

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA
“ALBERTO CAZORLA TALLERI”



**DISEÑO *IN SILICO* DE NANOANTICUERPOS CONTRA LA
REGIÓN RBD DE LA PROTEÍNA *SPIKE* DEL SARS-CoV-2**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

TESISTAS:

JORGE RODRIGO LUNA PIEDRA
EDUARDO DANIEL GARCÍA CHACALIAZA

ASESOR:

Dr. DANIEL GUERRA GIRALDEZ

LIMA-PERÚ

2022

preferencias

Procesado el: 15-may.-2023 02:17 -05
Identificador: 2093524840
Informe de Originalidad Número de palabras: 18416
Entregado: 1

Diseño in silico de nanoanticuerpos contra la...

Índice de similitud 4%	Similitud según fuente	
	Internet Sources:	4%
	Publicaciones:	2%
	Trabajos del estudiante:	N/A

Visualizador de documentos

Por Abc Def

excluir citas | incluir bibliografía | excluir las coincidencias menores

modo: mostrar las coincidencias más significativas juntas

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA "ALBERTO CAZORLA TALLERÍ" DISEÑO IN SILICO DE NANOANTICUERPOS CONTRA LA REGIÓN RBD DE LA PROTEÍNA **16**

SPIKE DEL SARS-CoV-2 TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIATURA EN **1**

BIOLOGÍA TESISTAS: JORGE RODRIGO LUNA PIEDRA EDUARDO DANIEL GARCÍA CHACALIAZA ASESOR: Dr. DANIEL GUERRA GIRALDEZ LIMA-PERÚ 2022 Índice Índice

1. Resumen **13**

5 2. Abstract.....

6 3. Introducción.....

7 3.1 Marco teórico

8 3.1.1 Características y aplicaciones de anticuerpos

- 1 1% coincidencia (Internet desde 25-sept.-2022) <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/isAllowed=y&sequence=1>
- 2 < 1% coincidencia () [Peña González, Camilo Andrés. "Estudio computacional de la interacción de antibióticos tipo quinolonas con su enzima blanco ADN girasa y sus implicaciones en la resistencia bacteriana de Pseudomonas aeruginosa". 2015](#)
- 3 < 1% coincidencia (Internet desde 20-feb.-2023) <https://patents.google.com/patent/ES232877>
- 4 < 1% coincidencia (Internet desde 11-feb.-2023) <https://patents.google.com/patent/WO20030>
- 5 < 1% coincidencia (Internet desde 23-ene.-2023) <https://patents.google.com/patent/ES266103>
- 6 < 1% coincidencia (Internet desde 15-ene.-2023) <https://patents.google.com/patent/ES270354>
- 7 < 1% coincidencia (Internet desde 15-ene.-2023) <https://patents.google.com/patent/ES275843>
- 8 < 1% coincidencia () [Jones-Cifuentes, Nathalia Andrea, Peña-López, Brinita Ofelia, Bincón, Oscar](#)

Índice

Índice	3
1. Resumen	6
2. Abstract.....	7
3. Introducción.....	8
3.1 Marco teórico	9
3.1.1 Características y aplicaciones de anticuerpos	9
3.1.2 Estructura y generación de los nanoanticuerpos	10
3.1.3 El diseño <i>in silico</i> de anticuerpos	12
3.1.4 Mutaciones en SARS-CoV-2.....	14
3.2 Planteamiento del problema.....	15
3.3 Justificación del estudio	16
4. Pregunta de investigación.....	17
5. Objetivos.....	17
5.1 Objetivo general	17
5.2 Objetivos específicos	17
6. Materiales y métodos.....	18
6.1 Recolección y selección de estructuras iniciales.....	18
6.2 Hardware y Software.....	19
6.3 Comandos y modificaciones a estructuras	19
6.3.1 Mediciones de energía.....	19
6.3.2 Aplicación de mutaciones puntuales con el protocolo de <i>Sequence Design</i> ..	20
6.3.3 Reemplazo de CDRs con el protocolo de <i>Graft Design</i>	21
6.4 Análisis de estructuras.....	21
6.4.1 Análisis de modificaciones <i>in silico</i>	21
6.4.2 Estimación de la calidad de los modelos	22

6.4.3	Modelamiento alternativo de las estructuras finales	23
6.4.4	Análisis de interfaz epítopo-parátopo.....	23
7.	Resultados.....	25
7.1	Aproximación por modificación de nanoanticuerpos para aumentar su afinidad por variantes de RBD	26
7.1.1	Construcción de complejos antígeno-nanoanticuerpo.....	26
7.1.2	Análisis de efectos de relajación en los nuevos complejos	27
7.1.3	Diseño de estructuras por <i>Sequence Design</i> para la variante P.1	31
7.1.4	Diseño de estructuras por <i>Sequence Design</i> para las variantes B.1.351 y B.1.1.7	32
7.1.5	Diseño de estructuras por <i>Sequence Design</i> para el RBD referencia.....	32
7.1.6	Evaluación de energía de interfaz de las secuencias descubiertas	32
7.1.7	Evaluación visual de las modificaciones introducidas	34
7.1.8	Estimación de la calidad de los modelos	37
7.1.9	Modelamiento de estructuras finales	38
7.2	Aproximación por camelización del VH de un anticuerpo convencional IgG	38
7.2.1	Preparación de estructura y camelización de VH de anticuerpo convencional IgG.....	38
7.2.2	Diseño de estructuras por <i>Graft Design</i> al CDR-H3	43
7.2.3	Optimización de estructuras con <i>Sequence Design</i>	46
7.2.4	Evaluación de energía por mutaciones puntuales en estructuras obtenidas por <i>Sequence Design</i> de VH 197	49
7.2.5	Estimación de la calidad de los modelos	50
7.2.6	Medición de área de interfaz epítopo-parátopo	50
7.2.7	Evaluación visual de las modificaciones introducidas	51
7.2.7	Modelamiento de estructuras finales	53
8.	Discusión	54

Estructuras iniciales	54
Diversidad de las estructuras descubiertas	54
Verosimilitud de las estructuras finales	55
La interpretación del <i>score</i> calculado	56
Efecto de la camelización en la interfaz antígeno-anticuerpo.....	57
Efecto de las restricciones al <i>Graft Design</i>	58
Perspectivas futuras.....	59
9. Conclusiones.....	61
10. Referencias bibliográficas.....	62
11. Anexos	67
Anexo 1: Secuencias de estructuras generadas por <i>Graft Design</i>	67
Anexo 2: Estimación de la calidad de los modelos	94
Anexo 3: Modelamiento de estructuras finales	98

1. Resumen

Los nanoanticuerpos son una categoría de anticuerpos de un solo dominio con muchas aplicaciones en investigación, diagnóstico y tratamientos. Estos son fácilmente expresables en microorganismos como bacterias y levaduras y poseen una alta estabilidad, permitiéndoles mantener su estructura aún sin cadena de frío (1, 2, 3). Sin embargo, el método convencional de descubrimiento de nuevos nanoanticuerpos requiere una gran cantidad de recursos y tiempo (4).

Por otro lado, la aparición de mutaciones en antígenos, como en la región RBD de la proteína *Spike* del virus SARS-CoV-2 que ocasionan pérdida de afinidad de los anticuerpos (5), son un ejemplo de cómo los patógenos emergentes pueden demandar rápidamente el desarrollo de nuevos tratamientos y métodos de detección.

Teniendo estos factores en cuenta, consideramos que una técnica de diseño *in silico* podría complementar y acelerar el descubrimiento de nanoanticuerpos, así como se realiza para métodos *in vivo* e *in vitro* establecidos para el descubrimiento de anticuerpos convencionales IgG (6, 7, 8).

En este trabajo proponemos dos estrategias basadas en programas bioinformáticos de uso libre y la modificación de estructuras conocidas de proteínas. La primera se enfoca en el descubrimiento de nanoanticuerpos afines al RBD de variantes de SARS-CoV-2 y la segunda en el descubrimiento de nanoanticuerpos afines al RBD de la cepa referencia de SARS-CoV-2 a partir de un VH camelizado de anticuerpo convencional IgG afín al mismo antígeno.

Mediante dichas estrategias se generaron 500 nanoanticuerpos por cada epítipo elegido, que fueron evaluados utilizando programas orientados a la estimación de la afinidad, estimación de la calidad de modelos estructurales y modelamiento de proteínas. Finalmente, se obtuvieron 2 nanoanticuerpos con alta afinidad a la región RBD de la variante P.1 de SARS-CoV-2 y 14 con alta afinidad a la región RBD de la cepa referencia de SARS-CoV-2, las cuales se proponen para ensayar *in vitro* y así validar las estrategias utilizadas.

Palabras clave: Nanoanticuerpo, SARS-CoV-2, RosettaAntibodyDesign, CDR, diseño *in silico*

2. Abstract

Nanobodies are a type of single domain synthetic antibodies with many applications in research, diagnostics and treatments. These are easily expressed in microorganisms such as bacteria and yeasts and have high stability, allowing them to keep their structure even without cold chain (1, 2, 3). However, the conventional method of nanobody discovery requires a great number of resources and time (4).

On the other hand, mutations that cause the loss of antibody affinity, such as the case with the RBD of the Spike protein of SARS-CoV-2 (5), are an example of how the rapid development of treatments and detection methods are particularly necessary for newly emerging pathogens.

Having these factors in mind, we propose that an *in silico* design technique could complement and accelerate nanobody discovery, as it currently does for already established *in vivo* and *in vitro* methods for conventional IgG antibody discovery (6, 7, 8). In this project two strategies based on free access bioinformatic programs and the modification of known protein structures are proposed. The first is focused on nanobody discovery with high affinity to the RBD region of SARS-CoV-2 variants, while the second one is focused on nanobody discovery with high affinity to the reference strains of SARS-CoV-2, through the camelization of a VH of a conventional IgG antibody with affinity to the same antigen.

Through these methods, 500 nanobodies were generated for each epitope and were analyzed with programs used for the estimation of their affinities towards the antigen, the quality of the generated model and protein modelling from scratch. Ultimately, 2 nanobodies with high affinity for the RBD of the P.1 variant of SARS-CoV-2 and 14 nanobodies with high affinity to the RBD of the reference strain of SARS-CoV-2 were obtained. We propose the *in vitro* assessment of these 16 structures in order to validate the methods here followed.

Keywords: Nanobody, SARS-CoV-2, RosettaAntibodyDesign, CDR, *in silico* design

3. Introducción

En los últimos dos años ha sido evidente la necesidad de acelerar el diseño de herramientas que nos ayuden a tratar con virus y enfermedades emergentes. Una de estas herramientas son los nanoanticuerpos, los cuales ofrecen numerosas aplicaciones en el campo de la investigación y medicina (1,2,3). Consideramos que los métodos convencionales actuales para la generación y descubrimiento de nanoanticuerpos, a pesar de resultar exitosos, requieren una gran cantidad de recursos y tiempo para poder llevarse a cabo; esto incluye la inmunización de un camélido, extracción de ARN y la identificación de la secuencia deseada (4). Para ofrecer alternativas a este proceso, hemos planteado dos métodos basados en herramientas informáticas de libre acceso que podrían contribuir al descubrimiento de estas moléculas de manera rápida.

La primera aproximación que proponemos tiene como situación de inicio a la estructura de un nanoanticuerpo con afinidad comprobada experimentalmente por el RBD (*Receptor Binding Domain*) de la proteína *Spike* de la cepa referencia de SARS-CoV-2, y se plantea la necesidad de producir nuevas moléculas con afinidad a variantes de este virus. Para esto, se reemplazará el antígeno por el RBD de la proteína *Spike* de las variantes P.1, B.1.351 y B.1.1.7 y se intentará aumentar la afinidad del nanoanticuerpo mediante modificaciones puntuales utilizando el software RAbD.

La segunda aproximación se basa en la modificación del dominio VH de un anticuerpo humano con afinidad comprobada experimentalmente por el mismo antígeno y planteamos la tarea de convertirlo en una estructura semejante a la de un nanoanticuerpo. Se consideraron dos conjuntos de modificaciones, las cuales fueron: primero, el reemplazo de la interfaz hidrofóbica del VH (que normalmente está unida al dominio VL) por una superficie que proporcione la solubilidad requerida por un dominio VHH, y segundo, el alargamiento del lazo de interacción del CDR H3. El producto de estas modificaciones fue luego sometido a cambios en su secuencia de aminoácidos por el software RAbD para incrementar la afinidad de este candidato a nanoanticuerpo por su antígeno.

Presentaremos el flujo de trabajo desde la preparación de las estructuras de inicio para su manejo en Rosetta, la inserción de las modificaciones mencionadas mediante diferentes configuraciones de las herramientas ofrecidas por RAbD y PyMOL, y la evaluación de las mejores estructuras propuestas mediante diversos programas de acceso libre. Finalizaremos con una selección de estructuras considerando los criterios de afinidad y

calidad de modelos estimadas *in silico*, así como su modelamiento por programas distintos a Rosetta. Dichas estructuras serán propuestas para la comprobación de su afinidad *in vitro*.

Consideramos que los protocolos aquí presentados podrían aplicarse rápidamente en otra situación de rápida distribución y variación de un organismo infeccioso, tan pronto como alguna información estructural esté disponible. Los comandos que fueron aplicados se transcriben textualmente en la sección de metodología con la intención de que un futuro estudio pueda complementar lo aquí avanzado o que, frente a variaciones de este u otro patógeno, se pueda realizar un trabajo semejante con facilidad.

3.1 Marco teórico

3.1.1 Características y aplicaciones de anticuerpos

Los anticuerpos son proteínas producidas naturalmente por linfocitos B como parte de la respuesta inmune hacia antígenos. Estas moléculas están conformadas por dos cadenas, una pesada y una ligera, cada una conformada por una región constante y una variable. Como el nombre lo indica, las partes variables difieren entre diferentes anticuerpos y son las que les permiten reconocer a su antígeno específico. Si un anticuerpo entra en contacto con su antígeno específico, estos se unen formando una interfaz epítipo-parátipo. El epítipo es la región del antígeno en contacto directo con el anticuerpo y el parátipo es la región del anticuerpo en contacto directo con el antígeno (3).

La capacidad de los anticuerpos de poder reconocer a diferentes proteínas, como antígenos, permite que puedan ser utilizados en técnicas de detección molecular como inmunotinciones, ELISA, citometría de flujo, *western blot* e inmunoprecipitación (3). Asimismo, pueden diseñarse anticuerpos para el tratamiento de enfermedades específicas como cáncer de pulmón, cáncer de mamas, cáncer de colon, linfomas, leucemia, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, intoxicación por micotoxinas (3) y COVID-19 (10), entre otras.

El método generalmente utilizado para la generación de estos anticuerpos es la tecnología de hibridoma. Esta consiste en la fusión de un linfocito B productor de anticuerpos (proveniente de un humano o ratón previamente inmunizado) con una célula de una línea inmortalizada. Los anticuerpos generados por los hibridomas son seleccionados mediante una prueba de ELISA para evaluar el reconocimiento del anticuerpo por el antígeno (3).

3.1.2 Estructura y generación de los nanoanticuerpos

Los nanoanticuerpos son un tipo de anticuerpos conformados por un solo dominio. Estos se caracterizan por ser homólogos al dominio VH (llamado así por constituir la fracción variable de la cadena pesada, *Variable Heavy*) de anticuerpos convencionales IgG, llamado VHH en el caso de nanoanticuerpos (Fig.1). Estos dominios (tanto VH como VHH) están conformados por tres regiones de CDRs (*Complementary determining regions*): H1, H2 y H3 que se encargan de reconocer a los antígenos y una región llamada *framework* o "armazón" que conforma el resto del dominio. A pesar de estar conformados por un solo dominio, los nanoanticuerpos son capaces de realizar las funciones de anticuerpos convencionales IgG mencionadas anteriormente (reconocimiento de antígenos, servir de base en técnicas de detección molecular y tratamientos), manteniendo una alta especificidad y afinidad hacia su epítipo objetivo (11, 12).

Los nanoanticuerpos son generados a partir de la inmunización de camélidos (como *Lama glama*), puesto que estos son capaces de producir anticuerpos que naturalmente funcionan sin cadenas ligeras. Posteriormente, se extraen sus linfocitos para la obtención del ARN que codifica el fragmento VHH de estos anticuerpos. Luego, se realiza el *Phage display* para seleccionar el fragmento que tenga la mayor afinidad por el antígeno; el proceso completo tarda 70 días (4). Gracias a su simple estructura, los nanoanticuerpos pueden ser producidos mediante múltiples sistemas de expresión recombinante, al introducir dicha secuencia en *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia Pastoris* (13), *Escherichia coli* (14), *Nicotiana benthamiana* (15), *Ustilago maydis* (16), entre otros.

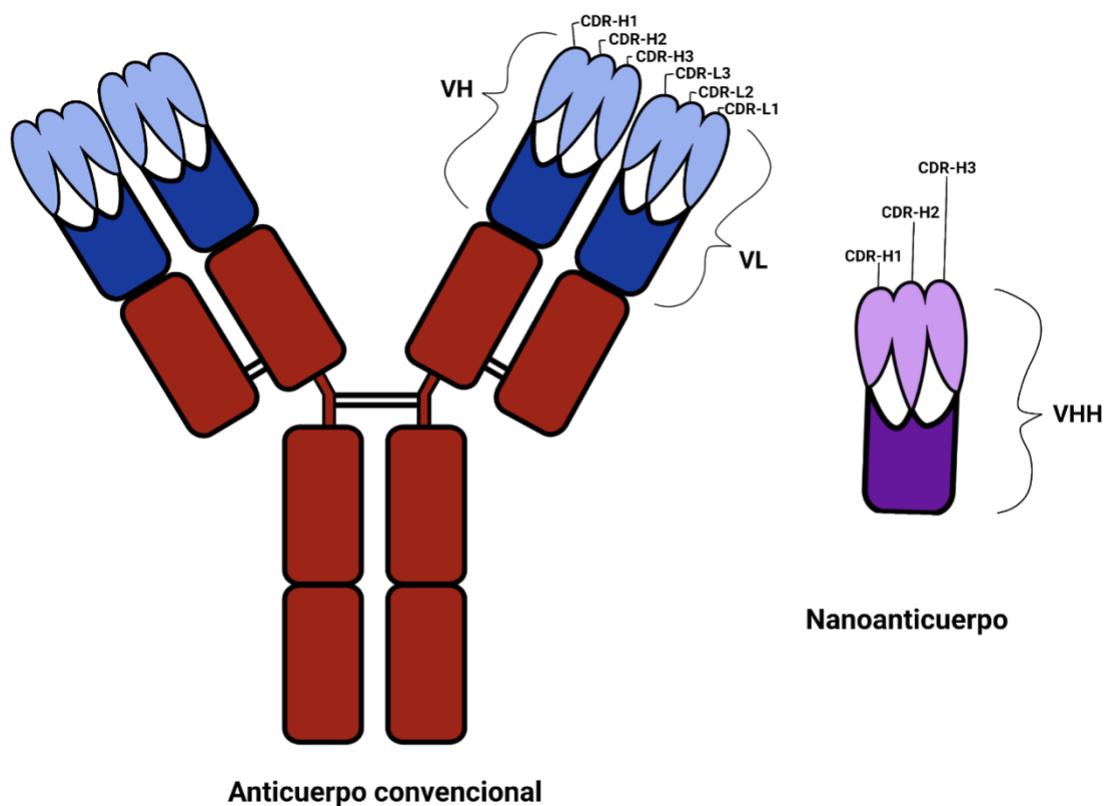


Fig 1. Anticuerpo convencional y nanoanticuerpo.

Una de las diferencias más notorias entre anticuerpos convencionales IgG y nanoanticuerpos es su tamaño. Esta característica les confiere una mayor penetrabilidad en tejidos en comparación con los anticuerpos convencionales IgG (1, 2), lo cual es beneficioso si se desea utilizar, por ejemplo, para el diagnóstico de tumores por imagen. Asimismo, su forma compacta le proporciona una gran estabilidad, permitiendo que se pueda almacenar por más tiempo y confiriéndole mayor resistencia a la desnaturalización química (pH 3 a 9) y térmica (1, 2).

También pueden observarse diferencias entre el dominio VH de anticuerpos humanos y los dominios VHH de anticuerpos de camélidos (de donde se obtienen los nanoanticuerpos). Una de estas consiste en la presencia de una interfaz hidrofóbica entre los dominios VH y VL (esta última es llamada así por estar constituida de la fracción variable de la cadena pesada, *Variable Light*), la cual mantiene la orientación correcta entre estos dominios y aumenta la estabilidad de la molécula. Al no tener un dominio VL, los nanoanticuerpos no poseen dicha interfaz hidrofóbica. Por otro lado, si el VH es producido artificialmente en ausencia de VL, este parche hidrofóbico puede causar

agregación. Sin embargo, la aplicación de cuatro mutaciones específicas en el armazón del VH (parte del VH no perteneciente a los CDRs, llamada *framework*): V37F, G44E, L45R y W47G, puede eliminar este parche en un proceso llamado “camelización de VH” (17).

Otra diferencia consiste en la longitud de sus CDR H3. La distribución de los CDR H3 de dominios VHH es más amplia que la de los dominios VH humanos, haciendo que potencialmente puedan ser más largos (3 a 28 aminoácidos en VHH y 8 a 15 aminoácidos en VH). Esta característica les ofrece una mayor superficie de interacción contra su epítipo objetivo y versatilidad para interactuar con epítipos de difícil alcance (18). Cabe mencionar que algunos anticuerpos de bovinos poseen un CDR H3 de gran tamaño, los cuales pueden ser de hasta 70 aminoácidos de longitud. Esto les permite reconocer epítipos cóncavos, de forma similar que los VHH (12).

3.1.3 El diseño *in silico* de anticuerpos

El diseño *in silico* de anticuerpos, también llamado diseño racional, está siendo cada vez más relevante gracias a la mayor disponibilidad de estructuras y de computadoras más poderosas (6). Estos métodos generalmente implican simulaciones de interacciones entre moléculas acompañadas de alteraciones en sus secuencias de aminoácidos, minimizaciones de energía y la asignación de puntajes a estas mediciones. Estos métodos pueden ser facilitados mediante la utilización de programas especialmente diseñados para el diseño de anticuerpos (incluyendo nanoanticuerpos), como RosettaAntibodyDesign (RAbD) o OptMAVEEn-2.0 (7, 8).

En el caso de OptMAVEEn-2.0, este programa inicia su proceso simulando la recombinación que ocurre naturalmente en células B de partes V, D y J de la región variable de anticuerpos; mediante la utilización de la base de datos *Modular Antibody Parts* (MAPs), que contiene estructuras de dichas partes, y un antígeno objetivo seleccionado. Luego de encontrar una estructura con una afinidad moderada al antígeno, el programa procede a una “optimización iterativa de proteínas” (IPRO) en el cual se simulan mutaciones en distintas regiones de hasta 5 aminoácidos en el anticuerpo y se mide el cambio de energía en la estructura para decidir si la afinidad del anticuerpo por el antígeno aumentó o disminuyó tras el cambio. El proceso de selección de partes V, D y J y la optimización de la estructura se puede realizar múltiples veces para aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno con cada ciclo (8).

RosettaAntibodyDesign es un software desarrollado utilizando el paquete de uso libre Rosetta, el cual incluye múltiples herramientas orientadas al diseño, análisis y predicción de estructuras proteicas (7) que son utilizadas por universidades, institutos y centros de investigación en múltiples países. El programa RosettaAntibodyDesign se enfoca principalmente en modificar los CDRs del anticuerpo seleccionado. En lugar de utilizar una base de datos MAPs, este programa utiliza una base de datos de CDRs (PyIgClassify) de múltiples anticuerpos del “Protein Data Bank” (PDB), organizados en clústers de acuerdo a su similitud de secuencia y longitud. En este proceso, el programa puede realizar múltiples ciclos exteriores, en los cuales puede cambiar CDRs completos y reemplazarlos por otros de la base de datos mencionada. Este método es llamado *Graft Design*, porque consiste en el injerto de diferentes piezas en un armazón. Dentro de cada ciclo exterior pueden realizarse múltiples ciclos interiores, los cuales consisten en mutaciones puntuales de la secuencia de aminoácidos de cada CDR. Esta parte del método es llamada *Sequence Design* porque consiste en un conjunto de modificaciones singulares en las secuencias. Durante cada ciclo exterior e interior, se realizan mediciones de energía para evaluar si la nueva estructura generada posee una mayor afinidad que la anterior. Al igual que en el caso de OptMAVEN-2.0, uno puede elegir el número de ciclos exteriores e interiores que desea realizar (7).

Adicionalmente existe el método computacional ModieBodies, diseñado específicamente para la modificación de CDRs de nanoanticuerpos. En este método se realizan mutaciones puntuales a cada uno de los aminoácidos de los 3 CDR del nanoanticuerpo y los reemplaza por cada uno de los 20 aminoácidos. Posteriormente se realiza una minimización de energía y se selecciona la mutación que más beneficie a la afinidad del nanoanticuerpo por la proteína (20).

En el año 2016 se comprobó experimentalmente por primera vez la capacidad de OptMAVEN (la versión anterior de OptMAVEN-2.0) de diseñar anticuerpos *in silico de novo*. Para esto se tomó como referencia el anticuerpo 2D10 que se sabía que era capaz de reconocer a un péptido específico de 12 aminoácidos. Utilizando esta secuencia de 12 aminoácidos y OptMAVEN se diseñaron 5 anticuerpos, de los cuales se comprobó experimentalmente que 3 de estos pudieron reconocer a la secuencia de aminoácidos con una afinidad comparable a la del anticuerpo 2D10 (21).

Posteriormente, en el año 2018, se utilizó el programa RosettaAntibodyDesign (RABD) para mejorar un anticuerpo preexistente contra la enzima hialuronidasa, uno de los

componentes del veneno de abeja. El Anticuerpo elegido fue 2J88 (PDB), que es capaz de unirse a dicha enzima. El complejo anticuerpo – hialuronidasa se introdujo al programa para generar un total de 1000 estructuras, cada una con 100 ciclos de diseño. Estas corridas culminaron en el diseño de 30 anticuerpos y se comprobó experimentalmente que 3 de estos alcanzaron una afinidad superior al anticuerpo original, de acuerdo a un ensayo por resonancia de plasmones de superficie. Uno de estos 3 anticuerpos alcanzó incluso una afinidad 12 veces mayor hacia el antígeno comparado con el anticuerpo original (7).

También se han utilizado métodos basados en modelación por homología y protocolos de mutaciones para aumentar la afinidad de nanoanticuerpos. Estos métodos se utilizaron para aumentar la afinidad del nanoanticuerpo llamado Nb20 contra la proteína CD47. Se comprobó experimentalmente la capacidad de unión de los nanoanticuerpos resultantes mediante pruebas de ELISA (22).

Asimismo, utilizando el programa Rosetta Design, se diseñó el anticuerpo PG9_100(F)Y por el rediseño el anticuerpo PG9, diseñado para inhibir el VIH, para aumentar su afinidad. Modificaciones en su CDR-H3 permitió al anticuerpo reconocer inclusive cepas resistentes al anticuerpo original (23).

También existen ejemplos de anticuerpos modificados *in silico* sin la utilización de un programa especializado en esta tarea. Un ejemplo de estos es la modificación *in silico* del anticuerpo 3F8, del cual se identificaron los 12 aminoácidos que interactúan directamente con su antígeno objetivo, para proceder a realizar mutaciones puntuales. Se analizó el efecto que cada una de las mutaciones causó en la afinidad por el antígeno y se minimizó la energía con el programa CHARMM en cada uno de los pasos. Después de realizar este método, se aplicó la mutación a la versión humanizada del anticuerpo (Hu3F8-Ile) (24). Cabe mencionar que a pesar de que se comprobó experimentalmente la afinidad de estos anticuerpos por sus respectivos antígenos, no se han realizado ensayos clínicos para comprobar su efectividad *in vivo* hasta la fecha.

3.1.4 Mutaciones en SARS-CoV-2

Se han registrado variantes del virus SARS-CoV-2 que poseen resistencia a anticuerpos que eran efectivos contra cepas anteriores. Estas variantes tienen mutaciones que consisten principalmente en sustituciones de aminoácidos en la región RBD de la proteína

Spike del virus, con respecto a la cepa referencia, y ocasionan que los anticuerpos pierdan su afinidad original. (5)

Algunos ejemplos de variantes que han sido cristalizadas y particularmente estudiadas, son: P.1, B.1.351 y B.1.1.7. Estas variantes poseen las siguientes mutaciones con el potencial de afectar su afinidad a anticuerpos (25):

Tabla 1

Mutaciones de Diferentes Variantes de RBD de la Proteína Spike de SARS-CoV-2 con respecto a la Secuencia de Referencia

Variante	Mutaciones
P.1	K417T, E484K, N501Y
B.1.351	K417N, E484K, N501Y
B.1.1.7	N501Y

Adicionalmente, la variante C.37 adquirió alta relevancia debido a su rápida diseminación en las regiones de Perú y Chile. Aunque la estructura de su dominio RBD no ha sido cristalizada (26), nuestros resultados podrían ser aplicables a ella dada su aparente evolución convergente con las variantes aquí presentadas.

3.2 Planteamiento del problema

Los nanoanticuerpos tienen diversas aplicaciones en las áreas de investigación, tratamiento y diagnóstico; además, una vez diseñados, su producción es mucho más sencilla que la de anticuerpos convencionales ya que no poseen estructura cuaternaria. Lamentablemente, el desarrollo de nanoanticuerpos involucra técnicas sofisticadas a las que pocos laboratorios tienen acceso. Por otro lado, el mundo enfrenta la posibilidad de la aparición de nuevos agentes patógenos que pueden mutar rápidamente, lo que hace necesario que las herramientas de diagnóstico y tratamiento puedan ser desarrolladas a la par, idealmente con posibilidades de ser producidas localmente. Esto ha sido demostrado en el caso de aparición de variantes de SARS-CoV-2 debido a que algunos anticuerpos neutralizantes de cepas anteriores no resultan efectivos contra estas (25).

La existencia de un método alternativo y más accesible que la generación tradicional de nanoanticuerpos podría contribuir a la obtención expedita de nuevos nanoanticuerpos específicos para patógenos que emerjan o se diversifiquen rápidamente.

3.3 Justificación del estudio

Este estudio no estandarizado explora métodos *in silico* como alternativos al diseño/generación tradicional de nanoanticuerpos originales contra el RBD de variantes de SARS-CoV-2. Este antígeno fue elegido debido a la gran disponibilidad de estructuras tridimensionales, anticuerpos neutralizantes y nanoanticuerpos afines a este, además de la importancia que tiene esta proteína en la introducción del virus a las células en la infección por Covid-19 (25).

Los productos de este método son estructuras y secuencias de nanoanticuerpos, generadas y analizadas por distintas herramientas informáticas de libre acceso, que se proponen para que su afinidad estimada *in silico* pueda ser probada experimentalmente.

De tener éxito, la accesibilidad y velocidad de esta técnica contribuirá a la generación de nuevos nanoanticuerpos, permitiendo que más laboratorios propongan nuevas moléculas de manera rápida en comparación a que si solo se usaran los métodos convencionales.

4. Pregunta de investigación

¿De qué forma podemos utilizar las estructuras del RBD de SARS-CoV-2 en complejo con anticuerpos para la generación de nuevos nanoanticuerpos específicos para este y cada una de sus distintas variantes?

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Diseño de nanoanticuerpos candidatos para ensayo experimental con afinidad a la región RBD de las variantes polimórficas de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2 utilizando el programa RosettaAntibodyDesign.

5.2 Objetivos específicos

- Recolección, identificación y análisis inicial de estructuras de complejos antígeno-anticuerpo existentes.
- Diseño de nuevos nanoanticuerpos con afinidad por 3 variantes del virus SARS-CoV-2 mediante la modificación de un nanoanticuerpo con afinidad comprobada por el RBD de la proteína *Spike*.
- Diseño de nuevos nanoanticuerpos con afinidad contra el RBD de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2 mediante la modificación del dominio VH de un anticuerpo convencional IgG con afinidad comprobada.
- Evaluación de los nuevos nanoanticuerpos mediante herramientas informáticas y comparación con un nanoanticuerpo conocido contra el mismo antígeno, con afinidad validada experimentalmente.

6. Materiales y métodos

6.1 Recolección y selección de estructuras iniciales

Para esta investigación se recolectaron 6 estructuras del Protein Data Bank.

Las estructuras destinadas para la aproximación por modificación de nanoanticuerpos para el aumento de afinidad para variantes de RBD fueron:

- 7JVB: RBD de cepa referencia de SARS-CoV-2 en complejo con el nanoanticuerpo Nb20 generado por Xiang, Y et al. (Resolución: 3.29 Å) (27)
- 7NX6: RBD referencia de SARS-CoV-2 en complejo con fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos COVOX-222 y EY6A (Resolución: 2.25 Å) (25)
- 7NXB: Variante P.1 de RBD de SARS-CoV-2 en complejo con fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos COVOX-222 y EY6A (Resolución: 2.67 Å) (25)
- 7NXA: Variante B.1.351 de RBD de SARS-CoV-2 en complejo con fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos COVOX-222 y EY6A (Resolución: 2.50 Å) (25)
- 7NX9: Variante B.1.1.7 de RBD de SARS-CoV-2 en complejo con fragmentos de unión a antígeno de los anticuerpos COVOX-222 y EY6A (Resolución: 2.4 Å) (25)

Del mismo modo, para la aproximación por camelización de VH de anticuerpo convencional IgG se recolectó la siguiente estructura:

- 6YOR: RBD de cepa referencia de SARS-CoV-2 en complejo con el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo CR3022 (Resolución: 3.30 Å) (28)

En el caso de las estructuras del anticuerpo (6YOR) y el nanoanticuerpo (7JVB) se utilizó como criterio de selección que ambas moléculas tengan alta afinidad comprobada experimentalmente por su epítipo objetivo (RBD de la proteína *Spike* de cepa referencia de SARS-CoV-2 en ambos casos). Asimismo, para el resto de las estructuras se eligieron las estructuras que tuviesen mayor resolución entre las opciones disponibles en el Protein Data Bank.

6.2 Hardware y Software

La instalación de Rosetta Software Suite (Rosetta) y RosettaAntibodyDesign (RAbD) está actualmente disponible solo para los sistemas operativos MacOS y Linux. Por ello, utilizamos:

- MacBook Pro macOS Big Sur 11.6, 2.3 GHz Intel Core i9 de 8 núcleos, 16GB RAM
- Virtual Machine a partir de VirtualBox 6.1 con Sistema operativo Ubuntu 20.04, 4 CPUs, 15092 MB RAM

Además, se utilizó el servidor web PyIgClassify para la identificación de los CDRs y numeración de los aminoácidos de las estructuras iniciales de nanoanticuerpos y VH antes de ser introducidas a RosettaAntibodyDesign, como requisito para su uso.

Para visualizar las estructuras, así como realizar mutaciones para la preparación de estructuras, se utilizó PyMOL 2.5.2 (29).

6.3 Comandos y modificaciones a estructuras

6.3.1 Mediciones de energía

La función *Score* de Rosetta sirve para obtener la energía de una estructura introducida al programa, medida en *Rosetta Energy Units* (REU) este valor es obtenido mediante la suma de puntajes asignados a los átomos de los aminoácidos, según criterios de distancia respecto a otros, orientación, orientación de su residuo, interacciones, y otros, de acuerdo a la *Rosetta Energy Function 2015* (REF2015) (7). Si bien las REU se refieren a unidades de energía, estas no son equiparables ni transformables a las unidades utilizadas para describir energía libre ΔG (Kcal/mol o KJ/mol); sin embargo, estructuras con valor de estimación de energía (*Score*) más negativo (en REU) se interpretan como estructuras más estables, similar al indicador de ΔG (9). El comando para realizar esta función es:

```
> Comando para el protocolo Score  
/Rosetta/main/source/bin/score_jd2.macosclangrelease -s nanobody
```

El protocolo *Relax* de Rosetta sirve para minimizar la energía de una estructura proteica y lo realiza modificando el ángulo de rotación de los rotámeros de los aminoácidos y del esqueleto peptídico de la proteína, cambiando ligeramente su conformación estructural. Este procedimiento se debe realizar a todas las estructuras iniciales antes de ser introducidas a cualquier programa de Rosetta. Este proceso dará como resultado una

estructura ‘relajada’ y una evaluación de su valor *Score* de energía, medido en REU (9). El comando para aplicar esta función es:

```
> Comando para el protocolo Relax  
/Rosetta/main/source/bin/relax.macosclangrelease -s nanobody
```

6.3.2 Aplicación de mutaciones puntuales con el protocolo de *Sequence Design*

Tanto para la modificación de un nanoanticuerpo existente como para la creación de uno nuevo a partir de un VH convencional IgG, se utilizó el protocolo de *Sequence Design* de RAbD. Este protocolo hace modificaciones puntuales de aminoácidos a los CDR seleccionados del nanoanticuerpo. A cada sustitución le sigue una evaluación de energía, interrogando si se ha conseguido una mayor afinidad por el antígeno. Para determinar los posibles aminoácidos por los que puede cambiar cada sitio del CDR seleccionado, RAbD primero busca a qué clúster de CDRs de la base de datos PyIgClassify puede pertenecer dicho CDR. Una vez encontrado el clúster, RAbD podrá introducir aleatoriamente modificaciones al CDR teniendo como referencia la frecuencia con la que cada aminoácido aparece en cada posición de las secuencias del clúster. Si el programa no encuentra un clúster al que el CDR seleccionado pertenezca o el clúster encontrado posee muy pocas secuencias, este basará sus modificaciones aleatorias en la matriz de sustitución BLOSUM62 (7).

Por cada estructura generada se realizaron 100 ciclos externos y, en cada uno, un ciclo interno. Adicionalmente se introdujo el comando *-mc_optimize_dG*. Este comando hace que el programa utilice como indicador de afinidad del nanoanticuerpo a la energía de interfaz en lugar de la energía total de la estructura (como lo haría de manera predeterminada). Para realizar este cálculo, el programa mide la energía total de la estructura y a este valor le resta la energía del nanoanticuerpo y del antígeno, medidas de manera independiente.

```
> Comando para el protocolo de Sequence design  
/Rosetta/main/source/bin/antibody_designer.linuxgccrelease -s input.pdb -primary cdrs  
H1 H2 H3 -seq_design_cdrs H1 H2 H3 -outer_cycle_rounds 100 -inner_cycle_rounds 1  
-nstruct 40 -pdb_comments -mc_optimize_dG >log.txt
```

6.3.3 Reemplazo de CDRs con el protocolo de *Graft Design*

Para la aproximación por camelización del VH de un anticuerpo convencional IgG, se utilizó el protocolo de *Graft Design* de RAbD, que consiste en el reemplazo de los CDRs del nanoanticuerpo con otros que pertenezcan a diferentes clústers definidos en la base de datos PyIgClassify. El comando aplica 100 ciclos exteriores y 1 interior por cada ciclo exterior y utiliza la función *mc_optimize_dG* como en el comando de *Sequence Design*. Además, se utilizó un archivo de instrucciones que delimita el tamaño del CDR H3, así como las especies (*Camelus dromedarius*, *Llama glama* y *Vicugna Pacos*) de las estructuras de la base de datos que el programa utilizará para el proceso.

> Comando para el protocolo de *Graft Design*

```
/Rosetta/main/source/bin/antibody_designer.macosclangrelease -s input.pdb -  
primary cdrs H1 H2 H3 -nstruct 25 -outer_cycle_rounds 100 -inner_cycle_rounds 1-  
graft_design cdrs H3 -seq_design cdrs H1 H2 H3 -cdr_instructions  
INSTRUCTION_FILE -mc_optimize_dG >log.txt
```

> Archivo de instrucciones del *Graft Design*

```
H3 CDRSet INCLUDE_ONLY Al La Ca  
H3 CDRSet LENGTH MAX 16  
H3 CDRSet LENGTH MIN 14
```

6.4 Análisis de estructuras

6.4.1 Análisis de modificaciones *in silico*

Para evaluar la calidad de las estructuras elegidas como input para ser introducidas a RAbD concuerdan con estructuras reales, comparamos las estructuras de los complejos antígeno-nanoanticuerpo relajados con el software Rosetta con sus correspondientes estructuras cristalizadas (7NX6, 7NXB, 7NXA y 7NX9) utilizando la técnica de IDDT en el servidor web de BIOZENTRUM (30). Esta técnica mide las distancias de cada uno de los aminoácidos de una estructura proteica de referencia con su correspondiente aminoácido en una estructura modelo, mientras ambas están alineadas entre sí. Para que esta técnica pueda funcionar, ambas estructuras deben tener la misma secuencia y numeración. Las mediciones resultantes se representan con valores de 0 a 1, en donde los valores cercanos a 1 indican una distancia menor entre ambos aminoácidos, mientras que

los valores cercanos a 0, representan una distancia mayor entre ambos aminoácidos (30). Así, el resultado obtenido de este análisis, son mediciones para cada punto en la secuencia de las estructuras que nos permiten saber en qué posiciones existen diferencias estructurales más marcadas. De manera predeterminada, el programa asigna un valor de 0 a los aminoácidos con más de 15 Å de distancia entre sí (30); configuración la cual fue utilizada en este trabajo. Para los casos en que se compararon estructuras con diferente secuencia de aminoácidos (por ejemplo: RBD referencia y RBD de la variante P.1), se eliminaron en ambas estructuras los aminoácidos en que difieren para evitar incompatibilidades.

De manera similar, utilizando PyMOL (29), se midió el valor de RMSD (*Root-mean-square deviation*) entre pares de estructuras alineadas estructuralmente para obtener un valor general de diferencia estructural entre estas. Este valor se obtiene midiendo las distancias entre cada uno de los átomos de las dos estructuras alineadas y elevando estas medidas al cuadrado. Posteriormente, estas medidas se promedian entre sí y este nuevo valor es el RMSD (29).

Asimismo, se utilizó PyMOL (29) para observar las mutaciones aplicadas por RAbD en los CDRs, tales como la formación de nuevos enlaces y su posible efecto en la interacción con el antígeno. También se utilizó PyMOL para visualizar cambios en la estructura de la molécula y el complejo antígeno-anticuerpo, como aumento de tamaño de los CDRs y su efecto estérico en la interfaz antígeno-anticuerpo.

Por otro lado, para corroborar el efecto de la camelización del VH de anticuerpo convencional IgG en la hidrofobicidad del parche hidrofóbico (que interactúa con el VL en el anticuerpo convencional IgG), se utilizó el servidor web Protein-Sol patches (31). Este programa mide las proporciones de aminoácidos no polares y polares en la superficie de la proteína y genera el valor de NPP (*non polar to polar ratio*) para los sectores de la superficie de la proteína, lo cual permite identificar regiones de mayor o menor hidrofobicidad.

6.4.2 Estimación de la calidad de los modelos

Para evaluar la calidad de las estructuras luego de la aplicación del programa RAbD se utilizó el programa ProSa-web. Este programa evalúa la calidad del modelo por medio de una medición de su energía total con respecto a la distribución de energía de conformaciones estructurales aleatorias que el modelo puede adquirir, de lo cual se

obtiene un valor llamado *Z score*. El programa grafica dicho *Z score* en un gráfico llamado “Overall model quality” junto a los de otras proteínas de las cuales su estructura se determinó experimentalmente (halladas en el PDB) para determinar si dicho valor se halla dentro de este rango (32, 33).

Asimismo, obtuvimos el gráfico de Ramachandran de las estructuras al introducirlas en SWISS-Structure Assessment de SWISS-MODEL (34, 35). En este se grafican los ángulos de torsión phi y psi de cada aminoácido de una estructura para discernir si se tratan o no de ángulos permitidos (36). El programa asigna un puntaje de confianza a cada aminoácido evaluado, que se obtiene por la medición de las distancias entre los aminoácidos del modelo introducido como input con los de estructuras homólogas de la base de datos de SWISS-MODEL (34).

6.4.3 Modelamiento alternativo de las estructuras finales

Los programas SWISS-MODEL y AlphaFold 2 permiten generar una estructura tridimensional a partir de una secuencia de aminoácidos. SWISS-MODEL logra esto mediante el modelamiento por homología, comparando la secuencia introducida con otras estructuras de secuencia similar en su base de datos (37); mientras que AlphaFold 2 utiliza una combinación del modelamiento por homología con inteligencia artificial para obtener estructuras con alta fidelidad (19). En estos programas se introducirá la secuencia de aminoácidos de las estructuras generadas por RAbD para interrogar si las mutaciones aplicadas a los CDRs podrían afectar la estructura de las proteínas, a través de un modelamiento independiente del realizado por Rosetta.

6.4.4 Análisis de interfaz epítipo-parátipo

La energía de interfaz es un parámetro por el cual podemos estimar la afinidad del nanoanticuerpo por el antígeno en cada estructura nueva generada por Rosetta. Un valor más bajo de energía de interfaz se interpreta como una interacción más fuerte entre el RBD y su respectivo nanoanticuerpo. Para ello utilizamos un método similar al cálculo de la energía de interfaz del protocolo *mc_optimize_dG*, explicado anteriormente en el subtítulo “Aplicación de mutaciones puntuales con el protocolo de *Sequence Design*”.

Para obtener este valor, la estructura a evaluar se relaja con el protocolo *Relax* y, utilizando PyMOL, se separa las moléculas del nanoanticuerpo y RBD en archivos distintos. Luego, se mide la energía en REU de cada molécula individualmente con el

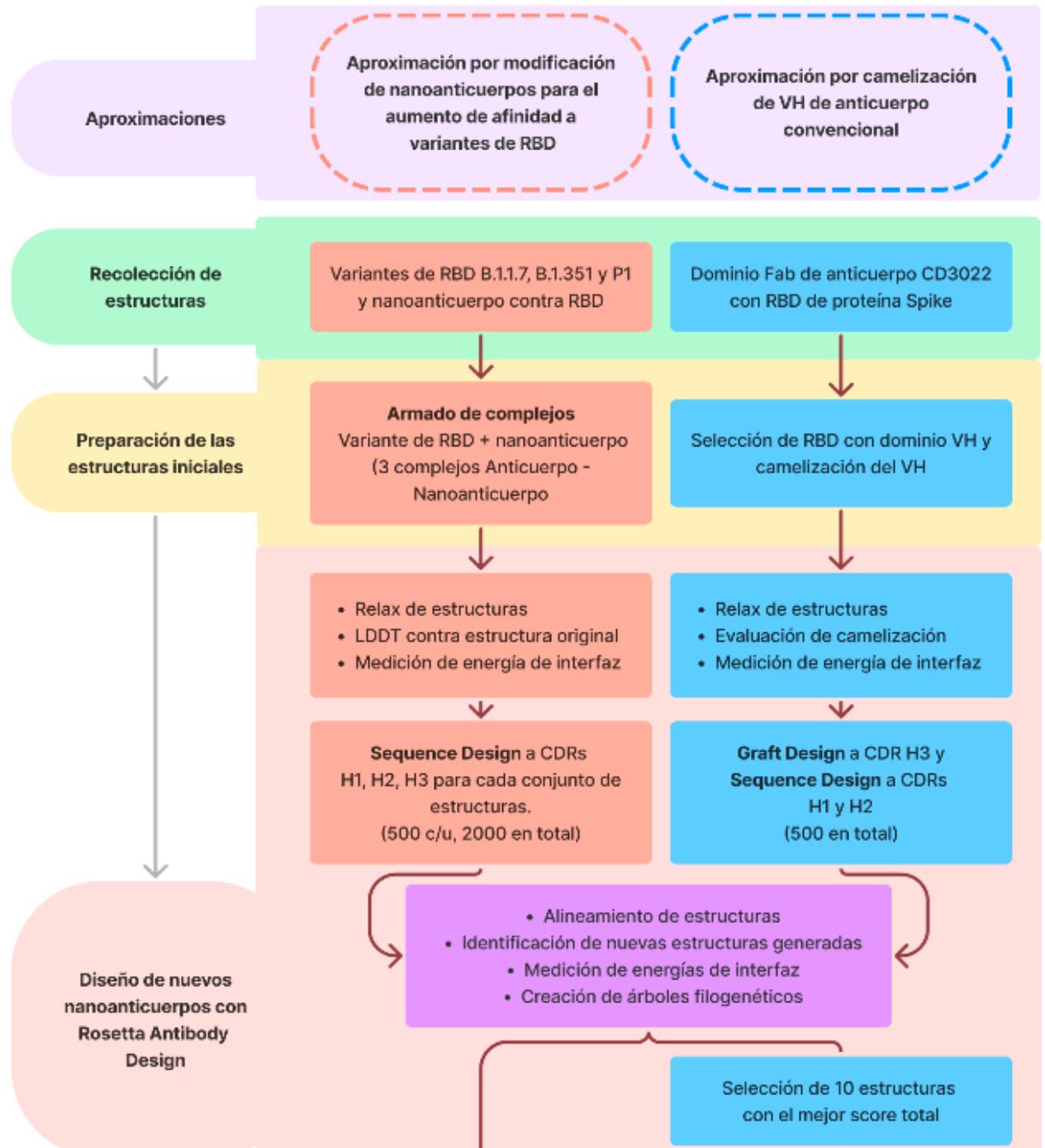
comando *Score* y se suman para obtener la energía total de las estructuras. Finalmente, este valor se resta de la energía de la estructura relajada para obtener la energía de la interfaz nanoanticuerpo-RBD de cada estructura analizada.

Como un segundo indicador para medir la energía de interfaz, se utilizó el programa PRODIGY. Este programa permite predecir la afinidad entre proteínas basándose en contactos intermoleculares y propiedades de su superficie (38).

Por último, se utilizó el software *dr_sasa* (39), que mide el área accesible por agua en complejos de proteínas, para medir el área de la interfaz epítopo-parátipo en la aproximación por camelización de VH de anticuerpo convencional IgG. De este modo, es posible evaluar si las modificaciones aplicadas al CDR H3 en el *Graft Design* tuvieron efectos en el tamaño de dicha área de la interfaz.

7. Resultados

En general, las estrategias aquí presentadas para el diseño de nuevos nanoanticuerpos toman como punto de partida las estructuras del antígeno RBD en complejo con un nanoanticuerpo o anticuerpo convencional. La figura 2 esquematiza los pasos seguidos en este trabajo.



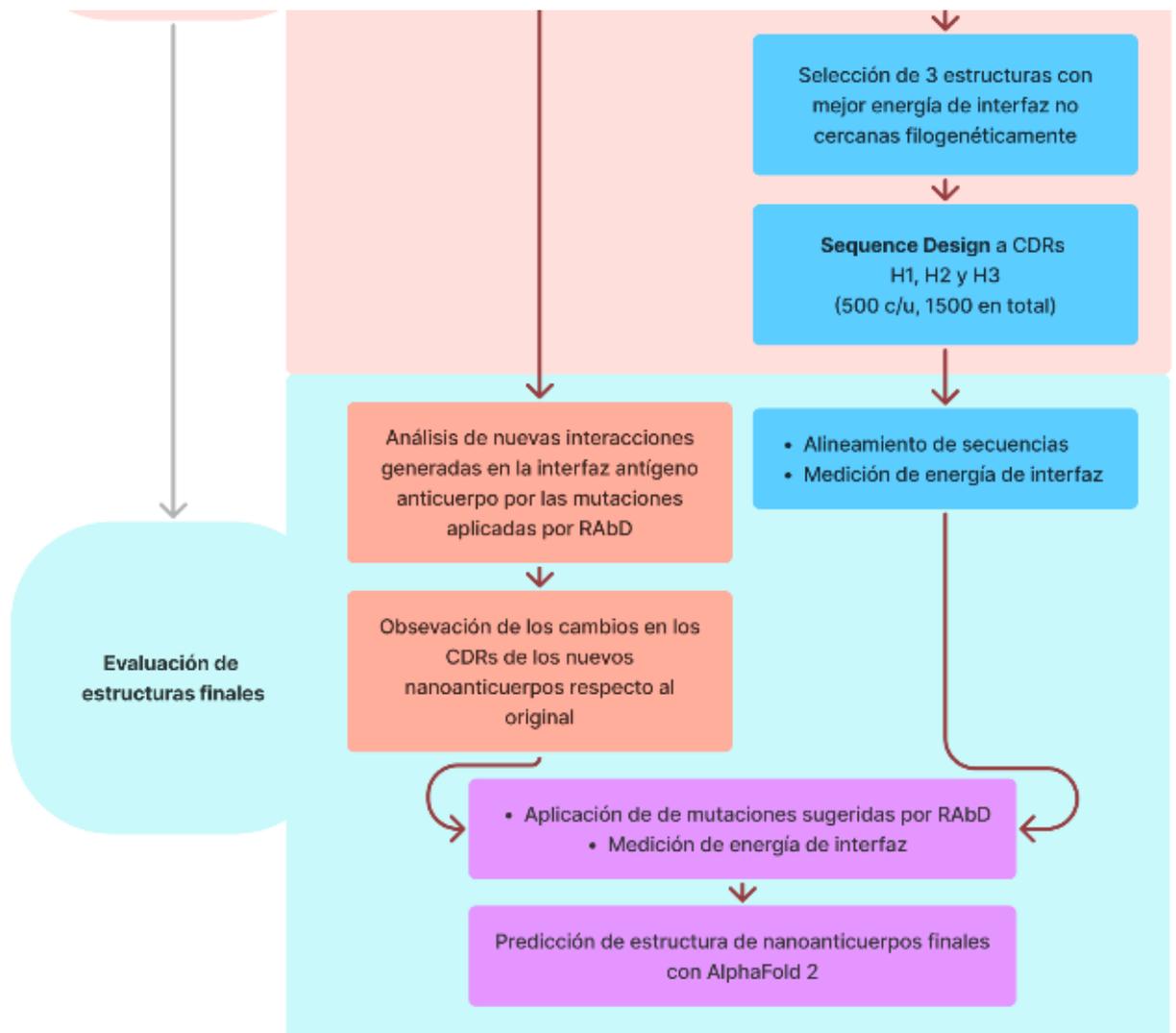


Figura 2. Diagrama de flujo de trabajo del proyecto

7.1 Aproximación por modificación de nanoanticuerpos para aumentar su afinidad por variantes de RBD

7.1.1 Construcción de complejos antígeno-nanoanticuerpo

Con las estructuras iniciales (PDBs nanoanticuerpo: 7JVB, complejos antígeno-anticuerpo: RBD referencia, 7NX6; P.1, 7NXB; B.1.351, 7NXA y B.1.1.7, 7NX9) se construyeron múltiples complejos nanoanticuerpo-antígeno. Se tomó como base la estructura publicada por Xiang, Y et al. que contiene un nanoanticuerpo generado por los mismos autores en complejo con el RBD de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2 de la cepa de referencia. A esta estructura de RBD, se alinearon estructuralmente los RBD de cada una de las variantes de SARS-CoV-2 elegidas (P.1, B.1.351 y B.1.1.7) y se exportó cada complejo en archivos independientes (de extensión .pdb). Adicionalmente, se realizó este

mismo procedimiento para crear un complejo entre el nanoanticuerpo publicado por Xiang, Y et al. y un RBD de la cepa referencia extraído de un archivo diferente. Este último se realizó para asegurarnos que todas las estructuras que fueron introducidas en el programa como input, tengan metodologías consistentes entre sí. El complejo ensamblado con la proteína de referencia serviría como un control positivo, que debería interactuar con el nanoanticuerpo de manera semejante a lo mostrado por la estructura original. Estos nuevos 4 complejos se procesaron por el protocolo de relajación de Rosetta y finalmente se cambió la numeración mediante su introducción al servidor web de PyIgClassify para poder ser utilizados como input en RAbD.

7.1.2 Análisis de efectos de relajación en los nuevos complejos

Para determinar en qué grado cambian los complejos generados y relajados con respecto a las estructuras originales cristalizadas de RBD de SARS-CoV-2, se hizo una serie de comparaciones de las estructuras obtenidas de RBD en diferentes estados (Tabla 2).

Primero se quiso observar qué tanto se diferencian las estructuras de los RBD referencia originales y P.1 sin que interactúen con el nanoanticuerpo que estamos modificando. Se comparó mediante IDDT las estructuras originales obtenidas mediante cristalografía de rayos X del RBD referencia (7NX6) y la variante P.1 (7NXB) (Figura 3, A). Puede apreciarse que ambas estructuras son bastante similares y solo se observan valores menores a 0.9 en los aminoácidos 37, 38, 133 y 165 (Figura 3, A).

Posteriormente, se quiso observar el efecto de la relajación de las estructuras mediante Rosetta en los complejos utilizados. Para esto, se comparó las estructuras cristalizadas de los RBD referencia y P.1 contra sus contrapartes respectivas en complejo con el nanoanticuerpo de Xiang et al. y relajadas con Rosetta (Figura 3, B y C). Puede observarse que en ambas comparaciones se evidencian patrones bastante similares entre sí. 2 aminoácidos de particular interés son los de las posiciones 125, 145; debido a que ambos presentan valores menores a 0.7. Esto sugiere que los cambios estructurales en estas posiciones particulares pueden haber sido originados por la interacción entre ambos RBD con el nanoanticuerpo (Figura 3, B y C).

Tabla 2

Lista de Comparaciones realizadas entre Estructuras Originales (Cristal) y las Versiones Relajadas por Rosetta (Relax)

RBD.ref (Cristal)						
RBD.P.1 (Cristal)	A					
RBD.ref- Nb20 (Relax)	B					
RBD.P.1- Nb20 (Relax)		C	D			
RBD.ref- Nb20 (Cristal)	F		E			
RBD.P.1. (Relax)				G		
	RBD.ref (Cristal)	RBD.P.1 (Cristal)	RBD.ref- Nb20 (Relax)	RBD.P.1- Nb20 (Relax)	RBD.ref- Nb20 (Cristal)	RBD.P.1. (Relax)

Nota. RBD.ref (Cristal): estructura del RBD obtenida mediante cristalografía (7NX6). RBD.P.1 (Cristal): estructura del RBD de la variante P.1 de SARS-CoV-2 obtenida mediante cristalografía (7NXB). RBD.ref-Nb20 (Relax): complejo formado por el RBD referencia y el nanoanticuerpo Nb20 generado por Xiang et al. y relajado mediante el uso del programa Rosetta. RBD.P.1-Nb20 (Relax): complejo formado por el RBD de la variante P.1 y en nanoanticuerpo Nb20 generado por Xiang et al. y relajado mediante el uso del programa Rosetta. RBD.ref-Nb20 (Cristal): complejo formado por RBD referencia y el nanoanticuerpo Nb20 cristalizado por Xiang et al. RBD.P.1. (Relax): estructura del RBD de la variante P.1 relajada mediante el uso del programa Rosetta. Las letras A-G indican cada una de las comparaciones de estructuras que fueron realizadas mediante la técnica IDDT, mostradas en las figuras 3 y 4.

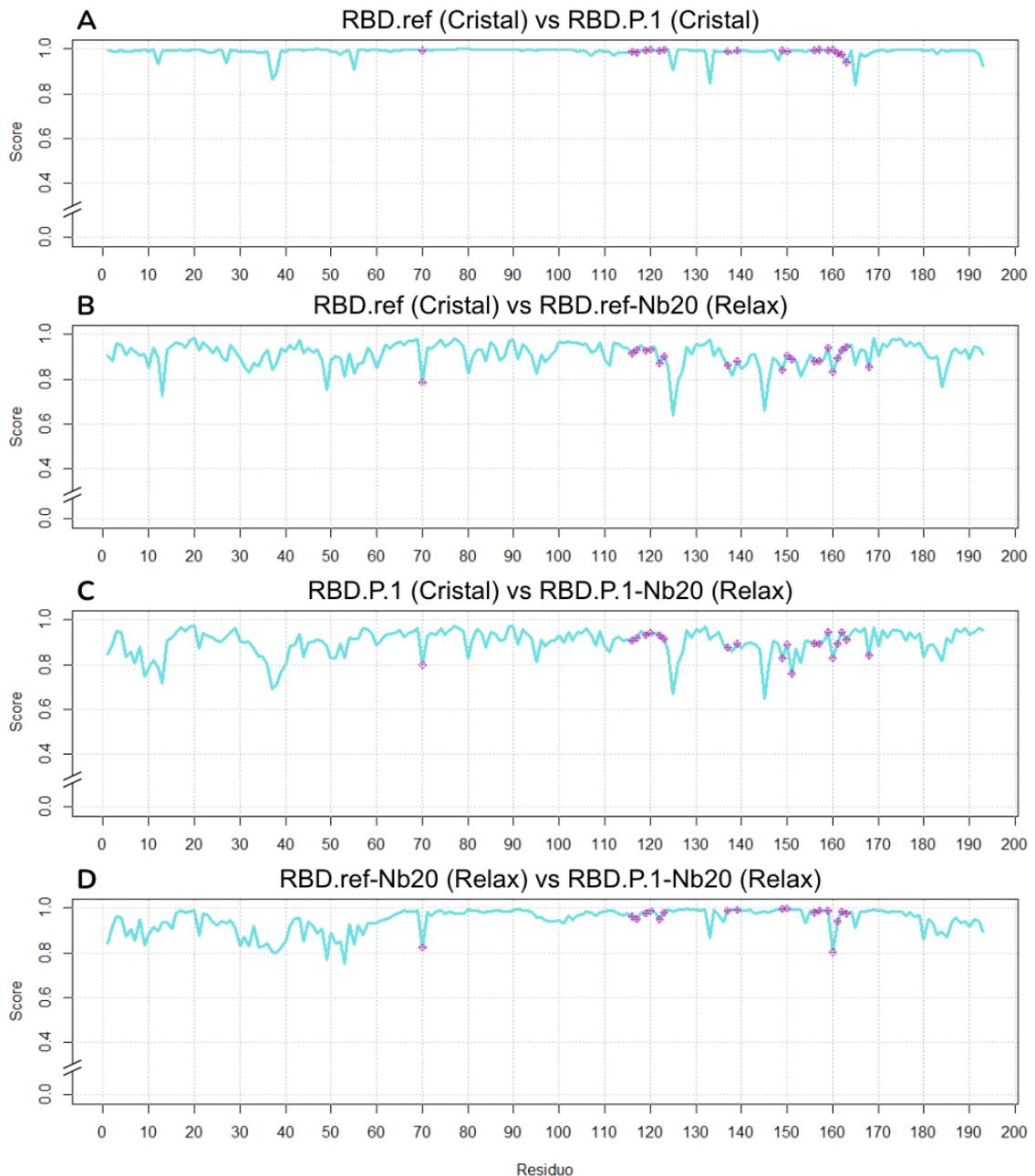


Figura 3. Gráficos de IDDT entre estructuras de los RBD P.1 y referencia en complejo con el nanoanticuerpo generado por Xiang et al., antes y después del protocolo de relajación de Rosetta, como se indica en la Tabla 2. Los puntos morados indican los aminoácidos del RBD a menos de 5 Å de distancia del nanoanticuerpo en la estructura original “RBD.ref-Nb20 (Cristal)”.

Después se observaron las diferencias entre las reacciones que ambos complejos RBD-nanoanticuerpo tuvieron a la relajación estructural por Rosetta. Para esto se comparó las estructuras RBD referencia contra el RBD de la variante P.1, ambas en complejo con el

nanoanticuerpo de Xiang et al. y relajadas con Rosetta (Figura 3, D). Puede verse una región altamente variable entre los aminoácidos 1 y 65, la cual es una zona del RBD que se encuentra alejada de la interfaz antígeno-nanoanticuerpo. Adicionalmente se encuentran picos puntuales en las posiciones 70, 133 y 160. Estas posiciones son de importancia puesto que sí se encuentran cerca de la interfaz antígeno-nanoanticuerpo (Figura 3, D).

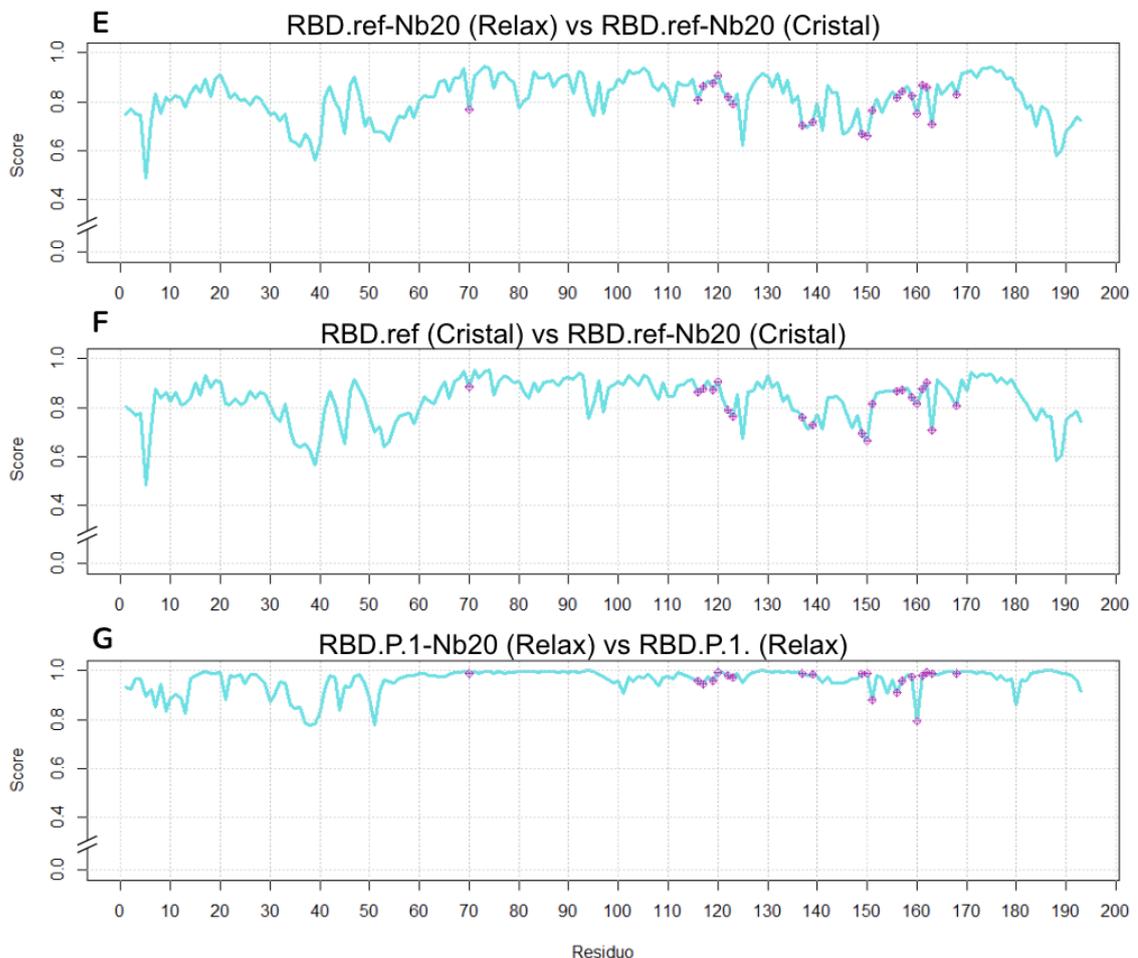


Figura 4. Gráficos de IDDT entre diferentes RBD como es indicado en la Tabla 2. Los puntos morados indican los aminoácidos del RBD a menos de 5 Å de distancia del nanoanticuerpo en la estructura original “RBD.ref-Nb20 (Cristal)”.

También se quiso analizar el efecto de reemplazar el RBD de la estructura generada por Xiang et al. por el RBD de la cepa referencia proveniente de una estructura distinta. Para esto se hicieron dos comparaciones con la estructura de RBD original cristalizada por Xiang et al. Una con la estructura de RBD referencia cristalizada utilizada para construir

Figura 5. Alineamiento múltiple entre el anticuerpo utilizado como input (original) junto a las dos secuencias descubiertas por RAbD (nuevo1, obtenida 9 veces y nuevo2, obtenida una vez).

7.1.4 Diseño de estructuras por *Sequence Design* para las variantes B.1.351 y B.1.1.7

Con los complejos del nanoanticuerpo Nb20 y los RBD de las variantes B.1.351 y B.1.1.7 se realizó exactamente el mismo procedimiento descrito para el complejo nanoanticuerpo-RBD de la variante P.1. Después de generar 500 estructuras para cada complejo a través de *Sequence Design*, no se encontraron secuencias diferentes a la original del nanoanticuerpo utilizado como input. Esto indica que, con todas las combinaciones de mutaciones probadas por el programa, ninguna mejoró la afinidad según las mediciones hechas por este mismo.

7.1.5 Diseño de estructuras por *Sequence Design* para el RBD referencia

Se realizó el mismo procedimiento para generar 500 estructuras utilizando como input el complejo nanoanticuerpo-RBD referencia. Nuevamente no se encontraron secuencias de nanoanticuerpos diferentes a la original. Este era un resultado esperado, puesto que el nanoanticuerpo original posee una alta afinidad por el RBD referencia, comprobada experimentalmente (27).

7.1.6 Evaluación de energía de interfaz de las secuencias descubiertas

Posteriormente a obtener las nuevas secuencias de nanoanticuerpos afines al RBD P.1, se crearon nuevas estructuras introduciendo estas modificaciones puntuales al complejo conformado por el nanoanticuerpo de Xiang et al. y el RBD de la misma variante mediante el uso de PyMOL. Además, se crearon estructuras adicionales que contienen solo una de las modificaciones propuestas en las nuevas secuencias para estimar su efecto de manera individual sobre la afinidad en comparación a cuando están en conjunto. Para esto se utilizó el método mencionado en el apartado 6.4.4, donde se sustrae el valor de energía medido para cada parte del complejo al valor de energía del complejo en conjunto (Tabla 3).

Tabla 3

Valores de Energía medidos en REU de los Nanoanticuerpos diseñados y Mutaciones individuales en comparación con el VHH original

Id	Score Total (REU)	Score RBD (REU)	Score Nanoanticuerpo (REU)	Energía de Interfaz (E.I) (REU)	dE (E.I - E.I de VHH original) (REU)
VHH original^a	-871.781	-537.326	-296.509	-37.946	0.000
nuevo1^b	-897.978	-532.508	-312.149	-53.321	-15.375
nuevo2^c	-889.793	-534.407	-308.816	-46.570	-8.624
A23V	-885.755	-537.213	-305.798	-42.744	-4.798
S25N	-882.463	-537.829	-303.214	-41.420	-3.474
A29S	-866.323	-528.963	-297.387	-39.973	-2.027
H30R	-874.900	-530.805	-304.728	-39.367	-1.421
R31Q	-883.626	-531.381	-310.234	-42.011	-4.065
A51G	-865.427	-531.356	-284.729	-49.342	-11.396
R97Q	-884.044	-535.134	-303.263	-45.647	-7.701
R97E	-879.472	-522.843	-307.593	-49.036	-11.090

Nota. Valores de energía medidos en REU para el complejo RBD-nanoanticuerpo (*Score Total*), RBD (*Score RBD*), nanoanticuerpo (*Score Nanoanticuerpo*), energía de interfaz y comparación con el VHH original (dE).

^a Nanoanticuerpo generado por Xiang et al.

^b Nueva secuencia de nanoanticuerpo, posee todas las mutaciones mostradas incluyendo R97Q

^c Nueva secuencia de nanoanticuerpo, posee todas las mutaciones mostradas incluyendo R97E

Puede observarse que para ambos nanoanticuerpos nuevos, la energía de interfaz es menor que la del nanoanticuerpo original utilizado como input. Esto implica que se calcula para ellos una mayor afinidad por el RBD P.1 que el nanoanticuerpo original. Adicionalmente, puede observarse que, entre los dos nanoanticuerpos nuevos, el “nuevo1” posee la mayor afinidad.

Entre las mutaciones individuales pertenecientes a las secuencias nuevas de nanoanticuerpos, puede notarse que A51G es la que más contribuye al aumento de afinidad (dE -11.396 REU), y al introducirse con el resto de mutaciones de “nuevo1”, estas solo logran aumentar la afinidad de manera más leve (dE -15.375 REU). Asimismo, la mutación R97E influye notablemente en la afinidad (dE -11.090 REU); sin embargo, al introducirse en conjunto con el resto de mutaciones de “nuevo2”, la afinidad empeora (dE -8.624 REU).

Tabla 4

Afinidad del Nanoanticuerpo original y los Nanoanticuerpos diseñados para el RBD de la Variante P.1

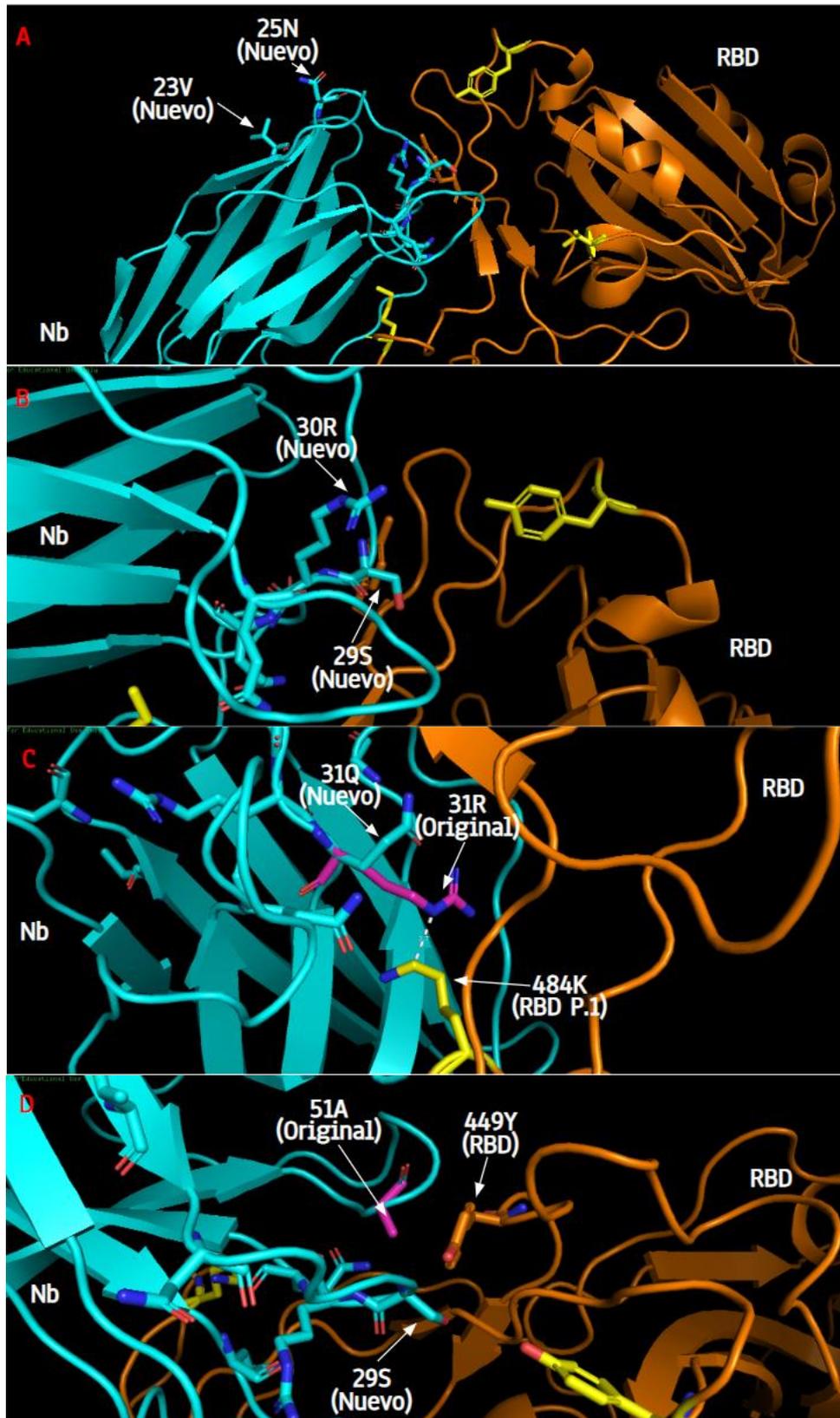
Id	Energía de Interfaz (E.I) (REU)	dG (Kcal mol ⁻¹)	K _d (M) 25°C
VHH original	-37.946	-11.3	5.20E-09
nuevo1	-53.321	-13.2	2.20E-10
nuevo2	-46.570	-12.5	6.50E-10

Nota. Valores hallados utilizando Rosetta (Energía de Interfaz) y PRODIGY (dG y K_d).

Con el propósito de corroborar la energía de interfaz hallada con Rosetta, como se menciona en el apartado 6.4.4, se utilizó la herramienta PRODIGY. En la tabla 4 puede observarse que los resultados obtenidos mediante el uso de ambos programas concuerdan en que las mutaciones de los 2 nanoanticuerpos nuevos aumentan la afinidad y que, entre estos 2, el “nuevo1” es el que tiene la mayor afinidad por el RBD P.1.

7.1.7 Evaluación visual de las modificaciones introducidas

Con el propósito de evaluar la lógica tras las modificaciones introducidas por RAbD y los cambios en la energía calculada, se visualizaron cada una de las mutaciones utilizando PyMOL. Estas modificaciones pueden verse de manera detallada en las imágenes a continuación:



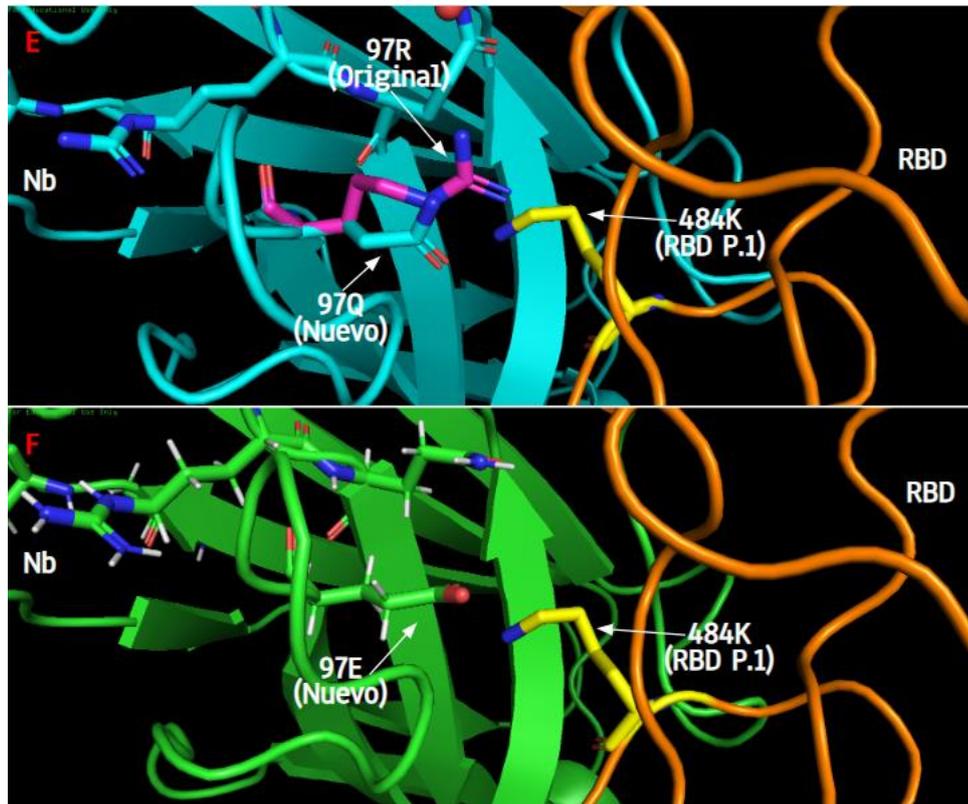


Figura 6. A. Vista en PyMOL de las modificaciones insertadas por RAbD. El nanoanticuerpo "nuevo1" es representado en turquesa, el RBD P1 en naranja, las mutaciones propias de la variante de SARS-CoV-2 P.1 en amarillo, los aminoácidos del nanoanticuerpo de Xiang et al. en magenta y el nanoanticuerpo "nuevo2" en verde. A. Vista de las modificaciones A23V y S25N del nanoanticuerpo. B. Vista de las modificaciones A29S y H30R del nanoanticuerpo. C. Vista de la modificación R31Q del nanoanticuerpo y su distancia (2.7Å) a la mutación E484K del RBD P.1. D. Vista de la ubicación del amino ácido en la posición 51 del nanoanticuerpo, en relación al aminoácido en la posición 29 del nanoanticuerpo y posición 449 del RBD. E. Vista de la modificación R97Q particular del nanoanticuerpo "nuevo1" y su ubicación en relación a la mutación E484K del RBD P.1. F. Vista de la modificación R97E particular del nanoanticuerpo "nuevo2" y su ubicación en relación a la mutación E484K del RBD P.1.

En las posiciones 23 y 25, los nuevos nanoanticuerpos reemplazaron una alanina por una valina y una serina por una asparagina, respectivamente. Estas modificaciones no se encuentran en la región de interfaz con el RBD y ambas modificaciones no cambian las características generales de los aminoácidos (Alanina y valina son aminoácidos hidrofóbicos, y Serina y asparagina son aminoácidos polares sin carga.) (Figura 6. A). En el caso de las modificaciones en las posiciones 29 y 30 del nanoanticuerpo, se reemplazó una alanina por una serina y una histidina por una arginina. Puede entenderse que, en ambas de estas modificaciones, el *score* de interfaz calculado mejoró por el hecho de que ambas modificaciones aumentan la cantidad de posibles puentes de hidrógeno que el

nanoanticuerpo puede formar con el RBD (Figura 6. B). En el caso de la modificación en la posición 31, donde se cambió una arginina por una glutamina, puede inferirse que la afinidad mejoró debido a que esta posición se encuentra cerca de una lisina en la posición 484 del RBD P.1. Es razonable que esto ocurra, debido a que tanto la lisina, como la arginina, son amino ácidos que poseen carga positiva; por lo cual, al reemplazar uno de ellos por un amino ácido sin carga, como la glutamina, la afinidad mejoraría al eliminarse una posible repulsión electrostática (Figura 6. C). Cabe destacar que la lisina en la posición 484 del RBD es una mutación característica de la variante P.1 de SARS-CoV-2 (E484K), por lo que no se encuentra presente en el RBD referencia. En el caso de la modificación en la posición 51 del nanoanticuerpo, se reemplazó una alanina por una glicina. En este caso, no encontramos una razón obvia para la mejora de la afinidad. Sin embargo, lo que sospechamos, es que la disminución en el tamaño de dicho aminoácido podría facilitar la interacción entre otros pares de amino ácidos cercanos; por ejemplo, la interacción entre la serina en la posición 29 del nanoanticuerpo y la tirosina en la posición 449 del RBD (Figura 6. D). Por último, en la posición 97 se reemplazó una arginina por dos amino ácidos distintos, en un caso por una glutamina (“nuevo1”) y en otro por un ácido glutámico (“nuevo2”). De manera similar a la modificación de la posición 31, esta se encuentra cerca de la lisina en la posición 484 del RBD P.1, la cual tiene carga positiva al igual que la arginina. Al eliminar esta carga positiva en el nanoanticuerpo y, en uno de los casos, reemplazarla por una negativa, es razonable que la afinidad por el RBD aumente (Figura 6. E y F). En resumen, las mutaciones identificadas aparentan ser razonables y no resulta inconcebible que la afinidad entre el nanoanticuerpo y el RBD P.1 mejore gracias a ellas.

7.1.8 Estimación de la calidad de los modelos

Los nanoanticuerpos “nuevo1” y “nuevo2” se analizaron mediante SWISS-MODEL Structure Assessment y ProSa-Web. Con estos programas se obtuvo el gráfico de Ramachandran y el de “Overall model quality” respectivamente, para cada estructura (Anexo 2). En el caso de la estructura del nanoanticuerpo “nuevo1”, tanto el gráfico de Ramachandran como el de “Overall model quality” (explicados en el subtítulo “6.4.2: Estimación de la calidad del modelo”) indican que cada aminoácido y el modelo en general tienen una buena calidad. En el caso del nanoanticuerpo “nuevo 2”, el “Overall model quality” también indica una buena calidad del modelo, sin embargo, en el gráfico

de Ramachandran el aminoácido de la posición 42 se encuentra fuera de las regiones usuales. Este último resultado podría ser impreciso debido a que el puntaje de confianza para este aminoácido específico es relativamente bajo con respecto al resto, siendo esta de 0.57; considerando que el valor máximo obtenible es 1 y que los aminoácidos con puntajes de confianza menores a 0.6 no son considerados confiables (34). Asimismo, este aminoácido se encuentra fuera de las regiones CDR y sus regiones cercanas, lo que le sustrae relevancia con respecto a nuestros propósitos. Por lo tanto, consideramos que hay altas posibilidades de que las estructuras obtenidas a partir de los nanoanticuerpos “nuevo1” y “nuevo2” tengan una conformación bastante similar *in vitro*.

7.1.9 Modelamiento de estructuras finales

Finalmente, las secuencias del nanoanticuerpo original y los nanoanticuerpos nuevos fueron modeladas por AlphaFold 2 y SWISS-MODEL, con el propósito de ser comparadas con sus análogos relajados producidos con Rosetta. Se realizó un análisis de RMSD y IDDT entre las estructuras generadas por AlphaFold 2 y SWISS-MODEL, y las generadas por Rosetta (Anexo 3). Esto se realizó con el fin de corroborar la semejanza de las estructuras finales luego de haberse aplicado las modificaciones de RAbD. Bajo los 3 métodos de modelamiento, las estructuras generadas resultaron ser similares entre sí, con RMSDs menores a 0.7 para todas las comparaciones. Las regiones donde hubo mayor divergencia estructural, de acuerdo a las gráficas de IDDT, fueron en las regiones CDR. Esto es un resultado esperado, puesto que en estas zonas se realizaron las modificaciones de secuencia y además son altamente flexibles, por lo que no necesariamente tienen una estructura predecible o estática (1).

7.2 Aproximación por camelización del VH de un anticuerpo convencional IgG

7.2.1 Preparación de estructura y camelización de VH de anticuerpo convencional IgG

Utilizando PyMOL se separó el dominio VH de un anticuerpo convencional IgG con comprobada afinidad por el RBD de la cepa referencia (PDB: 6YOR). La estructura resultante se introdujo en el servidor web de PyIgClassify, para la renumeración de sus residuos e identificación de sus CDRs según la numeración North-AHO (Figura 7), como requisito para poder utilizar la estructura en RosettaAntibodyDesign. Luego, se aplicó el protocolo *Relax* necesario para el uso de aplicativos de Rosetta.

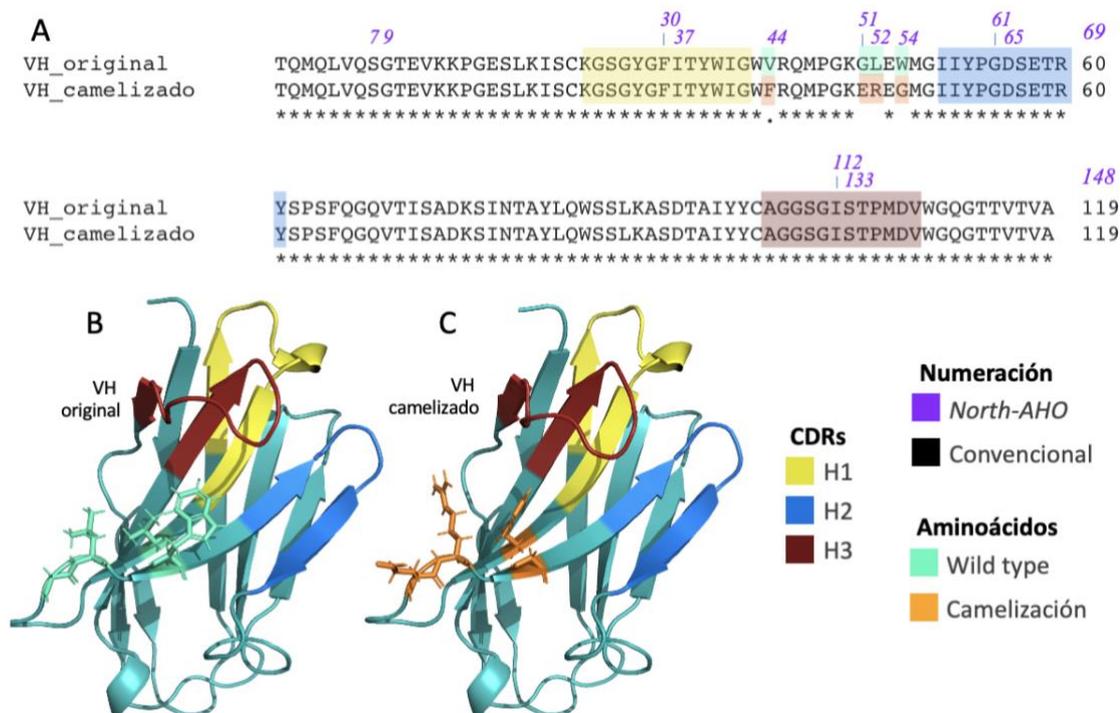


Figura 7. A. Secuencias del VH original y el VH camelizado con los CDRs resaltados (H1, amarillo; H2, azul y H3, rojo) según la numeración North-AHO de PyIgClassify (verde) y convencional (negro) y aminoácidos *wild type* (verde agua) y mutaciones de camelización (anaranjado). B. Estructura tridimensional del VH original con CDRs y aminoácidos *wild type* señalados. C. Estructura tridimensional del VH camelizado con CDRs y mutaciones de camelización resaltadas.

Posteriormente, en PyMOL se aplicaron al VH las mutaciones de camelización V44F, G51E, L52R y W54G (17) a la estructura, ajustadas a la renumeración North-AHO aplicada por PyIgClassify (Figura 7). Para cada mutación se hizo un análisis de hidrofobicidad utilizando Protein-sol patches (Figura 8) y se utilizó el valor NPP (proporción de aminoácidos no polares y polares en la superficie de la proteína) como un indicador de nivel de hidrofobicidad. Mediante este método, se observó que las mutaciones de camelización disminuyeron la hidrofobicidad (menor NPP) de la región del parche hidrofóbico del VH.

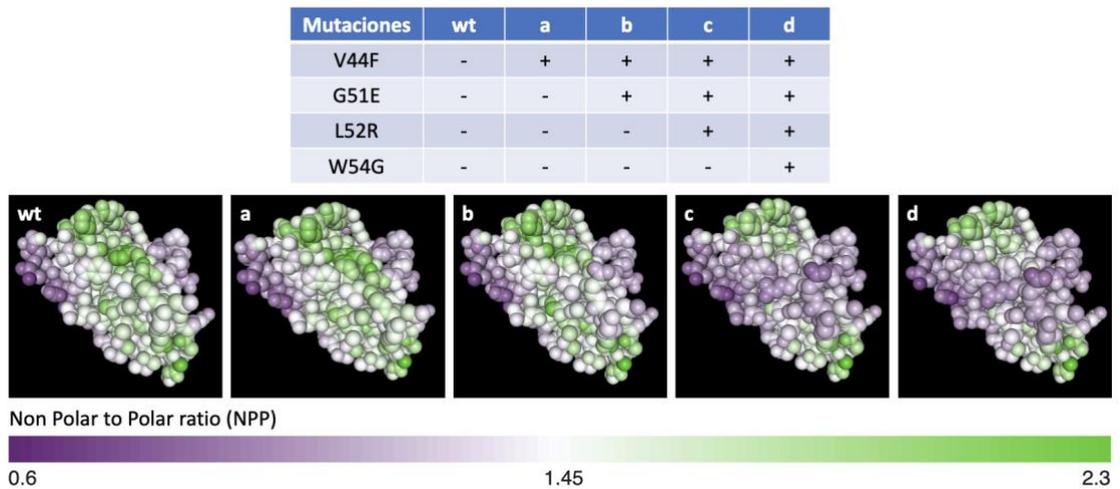


Figura 8. Análisis de hidrofobicidad de Protein-sol patches del dominio VH a medida que se aplican las mutaciones de camelización (indicadas en la tabla). La estructura está orientada mostrando el parche hidrofóbico del VH, con el cual interactúa con el VL en el anticuerpo convencional IgG. Las regiones más hidrofóbicas tendrán un mayor NPP (verde) y las menos hidrofóbicas un menor NPP (morado).

También se realizó el análisis de hidrofobicidad para la estructura camelizada (con las 4 mutaciones de camelización) antes y después de ser relajada para examinar si el cambio conformacional realizado en el protocolo *Relax* no afecta el grado en que se expone el área hidrofóbica (Figura 9), ya que la aplicación de este protocolo es un procedimiento requerido previo a la ejecución de los aplicativos Rosetta. Se observó que la disminución de la hidrofobicidad se mantuvo después de la aplicación del protocolo *Relax*.

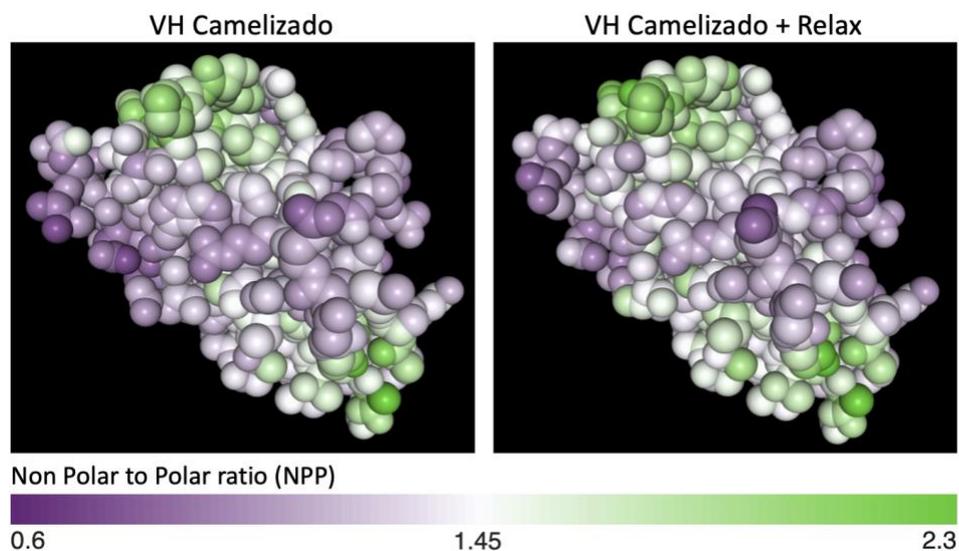


Figura 9. Análisis de hidrofobicidad de Protein-sol patches de las estructuras del VH

camelizado antes y después de ser relajado por Rosetta. Las estructuras se hallan orientadas mostrando la región donde estaba el parche hidrofóbico previo a la camelización.

Por otro lado, con el propósito de evaluar el aporte de cada una de las mutaciones a la estabilidad del VH camelizado, se aplicaron las mutaciones de camelización por separado, de modo que se obtuvieron cuatro estructuras, cada una con una mutación distinta (Tabla 5). Posteriormente, se aplicó el protocolo *Relax* y se midió el *Score* de energía de Rosetta (medida en REU) a cada una de estas estructuras. Asimismo, la mutación que más redujo la energía al ser aplicada por sí sola, fue la V37F y las G44E, L45R y W47G incrementaron o redujeron de forma mínima la energía de la estructura (Tabla 5). Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Davies. J & Riechmann. L (40) en donde encontraron que las tres últimas mutaciones mencionadas no eran suficientes para mejorar la estabilidad del VH camelizado *in vitro* y que la mutación V37F mejora la estabilidad de la proteína, incrementando su temperatura de fusión.

Adicionalmente, al ser aplicadas las mutaciones en conjunto y luego aplicar el protocolo *Relax* a la estructura, la energía del VH se volvió más negativa en cada grupo, siendo mayor la contribución de L52R a la disminución de la energía respecto al VH *Wild type* (disminución de 2.747 REU).

Tabla 5

Estimación de Energía de Estructuras con Mutaciones de camelización

Mutaciones	Score (REU)	dE (Score - Score VH_wt) (REU)
VH_wt	-356.316	0
a. V44F	-364.221	-7.905
b. G51E	-354.524	1.792
c. L52R	-356.899	-0.583
d. W54G	-353.047	3.269
a + b	-357.309	-0.993
a + b + c	-359.063	-2.747
a + b + c + d	-357.232	-0.916

Nota. Estimación de energía de las estructuras (*Score*) por cada mutación aplicada al VH de anticuerpo convencional IgG en la camelización en comparación con el VH *Wild type* (VH_wt), medidos en *Rosetta Energy Units* (REU) por el comando *Score* de Rosetta. a+b: aplicación de mutaciones V44F, G51 y protocolo *relax*; a+b+c: aplicación de mutaciones V44F, G51E, L52R y protocolo *relax* y a+b+c+d: aplicación de mutaciones V44F, G51E, L52R, W54G y protocolo *relax*.

Tras obtener la estructura relajada del VH camelizado, se introdujo su secuencia de aminoácidos en AlphaFold 2 para interrogar si las mutaciones de camelización podrían afectar la estructura de la proteína según otro modelamiento independiente de Rosetta (Figura 10). La predicción de AlphaFold 2 fue muy parecida a la obtenida por el protocolo *Relax* de Rosetta, excepto en los CDRs H1 y H3. Las regiones del VH no pertenecientes a los CDRs y los sitios donde se aplicaron las mutaciones de camelización se mantuvieron sin diferencias pronunciadas.

Estas pruebas indican que la camelización disminuye la hidrofobicidad del VH, disminuye su energía y no afecta negativamente al armazón inclusive después de la aplicación del protocolo *Relax*. La estructura del VH camelizado, renumerada al sistema North-AHO y relajada por Rosetta será la que se utilizará como input para RAbD.

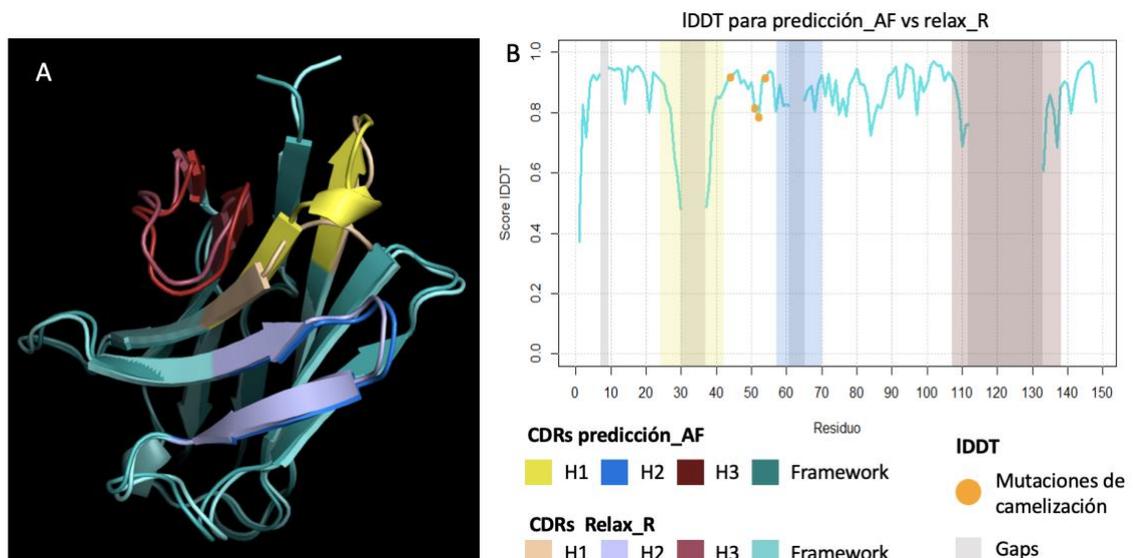


Figura 10. A. Comparación de las estructuras por IDDT del VH camelizado obtenidas por Rosetta (*relax_R*) y AlphaFold 2 (*predicción_AF*) con los CDRs y el armazón coloreados: H1, amarillos; H2, azules; H3, rojos y *framework*, cian. B. IDDT de las estructuras VH camelizado relajado por Rosetta y predicción de AlphaFold 2. Los sitios de mutaciones se encuentran

señalados por líneas moradas verticales y los CDRs sombreados en las posiciones respectivas. Los gaps en distintos rangos de la gráfica (gris) son producto de la reenumeración de residuos North-AHO de PyIgClassify y no influyen en la medición IDDT.

7.2.2 Diseño de estructuras por *Graft Design* al CDR-H3

El VH camelizado fue introducido en RosettaAntibodyDesign para el refinamiento de su CDR-H3 por el protocolo de *Graft Design*. Este procedimiento consiste en el reemplazo del CDR-H3 con secuencias de CDRs-H3 provenientes de la base de datos PyIgClassify de forma aleatoria que cumplan con los parámetros elegidos hasta encontrar uno que mejore el valor de interacción con el antígeno según RAbD. Para ello, se programó limitaciones de tamaño del CDR-H3 de 14 a 16 aminoácidos de longitud, para inducir su alargamiento y que alcance un mayor tamaño (en comparación a su tamaño original de 12 aminoácidos de longitud) (11, 18). De este modo, se podría incrementar la superficie de interacción con el antígeno y compensar la ausencia del dominio VL eliminado (18). Del mismo modo, se eligió un set de CDRs H3 a partir de las estructuras provenientes de las especies *Camelus dromedarius*, *Lama glama* y *Vicugna Pacos*, debido a que a partir de los anticuerpos de estos camélidos se obtienen los dominios VHH. Las estructuras de anticuerpos correspondientes a estas especies y que tienen un CDR H3 de 14 a 16 aminoácidos de longitud pertenecen a 17 clústers de estructuras en la base de datos, respecto a los 59 clústers que existen en estas tres especies sin filtros de longitud de CDR H3 y a los 190 clústers en total sin filtros aplicados.

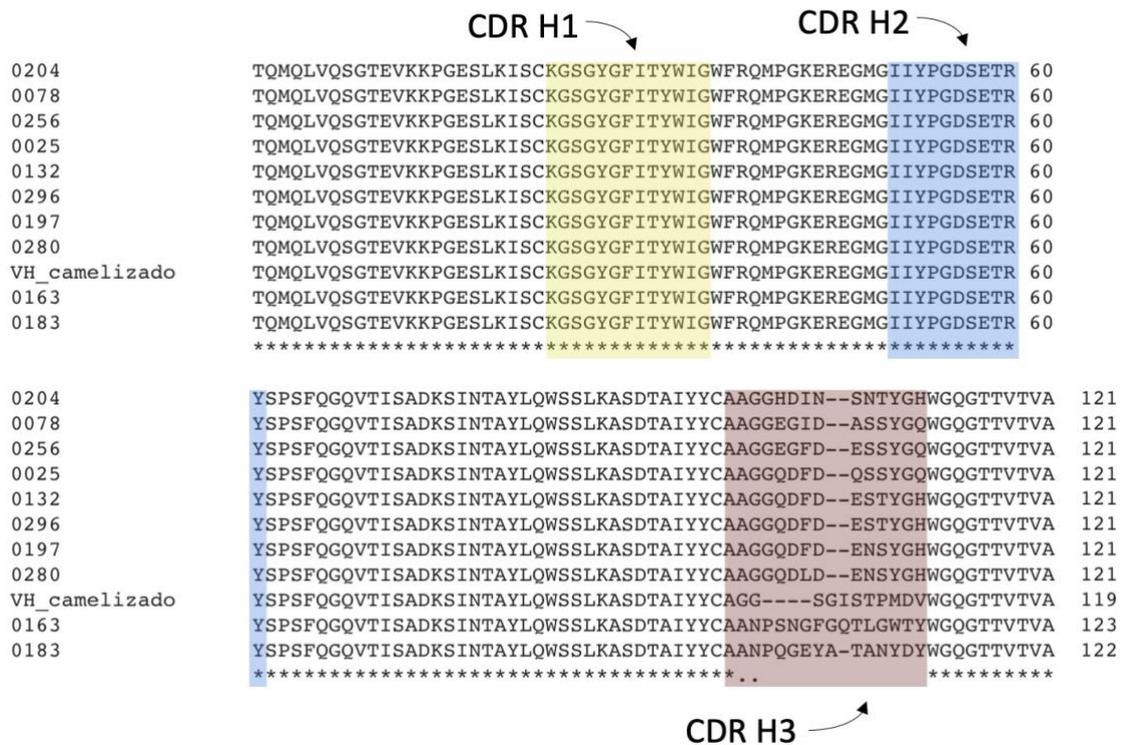


Figura 11. Alineamiento de secuencias de los VH con mejor *Score* de las generadas por *Graft Design* en RAbD respecto al VH camelizado. Los CDRs se encuentran coloreados respectivamente: H1, amarillo; H2, azul y H3, rojo.

Finalmente, se aplicó el protocolo de *Sequence Design* a los CDRs H1, H2 y H3 para optimizar la secuencia modificada anteriormente en el protocolo de *Graft Design* en caso fuera posible.

En este procedimiento se generaron 500 estructuras de las cuales se obtuvieron 377 secuencias distintas a la estructura introducida como input (Anexo 1). De estas, se seleccionaron aquellas 10 con el menor *Score* de energía de Rosetta respecto a las demás y se obtuvo sus secuencias (Figura 11). También se midió su energía de interfaz (Tabla 6) y se generó un árbol filogenético para determinar su nivel de similitud (Figura 12) y seleccionar 3 de estas que representen la variedad del grupo.

Tabla 6

Estimación de Energía total y Energía de Interfaz de múltiples Complejos Antígeno-Anticuerpo obtenidos por Graft Design

Id	Score Total (REU)	Score RBD (REU)	Score Nanoanticuerpo (REU)	Energía de Interfaz (E.I) (REU)	dE (E.I - E.I VH_cam) (REU)
VH_orig	-932.545	-526.977	-348.494	-57.074	-4.500
VH_cam	-930.449	-531.357	-346.518	-52.574	0
VH 25	-920.088	-531.225	-345.978	-42.885	9.689
VH 78	-919.753	-532.433	-345.756	-41.564	11.010
VH 132	-921.151	-531.817	-347.789	-41.545	11.029
<u>VH 163</u>	-919.539	-528.029	-343.103	-48.407	4.167
VH 183	-924.395	-531.211	-355.447	-37.737	14.837
<u>VH 197</u>	-923.638	-531.461	-347.787	-44.390	8.184
<u>VH 204</u>	-923.591	-531.528	-348.198	-43.865	8.709
VH 256	-917.827	-531.996	-342.595	-43.236	9.338
VH 280	-930.441	-531.068	-355.842	-43.531	9.043
VH 296	-911.571	-532.469	-339.784	-39.318	13.256

Nota. Estimación de energía de las estructuras (*Score*) y energía de las interfaces antígeno-anticuerpo medidas en REU de las estructuras obtenidas por *Graft Design* en comparación con la del VH camelizado (VH_cam) y el VH original (VH_orig). Las estructuras seleccionadas para el *Sequence Design* se encuentran subrayadas.

En la evaluación de la energía de interfaz no se encontraron estructuras con menor energía al VH camelizado utilizado como input. Las estructuras 163, 197 y 204 presentaron las menores energías de interfaz, sin embargo, todas ellas mostraron valores por encima de la estructura inicial del VH camelizado. Se buscó mejorar estas energías aplicando el protocolo de modificación *Sequence Design* acoplado al protocolo de *Graft Design*.

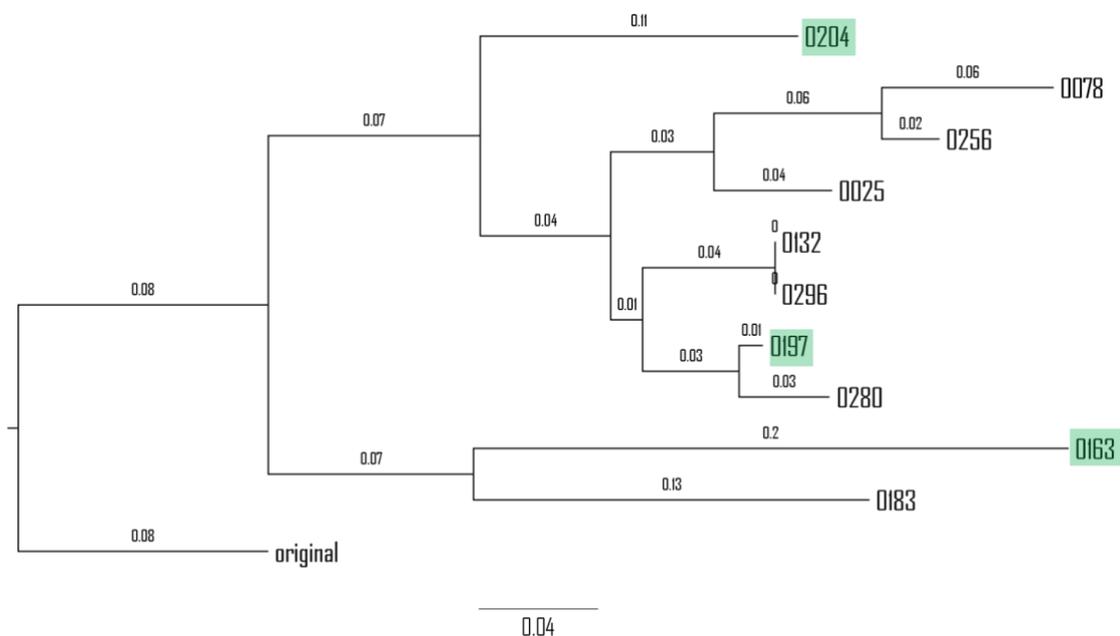


Figura 12. Árbol filogenético de los CDR H3 de los nanoanticuerpos obtenidos por *Graft Design*. Las estructuras seleccionadas para el *Sequence Design* se encuentran resaltadas en verde.

Posteriormente, las 10 estructuras generadas en el protocolo de *Graft Design* con menor energía fueron organizadas en un árbol filogenético (Figura 12). Para conservar la mayor variedad en el siguiente paso de modificaciones (por *Sequence Design*), se consideraron las estructuras de Ids: 204, 163 y 197 debido a que tienen la más baja energía de interfaz del grupo seleccionado y se hallan en puntos distantes entre sí en el árbol filogenético.

7.2.3 Optimización de estructuras con *Sequence Design*

El refinamiento de las estructuras VH 163, 197 y 204, generadas por el *Graft Design*, se realizó mediante la aplicación del protocolo de *Sequence Design* a los CDRs H1, H2 y H3. Con ello, se generaron 500 estructuras para cada una de las tres (1500 estructuras en total). De estas, no se obtuvieron secuencias nuevas a partir del VH 163, ocho secuencias originales distintas a la inicial para el 197 (Figura 13) y dos originales distintas a la inicial para el 204 (Figura 14).

	CDR H1 →	CDR H2 →	
VH_197	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
0125	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGA IYPGDSETR		60
0204	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGT IYPGDSETR		60
0175	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGA IYPGDSETR		60
0172	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMVI IYPGDSETR		60
0143	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
0002	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMVI IYPGDSETR		60
0001	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
0003	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
	*****:*****:		
VH_197	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGQDFDENSYGHWGQTTVTVA		121
0125	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDYDESYGHWGQTTVTVA		121
0204	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDWDESSYGHWGQTTVTVA		121
0175	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDWDESSYGHWGQTTVTVA		121
0172	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDYDESSYGHWGQTTVTVA		121
0143	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDWDESSYGHWGQTTVTVA		121
0002	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDWDESSYGHWGQTTVTVA		121
0001	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDYDESSYGHWGQTTVTVA		121
0003	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGDDWDESSYGHWGQTTVTVA		121
	*****:***:***:*****		
	CDR H3 →		

Figura 13. Secuencias de los nanoanticuerpos obtenidos por *Sequence Design* de VH 197 con CDRs señalados. Azul, CDR H1; Verde, CDR H2 y Rojo, CDR H3.

	CDR H1 →	CDR H2 →	
VH_204	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
0018	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
0211	TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYGFITYWIGWFRQMPGKEREGMGI IYPGDSETR		60
	*****:*****:		
VH_204	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGHDINSNTYGHWGQTTVTVA		121
0018	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGEDIDSSTYGHWGQTTVTVA		121
0211	YSPSFQGGVTTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAIYYCAAGGEDIDSSTYGHWGQTTVTVA		121
	*****:***:***:*****		
	CDR H3 →		

Figura 14. Secuencias de los nanoanticuerpos obtenidos por *Sequence Design* de VH 204 con CDRs señalados. Azul, CDR H1; Verde, CDR H2 y Rojo, CDR H3.

La energía de interfaz fue medida para estas nuevas estructuras y se compararon respecto a la secuencia de la estructura que se introdujo como input (Tabla 7). Todas las estructuras nuevas obtuvieron una menor energía de interfaz respecto a la de la estructura utilizada como input. Sin embargo, no alcanzaron una energía de interfaz tan baja como la de la estructura camelizada ni a la de la original. La estructura con menor energía de interfaz es la de id 143, generada a partir de VH 197, con una energía de -49.107 REU.

Tabla 7

Estimación de Energía total y Energía de Interfaz de múltiples Complejos Antígeno-Anticuerpo obtenidos por Sequence Design

Id	Score Total (REU)	Score RBD (REU)	Score Nanoanticuerpo (REU)	Energía de Interfaz (E.I) (REU)	dE (E.I - E.I VH_cam) (REU)
VH_cam	-930.449	-531.357	-346.518	-52.574	0
VH 197	-923.638	-531.461	-347.787	-44.390	8.184
id 001	-927.778	-531.958	-349.327	-46.493	6.081
id 002	-928.828	-531.116	-351.042	-46.670	5.904
id 003	-928.864	-532.032	-350.18	-46.652	5.922
id 125	-931.023	-531.782	-352.565	-46.676	5.898
id 143	-931.436	-531.814	-350.515	-49.107	3.467
id 172	-928.456	-531.487	-350.533	-46.436	6.138
id 175	-926.634	-530.305	-349.504	-46.825	5.749
id 204	-927.307	-531.08	-349.815	-46.412	6.162
VH 204	-923.591	-531.528	-348.198	-43.865	8.709
id 018	-925.012	-532.051	-347.099	-45.862	6.712
id 211	-926.847	-532.021	-348.971	-45.855	6.719

Nota. Estimación de energía de las estructuras (*Score*) y energía de las interfaces antígeno-anticuerpo medidas en REU de las estructuras obtenidas por *Sequence Design* en comparación con la del VH camelizado (VH_cam) y el VH original (VH_wt).

7.2.4 Evaluación de energía por mutaciones puntuales en estructuras obtenidas por *Sequence Design* de VH 197

Se observó que entre las estructuras obtenidas a partir de la aplicación del protocolo de *Sequence design* a VH 197, el id 143 poseía la mejor energía de interfaz entre estas. Con el propósito de optimizar la secuencia de este producto, se intentó introducir al id 143 las mutaciones poseídas por las otras secuencias obtenidas en el mismo protocolo, ya que todas alcanzaron una mejor energía de interfaz que la estructura introducida como input (VH 197). Las mutaciones elegidas fueron S135T, W113Y, I57A, I57V y K69R (Tabla 8) y se aplicó cada una por separado para medir su efecto en la energía de interfaz en el id 143. Se encontró que estas modificaciones empeoraron su energía de interfaz, con la excepción de S135T, que mejoró su energía en 0.003 REU. Por lo que no se logró optimizar más esta secuencia.

Posteriormente, se aplicó la mutación exclusiva de id 143 en VH 197 (R69K), para observar su aporte individual en el *Score* de energía de interfaz. Se observó que con aplicando esta única modificación, la energía de interfaz de VH 197 disminuyó de -44.390 REU a -47.794 y logró superar el *Score* de energía de interfaz del resto de productos del protocolo de *Sequence Design*, a excepción de id 143 (Tabla 8).

Tabla 8

Estimación de Energía total y Energía de Interfaz de múltiples Complejos Antígeno-Anticuerpo obtenidos añadiendo Mutaciones individualmente

Id	Score Total (REU)	Score RBD (REU)	Score Nanoanticuerpo (REU)	Energía de Interfaz (E.I) (REU)	dE (E.I - E.I VH_cam) (REU)
VH_cam	-930.449	-531.357	-346.518	-52.574	0
id 143	-931.436	-531.814	-350.515	-49.107	3.467
S135T	-927.662	-530.652	-347.9	-49.110	3.464
W113Y	-929.308	-531.97	-348.364	-48.974	3.600
I57A	-932.68	-531.532	-353.643	-47.505	5.069
I57V	-929.89	-530.59	-351.227	-48.073	4.501
K69R	-927.811	-531.096	-348.478	-48.237	4.337
VH 197	-923.638	-531.461	-347.787	-44.390	8.184
R69K	-926.027	-530.604	-347.629	-47.794	4.780

Nota. Estimación de energía de las estructuras (*Score*) y energía de las interfaces antígeno-anticuerpo medidas en REU cuando se le aplican mutaciones puntuales a id 143 y VH 197 en comparación con el VH camelizado.

7.2.5 Estimación de la calidad de los modelos

Para las estimaciones de calidad, los nanoanticuerpos de las estructuras VH 204, VH 197, VH 163 y todas las generadas por *Sequence Design* fueron separados del RBD utilizando PyMol y luego relajados en Rosetta. Después, se introdujeron en SWISS MODEL Structure Assessment y ProSa-Web para obtener sus respectivos gráficos de Ramachandran y “Overall Model Quality” (Anexo 2). Todas las estructuras tuvieron un *Z score* dentro de los valores esperados para estructuras de 121 aminoácidos y gráficos de Ramachandran sin valores atípicos.

7.2.6 Medición de área de interfaz epítipo-parátipo

Dado que los nanoanticuerpos suelen tener una mayor de área de interfaz con su epítipo que los VH de anticuerpos convencionales IgG, se midió el área de interfaz de nuestros modelos cuyo tamaño del CDR-H3 fue incrementado en la aplicación del protocolo de

Graft Design. Para realizar estas mediciones, se introdujeron las estructuras VH_cam, VH 204, VH 197, VH 163 y todas las generadas por *Sequence Design* fueron introducidas en el software de cálculo de área accesible al solvente dr_sasa (39). Encontramos que el área de interfaz disminuyó en todas las nuevas estructuras respecto al VH camelizado inicial, a excepción de VH 163 con 710.435 Å². Asimismo, el área de interfaz tiende a aumentar para las estructuras originadas a partir de VH 197 y disminuye en las estructuras generadas en base al VH 204. (Tabla 9).

Tabla 9

Área del Parátipo de Complejos Antígeno-Anticuerpo

Id	Área del parátipo (Å ²)	Id	Área del parátipo (Å ²)	Id	Área del parátipo (Å ²)
VH_cam	669.507	id 0003	627.019	id 0204	626.842
VH 163	710.435	id 0125	639.291	VH 204	618.612
VH 197	623.661	id 0143	608.707	id 0018	609.074
id 0001	623.848	id 0172	627.784	id 0211	609.204
id 0002	630.369	id 0175	629.456		

Nota. Área del parátipo en Å² de las estructuras finales de la aproximación por camelización de VH de anticuerpo convencional IgG, obtenidas por el programa dr_sasa respecto al VH camelizado (VH_cam). En negrita están las estructuras obtenidas por *Graft Design*.

7.2.7 Evaluación visual de las modificaciones introducidas

Utilizando el programa PyMOL, observamos la interfaz epítipo-parátipo entre el RBD y las estructuras principales generadas en esta aproximación. En primer lugar, tenemos la comparación entre el complejo formado por el VH camelizado y RBD y el VH 163 y RBD (Fig 15).

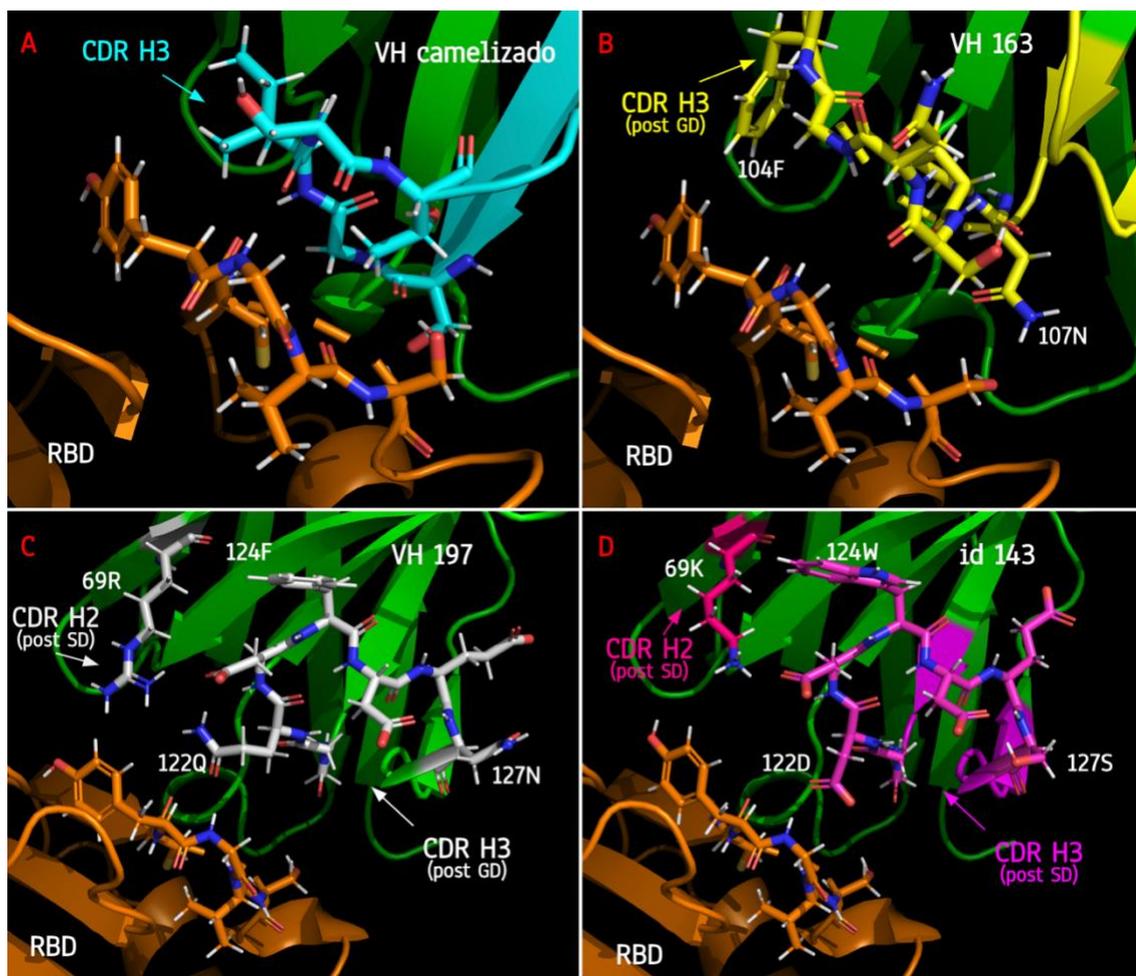


Figura 15. A. Vista en PyMOL de las modificaciones realizadas por RAbD. **A.** Interfaz del complejo RBD (anaranjado) y CDR H3 (celestes) del VH camelizado (verde). **B.** Interfaz del complejo RBD (anaranjado) y CDR H3 (amarillo) del VH 163 (verde) producto del protocolo de *Graft Design*. **C.** Interfaz del complejo RBD (anaranjado) y CDR H3 (blanco) del VH 197 (verde) producto del protocolo de *Graft Design* y el aminoácido 69R del CDR H2 (gris). **D.** Interfaz del complejo RBD (anaranjado) y CDR H3 (magenta) del VH id 143 (verde) y el aminoácido 69K del CDR H2 (fucsia) producto del protocolo de *Sequence Design*.

En el primer complejo (Figura 15. A) se observó que podían formarse interacciones puente de hidrógeno entre varios aminoácidos del CDR H3 del VH camelizado con aminoácidos del epítipo en el RBD. El segundo complejo (Figura 15. B) está formado por el RBD y una de las estructuras generadas por el protocolo de *Graft Design* de RAbD, se observa el aumento de tamaño del CDR H3 y la presencia de aminoácidos como 104F y 107N que pueden contribuir al reconocimiento del RBD por medio de interacciones hidrofóbicas y puente de hidrógeno respectivamente. Asimismo, la presencia de estos dos aminoácidos en los extremos del parátipo podrían explicar el aumento del área de interfaz

medido por el programa *dr_sasa* (Tabla 9). Por otro lado, el VH 197 (Figura 15. C), también generado por el protocolo de *Graft Design*, muestra un CDR H3 más alejado de la interfaz que el VH camelizado, lo cual pudo dar lugar a la menor energía de interfaz medida y el aminoácido 122Q del CDR H3 podría formar un enlace puente de hidrógeno con un grupo amino del epítipo. Además, el aminoácido 69R del CDR H2 puede interactuar con la tirosina del RBD. Finalmente, el VH id 143 (Figura 15. D), generado a partir del protocolo de *Sequence Design* del VH 197, presenta similitudes al VH 197 en la estructura de su CDR H3, excepto por las mutaciones F124W, N127S y Q122D. Esta última en particular representa el cambio de un aminoácido de carga neutra a uno cargado negativamente y se encuentra próximo al epítipo. Es posible que esta mutación haya sido particularmente beneficiosa para mejorar la energía de interfaz debido a que todas las estructuras generadas por el protocolo de *Sequence Design* tuvieron esta modificación. Además, la mutación N127S cambió la orientación de una parte del CDR H3, lo que podría explicar la baja área de interfaz medida por el programa *dr_sasa* (Tabla 9). Por otro lado, en el CDR H2 ocurrió la mutación R69K, que solo tuvo el id 143. Esta mutación aumenta la hidrofobicidad del residuo (41) lo que puede ocasionar la ligera atracción de la tirosina del RBD hacia la interfaz por medio de una interacción hidrofóbica. Hemos evaluado que esta mutación por si sola logró mejorar la energía de interfaz en 4.78 REU (Tabla 8).

7.2.8 Modelamiento de estructuras finales

Finalmente, las secuencias de los nanoanticuerpos de las estructuras VH 204, VH 197, VH 163 y todas las generadas por *Sequence Design* fueron modeladas por AlphaFold 2 y SWISS MODEL. Posteriormente, se realizó un análisis de RMSD y IDDT a las estructuras generadas por los distintos programas (Anexo 3). Asimismo, se utilizó el SWISS Structure Assessment para obtener un gráfico de Ramachandran de cada nuevo nanoanticuerpo. Esto se realizó con el fin de evaluar la conformación estructural de las estructuras finales luego de haberse aplicado las modificaciones de RAbD. El IDDT entre la predicción de Rosetta y los modeladores AlphaFold 2 y SWISS MODEL no varía demasiado salvo en los CDRs, debido a que estas regiones son altamente flexibles y no poseen una conformación fija, en especial la del H3 (1).

8. Discusión

Estructuras iniciales

Las estructuras utilizadas como input para la ejecución de estos métodos fueron construidas y modificadas mediante alineamientos estructurales y relajación con Rosetta. Inicialmente, al comparar las estructuras provenientes de las estructuras cristalizadas con su estructura relajada correspondiente (Figura 3: B y C), estas presentan una gran cantidad de variación entre sí, lo cual podría poner en duda la confiabilidad de las estructuras utilizadas como input. Sin embargo, encontramos que las modificaciones estructurales introducidas por el protocolo de relajación de Rosetta son similares para varias estructuras. En general, la relajación aproximó a las estructuras de RBD a su forma aislada, sin interacción con anticuerpo o nanoanticuerpo. Además, la relajación en presencia de un nanoanticuerpo generó variaciones de configuración en los lugares esperados.

Específicamente, al analizar las comparaciones E y F (Figura 4), estas sugieren que el protocolo de relajación asemeja ligeramente a las estructuras de RBD a las estructuras cristalizadas de RBD que no están en complejo con nanoanticuerpos. No obstante, al analizar las comparaciones A, B, C, D y F (Figura 3 y 4) en conjunto, se observó que los cambios introducidos ocurren particularmente en aminoácidos cercanos a la interfaz antígeno-nanoanticuerpo de manera esperada.

Por estas razones consideramos que las configuraciones iniciales aquí utilizadas son posibles por definición del algoritmo de relajación. Además, son probablemente realistas ya que predicen la posición de pequeñas modificaciones configuracionales que se han registrado experimentalmente en la interfaz de interacción con un anticuerpo o nanoanticuerpo.

Diversidad de las estructuras descubiertas

En cuanto los nanoanticuerpos con afinidad por el RBD de la variante P.1 sólo se obtuvieron 2 secuencias nuevas, y con una diferencia entre sí de un solo aminoácido. Examinando el procedimiento realizado por el programa, encontramos que no se identificó un clúster adecuado para que pertenezca el CDR H1 en la base de datos utilizada (PyIgClassify). Esto ocasiona que Rosetta base las mutaciones aplicadas en la matriz BLOSUM62 (7), lo cual explicaría por qué hubo la mayor cantidad de mutaciones

en este CDR, al no estar limitado por las secuencias registradas. Sin embargo, esto no termina de explicar por qué aparecieron exactamente las mismas mutaciones en múltiples secuencias. La convergencia constituye una explicación razonable, implicando que, solo cuando estas modificaciones se encuentran en conjunto, el programa considera que la estabilidad del complejo aumenta. Con respecto al CDR H2, la falta de diversidad en cuanto a secuencias puede haberse debido a que la base de datos utilizada, al momento de ser descargada, solo contaba con 24 secuencias únicas en el clúster identificado para este CDR (H2-10-5), lo cual limitaría sus posibles cambios. En el caso del CDR H3, el clúster al que pertenece (H3-12-1), poseía un total de 172 secuencias únicas. Esto podría explicar el hecho de que en este CDR se ubica el único aminoácido que cambió entre ambos nanoanticuerpos nuevos. No obstante, la diversidad de secuencias conseguidas fue menor a la esperada y sugeriría que una mayor cantidad de corridas del algoritmo podrían ser beneficiosas.

La mayor variedad de secuencias obtenidas en la aproximación por camelización de VH de anticuerpo convencional IgG se debió a la extensión de su CDR H3 mediante *Graft Design*. Esto ocasionó una pérdida inicial de afinidad en el complejo nanoanticuerpo-RBD. A causa de esto, se ampliaron las posibilidades que el programa poseía para posteriormente disminuir la energía durante *Sequence Design*.

No obstante, de los tres nanoanticuerpos seleccionados para el *Sequence design* en la segunda aproximación, uno de ellos (VH 163) no generó nuevas secuencias. Esto puede implicar que este nanoanticuerpo se encuentra en un “pozo” de minimización de energía, en donde RAbD intenta aplicar mutaciones para mejorar la energía de interacción con el RBD, pero falla en encontrar una mutación que cumpla con ese propósito. En este caso, las posibilidades para disminuir la energía en *Sequence Design*, fueron muy bajas o nulas y ocasionó que no se generaran nuevas estructuras en base al VH 163.

Verosimilitud de las estructuras finales

Uno de los principales riesgos que se consideró en este trabajo es la posibilidad de que las modificaciones aplicadas a estos nanoanticuerpos comprometan la estabilidad de las proteínas si se desean producir *in vitro*. Con este objetivo, se llevó a cabo el paso de camelización en la segunda aproximación, para reducir las probabilidades de que al producir las proteínas *in vitro*, estas se agreguen entre sí por tener una superficie hidrofóbica adicional.

En este trabajo se aplicó el método de camelización del VH, que está enfocado a evitar la agregación del VH que podría impedir el reconocimiento del antígeno (17). Otras modificaciones que se pueden realizar a los nanoanticuerpos para mejorar su producción *in vitro* y utilización no fueron parte de este trabajo. Estas incluyen la adición de etiquetas con el fin de incrementar su producción en microorganismos específicos (14, 17) y otras orientadas a mejorar la especificidad y evitar respuestas inmunes en los organismos, como las estructuras tipo fusión basadas en nanoanticuerpos (1, 2, 40) y humanización de nanoanticuerpos (42).

Además de las evaluaciones de hidrofobicidad de la camelización, se aplicaron múltiples análisis a las estructuras de las nuevas secuencias propuestas. Los análisis de calidad mediante el gráfico de Ramachandran y ProSA-web y las predicciones estructurales en base a secuencia de aminoácidos mediante SWISS MODEL y AlphaFold 2 permitieron corroborar que los nuevos modelos tengan la conformación estructural semejante al nanoanticuerpo como Rosetta los modeló.

La interpretación del *score* calculado

Los valores de puntaje de energía o *score* utilizados para indicar el nivel de estabilidad de las estructuras generadas por RabD, así como los puntajes de energía de interfaz o afinidad de los nanoanticuerpos por sus antígenos, no se tratan de una medida equivalente a las magnitudes físicas reales que sirven para describir estas interacciones (Kcal/mol o KJ/mol) sino que solo estiman el aumento o disminución de la energía de manera relativa (7, 9). Es por ello que, en este trabajo, el valor *score* es utilizado solo para identificar las estructuras con la mayor o menor energía o afinidad del grupo con el cual se comparan, ya sea para disminuir más este puntaje (por ejemplo, utilizando los protocolos de *Sequence Design* o *Graft Design*) o para su evaluación a profundidad (por ejemplo, evaluar el efecto de la camelización en la estabilidad del nanoanticuerpo).

Por último, es importante mencionar que el *score* de energía se puede utilizar de forma relativamente confiable para comparar la estabilidad entre estructuras semejantes, mas no permite estimar por sí solo la magnitud en que esta diferencia afectará a la estructura (9). Es por ello que examinamos visualmente (utilizando programas como Prodigy y PyMOL) aquellas estructuras que mostraron poseen una menor energía de interfaz que otras de su propio grupo para explicar la razón de esta disminución de energía. Este examen visual permitió validar la adjudicación de bajos valores de *score* cuando se identificó la aparición

de interacciones favorables (por ejemplo, un nuevo puente de hidrógeno) o la eliminación de interacciones desfavorables (por ejemplo, la cercanía de dos residuos con carga +1)

Efecto de la camelización en la interfaz antígeno-anticuerpo

La alta agregación y baja solubilidad del VH son características poco deseables para su producción en comparación con su contraparte camélida, el VHH. Esto es debido a que el VH se encuentra asociado al VL en el anticuerpo convencional IgG y la interfaz que forman es de naturaleza hidrofóbica. El área remanente de esta interfaz consiste en un parche hidrofóbico en el VH que es responsable de su agregación. La introducción de 4 mutaciones puntuales en el armazón del VH (V37F, G44E, L45R y W47G) pueden disminuir la hidrofobicidad de este parche de forma confiable (17).

Por otro lado, el *Score* total del complejo RBD-VH camelizado fue mayor al del RBD-VH sin camelizar. Esto significa que el complejo formado por el VH camelizado con el RBD es menos estable estructuralmente que el formado por el VH sin camelizar. Particularmente, el RBD del complejo camelizado obtuvo un *Score* de -531.357 REU, respecto al *Score* del RBD en el complejo original, con -526.977 REU (Tabla 6). Pese a ello, el *Score* de energía de interfaz del complejo camelizado (-52.574 REU) fue mayor al del complejo con el VH original (-57.074 REU); por lo tanto, la camelización *in silico* sí afectó a la interfaz de forma indirecta. Es posible que la estabilidad adicional que la camelización le confirió al VH, ocasionó que el nanoanticuerpo sea más estable de forma independiente que en complejo con el RBD, según las mediciones de energía. Del mismo modo, la menor energía del RBD en el complejo camelizado pudo haber sido producto de pequeñas modificaciones en la orientación de los CDRs producto de la aplicación del protocolo Relax posterior a la camelización.

Si bien se conoce que la camelización logra disminuir la agregación de VHs, este método dejó de utilizarse debido a la disminución de la afinidad que el VH sufre por este proceso (43) y motivó el desarrollo de técnicas de maduración de afinidad de CDRs para compensar dicha disminución de afinidad como el uso de librerías de fagos y cribado. Aun así, la generación de nanoanticuerpos resistentes a la agregación es un área en desarrollo (43). En el presente trabajo, el uso de RosettaAntibodyDesign, constituye el

paso de maduración de la afinidad del nanoanticuerpo camelizado, realizado *in silico* y podría abrir nuevas posibilidades a la ya efectiva camelización de VHs.

Efecto de las restricciones al *Graft Design*

La instrucción para el alargamiento del CDR H3 al VH camelizado funciona como filtro para la base de datos PyIgClassify de RAbD en el protocolo de *Graft Design*. De este modo, el programa solo utilizó como referencia a los anticuerpos que cumplan con las especificaciones indicadas de longitud mínima 14 aminoácidos y máxima de 16 aminoácidos para el CDR H3.

Este rango fue elegido para obtener un tamaño CDR cercano a 15 aminoácidos, respecto a 12 aminoácidos del VH camelizado, como un CDR H3 propio de un nanoanticuerpo (11). Esta elongación tuvo como propósito incrementar el área de interacción del VH camelizado con el antígeno y, de este modo, incrementar su afinidad.

Mediante el programa *dr_sasa*, encontramos que el VH camelizado tiene un área de interfaz de 669.507 \AA^2 y que solo el VH 163 logró tener un área de parátipo mayor a este, con 710.435 \AA^2 . Ambas mediciones se encuentran en los rangos de tamaño de área del parátipo de VHs y VHHs respectivamente, indicadas por Mitchell. L y Colwell. L (44). En adición a esto, el VH 163 tuvo el segundo mejor *Score* de energía de interfaz respecto al VH camelizado, con -48.407 REU , siendo el primero el id 143, con -49.107 REU . Si bien estos resultados nos indican que se pudo generar una estructura con CDR H3 elongado, con un área superficial incrementada respecto a la introducida como input y con afinidad estimada *in silico*, no quiere decir que aplicar este paso sea efectivo en todas las situaciones. Esto es debido a que solo se midió el área del parátipo de las estructuras finales, mas no de todas las generadas por *Graft Design*. Este trabajo no buscó mejorar aquellas estructuras con un área superficial incrementada, sino, de las que poseían la mejor estimación de energía de interfaz con el RBD (Tabla 6) y diversidad de la secuencia (Figura 12). Para evaluar el efecto de esta modificación por sí sola, sería necesario medir el área del parátipo de todas las estructuras generadas por el *Graft Design* y aplicar un test estadístico de correlación con el tamaño del CDR H3. Asimismo, sería necesario aplicar el protocolo de *Sequence Design* a las estructuras con la mejor estimación de energía de interfaz y mayor área del parátipo.

Por otro lado, la restricción de especies del *instruction file* a: Al (*Vicugna pacos*), La (*Lama glama*) y Ca (*Camelus dromedarius*) limita aún más las secuencias que RAbD utiliza para el reemplazo del CDR H3 en el *Graft Design* a aquellos anticuerpos y nanoanticuerpos que provengan de estas especies. A la fecha de 25/02/2021 (fecha de descarga de la base de datos utilizada en este trabajo), existen 78 anticuerpos en la base de datos que provienen de estas especies y tienen un CDR H3 de 14-16 aminoácidos de longitud, los cuales, pertenecen a 17 clústers. Como referencia, la base de datos PyIgClassify posee 59 clústers de CDR H3 que pertenecen a estas especies y 190 clústers en total sin filtros aplicados.

Si bien las restricciones sólo se aplicaron en el comando para el *Graft Design*, estos cambios se prolongan hasta el *Sequence Design*, debido a que RAbD analiza el clúster de proveniencia del CDR a modificar para evaluar la frecuencia de aparición de aminoácidos según cada posición y aplicar mutaciones a los CDRs (7).

Por un lado, este filtro direcciona el programa para generar CDRs similares a los que se encuentran en los anticuerpos de camélidos, lo cual puede contribuir a generar estructuras con propiedades de nanoanticuerpos en lugar de VHs solos. Sin embargo, esto disminuye la diversidad de secuencias disponibles que el programa puede aplicar en el VH, lo que puede restringir al programa de generar nanoanticuerpos con mejores perfiles de energía. En este proyecto, se pudieron generar estructuras con buenos niveles de energía de interfaz, sin embargo, ninguna de las estructuras generadas por RAbD fueron mejores que la energía de interfaz del VH y del VH camelizado. Es posible que la cantidad de referencias de clústers que el programa utilizó no hayan sido suficientes para generar un nanoanticuerpo con mejor energía de interfaz que su estructura inicial introducida como input. Sin embargo, debido a que las mediciones de energía no son equivalentes a datos experimentales de afinidad, aún es necesario producir las nuevas estructuras *in vitro* para obtener datos experimentales. Este método busca aumentar la tasa de descubrimiento de nuevos nanoanticuerpos y aprovechar las herramientas disponibles *in silico* para su análisis y refinamiento, de modo que puedan obtenerse secuencias rápidamente para ser probadas experimentalmente.

Perspectivas futuras

El objetivo de este trabajo consiste es la obtención de nuevas estructuras de nanoanticuerpos obtenidas *in silico* y evaluadas por programas de uso libre. Para su

evaluación experimental o su uso en diversas aplicaciones, las secuencias de aminoácidos de estructuras aquí obtenidas pueden ser introducidas en vectores plasmídicos, expresadas en microorganismos como *Escherichia coli* y purificadas en columnas de cromatografía siguiendo la ruta convencional de producción de nanoanticuerpos (4, 14). La capacidad de reconocimiento de los nanoanticuerpos por sus epítomos puede ser comprobada por la técnica de ELISA y su afinidad puede ser medida con la técnica de resonancia de plasmones de superficie (SPR) (45), también utilizada por Xiang et al. para el reconocimiento de nanoanticuerpos para epítomos de RBD (27). La medición experimental de la afinidad de las moléculas aquí diseñadas permitiría confirmar la validez del método *in silico* planteado en este trabajo.

El producto de este trabajo son secuencias que, según nuestros resultados, podrían ser utilizadas para producir nanoanticuerpos con alta afinidad por el RBD de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2. Además, se contribuye con una metodología detallada para la generación de nuevos nanoanticuerpos aplicando paquetes de software de acceso libre a partir de estructuras de nanoanticuerpos o anticuerpos convencionales.

En el caso de la aproximación por modificación de nanoanticuerpos para aumentar su afinidad por variantes de RBD nos resulta claro que las dos nuevas estructuras tienen el potencial de mejorar la afinidad por la variante P.1. y resultaría beneficioso poder corroborar estos resultados *in vitro*. Consideramos que sería útil ensayar nanoanticuerpos que solo posean la mutación A51G puesto que es la que más contribuye al aumento de afinidad y comprometería menos la estabilidad de la proteína libre al solo cambiar un aminoácido.

En el caso de la aproximación por camelización de VH de anticuerpo convencional IgG, se pudo confirmar *in silico* el efecto de las mutaciones de camelización sobre la disminución de la hidrofobicidad superficial del VH. Por otro lado, el alargamiento del CDR H3 *in silico* por RosettaAntibodyDesign resultó exitosa en el caso del nanoanticuerpo VH 163, sin embargo, es necesario explorar más este método para aumentar la frecuencia de generación de nanoanticuerpos con mayor área de interfaz que la estructura inicial.

Consideramos que el mejor candidato obtenido por esta aproximación fue el nanoanticuerpo id 143, que tuvo la mejor energía de interfaz y merecería ser producido *in vitro* para corroborar su afinidad experimentalmente. Asimismo, también sería

oportuno comprobar la afinidad del VH 163 debido a que aumentó el área del parátipo respecto a su estructura introducida como input, con lo cual se asemeja más a un nanoanticuerpo, y mantuvo una buena energía de interfaz.

9. Conclusiones

Este trabajo culminó en múltiples estructuras, que, de acuerdo a múltiples programas bioinformáticos, pueden funcionar. Por lo cual, al ser producidos in vitro, estos deberían plegarse correctamente y poseer una alta afinidad por sus antígenos objetivos.

En cuanto a la primera aproximación, se trata de un método relativamente simple, pero es posible, que, al ser ejecutado, no de como producto una gran cantidad de nuevas estructuras. Mientras que, con la segunda aproximación, se pueden diseñar una gran variedad de nanoanticuerpos y se puede resolver el problema del parche hidrofóbico. Sin embargo, estos no logran alcanzar tanta afinidad por el antígeno, como lo hace el nanoanticuerpo original.

Finalmente, se considera que todos los nanoanticuerpos diseñados en este trabajo poseen un buen respaldo bioinformático que sugiere que pueden funcionar. No obstante, la única forma de saber si los nanoanticuerpos funcionan y, por extensión, los métodos con los que fueron generados, es mediante su ensayo in vitro.

10. Referencias bibliográficas

1. Jovčevska, I., & Muyldermans, S. (2019). The therapeutic potential of nanobodies. *BioDrugs*, 34(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s40259-019-00392-z>
2. Chanier, T., & Chames, P. (2019). Nanobody Engineering: Toward next generation immunotherapies and immunoimaging of cancer. *Antibodies*, 8(1), 13. <https://doi.org/10.3390/antib8010013>
3. Saeed, A. F., Wang, R., Ling, S., & Wang, S. (2017). Antibody engineering for pursuing a healthier future. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00495>
4. Desmyter, A., Spinelli, S., Roussel, A., & Cambillau, C. (2015). Camelid nanobodies: Killing two birds with one stone. *Current Opinion in Structural Biology*, 32, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.01.001>
5. Wang, P., Nair, M. S., Liu, L., Iketani, S., Luo, Y., Guo, Y., Wang, M., Yu, J., Zhang, B., Kwong, P. D., Graham, B. S., Mascola, J. R., Chang, J. Y., Yin, M. T., Sobieszczyk, M., Kyratsous, C. A., Shapiro, L., Sheng, Z., Huang, Y., & Ho, D. D. (2021). Antibody resistance of SARS-COV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature*, 593(7857), 130–135. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03398-2>
6. Sormanni, P., Aprile, F. A., & Vendruscolo, M. (2018). Third generation antibody discovery methods: in silico rational design. *Chemical Society Reviews*, 47(24), 9137–9157. <https://doi.org/10.1039/c8cs00523k>
7. Adolf-Bryfogle, J., Kalyuzhniy, O., Kubitz, M., Weitzner, B. D., Hu, X., Adachi, Y., Schief, W. R., & Dunbrack, R. L. (2018). Rosettaantibodydesign (RAbD): A general framework for computational antibody design. *PLOS Computational Biology*, 14(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006112>
8. Chowdhury, R., Allan, M. F., & Maranas, C. D. (2018). Optmaven-2.0: De novo design of variable antibody regions against targeted antigen epitopes. *Antibodies*, 7(3), 23. <https://doi.org/10.3390/antib7030023>
9. Kaufmann, K. W., Lemmon, G. H., DeLuca, S. L., Sheehan, J. H., & Meiler, J. (2010). Practically useful: What the Rosetta protein modeling suite can do for you. *Biochemistry*, 49(14), 2987–2998. <https://doi.org/10.1021/bi902153g>

10. Zost, S. J., Gilchuk, P., Case, J. B., Binshtein, E., Chen, R. E., Nkolola, J. P., Schäfer, A., Reidy, J. X., Trivette, A., Nargi, R. S., Sutton, R. E., Suryadevara, N., Martinez, D. R., Williamson, L. E., Chen, E. C., Jones, T., Day, S., Myers, L., Hassan, A. O., ... Crowe, J. E. (2020). Potently neutralizing and protective human antibodies against SARS-COV-2. *Nature*, 584(7821), 443–449. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2548-6>
11. Mitchell, L. S., & Colwell, L. J. (2018). Comparative analysis of nanobody sequence and structure data. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 86(7), 697–706. <https://doi.org/10.1002/prot.25497>
12. Muyldermans, S., & Smider, V. V. (2016). Distinct antibody species: Structural differences creating therapeutic opportunities. *Current Opinion in Immunology*, 40, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2016.02.003>
13. Harmsen, M. M., & De Haard, H. J. (2007). Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(1), 13–22. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1142-2>
14. Iwaki, T., Hara, K., & Umemura, K. (2020). Nanobody production can be simplified by direct secretion from escherichia coli. *Protein Expression and Purification*, 170, 105607. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2020.105607>
15. Teh, Y.-H. A., & Kavanagh, T. A. (2009). High-level expression of camelid nanobodies in *Nicotiana benthamiana*. *Transgenic Research*, 19(4), 575–586. <https://doi.org/10.1007/s11248-009-9338-0>
16. Terfrüchte, M., Reindl, M., Jankowski, S., Sarkari, P., Feldbrügge, M., & Schipper, K. (2017). Applying unconventional secretion in *Ustilago maydis* for the export of functional nanobodies. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(5), 937. <https://doi.org/10.3390/ijms18050937>
17. Kim, D. Y., Hussack, G., Kandalaft, H., & Tanha, J. (2014). Mutational approaches to improve the biophysical properties of human single-domain antibodies. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1844(11), 1983–2001. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.07.008>
18. Bannas, P., Hambach, J., & Koch-Nolte, F. (2017). Nanobodies and nanobody-based human heavy chain antibodies as antitumor therapeutics. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01603>

19. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Žídek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., ... Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with alphafold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
20. Hacısuleyman, A., & Erman, B. (2020). Modibodies: A computational method for modifying nanobodies in nanobody-antigen complexes to improve binding affinity and specificity. *Journal of Biological Physics*, 46(2), 189–208. <https://doi.org/10.1007/s10867-020-09548-3>
21. Hacısuleyman, A., & Erman, B. (2020). Modibodies: A computational method for modifying nanobodies in nanobody-antigen complexes to improve binding affinity and specificity. *Journal of Biological Physics*, 46(2), 189–208. <https://doi.org/10.1007/s10867-020-09548-3>
22. Cheng, X., Wang, J., Kang, G., Hu, M., Yuan, B., Zhang, Y., & Huang, H. (2019). Homology modeling-based in silico affinity maturation improves the affinity of a nanobody. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4187. <https://doi.org/10.3390/ijms20174187>
23. Willis, J. R., Sapparapu, G., Murrell, S., Julien, J.-P., Singh, V., King, H. G., Xia, Y., Pickens, J. A., LaBranche, C. C., Slaughter, J. C., Montefiori, D. C., Wilson, I. A., Meiler, J., & Crowe, J. E. (2015). Redesignated HIV antibodies exhibit enhanced neutralizing potency and breadth. *Journal of Clinical Investigation*, 125(6), 2523–2531. <https://doi.org/10.1172/jci80693>
24. Ahmed, M., Goldgur, Y., Hu, J., Guo, H.-F., & Cheung, N.-K. V. (2013). In silico driven redesign of a clinically relevant antibody for the treatment of GD2 positive tumors. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063359>
25. Dejnirattisai, W., Zhou, D., Supasa, P., Liu, C., Mentzer, A. J., Ginn, H. M., Zhao, Y., Duyvesteyn, H. M. E., Tuekprakhon, A., Nutalai, R., Wang, B., López-Camacho, C., Slon-Campos, J., Walter, T. S., Skelly, D., Costa Clemens, S. A., Naveca, F. G., Nascimento, V., Nascimento, F., ... Screaton, G. R. (2021). Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-COV-2. *Cell*, 184(11). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.055>

26. Romero, P. E., Dávila-Barclay, A., Gonzáles, L., Salvatierra, G., Cuicapuza, D., Solis, L., ... & Tsukayama, P. (2021). C. 37: Novel lineage expanding in Peru and Chile, with a convergent deletion in the ORF1a gene (Δ 3675-3677) and a novel deletion in the Spike gene (Δ 246-252, G75V, T76I, L452Q, F490S, T859N). *Virological*
27. Xiang, Y., Nambulli, S., Xiao, Z., Liu, H., Sang, Z., Duprex, W. P., Schneidman-Duhovny, D., Zhang, C., & Shi, Y. (2020). Versatile and multivalent nanobodies efficiently neutralize SARS-COV-2. *Science*, 370(6523), 1479–1484. <https://doi.org/10.1126/science.abe4747>
28. Huo, J., Zhao, Y., Ren, J., Zhou, D., Duyvesteyn, H. M. E., Ginn, H. M., Carrique, L., Malinauskas, T., Ruza, R. R., Shah, P. N. M., Tan, T. K., Rijal, P., Coombes, N., Bewley, K. R., Tree, J. A., Radecke, J., Paterson, N. G., Supasa, P., Mongkolsapaya, J., ... Stuart, D. I. (2020). Neutralization of SARS-COV-2 by destruction of the prefusion spike. *Cell Host & Microbe*, 28(3). <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.06.010>
29. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
30. Mariani, V., Biasini, M., Barbato, A., & Schwede, T. (2013). LDDT: A local superposition-free score for comparing protein structures and models using distance difference tests. *Bioinformatics*, 29(21), 2722–2728. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt473>
31. Hebditch, M., & Warwicker, J. (2019). Web-based display of protein surface and ph-dependent properties for assessing the developability of Biotherapeutics. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36950-8>
32. Sippl, M. J. (1993). Recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, 17(4), 355–362. <https://doi.org/10.1002/prot.340170404>
33. Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). Prosa-web: Interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(Web Server). <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
34. Studer, G., Rempfer, C., Waterhouse, A. M., Gumienny, R., Haas, J., & Schwede, T. (2019). QMEANDISCO—distance constraints applied on model quality estimation. *Bioinformatics*, 36(6), 1765–1771. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz828>

35. Chen, V. B., Arendall, W. B., Headd, J. J., Keedy, D. A., Immormino, R. M., Kapral, G. J., Murray, L. W., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2009). molprobity: All-atom structure validation for Macromolecular Crystallography. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 66(1), 12–21. <https://doi.org/10.1107/s0907444909042073>
36. Hollingsworth, S. A., & Karplus, P. A. (2010). A fresh look at the Ramachandran plot and the occurrence of standard structures in proteins. *BioMolecular Concepts*, 1(3-4), 271–283. <https://doi.org/10.1515/bmc.2010.022>
37. Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., de Beer, T. A. P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018). Swiss-model: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46(W1). <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
38. Xue, L. C., Rodrigues, J. P., Kastritis, P. L., Bonvin, A. M., & Vangone, A. (2016). Prodigy: A web server for predicting the binding affinity of protein–protein complexes. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw514>
39. Ribeiro, J., Ríos-Vera, C., Melo, F., & Schüller, A. (2019). Calculation of accurate interatomic contact surface areas for the quantitative analysis of non-bonded molecular interactions. *Bioinformatics*, 35(18), 3499–3501. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz062>
40. Davies, J., & Riechmann, L. (1996). Single antibody domains as small recognition units: Design and in vitro antigen selection of camelized, human VH domains with improved protein stability. *Protein Engineering, Design and Selection*, 9(6), 531–537. <https://doi.org/10.1093/protein/9.6.531>
41. Nath Jha, A., Vishveshwara, S., & Banavar, J. R. (2010). Amino acid interaction preferences in proteins. *Protein Science*, 19(3), 603–616. <https://doi.org/10.1002/pro.339>
42. Muyldermans, S. (2020). A guide to: Generation and design of nanobodies. *The FEBS Journal*, 288(7), 2084–2102. <https://doi.org/10.1111/febs.15515>
43. Bélanger, K., & Tanha, J. (2021). High-efficacy, high-manufacturability human VH domain antibody therapeutics from transgenic sources. *Protein Engineering, Design and Selection*, 34. <https://doi.org/10.1093/protein/gzab012>

44. Mitchell, L. S., & Colwell, L. J. (2018). Analysis of nanobody paratopes reveals greater diversity than classical antibodies. *Protein Engineering, Design and Selection*, 31(7-8), 267–275. <https://doi.org/10.1093/protein/gzy017>
45. Heinrich, L., Tissot, N., Hartmann, D. J., & Cohen, R. (2010). Comparison of the results obtained by Elisa and surface plasmon resonance for the determination of antibody affinity. *Journal of Immunological Methods*, 352(1-2), 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.10.002>

11. Anexos

Anexo 1: Secuencias de estructuras generadas por *Graft Design*

```

>0001
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGLGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGMGAMFNLLYYWGQGT
VTVA
>0002
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPLLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0003
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0004
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDSSYGGWGQGT
VTVA
>0005
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
DYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
VTVA
>0006
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPDQPKPPEFDYWGQGT
TVTVA
>0007
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSDFTSKYSSLDYWGQGT
TVTVA
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNAKSKTINGETRDYWGQGT
TVTVA
>0008
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDFNSNTYGHWGQGT
VTVA
>0009
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFNSSTYGGWGQGT
VTVA
>0010
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRDAGWSTYVPVFDWSWGQGT
TVTVA
>0011
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGMDGKTYGGWGQGT
VTVA
>0012
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPDQPKPPEFDYWGQGT
TVTVA
>0013
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTASGYG
LITSAMGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
THYSYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARGSDFTSKYSSLDYWGQGT
TVTVA

```

>0014
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPSNDEELQFDYWGQGT
TVA
>0015
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGSIYPGDSE
TRYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARIYGGHGGHQFDYWGQ
TTVTVA
>0016
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
HYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVA
>0017
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITNWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDGGAYGGDKGFDIWGQGT
TVTVA
>0018
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDANSYGHWGQGT
TVA
>0019
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAFVSYAVWYFDLWGQGT
TVA
>0020
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARQGHIAAKQTSSFDVWGQGT
TVTVA
>0021
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESSYGQWGQGT
TVA
>0022
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSDLNVGDNGYHFDLWGQ
TTVTVA
>0023
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAAGGQDFDESSYGHWGQGT
TVA
>0024
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSSETYGQWGQGT
TVA
>0025
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDQSSYGQWGQGT
TVA
>0026
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAANPQRGYGQTLGWTYWGQ
TTVTVA
>0027
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TRYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLVRTTTSNYFDVWGQGT
TVA
>0028
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPSNDSLQFDYWGQGT
TVA
>0029
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGMGAMFNLYYWGQGT
TVA
>0030
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDENWGGTIVSMDVWGQGT
TVTVA
>0031
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVA
>0032
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARESYGPSYNGHMDVWGQ
TTVTVA
>0033
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGTTV
TVVA
>0034
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGTTV
TVVA
>0035
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TSYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0036
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSYGHEGSGSYFDYWGQGT
TVVA
>0037
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYKNPPQSNQNGFDYWGQGT
TVTVA
>0038
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITTEIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGFGAWLNHLYYWGQGT
TVVA
>0039
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITFWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNASHGPLSGPYFVTAYWGQGT
TVTVA
>0040
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMSHTYGHWGQGT
TVVA
>0041
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGRIYPGDSE
TRYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVRDNGGGRDFTDVGQGT
TVTVA
>0042
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMSAPMIKHYDYWGQGT
TVVA
>0043

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINEHTYGHWGQGT
TVVA
>0044
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
THYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0045
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDGGSGSGSLFDYWGQGT
TVVA
>0046
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQGT
TVVA
>0047
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYTIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDRE
TNYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAGPLLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0048
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDNET
HYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARHGDRHTSGDSFDYWGQGT
TVTVA
>0049
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGKNSDSNTDFQHWGQGT
TVVA
>0050
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYDIGWFRQMPGKEREGMGRIYPGDNE
VSYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARSAEQEGKDHLDDYWGQGT
TVTVA
>0051
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FISYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSTYRGHNTFAVWGQGT
TVVA
>0052
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGSKNQSNTPFDAWGQGT
TVTVA

>0053
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARTSFTSEVYNGLDLWGQGT
VTVA
>0054
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGTTVT
A
>0055
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGKGQDESTYGGWGGQGT
VTVA
>0056
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENIRSETYGGWGGQGT
TVA
>0057
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGGWGGQGT
TVA
>0058
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGESQDQSTYGHWGQGT
VTVA
>0059
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESSYGHWGQGT
VTVA
>0060
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARERQGSSEPQNKMDYWGQ
TTVTVA
>0061
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARATYYGGSYFFDYWGQGT
VTVA
>0062
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
VTVA
>0063
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMNSHTYGHWGQGT
VTVA
>0064
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TRYSPSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0065
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWVGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSPSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARNEHWGGSVVGMDVWGQ
GTTVTVA
>0066
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0067
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDIAASSNNNIMDYWGQGT
TVTVA
>0068
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGYYYGASHHFDYWGQGT
TVTVA
>0069
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITHWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARQVHYGGQYHFDYWGQGT
VTVA
>0070
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSVYYGGSYHFDYWGQGT
VTVA
>0071
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGESLNGQTYGHWGQGT
VTVA
>0072
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGWIYPGDSE

TRYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLSSVAGEGNYSLDYWGQ
GTTVTVA
>0073
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITHDIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSSMHEGKNYLLDYWGQGT
TVTVA
>0074
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDANWGGIVGMDVWGQGT
TVTVA
>0075
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGFDASSYGQWGQGT
TVTVA
>0076
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTRSSFRLGSDNEDFDVWGQGT
TVTVA
>0077
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGTRRGLSWYFDLWGQGT
TVTVA
>0078
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGIDASSYGQWGQGT
TVTVA
>0079
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0080
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0081
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNAFVGGKDGSGGFSWGQGT
TVTVA
>0082

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0083
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0084
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITHAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGNFVSNQVNYNYWGQGT
TVTVA
>0085
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSPGAMAEENAMDVWGQGT
TVTVA
>0086
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGYGGTISFDFWGQGT
TVTVA
>0087
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSHHGGAPHHSMMDYWGQGT
TVTVA
>0088
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGGQWGQGT
TVTVA
>0089
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDGE
THYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARSAYTGVYHGLDLWGQGT
TVTVA
>0090
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTRDEYQGAINTFAYWGQGT
TVTVA
>0091
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSTYQGGSDTFDSWGQGT
TVTVA

>0092
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYENPPQSNNGFDYWGGQTTV
TVA
>0093
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGCIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARGAPPNGESHSGGDYWGQ
GTTVTVA
>0094
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPSNDSSLNFDYWGGQTTV
TVA
>0095
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAAYNNEQEHFDYWGGQTT
TVTVA
>0096
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYTIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSDPGGGEYFDYWGGQTT
TVTVA
>0097
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLEPGGSSTTSVNWGGQTT
TVTVA
>0098
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSTYFEATQSSSFDVWGQGT
TVTVA
>0099
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMKSESYGQWGQTT
TVTVA
>0100
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQTTV
TVA
>0101
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIAWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAAGGDVDGQWGGQTT
VTVA
>0102
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMRSETYQWGQTT
VTVA
>0103
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPDQPKPPEFDYWGGQTTV
TVA
>0104
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGDGMNSSSYGQWGQTT
VTVA
>0105
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TKYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0106
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGFG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGDIYPGDGE
TMYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVAGPIVNHYDYWGQGT
TVTVA
>0107
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGFG
FITSAGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDGET
KYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAAWFNSDEQRFDYWGGQGT
TVTVA
>0108
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGMGAMFNLYYWGGQTT
TVTVA
>0109
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGDLHEGRDGFVYWGGQGT
TVTVA
>0110
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TGYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0111
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARASYHHNVSENFYWGQGT
TVTVA
>0112
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGNDFNEQTYGHWGQGT
TVTVA
>0113
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
TVTVA
>0114
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGDIYPGDSE
TRYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARMQSVLGEGNYSLDYWGQ
GTTVTVA
>0115
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
THYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0116
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
KYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0117
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGGYGLGYFDVWGQGT
TVTVA
>0118
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0119
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSGIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDSMNSGDNGHRFDLWGQ
TTVTVA
>0120
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAAWHHGSSYNFDYWGQGT
TVTVA
>0121

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPNDRSLNFDYWGQGT
TVTVA
>0122
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYGNPPQSNQFDYWGQGT
TVTVA
>0123
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0124
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQGT
TVTVA
>0125
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGIDASSYGGWQGT
TVA
>0126
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTRTHIEWNGYFFDVWGQGT
TVTVA
>0127
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGGWQGT
TVTVA
>0128
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGFGSQLNGLYYWGQGT
TVA
>0129
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITTWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREPDQKPPDFDYWGQGT
TVA
>0130
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARARYQGNMTAFDSWGQGT
TVTVA

>0131
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
HYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGFGFNSEHASAYNYWGQG
TTVTVA
>0132
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGTT
VTVA
>0133
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKNSNPPQSNNGFDYWGQGTT
VTVA
>0134
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDSSYGQWGQGTT
VTVA
>0135
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKHPQENGSSYFYFDVWGQGTT
TVTVA
>0136
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSASGYG
FITSAIGWFRQMPGKEREGMGSIYPGDNE
VHYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
ASDTAIYYCTRNLLEKSVVYGMDYWGQG
TTVTVA
>0137
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFNEHTYGHWGQGTT
VTVA
>0138
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSLVNYGSWYFDVWGQGTT
VTVA
>0139
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGSANHHESKFKYDYWGQG
TTVTVA
>0140
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIAWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCARSPQQPKPPDFDYWGQGTTV
TVA
>0141
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYKAPPQSNNGFDYWGQGTT
VTVA
>0142
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITNWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCSNRSVGMEGHYHVMMDYWGQ
GTTVTVA
>0143
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
SYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGTT
VTVA
>0144
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGFDESSYGQWGQGTT
VTVA
>0145
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSYRYRGTYADVWGQGTT
VTVA
>0146
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARPPRLGSADEWNYWGQGTT
VTVA
>0147
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARQPSGGNKAYFAYWGQGTT
VTVA
>0148
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINSNTYGHWGQGTT
VTVA
>0149
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGMGAMFNLLYWGQGTT
VTVA
>0150
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE

TRYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVRDNRSDGRYAFDVWGQGT
TVTVA
>0151
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYVNPQSNNGFDYWGQGT
TVTVA
>0152
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCASPPGYWGGPESMDYWGQGT
TVTVA
>0153
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYQNPQSNNGFDYWGQGT
TVTVA
>0154
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSHQRGGTTFVWGQGT
TVTVA
>0155
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGADMSDNDVSYNYWGQGT
TVTVA
>0156
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGQWGQGT
TVTVA
>0157
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAPEFGANAFDMA YWGQGT
TVTVA
>0158
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDNSRSLNFDYWGQGT
TVTVA
>0159
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0160

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARDGGGYGRWFLDLWGQGT
TVTVA
>0161
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMNSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0162
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGEIYPGDSE
TRYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLSSVAGEGNYGLDYWGQ
GTTVTVA
>0163
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAANPSNGFGQTLGWTYWGQGT
TVTVA
>0164
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0165
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGFGSFLNKLYWGQGT
TVTVA
>0166
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSLYGDSTHHFDYWGQGT
TVTVA
>0167
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAHYGGYGGYHFDYWGQGT
TVTVA
>0168
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGT
TVTVA
>0169
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFQGVQVTSADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARNTYRGNMDHFDSWGQGT
TVTVA

>0170
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
KYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0171
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGRNIESEYGGWGGQTTV
TVA
>0172
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARNAQHNTKGFSMDYWGQGT
TVTVA
>0173
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAAAHNSEQEHEFDYWGQGT
TVTVA
>0174
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDYNAHTYGHWGQGT
TVTVA
>0175
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYDIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TGYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0176
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTASGFGI
ITYGIGWFRQMPGKEREGMGLIYPGDGET
NYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0177
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDASTYGHWGQGT
TVTVA
>0178
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARIGDESQTGDGFDYWGQGT
TVTVA
>0179
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAANPQGDWSTSNYDYWGQGT
TVTVA
>0180
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRDGGWSTYVPVFDWSGQGT
TVTVA
>0181
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREPTQPQPPDFDYWGQGT
TVTVA
>0182
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0183
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAANPQGEYATANYDYWGQGT
TVTVA
>0184
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDINSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0185
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
TVTVA
>0186
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARTAGMIYGVVMQLESWGQGT
TVTVA
>0187
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPAVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0188
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGLIYPGDSET
AYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0189
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE

TRYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVAVPIVRHYDYWGQGT
TVTVA
>0190
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGQWGQGT
TVTVA
>0191
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGFG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGCIYPGDGE
TNYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQG
TTVTVA
>0192
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTGSGYG
FITFWIGWFRQMPGKEREGMGIIIDPADNE
VKYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARENHVEGQKNTFDIWGQGT
TVTVA
>0193
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGDIYPGDSE
TSYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0194
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKHYGGQEVNPMGMDHWGQG
TTVTVA
>0195
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARLFYTTTDGYFDVWGQGT
TVA
>0196
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGKDFDESTYGQWGQGT
TVTVA
>0197
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDENSYGHWGQGT
TVTVA
>0198
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNAVAQDWSGNSRDYWGQGT
TVTVA
>0199

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYNIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARANYGSAQPENKMDYWGQG
TTVTVA
>0200
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMNSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0201
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGVYSDYGTWTFDLWGQGT
TVTVA
>0202
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCASVPQGDLAHA YFRNWGQGT
TVTVA
>0203
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPNTAHS LHFYWGQGT
TVTVA
>0204
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGH DINSNTYGHWGQGT
TVTVA
>0205
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGH DINSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0206
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDNKSSLQFDYWGQGT
TVA
>0207
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMG E IYPGDSE
TKYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0208
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGVIYPGDSE
TRYSPSFQGGVTVISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCTRVVIEYNGYYYFDVWGQG
TTVTVA

>0209
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGQDQNSYGQWGQGT
VTVA
>0210
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTASGYGI
ITYTIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDGET
AYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSAPLVKHYDYWGQGT
VTVA
>0211
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGDFYQGEDGFVYWGQGT
TVTVA
>0212
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINSHTYGHWGQGT
VTVA
>0213
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDGSTYGHWGQGT
TVA
>0214
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSHTYGGQWGQGT
VTVA
>0215
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPILKHYDYWGQGT
TVTVA
>0216
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNAMSTGGGNYVLDYWGQGT
VTVA
>0217
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNATVASWNGQSRDYWGQGT
VTVA
>0218
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAAGGQDLANSYGHWGQGT
VTVA
>0219
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDVDSSTYGHWGQGT
VTVA
>0220
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPLLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0221
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINSNTYGHWGQGT
VTVA
>0222
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARHNEDQVKGPFGDYWGQGT
TVTVA
>0223
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGVIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCAAGPSNDSELEFDYWGQGT
VTVA
>0224
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKNGNPPQSNFGDYWGQGT
VTVA
>0225
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0226
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDENSYGHWGQGT
VTVA
>0227
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDQSSYGQWGQGT
VTVA
>0228
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSQHGPAGYHYGMDVWGQ
GTTVTVA
>0229
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPDQPKPPDFDYWGQGTTV
TVA
>0230
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHSINSQTYGQWGQGTTV
TVA
>0231
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSQQSGGEPQNKMDYWGQ
TTVTVA
>0232
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYGAPPQSNNGFDYWGQGT
TVTVA
>0233
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSHHGVNGWSMDYWGQ
TTVTVA
>0234
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPDNDSLNFYWGQGTTV
TVA
>0235
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGESLDANSYGHWGQGT
TVTVA
>0236
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPIVHHYDYWGQGT
TVTVA
>0237
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYNIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGTYFGTIGEKYDFWGQGT
TVTVA
>0238

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSPNMPQPPDFDYWGQGTTV
TVA
>0239
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FIAYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCTTLGQNQSEEMKHFAYWGO
GTTVTVA
>0240
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGFDQSSYGGWQGT
TVTVA
>0241
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNVSAWANTLYSYDYWGQGT
TVTVA
>0242
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMNSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0243
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDFNSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0244
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGCIYPGDSE
TNYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPILKHYDYWGQGT
TVTVA
>0245
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGTG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDGE
TGYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSAPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0246
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPDNSESLOFDYWGQGT
TVTVA
>0247
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRHGSCSYCGNLPWQYWGQ
TTVTVA

>0248
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGTTV
TVA
>0249
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGIIASHYGRWGQGTTV
TVA
>0250
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0251
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSASGYG
FITFAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARVDYEEAGGNSFDYWQGT
TVTVA
>0252
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYTNPPQSNNGFDYWQGT
TVTVA
>0253
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGLDASSYGQWGQGT
TVTVA
>0254
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0255
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0256
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGFDESSYGQWGQGT
TVTVA
>0257
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCARSYHQGSTCYFDYWQGT
TVTVA
>0258
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGSIYPGDSE
TSYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVAGPIVNHYDYWGQGT
TVTVA
>0259
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDLNAQTYGHWGQGT
TVTVA
>0260
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDTKSKLEFDYWQGT
TVTVA
>0261
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
GYSYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0262
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TTYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCATGSSANFSSWSGYFYWGQGT
TVTVA
>0263
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSDPYGGENKFDYWQGT
TVTVA
>0264
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARFNNAGNFNQFDVWGQGT
TVTVA
>0265
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSFVRGLSWHFDLWGQGT
TVTVA
>0266
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSANVHNKNTFDIWGQGT
TVTVA
>0267
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHSINSESYGQWQGTTV
TVA
>0268
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FIGYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLGNEEKSGDKFDYWGQG
TTVTVA
>0269
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSHHGWNWGSMDYWGQG
TTVTVA
>0270
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSASGYG
LITFAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAPDGYGGDKNSMAYWGQGT
VTVA
>0271
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGMGAMFNLYYWGQGT
VTVA
>0272
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNASSALSGETRDYWGQGT
TVA
>0273
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYHIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TNYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0274
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRDNASGGRWYFDVWGQGT
VTVA
>0275
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTTISFNNSEEFRHFAYWGQGT
VTVA
>0276
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TDYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADMAAPILKHYDYWGQGT
TVTVA
>0277

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTRGEHISFIYYFAYWGQGT
TVA
>0278
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAEGEGGKGGKYEYDFWGQGT
TVTVA
>0279
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAASADMSDNSTTYNYWGQGT
TVTVA
>0280
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQGT
VTVA
>0281
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKNSNPPQSNGFYWGQGT
TVA
>0282
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGT
TVA
>0283
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGVRDARSGFDYWGQGT
TVTVA
>0284
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARTHGGAYGGYHFDYWGQGT
TVTVA
>0285
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0286
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGVIYPGDSE
TSYSPSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVAGPIVNHYDYWGQGT
TVTVA

>0287
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGRNIESEYQGQWGQTTV
TVA
>0288
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQTTV
TVA
>0289
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDNSSSLEFDYWGQTTV
TVA
>0290
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTGFGFGF
ITYWIGWFRQMPGKEREGMGQIYPGDGET
KYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAPDGNNANDKDMAYWGQGT
TVTVA
>0291
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAPHGNNSSSYTMAYWGQTT
TVTVA
>0292
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0293
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIEIYPGDSE
TTYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPAVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0294
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGAYYYGASHHFDYWGQGT
TVTVA
>0295
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDGNTYGHWGQTT
TVTVA
>0296
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQTT
VTVA
>0297
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHSINSESYQGQWGQTTV
TVA
>0298
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQTT
VTVA
>0299
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITAWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPTQPKPEFDYWGQTTV
TVA
>0300
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQTTVTV
A
>0301
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGANMNDNSTSYNYWGQGT
TVTVA
>0302
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNGSGGLITAKYFDYWGQTTV
TVA
>0303
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDVDSSTYGHWGQTT
VTVA
>0304
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQTT
TVTVA
>0305
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDSNSYGHWGQTT
VTVA
>0306
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSVHYGGSYAFDYWGQGT
VTVA
>0307
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDINSHTYGHWGQGT
VTVA
>0308
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDKSSYGHWGQGT
VTVA
>0309
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYQWVGQGT
VTVA
>0310
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMSAPVLKHYDYWGQGT
VTVA
>0311
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGILASKYGRWGQGT
TVA
>0312
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWGFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSPQPKPEFDYWGQGT
TVA
>0313
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
SYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
VTVA
>0314
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYGNPPQSNNGFDYWGQGT
VTVA
>0315
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
TYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
VTVA
>0316

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
VTVA
>0317
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDRE
THYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARCGAGGDNDGGFDYWGQG
TTVTVA
>0318
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0319
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARRSYVSSEAMDYWGQGT
VTVA
>0320
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMDSNSYGHWGQGT
VTVA
>0321
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0322
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAADGSSVDSSSWYWGQGT
TVA
>0323
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0324
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKHGNPPQSNNGFDYWGQGT
VTVA
>0325
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDDNSYGHWGQGT
VTVA

>0326
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNVENHGATQYKYDYWGQGT
VTVA
>0327
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATQGNMTEGSGQMDYWGQGT
TVTVA
>0328
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYHIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSPFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARGGGGNTNDGGFDYWGQGT
TVTVA
>0329
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGCIYPGDGE
TYYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0330
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGT
TVTVA
>0331
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGIIASHYGRWGQGT
TVTVA
>0332
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSSIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAPHGNNANTYSMA YWGQGT
TVTVA
>0333
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITKWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGSKNQSSNTPFDAWGQGT
TVTVA
>0334
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0335
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCARGGDGGSLEYEFYWGQGT
VTVA
>0336
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDFNSHTYGHWGQGT
VTVA
>0337
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0338
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
VTVA
>0339
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDENSYGHWGQGT
VTVA
>0340
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDANSYGHWGQGT
VTVA
>0341
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
SYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0342
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGYYGSTSYFDFWGQGT
TVTVA
>0343
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0344
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYDIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDGGLNYGSLFDYWGQGT
TVTVA
>0345
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGTTV
TVA
>0346
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPNTARSLWFDYWGQGT
TVTVA
>0347
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0348
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNATSSGGAEYTLDYWGQGT
TVTVA
>0349
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITTWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGMLSKANHNAMDYWGQ
GTTTVTVA
>0350
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYVIGWFRQMPGKEREGMGWIYPGDSE
TRYFSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARKGFGSQLNGLYYWGQGT
TVTVA
>0351
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
HYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCTRSSFRLGSRSSFVWGQGT
TVTVA
>0352
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREPDQPKPPEFDYWGQGT
TVTVA
>0353
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGTYYYGTIGNKYDFWGQGT
TVTVA
>0354
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARNSAFDGGDHFAVWGQGT
TVTVA
>0355

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDNET
HYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNATGSDQTEYELDYWGQGT
TVTVA
>0356
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRHGSCSYCGNLPWQYWGQ
TTTVTVA
>0357
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREGHITATNSSSFDVWGQGT
TVTVA
>0358
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSEYYYGSYKFDYWGQGT
TVTVA
>0359
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARESAHEGQDHLLDYWGQGT
TVTVA
>0360
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGT
TVTVA
>0361
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDGGWDYGSFLDYWGQGT
TVTVA
>0362
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSGSGFAF
ITSSIGWFRQMPGKEREGMGYIYPGDGEV
KYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRADNAETVGNWFAYWGQGT
TVTVA
>0363
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHSINSESYGQWGQGT
TVTVA
>0364
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARDPDIDGSSSFDYWGQGT
TVTVA

>0365
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGTTV
TVA
>0366
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDVDDNSYGHWGQGT
VTVA
>0367
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREPEQHPDFDYWGQGT
TVA
>0368
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0369
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGT
TVTVA
>0370
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWVWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARTTGSIHGSHHFDYWGQGT
TVTVA
>0371
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGGWQGT
TVTVA
>0372
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGDLHQGNNTFVYWGQGT
TVTVA
>0373
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDYNAHTYGHWGQGT
TVTVA
>0374
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYYIGWFRQMPGKEREGMGWIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK

ASDTAIYYCAEGEGAKNGKYEYDFWGQG
TTVTVA
>0375
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0376
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGFGSQLNKLYYWGQGT
TVTVA
>0377
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSQAAAKNSQYDFWGQG
TTVTVA
>0378
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITFWIGWFRQMPGKEREGMGWIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCARLGGSGSGDAMDSWGQGT
TVTVA
>0379
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPDNSHSYFDYWGQGT
TVTVA
>0380
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYENPPQSNFGDYWGQGT
TVTVA
>0381
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
AYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAEGEGAKNGKYEYDFWGQGT
TVTVA
>0382
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
TYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADMAAPVLKHYDYWGQGT
TVTVA
>0383
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSAHNSNESSYFFDVWGQGT
TVTVA
>0384
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
VTVA
>0385
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGTTV
TVA
>0386
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDSSTYGHWGQGTTV
TVA
>0387
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENIRSETYGQWGQGTTV
TVA
>0388
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAANPQNGFGQTLGWTYWGQ
TTVTVA
>0389
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARELHSGLDYFDLWGQGTTV
TVA
>0390
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGFDSSTYQWGQGT
VTVA
>0391
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDIDANSYGHWGQGT
VTVA
>0392
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCASGAGQAEPNSMHYWGQGT
TVTVA
>0393
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0394

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TNYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0395
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCTGSGYG
FIAYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSEV
HYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAGAGADNDGGFDYWGQGT
TVTVA
>0396
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARESEAEGLNKTFDIWGQGT
TVTVA
>0397
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEGIDASSYQWGQGTTV
TVA
>0398
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
NYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0399
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSPNMPQPPDFDYWGQGT
TVTVA
>0400
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGQWGQGT
TVTVA
>0401
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGT
TVTVA
>0402
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGANMSDNDIQYNYWGQGT
TVTVA
>0403
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQQVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDNKSDDLQFDYWGQGT
TVTVA

>0404
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDVEDNSYGHWGQGT
VTVA
>0405
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAREPTQPKPPDFDYWGQGT
TVA
>0406
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARNDHNAIEGYSMDYWGQGT
TVTVA
>0407
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSHHAIEGYSMDYWGQGT
TVTVA
>0408
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDVEDNSYGHWGQGT
VTVA
>0409
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDDNSYGHWGQGT
VTVA
>0410
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDLDDNSYGHWGQGT
VTVA
>0411
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGRIYPGDSE
TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCAANPQRGLGQTLGWTYWGQ
GTTVTVA
>0412
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKHPDENNGKSYHFDVWGQ
TTVTVA
>0413
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCARAAPGYAGAPIFDLWGQGT
VTVA
>0414
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGVIYPGDSE
TAYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0415
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAADSRYSGTDTWRYWGQGT
VTVA
>0416
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCASRPCFLGVPLIDFGSWGQGT
VTVA
>0417
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMRSETYQWQGT
VTVA
>0418
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAPDQPKPEFDYWGQGT
TVA
>0419
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
TYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
VTVA
>0420
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSADVEGLSNTFDIWGQGT
VTVA
>0421
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNASTQDWAGETRDIWGQGT
VTVA
>0422
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TKYSFSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0423
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGDLHEGHDGFVYWGQGT
TVTVA
>0424
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARHSGSGGALDYFEYWGQGT
TVTVA
>0425
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0426
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSAMHSGDSGHQFDLWGQ
TTVTVA
>0427
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPTTTHSLYFDYWGQGT
TVTVA
>0428
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSENYNGTLVGMDEVWGQGT
TVTVA
>0429
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0430
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARCTYYVKDRWHFDVWGQGT
TVTVA
>0431
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYQWQGT
TVTVA
>0432
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGSGISTPMDVWGQGT
TVTVA
>0433

TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNASCATINGESRDYWGQGT
TVTVA
>0434
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGTYFGTIGEKYDFWGQGT
TVTVA
>0435
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRHSGSCSYCGNLPWQYWGQ
TTVTVA
>0436
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDIDESTYGHWGQGT
TVTVA
>0437
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAAPDNKSDLQFDYWGQGT
TVTVA
>0438
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAADSSYGTADTWRYWGQGT
TVTVA
>0439
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENLNEQTYGHWGQGT
TVTVA
>0440
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCNATTTDYSGNTRDYWGQGT
TVTVA
>0441
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0442
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGVQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGSHHGNGWSMDYWGQ
TTVTVA

>0443
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARTTGSIHDSHFDYWGQGT
TVTVA
>0444
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSGMGAFFNQLYYWGQGT
TVTVA
>0445
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENINSETYGQWGQGT
TVTVA
>0446
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARYDNAGNYSRFDVWGQGT
TVTVA
>0447
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSTYYGGQYYFDYWGQGT
TVTVA
>0448
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYTNPPQSNNGFDYWGQGT
TVTVA
>0449
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKYGNPPQSNNGFDYWGQGT
TVTVA
>0450
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDESSYGHWGQGT
TVTVA
>0451
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARKGFGSQLNNLYYWQGT
TVTVA
>0452
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA

SDTAIYYCAAGGHDINSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0453
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITHWIGWFRQMPGKEREGMGEIYPGDSE
TRYSPSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCAAGSGHYHTQVYQYDYWGQ
GTTTVTVA
>0454
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARAAPGWAGAPIFDLWGQGT
TVTVA
>0455
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNDETYGQWGQGT
TVTVA
>0456
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDQDQNSTYQWGQGT
TVTVA
>0457
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDENSYGHWGQGT
TVTVA
>0458
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFDASSYQWGQGT
TVTVA
>0459
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIAWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHDMNSNTYGHWGQGT
TVTVA
>0460
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITDWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARSPDQPKPPEFDYWGQGT
TVTVA
>0461
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSFSFQGGVVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHSINSESYGQWGQGT
TVTVA
>0462
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITEWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

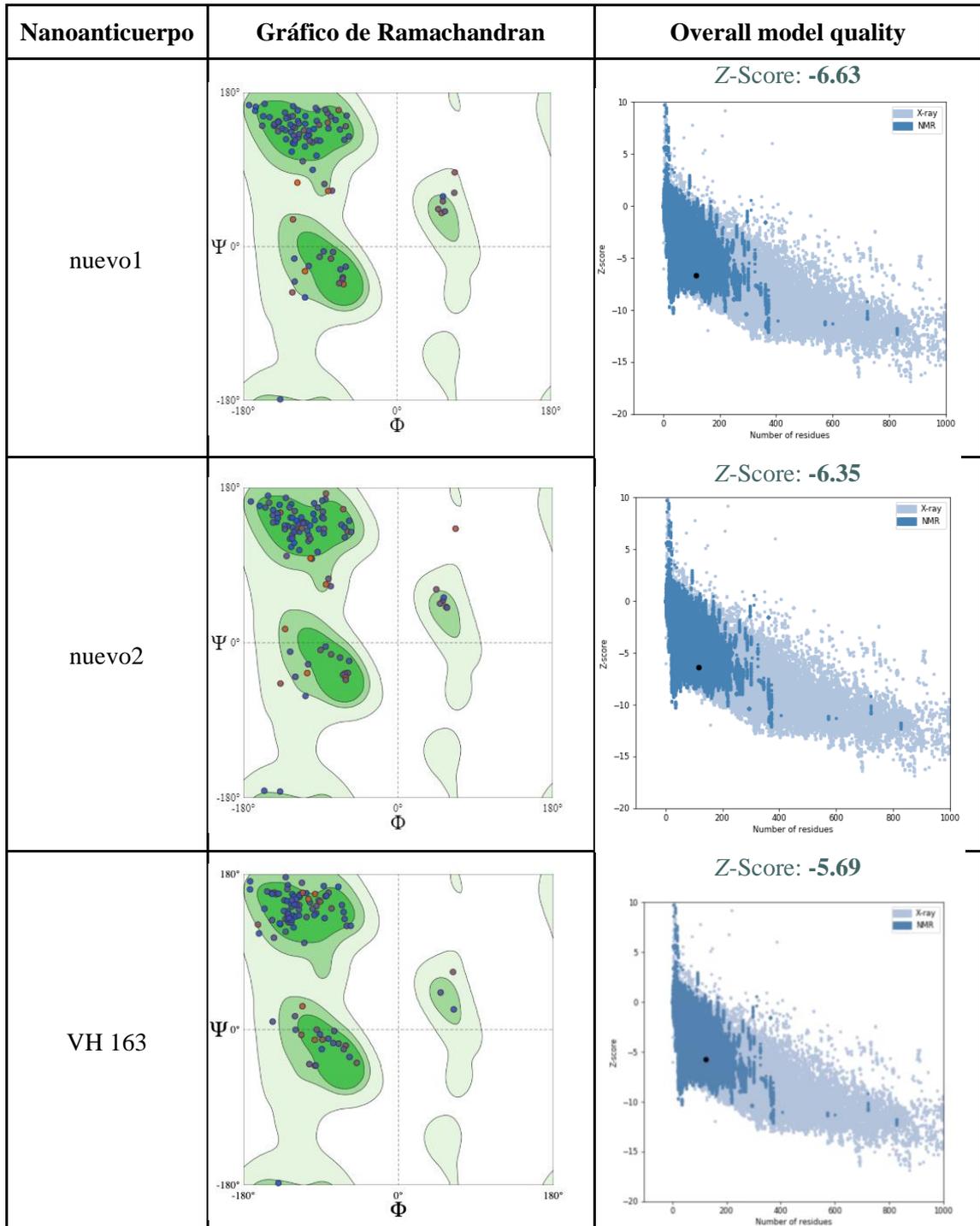
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARSEAGDEHDFQHWGQGT
 VTVA
 >0463
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSE
 TNYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
 ASDTAIYYCVADMAAPLLKHYDYWGQGT
 TTVTA
 >0464
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITFWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARSTYQGSQHYFDYWGQGT
 VTVA
 >0465
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAKYEGPPQSNNGFDYWGQGT
 TVA
 >0466
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAAGPDTKSELEFDYWGQGT
 TVA
 >0467
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARGSHHGNGVNSMDYWGQ
 TTVTA
 >0468
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGFG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDGE
 TSYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
 ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
 TTVTA
 >0469
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAAGGHDFNSHTYGHWGQGT
 VTVA
 >0470
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARETYQGGSCFDSWGQGT
 TVA
 >0471
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAAGGHSMNSESYGQWGQGT
 VTVA
 >0472

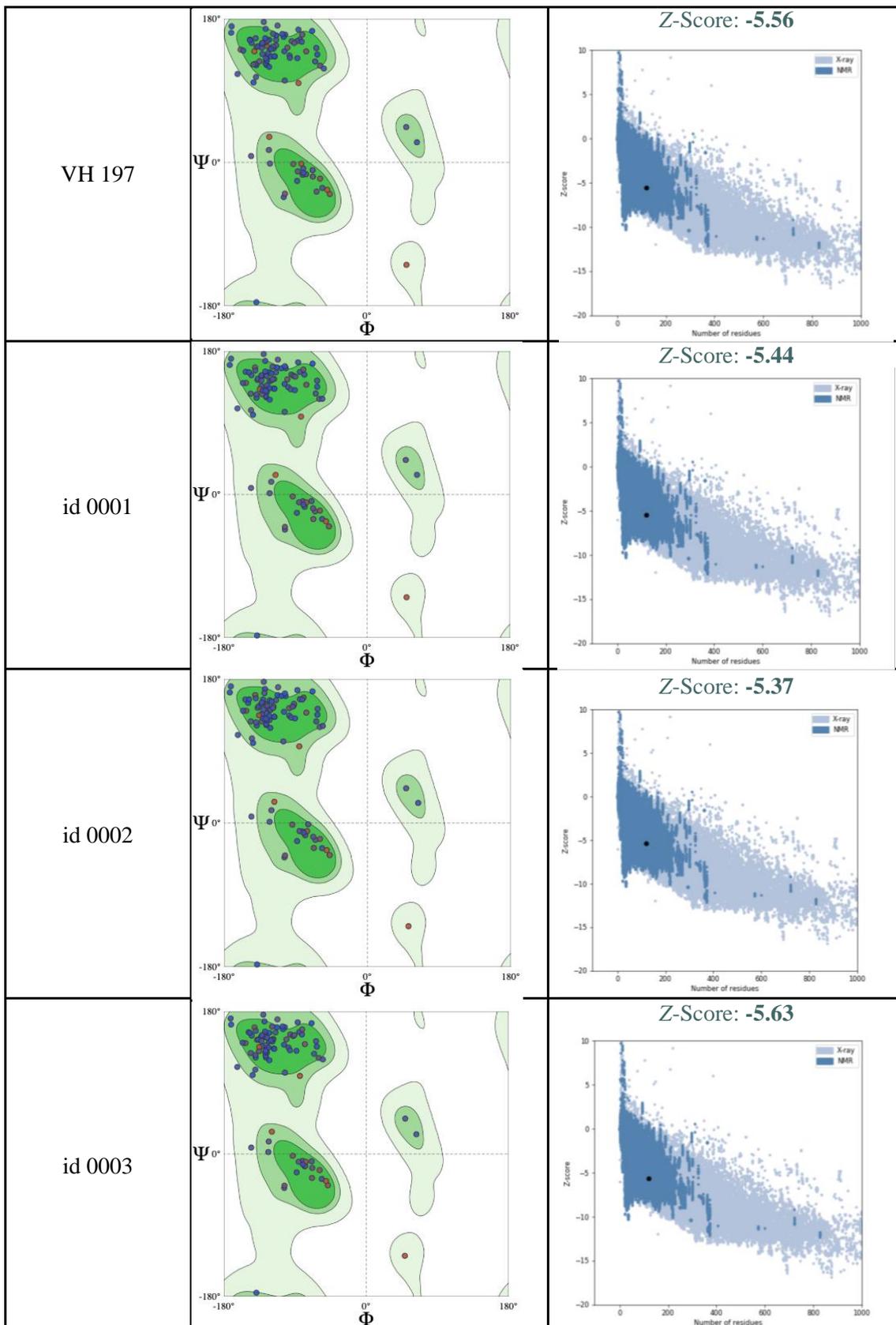
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYIIGWFRQMPGKEREGMGAIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAGGSYYGTIGEKYDFWGQGT
 VTVA
 >0473
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAAGGQDFDESTYGHWGQGT
 VTVA
 >0474
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYFIGWFRQMPGKEREGMGDIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCATGHNNQSEVPGGSWGQGT
 VTVA
 >0475
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 SYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCVADVSGPQVKHYDYWGQGT
 VTVA
 >0476
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAGGSGISTPMDVWGQGT
 TVA
 >0477
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAAGPNTSESLHFDYWGQGT
 TVA
 >0478
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITSWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCAREPSQPKPPDFDYWGQGT
 TVA
 >0479
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FIGYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSE
 TRYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
 ASDTAIYYCAKVANYGTKSSLDYWGQGT
 TTVTA
 >0480
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSGSGYG
 FITCAIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDREV
 HYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARHPDAPKPPDFDYWGQGT
 TVA
 >0481
 TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
 FITYWIGWFRQMPGKEREGMGGIYPGDSET
 RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
 SDTAIYYCARDPIDGTRGSFDYWGQGT
 TVA

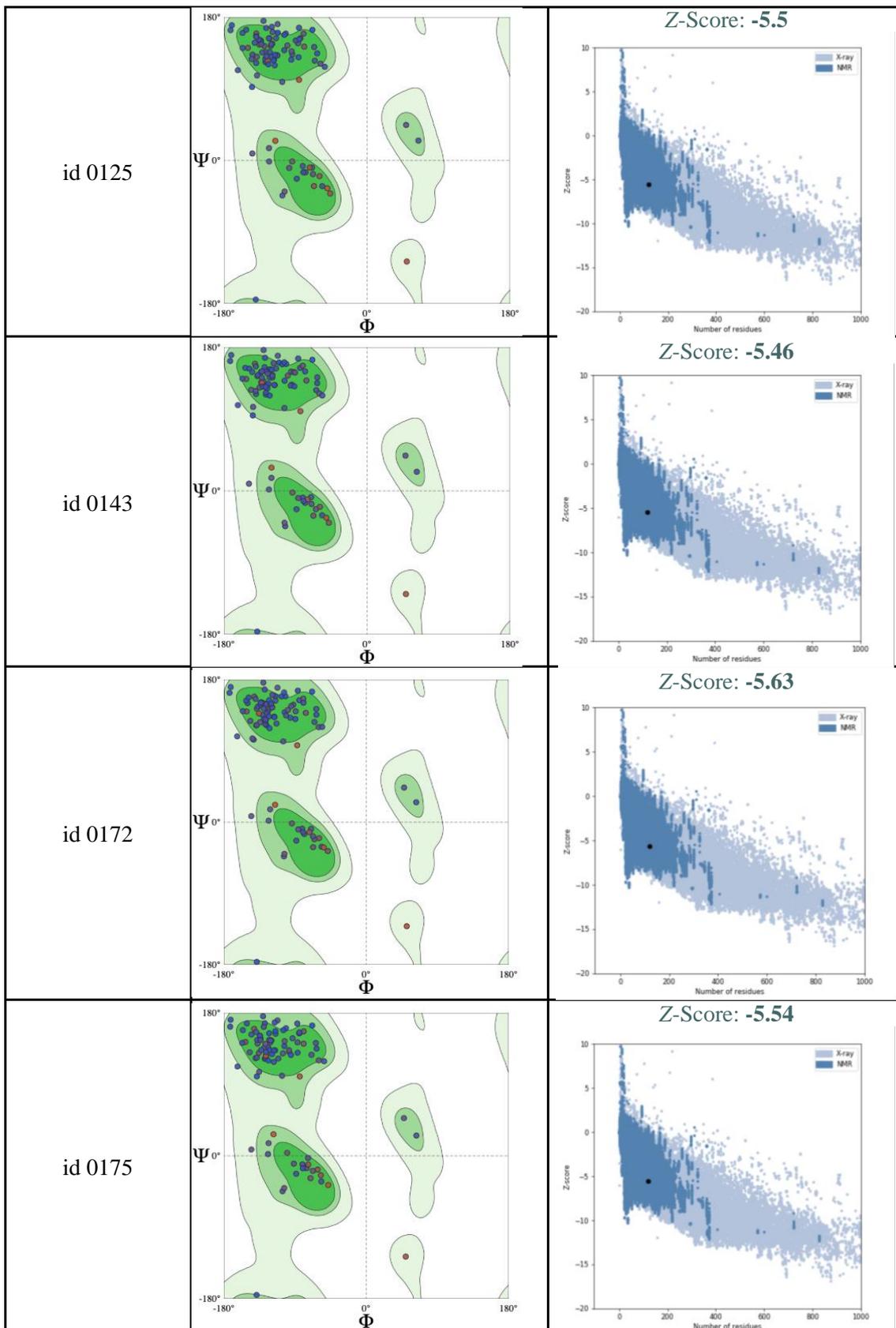
>0482
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVA
>0483
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGQDFNKSTYGGQWGQGT
TVTVA
>0484
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGGQWGQGT
TVTVA
>0485
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAGGTQGTLEKEYDFWGQGT
TVTVA
>0486
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGEDFDGESYGHWGQGT
TVTVA
>0487
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
KYSYSPFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVADVSGPTVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0488
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPDTARELWFDYWGQGT
TVTVA
>0489
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARLESAMGEGNWSLDYWGQGT
TVTVA
>0490
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGNIYPGDSE
TSYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPIVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0491
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET

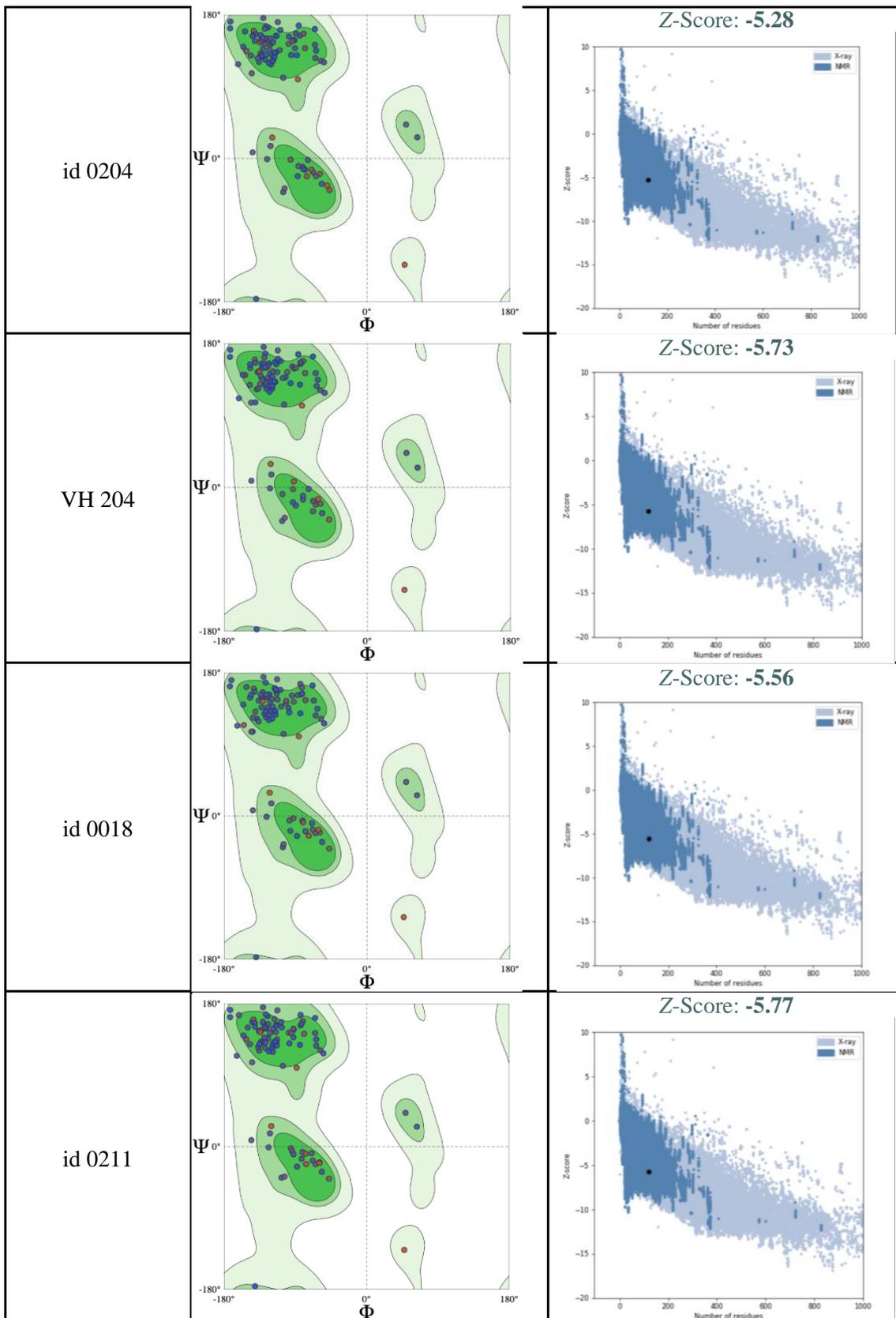
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGESLDGNSYGHWGQGT
TVTVA
>0492
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIAWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGHINSHTYGHWGQGT
TVTVA
>0493
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITSWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVAHLGDTLELKNVELWGQGT
TVTVA
>0494
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAKETAPPQSNQFDYWGQGT
TVTVA
>0495
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYGIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSE
TSYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLK
ASDTAIYYCVADVSGPLVKHYDYWGQGT
TVTVA
>0496
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCSGSGYG
FITYAIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
HYSYSPFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCVRKGDSETTGDDFAWYGQGT
TVTVA
>0497
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGPSNDSLDNFYWGQGT
TVTVA
>0498
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYDIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCARGGSGSASWFDYWGQGT
TVTVA
>0499
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCATGYRTDTRIPGGSWGQGT
TVTVA
>0500
TQMQLVQSGTEVKKPGESLKISCKGSGYG
FITYWIGWFRQMPGKEREGMGIIYPGDSET
RYSPSFQGGQVTISADKSINTAYLQWSSLKA
SDTAIYYCAAGGENMNSETYGGQWGQGT
TVTVA

Anexo 2: Estimación de la calidad de los modelos



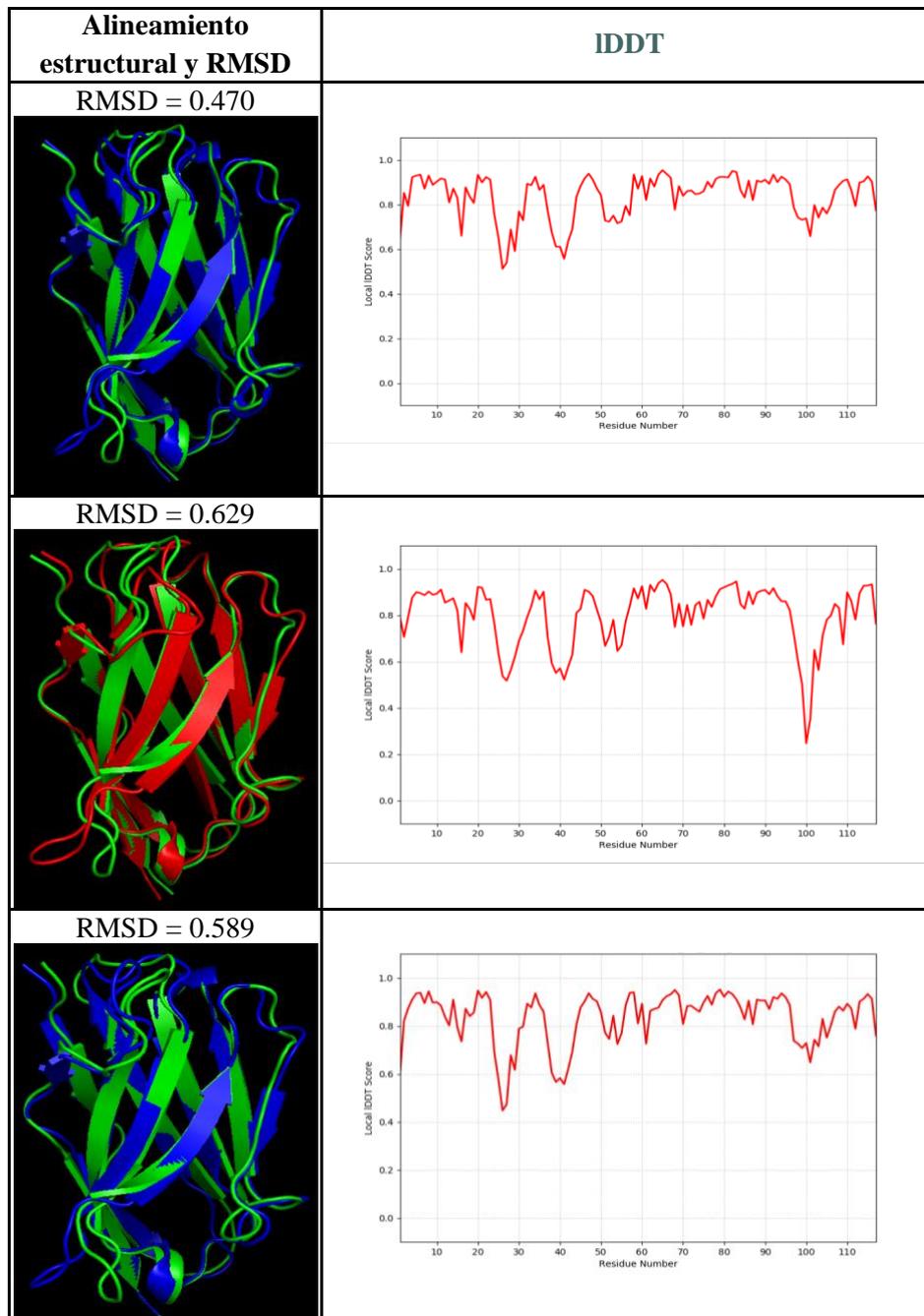


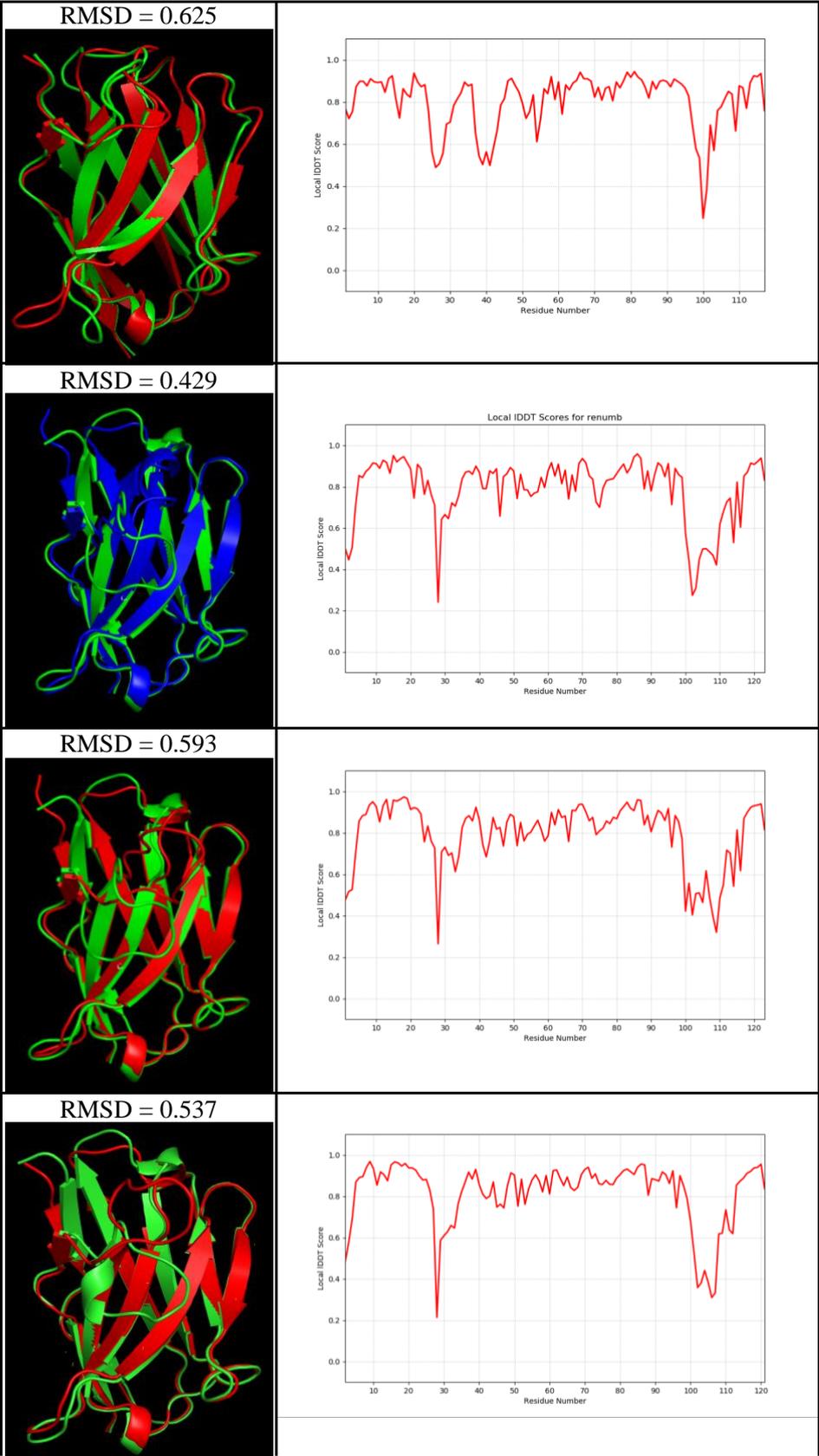


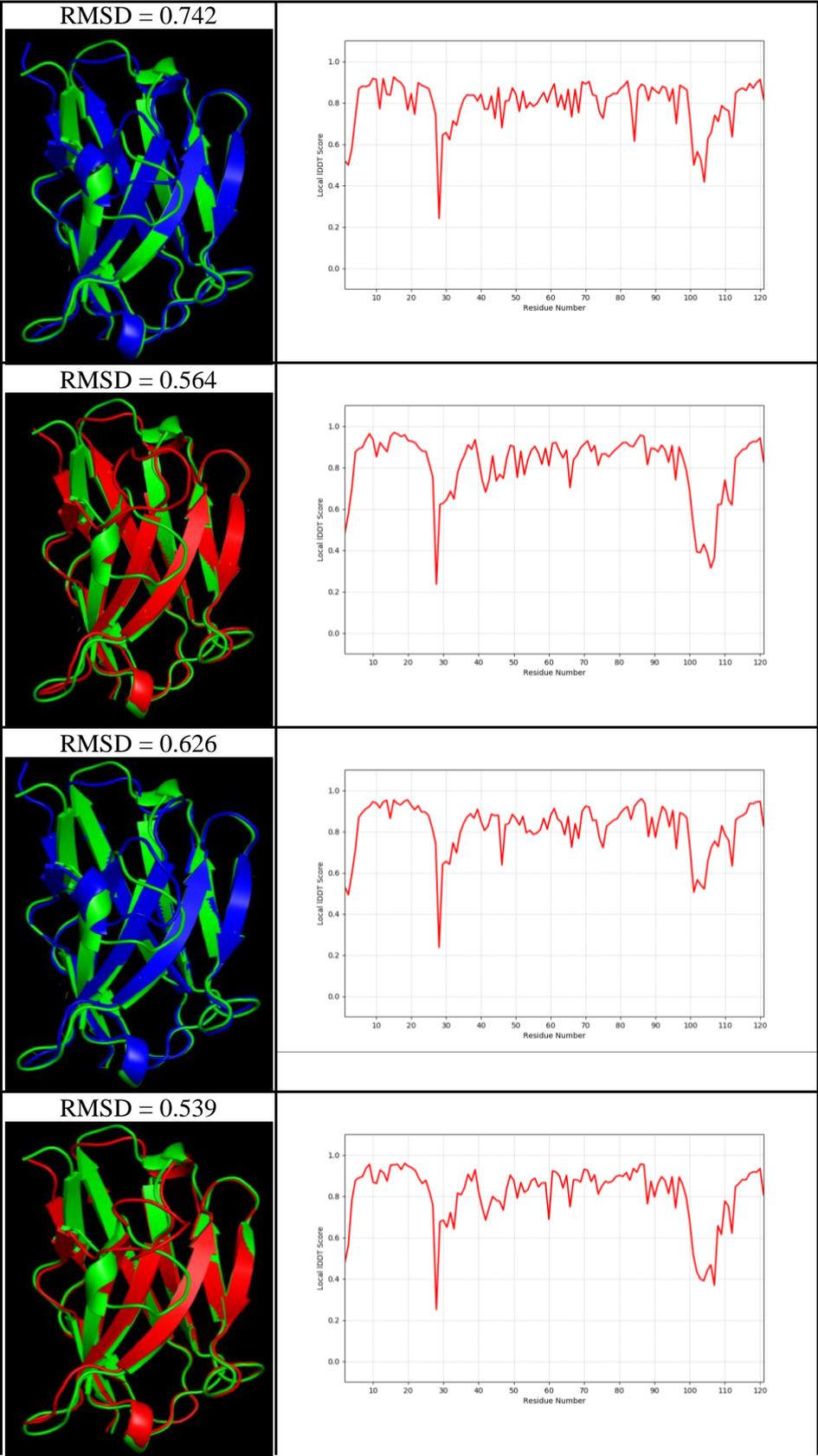


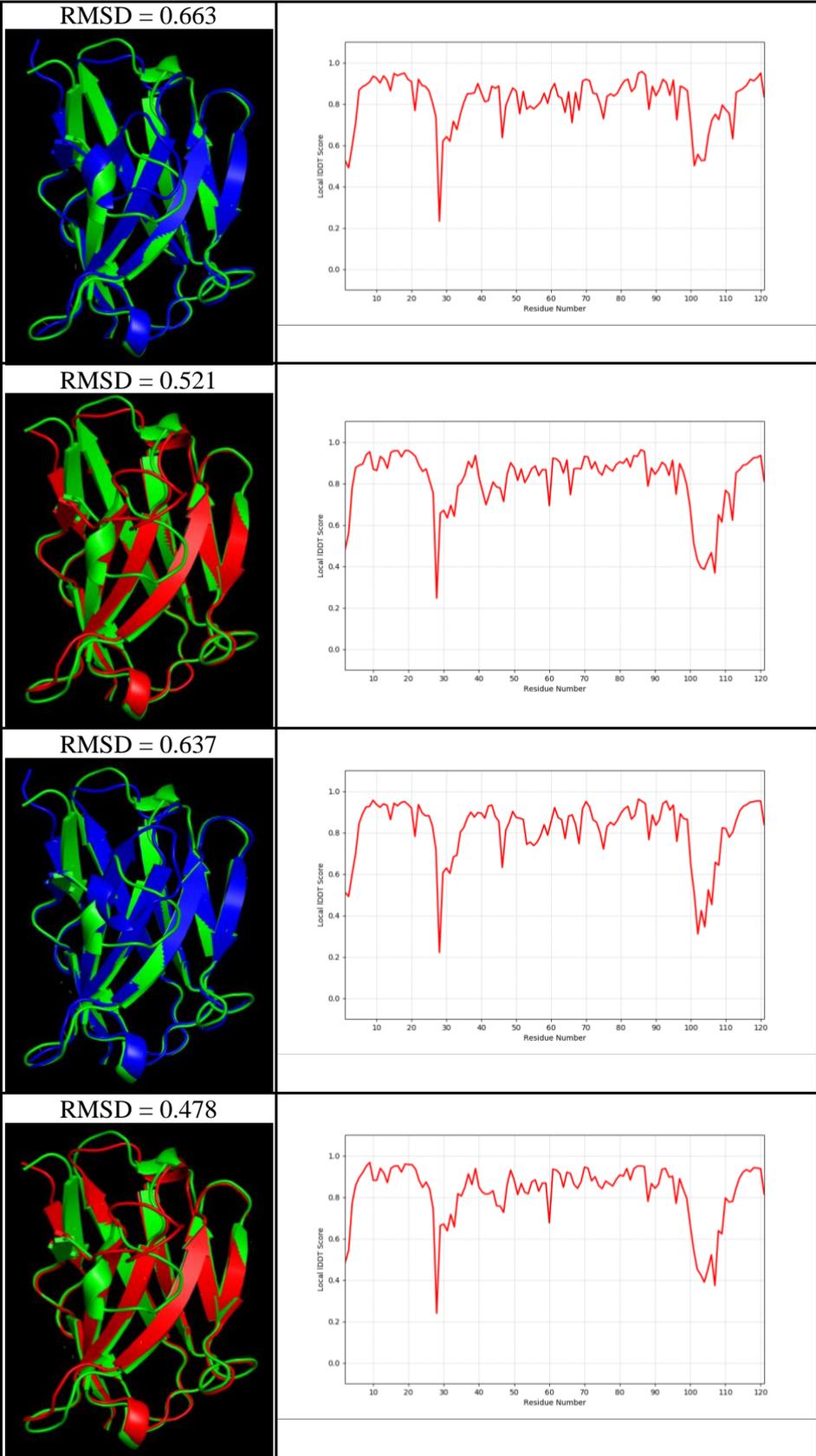
Anexo 3: Modelamiento de estructuras finales

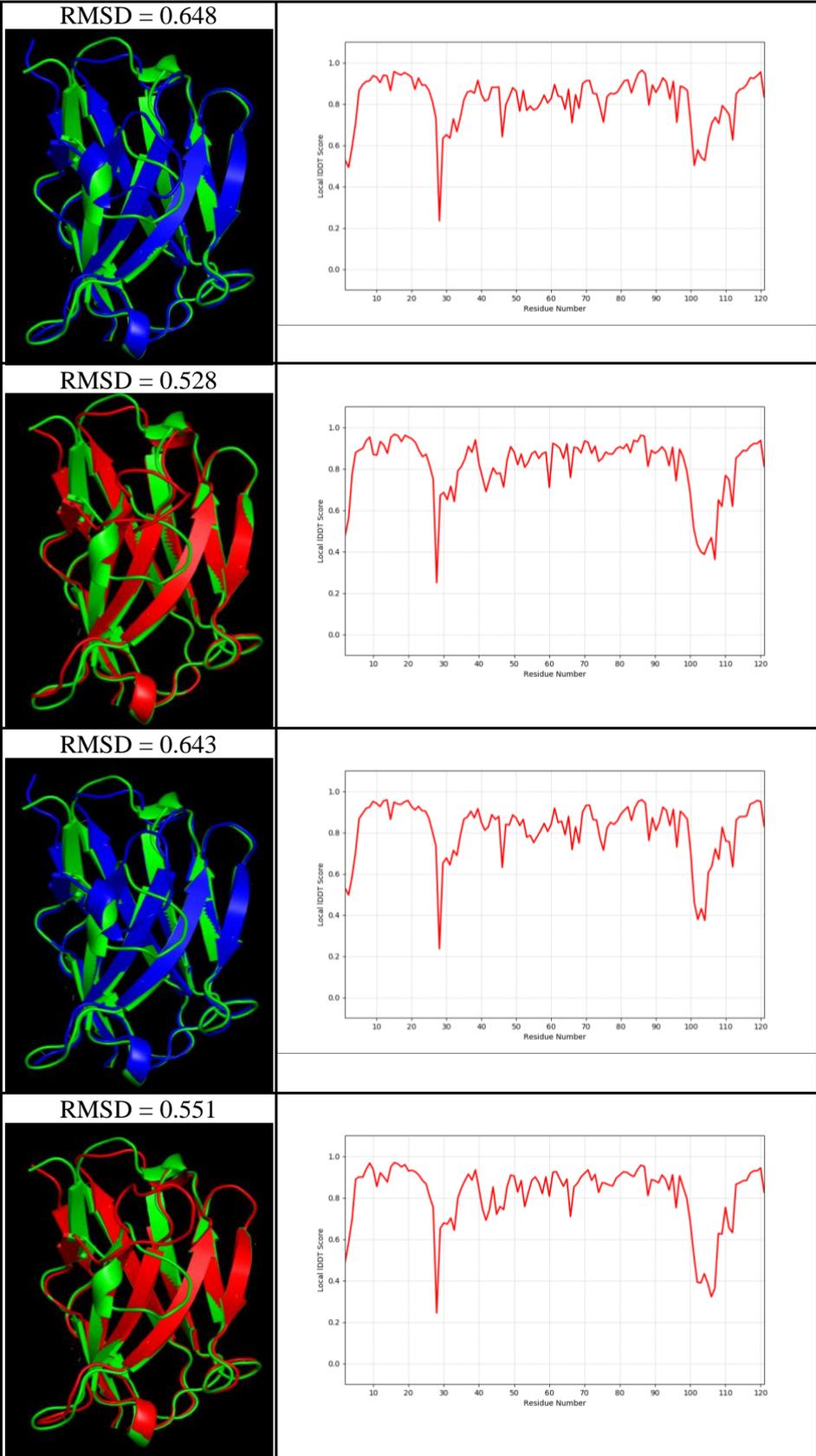
Comparación por IDDT entre estructuras modeladas por Rosetta (Verde) y estructuras modeladas por AlphaFold 2 (Azul) y SWISS-MODEL (rojo).

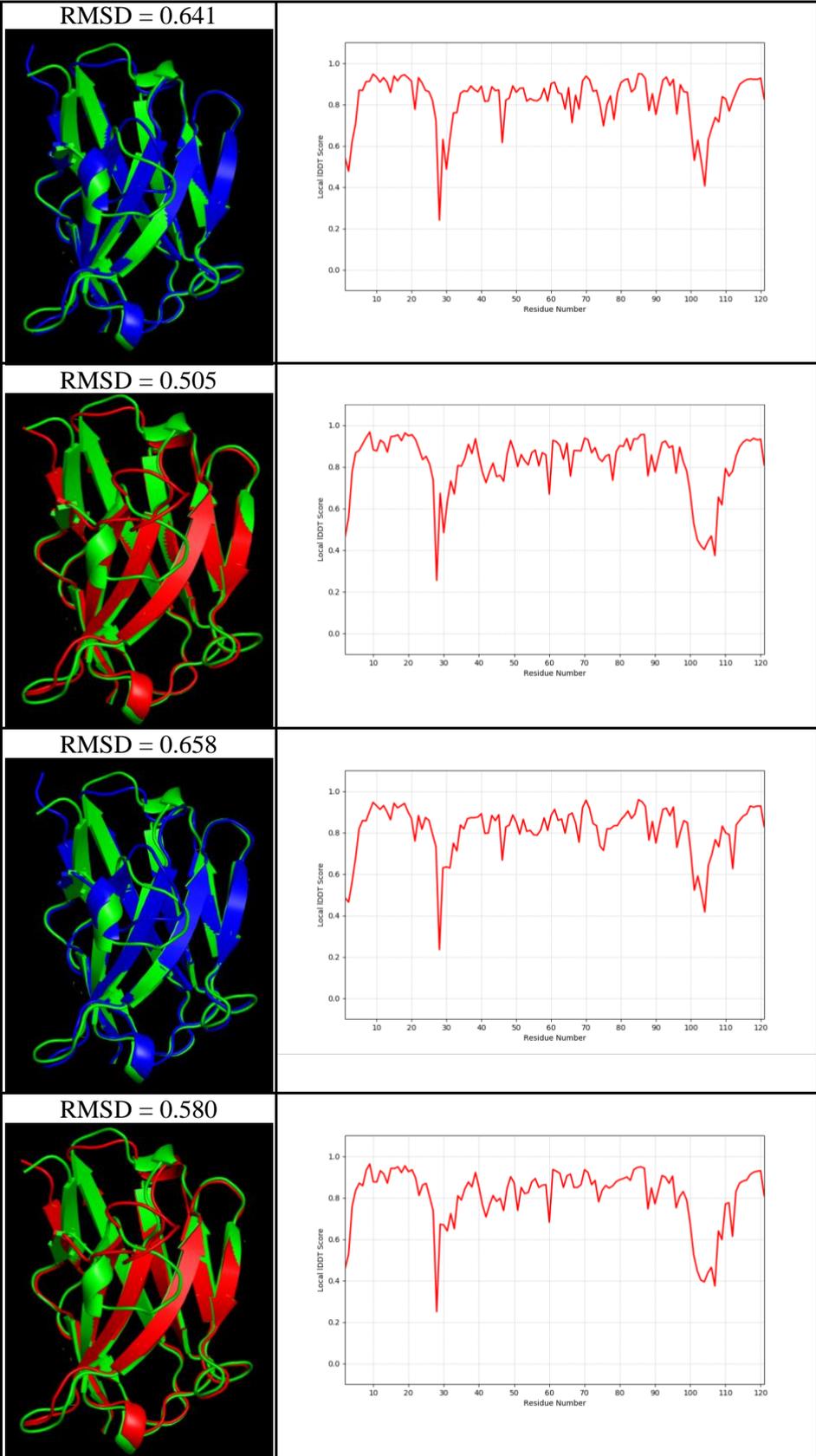


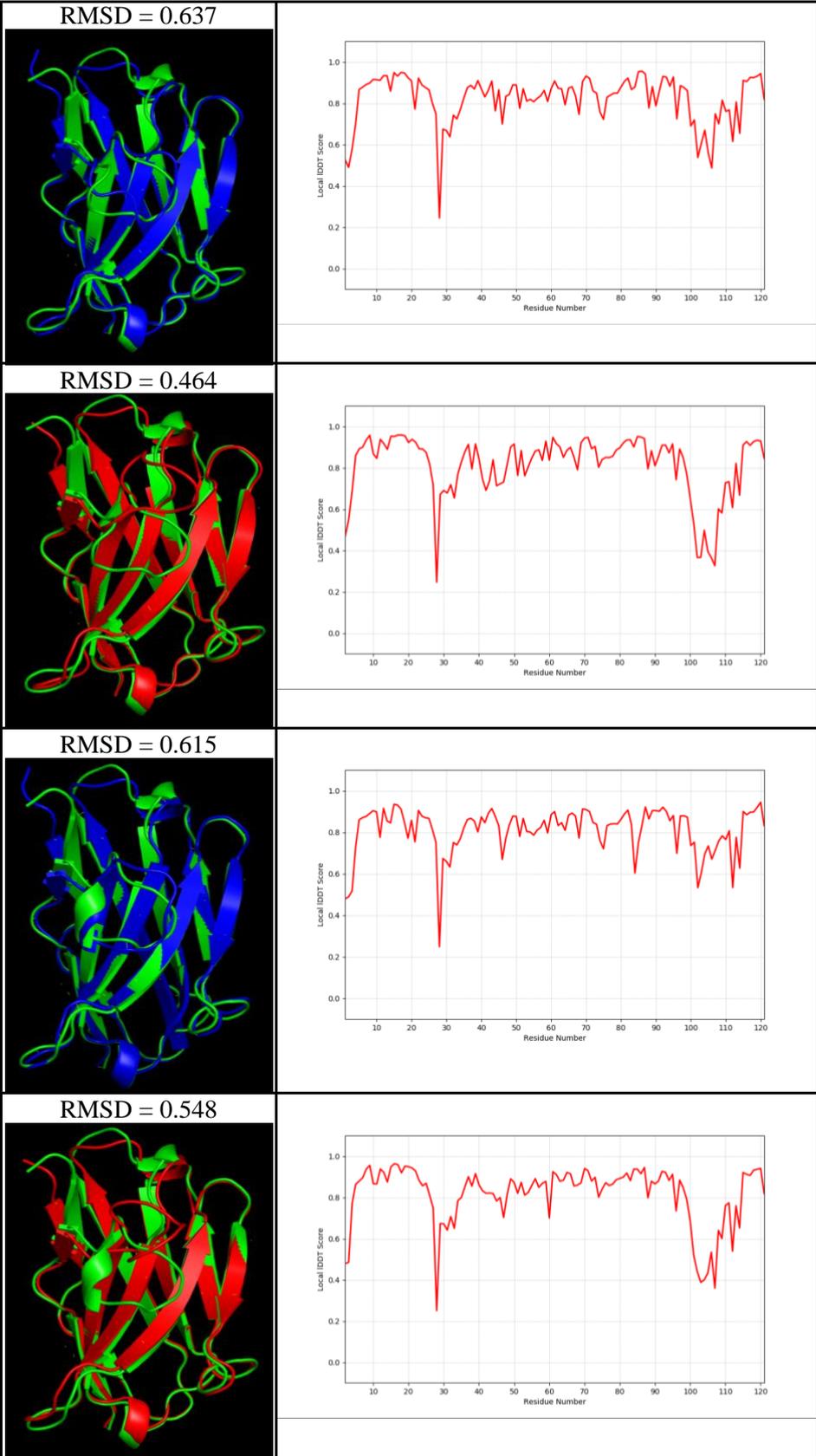




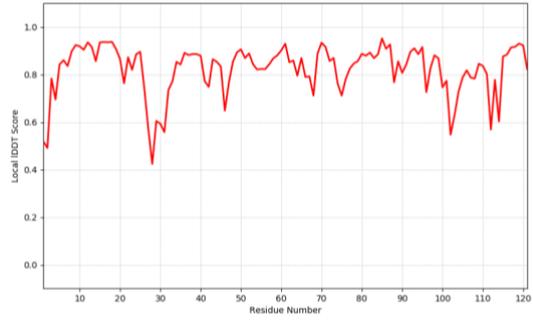








RMSD = 0.621



RMSD = 0.594

