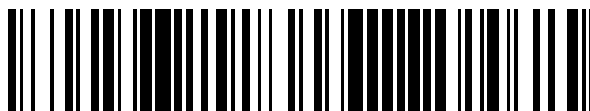


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 466 377**

51 Int. Cl.:

G01N 33/76 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2002** **E 02755210 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014** **EP 1456234**

54 Título: **Regiones epitópicas de un receptor de tirotropina (TSH), usos de las mismas y anticuerpos para las mismas**

30 Prioridad:

23.08.2001 GB 0120649

01.07.2002 GB 0215212

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

10.06.2014

73 Titular/es:

RSR LIMITED (100.0%)
AVENUE PARK PENTWYN
CARDIFF CF23 8HE, GB

72 Inventor/es:

SMITH, BERNARD REES;
FURMANIAK, JADWIGA y
SANDERS, JANE FINA

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 466 377 T3

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

DESCRIPCIÓN

Regiones epitópicas de un receptor de tirotropina (TSH), usos de las mismas y anticuerpos para las mismas

- 5 La presente invención se refiere a regiones epitópicas de un receptor de tirotropina (TSH), usos de las mismas y anticuerpos para las mismas.

10 La hormona estimulante del tiroides (TSH) o tirotropina es una hormona hipofisaria que desempeña un papel clave en la regulación de la función del tiroides. Su liberación se estimula por la hormona TRH formada en el hipotálamo y controla la formación y liberación de las importantes hormonas tiroideas tiroxina (T4) y triyodotironina (T3). Basándose en un mecanismo de retroalimentación, el contenido de hormona tiroidea del suero controla la liberación de TSH. La formación de T3 y T4 por las células tiroideas se estimula por TSH por un procedimiento en el que la TSH liberada por la hipófisis se une con el receptor de TSH de la membrana celular del tiroides.

15 En ciertas condiciones patológicas, también pueden formarse diversos tipos de autoanticuerpos contra este receptor de TSH. Dependiendo del tipo de estos autoanticuerpos, puede producirse bien inhibición de la formación y liberación de T3 y T4 en el receptor de TSH debido a la protección de las moléculas de TSH, o bien, por otro lado, estas hormonas tiroideas pueden liberarse de una manera descontrolada debido a que los autoanticuerpos anti receptor de TSH imitan la acción de la TSH y estimulan la síntesis y liberación de hormonas tiroideas.

20 La enfermedad tiroidea autoinmunitaria (AITD) es la enfermedad autoinmunitaria más habitual que afecta a diferentes poblaciones en todo el mundo. Una proporción de los pacientes con AITD, principalmente los que tienen enfermedad de Graves, tienen autoanticuerpos para el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Los autoanticuerpos se unen con el receptor de TSH y habitualmente imitan las acciones de la TSH, estimulando la glándula tiroidea para producir altos niveles de hormonas tiroideas. Se ha descrito que estos autoanticuerpos tienen actividad estimuladora. En algunos pacientes, los autoanticuerpos se unen con el receptor de TSH pero no estimulan la producción de hormonas tiroideas y se describe que tienen actividad de bloqueo [J Sanders, Y Oda, S-A Roberts, M Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith "Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship". Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. Ed. T F Davies 1997 11(3): 451-479. Pub. Bailliere Tindall, Londres].

25 Las mediciones de autoanticuerpos del receptor de TSH son importantes en el diagnóstico y tratamiento de AITD, particularmente enfermedad de Graves. En la actualidad se usan tres tipos de ensayos para medir los autoanticuerpos del receptor de TSH:

- 35 (a) ensayos de unión competitiva que miden la capacidad de los autoanticuerpos del receptor de TSH para inhibir la unión de TSH con preparaciones del receptor de TSH;
- 40 (b) bioensayos que miden la capacidad de los autoanticuerpos del receptor de TSH para estimular las células que expresan el receptor de TSH en cultivo; y
- (c) inmunoprecipitación de las preparaciones del receptor de TSH con autoanticuerpos del receptor de TSH.

45 La medición de autoanticuerpos del receptor de TSH usando dichos ensayos se describe en las referencias J Sanders, Y Oda, S-A Roberts, M Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith "Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship". Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. Ed. T F Davies 1997 11(3): 451-479. Pub. Bailliere Tindall, London, y J Sanders, Y Oda, S Roberts, A Kiddie, T Richards, J Bolton, V McGrath, S Walters, D Jaskolski, J Furmaniak, B Rees Smith "The interaction of TSH receptor autoantibodies with 125I-labelled TSH receptor". Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1999 84(10): 3797-3802.

50 Hay, sin embargo, varias limitaciones asociadas con el uso de los ensayos disponibles actualmente anteriormente descritos para medir autoanticuerpos del receptor de TSH. Los ensayos competitivos de tipo (a) que están disponibles en diferentes formatos son generalmente sensibles, relativamente fáciles de realizar y adaptables para uso rutinario. Sin embargo, los ensayos de radioreceptores competitivos conocidos hasta la fecha para detectar autoanticuerpos del receptor de TSH tienen desventajas fundamentales de naturaleza práctica que pueden atribuirse al hecho de que la capacidad de unión de las preparaciones de receptor de TSH generalmente reaccionan de forma muy sensible a cambios en el receptor o en una biomolécula unida a él. La unión de biomoléculas que son de naturaleza peptídica o proteica, por ejemplo hormonas o autoanticuerpos, con los receptores es como norma de naturaleza muy complicada, y la unión específica entre el receptor y la biomolécula es mucho más sensible a alteraciones estructurales, en particular del receptor, que lo que sucede con un par de unión de antígeno/anticuerpo habitual que es la base de la mayoría de los inmunoensayos en los que están implicados receptores. Como norma los intentos de inmovilizar y/o marcar el receptor de TSH han conducido a alteraciones estructurales que han alterado en gran medida la funcionalidad del receptor.

65 En lo que se refiere a bioensayos del tipo mencionado en (b), estos tienden a ser caros, consumen tiempo, requieren personal altamente cualificado y son esencialmente inadecuados para su uso rutinario.

Con respecto a los ensayos de inmunoprecipitación directa de tipo (c), disponibles actualmente, dichos ensayos de inmunoprecipitación no tienen en la práctica la sensibilidad requerida para la detección de autoanticuerpos del receptor de TSH.

- 5 La presente invención alivia los problemas hasta ahora asociados con la detección de la técnica anterior de autoanticuerpos del receptor de TSH. Más particularmente, la presente invención proporciona métodos y kits de diagnóstico de cribado de autoanticuerpos del receptor de TSH, con sensibilidad mejorada en comparación con métodos y kits de diagnóstico de la técnica anterior y que, si se desea, permiten el uso de uno o más compañeros de unión competitiva o competidores por un receptor de TSH en ensayos competitivos del tipo descrito anteriormente.
- 10 En particular la presente divulgación se refiere al uso de una o más regiones epitópicas identificadas del receptor de TSH en métodos y kits de diagnóstico de cribado de autoanticuerpos del receptor de TSH.

Se proporciona por la presente divulgación, por lo tanto, para su uso en diagnóstico o terapia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria (que es una secuencia continua de restos de aminoácidos) de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

- 25 números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

35 en la que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más particularmente, se proporciona por la presente divulgación para su uso en diagnóstico o terapia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

- 50 números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

60 en la que los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Como alternativa, se proporciona por la presente divulgación para su uso en diagnóstico o terapia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o

más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

en la que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

La presente divulgación proporciona además para su uso en diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

en la que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Mas particularmente, la presente divulgación proporciona además para su uso en el diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

en la que los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

La presente divulgación proporciona además para su uso en diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

en la que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más preferentemente, se prefiere generalmente que dicho uso de diagnóstico o terapéutico emplee una secuencia o secuencias polipeptídicas que comprenda, consistan en o consistan esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 32 a 41 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 36 a 42 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH;

(en particular comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

En particular, se prefiere generalmente de acuerdo con la presente divulgación que dicho uso de diagnóstico o terapéutico emplee los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

5 En particular, se prefiere generalmente de acuerdo con la presente divulgación que dicho uso de diagnóstico o terapéutico emplee los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

10 En particular, se prefiere generalmente de acuerdo con la presente divulgación que dicho uso de diagnóstico o terapéutico emplee los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

15 Uno de dichos usos de diagnóstico o terapéuticos particularmente preferidos de acuerdo con la presente divulgación, comprende para su uso en diagnóstico o terapia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH:

20 (i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

25 (ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

35 en la que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

40 Más particularmente dicho uso de diagnóstico o terapéutico puede comprender:

45 (i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

50 (ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

60 en la que los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Como alternativa, dicho uso de diagnóstico o terapéutico puede comprender:

65 (i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los

linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH; o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

en la que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Un uso de diagnóstico o terapéutico particularmente preferido de acuerdo con la presente divulgación comprende para su uso en diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

en la que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más particularmente, dicho uso de diagnóstico o terapéutico puede comprender:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria

de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

en la que los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Como alternativa, dicho uso de diagnóstico o terapéutico puede comprender:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

en la que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH interaccionan (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Puede preferirse además que el uso de diagnóstico o terapéutico anteriormente mencionado que emplea:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

emplee además:

(iii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

Más particularmente, dicho uso de diagnóstico o terapéutico preferido emplea:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y

(iii) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de TSH adicionales con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicha secuencia polipeptídica en la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 7, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 7, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

Como se apreciará a partir de las Figuras adjuntas, las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente pueden ser de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, murino, de rata u ovino, y las secuencias de aminoácidos específicas en cada una de las especies anteriormente mencionadas se describen posteriormente en el presente documento en más detalle con referencia a las Figuras 1, 3, 5 y 7.

También se proporcionan por la presente divulgación, uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción del receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

Más particularmente, se proporcionan por la presente divulgación, uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción del receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;

números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

Como alternativa, se proporcionan por la presente divulgación, uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción del receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

La presente divulgación proporciona además uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

Más particularmente, la presente divulgación proporciona además uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción del receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de

aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

La presente divulgación proporciona además uno o más epítomos del receptor de TSH con los que interaccionan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dichos uno o más epítomos del receptor de TSH en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);

Más preferentemente, se prefiere en general que uno o más epítomos del receptor de TSH comprendan uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 32 a 41 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 36 a 42 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; o los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos).

Un epítomo del receptor de TSH particularmente preferido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos).

Un epítomo del receptor de TSH particularmente preferido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos).

Un epítomo del receptor de TSH particularmente preferido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos).

También se proporciona por la presente divulgación un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende, consiste o

consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que interaccionan dichos autoanticuerpos y/o linfocitos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más particularmente, se proporciona por la presente divulgación un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria (que es una secuencia continua de restos de aminoácidos) de uno o más epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interaccionar dichos autoanticuerpos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Como alternativa, se proporciona por la presente divulgación un polipéptido con el que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) y que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria (que es una secuencia continua de restos de aminoácidos) de uno o más epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

(en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interaccionar dichos linfocitos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

La presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que interaccionan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), y que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
 números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más particularmente, la presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), y que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
 números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

La presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), y que comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítopos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos:

números de aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH;

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
 números de aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH;

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 (en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos; y/o los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más preferentemente, se prefiere generalmente que un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación pueda comprender parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), y como tal comprende, consiste o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar dichos autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos):

números de aminoácidos 32 a 41 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 36 a 42 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH;
 números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH; y
 números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH.

Preferentemente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

Preferentemente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

Preferentemente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación comprende, consiste o consiste esencialmente en los números de aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

También se prefiere de acuerdo con la presente divulgación que se proporcione un polipéptido con el que puedan interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprenda parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que podrían interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más particularmente, se proporciona por la presente divulgación un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Como alternativa, se proporciona por la presente divulgación un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de TSH con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que podrían interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

La presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representan en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor

de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más particularmente, la presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representan en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

La presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representan en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

También se prefiere de acuerdo con la presente divulgación que se proporcione un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

(iii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Más particularmente, la presente divulgación proporciona además un polipéptido con el que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de TSH con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en:

(i) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

(ii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);

(iii) la conformación estructural primaria de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 7, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los números de aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 7, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);

con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

Como se apreciará a partir de las Figuras adjuntas, dichas secuencias de aminoácidos pueden ser de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, murino, de rata u ovino, y las secuencias de aminoácidos específicas en cada una de las especies anteriormente mencionadas se describen posteriormente en el presente documento en más detalle con referencia a las Figuras 1, 3, 5 y 7. Convenientemente, en el caso de que los polipéptidos de acuerdo con el segundo aspecto de la presente divulgación comprendan secuencias de aminoácidos correspondientes a parte de o toda la conformación estructural primaria de más de un epítomo de un receptor de TSH, las secuencias de aminoácidos respectivas correspondientes a parte de o toda la conformación estructural primaria de los epítomos respectivos pueden separarse por secuencias de aminoácidos enlazadoras para proporcionar preferentemente las secuencias de aminoácidos respectivas en una conformación, disposición o secuencia que se asemeje o se asemeje sustancialmente a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como está presente en un sitio activo de un receptor de TSH y/o puede ser eficaz para proporcionar las secuencias de aminoácidos respectivas a las que se ha hecho referencia anteriormente de un receptor de TSH en una conformación, disposición o secuencia óptima para la interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describen en el presente documento.

Las secuencias polipeptídicas preferidas y polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación comprenden, consisten o consisten esencialmente en las secuencias numeradas de aminoácidos a las que se hace referencia específica de un receptor de TSH como se muestra respectivamente en cualquiera de las Figuras adjuntas 1, 3, 5 o 7. Como se ha indicado anteriormente, sin embargo, la presente invención también abarca "variantes", "análogos", "derivados" y "fragmentos" de secuencias de aminoácidos específicas descritas en el presente documento y los términos "variantes", "análogos", "derivados" y "fragmentos" como se usan en el presente documento cuando se

hace referencia a secuencias polipeptídicas y polipéptidos de acuerdo con la presente invención (tales como polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describen en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas) pueden caracterizarse como secuencias polipeptídicas y polipéptidos que conservan esencialmente la misma función o actividad biológica (con respecto a interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describen en el presente documento) que las secuencias polipeptídicas y polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas. Convenientemente, las variantes, análogos, derivados y fragmentos, o variantes, análogos o derivados de los fragmentos como se describen en el presente documento pueden tener una conformación estructural primaria de aminoácidos como se ve en las Figuras adjuntas en la que varios o algunos (tales como de 5 a 10, de 1 a 5 o de 1 a 3) restos de aminoácidos se sustituyen, suprimen o añaden, en cualquiera combinación. Se prefieren especialmente entre estas las sustituciones, adiciones y delecciones silenciosas que no alteran o sustancialmente no alteran la actividad o función biológica de los polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación como se han descrito específicamente anteriormente. Pueden preferirse sustituciones conservativas como se describen posteriormente en el presente documento en más detalle.

Más particularmente, las variantes, análogos o derivados de polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describen en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas puede ser:

- (i) en los que uno o más de los restos de aminoácidos se sustituyen con un resto de aminoácido conservado o no conservado (preferentemente un resto de aminoácido conservado);
- (ii) en los que uno o más de los restos de aminoácidos incluye un grupo sustituyente; o
- (iii) que comprenden además aminoácidos adicionales que pueden ser eficaces para proporcionar los números de aminoácidos a los que se ha hecho referencia anteriormente de un receptor de TSH que están presentes en un polipéptido de la presente divulgación en una conformación, disposición o secuencia que se asemeja o se asemeja sustancialmente a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como está presente en un sitio activo de un receptor de TSH, y/o puede ser eficaz para proporcionar los números de aminoácidos a los que se ha hecho referencia anteriormente de un receptor de TSH que están presentes en un polipéptido de la presente divulgación, una conformación, disposición o secuencia óptima para interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describen en el presente documento.

Se considera que dichas variantes, derivados y análogos están dentro del alcance de los expertos en la materia a partir de las enseñanzas del presente documento.

Normalmente, las variantes, análogos o derivados pueden ser los que varían con respecto a una referencia (tal como polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas) por sustituciones de aminoácidos conservativas. Dichas sustituciones son las que sustituyen un aminoácido dado en un polipéptido por otro aminoácido de características similares. Se ven normalmente como sustituciones conservativas los reemplazos, uno por otro, entre los aminoácidos alifáticos A, V, L e I; entre los restos hidroxilo S y T; entre los restos ácidos D y E; entre los restos de amida N y Q; entre los restos básicos K y R; y entre los restos aromáticos F y Y.

Puede preferirse que las variantes, análogos o derivados proporcionados por la presente divulgación sean los que comprenden además aminoácidos adicionales que pueden ser eficaces para proporcionar los números de aminoácidos a los que se ha hecho referencia anteriormente de un receptor de TSH que están presentes en un polipéptido de la presente divulgación en una conformación, disposición o secuencia que se asemeja o se asemeja sustancialmente a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como está presente en un sitio activo de un receptor de TSH, y/o pueden ser eficaces para proporcionar los números de aminoácidos a los que se ha hecho referencia anteriormente de un receptor de TSH que están presentes en un polipéptido de la presente divulgación en una conformación, disposición o secuencia óptima para la interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

Más particularmente, el término "fragmento" como se usa en el presente documento indica un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que en su totalidad es igual que parte de pero no toda la secuencia de aminoácidos de un polipéptido que tiene una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, y variantes o derivados de los mismos y dichos fragmentos pueden ser "independientes", es decir no ser parte de o estar fusionados con otros aminoácidos o polipéptidos, o pueden estar comprendidos dentro de un polipéptido mayor del que forman una parte o región. Como se apreciará, los fragmentos de acuerdo con la presente invención comprenden o contienen la conformación estructural primaria de aminoácidos presentes en uno o más epítomos de un receptor de TSH como se describe en el presente documento para poder interaccionar con los anticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

Los polipéptidos de la presente divulgación, por lo tanto, incluyen polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, así como polipéptidos (concretamente variantes, análogos y derivados como se ha indicado

anteriormente) que tienen al menos 70 % de identidad con polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, preferentemente al menos 80 % de identidad con los polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, y más preferentemente al menos 90 % de identidad con polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas y aún más preferentemente al menos 95 % de identidad con polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas y también incluye fragmentos de dichos polipéptidos sustancialmente como se ha indicado anteriormente.

Un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación se obtiene, o puede obtenerse, convenientemente por expresión de un polinucleótido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se describe posteriormente en el presente documento. Como alternativa, los polipéptidos de la divulgación pueden producirse de forma sintética por sintetizadores peptídicos convencionales empleando técnicas que se conocen bien en este campo. Un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación obtenido de este modo puede ser ventajoso por estar sin asociación con otros polipéptidos eucariotas o contaminantes que podrían asociarse de otro modo con el mismo en su ambiente natural. Los polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se describen en el presente documento pueden expresarse en diversos sistemas generando proteínas recombinantes. Por ejemplo, para la expresión en *E coli*, el ADNc que codifica los polipéptidos apropiados de acuerdo con la presente divulgación pueden clonarse en un vector, tal como pET22, pMEX8, pGEX2T o pQE81L His o un equivalente. En el caso de la expresión en levadura (por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* o *Schizosaccharomyces pombe*), pueden emplearse vectores tales como pYES2, pESP2 o pYES2/CT o un equivalente. El vector AcMNPV (Bac-N-Blue) o un equivalente puede usarse para la expresión en células de insecto y los vectores pRC/CMV, pcDNA3.1 o un equivalente pueden usarse para la expresión en células de mamífero, tales como Células de Ovario de Hámster Chino (CHO). Un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación puede expresarse como una proteína discreta, o como una proteína de fusión unida con, por ejemplo, glutatión S transferasa (GST) o enlazador de poli histidina. Para una proteína discreta, puede usarse purificación por cromatografía en columna de afinidad usando un anticuerpo monoclonal de ratón para la parte relevante de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación acoplado con una partícula de Sepharose. Si se fusiona un polipéptido de acuerdo con la presente invención con GST, puede usarse purificación por cromatografía de glutatión Sepharose para aislar la proteína de fusión. Pueden usarse proteasas específicas para separar GST de un polipéptido de acuerdo con la presente invención y puede usarse un segundo ciclo de cromatografía de glutatión Sepharose para separar GST de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación. En el caso de péptidos unidos al enlazador de poli histidina, la purificación puede llevarse a cabo usando cromatografía de afinidad de metales inmovilizada.

La presente divulgación proporciona además un proceso para preparar un polipéptido sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, comprendiendo dicho proceso:

- (i) proporcionar una célula hospedadora sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento;
- (ii) cultivar la célula hospedadora; y
- (iii) recuperar un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación de la misma.

La recuperación de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación puede emplear normalmente técnicas de aislamiento y purificación convencionales, tales como separaciones cromatográficas o separaciones inmunológicas, conocidas por los expertos en la materia.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 11.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un polinucleótido que comprende:

- (i) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento,
- (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, comprendiendo dicho polipéptido una secuencia o secuencias de aminoácidos de números de aminoácidos específicos de un receptor de TSH que se definen por referencia a cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7;
- (iii) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de (ii), comprendiendo dicha secuencia de nucleótidos bases nucleotídicas que codifican los números de aminoácidos específicos anteriormente mencionados de un receptor de TSH que se definen por referencia a cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, y definiéndose dichas bases nucleotídicas por referencia a cualquiera de las Figuras 2, 4, 6 y 8;
- (iv) una secuencia de nucleótidos que difiere de la secuencia de (iii) en la secuencia codónica debido a la degeneración del código genético;
- (v) una secuencia de nucleótidos que comprende una variación alélica de la secuencia de (iii);
- (vi) una secuencia de nucleótidos que comprende un fragmento de cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii),

(iv) o (v); o

(vii) una secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones rigurosas con cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii), (iv), (v) o (vi).

- 5 Las bases nucleotídicas de un polinucleótido de acuerdo con la presente invención, que codifica las regiones epitópicas anteriormente mencionadas de un polipéptido de acuerdo con la presente invención, pueden resumirse de la siguiente manera.

Números de Aminoácidos	Números de Nucleótidos
22-91	64-273
32-41	94-123
36-42	106-126
246-260	736-780
247-260	739-780
260-363	778-1089
277-296	829-888
380-418	1138-1254
381-385	1141-1155

- 10 Los polinucleótidos de la presente invención pueden estar en forma de ADN, incluyendo, por ejemplo, ADNc, ADN sintético y ADN genómico obtenido apropiadamente por clonación o producido por técnicas sintéticas químicas o por una combinación de las mismas. Una realización preferida de la presente invención preferentemente comprende ADNc o ADN sintético.

- 15 La secuencia codificante que codifica un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación puede ser idéntica a la secuencia codificante de un polinucleótido como se ha hecho referencia anteriormente en (iii) y se define por referencia a cualquiera de las Figuras 2, 4, 6 y 8. También pueden ser un polinucleótido con una secuencia diferente que, como resultado de la redundancia (degeneración) del código genético, codifica un polipéptido de acuerdo con la presente invención.

- 20 La presente divulgación se refiere además a variantes de los polinucleótidos descritos anteriormente en el presente documento que codifican polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describen en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes análogos o derivados de los fragmentos y sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en más detalle. Una variante del polinucleótido puede ser una variante de origen natural tal como una variante alélica de origen natural, o puede ser una variante que no se sabe que aparezca en la naturaleza. Dichas variantes de origen no natural del polinucleótido pueden realizarse por técnicas de mutagénesis.

- 25 Entre las variantes a este respecto hay variantes que difieren de los polinucleótidos anteriormente mencionados por sustituciones, deleciones o adiciones de nucleótidos. Las sustituciones, deleciones o adiciones pueden implicar uno o más nucleótidos. Las alteraciones en las regiones codificantes pueden producir sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservativas o no conservativas, de nuevo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

- 30 Los polinucleótidos variantes de acuerdo con la presente invención son convenientemente al menos 70 % idénticos sobre su longitud completa a un polinucleótido que codifique polipéptidos que tengan una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas, y polinucleótidos que son complementarios de, o hibridan con, dichos polinucleótidos. Como alternativa, se prefieren en mayor medida los polinucleótidos que comprenden una región que es al menos 80 % idéntica sobre su longitud completa a un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas y polinucleótidos que son complementarios de, o hibridan con, dichos polinucleótidos.

- 35 A este respecto, se prefieren particularmente polinucleótidos al menos 90 % idénticos sobre su longitud completa a los mismos, y entre estos polinucleótidos particularmente preferidos, se prefieren especialmente los que tienen al menos 95 % de identidad. Además, los que tienen al menos 97 % de identidad se prefieren en gran medida entre los que tienen al menos 95 % de identidad, y entre estos los que tienen al menos 98 % de identidad y al menos 99 % de

identidad se prefieren particularmente en gran medida, prefiriéndose más al menos 99 % de identidad.

Sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento la presente divulgación se refiere además a polinucleótidos que hibridan con las secuencias anteriormente descritas en el presente documento. A este respecto, la presente divulgación se refiere especialmente a polinucleótidos que hibridan en condiciones rigurosas con los polinucleótidos anteriormente descritos en el presente documento. Como se usa en el presente documento, la expresión "condiciones rigurosas" significa que se producirá hibridación solamente si hay al menos 95 % y preferentemente al menos 97 % de identidad complementaria entre las secuencias.

La presente divulgación también se refiere a vectores, que comprenden un polinucleótido o polinucleótidos de la presente invención, células hospedadoras que se modifican por ingeniería genética con vectores de la invención y la producción de polipéptidos de la divulgación por técnicas recombinantes.

La presente divulgación, por lo tanto, proporciona además un sistema de vector biológicamente funcional que porta un polinucleótido sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y que es capaz de introducir el polinucleótido en el genoma de un organismo hospedador.

Las células hospedadoras pueden modificarse por ingeniería genética para incorporar polinucleótidos y expresar polipéptidos de la presente invención y la presente invención proporciona además una célula hospedadora que se transforma o transfecta con un polinucleótido, o uno o más polinucleótidos, o un sistema de vector, cada uno sustancialmente como se describe en el presente documento. La secuencia de ADN apropiada puede insertarse en el vector por cualquiera de diversas técnicas bien conocidas y rutinarias.

De acuerdo con la invención, se proporciona un método de acuerdo con la reivindicación 12.

De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente divulgación, también se proporciona un método de cribado de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

- (a) proporcionar (i) dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto o (ii) linfocitos aislados de dicha muestra;
- (b) poner en contacto dicha muestra o linfocitos aislados con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho polipéptido interaccione con autoanticuerpos, o linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en, o aislados de, dicha muestra; y
- (c) controlar el grado, o efecto, de la interacción de dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en, o aislados de, dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, en dicha muestra, o aislados de dicha muestra.

Sustancialmente como se ha descrito anteriormente, un método de acuerdo con la presente divulgación es adecuado de cribado de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto. Un método de acuerdo con la presente divulgación puede, sin embargo, estar particularmente adaptado para su uso en el cribado de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto sustancialmente como se describe posteriormente en el presente documento en más detalle.

Se proporciona en particular por la presente divulgación, por lo tanto, un método de cribado de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

- (a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;
- (b) poner en contacto dicha muestra con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho polipéptido interaccione con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en dicha muestra; y
- (c) controlar el grado de interacción de dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos en dicha muestra.

Un método de acuerdo con la presente invención puede emplear normalmente un control, tal como una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, en otras palabras un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Un método de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH de acuerdo con la presente invención puede comprender controlar directamente la interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en la muestra de fluido corporal del sujeto y (ii) un polipéptido, como se proporciona por la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, normalmente empleando técnicas de ensayo de tipo sándwich no competitivo conocidas en este campo.

Normalmente, en un método de acuerdo con la presente invención que emplea técnicas no competitivas, el control del grado de interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en la muestra y (ii) un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, puede comprender proporcionar medios de marcaje a un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, o a un compañero de unión para autoanticuerpos para un receptor de TSH, una de cuyas técnicas permitirían el control de la interacción anteriormente descrita. Por ejemplo, un método de acuerdo con la presente invención puede comprender marcar directa o indirectamente un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, poner en contacto el polipéptido marcado de este modo con una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos del receptor de TSH para proporcionar una mezcla de los mismos; y añadir a la mezcla un compañero de unión para autoanticuerpos para un receptor de TSH (tal como un reactivo anti IgG) presente en la muestra de fluido corporal, para provocar precipitación de cualquier complejo de polipéptido marcado y autoanticuerpos del receptor de TSH presentes en la mezcla. Como alternativa, puede preferirse que un método de acuerdo con la presente invención comprenda además añadir un compañero de unión marcado para autoanticuerpos del receptor de TSH (tal como un reactivo anti IgG marcado, por ejemplo proteína A o anti IgG humano, o receptor de TSH de longitud completa marcado o un epítipo del mismo) a una mezcla obtenida poniendo en contacto (i) un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento inmovilizado en un soporte y (ii) una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos para un receptor de TSH.

Puede preferirse como alternativa que un método de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en la muestra de fluido corporal de acuerdo con la presente divulgación, utilice los principios empleados en ensayos competitivos conocidos. Por ejemplo, un método de acuerdo con la presente divulgación puede emplear al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Normalmente, un competidor como se emplea en un método de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación puede comprender uno o más anticuerpos, que pueden ser naturales o producirse de forma parcial o completamente sintética. Un competidor como se emplea en la presente divulgación puede comprender como alternativa cualquier otra proteína (por ejemplo, TSH) que tenga un dominio o región de unión que sea capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Preferentemente, sin embargo, un competidor como se emplea en la presente divulgación comprende un anticuerpo monoclonal, recombinante o policlonal (especialmente un anticuerpo monoclonal), capaz de competir con autoanticuerpos del receptor de TSH en la interacción de los mismos con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Normalmente, por lo tanto, un método de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación puede comprender además proporcionar al menos un competidor, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, por lo que en la etapa (b) de un método como se describe en el presente documento un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede interaccionar con un competidor, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, o autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra.

Normalmente el control de un método de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación comprende comparar:

(i) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento (normalmente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en ausencia de dicha muestra de fluido corporal que se criba (que se sospecha que es una muestra enferma), opcionalmente en presencia de una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, normalmente un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH; con

(ii) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se han descrito

anteriormente en el presente documento (normalmente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en presencia de dicha muestra de fluido corporal que se criba.

Normalmente, la comparación implica observar una reducción en la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y el competidor en (ii) en comparación con (i) para proporcionar un indicio de la presencia de autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra. Normalmente, la reducción de la interacción puede observarse por marcaje directo o indirecto del competidor y control de cualquier cambio en la interacción del competidor marcado de este modo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en ausencia y en presencia de una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos para un receptor de TSH. Convenientemente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede inmovilizarse para facilitar el control anteriormente mencionado.

Como alternativa, también se proporciona por la presente divulgación un método de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular de un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

(a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;

(b) poner en contacto dicha muestra con

(i) un receptor de TSH de longitud completa (normalmente un receptor de TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante), y

(ii) al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento,

(convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos para un receptor de TSH), de modo que se permita que dicho receptor de TSH de longitud completa interaccione con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o dicho competidor; y

(c) controlar la interacción de dicho receptor de TSH de longitud completa con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

El receptor de TSH de longitud completa puede ser normalmente de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, murino, de rata u ovino y más preferentemente un receptor de TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante. Un competidor para su uso en dicho ensayo normalmente comprende un anticuerpo monoclonal o policlonal (preferentemente monoclonal) sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Convenientemente un marcador detectable que puede emplearse en un método de acuerdo con la presente divulgación puede seleccionarse del grupo que consiste en marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores fluorescentes, colorantes y similares.

En el caso en el que se emplee un marcador isotópico (tal como ^{125}I , ^{14}C , ^3H o ^{35}S), el control puede comprender por lo tanto medir la radiactividad dependiente de la unión de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. La radiactividad se mide en general usando un contador gamma, o contador de centelleo líquido.

En el caso de un método de cribado de linfocitos de acuerdo con la presente divulgación, se prefiere en general que los linfocitos se aislen inicialmente de una muestra de fluido corporal de un sujeto usando técnicas bien conocidas por un experto habitual en la materia, seguido de contacto con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación para estimular la proliferación de los linfocitos aislados. El control del efecto de la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación y dichos linfocitos en proliferación, normalmente emplea medios conocidos en la técnica para controlar dicha proliferación de linfocitos.

De acuerdo con la invención se proporciona un kit de acuerdo con la reivindicación 20.

De acuerdo con una realización particularmente preferida adicional de la presente invención, se proporciona un kit de cribado de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento;

(b) medios para poner en contacto (i) una muestra de fluido corporal obtenida de dicho sujeto o (ii) linfocitos aislados de una muestra de fluido corporal obtenido de dicho sujeto, con dicho polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho polipéptido interaccione con autoanticuerpos, o linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en, o aislados de, dicha muestra; y

(c) medios para controlar el grado, o efecto, de la interacción de dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en, o aislados de, dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos, o linfocitos, en dicha muestra o aislados de dicha muestra.

Sustancialmente como se ha descrito anteriormente, un kit de acuerdo con la presente invención es adecuado de cribado de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto. Un kit de acuerdo con la presente invención puede, sin embargo, adaptarse particularmente para su uso en el cribado de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto sustancialmente como se describe posteriormente en el presente documento en más detalle.

Se proporciona en particular por la presente divulgación, por lo tanto, un kit de cribado de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento;

(b) medios para poner en contacto una muestra de fluido corporal obtenida de dicho sujeto con dicho polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho polipéptido interaccione con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en dicha muestra; y

(c) medios para controlar el grado de interacción de dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH y presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos en dicha muestra.

Un kit de acuerdo con la presente invención puede comprender además normalmente medios de control, tales como medios para proporcionar una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, en otras palabras un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH de acuerdo con la presente invención puede comprender medios para controlar directamente la interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en la muestra de fluido corporal del sujeto y (ii) un polipéptido, como se proporciona por la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, normalmente que comprende medios de ensayo de tipo sándwich no competitivos conocidos en la técnica.

Normalmente, en un kit de acuerdo con la presente divulgación que comprende medios de ensayo no competitivos, se proporcionan medios para controlar el grado de interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en la muestra y (ii) un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y puede comprender medios de marcaje proporcionados para un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, o para un compañero de unión para autoanticuerpos para un receptor de TSH, uno de los cuales permitiría el control de la interacción anteriormente descrita. Por ejemplo, un kit de acuerdo con la presente divulgación puede comprender medios para marcar directa o indirectamente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento; medios para poner en contacto el polipéptido marcado de este modo con una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos de un receptor de TSH para proporcionar una mezcla de los mismos; un compañero de unión con respecto a autoanticuerpos para un receptor de TSH (tal como un reactivo anti IgG) presente en la muestra de fluido corporal; y medios para añadir el compañero de unión a la mezcla para provocar la precipitación de cualquier complejo de polipéptido marcado y autoanticuerpos del receptor de TSH presentes en la mezcla. Como alternativa,

puede preferirse que un kit de acuerdo con la presente divulgación comprenda además un compañero de unión marcado para autoanticuerpos del receptor de TSH (tales como un reactivo anti IgG marcado, por ejemplo proteína A o anti IgG humano, o un receptor de TSH de longitud completa marcado o un epítipo del mismo) y medios para añadir el compañero de unión marcado a una mezcla obtenida poniendo en contacto (i) un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento inmovilizado en un soporte y (ii) una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos para un receptor de TSH.

Como alternativa puede preferirse que un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en la muestra de fluido corporal de acuerdo con la presente divulgación comprenda medios de ensayo competitivos conocidos. Por ejemplo, un kit de acuerdo con la presente divulgación puede comprender además al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Normalmente, un competidor como se emplea en un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación puede comprender uno o más anticuerpos, que pueden ser naturales o producirse de forma parcial o completamente sintética. Un competidor como se emplea en la presente divulgación puede como alternativa comprender cualquier otra proteína que tenga un dominio de unión o región que sea capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Preferentemente, sin embargo, un competidor como se emplea en la presente divulgación comprende un anticuerpo monoclonal o policlonal (especialmente un anticuerpo monoclonal), capaz de competir con autoanticuerpos del receptor de TSH en la interacción de los mismos con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Normalmente, por lo tanto, un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación puede comprender además al menos un competidor, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, por lo que un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede interaccionar con un competidor, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, o autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en una muestra de fluido corporal que se explore.

Normalmente los medios de control en un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente divulgación comprenden medios para comparar:

(i) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento (normalmente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en ausencia de dicha muestra o fluido corporal que se criba (que se sospecha que es una muestra enferma), opcionalmente en presencia de una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, normalmente un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH; con

(ii) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento (normalmente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en presencia de dicha muestra de fluido corporal que se criba.

Normalmente, la comparación implica observar una reducción en la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y el competidor en (ii) en comparación con (i) para proporcionar un indicio de la presencia de autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra. Normalmente, la reducción de la interacción puede observarse marcando directa o indirectamente el competidor y controlando cualquier cambio en la interacción del competidor marcado de este modo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en ausencia y en presencia de una muestra de fluido corporal que se criba para autoanticuerpos para un receptor de TSH. Convenientemente un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede inmovilizarse para facilitar el control anteriormente mencionado.

Como alternativa, se proporciona también por la presente divulgación un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa (normalmente un receptor de TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante);

(b) al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito

anteriormente en el presente documento,

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de TSH de longitud completa y dicho competidor (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos para un receptor de TSH), para permitir que dicho receptor de TSH de longitud completa interaccione con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o dicho competidor; y

(d) medios para controlar la interacción de dicho receptor de TSH de longitud completa con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

El receptor de TSH de longitud completa puede ser normalmente de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, murino, de rata u ovino y más preferentemente un receptor de TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante. Un competidor para su uso en dicho kit de ensayo normalmente comprende un anticuerpo monoclonal o policlonal (preferentemente monoclonal) sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Convenientemente un marcador detectable que puede emplearse en un kit de acuerdo con la presente invención puede seleccionarse del grupo que consiste en marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores fluorescentes, colorantes y similares.

En el caso en el que se emplee un marcador isotópico (tal como ^{125}I , ^{14}C , ^3H o ^{35}S), los medios de control pueden por lo tanto comprender medios para medir la reactividad dependiente de la unión de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. La radiactividad se mide generalmente usando un contador gamma, o contador de centelleo líquido.

En el caso de un kit de cribado de linfocitos de acuerdo con la presente divulgación, se prefiere en general que los medios se proporcionen para aislar inicialmente linfocitos de una muestra de fluido corporal de un sujeto, usando técnicas bien conocidas por un experto en la materia, y también se proporcionan medios para poner en contacto un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación con dichos linfocitos aislados para estimular la proliferación de estos últimos por los primeros. También se proporcionan medios (de nuevo conocidos por un experto en la materia) para controlar el efecto de la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación y dichos linfocitos en proliferación, en dicho kit de acuerdo con la presente invención.

Se apreciará a partir de la descripción anterior que la presente invención proporciona métodos de ensayo y kits para detectar autoanticuerpos (en particular) o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. La detección de dichos autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en la muestra de fluido corporal (o al menos el nivel de dichos autoanticuerpos y/o linfocitos en la muestra) es indicativa de la presencia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en el sujeto del que se obtuvo la muestra y pueden, por lo tanto, permitir el diagnóstico de la probable aparición o presencia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Por lo tanto, se proporciona además por la presente divulgación un método para diagnosticar la probable aparición o presencia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo el método detectar autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal del sujeto sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y por lo que los autoanticuerpos y/o linfocitos detectados pueden proporcionar un diagnóstico de la probable aparición o presencia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en el sujeto.

Se proporciona además por la presente divulgación un método para retardar o prevenir la aparición de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en un sujeto animal (en particular un sujeto humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, o se recupera de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método inicialmente detectar autoanticuerpos o linfocitos indicativos de la aparición o presencia de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida del sujeto sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, proporcionando de este modo un diagnóstico de la probable aparición de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en el sujeto, y a continuación tratar terapéuticamente al sujeto para retardar la aparición y/o prevenir la enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento es particularmente adecuado para su uso en el tratamiento terapéutico de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH. Por ejemplo, puede conseguirse tolerancia administrando un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito

anteriormente en el presente documento a un sujeto (en particular un sujeto humano) que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Por lo tanto, se proporciona además por la presente divulgación una composición farmacéutica que comprende un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para el mismo, en el que el polipéptido puede interaccionar con autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH.

La presente divulgación proporciona además un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento para su uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad de Graves.

Las composiciones o medicamentos de acuerdo con la presente divulgación deberían contener una cantidad terapéutica o profiláctica de al menos un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación en un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo farmacéutico puede ser cualquier sustancia compatible, no tóxica, adecuada para suministro de los polipéptidos al paciente. Pueden usarse agua estéril, alcoholes, grasas, ceras y sólidos inertes como el vehículo. También pueden incorporarse adyuvantes, agentes tamponantes, agentes dispersantes y similares farmacéuticamente aceptables, en las composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones pueden contener un único polipéptido o pueden contener dos o más polipéptidos de acuerdo con la presente invención.

Puede ser deseable acoplar un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación a inmunoglobulinas, por ejemplo IgG, o a células linfoides del paciente que se trata para promover la tolerancia. Dicho enfoque se describe en Bradley-Mullen, Activation of Distinct Subsets of T Suppressor Cells with Type III Pneumococcal Polysaccharide Coupled to Syngeneic Spleen Cells, en: IMMUNOLOGICAL TOLERANCE TO SELF AND NON-SELF, Buttisto *et al*, eds., Annals N. Y. Acad. Sci. Vol. 392, pp 156-166, 1982. Como alternativa, los polipéptidos pueden modificarse para mantener o potenciar la unión con el MHC reduciendo o eliminando a la vez la unión con el receptor de linfocitos T asociado. De esta manera, los polipéptidos modificados pueden competir con un receptor de TSH natural para inhibir la activación de linfocitos T auxiliares y de este modo inhibir la respuesta inmunitaria. En todos los casos, debería tenerse cuidado de que la administración de las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación mejoren pero no potencien la respuesta autoinmunitaria.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente divulgación son útiles para administración parenteral. Preferentemente, las composiciones se administrarán por vía parenteral, es decir por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. Por lo tanto, la divulgación proporciona composiciones para administración parenteral a un paciente, en la que las composiciones comprenden una solución o dispersión de los polipéptidos en un vehículo aceptable, como se ha descrito anteriormente. La concentración de los polipéptidos en la composición farmacéutica puede variar ampliamente, es decir de menos de aproximadamente 0,1 % en peso, siendo habitualmente al menos aproximadamente 1 % en peso hasta tanto como el 20 % en peso o más. Las composiciones farmacéuticas típicas para inyección intramuscular se compondrían para contener, por ejemplo, 1 ml de agua tamponada estéril y de 1 a 100 µg de un polipéptido purificado de la presente divulgación. Una composición típica para infusión intravenosa podría componerse para contener de 100 a 500 ml de solución de Ringer estéril y de 100 a 500 mg de un polipéptido purificado de la presente divulgación. Se conocen bien en la técnica métodos reales para preparar composiciones administrables por vía parenteral y se describen en más detalle en diversas fuentes, incluyendo, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, 15ª Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980).

Además de usar un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación directamente en composiciones farmacéuticas, también es posible usar un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación para potenciar la tolerancia a un receptor de TSH en un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, empleando los siguientes principios. Más particularmente, pueden recogerse linfocitos de sangre periférica del sujeto de una manera convencional y estimularse por exposición a un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación, como se ha definido anteriormente. Habitualmente, están presentes otros mitógenos y potenciadores del crecimiento, por ejemplo, fitohemaglutinina, interleucina 2 y similares. Pueden aislarse y clonarse linfocitos T auxiliares en proliferación, también con la estimulación de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación. Después pueden usarse clones que continúan proliferando para preparar composiciones terapéuticas para el sujeto. Los linfocitos T clonados pueden atenuarse, por ejemplo mediante exposición a radiación y administrarse al sujeto para inducir tolerancia. Como alternativa, el receptor de linfocitos T o partes del mismo pueden aislarse por métodos de purificación de proteínas convencionales a partir de los linfocitos T clonados y administrarse al individuo. Dichos métodos de inmunoterapia se describen en general en Sinha *et al*. (1990) Science 248: 1380-1388.

En algunos casos, después de haberse clonado un linfocito T auxiliar como se ha descrito anteriormente, puede ser posible desarrollar péptidos terapéuticos del receptor de linfocitos T, cuando los péptidos serían beneficiosos para tratar a una población de pacientes que se sospecha que padecen, son susceptibles a, tienen o se recuperan de una

enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH. En dichos casos, el gen del receptor de linfocitos T puede aislarse y clonarse por técnicas convencionales y producirse péptidos basados en el receptor por técnicas recombinantes como se ha descrito anteriormente. Los péptidos producidos de forma recombinante pueden después incorporarse en composiciones farmacéuticas como se ha descrito anteriormente.

También se proporciona por la presente divulgación un método para clonar linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

proporcionar una fuente de linfocitos;

poner en contacto los linfocitos con un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, para efectuar la proliferación de dichos linfocitos; y

aislar y clonar los linfocitos en proliferación.

La presente divulgación también proporciona el uso de linfocitos clonados preparados como anteriormente, en el tratamiento terapéutico de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH. Se proporciona, por lo tanto, una composición farmacéutica que comprende linfocitos clonados preparados como anteriormente, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para la misma y el uso de dichos linfocitos clonados en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, en particular enfermedad de Graves.

También se proporciona por la presente divulgación uno o más agentes terapéuticos que se ha identificado que proporcionan un efecto terapéutico mediante interacción con aminoácidos que comprenden parte de o toda la conformación primaria de aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y la presente divulgación proporciona además uno o más agentes terapéuticos para su uso en la interacción terapéutica con aminoácidos que comprenden parte de o toda la conformación primaria de aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y como tal para su uso en el tratamiento terapéutico de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH.

Por lo tanto, se proporciona además por la presente divulgación un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en un sujeto, comprendiendo dicho método inicialmente detectar los autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida del sujeto sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, proporcionando de este modo un diagnóstico de enfermedad autoinmunitaria en el sujeto, y administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico eficaz en el tratamiento de dicha enfermedad autoinmunitaria, tal como un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH en un sujeto (en particular un sujeto humano), comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico que se ha identificado que proporciona un efecto terapéutico por interacción con aminoácidos que comprenden parte de o toda la conformación primaria de aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La cantidad de agente terapéutico administrado dependerá de la patología autoinmunitaria específica que se trate, posiblemente la edad del paciente y en última instancia dependerá del criterio de un médico a cargo.

Se proporciona además por la presente divulgación, en combinación, un kit sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico eficaz en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, la muestra de fluido corporal que se criba por la presente divulgación normalmente comprenderá muestras de sangre u otras fracciones de sangre líquidas, tales como en muestras de suero o muestras de plasma particulares, pero la muestra puede en principio ser otro fluido biológico, tal como saliva u orina o extractos tisulares solubilizados, o puede obtenerse por biopsia con aguja.

Se proporciona además por la presente divulgación un compañero de unión para un receptor de TSH, tal como un anticuerpo para un receptor de TSH, o un fragmento de un anticuerpo para un receptor de TSH, pudiendo dicho compañero de unión interaccionar con uno o más epítomos para un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, en particular los números de aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH. Convenientemente, los anticuerpos proporcionados por la presente divulgación pueden ser

monoclonales (preferidos), recombinantes o policlonales. Normalmente un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal, como se proporciona por la presente divulgación está en forma sustancialmente purificada.

De acuerdo con la invención, se proporciona un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

Más específicamente, un anticuerpo monoclonal como se proporciona por la presente divulgación puede comprender cualquiera de los anticuerpos monoclonales 3C7, 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 y 14D3 o fragmentos activos de los mismos, como se describe en los Ejemplos y se ilustra además por las Figuras adjuntas, en las que 16E5, 14D3 y 17D2 o fragmentos activos de los mismos son de acuerdo con la invención. Anticuerpos tales como 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 y 14D3, o fragmentos activos de los mismos, como se describen en los Ejemplos preferentemente tienen una alta afinidad para el receptor de TSH, tal como al menos aproximadamente 10^8 molar⁻¹. Por lo tanto, se proporciona además por la presente divulgación un anticuerpo monoclonal que tiene una afinidad de al menos aproximadamente 10^8 molar⁻¹ para uno o más epítomos de un receptor de TSH y cuyo epítipo se proporciona por una cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos de un receptor de TSH:

aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH; o
aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;

o más particularmente, consiste esencialmente en una cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos de un receptor de TSH:

aminoácidos 36 a 42 de un receptor de TSH; o
aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH.

También se proporciona por la presente divulgación un anticuerpo monoclonal que tiene una afinidad de al menos aproximadamente 10^8 molar⁻¹ para uno o más epítomos de un receptor de TSH y cuyo epítipo se proporciona por una cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos de un receptor de TSH:

aminoácidos 32 a 41 de un receptor de TSH; o
aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH.

De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente divulgación se proporciona un compañero de unión para un receptor de TSH, siendo dicho compañero de unión capaz de unirse con un receptor de TSH para estimular el receptor de TSH, no comprendiendo dicho compañero de unión TSH o autoanticuerpos producidos de forma natural para el receptor de TSH.

Preferentemente el compañero de unión comprende un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal o recombinante (preferentemente monoclonal), capaz de unirse con un receptor de TSH para estimular el receptor de TSH. Los ejemplos de anticuerpos monoclonales desvelados en el presente documento que estimulan un receptor de TSH de esta manera incluyen 4D7, 16E5, 17D2 y 14D3.

En un caso preferido la presente divulgación proporciona un compañero de unión para un receptor de TSH, siendo dicho compañero de unión capaz de unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH y que comprende:

un dominio V_H de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:

dominios V_H como se muestran en una cualquiera de las Figuras 10, 14, 18, 22, 42, 46 o 50, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 10, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 14, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 18, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 22, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 42, un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 46, y un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 50; y/o

un dominio V_L de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:

dominios V_L como se muestran en una cualquiera de las Figuras 12, 16, 20, 24, 44, 48 o 52, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 12, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de

aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 16, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 20, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 24, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 44, un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 48, y un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 52.

Puede preferirse de acuerdo con la presente divulgación que un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento comprenda un dominio V_H de anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento emparejado con un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH, aunque como se analiza adicionalmente un dominio V_H de anticuerpo, o un dominio V_L de anticuerpo pueden usarse de forma independiente para unirse a un receptor de TSH. Se apreciará, por lo tanto, que un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_H de anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en ausencia de un dominio V_L de anticuerpo. También se apreciará, por lo tanto, que un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en ausencia de un dominio V_H de anticuerpo. Como alternativa, un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_H de anticuerpo emparejado con un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo que comprende dominios tanto V_H como V_L para el receptor de TSH.

Las realizaciones preferidas de acuerdo con la presente divulgación pueden incluir por lo tanto un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 10 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 12 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende ambos de estos dominios V_H y V_L para un receptor de TSH, o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 14 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 16 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende ambos de estos dominios V_H y V_L para un receptor de TSH; o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 18 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 20 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende ambos de estos dominios V_H y V_L para un receptor de TSH; o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 22 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 24 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH; o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 42 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 44 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH, o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 46 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 48 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH, o un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 50 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 52 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH.

Se prevé además de acuerdo con la presente divulgación que los dominios V_H sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento pueden emparejarse con dominios V_L distintos de los descritos específicamente en el presente documento. También se prevé además de acuerdo con la presente divulgación que los dominios V_L sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento pueden emparejarse con dominios V_H distintos de los descritos específicamente en el presente documento.

De acuerdo con una realización alternativa de la presente divulgación se proporciona un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento para un receptor de TSH, siendo dicho compañero de unión capaz de unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH y que puede comprender:

un dominio V_H de anticuerpo que comprende:

un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una

CDR V_H como se muestra en la Figura 10, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 14, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 18, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 22, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 42, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 46, o un dominio V_H que comprende una o más CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_H como se muestra en la Figura 50; y/o

un dominio V_L de anticuerpo que comprende:

un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 12, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 16, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 20, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 24, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 44, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 48, o un dominio V_L que comprende una o más CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a una CDR V_L como se muestra en la Figura 52.

Una o más CDR como se ha indicado anteriormente pueden tomarse de los dominios V_H y V_L descritos anteriormente en el presente documento e incorporarse en un armazón adecuado. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de una o más CDR sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede incorporarse en regiones marco conservadas de anticuerpos que difieren de los desvelados específicamente en el presente documento, incorporando dichos anticuerpos por lo tanto la o las CDR y siendo capaces de unirse con el receptor de TSH, preferentemente para estimular el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Como alternativa, un compañero de unión de acuerdo con la presente divulgación puede comprender un polipéptido capaz de unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y que comprende la conformación estructural primaria de aminoácidos como se representa por una o más CDR como se describe específicamente en el presente documento, opcionalmente junto con aminoácidos adicionales, pudiendo dichos aminoácidos adicionales potenciar la afinidad de unión de una o más CDR como se ha descrito en el presente documento para un receptor de TSH o pudiendo no tener sustancialmente ningún papel que afecte a las propiedades de unión del polipéptido para un receptor de TSH.

Preferentemente un compañero de unión de acuerdo con la presente divulgación incluye un anticuerpo. El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento describe una inmunoglobulina bien natural o bien producida de forma parcial o completamente sintética. El término también abarca cualquier polipéptido que tenga un dominio de unión que sea, o sea sustancialmente homólogo de, un dominio de unión de anticuerpo. Son ejemplos de anticuerpos los isotipos de inmunoglobulina y sus subclases isotópicas y fragmentos que comprenden un dominio de unión a antígeno tales como Fab, scFv o similares.

En particular, los fragmentos de anticuerpos específicamente como se describen en el presente documento forman un aspecto importante de la presente divulgación. De esta manera, cuando un compañero de unión de acuerdo con la presente divulgación comprenda un anticuerpo sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, el anticuerpo puede comprender cualquiera de los siguientes fragmentos: (i) el fragmento Fab que consiste en los dominios V_L, V_H, C_L y C_H1; (ii) el fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y C_H1; (iii) el fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H; (iv) el fragmento dAb que consiste en un dominio V_H; (v) regiones CDR aisladas; (vi) fragmentos F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos; y (vii) moléculas Fv monocaténarias (scFv), en las que un dominio V_H y un dominio V_L están unidos por un enlazador peptídico que permite que los dos dominios se asocien para formar un sitio de unión a antígeno.

Como alternativa, en el caso de que un compañero de unión de acuerdo con la presente divulgación comprenda un anticuerpo, el anticuerpo puede comprender un anticuerpo completo, por lo que el anticuerpo incluye regiones variables y constantes, pudiendo dichas regiones variables y constantes ilustrarse adicionalmente para los anticuerpos proporcionados por la presente divulgación por referencia a cualquiera de las Figuras 9 a 24, o 41 a 52.

La presente divulgación, también abarca variantes, análogos y derivados de los compañeros de unión específicos, anticuerpos, dominios V_H, dominios V_L, CDR y polipéptidos desvelados en el presente documento, cuyas variantes, análogos y derivados conservan la capacidad para unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Los términos variantes, análogos y

derivados se han descrito adicionalmente sustancialmente anteriormente en el presente documento en más detalle con respecto a polipéptidos de acuerdo con la presente divulgación y lo que se entiende por estos términos como se han descrito anteriormente en el presente documento se aplica también a variantes, análogos y derivados de los compañeros de unión específicos de acuerdo con la presente divulgación.

La presente divulgación también proporciona un compañero de unión adicional capaz de unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y pudiendo dicho compañero de unión adicional competir por la unión con el receptor de TSH con cualquier compañero de unión específico desvelado en el presente documento, no comprendiendo dicho compañero de unión adicional TSH o autoanticuerpos para un receptor de TSH. En particular este compañero de unión adicional puede comprender un anticuerpo adicional que tenga un sitio de unión para una región epitópica de un receptor de TSH convenientemente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, siendo dicho anticuerpo adicional capaz de unirse con el receptor de TSH para estimular el receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y puede competir por la unión con el receptor de TSH con cualquier compañero de unión específico desvelado en el presente documento.

También se proporciona por la presente divulgación un polinucleótido que comprende:

(i) una secuencia de nucleótidos como se muestra en cualquiera de las Figuras 25 a 40, o 53 a 64; o partes de dichas secuencias como se muestran en las Figuras 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 54, 56, 58, 60, 62 o 64, que codifica una secuencia de aminoácidos de un dominio V_H de anticuerpo, un dominio V_L de anticuerpo o CDR como se muestra en cualquiera de las Figuras 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 42, 44, 46, 48, 50 o 52;

(ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, o que codifica una secuencia de aminoácidos de un dominio V_H de anticuerpo, un dominio V_L de anticuerpo o CDR de un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento;

(iii) una secuencia de nucleótidos que codifica un compañero de unión que tiene una conformación estructural primaria de aminoácidos como se muestran en cualquiera de las Figuras 9 a 24 o 41 a 52, o que codifica una secuencia de aminoácidos de un dominio V_H de anticuerpo, un dominio V_L de anticuerpo o CDR como se muestra en cualquiera de las Figuras 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 42, 44, 46, 48, 50 o 52;

(iv) una secuencia de nucleótidos que difiere de cualquier secuencia de (i) en la secuencia codónica debido a la degeneración del código genético;

(v) una secuencia de nucleótidos que comprende una variación alélica de cualquier secuencia de (i);

(vi) una secuencia de nucleótidos que comprende un fragmento de cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii), (iv) o (v), y en particular una secuencia de nucleótidos que comprende un fragmento de cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii), (iv) o (v) y que codifica un fragmento Fab, un fragmento Fd, un fragmento Fv, un fragmento dAb, una región CDR aislada, fragmentos F(ab')₂ o un fragmento scFv, de un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento;

(vii) una secuencia de nucleótidos que difiere de cualquier secuencia de (i) debido a mutación, delección o sustitución de una base nucleotídica y que codifica un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, o que codifica una secuencia de aminoácidos de un dominio V_H de anticuerpo, un dominio V_L de anticuerpo o CDR de un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Los polinucleótidos variantes de acuerdo con la presente divulgación son convenientemente al menos 70 % idénticos sobre su longitud completa a cualquier secuencia polinucleotídica de (i), se prefieren en mayor medida polinucleótidos que comprendan una región que sea al menos 80 % idéntica sobre su longitud completa a cualquier secuencia polinucleotídica de (i), se prefieren particularmente polinucleótidos al menos 90 % idénticos sobre su longitud completa a cualquier secuencia polinucleotídica de (i), y entre estos polinucleótidos particularmente preferidos, se prefieren especialmente los que tienen al menos 95 % de identidad. Lo que se entiende por variantes de secuencias polinucleotídicas específicas descritas en este documento se ha descrito anteriormente en el presente documento en mayor detalle.

La presente divulgación proporciona además un sistema de vector biológicamente funcional que porta un polinucleótido sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y que es capaz de introducir el polinucleótido en el genoma de un organismo hospedador.

La presente divulgación también se refiere a células hospedadoras que se transforman con polinucleótidos de la invención y la producción de compañeros de unión de la invención por técnicas recombinantes. Las células hospedadoras pueden modificarse por ingeniería genética para incorporar polinucleótidos y expresar compañeros de

unión de la presente invención.

Un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede tener aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas, y puede interactuar o unirse provechosamente con una o más regiones epitópicas de un receptor de TSH sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

En consecuencia, un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento puede emplearse en métodos de cribado para detectar autoanticuerpos sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y también en métodos de diagnóstico sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento. De esta manera, pueden emplearse compañeros de unión de acuerdo con la presente invención en lugar de competidores de los mismos descritos para su uso en métodos de cribado para detectar autoanticuerpos sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento y también en métodos de diagnóstico sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento. De forma similar, pueden emplearse compañeros de unión de acuerdo con la presente invención en lugar de competidores de los mismos descritos para su uso en kits para su uso en la detección de autoanticuerpos sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona un método de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

(a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;

(b) poner en contacto dicha muestra con

(i) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH y

(ii) uno o más compañeros de unión sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento;

(convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interactúen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más compañeros de unión; y

(c) controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

Preferentemente, un método de acuerdo con la presente divulgación como se ha indicado anteriormente, comprende además proporcionar medios de marcaje para el o los compañeros de unión, siendo los medios de marcaje adecuados sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona un método de cribado de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

(a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;

(b) poner en contacto dicha muestra con

(i) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH, y

(ii) uno o más miembros de unión para un receptor de TSH;

(convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interactúen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más miembros de unión; y

(c) controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra;

en el que dichos uno o más miembros de unión se inmovilizan directa o indirectamente en una superficie antes de, o después de la etapa (b).

Normalmente el o los miembros de unión comprenden uno o más compañeros de unión de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Convenientemente, se proporcionan medios de marcaje para el receptor de TSH, el o los epítomos del mismo o el polipéptido.

La presente divulgación también proporciona un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH;

(b) uno o más compañeros de unión sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento;

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, y dichos uno o más compañeros de unión (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más compañeros de unión; y

(d) medios para controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

Convenientemente, un kit como se ha indicado anteriormente comprende además medios de marcaje para el o los compañeros de unión, siendo los medios de marcaje adecuados sustancialmente como se han descrito anteriormente en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH;

(b) uno o más miembros de unión para un receptor de TSH;

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, y dichos uno o más compañeros de unión (convenientemente en condiciones que permitan la interacción de un receptor de TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH) para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más compañeros de unión;

(d) medios para inmovilizar directa o indirectamente dichos uno o más miembros en una superficie, antes o después de poner en contacto dichos uno o más miembros de unión con dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto y dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido; y

(e) medios para controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

Normalmente el o los miembros de unión comprenden uno o más compañeros de unión de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Convenientemente, se proporcionan medios de marcaje para el receptor de TSH, el o los epítomos del mismo o el polipéptido.

Convenientemente, un método o kit como se ha indicado anteriormente puede emplear un polipéptido o epítomo de acuerdo con la presente divulgación sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

Sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, en presencia de autoanticuerpos

para el receptor de TSH, la unión del receptor de TSH con el miembro de unión inmovilizado o compañero de unión se reducirá. Dicho método y kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH puede ser ventajoso al aliviar problemas que puedan asociarse con el receptor de TSH cuando se inmoviliza en una superficie.

También puede emplearse de forma útil en la terapia un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Por lo tanto, se proporcionan además por la presente divulgación métodos de tratamiento que comprenden la administración de un compañero de unión específico sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, composiciones farmacéuticas que comprenden un compañero de unión específico sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento (junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables para el mismo), y uso de un compañero de unión específico sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento en la fabricación de un medicamento o composición, en particular un medicamento o composición para su uso en la estimulación del tejido tiroideo y/o tejido que contiene un receptor de TSH. En particular, un compañero de unión específico de acuerdo con la presente invención puede emplearse en oncología, y en particular para su uso en el diagnóstico, control y tratamiento del cáncer tiroideo.

En consecuencia, la invención proporciona el uso de un anticuerpo monoclonal o recombinante de acuerdo con la reivindicación 29 o 30.

La invención también proporciona una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 28, y también combinaciones de acuerdo con la reivindicación 31, 32 y 33.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención incluyen las adecuadas para administración oral, parenteral y tópica, aunque la vía más adecuada dependerá generalmente de la afección de un paciente y la enfermedad específica que se trate. La cantidad precisa de un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento para administrar a un paciente será la responsabilidad de un médico a cargo, aunque la dosis empleada dependerá de varios factores, incluyendo la edad y el sexo del paciente, la enfermedad específica que se trate y la vía de administración sustancialmente como se ha descrito anteriormente.

Se proporciona además por la presente divulgación un método para estimular el tejido tiroideo y/o tejido que contenga un receptor de TSH, comprendiendo dicho método administrar a un paciente que necesite dicha estimulación una cantidad diagnóstica o terapéuticamente eficaz de un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La presente divulgación también proporciona en combinación un compañero de unión sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento, junto con uno o más agentes adicionales capaces de estimular el tejido tiroideo, y/o tejido que contiene un receptor de TSH, para su uso simultáneo, separado o secuencial en la estimulación del tejido tiroideo y/o tejido que contiene un receptor de TSH. Preferentemente el o los agentes adicionales comprenden TSH humana recombinante y/o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de la misma, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos. Como alternativa, el o los agentes adicionales pueden actuar independientemente de la unión con el receptor de TSH.

Se proporcionan las siguientes explicaciones ilustrativas para facilitar el entendimiento de ciertos términos usados en el presente documento. Las explicaciones se proporcionan por conveniencia y no son limitantes de la invención.

COMPAÑERO DE UNIÓN, o MIEMBRO DE UNIÓN, PARA UN RECEPTOR DE TSH, describe una molécula que tiene una especificidad de unión para el receptor de TSH. Un compañero de unión o miembro de unión como se describe en el presente documento puede derivarse de forma natural o producirse de forma parcial o completamente sintética. Dicho compañero de unión o miembro de unión tiene un dominio o región que se une específicamente con y es por tanto complementario de una o más regiones epitópicas de un receptor de TSH.

El DOMINIO C indica una región de secuencia de aminoácidos relativamente constante en moléculas de anticuerpo.

CDR indica regiones determinantes de complementariedad que están presentes en cadenas tanto pesadas como ligeras de moléculas de anticuerpo y representan regiones de mayor variabilidad de secuencia. Las CDR representan aproximadamente del 15 al 20 % de dominios variables y representan los sitios de unión a antígeno de un anticuerpo.

FR indica regiones marco conservadas y representan el resto de los dominios ligeros variables y dominios pesados variables no presentes en las CDR.

HC indica parte de una cadena pesada de una molécula de anticuerpo que comprende el dominio variable de cadena pesada y el primer dominio de una región constante de IgG.

La CÉLULA HOSPEDADORA es una célula que se ha transformado o transfectado, o puede transformarse o transfectarse por una secuencia polinucleotídica exógena.

5 La IDENTIDAD, como se conoce en la técnica, es la relación entre dos o más secuencias polipeptídicas, o dos o más secuencias polinucleotídicas, como se determina comparando las secuencias.

LC indica una cadena ligera de una molécula de anticuerpo.

10 La ESTIMULACIÓN DE UN RECEPTOR DE TSH por un compañero de unión o miembro de unión como se describe en el presente documento indica la capacidad del compañero de unión o miembro de unión para unirse con un receptor de TSH y para efectuar de este modo, por ejemplo, la producción de AMP cíclico como resultado de dicha unión con el receptor de TSH. Dicha estimulación es análoga a las respuestas vistas en la unión de TSH o autoanticuerpos del receptor de TSH, con un receptor de TSH y de esta manera un compañero de unión o miembro de unión como se describe en el presente documento imita el efecto de la unión de TSH, o autoanticuerpo del receptor de TSH, con un receptor de TSH.

El DOMINIO V indica una región de secuencia de aminoácidos altamente variable en moléculas de anticuerpo.

20 El DOMINIO V_H indica regiones o dominios variables en cadenas pesadas de moléculas de anticuerpo.

El DOMINIO V_L indica regiones o dominios variables en cadenas ligeras de moléculas de anticuerpo.

La presente invención se ilustrará ahora por las siguientes Figuras y Ejemplos, que no limitan el alcance de la invención de ninguna manera.

25 La Figura 1 enumera los aminoácidos 1 a 200 de (en el siguiente orden) receptores de TSH humanos, porcinos, bovinos, felinos, caninos, murinos, de rata y ovinos.

30 La Figura 2 enumera las bases nucleotídicas 1 a 300 que codifican regiones de (en el siguiente orden) receptores de TSH felinos, bovinos, caninos, murinos, porcinos, de rata, bovinos y humanos.

La Figura 3 enumera los aminoácidos 200 a 300 de (en el siguiente orden) receptores de TSH humanos, porcinos, bovinos, felinos, caninos, murinos, de rata y ovinos.

35 La Figura 4 enumera las bases nucleotídicas 700 a 899 que codifican regiones de (en el siguiente orden) receptores de TSH felinos, bovinos, caninos, murinos, porcinos, de rata, ovinos y humanos.

40 La Figura 5 enumera los aminoácidos 250 a 449 de (en el siguiente orden) receptores de TSH humanos, porcinos, bovinos, felinos, caninos, murinos, de rata y ovinos. Las secuencias BTSHR.PRO y CTSHR.PRO son un aminoácido más cortas que las otras secuencias de TSHR enumeradas en la Figura, y "x" se incluye para fines de alineamiento.

45 La Figura 6 enumera las bases nucleotídicas 750 a 1100 que codifican regiones de (en el siguiente orden) receptores de TSH felinos, bovinos, caninos, murinos, porcinos, de rata, ovinos y humanos. Las secuencias VACA.SEQ y GATO SEQ son tres nucleótidos más cortas que las otras secuencias de TSHR enumeradas en la Figura, y se incluye "NNN" para fines de alineamiento.

50 La Figura 7 enumera los aminoácidos 350 a 500 de (en el siguiente orden) receptores de TSH humanos, porcinos, bovinos, felinos, caninos, murinos, de rata y ovinos. Las secuencias BTSHR.PRO y CTSHR.PRO son un aminoácido más cortas que las otras secuencias de TSHR enumeradas en la Figura, y "x" se incluye para fines de alineamiento.

La Figura 8 enumera las bases nucleotídicas 1100 a 1299 que codifican regiones de (en el siguiente orden) receptores de TSH felinos, bovinos, caninos, murinos, porcinos, de rata, ovinos y humanos.

55 La Figura 9 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 4D7.

60 La Figura 10 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 4D7, mostrando la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 10 a 115), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 104) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 116 a 200).

La Figura 11 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 4D7.

65 La Figura 12 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 4D7, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 111), las CDR (concretamente los números de

aminoácidos de CDR1 24 a 38, los números de aminoácidos de CDRII 54 a 60 y los números de aminoácidos de CDRIII 93 a 101) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 112 a 211).

La Figura 13 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 16E5.

La Figura 14 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 16E5, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 120), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, Los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 109) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 121 a 205).

La Figura 15 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 16E5.

La Figura 16 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 16E5, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 107), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 34, Los números de aminoácidos de CDRII 50 a 56 y los números de aminoácidos de CDRIII 89 a 97) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 108 a 207).

La Figura 17 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 17D2.

La Figura 18 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 17D2, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 120), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 109) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 121 a 205).

La Figura 19 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 17D2.

La Figura 20 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 17D2, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 107), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 34, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 56 y los números de aminoácidos de CDRIII 89 a 97) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 108 a 207).

La Figura 21 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 14D3.

La Figura 22 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 14D3, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 120), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 109) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 121 a 205).

La Figura 23 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 14D3.

La Figura 24 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 14D3, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 107), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 34, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 56 y los números de aminoácidos de CDRIII 89 a 97) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 108 a 207).

La Figura 25 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 4D7 como se muestra en la Figura 9.

La Figura 26 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 4D7 como se muestra en la Figura 9, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 10.

La Figura 27 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 4D7 como se muestra en la Figura 11.

La Figura 28 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 4D7 como se muestra en la Figura 11, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 12.

La Figura 29 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 16E5 como se muestra en la Figura 13.

La Figura 30 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 16E5 como se muestra en la Figura 13, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 14.

La Figura 31 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 16E5 como se muestra en la Figura 15.

5 La Figura 32 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 16E5 como se muestra en la Figura 15, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 16.

10 La Figura 33 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 17D2 como se muestra en la Figura 17.

La Figura 34 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 17D2 como se muestra en la Figura 17, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 18.

15 La Figura 35 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 17D2 como se muestra en la Figura 19.

20 La Figura 36 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 17D2 como se muestra en la Figura 19, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 20.

La Figura 37 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 14D3 como se muestra en la Figura 21.

25 La Figura 38 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 14D3 como se muestra en la Figura 21, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 22.

30 La Figura 39 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 14D3 como se muestra en la Figura 23.

35 La Figura 40 enumera las bases nucleotídicas que codifican aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 14D3 como se muestra en la Figura 23, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 24.

La Figura 41 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3B3.

40 La Figura 42 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3B3, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 8 a 112), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 101) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 113 a 196).

La Figura 43 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3B3

45 La Figura 44 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3B3, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 111), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 38, los números de aminoácidos de CDRII 54 a 60 y los números de aminoácidos de CDRIII 93 a 101) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 112 a 211).

50 La Figura 45 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3C7.

55 La Figura 46 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3C7, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 10 a 115), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 104) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 116 a 200).

La Figura 47 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3C7

60 La Figura 48 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3C7, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 111), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 38, los números de aminoácidos de CDRII 54 a 60 y los números de aminoácidos de CDRIII 93 a 101) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 112 a 211).

65 La Figura 49 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 2B4.

La Figura 50 enumera los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 2B4, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 122), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 31 a 35, los números de aminoácidos de CDRII 50 a 66 y los números de aminoácidos de CDRIII 99 a 111) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 123 a 207).

La Figura 51 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 2B4

La Figura 52 enumera los aminoácidos de la cadena ligera de 2B4, que muestran la región o dominio variable (concretamente los números de aminoácidos 9 a 112), las CDR (concretamente los números de aminoácidos de CDR1 24 a 39, los números de aminoácidos de CDRII 55-61 y los números de aminoácidos de CDRIII 94 a 102) y la región o dominio constante (concretamente los números de aminoácidos 113 a 212).

La Figura 53 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3B3 como se muestra en la Figura 41.

La Figura 54 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3B3 como se muestra en la Figura 41, y muestran las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 42.

La Figura 55 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3B3 como se muestra en la Figura 43.

La Figura 56 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3B3 como se muestra en la Figura 43, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 44.

La Figura 57 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3C7 como se muestra en la Figura 45.

La Figura 58 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 3C7 como se muestra en la Figura 45, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 46.

La Figura 59 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3C7 como se muestra en la Figura 47.

La Figura 60 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 3C7 como se muestra en la Figura 47, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 48.

La Figura 61 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 2B4 como se muestra en la Figura 49.

La Figura 62 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena pesada (HC) de 2B4 como se muestra en la Figura 49, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 50.

La Figura 63 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 2B4 como se muestra en la Figura 51.

La Figura 64 enumera las bases nucleotídicas que codifican los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 2B4 como se muestra en la Figura 51, y muestra las bases nucleotídicas que codifican la región o dominio variable, las CDR y la región o dominio constante como se muestra en la Figura 52.

Más específicamente las Figuras 1 a 8 ilustran lo siguiente:

La Figura 1 enumera los aminoácidos 1 a 200 del receptor de TSH en las especies anteriormente mencionadas, que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos empleadas en la presente divulgación:

aminoácidos 22 a 91 de un receptor de TSH,
aminoácidos 32 a 41 de un receptor de TSH, y
aminoácidos 36 a 42 de un receptor de TSH.

La Figura 2 enumera las bases nucleotídicas 1 a 300 en la especie anteriormente mencionada, que incluyen regiones codificantes para las secuencias de aminoácidos anteriormente mencionadas presentes en la Figura 1.

La Figura 3 enumera los aminoácidos 200 a 300 de receptores de TSH en la especie anteriormente mencionada, que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos empleadas en la presente invención:

aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH, y
aminoácidos 247 a 260 de un receptor de TSH.

La Figura 4 enumera las bases nucleotídicas 700 a 899 en la especie anteriormente mencionada, que incluyen regiones codificantes para las secuencias de aminoácidos anteriormente mencionadas presentes en la Figura 3.

La Figura 5 enumera los aminoácidos 250 a 449 de receptores de TSH en las especies anteriormente mencionadas, que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos empleadas en la presente divulgación:

aminoácidos 260 a 363 de un receptor de TSH; y
aminoácidos 277 a 296 de un receptor de TSH.

La Figura 6 enumera las bases nucleotídicas 750 a 1100 en la especie anteriormente mencionada, que incluyen regiones codificantes para las secuencias de aminoácidos anteriormente mencionadas presentes en la Figura 5.

La Figura 7 enumera los aminoácidos 350 a 500 del receptor de TSH en las especies anteriormente mencionadas, que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos empleadas en la presente divulgación:

aminoácidos 380 a 418 de un receptor de TSH; y
aminoácidos 381 a 385 de un receptor de TSH.

La Figura 8 enumera las bases nucleotídicas 1100 a 1299 en la especie anteriormente mencionada, que incluyen regiones codificantes para las secuencias de aminoácidos anteriormente mencionadas presentes en la Figura 7.

Ejemplo 1

(1) Producción de anticuerpos monoclonales de ratón para el receptor de TSH

Se inmunizaron ratones BALB/c con una forma madura recombinante, altamente purificada del receptor de TSH expresado en células CHO. [Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies". Thyroid 2000 10(12): 1051-1059]. También se indujeron anticuerpos de ratón por técnica de inmunización de ADN con ADNc de TSHR humano de longitud completa clonado en pcDNA3.1. Se clonaron MAB usando técnicas convencionales y se purificaron IgG de sobrenadantes de cultivo mediante cromatografía de afinidad en proteína A Sepharose. La reactividad de los MAB con el receptor de TSH se ensayó mediante (a) transferencia de Western con receptores parcialmente purificados, (b) inhibición de la unión de TSH con el receptor de TSH y (c) inmunoprecipitación de receptores de TSH marcados con ³⁵S producidos en un sistema de transcripción/traducción *in vitro* como se describe en Y Oda, J Sanders, S Roberts, M Maruyama, R Kato, M Perez, V B Peteresen, N Wedlock, J Furmaniak, B Rees Smith "Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor". Journal of Molecular Endocrinology 1998 20: 233-244.

(2) Inhibición de la unión de ¹²⁵I-TSH con el receptor de TSH

La inhibición de la unión de ¹²⁵I-TSH con el receptor de TSH se analizó en un ensayo en el que se preincubaron 50 µl de receptor de TSH solubilizado en detergente con 50 µl de MAB purificado como se ha descrito en la etapa (1) durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 100 µl de ¹²⁵I-TSH (30.000 cpm) seguido de incubación a 37 °C durante una hora. Los complejos de ¹²⁵I-TSH/receptor de TSH se precipitaron mediante adición de 2 ml de polietilenglicol 16,5 % y 25 µl de suero de donante de sangre sano, se centrifugaron a 1500 xg durante 30 minutos a 4 °C, se aspiraron y se contó la radiactividad de los sedimentos usando técnicas conocidas.

Los MAB denominados: MAB 2B4 (a concentración de IgG de 5 µg/ml), Mab 8E2 (a concentración de IgG de 1 µg/ml) y Mab 18C5 (a concentración de IgG de 1 mg/ml) mostraron 76 %, 38 % y 91 % de inhibición de la unión de TSH, respectivamente. Se produjeron fragmentos Fab de IgG Mab 2B4, Mab 8E2 y Mab 18C5 mediante digestión con L-cisteína/papaína o pepsina, seguido de la separación de Fc y Fab en columna de Proteína A.

(3) Reconocimiento de epítomos por MAB

El análisis de transferencia de Western [Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies." Thyroid 2000 10(12): 1051-1059] mostró que el MAB 2B4 se unía con un epítomo entre los aminoácidos (aa) 380 y 418, el MAB 8E2 con un epítomo entre los aa 22 y 91 y el MAB 18C5 con un epítomo entre los aa 246 y 260 de la secuencia del receptor de TSH. El análisis con péptidos del receptor de TSH solapantes que abarcan estas regiones [Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B

Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies." Thyroid 2000 10(12): 1051-[1059] mostró que el MAb 2B4 reaccionó con los aa 381 a 385, el MAb 8E2 con los aa 36 a 42 y el MAb 18C5 con los aa 247 a 260.

5 (4) Preparación de receptor de TSH marcado con ¹²⁵I

Se marcaron preparaciones solubilizadas del receptor de TSH con ¹²⁵I por medio de MAb marcado con ¹²⁵I (4E31) que reacciona con el extremo C terminal del receptor de TSH preparado como se ha descrito en J Sanders, Y Oda, S Roberts, A Kiddie, T Richards, J Bolton, V McGrath, S Walters, D Jaskolski, J Furmaniak, B Rees Smith "The interaction of TSH receptor autoantibodies with 125I-labelled TSH receptor". Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1999 84(10): 3797-3802. Se incubaron alícuotas de 4E31 F(ab)₂ marcado con ¹²⁵I durante 15 minutos a temperatura ambiente con receptor de TSH solubilizado y después se usaron en un ensayo de inmunoprecipitación como se describe en la etapa (5).

15 (5) Inhibición de la unión del autoanticuerpo del receptor de TSH (TRAb) con el receptor de TSH por MAb

La inhibición de la unión de TRAb con el receptor de TSH por MAb se ensayó de la siguiente manera:

se preincubaron 10 µl del receptor de TSH marcado con ¹²⁵I (30.000 cpm) preparado en la etapa (4) con 20 µl de Fab 2B4 (5 y 10 mg/ml) durante 15 minutos a temperatura ambiente seguido de incubación con 20 µl de suero de paciente positivo para TRAb durante una hora a temperatura ambiente. Se añadieron después 50 µl de Proteína A en fase sólida (un reactivo anti IgG humano) y la incubación continuó durante una hora a temperatura ambiente seguido de etapa de lavado y centrifugación a 1500 xg a 4 °C durante 30 minutos; aspiración y recuento de la radiactividad de los sedimentos. Se llevaron a cabo experimentos similares con Fab 8E2 y 18C5 y la combinación de dos Fab juntos.

Resultados del ejemplo 1

Los resultados de la inhibición de la unión de TRAb con el receptor de TSH se muestran en la Tabla 1.

Ejemplo 2

Métodos

35 (1) Producción de anticuerpos monoclonales de ratón para el receptor de TSH

Se inmunizaron ratones BALB/C con una forma madura recombinante, altamente purificada del receptor de TSH expresado en células CHO (Y. Oda, J. Sanders, M. Evans, A. Kiddie, A. Munkley, C. James, T. Richards, J. Wills, J. Furmaniak, B. Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies" Thyroid 2000 10(12): 1051-1059). También se indujeron anticuerpos de ratón mediante técnicas de inmunización de ADN con ADNc de TSHR humano de longitud completa clonado en pRC/CM.1. Se clonaron MAb usando técnicas convencionales y se purificaron IgG de sobrenadantes de cultivo por cromatografía de afinidad en Proteína A Sepharose.

45 Se produjeron fragmentos (Fab)₂ a partir de los MAb IgG por digestión con pepsina seguido de cromatografía en una columna de afinidad de Proteína A como se describe en Y. Oda, J. Sanders, S. Roberts, M. Maruyama, R P Kato, M. Perez, V B Petersen, N. Wedlock, J. Furmaniak, B. Rees Smith 1998 "Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor". Journal of Molecular Endocrinology 20: 233-244.

50 Se prepararon fragmentos Fab por digestión de los MAb purificados con papaína como se describe en E. Hendry, G. Taylor, F. Grennan-Jones, A. Sullivan, N. Liddy, J. Godfrey, N. Hayakawa, M. Powell J. Furmaniak, B Rees Smith 2001 "X-ray crystal structure of a monoclonal antibody that binds to a major autoantigenic epitope on thyroid peroxidase." Thyroid 11(12): 1091-1099.

55 Se ensayó la reactividad de MAb con el receptor de TSH mediante (a) transferencia de western con receptores parcialmente purificados, (b) inhibición de la unión de TSH con el receptor de TSH y (c) inmunoprecipitación de receptor de TSH marcados con ³⁵S producidos en un sistema de transcripción/traducción *in vitro* como se describe en Y. Oda, J. Sanders, S. Roberts, M. Maruyama, R. Kato, M. Perez, V B. Petersen, N. Wedlock, J. Furmaniak, B. Rees Smith "Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor" Journal of Molecular Endocrinology 1998 20: 233-244.

(2) Inhibición de la unión de ¹²⁵I-TSH con el receptor de TSH

(a) método de PEG para su uso con TSHR solubilizado en detergente

La inhibición de la unión de ^{125}I -TSH con receptor de TSH solubilizado en detergente se analizó en un ensayo en el que se preincubaron 50 μl de MAb purificado como se ha descrito en los Métodos (1) anteriores con receptor durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 100 μl de ^{125}I TSH (30.000 cpm) seguido de incubación a 37 °C durante una hora. Los complejos de ^{125}I y TSH y receptor de TSH se precipitaron mediante la adición de 2 ml de polietilenglicol 16,5 % y 25 μl de suero de donante de sangre sano, se centrifugaron a 1500 xg durante 30 minutos a 4 °C, se aspiraron y la radiactividad de los sedimentos se contó en un contador gamma.

(b) Métodos que usan tubos recubiertos con TSHR

En este procedimiento, se recubren en primer lugar tubos de plástico con un MAb tal como 4E31 que se une con una parte del TSHR no relacionada con la unión con TSH o TRAb. Después se añadieron preparaciones de TSHR solubilizado en detergente, se capturaron por el MAb de TSHR y después se inmovilizaron en la superficie del tubo de tal manera que fueran capaces de unirse con TSH o TRAb. En particular, el MAb 4E31 reactivo con el extremo C terminal de TSHR (preparación de F(ab)_2 10 $\mu\text{g/ml}$ en Na_2CO_3 0,1 M pH 9,2) se añadió a tubos de plástico (Nunc Maxisorp, 200 μl por tubo) y se permitió que se produjera el recubrimiento durante una noche a 4 °C. Después de lavar y después del recubrimiento (albúmina de suero bovino 10 mg/ml) los tubos se lavaron de nuevo con tampón de ensayo (Tris-HCl 10 mM pH 7,8, NaCl 50 mM, albúmina de suero bovino 1 mg/ml, Tritón X-100 0,1 %). Se añadieron después 200 μl de una preparación de TSHR solubilizado en detergente y se incubó durante una noche a 4 °C seguido de etapas de aspiración y lavado. A continuación, se añadieron 20 μl de tampón "de partida" (Tris-HCl 10 mM pH 7,8, NaCl 50 mM, albúmina de suero bovino 1 mg/ml, NaN_3 6 mM, Tritón X-100 1 %) a los tubos recubiertos con TSHR seguido de 100 μl de Mab IgG purificado o suero de paciente y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas con agitación suave. Después de aspirar, los tubos se lavaron dos veces con 1 ml de tampón de ensayo antes de la adición de 100 μl de ^{125}I -TSH (80.000 cpm) e incubación a temperatura ambiente durante 20-60 minutos con agitación. Los tubos se lavaron después dos veces con 1 ml de tampón de ensayo, se aspiraron y se contaron en un contador gamma.

(3) Análisis de actividades estimulantes o bloqueadoras de tiroides de MAb.

La capacidad de los MAb para estimular la producción de AMP cíclico en células de tiroides porcinas aisladas (actividad estimulante de tiroides) o para actuar como antagonistas de la TSH bloqueando la estimulación de TSH de AMP cíclico (actividad de bloqueo) se evaluó usando reactivos de Yamasa Corporation, Tokio, Japón.

Además se analizó la capacidad de los MAb para estimular la producción de AMP cíclico en células de ovario de hámster Chino (CHO) que expresaban TSHR humano como se describe en M. Kita, L. Ahma, P. C. Mariani, H. Viase, P. Unger, P. N. Graves, T. F. Davies 1999 "Regulation and transfer of a murine model of thyrotropin receptor antibody mediated Graves' disease". *Endocrinology* 140: 1392-1398.

(4) Unión de MAb marcados con ^{125}I con el TSHR y efecto de TRAb

Se marcó la IgG purificada de dos de los MAb que mostraban actividad estimulante de tiroides (16E5 y 14D3, tabla 2) con ^{125}I seguido de separación de ^{125}I no incorporado por filtración en Sephadex G-50 como en (4) en el Ejemplo 1.

Se recubrieron tubos de plástico con preparaciones de TSHR como en 2b anterior. A continuación, se añadieron 100 μl de suero de ensayo (de donantes de sangre sanos o de pacientes con enfermedad de Graves) y los tubos se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación. Después de esta incubación, los tubos se lavaron 2 veces con tampón de ensayo. Después, se añadieron 100 μl de IgG 16E5 o 14D3 marcado con ^{125}I (30.000 cpm diluido en Tris-HCl 20 mM pH 7,3, NaCl 50 mM, albúmina de suero bovino 1 mg/ml, Tritón X-100 0,1 %) a los tubos y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Los tubos se lavaron después dos veces con el mismo tampón que se usó para diluir MAb marcados con ^{125}I y se contaron en un contador gamma.

(5) Unión de TSHR con tubos recubiertos con MAb y efecto de TRAb

Se incubaron 20 μl de preparaciones de TSHR solubilizado en detergente durante 1 hora a temperatura ambiente con 100 μl de suero de ensayo y 20 μl de tampón de partida (2b anterior). Después se añadieron 100 μl de esta mezcla a tubos de plástico recubiertos con MAb de TSHR (como en 2b anterior) y se incubaron durante 1 hora con agitación a temperatura ambiente. Después los tubos se aspiraron y se lavaron dos veces (2b anterior) y se añadieron 100 μl (30.000 cpm) de preparación de MAb F(ab)_2 4E31 de TSHR marcado en el extremo C terminal con ^{125}I marcada con ^{125}I como en 4 anterior. Después de incubación adicional durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación, los tubos se aspiraron, se lavaron dos veces y se contó la radiactividad con un contador gamma.

Se diseñaron cebadores oligonucleotídicos usando las secuencias que se han descrito previamente (Kettleborough C.A. *et al* "Optimization of primers for cloning libraries of mouse immunoglobulin genes using the polymerase chain reaction". *European Journal of Immunology* 1993 23: 206-211).

Los cebadores tanto con sentido como antisentido incluyeron secuencias de sitio de endonucleasa de restricción 5' adicionales para facilitar la clonación de los productos de PCR. Los productos de RT-PCR se clonaron en ADN pUC 18 preparado por el método de Qiagen (Qiagen) y se secuenciaron por el método de Sanger-Coulson.

5 Resultados del ejemplo 2

(1) La actividad estimuladora del tiroides de los MAb de TSHR se muestra en las tablas 2 y 3. Cuatro de los MAb (16E5, 14D3, 17D2 y 4D7) fueron capaces de estimular la producción de AMP cíclico en células del tiroides porcinas aisladas. Además cuando se ensayaron fragmentos Fab de tres de estos MAb, los tres estimularon también la producción de AMP cíclico (tabla 2). Para comparar, un suero de pacientes positivo para TRAb mostró niveles similares de estimulación a los MAb (tabla 2). Además, el MAb de TSHR 2B4 que tiene la capacidad de inhibir la unión de TSH con el TSHR fuertemente no inhibió la actividad estimuladora del tiroides (tabla 2). Otro MAb y Fab (3B3) de TSHR no estimuló la producción de AMP cíclico ni lo hizo el MAb Fab de Tg 2G2 (tabla 2).

En una serie de experimentos adicionales algunos de los MAb que fueron capaces de estimular las células tiroideas porcinas (16E5 y 14D3) se ensayaron con respecto a su capacidad para estimular la producción de AMP cíclico en células CHO que expresaban TSHR humano (tabla 3). Se obtuvieron resultados similares a los observados con células tiroideas porcinas.

(2) En presencia de suero de donantes de sangre sanos, el 16E5 marcado con ^{125}I unido a tubos recubiertos con TSHR está en el intervalo del 23 al 35 % de recuentos totales añadidos (tabla 4). En presencia de suero de pacientes con enfermedad de Graves (todos positivos para TRAb) la unión de 16E5 marcado con ^{125}I se redujo notablemente y estaba en el intervalo de 1,9 a 7,5 % (tabla 4).

Esto indicó que el suero de los pacientes con enfermedad de Graves con actividad de TRAb inhibe la unión del MAb de TSHR 16E5 con el TSHR. Se muestran experimentos adicionales con 16E5 marcado en la tabla 5, en la que hay una comparación de los efectos del suero de pacientes con enfermedad de Graves en (a) 16E5 marcado con ^{125}I en tubos recubiertos con TSHR y (b) la unión de TSH marcada con ^{125}I con tubos recubiertos con TSHR. Se llevaron a cabo experimentos similares a los mostrados en la tabla 5 con MAb de TSHR marcado con ^{125}I 14D3 y los resultados se muestran en la tabla 6.

Los efectos del suero de pacientes con enfermedad de Graves en la unión con el tubo recubierto con TSHR de 16E5, 14D3 o TSH marcado con ^{125}I fueron similares observándose inhibición fuerte de la unión en la mayoría de los casos (tablas 5 y 6). A diferencia del suero de pacientes con enfermedad de Graves, el suero de donantes de sangre sanos tuvo poco efecto en la unión de MAb marcado o TSH marcada con tubos recubiertos con TSHR (tabla 5 y 6). La tabla 7 muestra el efecto de los sueros que contienen autoanticuerpos distintos de los autoanticuerpos del TSHR en la unión con el tubo recubierto con TSHR de TSH, 16E5 y 14D3 marcado. Como se puede ver a partir de la tabla 7, los sueros que contienen autoanticuerpos para descarboxilasa de ácido glutámico (D1 y D2) o con 21-hidroxilasa (A1 y A2) no tuvieron ningún efecto en la unión de TSH o MAb. Sin embargo, el G42 del suero de un paciente con enfermedad de Graves mostró una inhibición fuerte, dependiente de dosis de la unión tanto de TSH como de MAb.

(3) Como se muestra en la tabla 8, los tubos de plástico recubiertos con MAb 16E5 fueron capaces de unirse con TSHR y esta unión se inhibió mediante suero de Graves que contenía autoanticuerpos de TSHR. En particular, la detección de la unión de TSHR por el MAb de TSHR marcado con ^{125}I 4E31 mostró que (a) en presencia de suero de donantes de sangre sanos, la unión de 4E31 marcado varió de 13,5 a 17,8 % de cpm total añadido mientras que (b) en presencia de suero de Graves, la unión de MAb marcado varió de 1,8 a 4,8 % de cpm total añadido. Se obtuvieron resultados similares con tubos de plástico recubiertos con MAb 14D3 (tabla 9).

45 Conclusiones

Los resultados mostrados en las tablas 2-9 muestran:

(a) que los inventores han producido MAb y fragmentos Fab de MAb de TSHR que pueden estimular células tiroideas aisladas de una manera similar a TRAb en suero del paciente y de una manera similar a TSH. Diferentes MAb muestran diferentes grados de actividad estimuladora.

(b) estos MAb pueden usarse en lugar de TSH marcada en ensayos para autoanticuerpos de TSHR (TRAb).

(c) que cuando los MAb recubren superficies de plástico, se pueden unir con preparaciones de TSHR. Esta inhibición se inhibe por TRAb en suero del paciente, proporcionando de este modo un nuevo tipo de ensayo de TRAb.

(d) la capacidad de los MAb para estimular el tiroides significa que son potencialmente útiles como alternativas a la TSH en aplicaciones *in vivo*.

Ejemplo 3

Inhibición de la unión de Fab 16E5- ^{125}I con el receptor de TSH solubilizado por MAb del receptor de TSH

Método

La inhibición de la unión del Fab 16E5-¹²⁵I con el receptor de TSH solubilizado en detergente se analizó en un ensayo en el que se incubaron 50 µl de Mab IgG (100 µg/ml) purificado como se ha descrito anteriormente con receptor durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 100 µl de Fab 16E5-¹²⁵I (30.000 cpm) seguido de incubación a temperatura ambiente durante 2 horas. Los complejos de Fab 16E5-¹²⁵I y receptor de TSH se precipitaron mediante la adición de 2 ml de polietilenglicol 16,5 % y 50 µl de suero de donante de sangre sano, se centrifugó a 1500 xg durante 30 minutos a 4 °C, se aspiró y se contó la radiactividad de los sedimentos en un contador gamma.

Los resultados se muestran en la Tabla 10. A partir de la Tabla 10 se puede ver que el Mab 4D7 (que se une con la región epitópica 246 a 260 y estimula células tiroideas aisladas) inhibe de forma bastante fuerte la unión del Fab 16E5 marcado con el receptor de TSH (inhibición del 24,2 %). Otros dos Mab, 3C7 y 18C5 también inhiben de forma bastante fuerte la unión de Fab 16E5 (inhibición del 17 y 15,7 % respectivamente) y también se unen con la región epitópica 246 a 260. Se observa inhibición débil o ausente con los otros Mab. Esto sugiere que la región epitópica 246 a 260 está implicada en la unión de 16E5 con el receptor de TSH. Como los otros Mab estimuladores 14D3 y 17D2 compiten bien con la unión de 16E5 con el receptor de TSH como se puede ver a partir de la Tabla 10, la región epitópica 246 a 260 probablemente también es importante para la unión del receptor de TSH con 14D3 y 17D2.

Tabla 1: Inhibición de la unión de TRAb en el suero de pacientes (K3) con el receptor de TSH por Fab Mab

	Suero K3 1/10	
	TSHR marcado inmunoprecipitado (%)	% de inhibición
Tampón	17,5	-
2B4 (5 mg/ml)	10,1	42
2B4 (10 mg/ml)	3,9	77,7
18C5 (5 mg/ml)	13,7	21,7
18C5 (10 mg/ml)	9,7	44
8E2 (5 mg/ml)	15,0	14,3
8E2(10 mg/ml)	13,0	25,7
2B4 + 18C5 (5 mg/ml)	5,7	67,4
18C5 + 8E2 (5 mg/ml)	12,4	29,1
2B4 + 8E2 (5 mg/ml)	8,1	53,7
TSH no marcada (2,94 mg/ml)	7,8	55,4
2B4 + 8E2 + 18C5 (3,3 mg/ml)	7,4	57,7

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que

A = ¹²⁵I-TSHR (cpm) inmunoprecipitado en presencia de suero de ensayo y Fab Mab de ensayo como porcentaje de cpm total de material añadido al tubo;

B = ¹²⁵I-TSHR (cpm) inmunoprecipitado en presencia de suero de ensayo y tampón de ensayo como un porcentaje de cpm total del material añadido al tubo

Los resultados anteriores muestran que:

(1) las secuencias del receptor de TSH que están implicadas en la unión del TSHR también están implicadas en la unión de TRAb;

(2) puede usarse Mab de ratón reactivo con estas secuencias eficazmente para inhibir la unión de TRAb con el receptor de TSH; y

(3) pueden usarse uno o más de los MAb reactivos con una o más de las secuencias del receptor de TSH anteriores para detectar y medir el TRAb.

Tabla 2: actividad estimulante del tiroides de los MAb de TSHR ensayados usando células tiroideas porcinas

Muestra de ensayo	Estimulación (%) ¹	Inhibición de la unión de TSH (%) ^{2,3}
IgG 16E5		
200 µg/ml	466	ne
20 µg/ml	332	83,3
2 µg/ml	269	73,6
0,2 µg/ml	157	ne
0,02 µg/ml	52	ne
IgG 14D3		
200 µg/ml	557	ne
20 µg/ml	351	76,4
2 µg/ml	323	61,0
0,2 µg/ml	227	ne
0,02 µg/ml	78	ne
IgG 17D2		
200 µg/ml	377	ne
20 µg/ml	207	81,3
2 µg/ml	134	73,7
IgG 4D7		
200 µg/ml	259	33 ⁴
20 µg/ml	31	ne
IgG^a 3B3		
200 µg/ml	34	30,7
20 µg/ml	37	6,1
IgG^a 2B4		
20 µg/ml	100	ne
2 µg/ml	116	69,9
Fab 3C7	1 mg/ml	45,2
Fab 4D7	1 mg/ml	48,6
16E5 Fab	200 µg/ml	53 ³
Fab 14D3	200 µg/ml	64 ⁵
Fab 17D2	200 µg/ml	45
Fab^a 3B3	200 µg/ml	66,5 ⁴
Fab^b 2G2	1 mg/ml	0
	200 µg/ml	0
Paciente positivo para TRAb	dil 1:2	65 ⁷
	dil 1:4	ne
Grupo de sueros de donantes de sangre sanos	29	0,6
Suero negativo para TRAb	70	0

Notas de la tabla 2

¹ Se diluyeron preparaciones de MAb IgG o Fab en el grupo de sueros de donantes de sangre sanos. La estimulación (%) se calculó como 100 x la relación de: AMP cíclico producido en presencia de la muestra de ensayo y AMP cíclico producido en presencia de un grupo de sueros de donantes de sangre sanos. Un nivel de estimulación de >180 % se evaluó como positivo, es decir este nivel de estimulación siempre fue superior al observado por sueros de donantes de sangre sanos individuales.

² La inhibición del nivel de unión de TSH de >10 % es positiva

³ Método = tubo recubierto

⁴ Inhibición ensayada a 250 µg/ml

⁵ Inhibición ensayada a 10 µg/ml

⁶ 2G2 es un MAb reactivo con tiroglobulina, es decir, no reactivo con el TSHR

⁷ Inhibición con suero no diluido

^a Los IgG 3B3 y 2B4 actúan como antagonistas de la TSH, es decir bloquean la capacidad de TSH para estimular la producción de AMP cíclico por células tiroideas porcinas aisladas.

ne = no ensayado a esta concentración

Tabla 3

Muestra de ensayo ¹	Estimulación (%) ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ^{3,4}
16E5 20 µg/ml	850	78,8 ⁵
14D3 20 µg/ml	908	71,8 ⁵
2B4 20 µg/ml	111	84,4
Paciente positivo para TRAb	850	65,0 ⁶
Grupo de sueros de donantes de sangre sanos	100	0

Notas de la tabla 3

¹ Todas las muestras se diluyeron 1:10 antes de la adición de células.

² La estimulación (%) se calculó como 100 x la relación de AMP cíclico producido en presencia de la muestra de ensayo y AMP cíclico producido en presencia de un grupo de sueros de donantes de sangre sanos.

³ El nivel de inhibición de la unión de TSH de >10 % es positivo.

⁴ Método = tubos recubiertos

⁵ Inhibición ensayada a 10 µg/ml

⁶ Ensayado con respecto a inhibición no diluido.

Tabla 4: Unión del MAb 16E5 marcado con ¹²⁵I con tubos recubiertos con TSHR y efecto de TRAb en sueros de pacientes

Material de Ensayo ¹	Inhibición de la unión de TSH (%) ²	¹²⁵ I-16E5 unido con tubos recubiertos con TSHR (% de recuentos totales añadidos)
G1	21	5,6
G2	22,7	6,5
G3	24,7	3,5
G4	22,7	6,0
G5	28,1	3,6
G6	29,4	2,5
G7	29,3	5,8
G8	39	1,9
G9	31,9	6,8
G10	34,8	5,4
G11	34,5	3,4
G12	35,3	4,2
G13	35,6	6,2
G14	36,9	2,8
G15	30,3	4,3
G16	35	2,2
G17	47,6	3,9
G18	44,3	3,4
G19	53,5	3,7
G20	59,2	7,5
G21	58,9	4,9
NPS	<14	27,5
NSF 1	<14	23,3

NSF 2	<14	30,2
NSF 3	<14	29,1
NSF 4	<14	22,8
NSF 5	<14	28,9
NSF 6	<14	31,0
NSF 7	<14	29,2
NSF 8	<14	35,3
NSF 9	<14	26,3
NSF 10	<14	25,2

Notas de la tabla 4:

¹ los sueros G1-G22 son de pacientes con enfermedad de Graves; los sueros NSF 1 - NSF 10 son de donantes de sangre sanos; NPS = grupo de sueros de donantes de sangre sanos

² La inhibición de la unión de TSH >14 % es positiva; se usó el método de PEG

Tabla 5: Efecto de los sueros de pacientes con enfermedad de Graves en la unión de ^{125}I -16E5 y la unión de ^{125}I -TSH con tubos recubiertos con TSHR

Material de ensayo ¹	^{125}I -16E5 unido con tubos recubiertos con TSHR (% de recuentos totales añadidos) ²	Inhibición de la unión de ^{125}I -16E5 (%) ^{2,3}	^{125}I -TSH unida con tubos recubiertos de TSHR (% de recuentos totales añadidos) ⁴	Inhibición de la unión de ^{125}I -TSH (%) ^{3,4}
G23	13,2	44,0	8,9	27,1
G28	5,8	75,4	3,8	68,5
G29	13,3	43,6	8,0	34,4
G30	9,2	61,0	5,3	56,9
G32	11,9	49,6	7,5	38,4
G36	15,5	34,3	10,1	17,5
G38	16,1	31,8	10,0	18,3
G41	17,8	24,6	10,8	11,4
G43	5,9	75,0	4,0	67,2
G44	18,6	21,2	12,4	negativo
G45	5,1	78,4	3,5	71,0
G46	3,8	83,9	2,7	77,9
G47	7,2	69,5	4,3	64,8
G48	6,9	70,8	4,8	60,8
G49	9,1	61,4	6,1	49,6
G50	8,7	63,1	6,3	48,4
G51	11,9	49,6	7,9	35,2
G52	12,3	47,9	7,4	39,0
NSF 4	23,0	2,6	12,5	negativo
NSF 5	25,3	negativo	12,3	negativo
NSF 10	22,4	5,1	12,5	negativo
NSF 16	23,3	1,3	12,0	1,8
NSF 17	24,2	negativo	11,5	5,3

NSF 18	19,9	15,7	11,2	8,0
NSF 20	21,5	8,9	12,3	negativo
NSF 21	23,3	1,3	12,3	negativo
NSF 22	24,5	negativo	12,4	negativo
NSF 26	26,5	negativo	12,8	negativo

Notas de la tabla 5:

¹ Los sueros G53-G52 son de pacientes con enfermedad de Graves; los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² la unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos fue del 23,6 % para ¹²⁵I-16E5

³ la inhibición de la unión se calculó usando la fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que A = unión en presencia de suero de ensayo;

B = unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos

⁴ la unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos fue del 12,2 % para ¹²⁵I-TSH.

Tabla 6: Unión del MAb 14D3 marcado con ¹²⁵I con tubos recubiertos con TSHR y efecto de TRAb en sueros de pacientes

Material de ensayo ¹	¹²⁵ I-14D3 unido con tubos recubiertos con TSHR (% de recuentos totales añadidos) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-14D3 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH unido con tubos recubiertos de TSHR (% de recuentos totales añadidos) ⁴	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-TSH (%) ^{3,4}
G23	13,9	20	8,9	26,6
G24	11,3	35	6,9	43,4
G25	14,1	19	7,2	40,5
G26	7,3	58	2,6	78,3
G27	12,3	29,7	7,3	40,1
G28	8,0	54,4	3,8	68,3
G29	13,2	24,4	8,0	34,0
G30	12,5	28,4	5,3	56,6
G31	9,8	44	4,3	64,3
G32	11,4	34,8	7,5	38,0
G33	12,7	27,2	6,1	49,9
G34	10,9	37,5	7,5	37,8
G35	9,8	43,6	4,3	64,6
G36	13,5	22,8	10,1	16,9
G37	11,9	31,6	9,3	23,4
G38	11,3	35,4	10,0	17,6
G39	12,3	29,5	7,9	34,8
G40	9,8	44,0	7,2	40,9
G41	14,0	19,8	10,8	10,7
NSF 4	17,4	0,3	12,5	negativo
NSF 5	16,5	9,1	12,3	negativo
NSF 10	17,6	negativo	12,5	negativo

NSF 16	17,7	negativo	12,0	1,1
NSF 17	17,0	2,7	11,5	4,6
NSF 18	16,6	8,6	11,2	7,3
NSF 20	18,3	negativo	12,3	negativo
NSF 21	16,8	3,6	12,3	negativo
NSF 22	16,3	6,7	12,4	negativo
NSF 26	18,4	negativo	12,8	negativo

Notas de la tabla 6:

¹ Los sueros G23-41 son de pacientes con enfermedad de Graves; los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² la unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos fue del 17,4 % para ¹²⁵I-14D3

³ la inhibición de la unión se calculó usando la fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que A = unión en presencia de suero de ensayo;

B = unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos

⁴ la unión media en presencia de sueros de donantes de sangre sanos fue del 12,1 % para ¹²⁵I-TSH.

Tabla 7: Efecto de sueros de diversos pacientes en la unión con el tubo recubierto con TSHR de TSH, 16E5 y 14D3 marcados

Muestra de ensayo	% de inhibición de la unión con tubos recubiertos con TSHR ² usando:		
	¹²⁵ I-TSH	¹²⁵ I-16E5	¹²⁵ I-14D3
G42/5	87	71	77
G42/10	82	56	51
G42/20	70	34	24
D1/10	2	3	2
D1/100	-2	3	0
D2/10	1	1	-7
D2/100	-2	0	0
A1/10	-1	3	2
A1/100	-1	3	-1
A2/10	5	3	5
A2/100	1	3	1

Notas de la tabla 7:

¹ El suero G42 es de un paciente con enfermedad de Graves; los sueros D1 y D2 son de pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 (positivos para autoanticuerpos para ácido glutámico descarboxilasa); los sueros A1 y A2 son de pacientes con enfermedad de Addison (positivos para autoanticuerpos de esteroide 21-hidroxilasa). Todas las muestras de ensayos se diluyeron en un grupo de suero de donantes de sangre sanos y factor de dilución mostrado como /5, /10, /20 o /100.

² la inhibición de la unión se calculó usando la fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que A = unión en presencia de suero de ensayo;

B = unión media en presencia de un grupo de sueros de donantes de sangre sanos

Tabla 8: Efecto de los sueros de pacientes en la unión del TSHR con tubos recubiertos con F(ab)₂ 16E5

Material de ensayo ¹	TSHR marcado con ¹²⁵ I-4E31 unido con tubos recubiertos con F(ab) ₂ 16E5 (% de recuentos totales añadidos)	Inhibición de la unión ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ³
G43	1,8	91,4	72,3
G44	4,8	77,2	45,1
G45	3,0	85,6	71,8
G46	2,0	90,2	83,8
G47	1,8	91,4	75,3
NSF 10	17,8	-15	<14
NSF 17	14,8	4	<14
NSF 21	13,5	12	<14

Notas de la tabla 8:

¹ Los sueros G43-47 son de pacientes con enfermedad de Graves; los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² la inhibición de la unión se calculó usando la fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que A = unión de 4E31 en presencia de suero de ensayo; B = unión de 4E31 marcado media para sueros de donantes de sangre sanos (15,4 %)

³ La inhibición de la unión de TSH >14 % es positiva; se usó el método de PEG

Tabla 9: Efecto de los sueros de los pacientes en la unión del TSHR con tubos recubiertos con F(ab)₂ 14D3

Material de ensayo ¹	TSHR marcado con ¹²⁵ I-4E31 unido con tubos recubiertos con F(ab) ₂ 14D3 (% de recuentos totales añadidos)	Inhibición de la unión ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ³
Suero A	4,0	70	72
Suero B	6,9	49	40
Suero C	3,0	78	85
Suero D	2,6	81	80
NSF 5	15,1	-12	<14
NSF 17	14,6	-9	<14
NSF 21	12,0	10	<14
NSF 23	11,8	12	<14

Notas de la tabla 9:

¹ Los sueros A-D son de pacientes con enfermedad de Graves; los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² la inhibición de la unión se calculó usando la fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right)$$

en la que A = unión de 4E31 marcado en presencia de suero de ensayo;

B = unión de 4E31 marcado media para sueros de donantes de sangre sanos (15,4 %)

³ La inhibición de la unión de TSH >14 % es positiva; se usó el método de PEG

5

Tabla 10 Inhibición de la unión de Fab 16E5-¹²⁵I con TSHR por MAb de TSHR

IgG (100 µg/ml)	% de inhibición	Región epitópica (aa)
16E5	70,4	-
14D3	67,6	-
17D2	69,2	-

ES 2 466 377 T3

IgG (100 µg/ml)	% de inhibición	Región epitópica (aa)
2G2	negativo	Específica de tiroglobulina
5D6	negativo	22-41
8E2	negativo	22-41
4B5	7,1	22-41
10C4	negativo	37-56
10D5	negativo	37-71
4D2	negativo	37-71
2E2	negativo	52-71
1D6	negativo	202-221
7B5	negativo	202-221
16B6	negativo	202-221
3C3	11,2	202-236
4B4	negativo	217-236
4E4	negativo	217-236
8D3	negativo	217-236
6D7	negativo	217-236
18C5	15,7	246-260
3C7	17	246-260
4D7	24,2	246-260
3B3	8,8	277-296
5B5	negativo	307-326
4E6	negativo	307-326
6E2	negativo	322-341
9C2	negativo	322-341
6B4	negativo	337-356
3E4	negativo	337-371
3F3	negativo	352-371
3B2	negativo	352-371
7C2	negativo	367-386
2B4	negativo	381-385
3E6	5,4	381-385
8E3	4,8	381-385
7C4	negativo	381-385
1D5	4,2	381-385
4E2	negativo	381-385
3D3	negativo	382-401
2C4	negativo	382-401

ES 2 466 377 T3

IgG (100 µg/ml)	% de inhibición	Región epitópica (aa)
10C2	negativo	382-401
7E5	negativo	382-401

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, o un anticuerpo recombinante o fragmento del mismo que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, siendo dicho anticuerpo capaz de unirse con un receptor de TSH para estimular el receptor de TSH, que comprende:

una cadena pesada de anticuerpo (HC) seleccionada del grupo que consiste en:

una HC como se muestra en una cualquiera de las Figuras 14, 18 o 22; o una cadena pesada (HC) que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con las especificadas anteriormente; y/o una cadena ligera de anticuerpo (LC) seleccionada del grupo que consiste en:

una LC como se muestra en una cualquiera de las Figuras 16, 20 o 24; o una cadena ligera (LC) que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con las especificadas anteriormente.

2. Un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye tanto una cadena pesada (HC) como una cadena ligera (LC) como se ha especificado en la reivindicación 1.

3. Un anticuerpo o fragmento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, que comprenden una cadena pesada de anticuerpo (HC) como se muestra en la Figura 14 emparejada con una cadena ligera de anticuerpo (LC) como se muestra en la Figura 16 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende estas cadenas pesadas y ligeras para un receptor de TSH; o que comprende una cadena pesada de anticuerpo (HC) como se muestra en la Figura 18 emparejada con una cadena ligera de anticuerpo (LC) como se muestra en la Figura 20 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende estas cadenas pesadas y ligeras para un receptor de TSH; o que comprende una cadena pesada de anticuerpo (HC) como se muestra en la Figura 22 emparejada con una cadena ligera de anticuerpo (LC) como se muestra en la Figura 24 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende cadenas tanto pesadas como ligeras para un receptor de TSH; o pares de cadenas pesadas y ligeras que tienen al menos un 70 % de identidad de secuencia con las especificadas anteriormente.

4. Un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que la cadena pesada (HC) y/o la cadena ligera (LC) tienen al menos un 80 % de identidad de secuencia con las especificadas.

5. Un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2, 3 o 4, en el que la cadena pesada (HC) o la cadena ligera (LC) tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia con las especificadas.

6. Un anticuerpo monoclonal o fragmento que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, o un anticuerpo recombinante o fragmento del mismo que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, siendo dicho anticuerpo capaz de unirse con un receptor de TSH para estimular el receptor de TSH, que comprende un dominio V_H de anticuerpo que comprende:

un dominio V_H como se muestra en la Figura 14; o un dominio V_H como se muestra en la Figura 18; o un dominio V_H como se muestra en la Figura 22; y/o un dominio V_L de anticuerpo que comprende:

un dominio V_L como se muestra en la Figura 16; o un dominio V_L como se muestra en la Figura 20; o un dominio V_L como se muestra en la Figura 24.

7. Un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende un dominio V_H como se especifica en la reivindicación 6 y un dominio V_L como se especifica en la reivindicación 6.

8. Un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7 que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 14 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 16 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios V_H y V_L para un receptor de TSH; o que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 18 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 20 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios V_H y V_L para un receptor de TSH; o que comprende un dominio V_H de anticuerpo como se muestra en la Figura 22 emparejado con un dominio V_L de anticuerpo como se muestra en la Figura 24 para proporcionar un sitio de unión a anticuerpo, que comprende dominios tanto V_H como V_L para un receptor de TSH.

9. Un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, o un anticuerpo recombinante o fragmento del mismo que comprende un dominio Fab para un receptor de TSH, siendo dicho anticuerpo capaz de unirse con un receptor de TSH para estimular el receptor de TSH, que comprende: un dominio V_H de anticuerpo que comprende:

un dominio V_H que comprende las tres CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_H como se muestra en la Figura 14, o un dominio V_H que comprende las tres CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_H como se muestra en la Figura 18, o un dominio V_H que comprende las tres CDR V_H con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_H como se muestra en la Figura 22; y/o

un dominio V_L de anticuerpo que comprende:

un dominio V_L que comprende las tres CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_L como se muestra en la Figura 16, o un dominio V_L que comprende las tres CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_L como se muestra en la Figura 20, o un dominio V_L que comprende las tres CDR V_L con una secuencia de aminoácidos correspondiente a las CDR V_L como se muestra en la Figura 24.

10. Un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende un dominio V_H como se especifica en la reivindicación 9 y un dominio V_L como se especifica en la reivindicación 9.

11. Un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos de un anticuerpo o fragmento del mismo como se ha definido en cualquier reivindicación anterior, siendo dicho polinucleótido como se muestra en cualquiera de las Figuras 29 a 40.

12. Un método de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible de, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho método:

- (a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;
- (b) poner en contacto dicha muestra con

- (i) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítopos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítopos de un receptor de TSH, y
- (ii) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10;

para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítopos del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o con dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos; y

- (c) controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítopos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

13. Un método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho polipéptido comprende, consiste o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH; con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH, con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

14. Un método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dichos uno o más epítopos de un receptor de TSH comprenden, consisten o consisten esencialmente en lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH.

15. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, que comprende proporcionar medios de marcaje para dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

16. Un método de acuerdo con la reivindicación 12 que comprende:

- (a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;
- (b) poner en contacto dicha muestra con

- (i) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítopos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítopos de un receptor de TSH, y

- (ii) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítopos

del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o con dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos; y

(c) controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra;

en el que dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos se inmovilizan directa o indirectamente en una superficie antes o después de la etapa (b).

17. Un método de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dicho polipéptido comprende, consiste o consiste esencialmente en parte de o toda la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de TSH con el que pueden interaccionar autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH, comprendiendo, consistiendo o consistiendo esencialmente dicho polipéptido en la conformación estructural primaria de lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;
con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH, con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

18. Un método de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dichos uno o más epítomos de un receptor de TSH comprenden, consisten o consisten esencialmente en lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH.

19. Un método de acuerdo con la reivindicación 16, que comprende proporcionar medios de marcaje para dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido.

20. Un kit de cribado de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible a, tiene o se recupera de una enfermedad autoinmunitaria asociada con una reacción inmunitaria a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH;

(b) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10;

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, y dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos, para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o con dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos; y

(d) medios para controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

21. Un kit de acuerdo con la reivindicación 20, en el que dicho polipéptido comprende, consiste o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;

con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH, con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

22. Un kit de acuerdo con la reivindicación 20, en el que dicho epítomo de un receptor de TSH comprende, consiste o consiste esencialmente en lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH.

23. Un kit de acuerdo con la reivindicación 20, que comprende medios de marcaje para dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

24. Un kit de acuerdo con la reivindicación 20, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos del mismo o un polipéptido que comprende uno o más epítomos de un receptor de TSH;

(b) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos, de acuerdo con una

cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10;

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, y dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos, para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interaccionen con autoanticuerpos para un receptor de TSH presentes en dicha muestra o con dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos;

(d) medios para inmovilizar directa o indirectamente dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos en una superficie, antes o después de poner en contacto dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos con dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto y dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido; y

(e) medios para controlar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando de este modo un indicio de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH en dicha muestra.

25. Un kit de acuerdo con la reivindicación 24, en el que dicho polipéptido comprende, consiste o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH;

con los que pueden interaccionar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de TSH, con la excepción de un receptor de TSH de longitud completa.

26. Un kit de acuerdo con la reivindicación 24, en el que dicho epítomo de un receptor de TSH comprende, consiste o consiste esencialmente en lo siguiente:

números de aminoácidos 246 a 260 de un receptor de TSH.

27. Un kit de acuerdo con la reivindicación 24, que comprende medios de marcaje para dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido.

28. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables para el mismo.

29. Uso de un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la preparación de un medicamento para uso en la estimulación de tejido tiroideo, o tejido que contiene un receptor de TSH.

30. Uso de un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmentos del mismo como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de tiroides.

31. En combinación un anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, junto con uno o más agentes adicionales capaces de estimular el tejido tiroideo, y/o tejido que contiene un receptor de TSH, para uso simultáneo, por separado o secuencial en la estimulación del tejido tiroideo y/o tejido que contiene un receptor de TSH.

32. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 31, en la que dichos uno o más agentes adicionales comprenden TSH humana recombinante y/o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de la misma, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos.

33. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 31, en la que dichos uno o más agentes adicionales actúan independientemente de la unión con un receptor de TSH.

	MRPTPLLQLALLLALPRSLGGKGCPSPPECHQEEDDFRVT	Mayoría
1	MRPADLLQLVLLLDLPRDLGGMGCSPPPECHQEEDDFRVT	HTSHR. PRO
1	MSLTPLLQLALVLALPRSLRGKGCPSPPECHQEEDDFRVT	PTSHR. PRO
1	MRPTPLLRLALFLVLPSSLGGERCPSPPECHQEEDDFRVT	BTSHR. PRO
1	MRQTPLLQLALLLSLPRSLGGKGCPSPPECHQEEDDFRVT	CTSHR. PRO
1	MRPPPLLHLALLLALPRSLGGKGCPSPPECHQEEDDFRVT	DTSHR. PRO
1	MRPGSLLLLVLLLALSRLRGKECASPPPECHQEEDDFRVT	MTSHR. PRO
1	MRPGSLLQLTLLLALPRSLWGRGCTSPPECHQEEDDFRVT	RTSHR. PRO
1	MRPTPLLRLALLLVLPSSLWGERCPSPPECHQEEDDFRVT	STSHR. PRO
	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	Mayoría
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKLIETHLRTIPSHAFSNLPNISR	HTSHR. PRO
41	CKDIHSIPPLPNTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	PTSHR. PRO
41	CKDIQSIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	BTSHR. PRO
41	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	CTSHR. PRO
41	CKDIHRIPTLPPSTQTLKFIETQLKTIPSRAFSNLPNISR	DTSHR. PRO
41	CKELHRIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	MTSHR. PRO
41	CKELHQIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	RTSHR. PRO
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	STSHR. PRO
	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPG	Mayoría
81	IYVSIDVTLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRNLTYIDPD	HTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESQSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYINPG	PTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	BTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPG	CTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTSIDPD	DTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPD	MTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHEIRNTRSLTYIDPD	RTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	STSHR. PRO
	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	Mayoría
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLKMFDPDLTKVYSTDIFFILEITD	HTSHR. PRO
121	ALKDLPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKVYSTDVFFILEITD	PTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD	BTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	CTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDVTKVYSTDVFFILEITD	DTSHR. PRO
121	ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDIFFILEITD	MTSHR. PRO

121	ALTELP LLKFLGIFNTGLRIFPDLT	KIYSTDVFFILEITD	RTSHR. PRO
121	ALKELP LLKFLGIFNTGLRVFPDLT	KIYSTDVFFILEITD	STSHRP. PRO
	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		Mayoría
161	NPYMTSIPVNAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGYAFNGT		HTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT		PTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		BTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		CTSHR. PRO
161	NPYMASIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		DTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT		MTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		RTSHR. PRO
161	NPYMTSVPANAFQGLSNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT		STSHRP. PRO

Fig 1

ATGAGGCCGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGCTGCTTCTCG		Mayoria
1	ATGAGGCCGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGTTACTTCTCT	GATO.SEQ
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGCTGGCGCTGTTTCTGG	VACA.SEQ
1	ATGAGGCCGCGCCCCCTGCTGCACCTGGCGCTGCTTCTCG	PERRO.SEQ
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTGCTGCTTGTCTGCTGCTCG	RATÓN.SEQ
1	ATGAGTCTGACGCCCCCTGTTGCAGCTGGCGCTCGTTCTCG	PTSHR.SEQ
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTCCAGCTCACTCTGCTGCTCG	RATA.SEQ
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGTTGGCGCTGCTTCTGG	OVEJA.SEQ
1	ATGAGGCCGCGCGGACTTGCTGCAGCTGGTGCTGCTGCTCG	HTSHR.SEQ
CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC		Mayoria
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	GATO.SEQ
41	TCCTGCCCAGCAGCCTCGGTGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	VACA.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCTTCTCC	PERRO.SEQ
41	CCCTGTCCAGGAGCCTGCGGGGCAAGAGTGTGCGTCTCC	RATÓN.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCAGGGGGAAAGGGGTGTCCGTCTCC	PTSHR.SEQ
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCTGGGGCAGAGGGTGTACTTCTCC	RATA.SEQ
41	TCCTGCCCAGCAGCCTCTGGGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	OVEJA.SEQ
41	ACCTGCCCAGGGACCTGGGCGGAATGGGGTGTTCGTCTCC	HTSHR.SEQ
GCCCTGCGAGTGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC		Mayoria
81	GCCCTGCGAGTGTCACCAGGAAGATGACTTCAGAGTCACC	GATO.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	VACA.SEQ
81	CCCCTGTGAGTGCCACCAGGAGGATGACTTCAGAGTCACC	PERRO.SEQ
81	ACCCTGTGAGTGTCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	RATÓN.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	PTSHR.SEQ
81	ACCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	RATA.SEQ
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	OVEJA.SEQ
81	ACCCTGCGAGTGCCATCAGGAGGAGGACTTCAGAGTCACC	HTSHR.SEQ
TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGCA		Mayoria
121	TGCAAGGATATTCACCGTATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	GATO.SEQ
121	TGCAAGGACATCCAGAGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA	VACA.SEQ
121	TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCACCCTACCAACCAGCA	PERRO.SEQ
121	TGCAAGGAGCTCCACCGAATCCCCAGCCTGCCGCCCAGCA	RATÓN.SEQ
121	TGCAAGGATATCCACAGCATCCCCCCTTACCACCCAATA	PTSHR.SEQ
121	TGCAAGGAACTCCACCAAATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	RATA.SEQ
121	TGCAAGGACATCCAGCGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA	OVEJA.SEQ
121	TGCAAGGATATTCAACGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGTA	HTSHR.SEQ
CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT		Mayoria
161	CGCAGACTCTGAAATTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	GATO.SEQ
161	CGCAGACCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	VACA.SEQ
161	CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCAGCTGAAAACCAT	PERRO.SEQ
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCATCTGAAGACCAT	RATÓN.SEQ
161	CTCAGACACTAAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	PTSHR.SEQ
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCACCTGAAGACCAT	RATA.SEQ
161	CGCAGACCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	OVEJA.SEQ
161	CGCAGACTCTGAAGCTTATTGAGACTCACCTGAGAACTAT	HTSHR.SEQ

FIG. 2

	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	Mayoría
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	GATO.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	VACA.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	PERRO.SEQ
201	ACCCAGTCCTTGCATTTTTCGAGTCTGCCCAATATTTCCAGG	RATÓN.SEQ
201	CCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	PTSHR.SEQ
201	TCCCAGTCCTTGCCTTTTTCGAGCCTGCCCAATATTTCCAGG	RATA.SEQ
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATTTGCCCAATATTTCCAGG	OVEJA.SEQ
201	TCCAAGTCATGCATTTTCTAATCTGCCCAATATTTCCAGA	HTSHR.SEQ
	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	Mayoría
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGACTGGAAT	GATO.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCAGCTGGAAT	VACA.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	PERRO.SEQ
241	ATCTATTTATCTATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAC	RATÓN.SEQ
241	ATCTACCTGTCAATAGATGCAACTCTACAGCAGCTGGAAT	PTSHR.SEQ
241	ATCTATCTATCCATAGATGCCACTCTGCAGCGACTGGAGC	RATA.SEQ
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCGACTTTGCAGCAACTGGAAT	OVEJA.SEQ
241	ATCTACGTATCTATAGATGTGACTCTGCAGCAGCTGGAAT	HTSHR.SEQ
	CACATTCCTTCTACAATTTG	Mayoría
281	CACATTCCTTCTACAATTTG	GATO.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	VACA.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	PERRO.SEQ
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	RATÓN.SEQ
281	CACAGTCCTTCTACAATTTG	PTSHR.SEQ
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	RATA.SEQ
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	OVEJA.SEQ
281	CACACTCCTTCTACAATTTG	HTSHR.SEQ

FIG. 2_{CONT.}

	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYSVT	Mayoría
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPSLLDVSQTSVT	HTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVFSGPTLLDVSYSVT	PTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIGQDAFAGVYSGPTLLDISYSVT	BTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFGGVYSGPTLLDVSYSVT	CTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLSAIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYSVT	DTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDNDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT	MTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPTLLDVSSTSVT	RTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYSVT	STSHRP. PRO
	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	Mayoría
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	HTSHR. PRO
240	ALPPKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	PTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSY	BTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLTLFLHLTRADLSY	CTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	DTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	MTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	RTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	STSHRP. PRO
	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	Mayoría
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	HTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	PTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILQSLM	BTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESFM	CTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	DTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	MTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESIM	RTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKNIRGILQSLM	STSHRP. PRO

Fig 3

	TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	Mayoría
700	TCTTACACCAGTGTCACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	GATO.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTACAGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	VACA.SEQ
700	TCTTACACCAGTGTTACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	PERRO.SEQ
700	TCTTCCACCAGCGTCACTGCCCTTCCTTCCAAAGGCCTGG	RATÓN.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTTACTGCCCTGCCACCCAAAGGCCTGG	PTSHR.SEQ
700	TCTTCCACCAGCGTTACTGCTCTTCCTTCCAAAGGCCTGG	RATA.SEQ
700	TCTTATACCAGTGTCACTGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	OVEJA.SEQ
700	TCTCAAACCAGTGTCACTGCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	HTSHR.SEQ
	AGCACCTGAAGGAAGTATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	Mayoría
740	AGCACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	GATO.SEQ
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	VACA.SEQ
740	AGCATCTAAAGGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	PERRO.SEQ
740	AGCACCTCAAAGAACTGATCGCAAAAGACACTTGGACTCT	RATÓN.SEQ
740	AACACCTGAAGGAAGTATAGCAAGAAATACTTGGACTCT	PTSHR.SEQ
740	AGCACCTCAAAGAGCTGATCGCAAGAACACTTGGACTCT	RATA.SEQ
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	OVEJA.SEQ
740	AGCACCTGAAGGAAGTATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	HTSHR.SEQ
	AAAGAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	Mayoría
780	AAAGAACTTCCACTTACCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	GATO.SEQ
780	AAGGAACTTCCCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	VACA.SEQ
780	AAAGAACTCCCACCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTTACA	PERRO.SEQ
780	CAAAAAGCTCCCGCTGTCGTTGAGTTTCCTTCACCTCACT	RATÓN.SEQ
780	AAAGAACTTCCACTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	PTSHR.SEQ
780	CAAAAAGCTCCCCCTGTCCTTGAGCTTTCCTTCACCTCACT	RATA.SEQ
780	AAAGAACTTCCCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	OVEJA.SEQ
780	TAAGAACTTCCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACA	HTSHR.SEQ
	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	Mayoría
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	GATO.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	VACA.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	PERRO.SEQ
820	CGGGCTGACCTCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	RATÓN.SEQ
820	CGAGCTGACCTTTCCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	PTSHR.SEQ
820	CGGGCTGACCTCTCTTACCCAAGTCACTGCTGTGCTTTTA	RATA.SEQ

820	CGGGCTGACCTTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTA	OVEJA.SEQ
820	CGGGCTGACCTTTCTTACCCAAGCCACTGCTGTGCCTTTA	HTSHR.SEQ
	AGAATCAGAAGAAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	Mayoría
860	AGAATCAGAAGAAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTCAT	GATO.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	VACA.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTAAT	PERRO.SEQ
860	AGAACCAGAAGAAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGAT	RATÓN.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	PTSHR.SEQ
860	AGAACCAGAAGAAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGAT	RATA.SEQ
860	AGAATCAGAAGAATATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	OVEJA.SEQ
860	AGAATCAGAAGAAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCCTTGAT	HTSHR.SEQ

Fig 4

	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	Mayoría
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	HTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	PTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	BTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	CTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	DTSHR. PRO
250	KELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	MTSHR. PRO
250	KELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	RTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYP SHCCAFKNQ	STSHRP. PRO

	KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFYQEYEED	Mayoría
290	KKIRGILESIMCNESSMQSLRQRKSVNALNSPLHQEYEEN	HTSHR. PRO
290	KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNAVNGPFYQEYEED	PTSHR. PRO
290	KKIRGILQSLMCNESSIRGLRQRKSASALNGPFYQEYEDX	BTSHR. PRO
290	KKIRGILESIMCNDSSIRSLRQRKSVNALNGPFDQEYEEY	CTSHR. PRO
290	KKIRGILESIMCNESSIRSLRQRKSVNTLNGPFDQEYEEY	DTSHR. PRO
290	KKIRGILESIMCNESSIRNLRQRKSVNLRGPIYQEYEED	MTSHR. PRO
290	KKIRGILESIMCNESSIRNLRQRKSVNVMRGVYQEYEEG	RTSHR. PRO
290	KNIRGILQSLMCNESSIWGLRQRKSASALNGPFYQEYEED	STSHRP. PRO

	LGDSSAGYKENSKEFQDTHSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQE	Mayoría
330	LGDSIVGYKEKSKFQDTHNNAHYVFFEEQEDEIIGFGQE	HTSHR. PRO
330	LGDTSVGNKENSKEFQDTHSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQE	PTSHR. PRO
330	LGDGSAGYKENSKEFQDTSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQQ	BTSHR. PRO
330	LGD SHAGYKDNSKFQDTRSN SHYVFFEEQXDEILGFGQE	CTSHR. PRO
330	LGD SHAGYKDNSQFQDTSN SHYVFFEEQEDEILGFGQE	DTSHR. PRO
330	PGDNSVGYKQNSKFQESPSN SHYVFFEEQEDEVVGFGE	MTSHR. PRO
330	LGDNHVGYKQNSKFQEGPSN SHYVFFEEQEDEIIGFGQE	RTSHR. PRO
330	LGDGSAGYKENSKEFQDTHSN SHYVFFEDQEDEIIGFGQE	STSHRP. PRO

	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	Mayoría
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTCGDSSEDMVCTPKSDEFNPCE	HTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	PTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	BTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE	CTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGNEDMVCTPKSDEFNPCE	DTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFESHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE	MTSHR. PRO

370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGDNEDMVCTPKSDEFNPCE	RTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDNHYDYTVCGGSEEMVCTPKSDEFNPCE	STSHRP. PRO
	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP	Mayoria
410	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLLILLTSHYKLNVP	HTSHR. PRO
410	DIMGYRFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP	PTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP	BTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLIILLTSHYKLTVP	CTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLIVLLTSHYKLTVP	DTSHR. PRO
410	DIMGYRFLRIVVWFVSLLALLGNIFVLLILLTSHYKLTVP	MTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIVVWFVSPMALLGNVFVLFVLLTSHYKLTVP	RTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIVVWFVSLLALLGNVFVLVILLTSHYKLTVP	STSHRP. PRO

Fig 5

GGAAGTGTATGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTT	Mayoría
750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTT	GATO. SEQ
750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAGGAACTT	VACA. SEQ
750 GGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTC	PERRO. SEQ
750 AGAAGTGTATGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTC	RATÓN. SEQ
750 GGAAGTGTATGCAAGAAATACTTGGACTCTAAAGAACTT	PTSHR. SEQ
750 AGAGCTGATGCGAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTC	RATA. SEQ
750 GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAACTT	OVEJA. SEQ
750 GGAAGTGTATGCAAGAAACACTTGGACTCTTAAGAACTT	HTSHR. SEQ
CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	Mayoría
790 CCACTTACCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	GATO. SEQ
790 CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	VACA. SEQ
790 CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTTACACGGGCTGACC	PERRO. SEQ
790 CCGCTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACTCGGGCTGACC	RATÓN. SEQ
790 CCACTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGAGCTGACC	PTSHR. SEQ
790 CCCCTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACTCGGGCTGACC	RATA. SEQ
790 CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	OVEJA. SEQ
790 CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	HTSHR. SEQ
TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	Mayoría
830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	GATO. SEQ
830 TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAATCAGAA	VACA. SEQ
830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	PERRO. SEQ
830 TCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTAAGAATCAGAA	RATÓN. SEQ
830 TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	PTSHR. SEQ
830 TCTCTTACCCAGTCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	RATA. SEQ
830 TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	OVEJA. SEQ
830 TTTCTTACCCAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	HTSHR. SEQ
GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	Mayoría
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTCATGTGTAATGAG	GATO. SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	VACA. SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTCATGTGTAATGAG	PERRO. SEQ
870 GAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	RATÓN. SEQ
870 GAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	PTSHR. SEQ
870 GAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	RATA. SEQ
870 GAATATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	OVEJA. SEQ
870 GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	HTSHR. SEQ
AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	Mayoría
910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	GATO. SEQ
910 AGCAGTATTCGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCAAGTG	VACA. SEQ
910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATA	PERRO. SEQ
910 AGCAGTATCCGGAACCTTCGTCAAAGGAAATCAGTGAACA	RATÓN. SEQ
910 AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	PTSHR. SEQ
910 AGTAGTATCCGGAACCTGCGTCAAAGAAAGTCACTGAACG	RATA. SEQ
910 AGCAGTATTTGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCGAGTG	OVEJA. SEQ
910 AGCAGTATGCAGAGCTTGGCCAGAGAAAATCTGTGAATG	HTSHR. SEQ

FIG. 6

CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT		Mayoría
950	CTTTGAATGGTCCCTTCGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	GATO. SEQ
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAGGATNNNCT	VACA. SEQ
950	CTTTGAATGGCCCCCTTTGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	PERRO. SEQ
950	TCTTGAGGGGTCCCATCTACCAGGAATATGAAGAAGATCC	RATÓN. SEQ
950	CTGTAAATGGTCCCTTTTACCAAGAATATGAAGAGGATCT	PTSHR. SEQ
950	TCATGAGGGGTCCCGTCTACCAGGAATATGAAGAAGGTCT	RATA. SEQ
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT	OVEJA. SEQ
950	CCTTGAATAGCCCCCTCCACCAGGAATATGAAGAGAATCT	HTSHR. SEQ
GGGTGACAGCAGTGTTGGGTACAAGGAAAACCTCCAAGTTC		Mayoría
990	AGGTGACAGCCATGCTGGATATAAGGACAACTCTAAGTTC	GATO. SEQ
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	VACA. SEQ
990	GGGTGACAGCCATGCTGGGTACAAGGACAACTCTCAGTTC	PERRO. SEQ
990	GGGTGACAACAGTGTTGGGTACAACAAAACCTCCAAGTTC	RATÓN. SEQ
990	GGGCGACACGAGTGTTGGGAATAAGGAAAACCTCCAAGTTC	PTSHR. SEQ
990	GGGTGACAACCATGTTGGGTACAACAAAACCTCCAAGTTC	RATA. SEQ
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	OVEJA. SEQ
990	GGGTGACAGCATTGTTGGGTACAAGGAAAAGTCCAAGTTC	HTSHR. SEQ
CAGGATACCCATAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG		Mayoría
1030	CAGGATACTCGCAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG	GATO. SEQ
1030	CAAGATACCCAAAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	VACA. SEQ
1030	CAGGATACCGATAGCAATTCTCATTATTATGTCTTCTTCG	PERRO. SEQ
1030	CAGGAGAGCCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	RATÓN. SEQ
1030	CAGGATACCCATAGCAACTCCCATTAACGTCTTCTTTG	PTSHR. SEQ
1030	CAGGAGGGCCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	RATA. SEQ
1030	CAAGATACCCACAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	OVEJA. SEQ
1030	CAGGATACTCATAACAACGCTCATTATTACGTCTTCTTTG	HTSHR. SEQ
AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG		Mayoría
1070	AAGAACAANNNGACGAGATCCTTGGTTTTGG	GATO. SEQ
1070	AGGAGCAAGAAGATGAGATCATCGTTTTGG	VACA. SEQ
1070	AAGAACAAGAAGATGAGATCCTCGTTTTGG	PERRO. SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGGTCGTTGGTTTCGG	RATÓN. SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	PTSHR. SEQ
1070	AAGAACAAGAGGACGAGATCATCGTTTCGG	RATA. SEQ
1070	AGGATCAAGAAGATGAGATCATCGTTTTGG	OVEJA. SEQ
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	HTSHR. SEQ

FIG. 6_{CONT.}

	SHYYVFFEEQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	Mayoría
350	AHYYVFFEEQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTI	HTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	PTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	BTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQXDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	CTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	DTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEVVGFQELKNPQEETLQAFESHYDYTEV	MTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTEV	RTSHR. PRO
350	SHYYVFFEDQEDEIIIGFGQELKNPQEETLQAFDNHYDYTEV	STSHR. PRO
	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	Mayoría
390	CGDSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	HTSHR. PRO
390	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	PTSHR. PRO
390	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	BTSHR. PRO
390	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	CTSHR. PRO
390	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	DTSHR. PRO
390	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	MTSHR. PRO
390	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSPMAL	RTSHR. PRO
390	CGGSEEMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	STSHR. PRO
	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGMYLLL	Mayoría
430	LGNVFVLLILLTSHYKLNVPFRFLMCNLAFADFCMGMYLLL	HTSHR. PRO
430	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGMYLLL	PTSHR. PRO
430	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGLYLLL	BTSHR. PRO
430	LGNVFVLIILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGMYLLL	CTSHR. PRO
430	LGNVFVLIVLLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGMYLLL	DTSHR. PRO
430	LGNIFVLLILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGVYLLL	MTSHR. PRO
430	LGNVFVLFVLLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGVYLLL	RTSHR. PRO
430	LGNVFVLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGLYLLL	STSHR. PRO
	IASVDLYTHSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	Mayoría
470	IASVDLYTHSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	HTSHR. PRO
470	IASVDLYTQSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	PTSHR. PRO
470	IASVDLYTQSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	BTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYYNHAIWDQTPGPCNAAGFF	CTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	DTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYYNHAIWDQTPGPCNTAGFF	MTSHR. PRO

470	IASVDLYTHTEYYNHAI DWQTGPGCNTAGFF	RTSHR. PRO
470	IASVDLYTQSEYYNHAI DWQTGPGCNTAGFF	STSHR. PRO

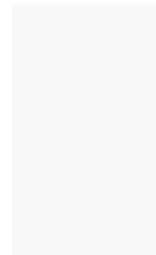
Fig 7

ES 2 466 377 T3

	GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCCTCCAGGC	Mayoría
1100	GCCAGGAGCTTAAAAACCCACAAGAAGAGACCCTACAGGC	GATO.SEQ
1100	GCCAACAGCTCAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC	VACA.SEQ
1100	GGCAGGAGCTTAAAAACCCACAGGAAGAGACCCTCCAGGC	PERRO.SEQ
1100	GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC	RATÓN.SEQ
1100	GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCTCCAGGC	PTSHR.SEQ
1100	GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC	RATA.SEQ
1100	GCCAAGAGCTTAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC	OVEJA.SEQ
1100	GCCAGGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACTCTACAAGC	HTSHR.SEQ
	CTTTGACAGCCATTATGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT	Mayoría
1140	CTTCGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGAGGCAAT	GATO.SEQ
1140	CTTTGACAGCCATTACGACTATAACCGTGTGTGGGGGCAGT	VACA.SEQ
1140	CTTTGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGTGCAAT	PERRO.SEQ
1140	CTTCGAGAGCCACTATGACTACACGGTGTGTGGGGACAAC	RATÓN.SEQ
1140	CTTTGACAGCCATTACGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT	PTSHR.SEQ
1140	CTTCGACAGCCACTATGACTACACTGTGTGTGGGGACAAC	RATA.SEQ
1140	CTTTGACAACCATACGACTATAACCGTGTGCGGGGGGAGT	OVEJA.SEQ
1140	TTTTGACAGCCATTATGACTACACCATATGTGGGGACAGT	HTSHR.SEQ
	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	Mayoría
1180	GAAGACATGGTGTGTACTCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	GATO.SEQ
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC	VACA.SEQ
1180	GAAGACATGGTGTGTACTCCTAAGTCAGATGAGTTCAACC	PERRO.SEQ
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGACGAGTTTAACC	RATÓN.SEQ
1180	GAAGACATGGTGTGCAACCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	PTSHR.SEQ
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGACGAGTTTAACC	RATA.SEQ
1180	GAGGAGATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC	OVEJA.SEQ
1180	GAAGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCCGATGAGTTCAACC	HTSHR.SEQ
	CCTGTGAAGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	Mayoría
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	GATO.SEQ
1220	CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT	VACA.SEQ
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGGATTGT	PERRO.SEQ
1220	CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAGGTTCTGAGAATCGT	RATÓN.SEQ
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAGGTTCTGAGAATCGT	PTSHR.SEQ
1220	CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT	RATA.SEQ

1220	CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	OVEJA.SEQ
1220	CGTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	HTSHR.SEQ
	GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	Mayoría
1260	GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	GATO.SEQ
1260	GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC	VACA.SEQ
1260	GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	PERRO.SEQ
1260	GGTGTGGTTTGTCAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATATC	RATÓN.SEQ
1260	GGTGTGGTTCGTTAGCCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	PTSHR.SEQ
1260	GGTATGGTTTGTCAGTCCGATGGCTCTCCTGGGCAACGTC	RATA.SEQ
1260	GGTGTGGTTTGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC	OVEJA.SEQ
1260	GGTGTGGTTCGTTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	HTSHR.SEQ

Fig 8



4D7 - HC

DVQLKHS~~GP~~ELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGL
INPYTGGTNYNQKFKGKAKLTVDKSSSTAFMELL~~SL~~TSEDSAVYYCARDG
NLDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVA
HPASKTKVD

FIG. 9

4D7 - HC

DVQLKHS GP ELVKPGASMKISCKASGYSFT	GYTMN	WVKQSHGKNLEWIGL	50
Cebador de PCR	CDR I		
INPYTGGTNYNQKFKG	KAKLTVDKSSSTAFMELL SL TSEDSAVYYCAR	DG	100
CDR II		CDR III	
NLDY WGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE			150
	región constante		
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVA			200
HPASKTKVD			209
Cebador de PCR			

FIG. 10

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSEFMHWFQQIPGQPPKL
 LIYAASNQSGVGPARGSGSGGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY
 TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
 KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSPIVKSFNRECE

FIG. 11

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSEFMHWFQQIPGQPPKL	50
Cebador de PCR CDR I	
LIYAASNQSGVGPARGSGSGGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY	100
CDR II CDR III	
TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
región constante	
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA	200
THKTSTSPIVKSFNRECE	218
Cebador de PCR	

FIG. 12

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYNGATSYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASKTKVD

FIG. 13

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFT	GYNMHWVKQSHGKSLEWIGY	50
Cebador de PCR	CDR I	
IDPYNGATSYNQKFED	KATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW	100
CDR II		
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK		150
CDR III	región constante	
GYFPEPVTTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI		200
TCNVAHPASKTKVD		214
Cebador de PCR		

FIG. 14

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQSIGTSHWYQORTNGSPRLLIK
 ASESISGIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNRENC

FIG. 15

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVPGERVSFSC	<u>CRASQSIGTSHWYQORTNGSPRLLIK</u>	50
Cebador de PCR	CDR I	
<u>ASESIS</u> GIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYC	<u>QQSNRWPLTFGA</u>	100
CDR II	CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI		150
región constante		
DGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT		200
<u>STSPIVKSFNRENC</u>		214
Cebador de PCR		

FIG. 16

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK
GYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSAWPSQTV
TCSVAHPASNTTVD

FIG. 17

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY	50
Cebador de PCR CDR I	
IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW	100
CDR II	
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK	150
CDR III región constante	
GYFPESVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSAWPSQTV	200
TCSVAHPASNTTVD	214
Cebador de PCR	

FIG. 18

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSCRASQSIGTSHWYQQRTNGSPRLLIK
 ASASISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQSNSWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNRECE

FIG. 19

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSC	<u>RASQSIGTSHWYQQRTNGSPRLLIK</u>	50
Cebador de PCR	CDR I	
<u>ASASIS</u> GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC	<u>QQSNSWPLTFGA</u>	100
CDR II	CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI		150
región constante		
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT		200
STSPIVKSFNRECE		214
Cebador de PCR		

FIG. 20

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPTYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASNTKVD

FIG. 21

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFT	GYNMHWVKQSHGKSLEWIGY	50
Cebador de PCR	CDR I	
IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAR	RW	100
CDR II		
DWDPTYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK		150
CDR III	región constante	
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI		200
TCNVAHPASNTKVD		214
Cebador de PCR		

FIG. 22

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVVSFACRASQSIGTSHWYQQRTNGSPRLLIK
 ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQTNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNRENC

FIG. 23

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVVSFACRASQSIGTSHWYQQRTNGSPRLLIK	50
Cebador de PCR CDR I	
ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQTNRWPLTFGA	100
CDR II CDR III	
GTKLELKRADAAPTIVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI	150
región constante	
DGSERQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT	200
STSPIVKSFNRENC	214
Cebador de PCR	

FIG. 24

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctgggtgaagcctggagcttc
aatgaagatatcctgtaaggcttctgggttactcattcactggctacacca
tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt
attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa
ggccaaattaactgtagacaagtcacccagcacagccttcatggagctcc
tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatgggt
aaccttgactactggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa
aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccaaa
ctaactccatgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctatttccctgag
ccagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac
cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga
ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc
caccagccagcaagaccaaggctcgac

FIG. 25

4D7 - HC

<u>gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcact	100
ggctacacca	
CDR I	
tgaact tggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattgga ctt	150
attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggc aa	200
CDR II	
ggccaaattaactgtagacaagtcattccagcacagccttcattggagctcc	250
tcagtcctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaaga	300
gatggt	
CDR III	
aaccttgactac tggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa	350
aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccc aa	400
región constante	
ctaactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttcctgag	450
ccagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac	500
cttcccagctgtcctgcagtcctgacctctacactctgagcagctcagtg	550
ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggttgc	600
<u>caccagccagcaagaccaaggtcgac</u>	627
Cebador de PCR	

FIG. 26

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttcttttggtgtgtctctagggca
gagggccaccatctcctgcagagccagcgaaactgttgataattatggct
ttagttttatgcactgggtccaacagataccggggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccgggggtccctgccaggtttag
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg
aggatgatactgcaatgtattttctgtcagcaaagtaaggagggtccgtac
acgttcggagggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

FIG. 27

4D7 - LC

<u>agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca</u>	50
Cebador de PCR	
gagggccaccatctcctgc <u>agagccagcgaactgttgataattatggct</u>	100
CDR I	
<u>ttagttttatgcact</u> tggttccaacagataccgggacagccacccaaactc	150
ctcatctat <u>gctgcateccaaccaaggatcc</u> gggggtccctgccagggttag	200
CDR II	
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg	250
aggatgatactgcaatgtattttctgt <u>cagcaaagtaaggagggtccgtac</u>	300
CDR III	
<u>acg</u> ttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc	350
región constante	
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg	400
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaactttctaccccaaagacatcaatgtc	450
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg	500
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca	550
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc	600
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga	650
Cebador de PCR	
<u>gtgt</u>	654

FIG. 28

16E5 - HC

gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc
 agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca
 tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat
 attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa
 ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
 acagcctgacatctgaggactctgcagctctattactgtgcaagaagatgg
 gactgggacccttatgctatggactactgggggtcaaggaacctcagtcac
 cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcgggtctatccactggccccctg
 tgtgtggagatacaagtggctcctcgggtgactctaggatgcctgggtcaag
 ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc
 cagtggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagctctgacctctacaccc
 tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac
 acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac

FIG. 29

16E5 - HC

<u>gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
agtgaagatgtcctgcaaggcttctgggttactcattcact <u>ggctacaaca</u>	100
CDR I	
<u>tgca</u> ctgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggg <u>tat</u>	150
<u>attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa</u>	200
CDR II	
ggccacattgactgtagacaaatcttcagcacagcctacatgcagctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga <u>agatgg</u>	300
CDR III	
<u>gactgggaccccttatgctatggactac</u> tgggggtcaaggaacctcagtcac	350
cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcggtctatccactggccctg	400
región constante	
tgtgtggagatacaagtgggtcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag	450
ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc	500
cagtgggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagttctgacctctacacc	550
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac	600
<u>acctgcaatgtggccacccggccagcaagaccaagggtcgac</u>	642
Cebador de PCR	

FIG. 30

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagtcctccagccatcctgtctgtgagtcaggaga
aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatgggtctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtcctctctgggatattttctagggttagtggcagtggtatc
agggacagatcttactcttaccatcaacagtggtggagtcctgaagatatg
cagattattactgtcaacaaagtaatagggtggccgctcacgttcggagct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

FIG. 31

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagttctccagccatcctgtctgtgagtcaggaga 50
Cebador de PCR

aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

acttggtatcagcaaagaacaaatggtttctccaaggcttctcataaagtat 150

gcttctgagtcacatctctgggatattttctaggtttagtggcagtggtac 200
CDR II

agggacagattttactcttaccatcaacagtggtggagtctgaagatattg 250

cagattattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct 300

CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat 350
región constante

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt 400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt 450

gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga 500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctcacgttgaccaagg 550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca 600

tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtg 642

Cebador de PCR

FIG. 32

17D2 - HC

gacgtccagatccagcagtcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
 agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca
 tgcactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat
 attgatccttacagtgggtgctactagctaccaccagaaattcaagggcaa
 ggccacattgactggtgacaaatcttccagcacagcctacatgcgcctca
 acagcctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaagaagatgg
 gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
 cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccccctg
 ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag
 ggctacttccctgagtcagtcagtcgactgtgacttggaactctggatccctgtc
 cagcagtcgtgcacaccttcccagtcctcctgcagtcctggactctacacta
 tgagcagctcagtcgactgtccccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc
 acctgcagcgttgctcaccogggccagcaacaccacgggtcgac

FIG. 33

17D2 - HC

<u>gacgtccagatccagcagtcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgcctacaaca	100
CDR I	
tgcactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat	150
<u>attgatccttacagtgggtgctactagctaccaccagaaattcaagggc</u> aa	200
CDR II	
ggccacattgactgttgacaaatcttcagcacagcctacatgcgcctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg	300
<u>gactgggacccttatgctatggactact</u> gggggtcaaggaacctcagtcac	350
CDR III	
cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccctg	400
región constante	
ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag	450
ggctacttcctgagtcagtgactgtgacttggaaactctggatccctgtc	500
cagcagtggtgcacacctccagctctcctgcagtcctggactctacacta	550
tgagcagctcagtgactgtcccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc	600
<u>acctgcagcggttgctcaccgggccagcaacaccacgggtcgac</u>	642
Cebador de PCR	

FIG. 34

17D2 - LC

agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtcaggaga
aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat
gcttctgcgtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggtatc
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaagtaatagctggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtg

FIG. 35

17D2 - LC

<u>agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtcaggaga</u>	50
Cebador de PCR	
aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcattac	100
CDR I	
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat	150
gcttctgcggtctatctctgggatcccttcaggttttagtggcagtggtatc	200
CDR II	
aggacagatcttactcttagcatcaacagtgtggagtctgaagatattg	250
cagattattactgtcaacaaagttaatacctggccgctcaggttcggtgct	300
CDR III	
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat	350
región constante	
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt	400
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt	450
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga	500
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg	550
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca	600
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt	642
Cebador de PCR	

FIG. 36

14D3 - HC

gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgggtacaaca
tgactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggatat
attgatccttacagtgggtgctactagctacaaccagaaattcgagggcaa
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacagccccatcggtctatccactggcccctg
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag
ggttatttccctgagccagtgccttgacctggaactctggatccctgtc
cagtgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctctacacc
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac
acctgcaatgtggcccacccagccagcaacaccaagggtcgac

FIG. 37

14D3 - HC

<u>gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
actaaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaaca	100
CDR I	
tggaactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggaatat	150
attgatcettacagtgggtgctactagctacaaccagaaattcgagggc	200
CDR II	
ggccacattgactgtagacaaatcttcagcacagcctacatgcagctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg	300
CDR III	
gactgggacccttatgctatggactactgggggtcaaggaacctcagtcac	350
cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcggtctatccactggcccctg	400
constante	
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag	450
ggttatttccctgagccagtgaccttgacctggaactctggatccctgtc	500
cagtgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagctctgacctctacacc	550
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac	600
acctgcaatgtggcccacccagccagcaacaccaaggtcgac	642
Cebador de PCR	

FIG. 38

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga
aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actgggtatcagcaaagaacaaatgggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggatc
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaactaataggtggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

FIG. 39

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga	50
Cebador de PCR	
aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcatggcacaagcatac	100
CDR I	
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat	150
gcttctgagtcctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggtatc	200
CDR II	
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg	250
cagattattactgtcaacaaactaataggctggcgcgtcaagttcggtgct	300
CDR III	
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat	350
región constante	
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt	400
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt	450
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgctcctgaacagttggactgatcagga	500
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg	550
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca	600
tcaacttcacccattgtcaagagccttcaacaggaatgagtgt	642
Cebador de PCR	

FIG. 40

3B3 - HC

DVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIKDTYMHWMKQRPEQGLEWIGR
IDPANGNTKYDPKFRGKATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDVAVYYCAYDG
YWGQGTLLTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT
VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVAHPA
SSTKVD

FIG. 41

3B3 - HC

DV	LOOPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIK	DTYMHWMKQRPEQGLEWIGR	50
	Cebador de PCR	CDR I	
IDPANGNTKYDPKFRG	KATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDVAVYYCAYDG	100	
	CDR II	CDR III	
YWGQGTLLTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT	150		
	región constante		
VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVAHPA	200		
	Cebador de PCR		
SSTKVD	206		

FIG. 42

3B3 - LC

NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL
 LIYRASNL~~ES~~GIPARFSGSGSRTDFTLTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL
 TFGAGTKLELKRADAAPT~~VS~~IFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
 KWKIDG~~SERQ~~NGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLT~~LT~~TKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSP~~IVK~~SFKANEC

FIG. 43

3B3 - LC

NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL	50
Cebador de PCR CDR I	
LIYRASNL ES GIPARFSGSGSRTDFTLTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL	100
CDR II CDR III	
TF FGAGTKLELKRADAAPT VS IFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
región constante	
KWKIDG SERQ NGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLT LT TKDEYERHNSYTCEA	200
THKTSTSP IVK SFKANEC	218
Cebador de PCR	

FIG. 44

3C7 - HC

DVQLKHSGLPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL
INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG
LMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
HPASKTKVD

FIG. 45

3C7 - HC

DVOLKHSGLPELVKPGASMKISCKASGYSFT	GYTMNWVKQSHGKNLDWIGL	50
Cebador de PCR	CDR I	
INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG		100
CDR II		
LMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE		150
CDR III	región constante	
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA		200
HPASKTKVD		209
Cebador de PCR		

FIG. 46

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSVYNGISYMHWFQQKPGQPPKL
 LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQOSFEDPH
 TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
 KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSPIVKSFNRECE

FIG. 47

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIF	CRASQSVYNGISYMHWFQQKPGQPPKL	50
Cebador de PCR	CDR I	
LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC	QOSFEDPH	100
CDR II	CDR III	
TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV		150
región constante		
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA		200
THKTSTSPIVKSFNRECE		218
Cebador de PCR		

FIG. 48

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWIHWLKQRPGQGLEWIGA
 IFPGNRDTSYNQRFKGAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP
 YYGSIYVNFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL
 VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE
 TVTCNVAHPASSTKVD

FIG. 49

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWIHWLKQRPGQGLEWIGA	50
Cebador de PCR	CDR I
IFPGNRDTSYNQRFKGAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP	100
CDR II	
YYGSIYVNFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL	150
CDR III	región constante
VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE	200
TVTCNVAHPASSTKVD	216
Cebador de PCR	

FIG. 50

2B4 - LC

DIVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRTSQNLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPK
LLIYKISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGTHVP
PTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN
VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCE
ATHKTSTSPIVKSFNRNEC

FIG. 51

DIVMTQSPLSLPVSLGDAQASIS	<u>RTSQNLVHRNGNTYLH</u>	WYLQKPGQSPK	50
Cebador de PCR	CDR I		
LLIYKISNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	<u>SQGTHVP</u>	100
CDR II		CDR III	
<u>PT</u> FGGGTKLEIK	RADAAPT	VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN	150
	región constante		
VKWKIDG	SERQNGVLNSWTDQDSK	STYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCE	200
ATHKTSTSPIVK	<u>SFNRNEC</u>		219
Cebador de PCR			

Fig 52

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc
 agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaaagacacctata
 tgcactggatgaagcagagggcctgaacagggcctggagtggattggaagg
 attgatcctgcgaatggtaataactaaatatgacccgaaattccggggcaa
 ggccactataacagcagacacatcctccaacacgggtctacgtgcaactca
 gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatggg
 tactggggccaagggactctgggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc
 cccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccc aaactaactcca
 tgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctat tccctgagccagtgaca
 gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagc
 tgcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccct
 ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacg ttgccacccggcc
 agcagcaccaaggtcgac

FIG. 53

3B3 - HC

<u>gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc</u>	50
Cebador de PCR	
agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaa <u>gacacotata</u>	100
CDR I	
<u>tgca</u> ctggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattgga <u>agg</u>	150
<u>attgatcctgggaatggtaataactaaatgatgacccgaaattccggggc</u> aa	200
CDR II	
ggccactataacagcagacacatcctccaacacggtctacgtgcaactca	250
gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctat <u>gatgct</u>	300
CDR III	
<u>gac</u> tgggggccaagggaactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc	350
región constante	
cccatctgtctatccactggccccctggatctgctgccc aaactaactcca	400
tggtgaccctgggatgcctgggtcaagggtatattccctgagccagtgaca	450
gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagc	500
tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccct	550
ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggttgc <u>ccacccggcc</u>	600
Cebador de PCR	
<u>agcagcaccaaggtcgac</u>	618

FIG. 54

3B3 - LC

aacattgtgatgacccaaactccagcctcttttggctgtgtctctagggca
gagggccaccaatcctgcagagccagtgaagtggtgatagttatggca
ataattttatgcactggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc
ctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
tggcagtggtgctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg
ctgatgatggtgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc
acgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaaggaacatga
gtgt

FIG. 55

3B3 - LC

<u>aacattgtgatgacccaaactccagcctctttggctgtgtctctagggca</u>	50
Cebador de PCR	
gagggccaccatatacctgc <u>agagccagtgaaagtgttgatagt-tatggca</u>	100
CDR I	
<u>ataattttatgcact</u> tggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc	150
ctcatctat <u>cgtgcatccaactagaatct</u> gggatccctgccagggttcag	200
CDR II	
tggcagtggggtctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg	250
ctgatgatggttgaacctattactgt <u>cagcaaaagtcataaggatccgctc</u>	300
CDR III	
<u>acg</u> ttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc	350
región constante	
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg	400
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc	450
aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgctcctgaacagttg	500
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca	550
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc	600
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagag <u>cttcaacaggaatga</u>	650
Cebador de PCR	
<u>gtgt</u>	652

FIG. 56

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca
atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccat
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactta
ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagttcaagggcaag
gccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggagctcct
cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc
tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa
acgacacccccatctgtctatccactggccccctggatctgctgccccaaac
taactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttccctgagc
cagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacc
ttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac
tgtccccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggtgccc
acccggccagcaagaccaaggtcgac

FIG. 57

3C7 - HC

<u>gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca</u>	50
Cebador de PCR	
atgaagatatcctgcaaggcttctgggttactcattcact	100
ggctacaccat	
CDR I	
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattgga	150
ctta	
CDR II	
ttaatccttacaatggtgggtactagctacgaccagaagttaagggtcaag	200
gccacattaactgtagacaagtcattccagcacagcctacatggagctcct	250
cagtctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaaga	300
gatggcc	
CDR III	
tgatggactactgggggtcaaggaaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa	350
región constante	
acgacacccccatctgtctatccactggccccctggatctgctgccccaaac	400
taactccatggtgacctgggatgcctgggtcaagggtatattccctgagc	450
cagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcggtgtgcacacc	500
ttcccagctgtcctgcagtcctgacctctacactctgagcagctcagtgac	550
tgccccctccagcacctggccccagcgagaccgtcacctgcaacgttgccc	600
<u>acccggccagcaagaccaagggtcgac</u>	626
Cebador de PCR	

FIG. 58

3C7 - LC

gatattgtgatgacccaaactccagcttctttgggtgtgtctctaggaca
gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa
ttagttatatgcactgggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
tggcagtgggtctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg
aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

FIG. 59

3C7 - LC

<u>gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca</u>	50
Cebador de PCR	
<u>gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa</u>	100
CDR I	
<u>ctagttatatgcaetggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc</u>	150
<u>ctcatctatgctgcacccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag</u>	200
CDR II	
<u>tggcagtgggtctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg</u>	250
<u>aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac</u>	300
CDR III	
<u>acg</u> ttcggaggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc	350
región constante	
<u>aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg</u>	400
<u>cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc</u>	450
<u>aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgctcctgaacagttg</u>	500
<u>gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca</u>	550
<u>cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc</u>	600
<u>actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga</u>	650
Cebador de PCR	
<u>gtgt</u>	654

FIG. 60

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagctctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc
cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga
tacactgggttaaaacagaggcctggacaggggtctagaatggattggtgct
atctttcctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa
ggcogaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca
gtagcctgacaaatgaggactctgcgggtctattactgtacaagatggcct
tactatgggttccatctacgttaactttgactactggggccaaggcaccac
tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg
cccctggatctgctgccc aaactaactccatgggtgacctgggatgcctg
gtcaagggtatcttccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc
cctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtcctgacctct
acactctgagcagctcagtgactgtcccctccagcacctggcccagcgag
accgtcacctgcaacgttgcccacccagccagcagcaccaaggtcgac

FIG. 61

2B4 - HC

<u>gacgtccagctgcagcagctctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc</u>	50
Cebador de PCR	
cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttacc <u>aggtactgga</u>	100
CDR I	
<u>tacact</u> tggttaaaacagaggcctggacagggctctagaatggattggt <u>gct</u>	150
<u>atttttccctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaaggggaa</u>	200
CDR II	
ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca	250
gtagcctgacaaatgaggactctgcggtctattactgtacaaga <u>tggtct</u>	300
<u>tactatgggttccatctacgttaactttgactact</u> tggggccaaggcaccac	350
CDR III	
tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg	400
región constante	
cccctggatctgctgcccaaactaactccatggtgacctgggatgcctg	450
gtcaagggctatttcctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc	500
cctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagctctgacctct	550
acactctgagcagctcagtgactgtccctccagcacctggcccagcgag	600
accgtcacctgcaacgttgccc <u>acccagccagcagcaccaaggtcgac</u>	648
Cebador de PCR	

FIG. 62

2B4 - LC

gatattgtgatgacccagtcctcctctctccctgcctgtcagtccttggaga
tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg
gaaacacctatttacattggtacctgcagaagccaggccagtcctcaaag
ctcctgattttacaaaatttccaaccgattttctgggggtcccagacagggt
cagtggcagtggtatcaggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg
aggctgaggatctgggagtttatttctgctctcaagggtacacatgttcct
ccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacggggtgatgctgc
accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag
gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat
gtcaagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgctcctgaacag
ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacc
tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag
gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa
tgagtgt

FIG. 63

2B4 - LC

<u>gatattgtgatgacccagtcctcctctcctcctgcctgtcagtccttgaga</u>	50
Cebador de PCR	
tcaagcctccatctcttgc <u>agaactagtcagaaccttgtaacacaggaatg</u>	100
CDR I	
<u>gaaacacctaatttacat</u> tggtacctgcagaagccaggccagtcctccaaag	150
ctcctgatttac <u>aaaatttccaaccgattttct</u> gggggtcccagacaggtt	200
CDR II	
cagtggcagtggtatcaggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg	250
aggctgaggatctgggagtttatttctgc <u>tctcaagggtacacatgttcct</u>	300
CDR III	
<u>ccgacg</u> ttcgggtggaggcaccaagctggaaatcaaa cgggctgatgctgc	350
región constante	
accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag	400
gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat	450
gtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacag	500
ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccc	550
tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag	600
gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaaga <u>gcttcaacaggaa</u>	650
Cebador de PCR	
<u>tgagtgt</u>	657

Fig 64