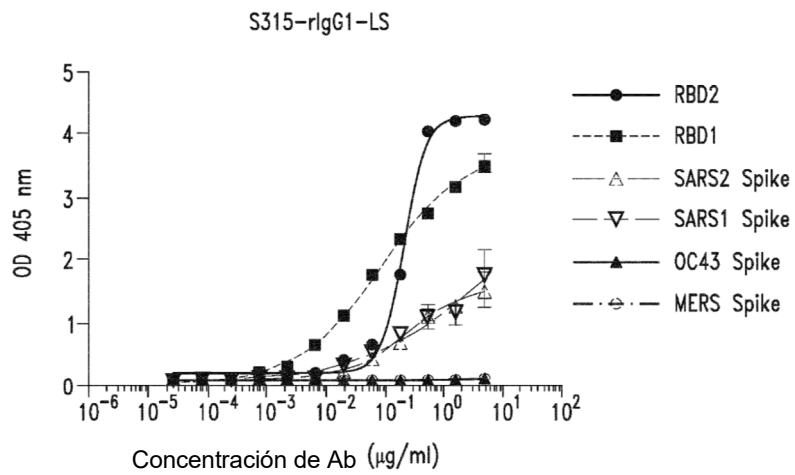


FIG. 18C

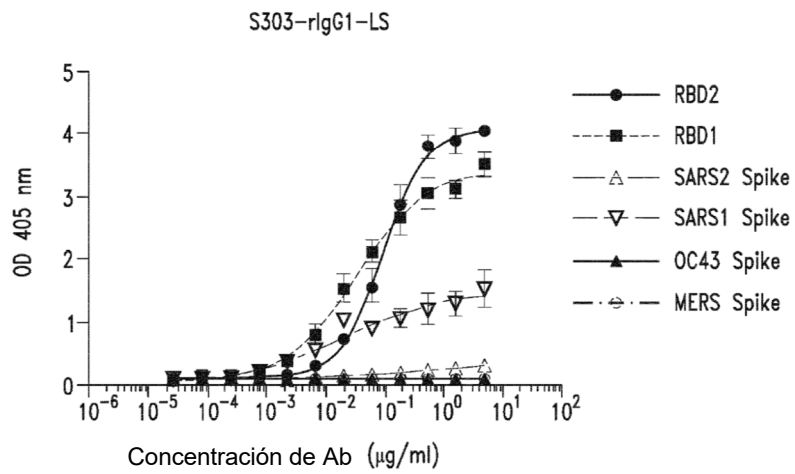


FIG. 18D

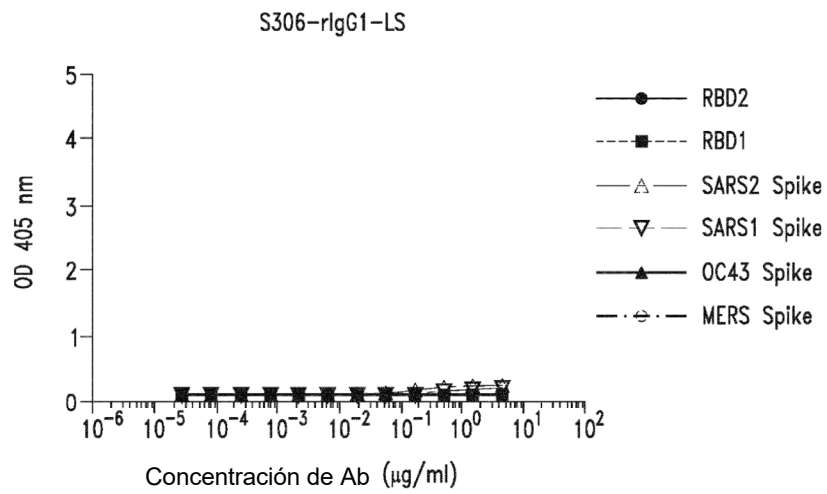


FIG. 18E

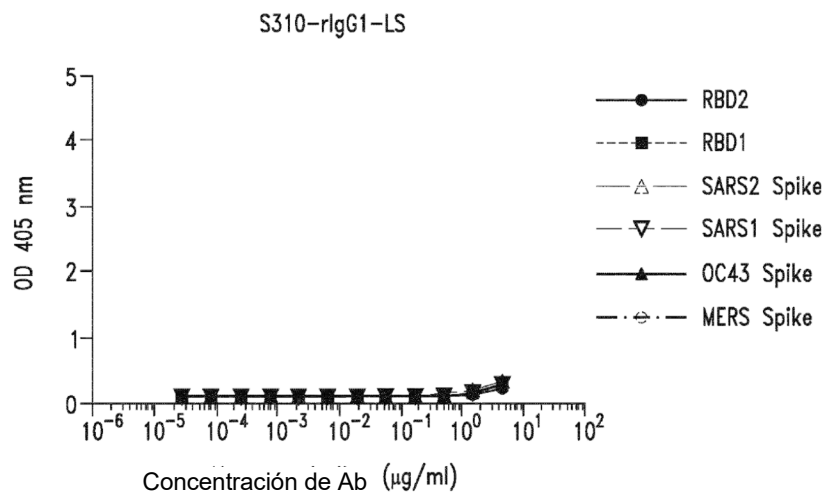


FIG. 18F

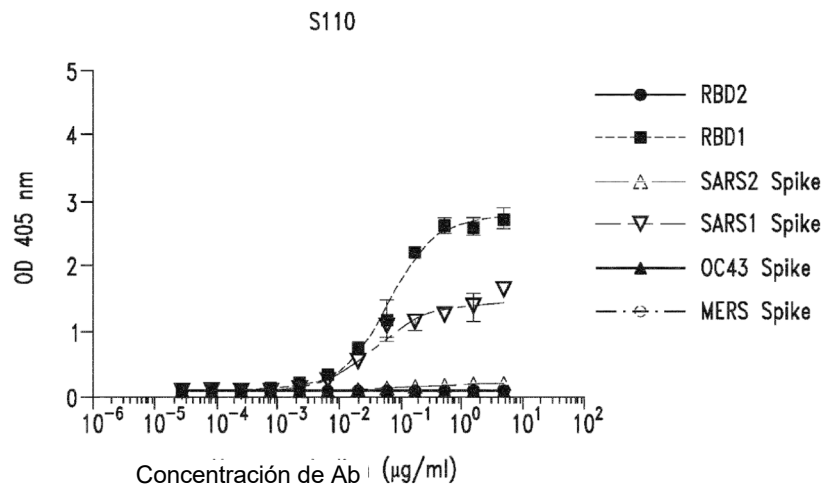


FIG. 18G

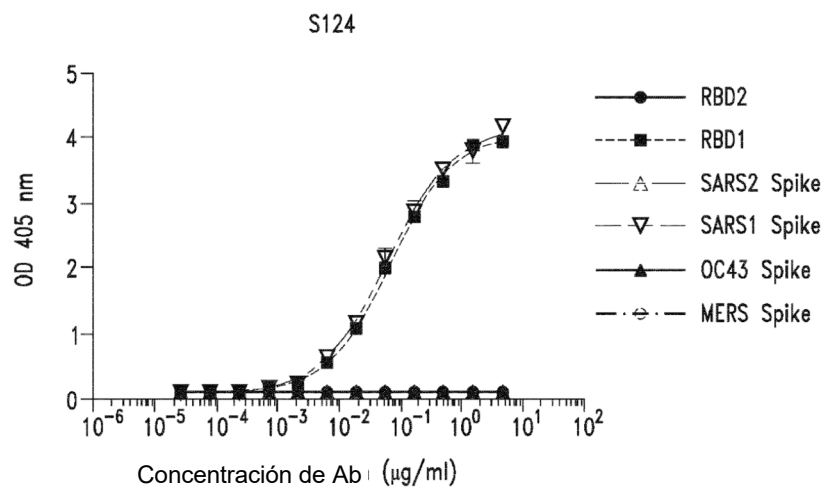


FIG. 18H

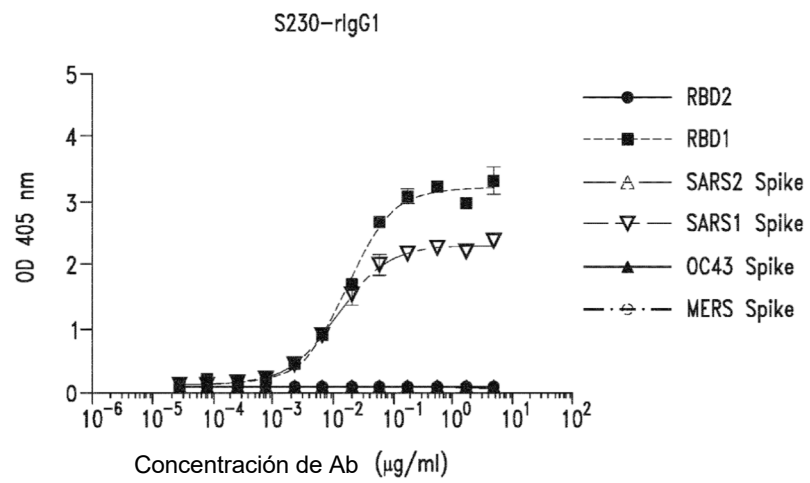


FIG. 18I

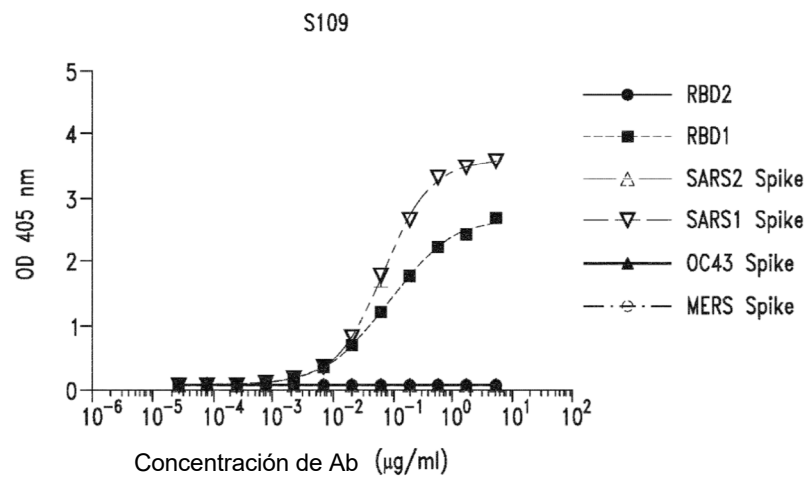


FIG. 18J

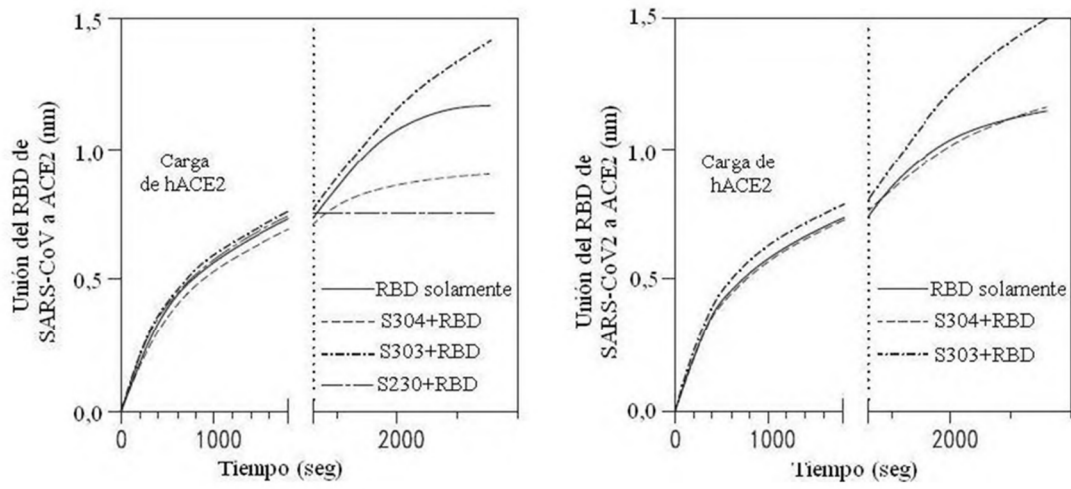


FIG. 19A

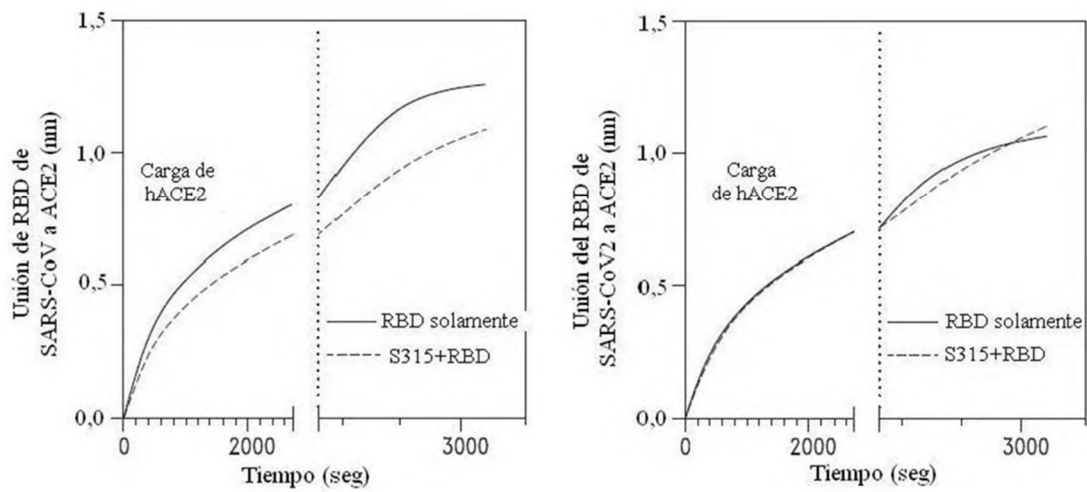


FIG. 19B

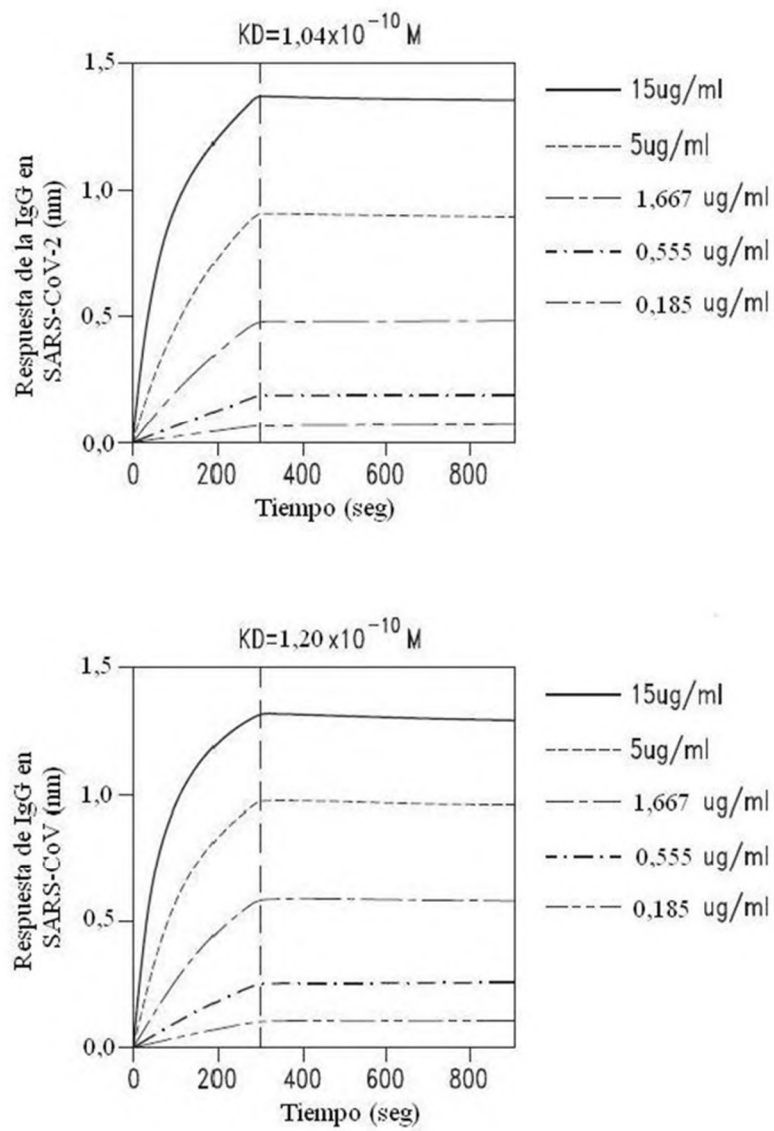


FIG. 20A

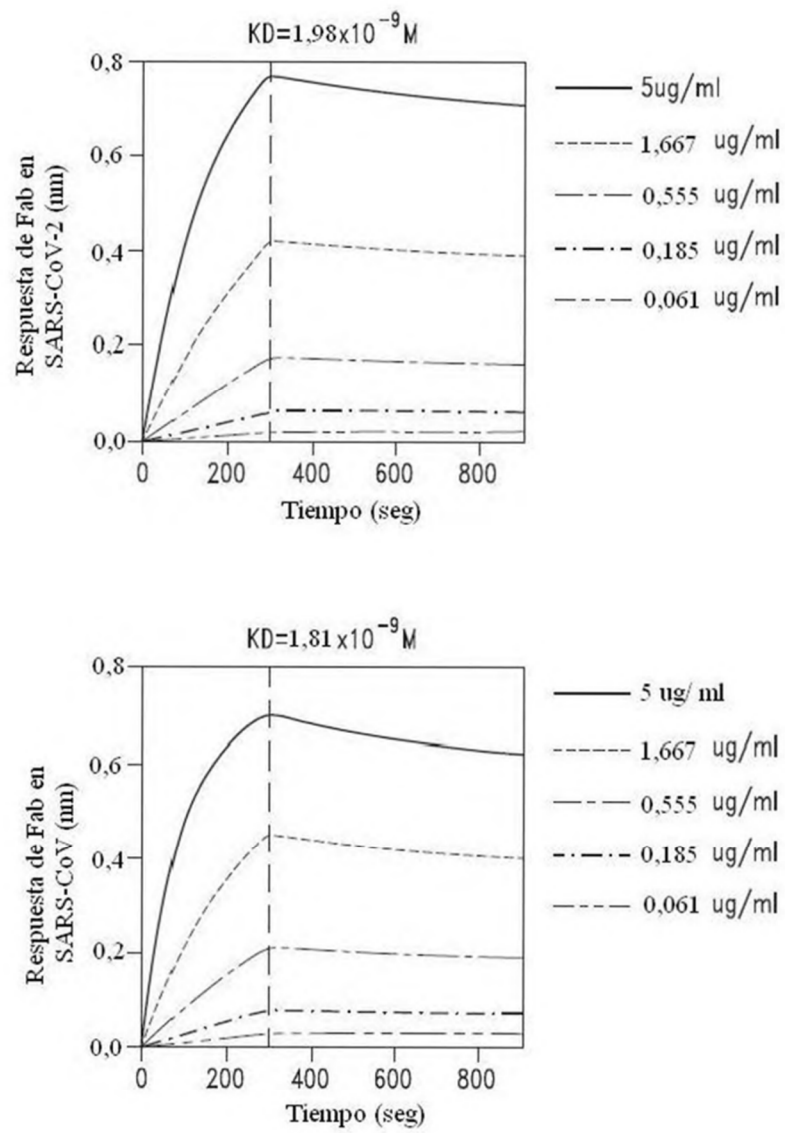


FIG. 20B

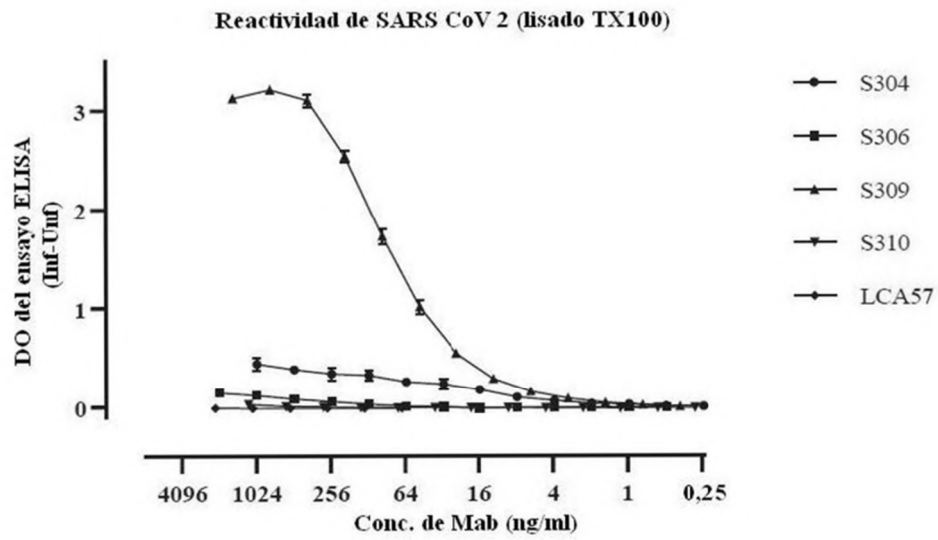


FIG. 21A

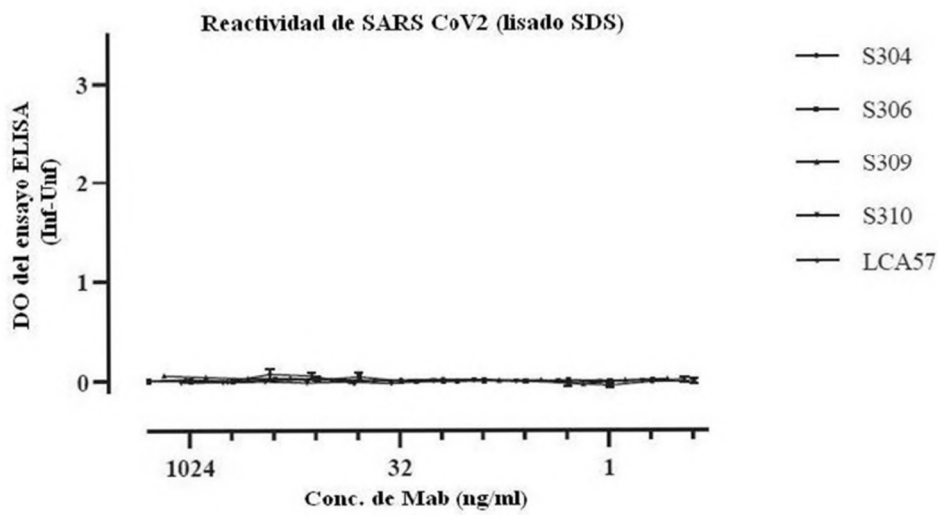


FIG. 21B

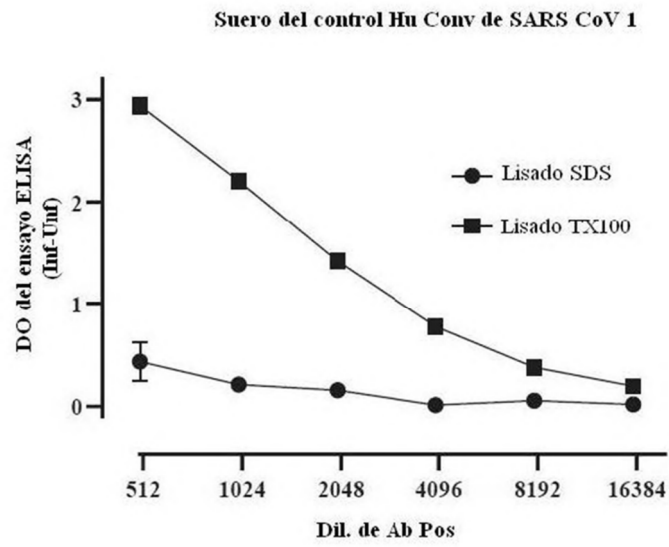


FIG. 21C

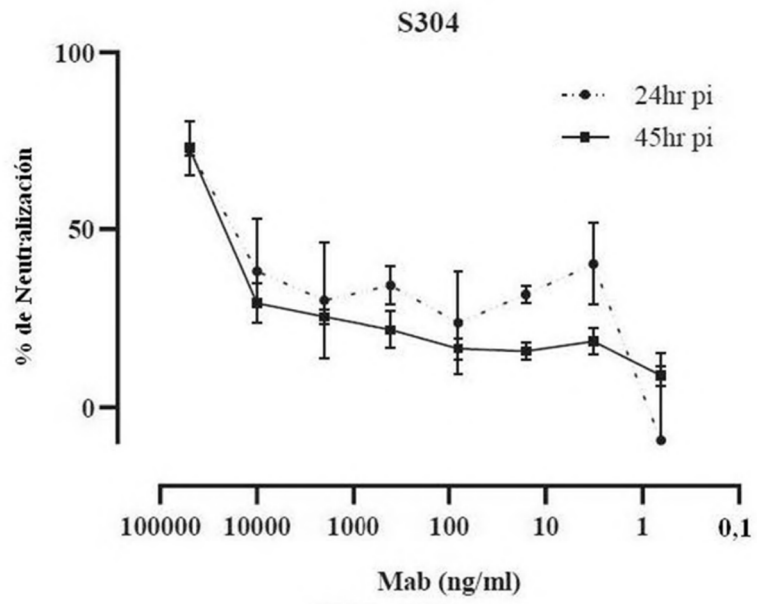


FIG. 22A

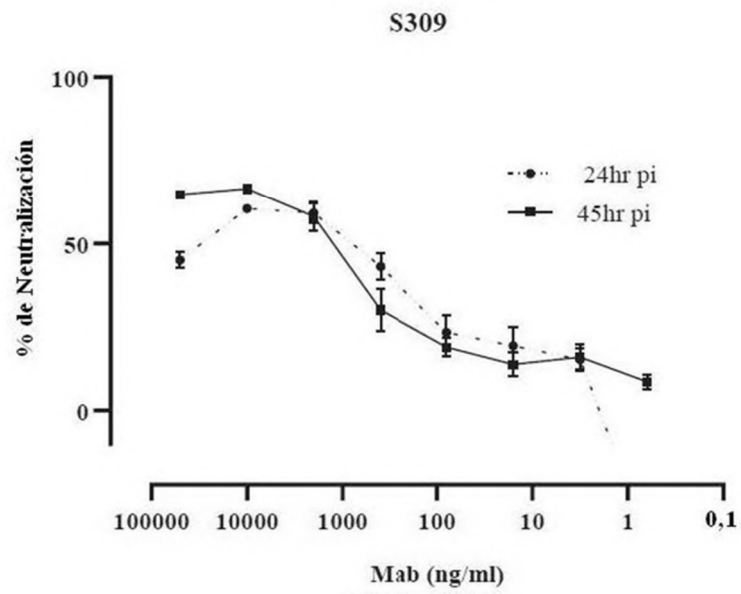


FIG. 22B

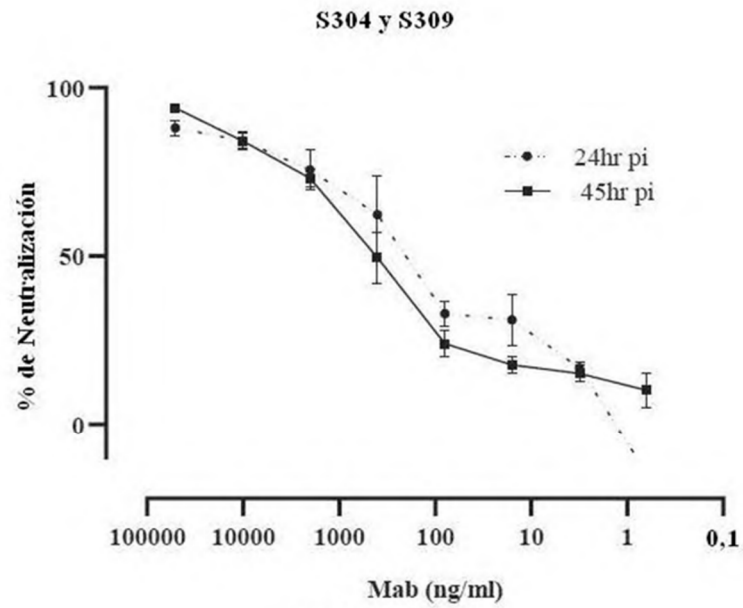


FIG. 22C

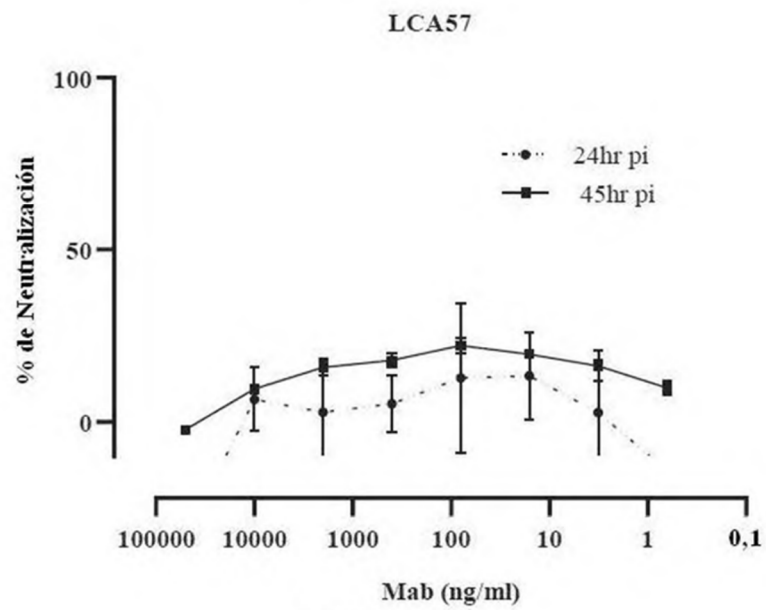


FIG. 22D

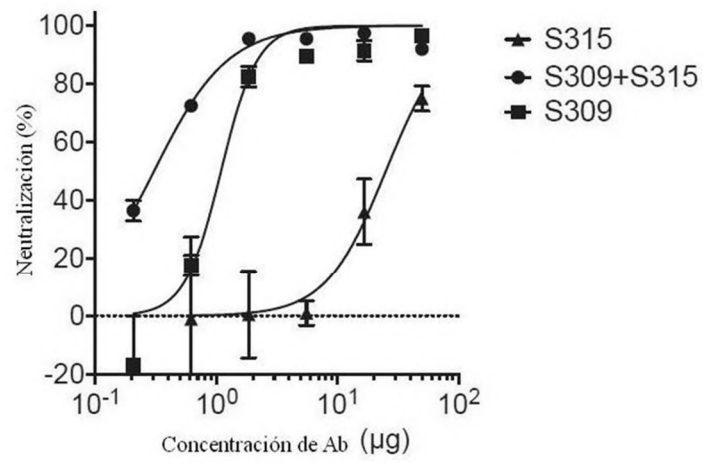


FIG. 23

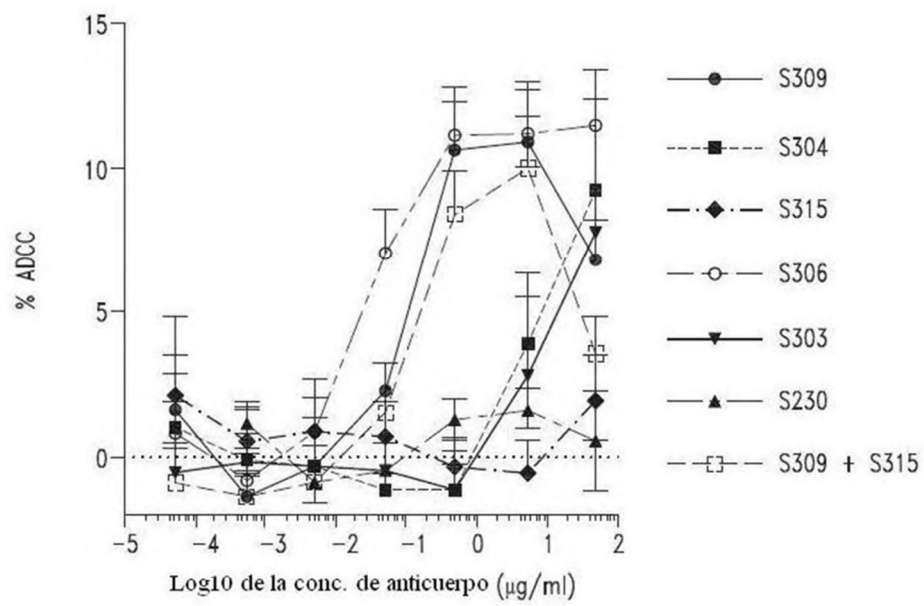


FIG. 24A

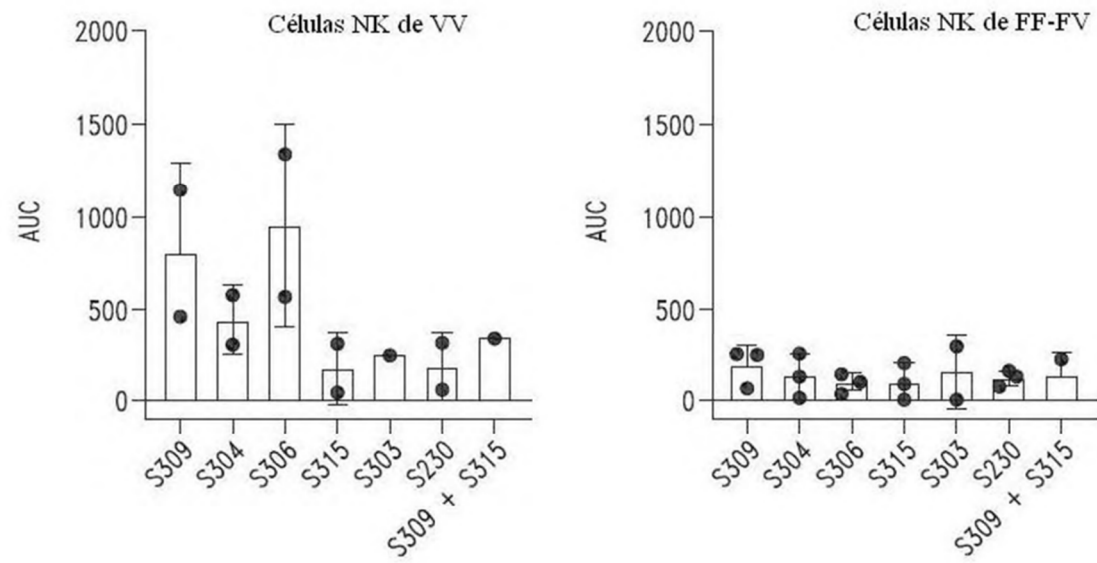


FIG. 24B

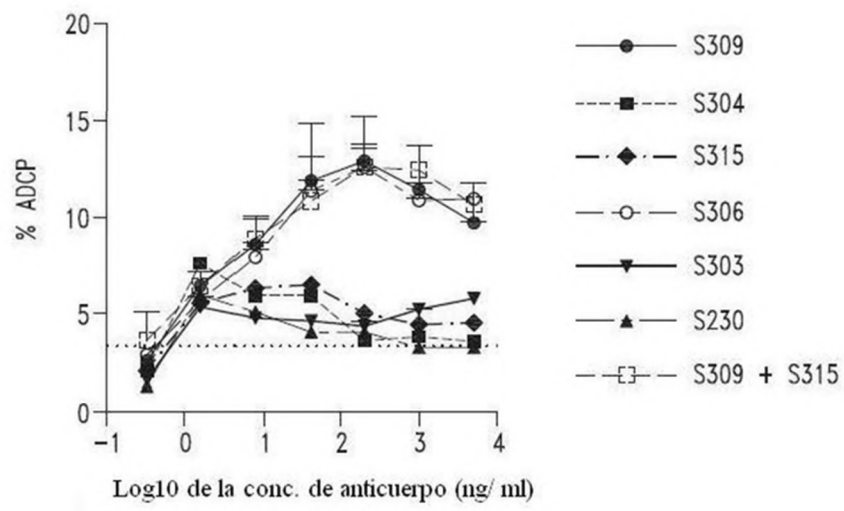


FIG. 25A

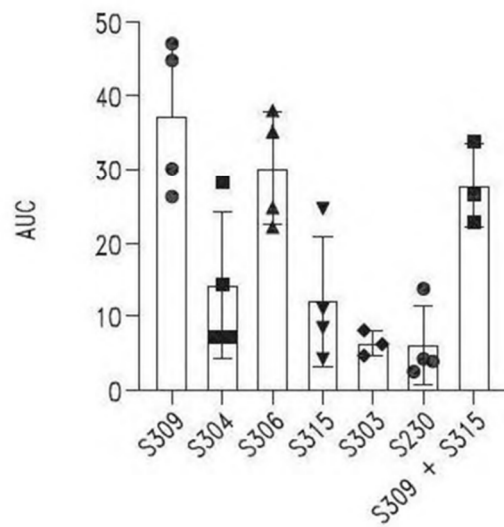


FIG. 25B

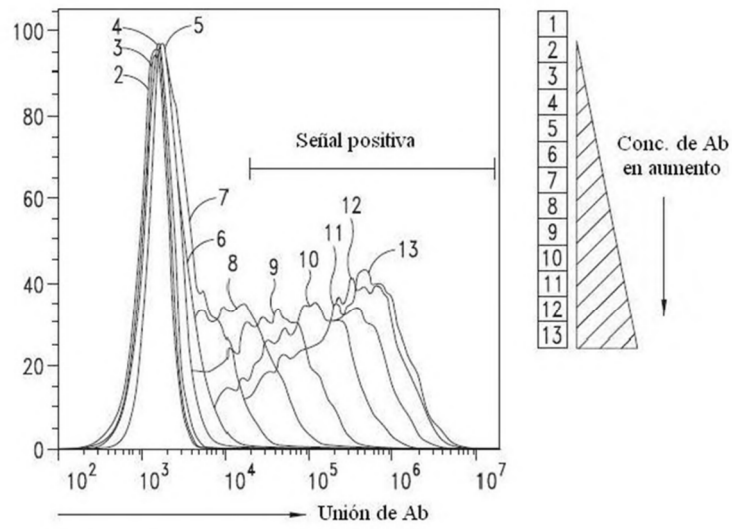


FIG. 26

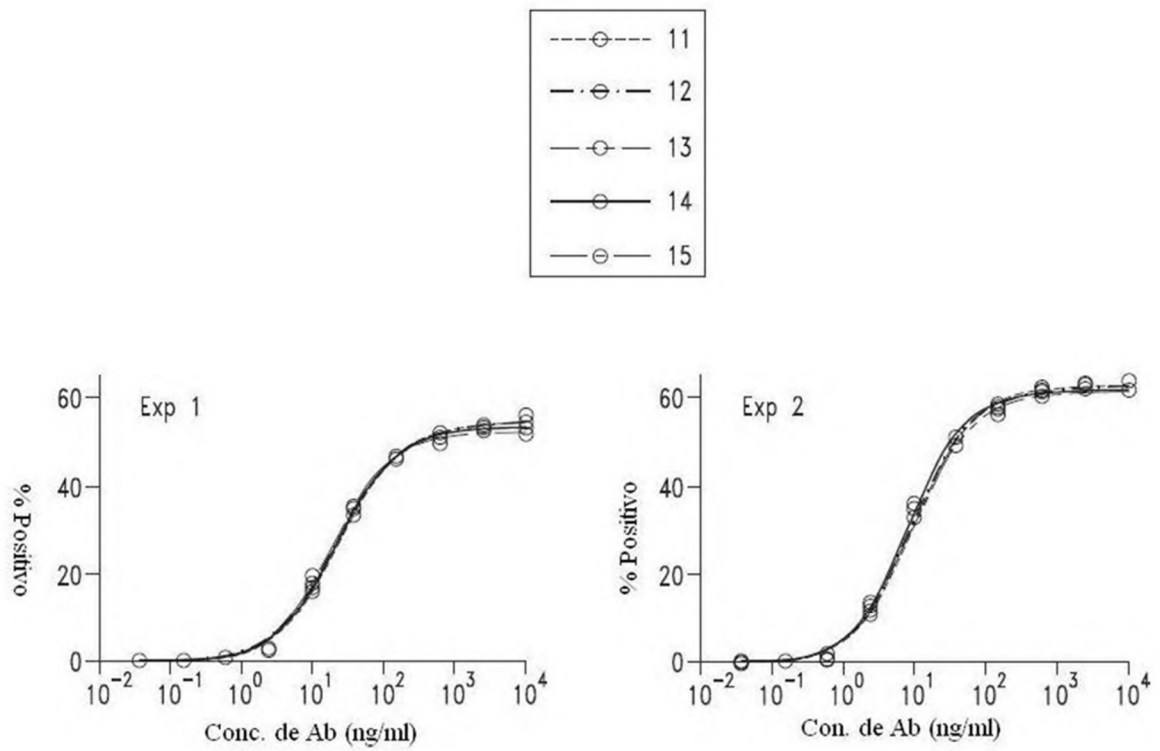


FIG. 27

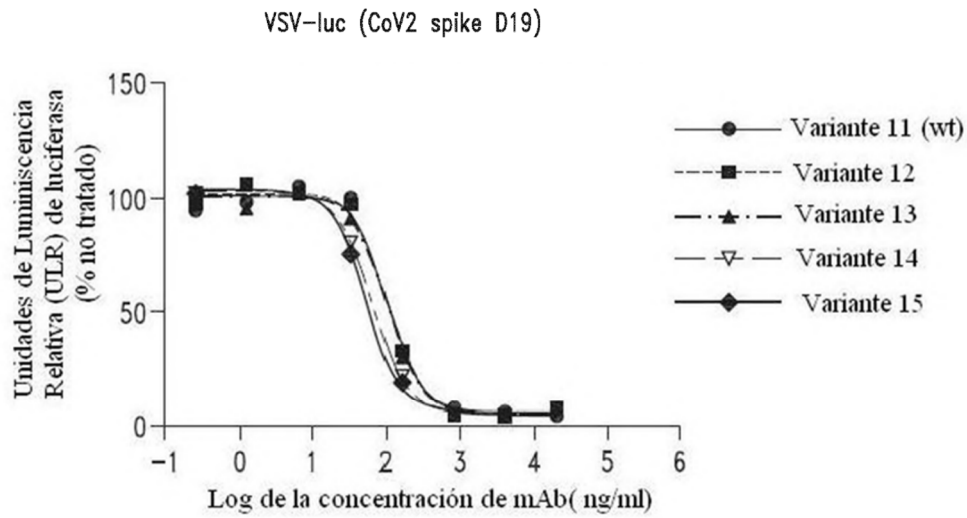


FIG. 28

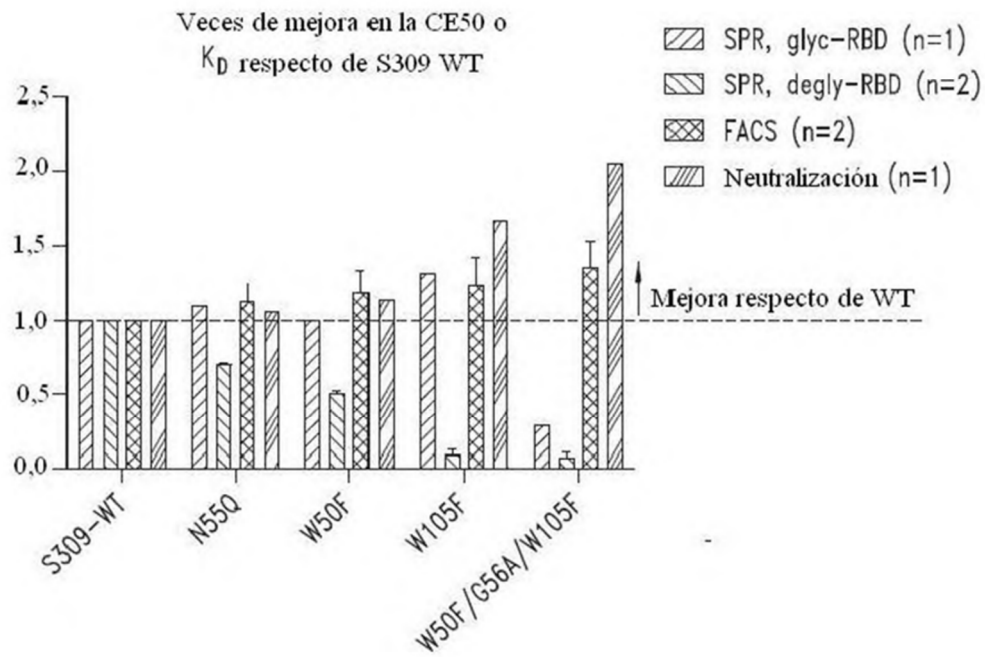


FIG. 29

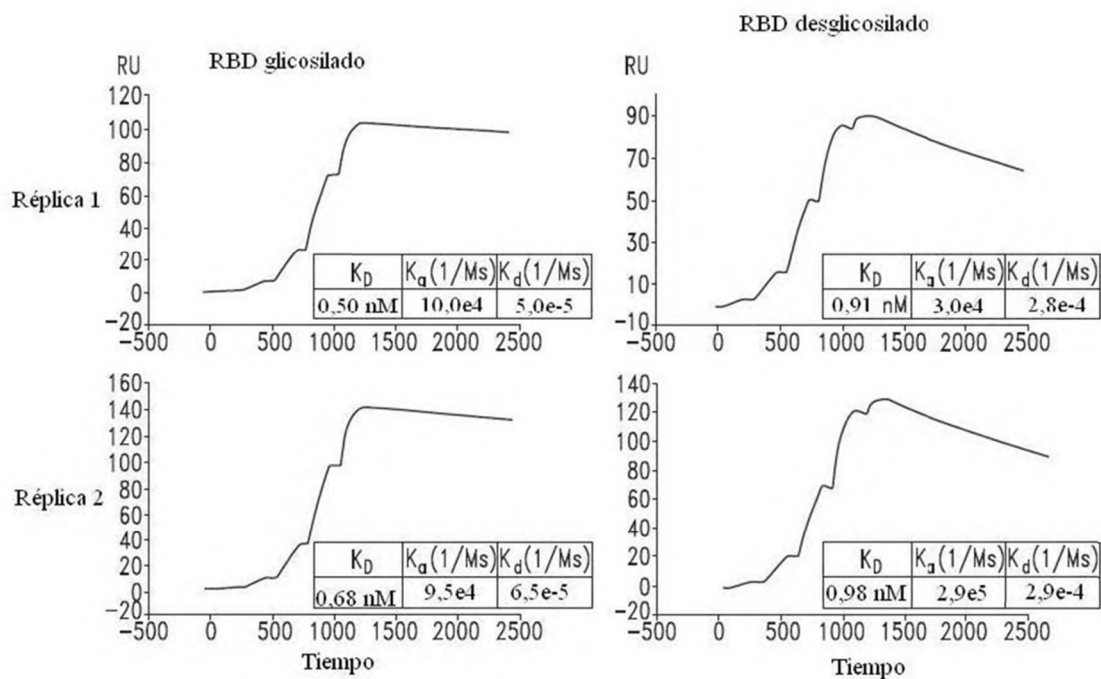


FIG. 30A

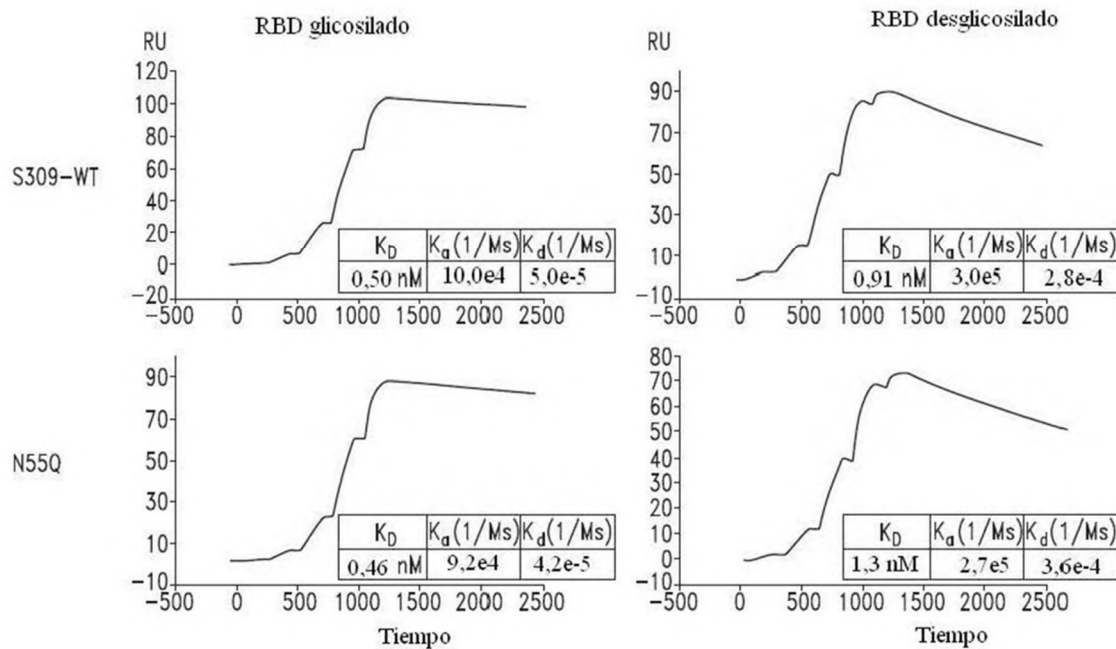


FIG. 30B

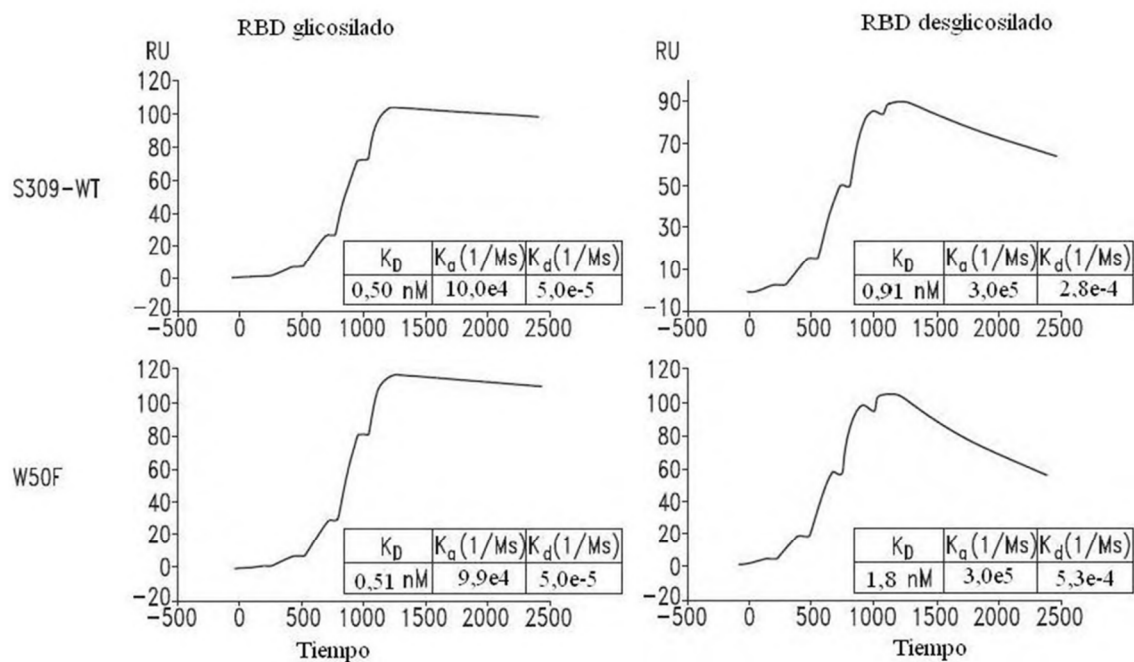


FIG. 30C

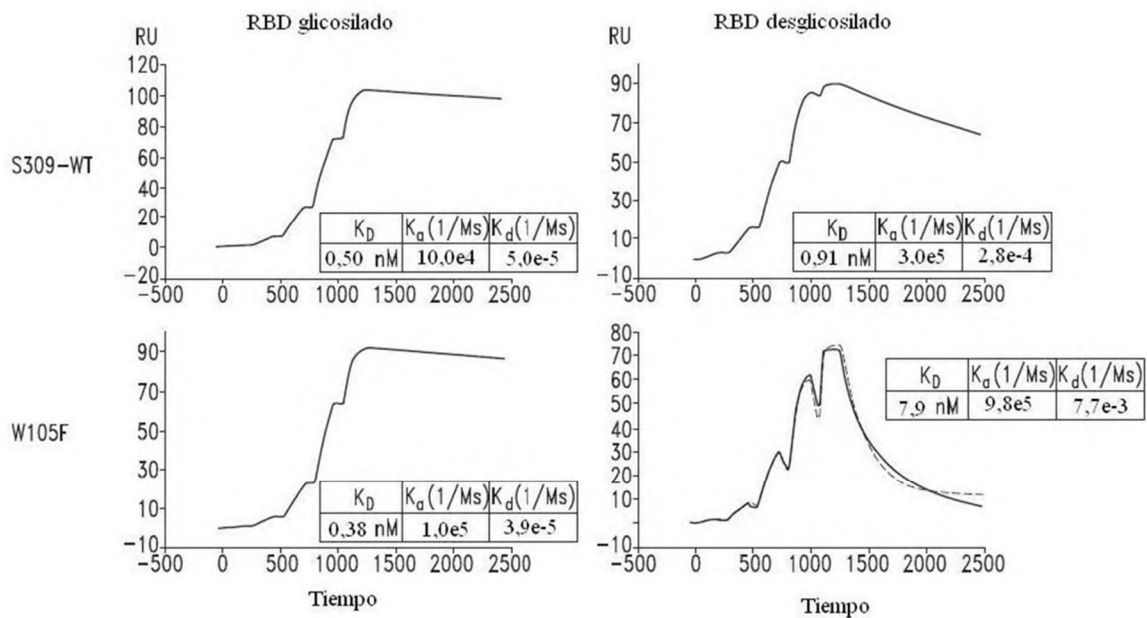


FIG. 30D

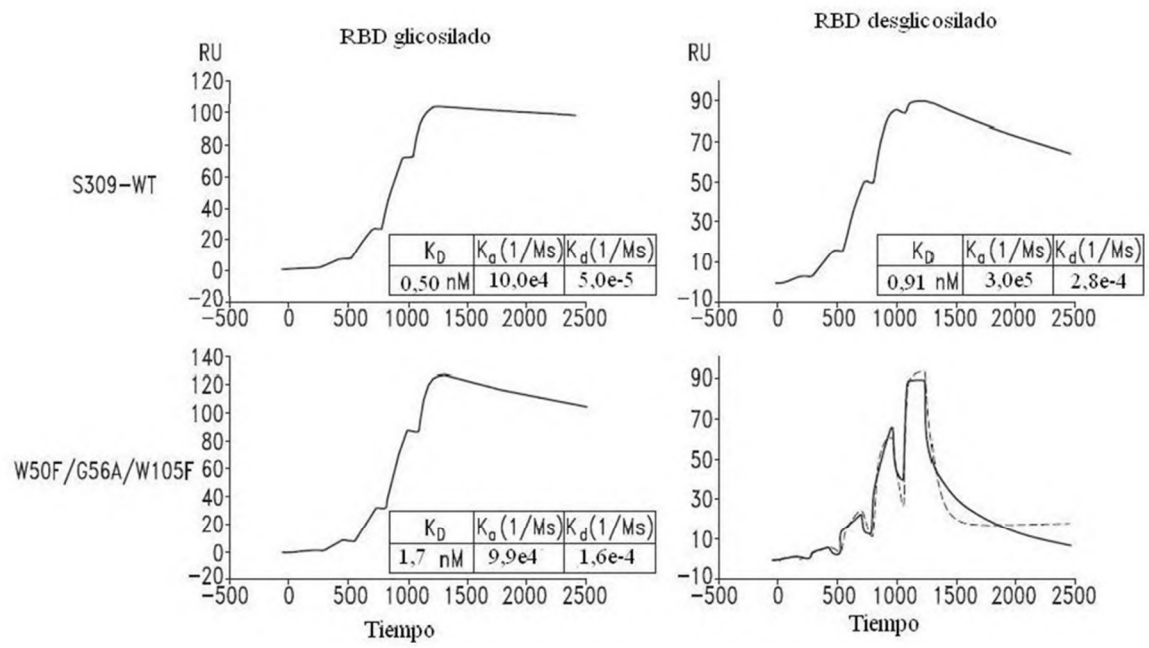


FIG. 30E

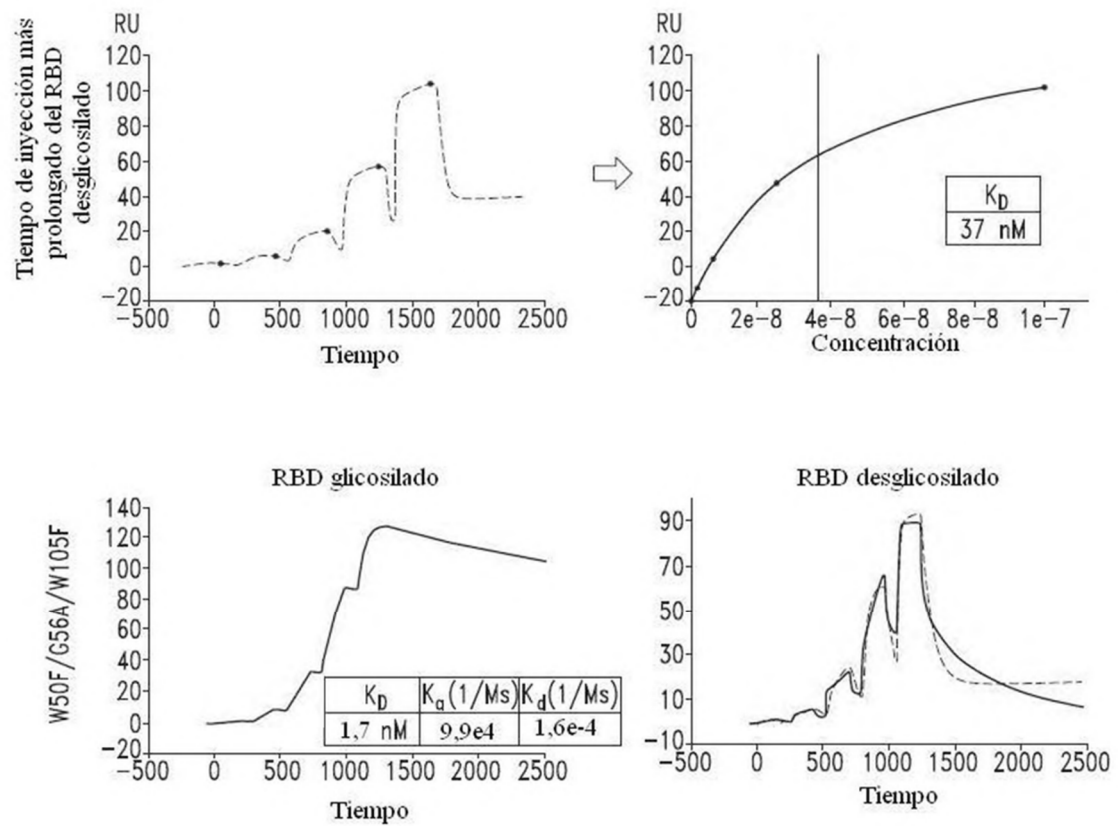


FIG. 30F

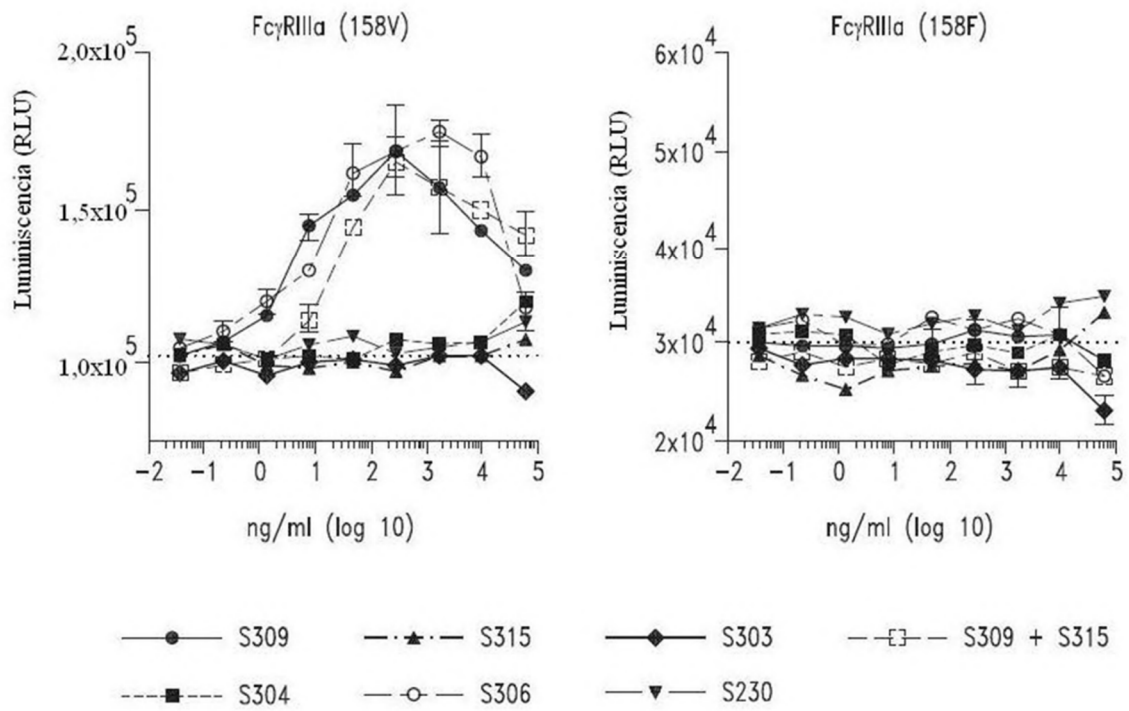


FIG. 31

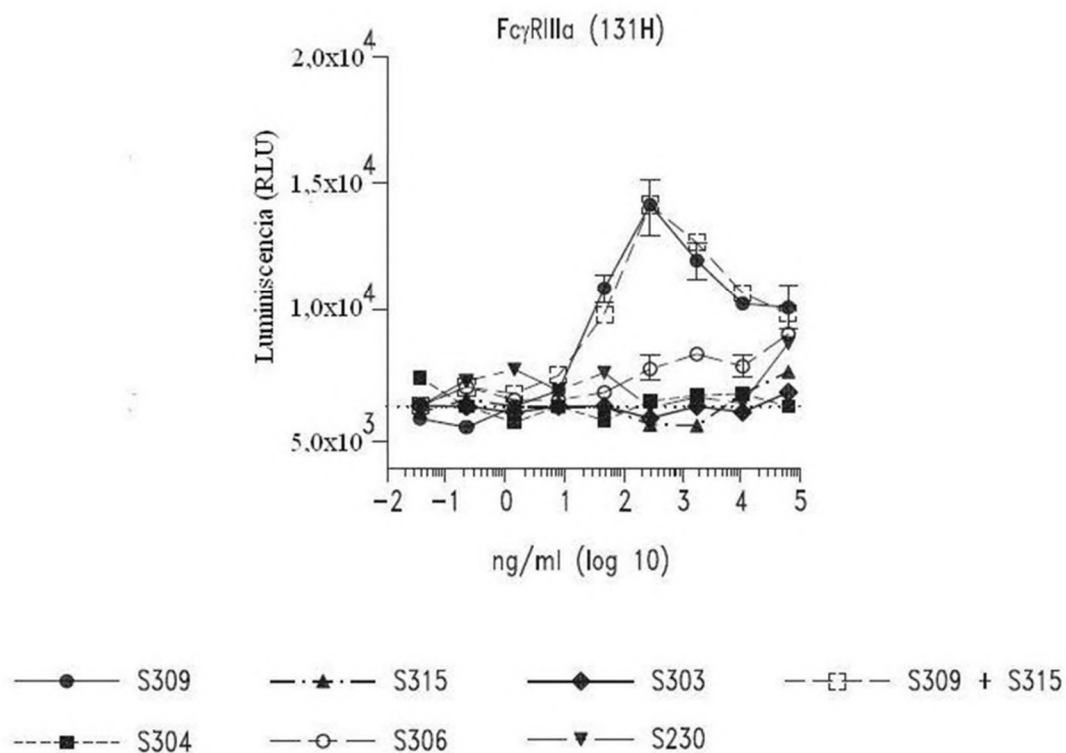


FIG. 32

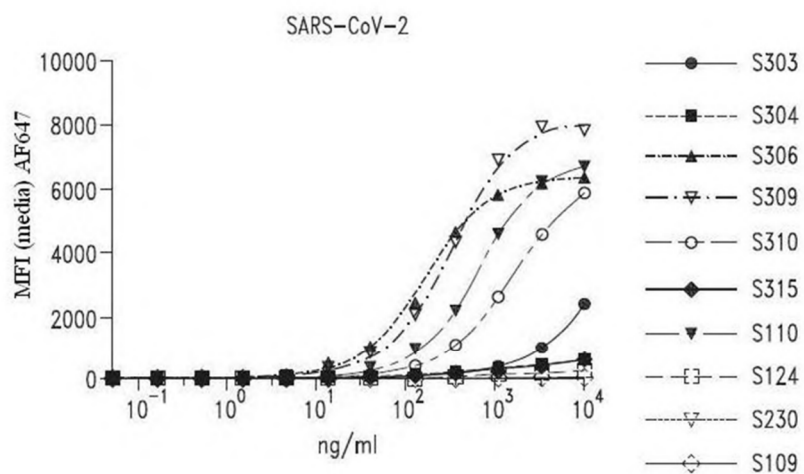


FIG. 33A

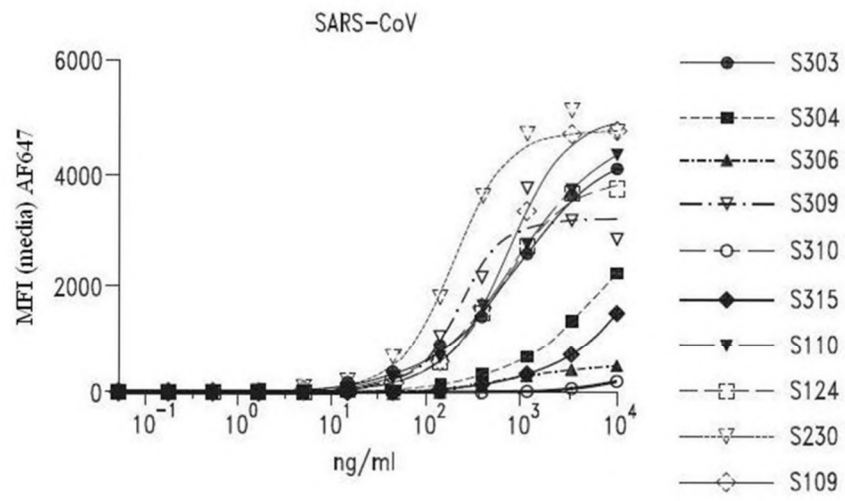


FIG. 33B

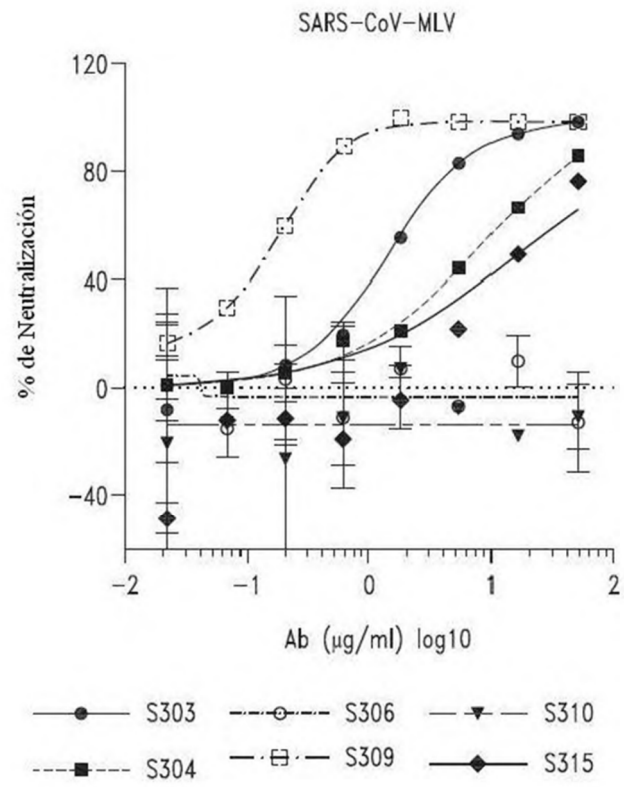


FIG. 34

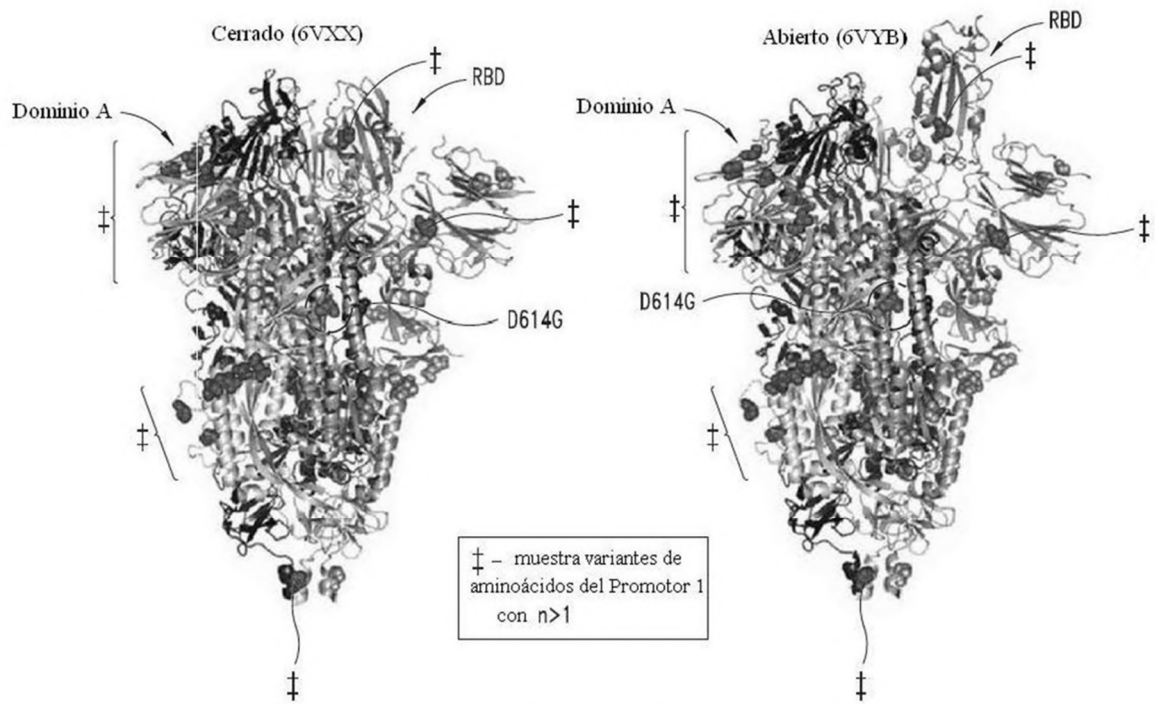


FIG. 35A

Proteína espícula de SARS-CoV-2

5

GISaID 2020-Mar-29 (n=2229)

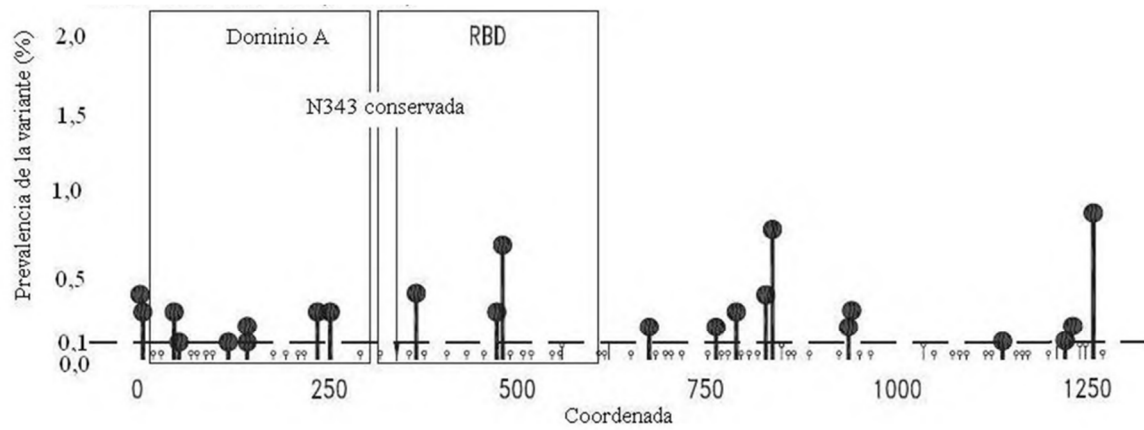


FIG. 35B

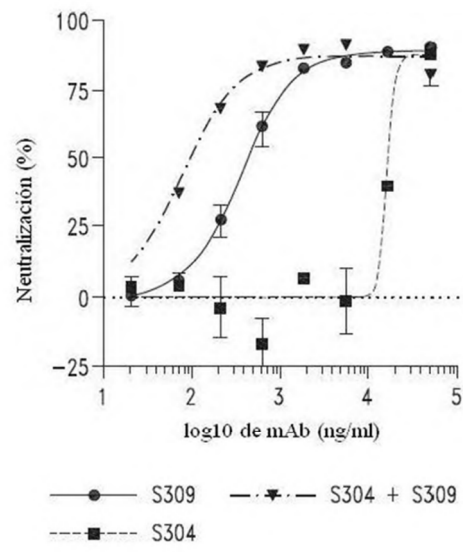


FIG. 36

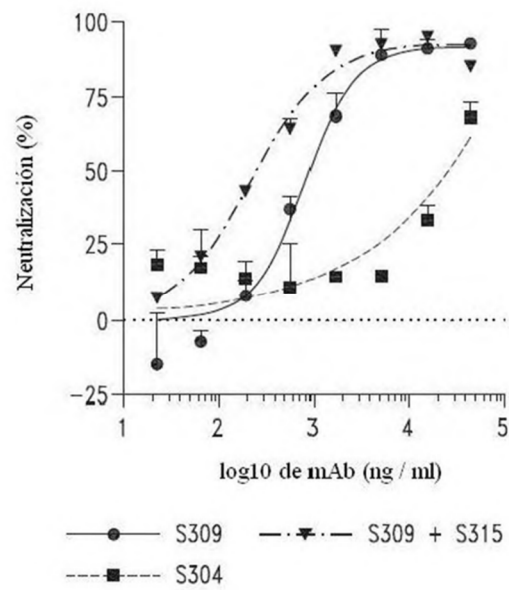


FIG. 37

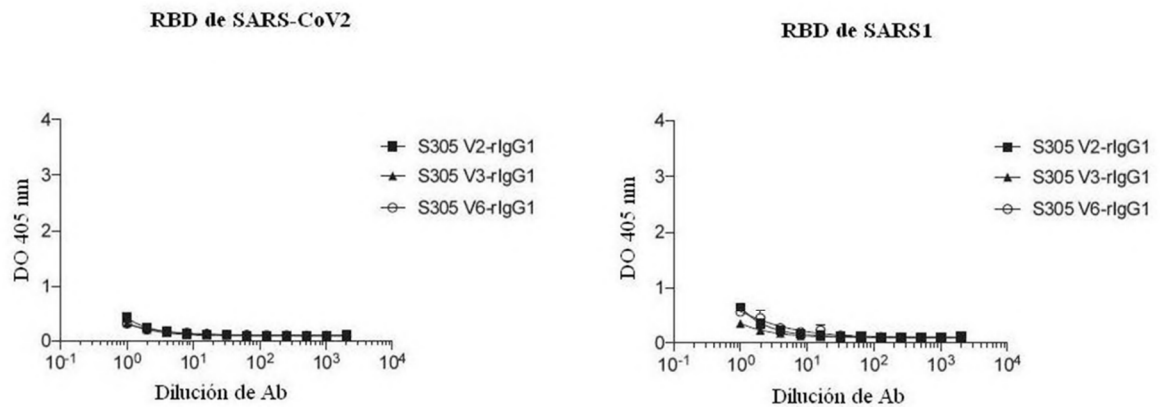


FIG. 38A

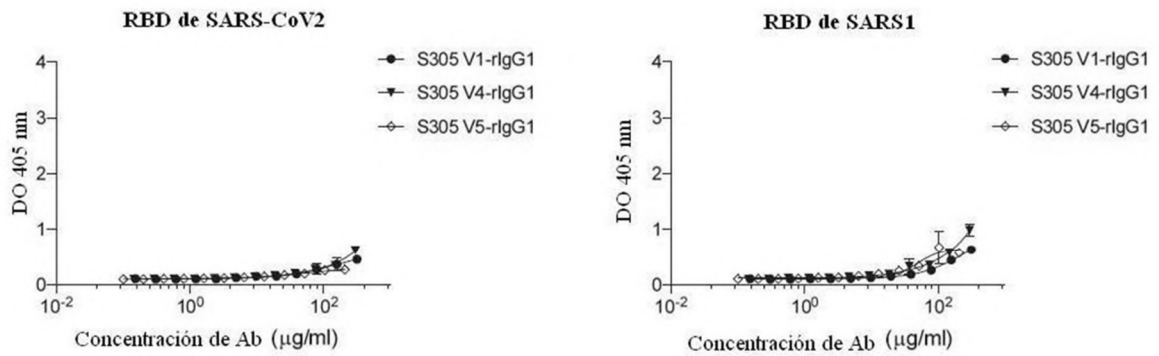


FIG. 38B

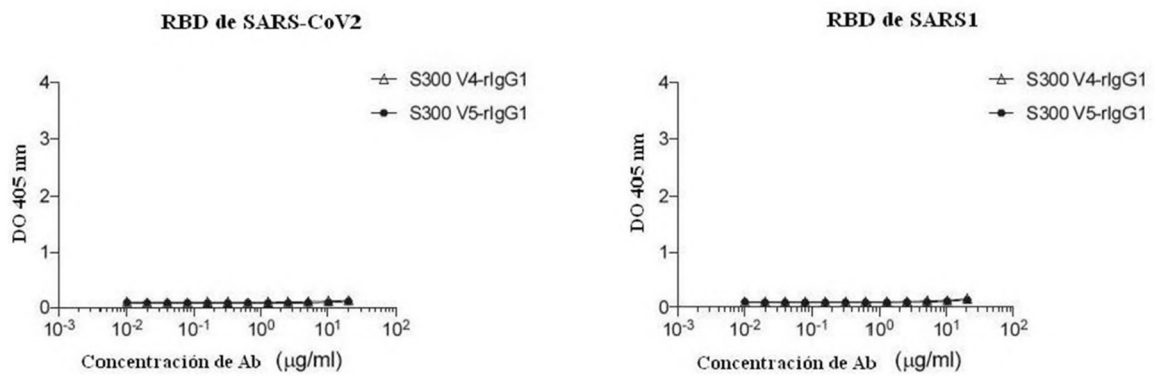


FIG. 38C

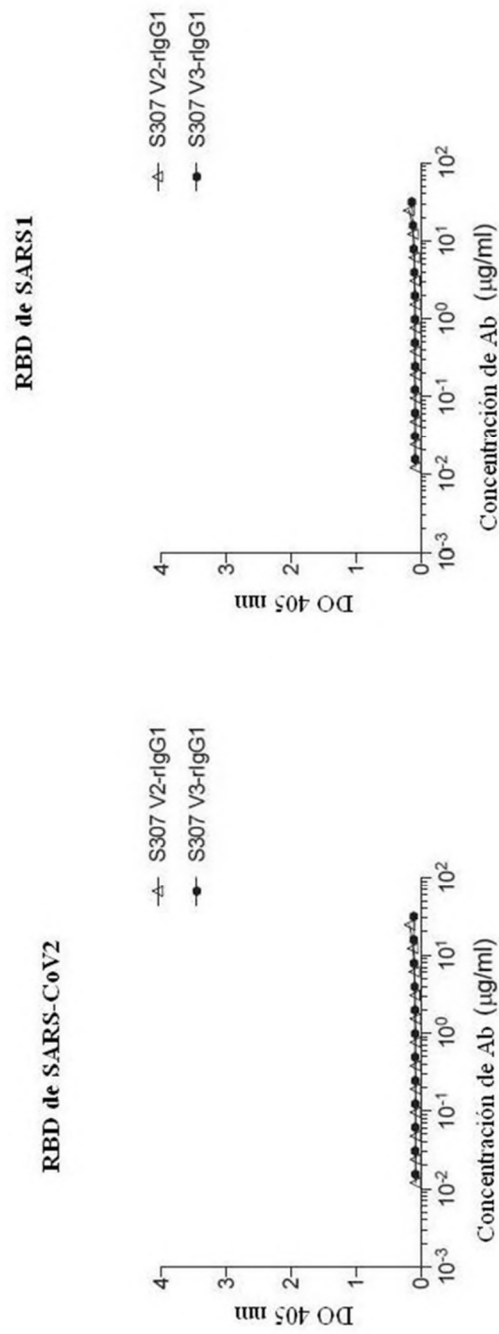


FIG. 38D

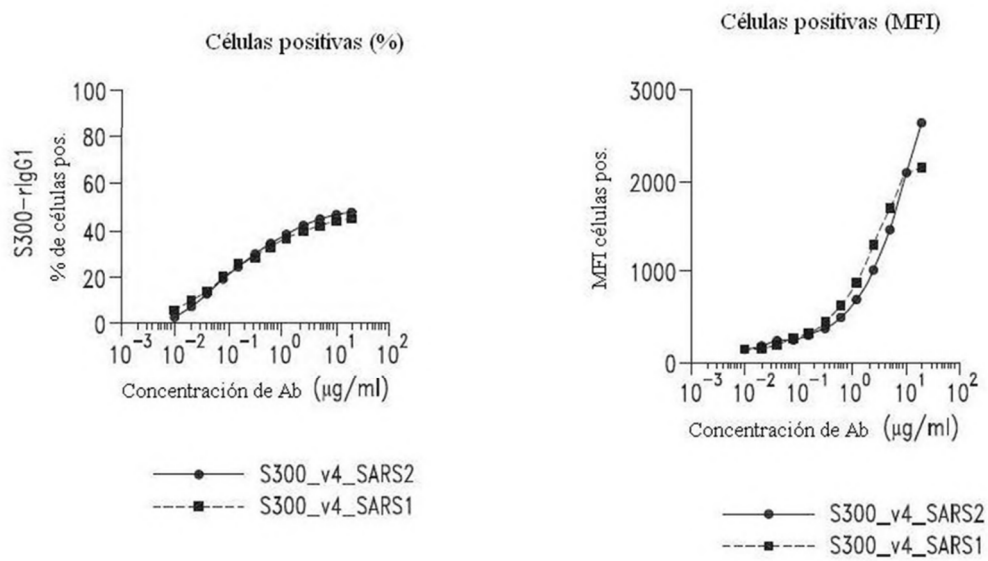


FIG. 39A

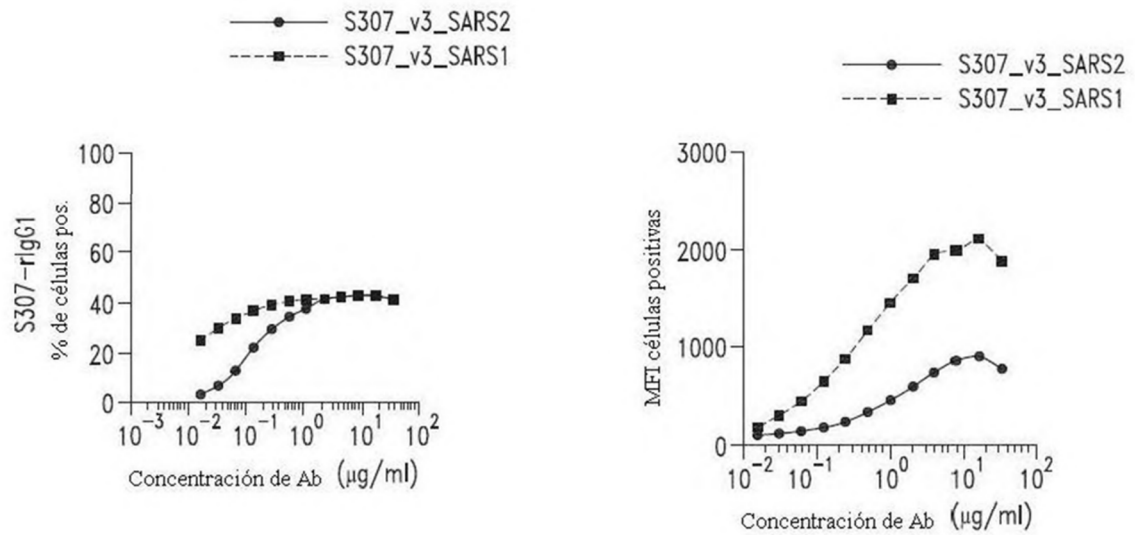


FIG. 39B

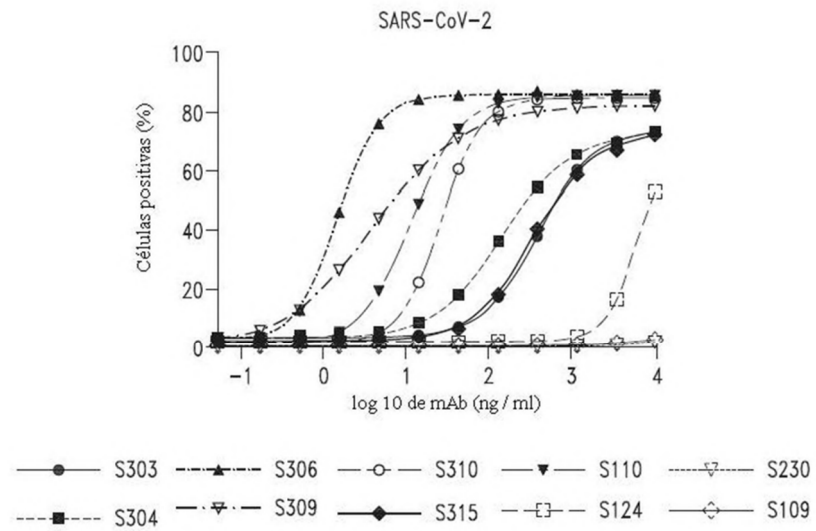


FIG. 40A

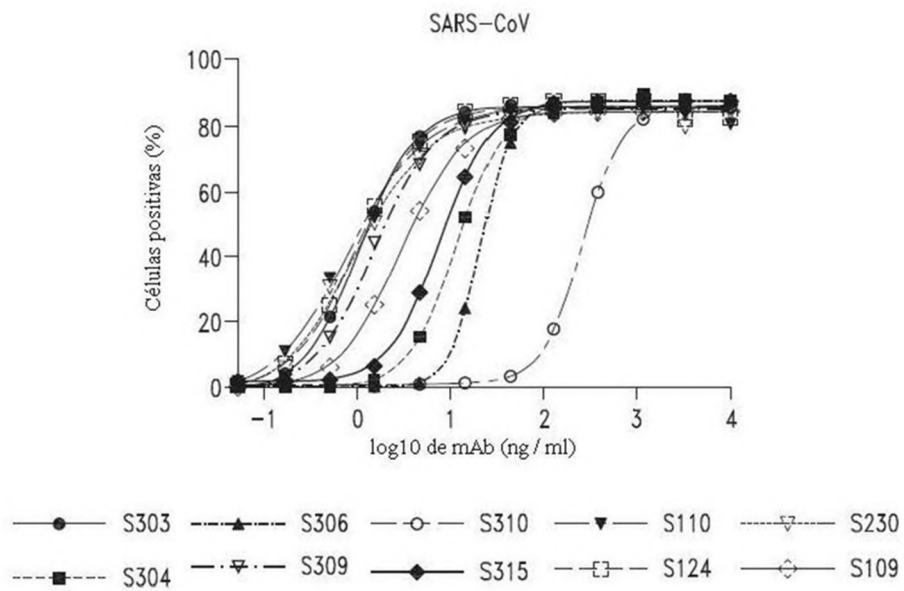


FIG. 40B

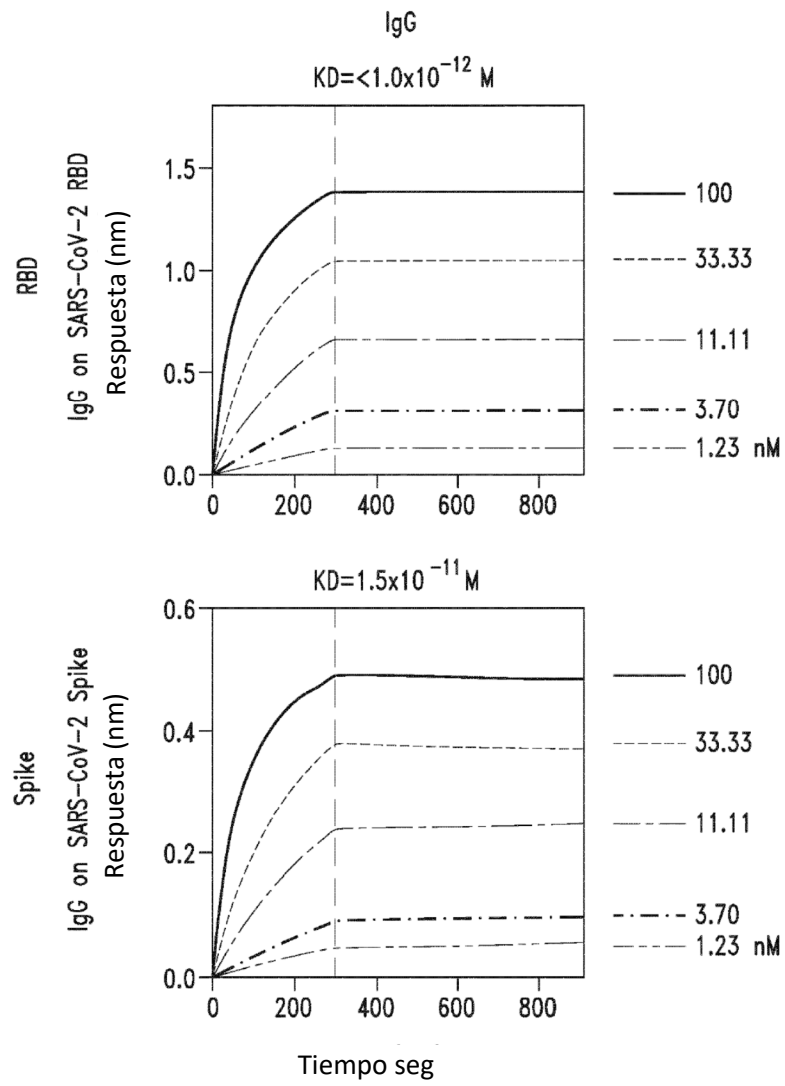


FIG. 41A

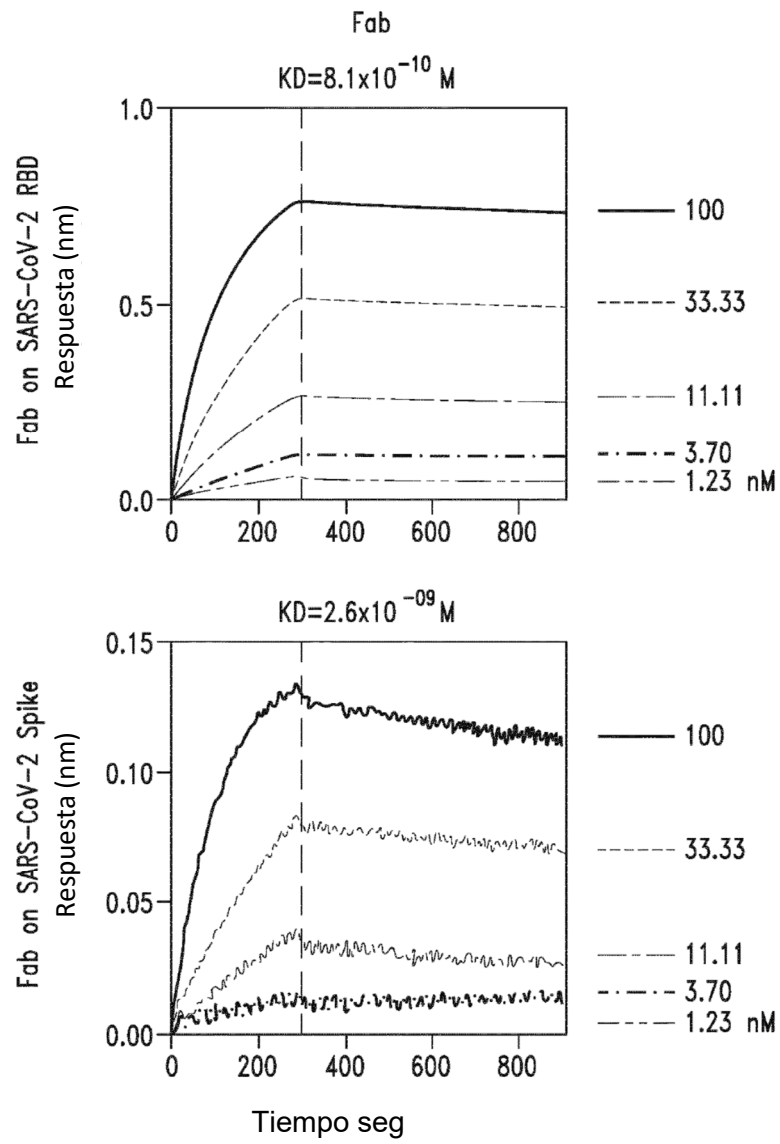


FIG. 41B

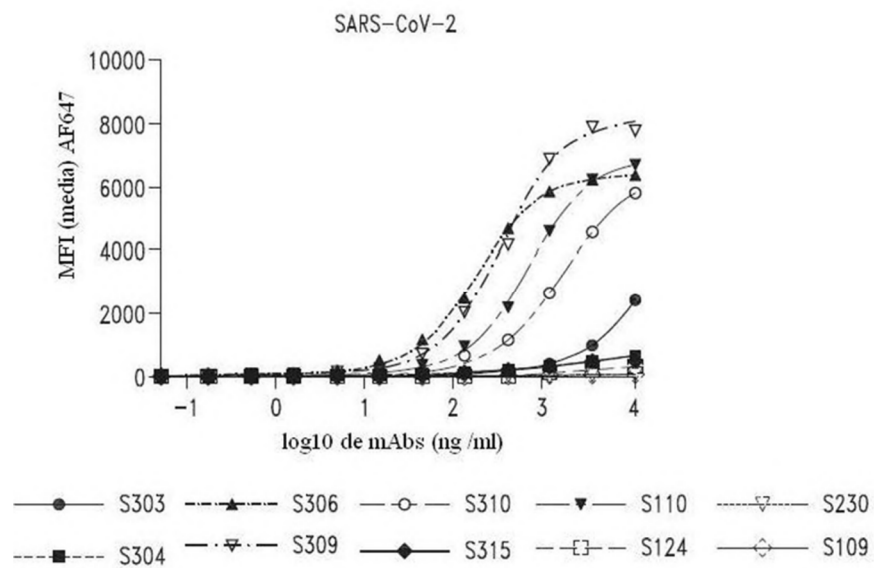


FIG. 42A

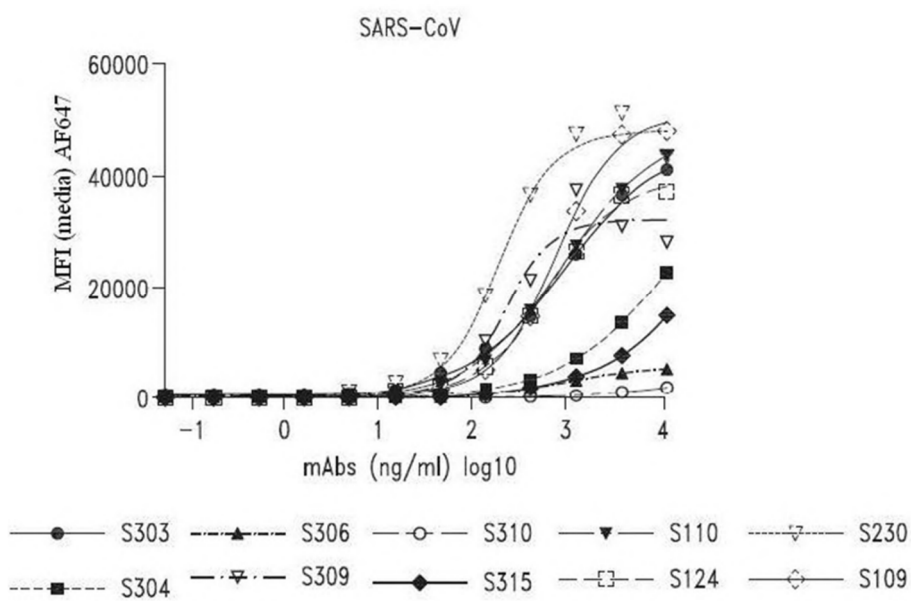


FIG. 42B

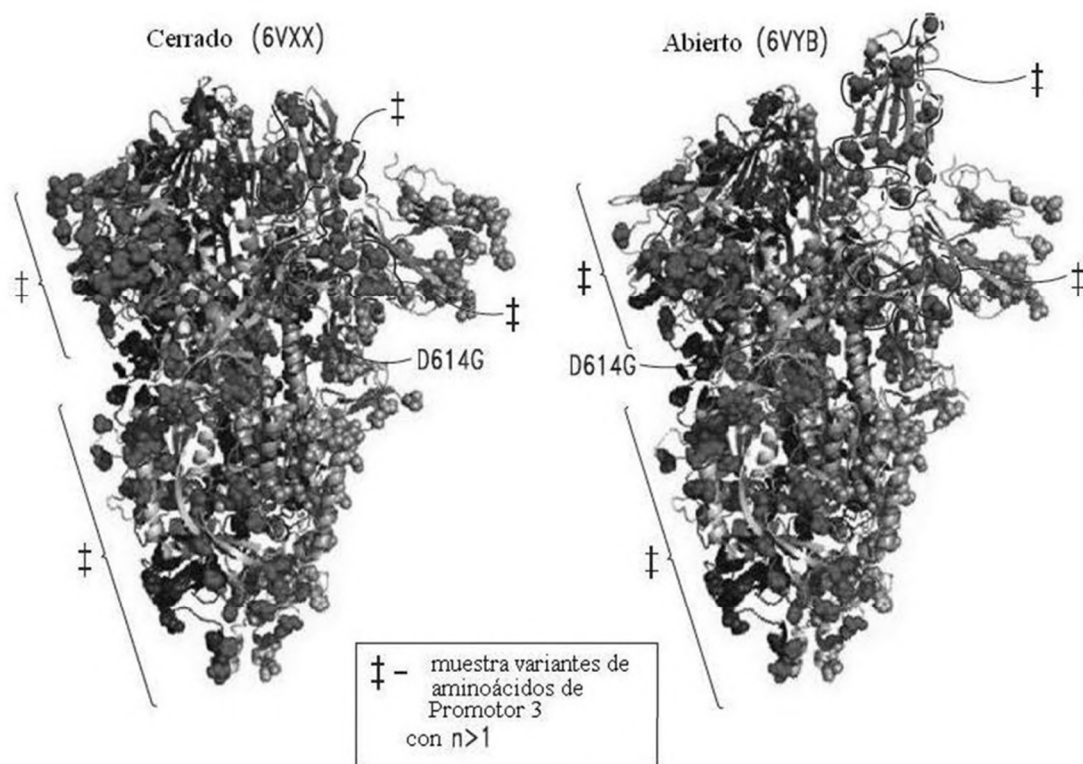


FIG. 43

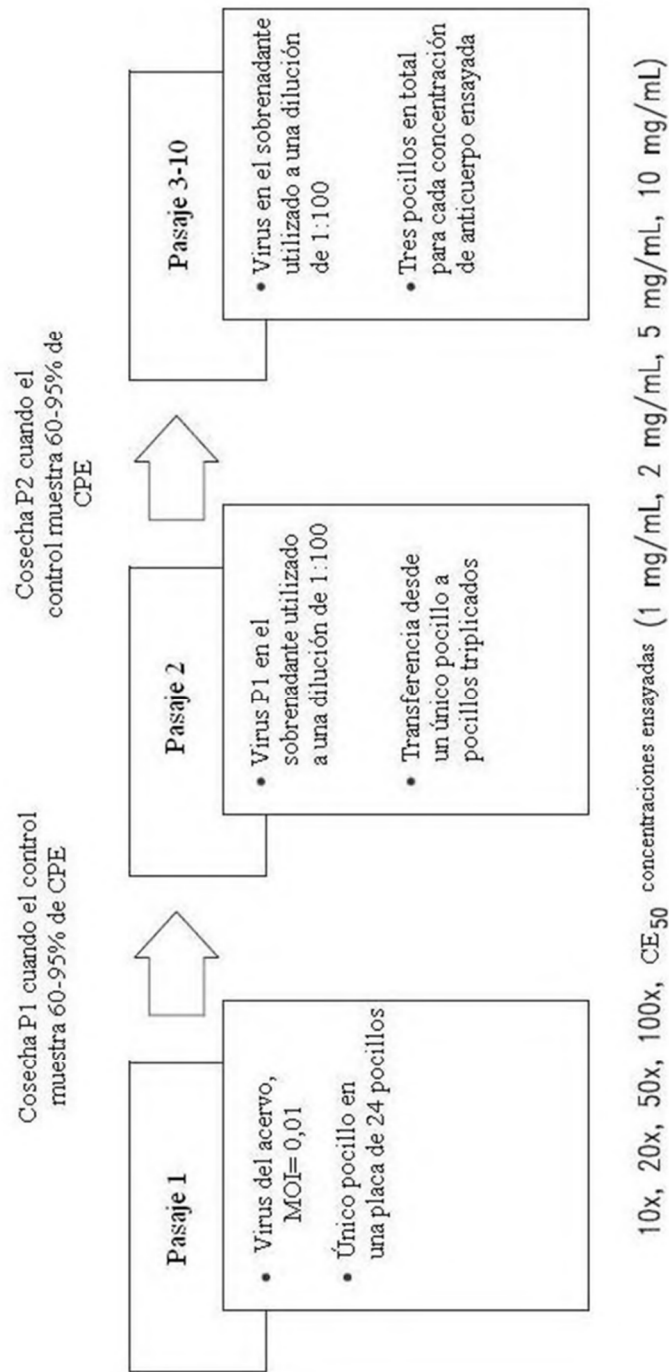


FIG. 44A

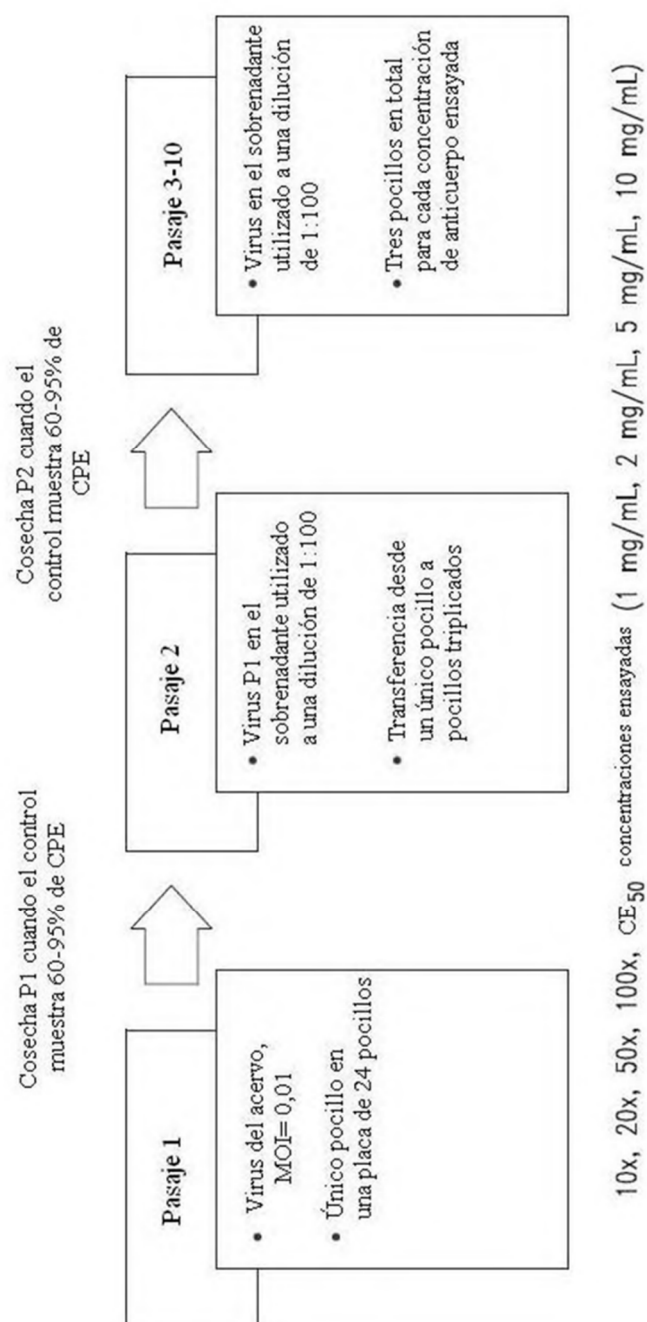


FIG. 44A

Dosis estática (de CE50)	Pasaje	FFU/mL	% de CPE a las 72 hrs p.i.
Sin Ab	1	6,44E+05	85-90
10x	1	—	0
20x	1	—	0
50x	1	—	0
100x	1	—	0
Sin Ab	2	4,70E+05	80
10x	2	—	0
20x	2	—	0
50x	2	—	0
100x	2	—	0
Sin Ab	3	9,60E+05	80
10x	3	—	0
20x	3	—	0
50x	3	—	0
100x	3	—	0
Sin Ab	4	1,00E05	80
10x	4	—	0
20x	4	—	0
50x	4	—	0
100x	4	—	0
Sin Ab	10	1,53E+06	70-90
10x	10	—	0
20x	10	—	0
50x	10	—	0
100x	10	—	0

FIG. 44C

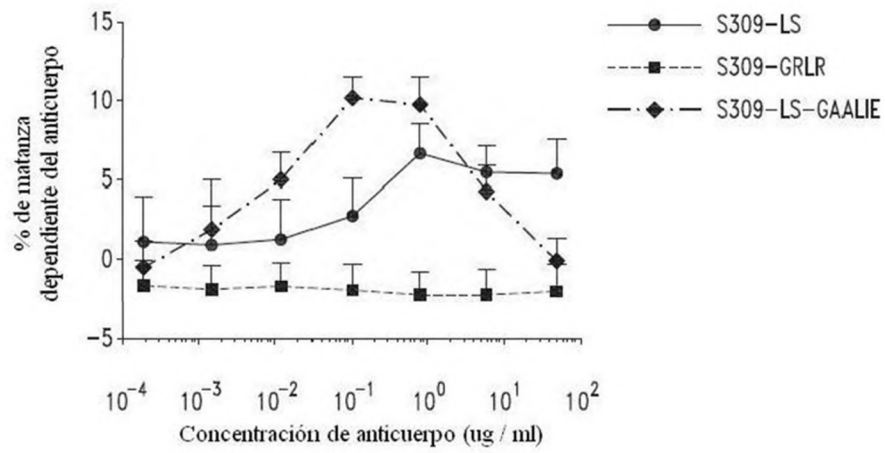
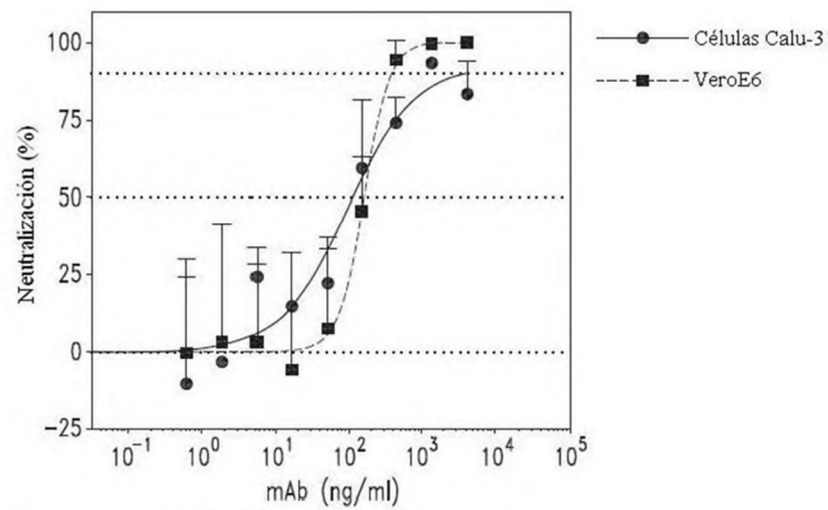
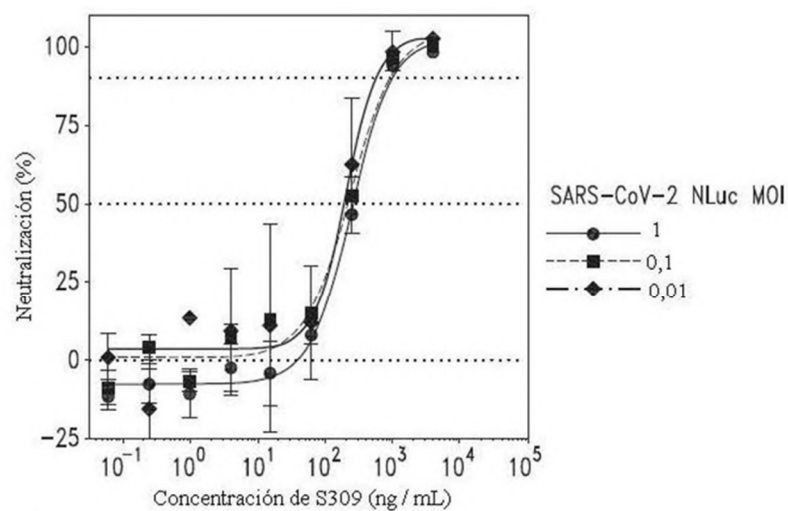


FIG. 45



	Células Calu-3	VeroE6
IC50	97,70	158,5

FIG. 46



	1	0,1	0,01
IC50	240,6	235,3	206,6

FIG. 47

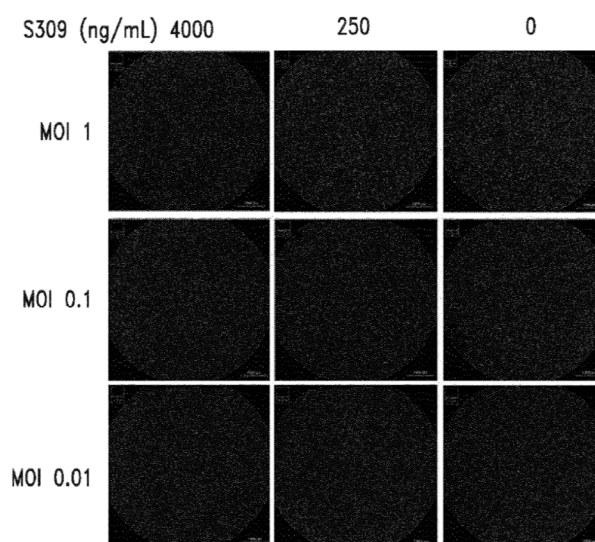
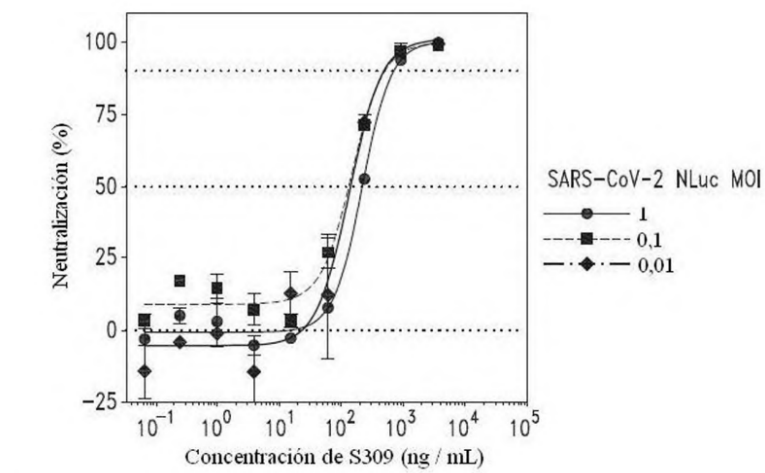


FIG. 48A



	1	0,1	0,01
IC50	233,0	156,5	142,8

FIG. 48B

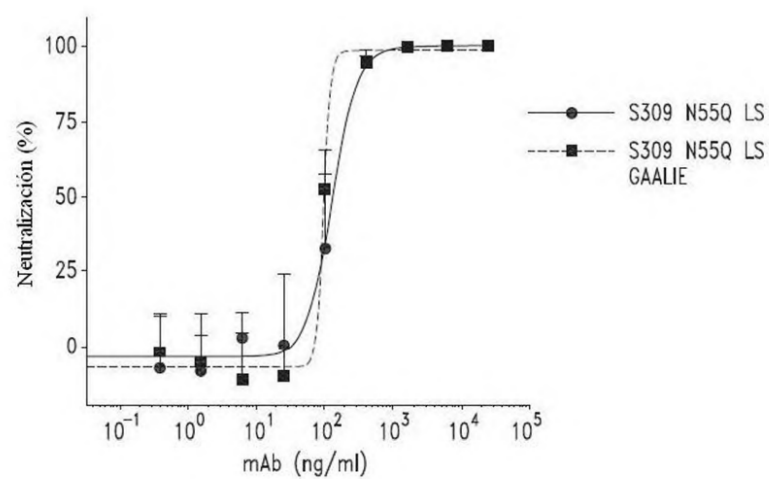


FIG. 49

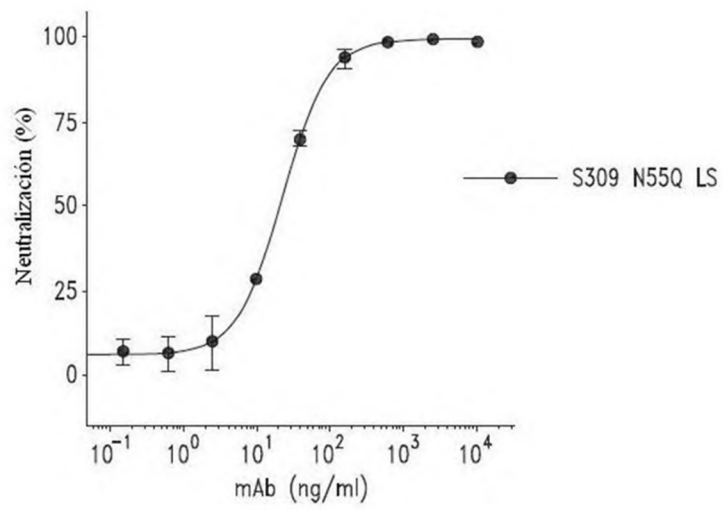


FIG. 50A

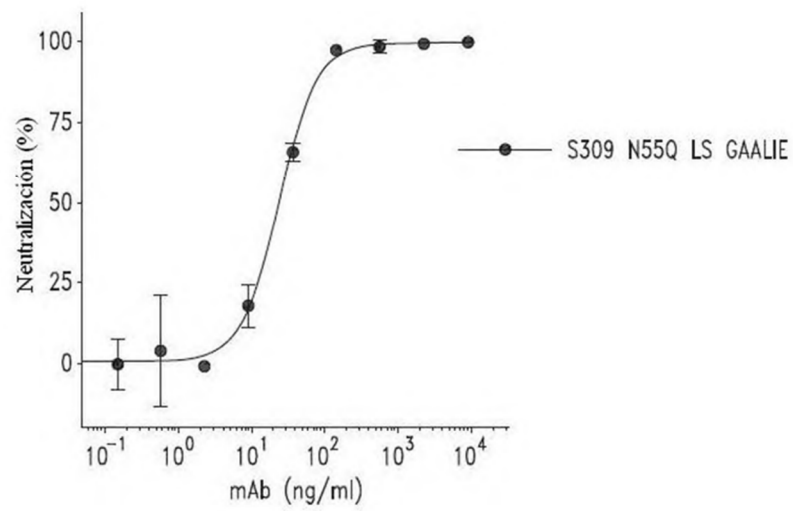


FIG. 50B

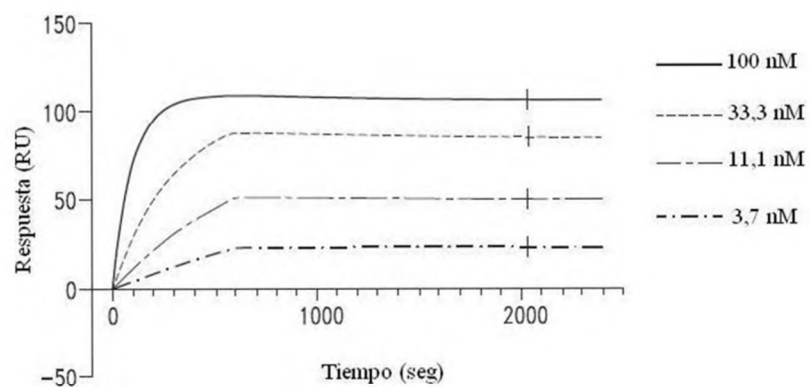


FIG. 51A

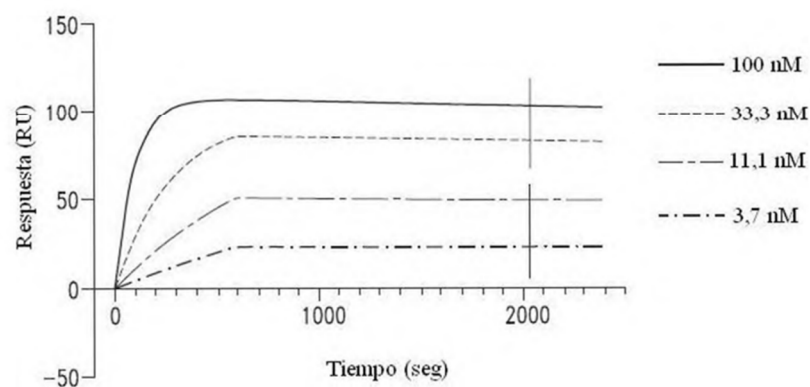


FIG. 51B

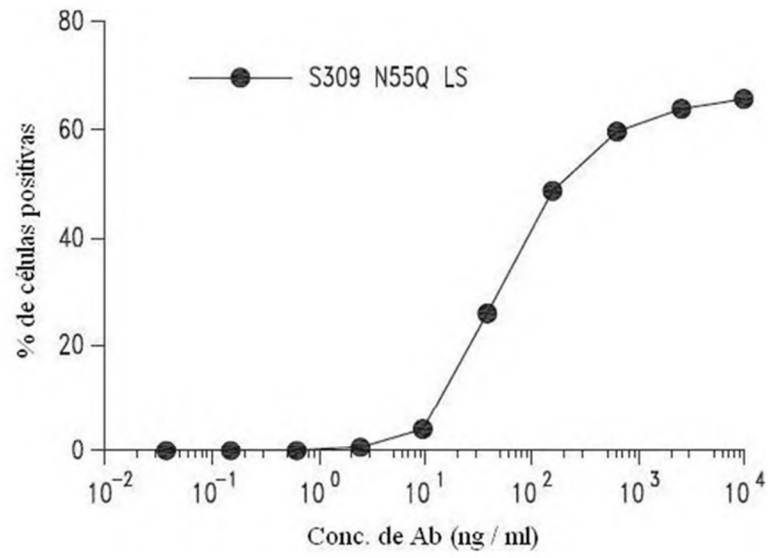


FIG. 52A

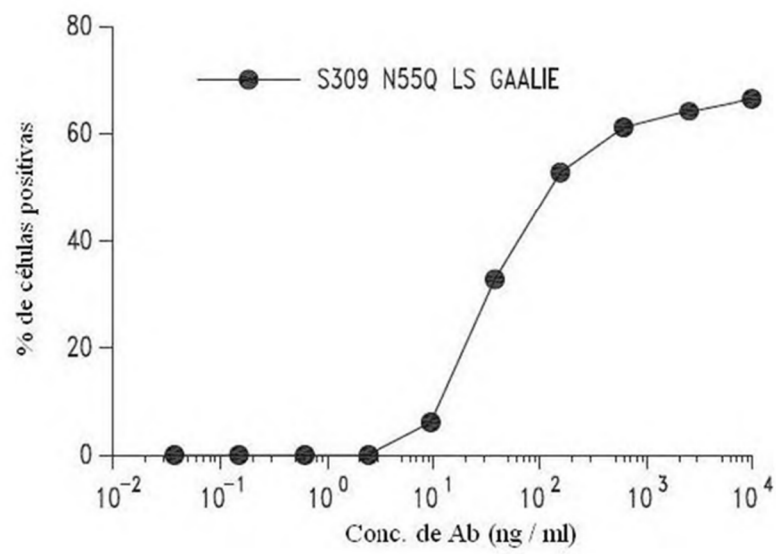


FIG. 52B

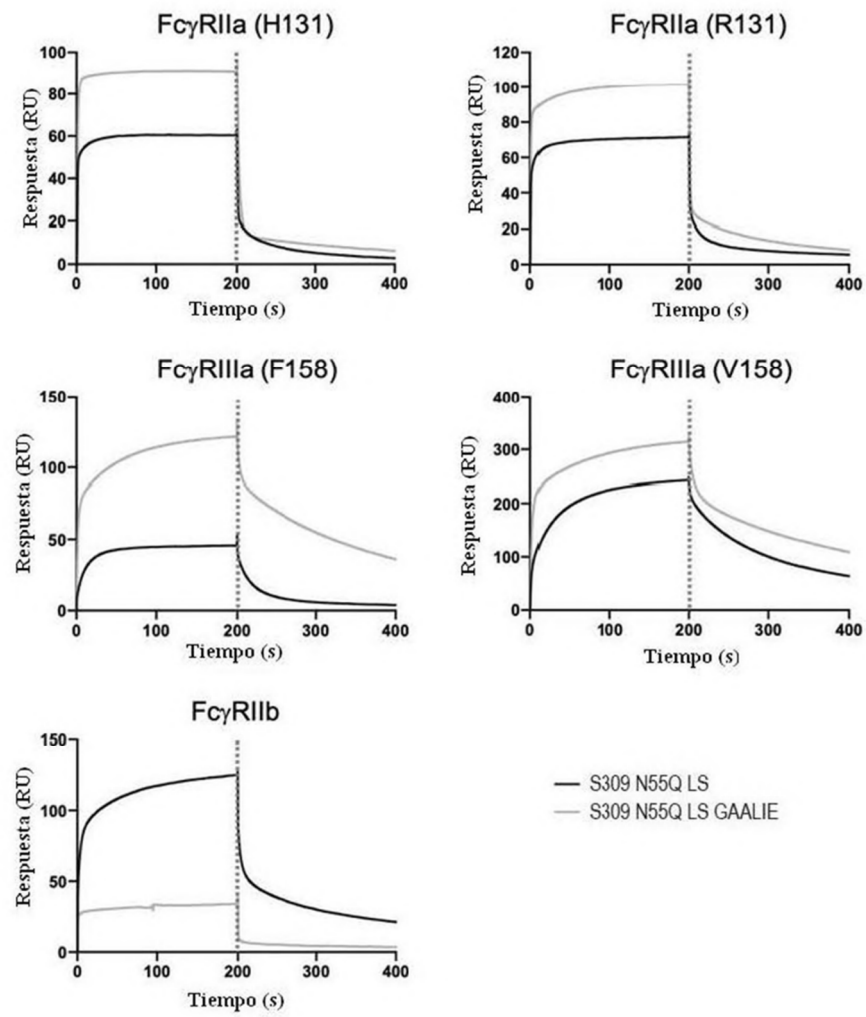


FIG. 53

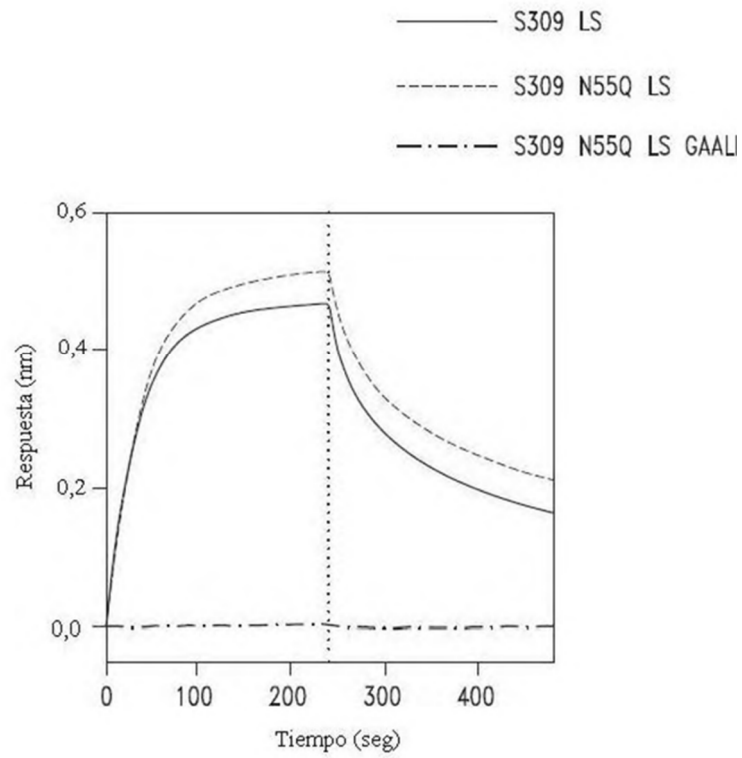


FIG. 54

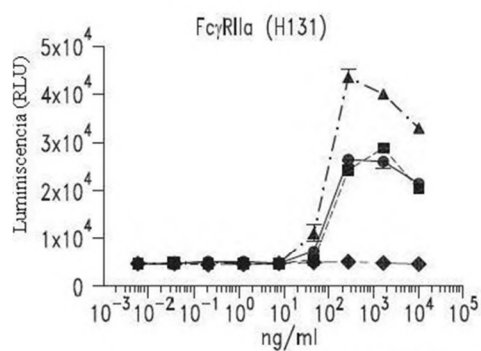


FIG. 55A

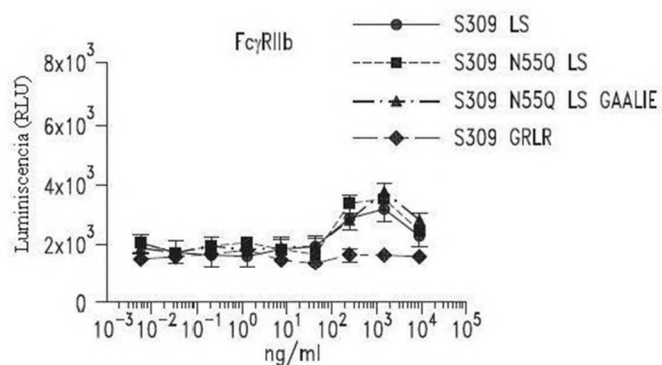


FIG. 55B

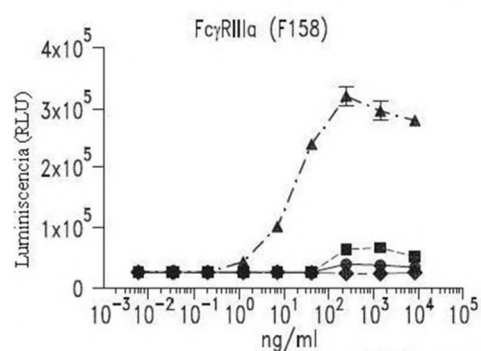


FIG. 55C

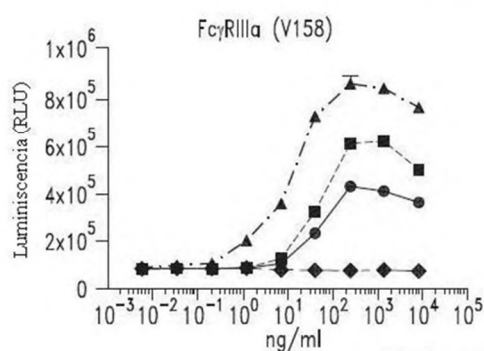


FIG. 55D

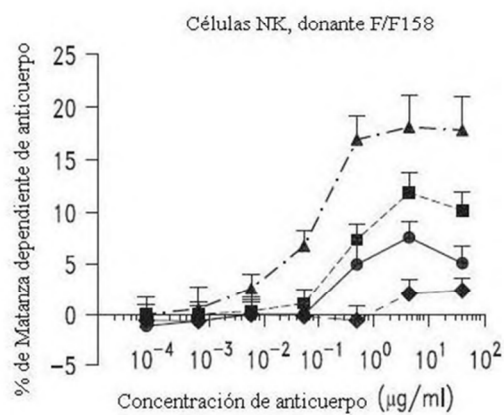
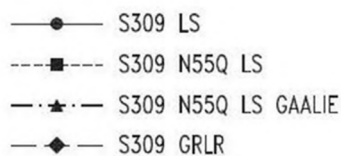


FIG. 56A

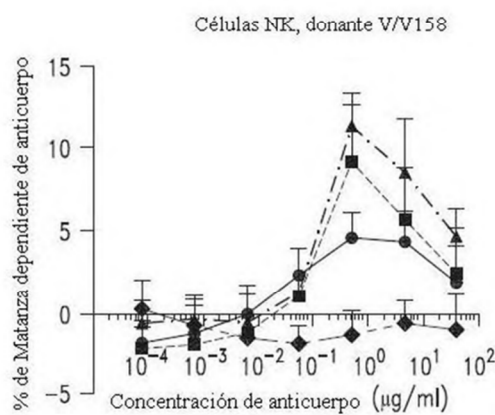


FIG. 56B

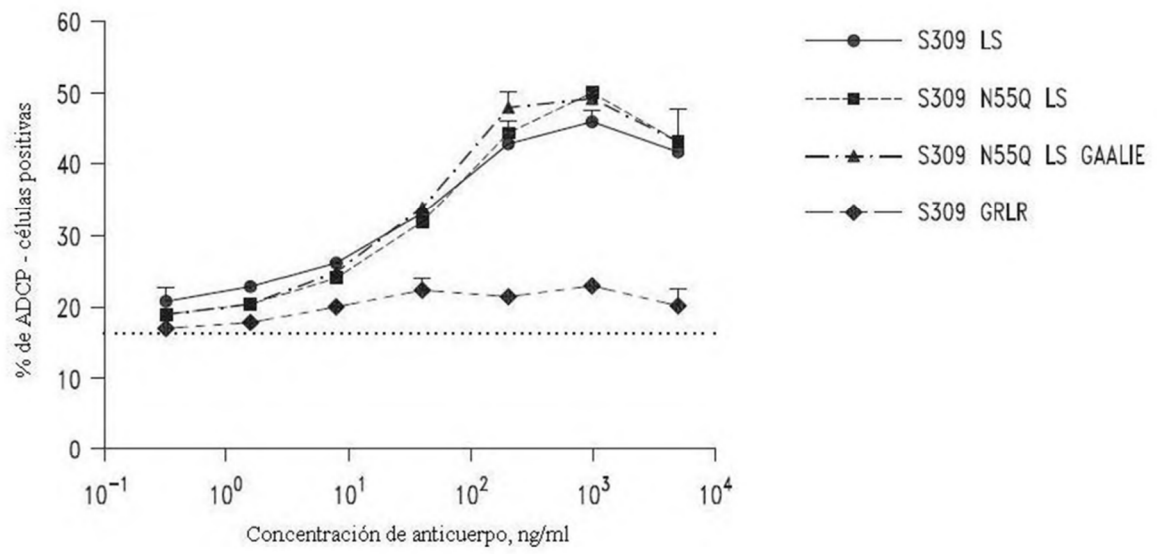


FIG. 57

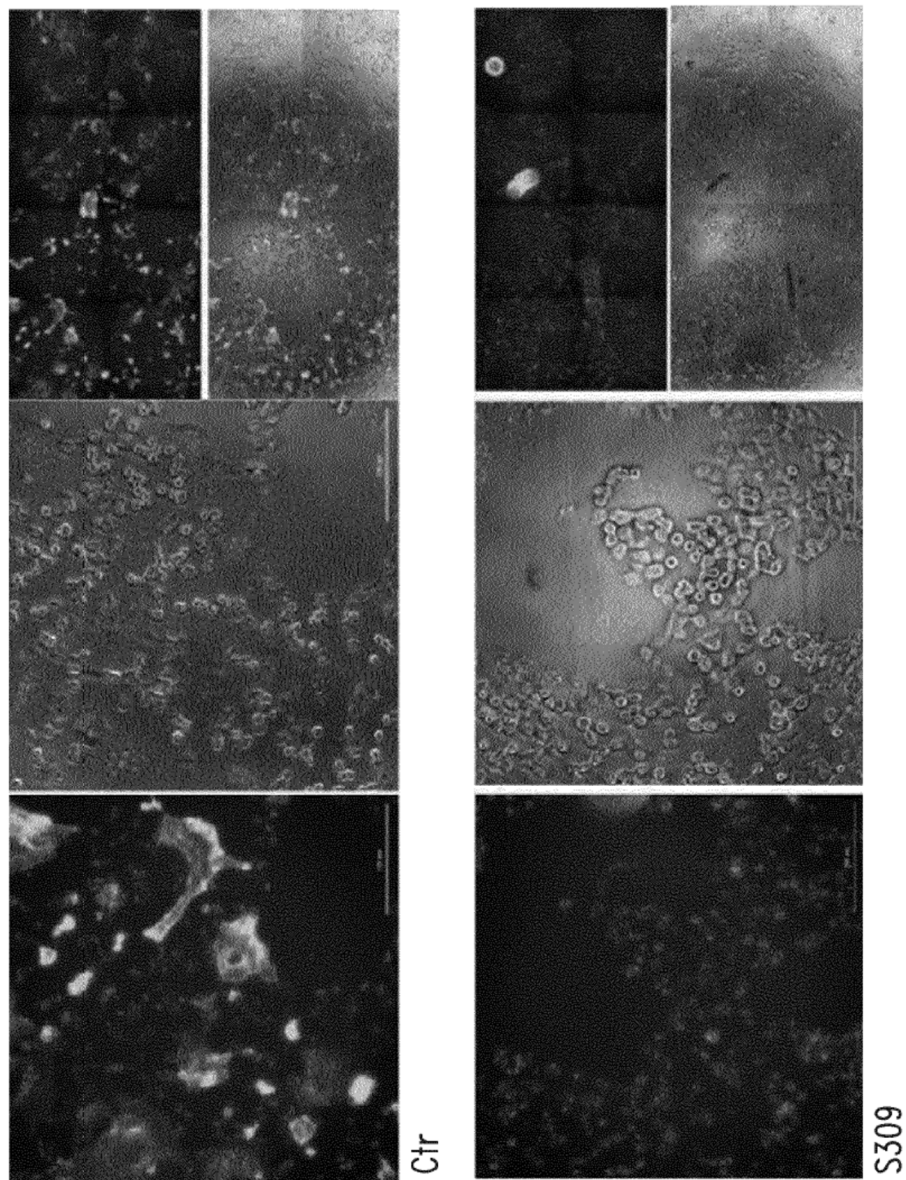


FIG. 58A

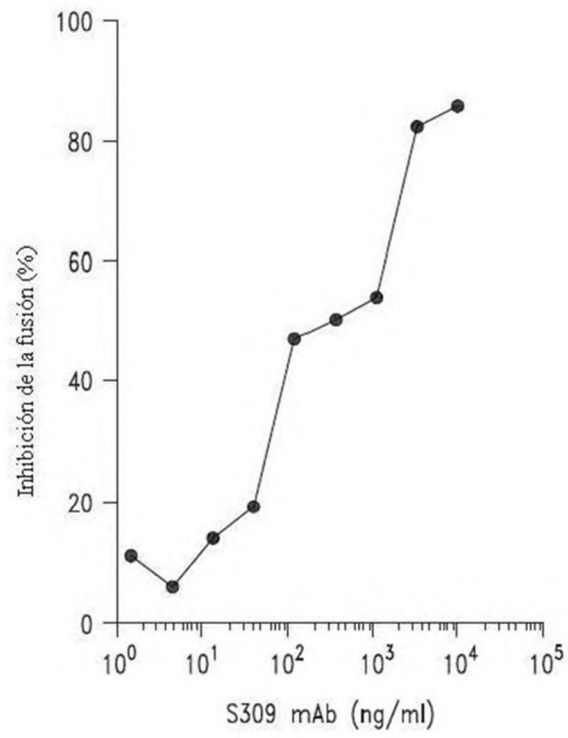


FIG. 58B

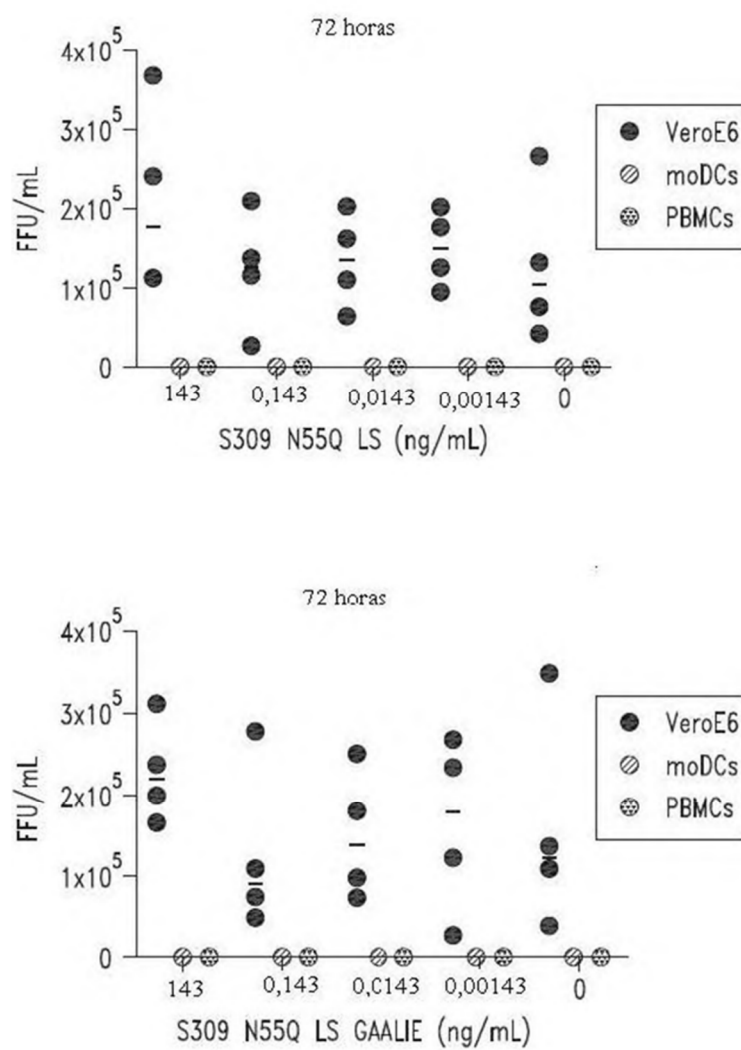


FIG. 59

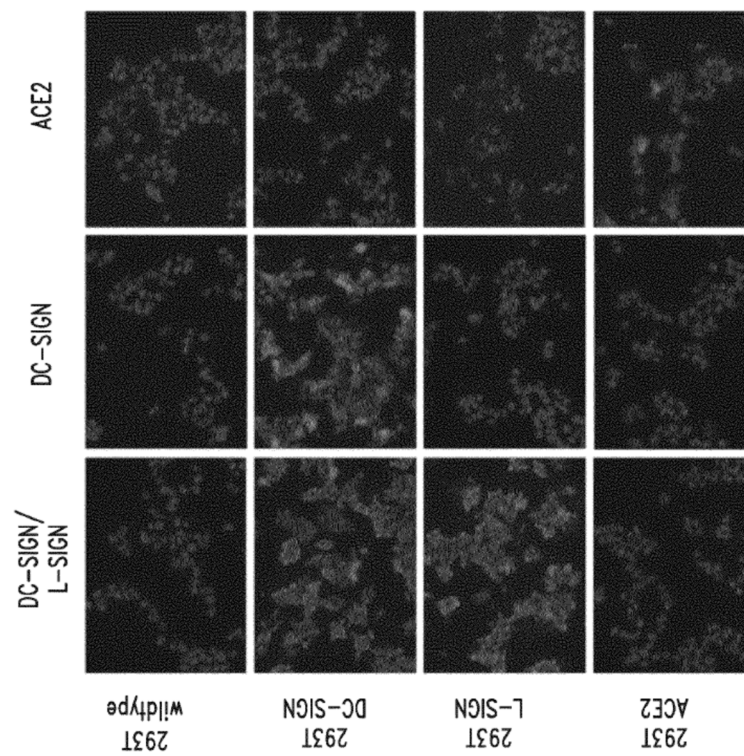


FIG. 60

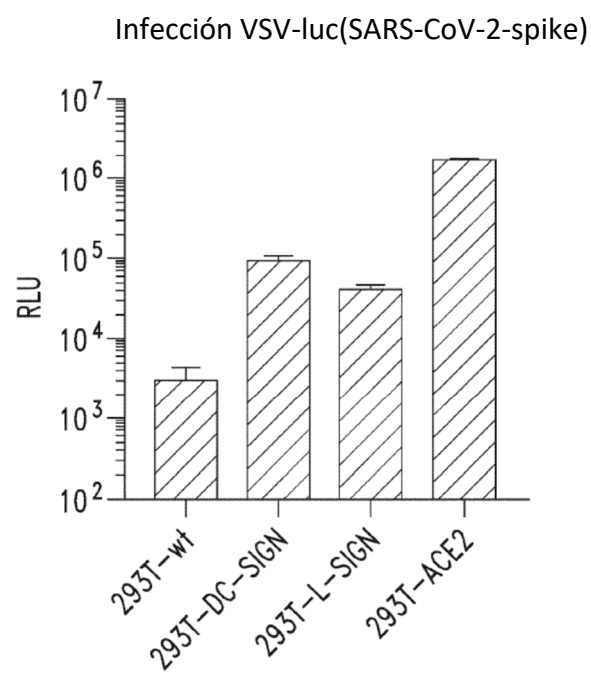


FIG. 61

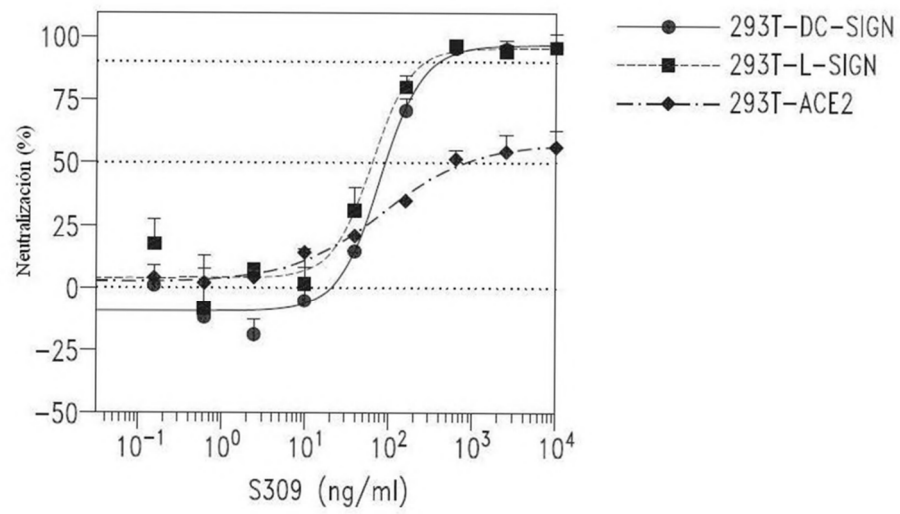


FIG. 62

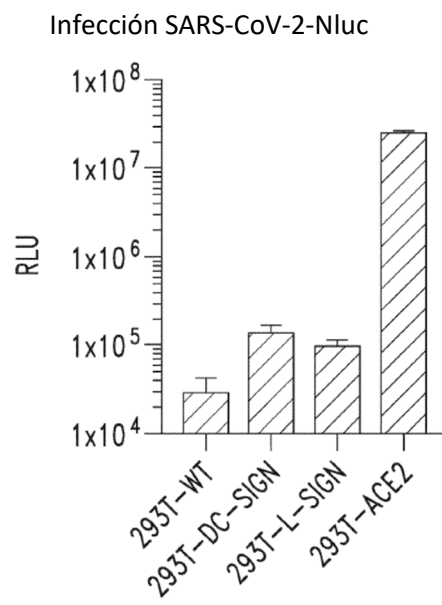


FIG. 63

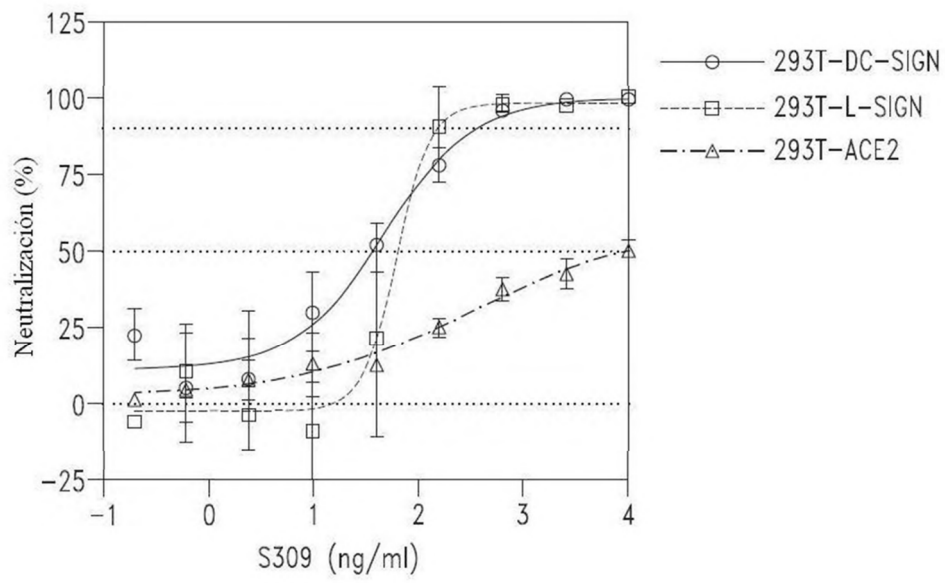


FIG. 64

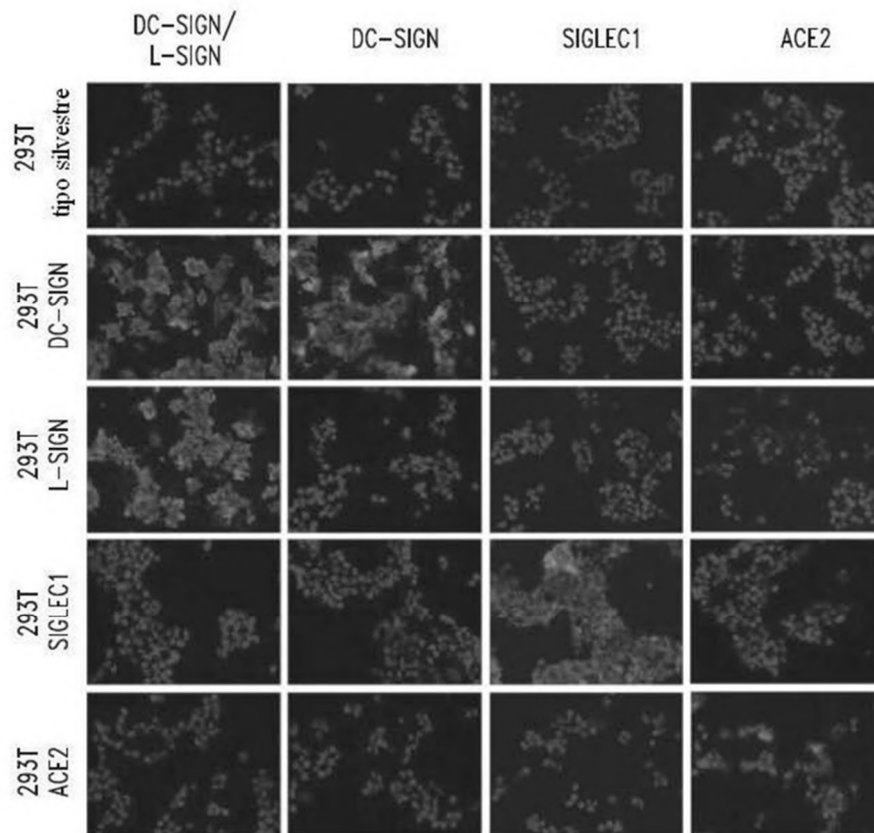


FIG. 65

Infección SARS-CoV-2-Nluc

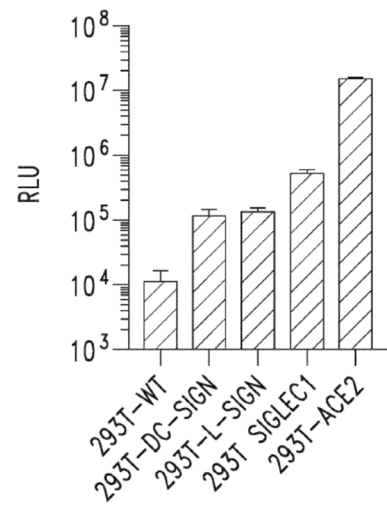


FIG. 66

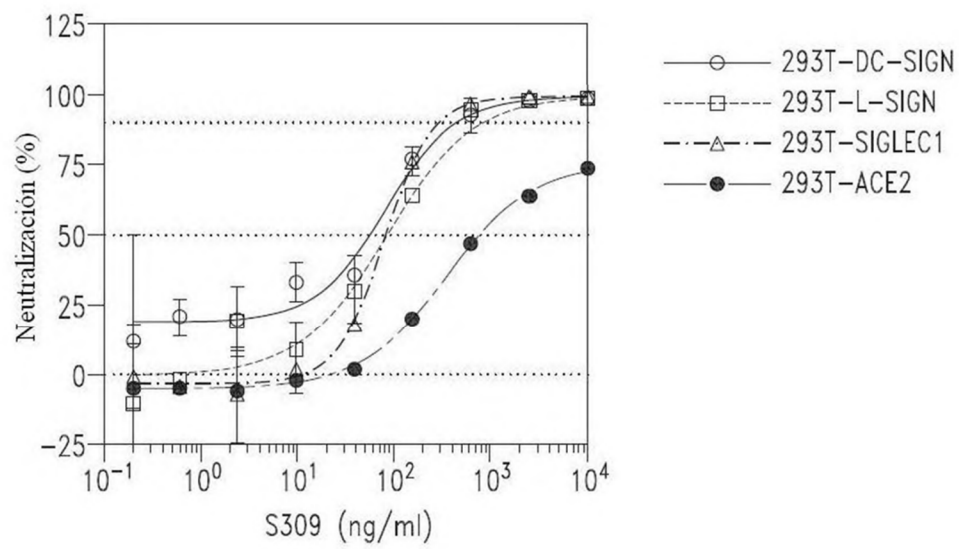


FIG. 67

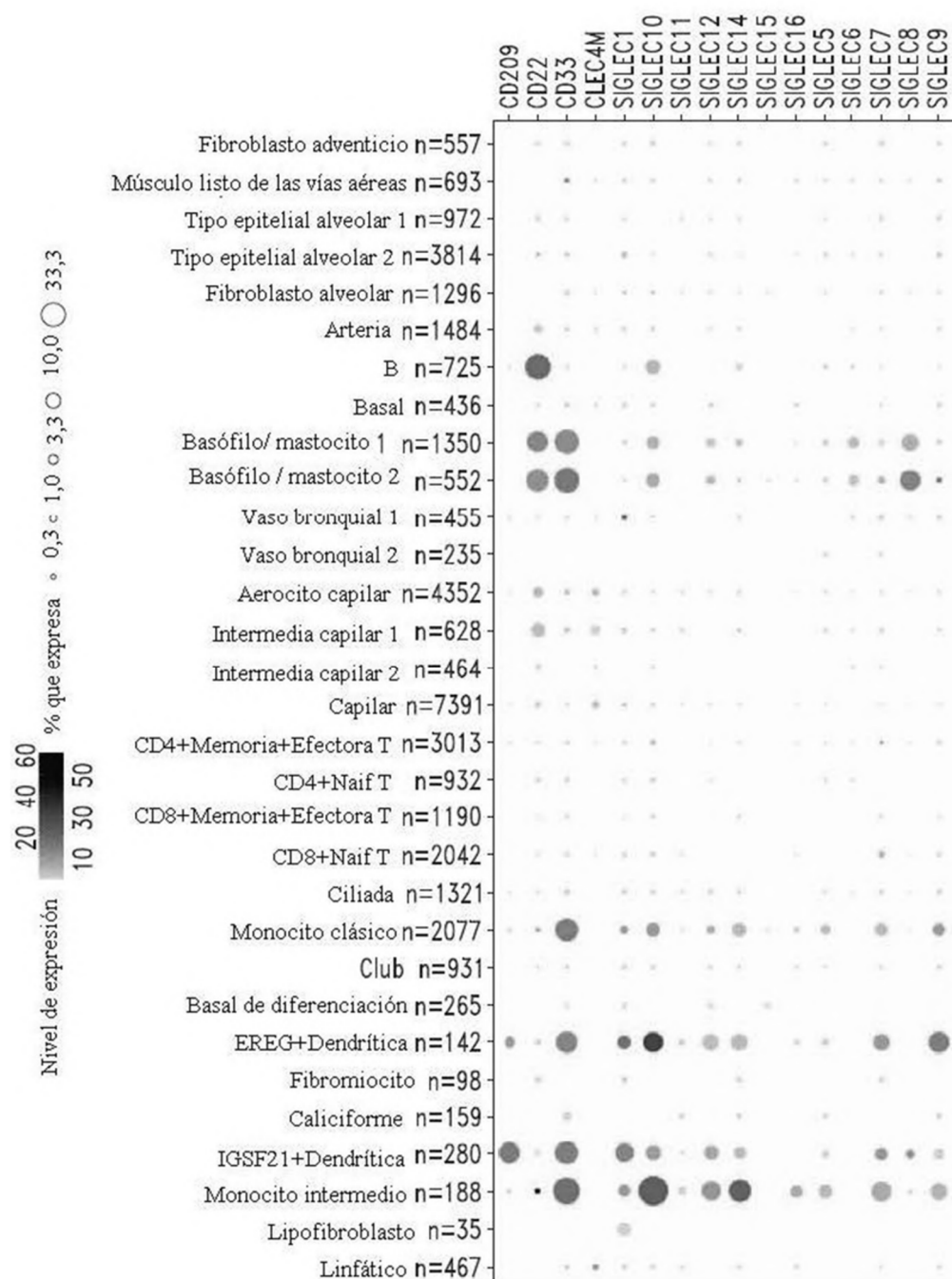


FIG. 68A

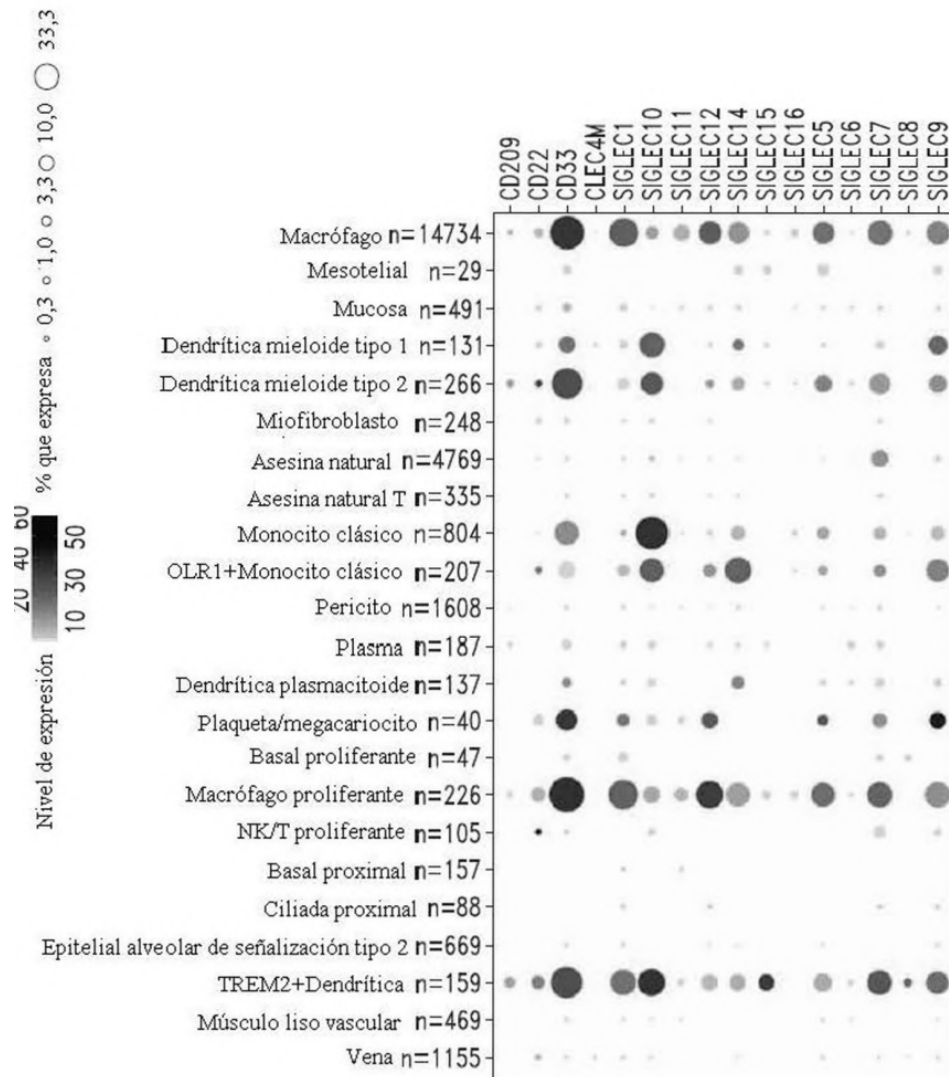


FIG. 68B

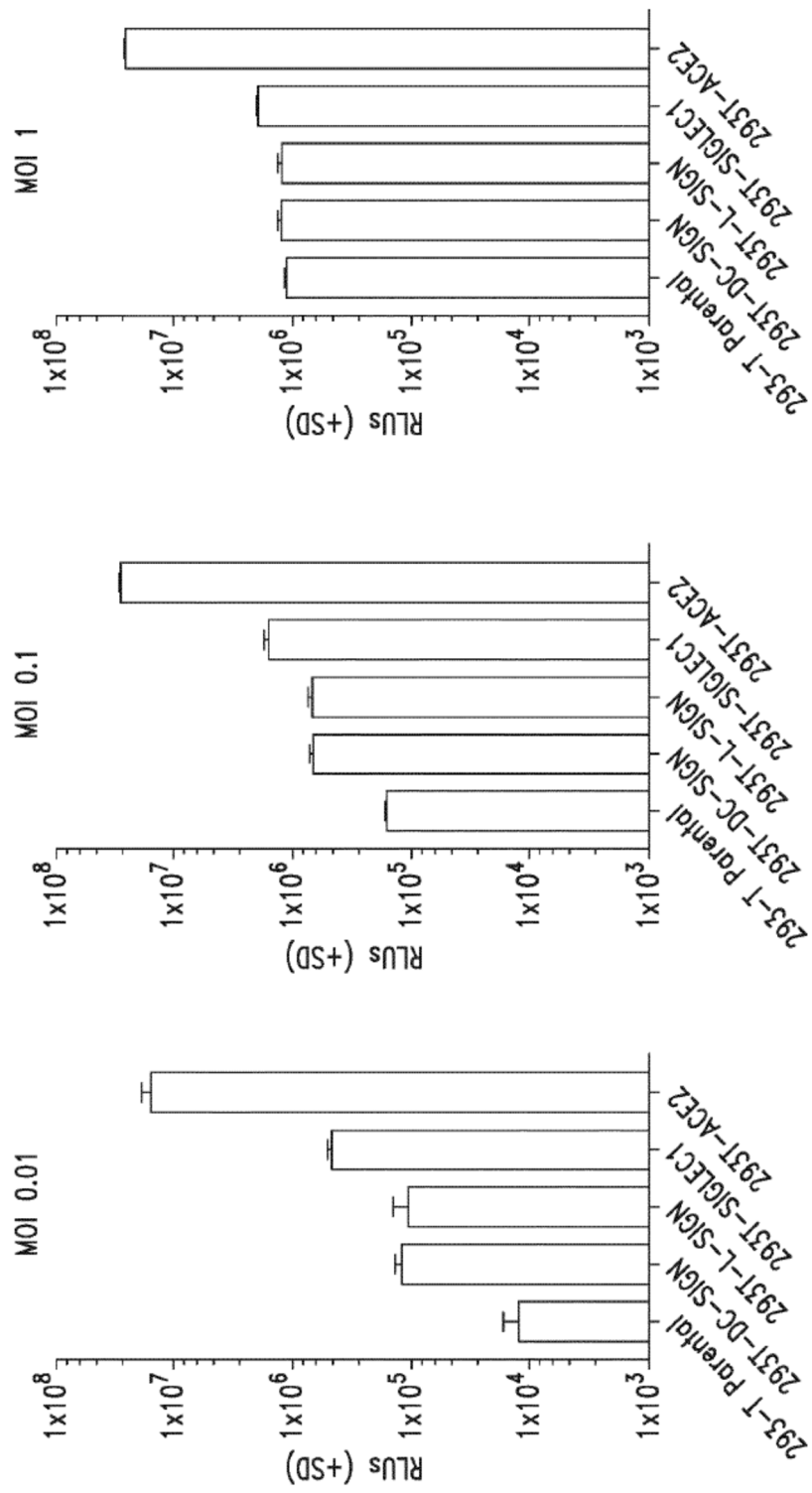


FIG. 69

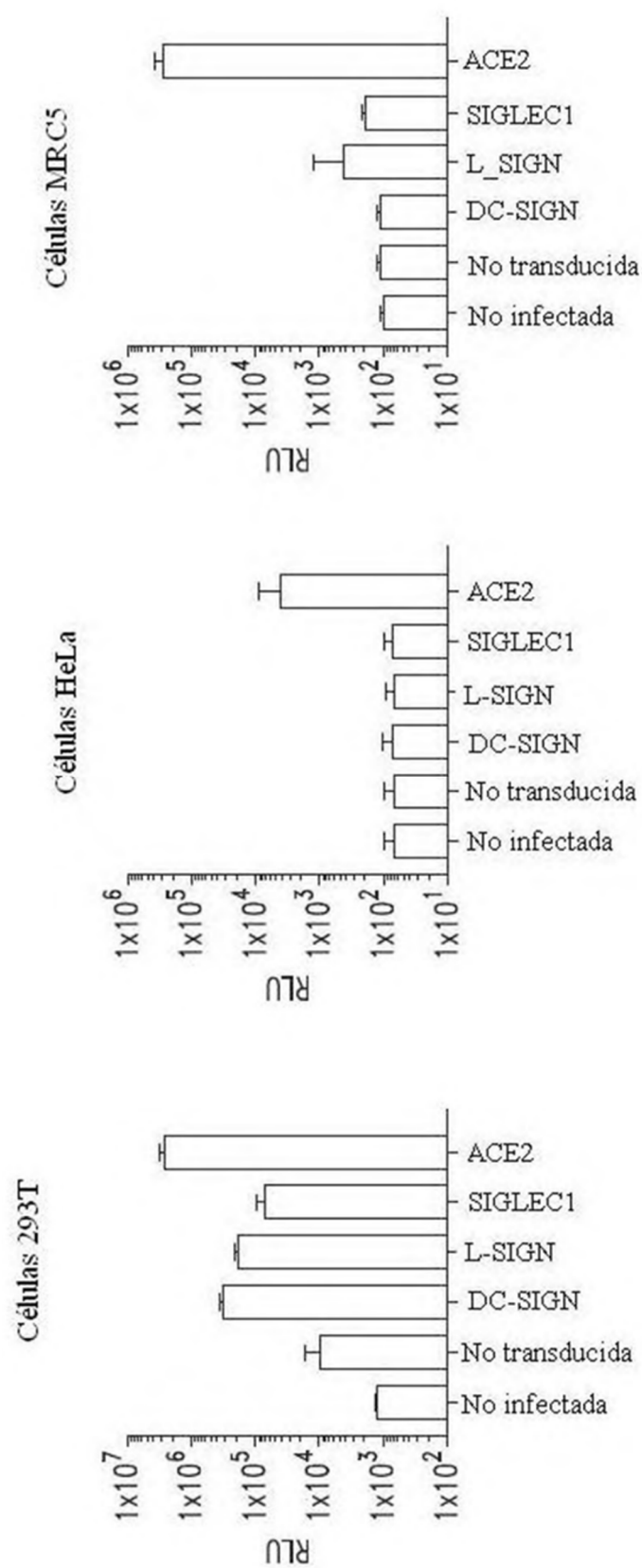


FIG. 70

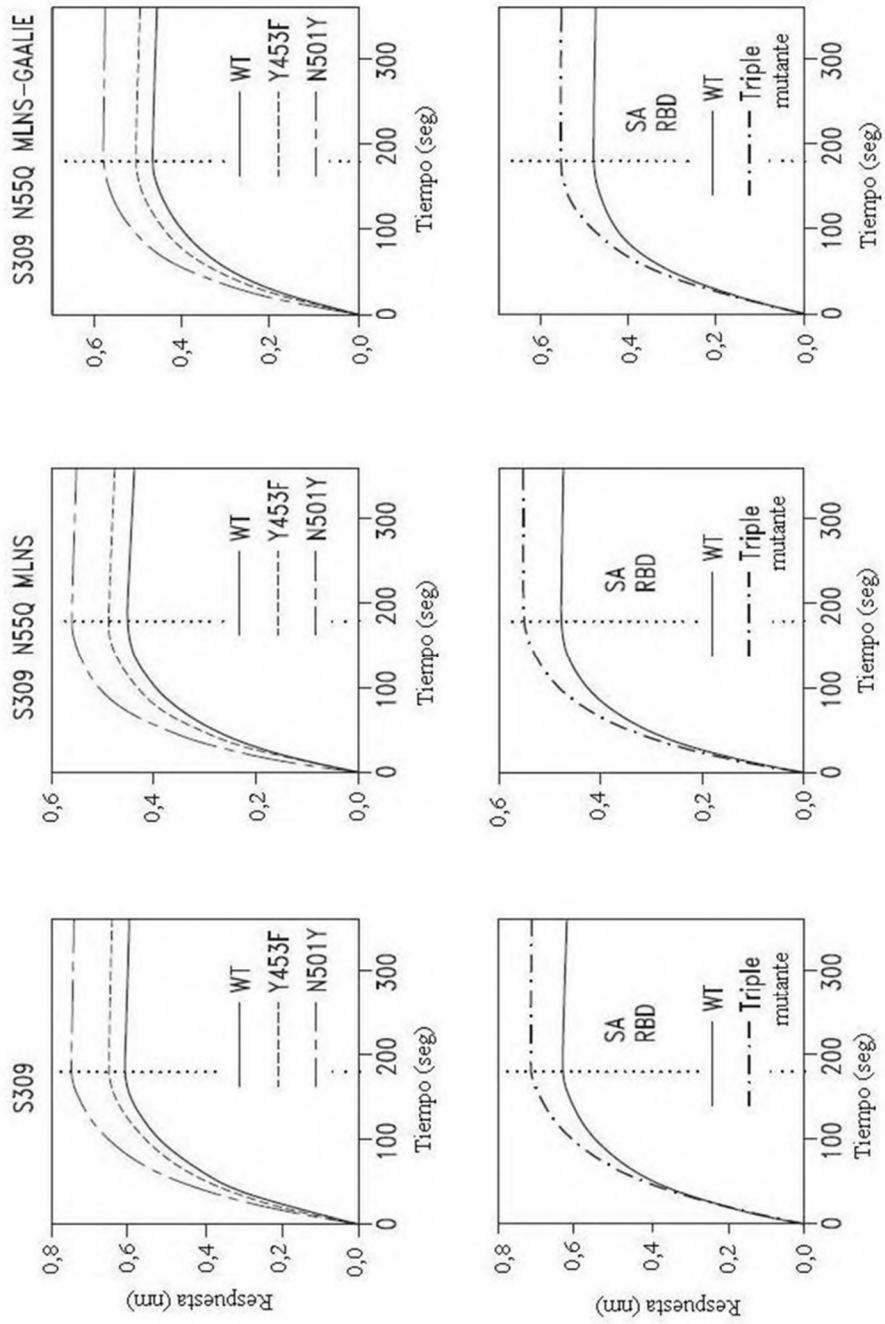


FIG. 71A

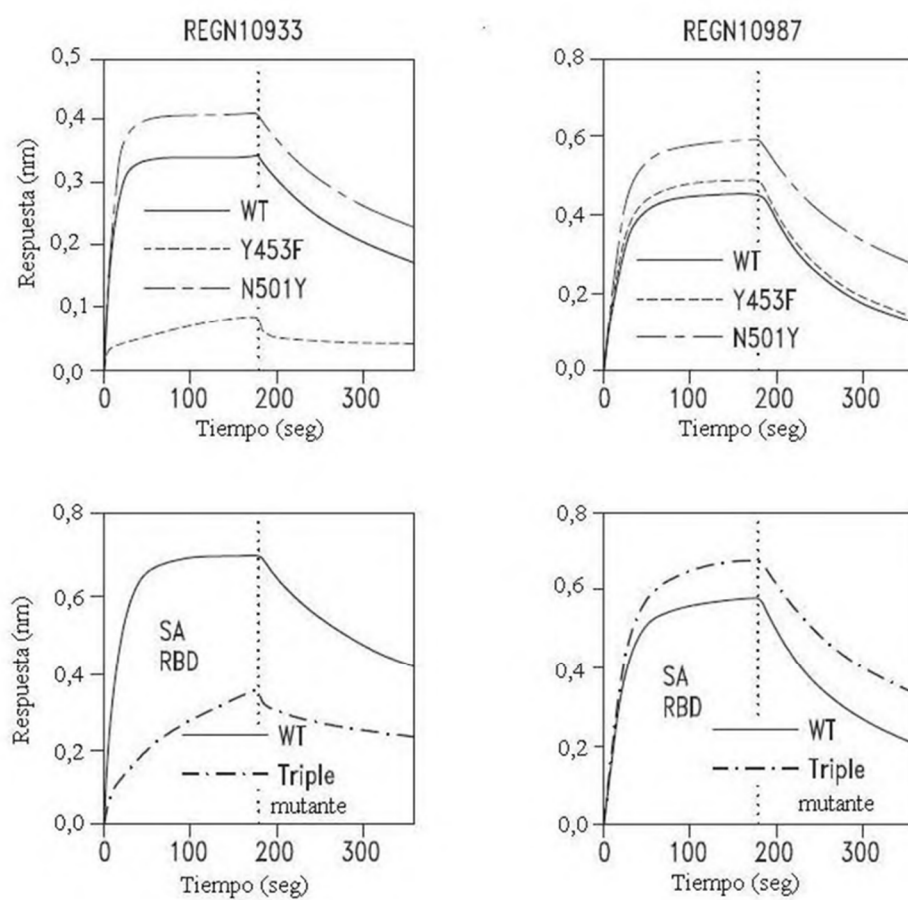


FIG. 71B

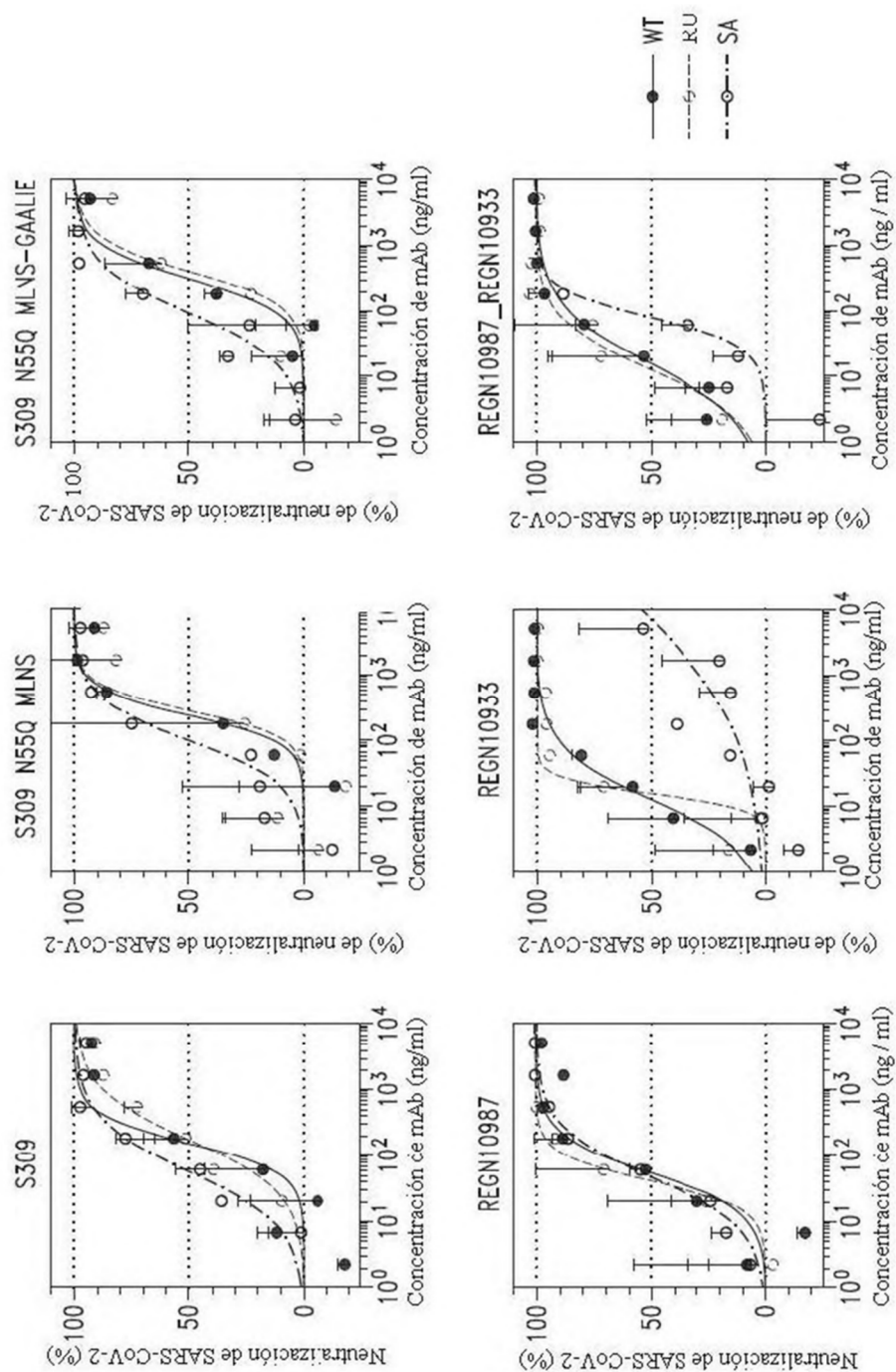


FIG. 72

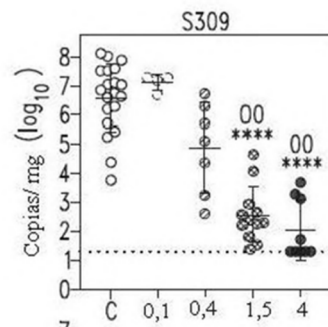


FIG. 73A

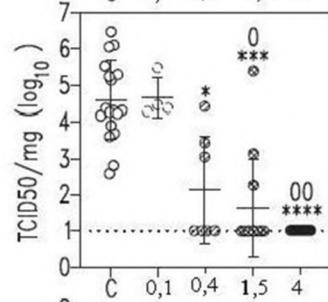


FIG. 73B

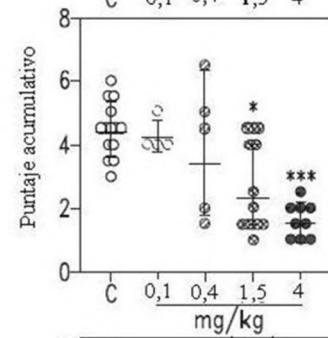


FIG. 73C

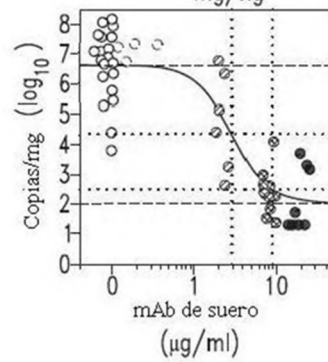


FIG. 73D