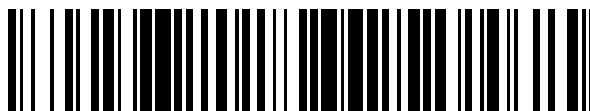


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 509 894**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2009 E 09751311 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.07.2014 EP 2281196**

54 Título: **Métodos, dispositivos, kits y composiciones para detectar gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho**

30 Prioridad:

19.05.2008 US 128076 P
19.05.2008 US 128077 P
19.05.2008 US 128079 P
19.05.2008 US 128099 P
12.12.2008 US 122254 P
12.12.2008 US 122260 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.10.2014

73 Titular/es:

IDEXX LABORATORIES INC (50.0%)
One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092, US y
DIVERGENCE, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

ELSEMORE, DAVID ALLEN;
GENG, JINMING;
FLYNN, LAURIE A. y
CRAWFORD, MICHAEL

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 509 894 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

Métodos, dispositivos, kits y composiciones para detectar gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho

5 Referencia cruzada

Esta solicitud reivindica prioridad de las solicitudes provisionales de patente estadounidense con n.^{os} de serie 61/122.260, presentada el 12 de diciembre de 2008; 61/128.077, presentada el 19 de mayo de 2008; 61/128.079, presentada el 19 de mayo de 2008; 61/128.076, presentada el 19 de mayo de 2008; 61/128.099, presentada el 19 de mayo de 2008; y 61/122.254, presentada el 12 de diciembre de 2008; y las solicitudes de patente estadounidense con n.^{os} de serie 11/763.592, presentada el 15 de junio de 2007 y 11/763.583, presentada el 15 de junio de 2007.

Antecedentes de la invención**15 1. Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones, dispositivos, kits y métodos para la detección de, y la distinción entre, gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en mamíferos. Más particularmente, la presente invención se refiere a anticuerpos y composiciones de anticuerpos, dispositivos, kits y métodos para detectar la presencia o ausencia de antígeno de gusano redondo, antígeno de gusano látigo y antígeno de gusano de gancho en una muestra de un mamífero y para distinguir entre antígenos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho.

2. Descripción de la técnica anterior

Las infecciones por gusanos parásitos (helminthos) son comunes en animales y, si no se diagnostican y se tratan, pueden provocar una enfermedad grave o la muerte. Los métodos actuales para el diagnóstico de infecciones por gusanos parásitos implican principalmente el examen microscópico de muestras fecales, o bien directamente en frotis fecales o bien tras la concentración de huevos y parásitos mediante flotación en medios de densidad. A pesar de la alta aceptación de este procedimiento, el método tiene limitaciones significativas. Estos métodos microscópicos llevan mucho tiempo y requieren equipo especializado. Además, la precisión de los resultados de estos métodos depende en gran medida de la habilidad y experiencia del operario. Por ejemplo, la presencia de gusanos látigos se determina buscando huevos, pero estos se excretan de manera intermitente y en pequeños números. Los gusanos de gancho son difíciles de detectar por el médico medio en fase temprana de la infección o en animales jóvenes. La especificidad del diagnóstico de gusanos redondos usando examen microscópico es de aproximadamente el 50%.

La manipulación de heces es desagradable y peligrosa. Los procedimientos higiénicos e inofensivos para procesar heces son molestos y con frecuencia complejos. Tales procedimientos pueden incluir pesada, centrifugación y almacenamiento, y son difíciles excepto en un laboratorio clínico equipado con un aparato adecuado, equipo de protección y un técnico especializado. Por tanto, es deseable cualquier reducción en el número de etapas requeridas para realizar una prueba fecal y cualquier reducción en el contacto entre el operario de la prueba y el material de prueba. Los laboratorios clínicos han estado usando métodos de inmunoensayo para la detección de diversos virus, bacterias y parásitos no helmínticos y organismos en las heces. Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de un método de inmunoensayo sencillo para la detección de una infección por gusanos parásitos en las heces, en sangre completa o en suero.

Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona un dispositivo para unir específicamente y aislar antígenos helmínticos de una muestra, por ejemplo coproantígenos de una muestra fecal, comprendiendo el dispositivo un soporte sólido, en el que el soporte sólido tiene inmovilizados sobre el mismo al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en (a) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; (b) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y (c) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo. El dispositivo puede ser, pero no se limita a ser, por ejemplo, un dispositivo de ELISA, tal como un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral o dispositivo de placa de microtitulación. Las muestras que pueden someterse a una prueba para detectar gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho mediante el dispositivo incluyen, pero no se limitan a ser, heces, mucosa del tracto digestivo, orina, sangre completa, suero, leche materna y tejido completo, tal como tejido de glándula mamaria, intestino, hígado, corazón, pulmón, esófago, cerebro, músculo y ojo, por ejemplo. El dispositivo puede incluir además, pero no necesita incluir, uno o más reactivos para la detección de uno o más del grupo que consiste en: uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos y una o más bacterias.

En aún otro aspecto, la invención proporciona un método de detección de la presencia o ausencia de uno o más antígenos helmínticos en una muestra, por ejemplo coproantígenos de una muestra fecal, comprendiendo el método: (a) poner en contacto una muestra de un mamífero con al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que

consiste en: (i) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; (ii) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y (iii) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo; (b) formar complejos anticuerpo-coproantígeno en presencia de los coproantígenos, si los hay, en la muestra; y (c) detectar la presencia o ausencia de los complejos anticuerpo-coproantígeno, si los hay. El uno o más coproantígenos helmínticos incluyen coproantígenos de gusano redondo, tales como *Toxocara canis* (*T. canis*), *Toxocara cati* (*T. cati*), *Toxocara vitulorum* (*T. vitulorum*), *Toxascaris leonina* (*T. leonina*), *Baylisascaris procyonis* (*B. procyonis*), *Ascaridia galli* (*A. galli*), *Parascaris equorum* (*P. equorum*), *Ascaris suum* (*A. suum*) o *Ascaris lumbricoides* (*A. lumbricoides*), *Anisakis simplex* (*A. simplex*) o *Pseudoterranova decipiens* (*P. decipiens*), gusano látigo tales como *Trichuris vulpis*, *Trichuris campanula*, *Trichuris serrata*, *Trichuris suis*, *Trichuris trichiura*, *Trichuris discolor* y gusano de gancho, tales como *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenale*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme* y *Ancylostoma pluridentatum*, *Necator americanus* y *Uncinaria stenocephala*, por ejemplo, en una muestra obtenida de un mamífero, tal como un animal canino, animal felino, animal porcino, animal bovino o ser humano y distinguir entre gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho. En un aspecto, se lleva a cabo el método para someter a prueba una muestra fecal de mamífero para detectar coproantígeno de gusano redondo, coproantígeno de gusano látigo y coproantígeno de gusano de gancho. Sin embargo, el método no se limita a llevarse a cabo para someter a prueba una muestra fecal. Por tanto, además de heces, la muestra puede ser, pero no se limita a ser, sangre completa, suero, leche materna y tejido completo, tal como tejido de glándula mamaria, intestino, hígado, corazón, pulmón, esófago, cerebro, músculo y ojo, por ejemplo.

En aún otro aspecto, la invención proporciona un método de diagnóstico de si un mamífero tiene infección por uno o más gusanos parásitos, comprendiendo el método las etapas de: (a) poner en contacto una muestra de un mamífero con al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en: (i) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; (ii) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y (iii) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo; (b) formar complejos anticuerpo-coproantígeno en presencia de los coproantígenos, si los hay, en la muestra; (c) detectar la presencia o ausencia de los complejos anticuerpo-coproantígeno, si los hay; y (d) diagnosticar que el mamífero tiene: (i) una infección por gusano redondo si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano redondo; (ii) una infección por gusano látigo si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano látigo; y (iii) una infección por gusano de gancho si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano de gancho. El método también puede usarse para someter a prueba, y distinguir entre, contaminación del entorno con gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Las muestras del entorno que pueden someterse a prueba para detectar gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho mediante el dispositivo incluyen, pero no se limitan a, tierra, material en descomposición o material fecal de zonas residenciales incluyendo patios, jardines, areneros, parques infantiles. Las ubicaciones de pruebas también pueden incluir parques, playas, bosques, granjas u otras ubicaciones expuestas a material fecal de perros, gatos u otros huéspedes mamíferos de gusanos redondos. También pueden someterse a prueba heces de cajas de arena de interior y exterior.

En aún otro aspecto, la presente invención incluye un kit para llevar a cabo una o más etapas del método de la invención. El kit puede incluir opcionalmente, por ejemplo, el dispositivo y una o más de las composiciones de la presente invención e instrucciones para llevar a cabo el método de la presente invención. El kit puede incluir opcionalmente además, por ejemplo, uno o más reactivos indicadores, uno o más compuestos de marcaje de anticuerpos, uno o más anticuerpos, uno o más reactivos de captura de antígeno, uno o más inhibidores, y uno o más reactivos de lavado que van a usarse como parte del dispositivo y/o que van a usarse para llevar a cabo el método.

En aún otro aspecto, la presente invención incluye un dispositivo para unirse específicamente a antígenos helmínticos de una muestra, por ejemplo coproantígenos de una muestra fecal, comprendiendo el dispositivo un soporte sólido, en el que el soporte sólido tiene inmovilizados sobre el mismo al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en: (a) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; (b) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y (c) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo; y (d) uno o más tipos de antígeno de gusano redondo, antígeno de gusano látigo y/o antígeno de gusano de gancho, en el que el uno o más tipos de antígeno de gusano redondo, antígeno de gusano látigo y antígeno de gusano de gancho se unen específicamente a los anticuerpos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra los resultados de un ensayo ELISA, que se llevó a cabo usando un dispositivo de flujo lateral y

que sometió a prueba muestras fecales de animales caninos con infección por gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho siguiendo el método de la presente invención en un primer ejemplo.

La figura 2 muestra los resultados de un ensayo ELISA, que se llevó a cabo usando una placa de microtitulación y que sometió a prueba muestras fecales de animales caninos con infección por o bien gusano redondo, gusano de gancho, gusano látigo o bien gusano del corazón siguiendo el método de la presente invención en un segundo ejemplo.

La figura 3 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 1210 nucleótidos de *Trichuris vulpis* adulto completo (SEQ ID NO: 1).

La figura 4 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 1059 nucleótidos de *Trichuris vulpis* adulto completo (SEQ ID NO: 2).

La figura 5 muestra una alineación de comparación de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4. La secuencia consenso de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 se muestra como SEQ ID NO: 9.

La figura 6 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 865 nucleótidos de *Toxocara canis* adulto completo (SEQ ID NO: 10).

La figura 7 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 632 nucleótidos de *Toxocara cati* adulto completo (SEQ ID NO: 11).

La figura 8 muestra una alineación de comparación de SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 14. La secuencia consenso de SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 14 se muestra como SEQ ID NO: 16.

La figura 9 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 535 nucleótidos de *Toxocara canis* adulto completo (SEQ ID NO: 17).

La figura 10 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 536 nucleótidos de *Toxocara cati* adulto completo (SEQ ID NO: 18).

La figura 11 muestra una alineación de comparación de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21. La secuencia consenso de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21 se muestra como SEQ ID NO: 23.

La figura 12 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 469 nucleótidos de *Toxocara canis* adulto completo (SEQ ID NO: 24).

La figura 13 muestra la secuencia de nucleótidos de una secuencia de ADNc de 548 nucleótidos de *Toxocara cati* adulto completo (SEQ ID NO: 25).

La figura 14 muestra una alineación de comparación de SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28. La secuencia consenso de SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28 se muestra como SEQ ID NO: 30.

La figura 15 muestra un ELISA con fracciones de elución de columnas SP como muestras y que Copro6728 puede purificarse parcialmente y enriquecerse mediante elución de la columna SP siguiendo el método de la presente invención en el tercer ejemplo.

La figura 16 muestra que el peso molecular de Copro6728 era de aproximadamente 7 kD usando una inmunotransferencia de tipo Western con sonda de conejo anti-DIV6728 de longitud completa-HRP siguiendo el método de la presente invención en el tercer ejemplo.

La figura 17 muestra que el peso molecular de Copro6728 era de aproximadamente 7 kD usando un gel de SDS-PAGE teñido con tinción de proteína Imperial siguiendo el método de la presente invención en el tercer ejemplo.

La figura 18 muestra la secuencia de aminoácidos de DIV6728 de longitud completa (SEQ ID NO: 21) con los dos péptidos (SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 36) identificados mediante análisis de espectrometría de masas identificados resaltándolos en los recuadros sombreados siguiendo el método de la presente invención en el tercer ejemplo.

La figura 19 muestra una alineación de las secuencias de aminoácidos de 6728N (SEQ ID NO: 37) y 6728C (SEQ ID NO: 38) codificadas por los constructos siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 20 muestra un gel de SDS-PAGE cargado con diferentes muestras para comprobar la purificación de 6728N recombinante siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 21 muestra un gel de SDS-PAGE cargado con diferentes muestras para comprobar la purificación de 6728C recombinante siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 22 muestra los datos de ELISA obtenidos con diferentes muestras fecales para someter a prueba los diferentes anticuerpos policlonales contra diferentes proteínas 6728 recombinantes siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 23 muestra los datos de ELISA obtenidos con proteínas recombinantes para someter a prueba los diferentes anticuerpos policlonales contra diferentes proteínas 6728 recombinantes siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 24 muestra inmunotransferencia de tipo Western con diferentes muestras fecales con sondas de IgG de conejo anti-DIV6728 de longitud completa-HRP siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 25 muestra inmunotransferencia de tipo Western con diferentes muestras fecales con sondas de IgG de conejo anti-6728C-HRP siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

La figura 26 muestra inmunotransferencia de tipo Western con diferentes muestras fecales con sondas de IgG de conejo anti-6728N-HRP siguiendo el método de la presente invención en el cuarto ejemplo.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención

I. Introducción

La presente invención se refiere de manera general a métodos, dispositivos y kits para detectar y distinguir entre gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en una muestra fecal obtenida de un mamífero. La presente invención se refiere a coproantígenos de gusano redondo de *Toxocara*, tales como *Toxocara canis* o *Toxocara cati*, coproantígenos de gusano látigo de *Trichuris*, tales como *Trichuris vulpis* y coproantígenos de gusano de gancho de *Ancylostoma* tales como *Ancylostoma caninum*, por ejemplo. En particular, la presente invención se refiere a métodos, dispositivos y kits para detectar y distinguir entre gusano redondo, tales como *Toxocara*, *Toxascaris*, *Baylisascaris*, *Ascaridia*, *Parascaris*, *Ascaris*, *Anisakis* o *Pseudoterranova*, incluyendo *T. canis*, *T. cati*, *T. vitulorum*, *T. leonina*, *T. vitulorum*, *B. procyonis*, *A. galli*, *P. equorum*, *A. lumbricoides*, y *A. suum*, *A. simplex*, y *P. decipiens*, gusano látigo, tales como *Trichuris vulpis*, *Trichuris serrata*, *T. campanula*, y *Trichuris trichiura* y gusano de gancho, tales como *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenale*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme* y *Ancylostoma pluridentatum*, *Necator americanus* y *Uncinaria stenocephala*, por ejemplo.

La presente invención proporciona una alternativa superior a las técnicas de inspección microscópica existentes. Esto es cierto porque la presente invención proporciona dispositivos, kits y métodos para detectar la presencia o ausencia de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en una muestra de un mamífero que: (1) son tanto fáciles de usar como proporcionan sistemáticamente resultados fiables; (2) permiten confirmar la ausencia o presencia de gusano látigo en un mamífero independientemente de si ese mamífero tiene infección por gusano de gancho, gusano redondo y/o gusano del corazón; (3) pueden detectar gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho antes del momento en el que aparecen por primera vez los huevos en las heces del huésped infectado; y (4) pueden distinguir entre infecciones por gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho.

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de propiedades inesperadas de composiciones específicas para infecciones por gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho. Específicamente, se determinó que pueden usarse anticuerpos obtenidos contra polipéptidos específicos de gusano (u obtenidos contra un extracto de gusanos completos, o extracto de órganos reproductores de gusanos, o extracto de intestinos de gusanos) para capturar, detectar y distinguir entre antígenos de gusano redondo, antígenos de gusano látigo y antígenos de gusano de gancho en un mamífero. La especificidad para cada tipo de gusano es sorprendente porque todos de gusanos redondos, gusanos látigos y gusanos de gancho son nematodos relacionados, y se esperaría que un anticuerpo obtenido contra una proteína aislada de uno cualquiera de estos gusanos presente reacción cruzada con uno o más de los otros gusanos, antígenos de huésped u otros componentes de huésped.

Se determinó además que este anticuerpo puede usarse para capturar y detectar antígenos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en un mamífero tan sólo 9 días tras infectarse por primera vez el mamífero. Esta capacidad para detectar gusano redondo, gusano látigo o gusano de gancho tan pronto tras la infección, y antes de la aparición de cualquier huevo en las heces del mamífero infectado, es sorprendente porque generalmente los huevos no aparecen en las heces de un huésped infeccioso hasta aproximadamente de cinco a ocho semanas tras infectarse el huésped.

Por tanto, la presente invención incluye métodos, dispositivos y kits que usan anticuerpos y/o fragmentos de los mismos para capturar específicamente y detectar y distinguir entre antígenos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en un mamífero. La capacidad de la presente invención para detectar y diagnosticar gusano redondo incluso cuando también están presentes uno o más de otros tipos de gusanos permite al cuidador del

mamífero la oportunidad de seleccionar de manera óptima un tratamiento para eliminar el gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho del mamífero. Además, la capacidad de la presente invención para, en algunos casos, detectar gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho tal sólo 9 días tras infectarse por primera vez el mamífero proporciona la posibilidad de que el cuidador pueda comenzar tal tratamiento antes de que el mamífero enferme gravemente. Una intervención antes de la aparición de huevos en las heces también reduciría enormemente o eliminaría la posibilidad de que se propague la infestación a otros animales o seres humanos.

II. Definiciones y usos de términos

El término “composiciones de la invención” se refiere a todos los ácidos nucleicos, polipéptidos, anticuerpos y mezclas que incluyen uno o más de esos ácidos nucleicos, polipéptidos y anticuerpos y uno o más de otros compuestos, que pueden usarse para detectar la presencia o ausencia de gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho en una muestra obtenida de un mamífero llevando a cabo el método de la presente invención que se describen explícitamente, se abarcan implícitamente o se dan a conocer de otro modo en el presente documento.

“Una muestra de un mamífero” en la que puede detectarse gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho mediante la presente invención incluye todos los componentes corporales y extractos de los mismos, tales como cualquier fluido, sólido, célula o tejido, que pueden contener antígeno de gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Por tanto, las muestras a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a ser, heces, leche, sangre completa y partes de la misma, incluyendo suero, y además incluyen extractos tisulares, incluyendo tejido de glándula mamaria, intestino, hígado, corazón, pulmón, esófago, cerebro, músculo y ojo, por ejemplo. La muestra puede tomarse directamente del mamífero o la muestra puede tomarse de cualquier cosa que haya entrado en contacto con el mamífero. Por ejemplo, la muestra pueden ser deposiciones fecales recientes o en descomposición del mamífero. Como otro ejemplo, la muestra puede incluir tierra, barro, arena, material vegetal o cualquier otro material que puede mezclarse con componentes corporales que puede dejar atrás un mamífero, tales como heces, por ejemplo. Como tal, la muestra puede tomarse de una fuente del entorno, incluyendo tierra, material en descomposición o material fecal de bosques, granjas o zonas residenciales, incluyendo cajas de arena, patios, jardines, areneros, parques infantiles, parques y playas. Independientemente del origen o el contenido de la muestra, esta muestra se denomina algunas veces en el presente documento “muestra”, “muestra de mamífero”, “muestra de prueba” o “muestra sometida a prueba”.

Tal como se usa en el presente documento, “ácido nucleico” es sinónimo de, y por tanto se usa de manera intercambiable con, “gen”, “ADN”, “ADNc”, “EST”, “polinucleótido”, “oligonucleótido”, “poli(ácido nucleico)”, “ARN” y “ARNm”. Un ácido nucleico puede estar en forma bicatenaria o puede estar en forma monocatenaria. Además, un ácido nucleico o bien se aísla de manera natural, tal como de un gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho completo o de una parte de los mismos, por ejemplo, o bien se sintetiza artificialmente, o bien en un organismo huésped recombinante o bien mediante cualquier otro medio artificial conocido por el experto en la técnica, tal como empleando una técnica basada en PCR, creando un organismo transgénico que sintetiza el ácido nucleico, usando una máquina de síntesis de ADN, o mediante cualquier otra técnica molecular, por ejemplo.

“Polipéptido”, “péptido” y “proteína” son términos sinónimos que se usan de manera intercambiable en el presente documento para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácido. Un polipéptido, péptido y proteína de la presente invención puede o bien aislarse de manera natural, tal como de un gusano redondo, gusano látigo o gusano de gancho completo o de una parte de gusano redondo, gusano látigo o gusano de gancho por ejemplo, o bien sintetizarse artificialmente, o bien en un organismo huésped recombinante o bien mediante cualquier otro medio artificial conocido por el experto en la técnica.

El término “anticuerpo” o “anticuerpo de la presente invención” se refiere a cualquier anticuerpo que puede unirse específicamente a uno o más antígenos para el gusano particular sin unión a antígenos de los otros gusanos. Por ejemplo, anticuerpos frente al uno o más antígenos de gusano redondo pueden unirse específicamente a uno o más antígenos de gusano redondo, pero no a ningún antígeno de gusano de gancho o gusano látigo, y anticuerpos frente al uno o más antígenos de gusano látigo pueden unirse específicamente a uno o más antígenos de gusano látigo, pero no a ningún antígeno de gusano redondo y gusano de gancho. Los anticuerpos de la presente invención pueden obtenerse contra uno o más polipéptidos inmunogénicos de la presente invención. A menos que se mencione lo contrario, debe entenderse que el anticuerpo de la presente invención puede incluir una mezcla de dos o más tipos diferentes de anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser una mezcla de dos tipos de anticuerpos, en la que uno de los dos tipos se une específicamente a un antígeno particular y el otro de los dos tipos se une específicamente a algún otro antígeno.

El término “primer anticuerpo” tal como se usa en el presente documento significa uno o más anticuerpos que pueden unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho.

El término “segundo anticuerpo” tal como se usa en el presente documento significa uno o más anticuerpos que pueden unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho.

El término “tercer anticuerpo” tal como se usa en el presente documento significa uno o más anticuerpos que pueden unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo.

El “polipéptido inmunogénico de la presente invención” y, más sencillamente, “el polipéptido de la presente invención”, es un inmunógeno contra el cual pueden obtenerse los anticuerpos de la presente invención. Todos los “polipéptidos de la presente invención” son inmunógenos y por tanto pueden usarse para provocar una respuesta inmunitaria en un animal huésped para producir los anticuerpos de la presente invención. A menos que se mencione lo contrario, debe entenderse que el polipéptido de la presente invención puede ser un componente de una composición mixta de una pluralidad de componentes.

Un “inmunógeno” es cualquier agente, tal como el polipéptido inmunogénico de la presente invención, por ejemplo, que puede provocar una respuesta inmunitaria en un animal que se expone a ese agente.

El término “gusano redondo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a helmintos tales como gusanos redondos intestinales del orden *Ascaridida*, que incluye los géneros *Toxocara*, *Toxascaris*, *Baylisascaris*, *Ascaridia*, *Parascaris*, *Ascaris*, *Isaia* y *Pseudoterranova*. Por tanto, el término “gusano redondo”, tal como se usa en el presente documento, no se refiere a la totalidad del filo *Nematoda*. Por tanto, “gusano redondo” no incluye ningún miembro de los géneros *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Necator*, *Trichuris*, *Wuchereria*, *Brugia* o *Dirofilaria*.

Un “coproantígeno de gusano redondo” es cualquier producto de gusano redondo que está presente en las heces de un mamífero que tiene una infección por gusano redondo y al que pueden unirse específicamente uno o más de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, un coproantígeno de gusano redondo puede ser, pero no se limita a ser, uno o más de los polipéptidos de la invención. Los presentes inventores han determinado que una isoforma de 7 kD C-terminal novedosa de DIV6728, que es una proteína excretora/secretora de *T. canis*, está presente en heces de animales caninos con infección por *T. canis* tan sólo 38 días tras infectarse por primera vez los animales caninos por *T. canis*. Por tanto, un “coproantígeno de gusano redondo” puede ser esta isoforma de 7 kD C-terminal novedosa de DIV6728 (que se denomina en el presente documento “Copro6728”) que han observado los presentes inventores en heces de animal canino.

El término “gusano látigo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a helmintos tales como gusanos látigos intestinales de los géneros *Trichuris* y *Trichocephalus*. Por tanto, los gusanos látigos a modo de ejemplo incluyen *Trichuris vulpis*, *Trichuris campanula*, *Trichuris serrata*, *Trichuris suis*, *Trichuris trichiura*, *Trichuris discolor* y *Trichocephalus trichiuris*. Además, el término “gusano látigo”, tal como se usa en el presente documento, no se refiere a la totalidad del filo *Nematoda*. Por ejemplo, “gusano látigo” no incluye ningún miembro de los géneros *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Necator*, *Toxocara*, *Toxascaris*, *Ascaris*, *Wuchereria*, *Brugia* o *Dirofilaria*.

Un “coproantígeno de gusano látigo” es cualquier producto de gusano látigo que está presente en las heces de un mamífero que tiene una infección por gusano látigo y al que pueden unirse específicamente uno o más de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, un coproantígeno de gusano látigo puede ser, pero no se limita a ser, uno o más de los polipéptidos de la invención.

El término “gusano de gancho”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a helmintos tales como gusano de gancho intestinal de los géneros *Ancylostoma*, *Necator* y *Uncinaria*. Por tanto, los gusanos de gancho a modo de ejemplo incluyen *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenal*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme* y *Ancylostoma pluridentatum*, *Necator americanus* y *Uncinaria stenocephala*. Además, el término “gusano de gancho”, tal como se usa en el presente documento, no se refiere a la totalidad del filo *Nematoda*. Por ejemplo, “gusano de gancho” no incluye ningún miembro de los géneros *Trichuris*, *Trichocephalus*, *Toxocara*, *Toxascaris*, *Ascaris*, *Wuchereria*, *Brugia* o *Dirofilaria*.

Un “coproantígeno de gusano de gancho” es cualquier producto de gusano de gancho que está presente en las heces de un mamífero que tiene una infección por gusano de gancho y al que pueden unirse específicamente uno o más de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, un coproantígeno de gusano de gancho puede ser, pero no se limita a ser, uno o más de los polipéptidos de la invención. Los presentes inventores han determinado que una isoforma de 28 kDa N-terminal novedosa de ASP5, que es una proteína excretora/secretora de *Ancylostoma*, está presente en heces de animales caninos con infección por *Ancylostoma* tan sólo 9 días tras infectarse por primera vez los animales caninos por *Ancylostoma*. Por tanto, un “coproantígeno de gusano de gancho” puede ser esta isoforma de 28 kDa N-terminal novedosa de ASP5 (que se denomina en el presente documento “CoproASP5”) que han observado los presentes inventores en heces de animal canino.

“Específico para”, “se une específicamente” y “se une de manera estable” significa que una composición particular de la invención, tal como un anticuerpo, polipéptido u oligonucleótido de la presente invención, por ejemplo, reconoce o se une a uno o más de otros agentes con mayor afinidad que a al menos otro agente. Como ejemplo, se dice que un anticuerpo de la presente invención es “específico para”, “se une específicamente a” y “se une de manera estable a” antígenos de gusano redondo siempre que ese anticuerpo puede reconocer y unirse a esos

antígenos de gusano redondo con mayor afinidad que a cualquier otro antígenos de un gusano parásito distinto de gusano redondo. Tal especificidad de unión puede someterse a prueba usando metodología bien conocida en la técnica, por ejemplo, ELISA o un radioinmunoensayo (RIA). Basándose en información observada referente a la especificidad de unión de una composición particular de la invención, el método de la presente invención puede llevarse a cabo en condiciones que permiten que la composición se una a (y por tanto permiten la detección de tal unión a) un agente o agentes particulares, pero que no se una significativamente a otros agentes, mientras se mantienen esas condiciones. Como ejemplo, el método de la presente invención puede llevarse a cabo en condiciones que permiten que un anticuerpo de la presente invención se una a (y por tanto permiten la detección de tal unión a) uno o más antígenos de gusano redondo presentes en una muestra particular, pero no significativamente a ningún antígeno de gusano de gancho o gusano látigo que puede estar presente en esa muestra, permitiendo así distinguir entre gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho.

“Detectar gusano redondo” significa detectar uno o más productos específicos de gusano redondo, incluyendo uno o más de los polipéptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos de la presente invención, o uno o más antígenos de gusano redondo, o Copro6728, por ejemplo. La presencia de uno o más de tales productos de gusano redondo en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero tiene una infección por gusano redondo, independientemente de si también está presente cualquier organismo de gusano redondo completo o huevo del mismo en esa muestra. A la inversa, la ausencia de uno o más de tales productos de gusano redondo en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero no tiene una infección por gusano redondo.

“Detectar gusano látigo” significa detectar uno o más productos específicos de gusano látigo, incluyendo uno o más de los polipéptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos de la presente invención, o uno o más antígenos de gusano látigo, por ejemplo. La presencia de uno o más de tales productos de gusano látigo en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero tiene una infección por gusano látigo, independientemente de si también está presente cualquier organismo de gusano látigo completo o huevo del mismo en esa muestra. A la inversa, la ausencia de uno o más de tales productos de gusano látigo en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero no tiene una infección por gusano látigo.

“Detectar gusano de gancho” significa detectar uno o más productos específicos de gusano de gancho, incluyendo uno o más de los polipéptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos de la presente invención, o uno o más antígenos de gusano de gancho, o CoproASP5, por ejemplo. La presencia de uno o más de tales productos de gusano de gancho en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero tiene una infección por gusano de gancho, independientemente de si también está presente cualquier organismo de gusano de gancho completo o huevo del mismo en esa muestra. A la inversa, la ausencia de uno o más de tales productos de gusano de gancho en una muestra de un mamífero es indicativa de que el mamífero no tiene una infección por gusano de gancho.

“Aminoácido” se refiere a aminoácidos que se producen de manera natural y sintéticos. Los residuos de aminoácido se abrevian de la siguiente manera: alanina es A o Ala; arginina es R o Arg; asparagina es N o Asn; ácido aspártico es D o Asp; cisteína es C o Cys; ácido glutámico es E o Glu; glutamina es Q o Gln; glicina es G o Gly; histidina es H o His; isoleucina es I o Ile; leucina es L o Leu; lisina es K o Lys; metionina es M o Met; fenilalanina es F o Phe; prolina es P o Pro; serina es S o Ser; treonina es T o Thr; triptófano es W o Trp; tirosina es Y o Tyr; y valina es V o Val. Excepto cuando se defina lo contrario en el presente documento, X o Xaa representa cualquier aminoácido. Otros aminoácidos relevantes incluyen, pero no se limitan a ser, 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina. En todos los casos, la secuencia de aminoácidos de un polipéptido descrito o al que se hace referencia de otro modo en el presente documento se presenta en forma convencional en cuanto a que el residuo de aminoácido más a la izquierda, o primero, de la secuencia es el residuo N-terminal y el residuo de aminoácido más a la derecha, o último, de la secuencia es el residuo C-terminal.

Una “variante conservativa” de cualquier secuencia de ácido nucleico particular incluye cualquier secuencia que tiene una o más sustituciones de codón degeneradas con respecto a esa secuencia de ácido nucleico particular, cualquier secuencia que tiene una o más sustituciones, inserciones y deleciones de nucleótido con respecto a esa secuencia de ácido nucleico particular, y la secuencia complementaria de ese ácido nucleico particular y las variantes conservativas de esa secuencia complementaria. Las variantes conservativas de una secuencia de ácido nucleico particular tienen preferiblemente una identidad de al menos aproximadamente el 85%, más preferiblemente tienen una identidad de al menos aproximadamente el 90%, e incluso más preferiblemente una identidad de al menos aproximadamente el 95-99%, con respecto a esa secuencia de ácido nucleico particular. Las variantes conservativas de una secuencia de ácido nucleico particular pueden sintetizarse artificialmente o pueden aislarse en su forma natural de un organismo.

Una “variante conservativa” de cualquier secuencia de polipéptido particular es cualquier polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que varía con respecto a la secuencia de aminoácidos de ese polipéptido particular pero todavía conserva las propiedades de unión específica de ese polipéptido particular, de tal manera que un anticuerpo de la presente invención que se obtiene contra el polipéptido particular puede unirse específicamente al polipéptido variante. Por tanto, por ejemplo, una variante conservativa de un polipéptido particular puede tener una o más sustituciones, deleciones, adiciones e inserciones de aminoácido con respecto a ese polipéptido particular. Por ejemplo, una variante conservada de un polipéptido particular puede tener 30 o menos, 25 o menos, 20 o menos, 15

o menos, 10 o menos, o 5 o menos, sustituciones de aminoácido conservadas con respecto a ese polipéptido particular. Las variantes conservativas de un polipéptido particular tienen preferiblemente, pero no esencialmente, una identidad de al menos aproximadamente el 80%, más preferiblemente tienen una identidad de al menos aproximadamente el 90%, e incluso más preferiblemente una identidad de al menos aproximadamente el 91-99%, con respecto a ese polipéptido particular. Una identidad en porcentaje para cualquier secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos objeto (por ejemplo, cualquiera de los polipéptidos descritos en el presente documento) con respecto a otra secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos "diana" puede determinarse de la siguiente manera. En primer lugar, puede compararse una secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos diana de la invención y alinearse con una secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos objeto, usando el programa BLAST 2 Sequences (B12seq) de la versión independiente de BLASTZ que contiene BLASTN y BLASTP (por ejemplo, versión 2.0.14). La versión independiente de BLASTZ puede obtenerse en www.ncbi.nlm.nih.gov. Pueden encontrarse instrucciones que explican cómo usar BLASTZ, y específicamente el programa B12seq, en el archivo "readme" que acompaña a BLASTZ. Los programas también se describen en detalle por Karlin *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. 87:2264; Karlin *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:5873; y Altschul *et al.* (1997) Nucl. Acids Res. 25:3389.

"CoproASP5" se refiere a un fragmento de 28 kD N-terminal de ASP5 encontrado en heces de mamífero.

"Copro6728" se refiere a una porción 7 kD C-terminal de DIV6728 encontrada en heces de mamífero. En una realización específica, copro6728 no incluye el extremo C-terminal de DIV6728 de longitud completa.

B12seq realiza una comparación entre la secuencia objeto y una secuencia diana usando el algoritmo o bien BLASTN (usado para comparar secuencias de ácido nucleico) o bien BLASTP (usado para comparar secuencias de aminoácidos). Normalmente, se usan los parámetros por defecto de una matriz de puntuación BLOSUM62, coste de existencia de hueco de 11 y coste de extensión de 1, un tamaño de palabra de 3, un valor esperado de 10, un coste por residuo de 1 y una razón lambda de 0,85, cuando se realizan alineaciones de secuencias de aminoácidos. El archivo generado contiene regiones alineadas de homología entre la secuencia diana y la secuencia objeto. Una vez alineadas, se determina la longitud contando el número de nucleótidos o residuos de aminoácido consecutivos (es decir, excluyendo huecos) de la secuencia diana que se alinean con la secuencia de la secuencia objeto comenzando con cualquier posición correspondiente y terminando con cualquier otra posición correspondiente. Una posición correspondiente es cualquier posición en la que está presente un nucleótido o residuo de aminoácido idéntico tanto en la secuencia diana como en la objeto. Pueden insertarse huecos de uno o más residuos en una secuencia diana u objeto para maximizar alineaciones de secuencias entre dominios estructuralmente conservados (por ejemplo, hélices α , láminas β y bucles).

La identidad en porcentaje a lo largo de una longitud particular se determina contando el número de posiciones correspondientes a lo largo de esa longitud particular, dividiendo ese número entre la longitud y multiplicando el valor resultante por 100. Por ejemplo, si (i) se compara una secuencia diana de 500 aminoácidos con una secuencia de aminoácidos objeto, (ii) el programa B12seq presenta 200 aminoácidos de la secuencia diana alineados con una región de la secuencia objeto en la que los aminoácidos primero y último de esa región de 200 aminoácidos son correspondencias, y (iii) el número de correspondencias a lo largo de esos 200 aminoácidos alineados es de 180, entonces la secuencia diana de 500 aminoácidos contiene una longitud de 200 y una identidad de secuencia a lo largo de esa longitud del 90% (es decir, $180/200 \times 100 = 90$). Se apreciará que una secuencia diana de ácido nucleico o de aminoácidos que se alinea con una secuencia objeto puede dar como resultado muchas longitudes diferentes teniendo cada longitud su propia identidad en porcentaje. Se indica que el valor de identidad en porcentaje puede redondearse al decimal más próximo. Por ejemplo, 78,11, 78,12, 78,13 y 78,14 se redondean a 78,1, mientras que 78,15, 78,16, 78,17, 78,18 y 78,19 se redondean a 78,2. También se indica que el valor de longitud siempre será un número entero.

Variantes conservativas de una secuencia de polipéptido particular pueden sintetizarse artificialmente o pueden aislarse en su forma natural de un organismo, incluyendo de un organismo de gusano redondo, tal como *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, y *Ascaris*, de un organismo de gusano látigo, tal como *Trichuris* y *Trichocephalus* y de un organismo de gusano de gancho, tal como *Ancylostoma*, *Necator* y *Uncinaria* por ejemplo. En un ejemplo específico, no limitativo, para gusano redondo, el polipéptido de la invención que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 27 mostrada a continuación es una variante conservativa del polipéptido de la presente invención que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 26 en cuanto a que SEQ ID NO: 27 es idéntica en más del 95% a SEQ ID NO: 26 a lo largo de una alineación de 126 aminoácidos. Más generalmente, cada una de SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 30 son variantes conservadas entre sí. También debe entenderse que la presente invención contempla otras variantes conservadas de SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 30 tal como se describe en el presente documento, pero el experto en la técnica reconocerá que todas estas variantes contempladas son demasiado numerosas como para indicarlas. El experto en la técnica también reconocerá que esas variantes incluyen, pero no se limitan a, las que tienen una o más sustituciones de residuos de aminoácido básicos, una o más sustituciones de residuos de aminoácido ácidos, una o más sustituciones de residuos de aminoácido polares, una o más sustituciones de residuos de aminoácido hidrófobos, una o más sustituciones de residuos de aminoácido aromáticos, y una o más sustituciones de residuos de aminoácido pequeños. (Residuos de aminoácido "básicos" son K, R y H. Residuos de aminoácido "ácidos" son D y E. Residuos de aminoácido "polares"

son N y Q. Aminoácidos “hidrófobos” son I, L y V. Residuos de aminoácido “aromáticos” son F, Y y W. Aminoácidos “pequeños” son G, S, A, T y M).

III. Ácidos nucleicos y polipéptidos de la invención

Los ácidos nucleicos y polipéptidos de la invención se describen en detalle en las solicitudes provisionales: “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Whipworm”, solicitud con n.º de serie: 61/128.077, presentada el 19 de mayo de 2008; “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”, solicitud con n.º de serie 61/128.079, presentada el 19 de mayo de 2008; “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”, solicitud con n.º de serie 61/128.076, presentada el 19 de mayo de 2008; “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”, solicitud con n.º de serie 61/128.099, presentada el 19 de mayo de 2008; “Compositions, Devices, Kits and Methods for Detecting Hookworm”, solicitud con n.º de serie 61/122.254, presentada el 12 de diciembre de 2008; y las solicitudes de utilidad: “Roundworm Coproantigen Detection”, solicitud con n.º de serie 11/763.592, presentada el 15/6/2007 y “Device, Kit and Method for Hookworm Antigen Detection”, solicitud con n.º de serie 11/763.583, presentada el 15/6/2007, “Methods, Devices, Kits, Compositions for Detecting Roundworm” presentada simultáneamente con el presente documento, y todas se incorporan como referencia en su totalidad.

En un intento por identificar composiciones que pueden usarse para confirmar la presencia o ausencia de gusano redondo en una muestra fecal y para distinguir gusano redondo de otras infecciones por gusanos parásitos, se diseñó una pluralidad de cebadores oligonucleotídicos, se sintetizaron y se usaron en reacciones de 5' RACE, 3'RACE y RT-PCR que incluyeron ARN total aislado o bien de *Toxocara canis* adulto completo o bien de *Toxocara cati* adulto completo. Como resultado de estos esfuerzos, se dedujo una secuencia de ADNc de 469 nucleótidos de *Toxocara canis* (identificada en el presente documento como SEQ ID NO: 25), y se dedujo una secuencia de ADNc de 548 nucleótidos de *Toxocara cati* (identificada en el presente documento como SEQ ID NO: 26). (Búsquedas en BLAST que se llevaron a cabo usando SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 26 indicaron que estas secuencias codifican probablemente para miembros de familias de inhibidor de serina proteasa que se identificaron por primera vez en *Ascaris*, pero que hasta ahora no se habían identificado ni en *T. canis* ni en *T. cati*).

En un intento por identificar composiciones que puedan usarse para confirmar la presencia o ausencia de gusano látigo en una muestra fecal y para distinguir gusano látigo de otras infecciones por gusanos parásitos, se diseñó una pluralidad de cebadores oligonucleotídicos, se sintetizaron y se usaron en reacciones de 5' RACE, 3'RACE y RT-PCR que incluyeron ARN total aislado de *Trichuris vulpis* adulto completo. Como resultado de estos esfuerzos, se dedujeron una secuencia de ADNc de 1210 nucleótidos y una secuencia de ADNc de 1059 nucleótidos (identificadas en el presente documento como SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, respectivamente). (Búsquedas en BLAST que se llevaron a cabo usando SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 indicaron que estas secuencias codifican probablemente para porina, que es una proteína excretora/secretora de gusano látigo principal que se ha descrito en el parásito de ratón *Trichuris muris* y el parásito humano *Trichuris trichiuria*, pero que hasta ahora no se habían identificado en *Trichuris vulpis*).

Anteriormente, Zhan y colaboradores describieron la identificación molecular y caracterización parcial de ASP-5, que es una proteína excretora/secretora de *Ancylostoma* (véase Zhan *et al.*, International Journal for Parasitology 33:897-907 (2003)). En sus estudios, el grupo de Zhan describió una única forma de la proteína ASP-5 que tiene una masa de aproximadamente 56 kDa, secretada a partir de parásitos cultivados *in vitro*.

La proteína ASP-5, que incluye una cola de His6 N-terminal (SEQ ID NO: 33), puede codificarse por la secuencia nucleica de SEQ ID NO: 31:

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCA
 GCCATATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTGCGGGATCCGAATTCTGA
 GCTCACCACCTTGTCAGGAAATGATCTAACAGATGCTGAACGCACACTGCTAACTA
 GGGTGCACAATTCCATTCGACGGGAAATAGCGCAAGGAGTTGCAAACAACCTACCA
 TGGTGGTAAACTGCCTGCTGGAAAGAACATATACAGGATGAGATACAGCTGTGAG
 CTGGAACAGGCTGCTATTGATGCTAGTCAAACCTTCTGTTCCGCATCATTGGAGGA
 ACCACAGAAATATGGACAAAACATCCAAGCATACGTACACCATCTATAATCGCT
 CGCCCGAAAAACGACCTTCTTGAAGATGCAGTGAAACAATGGTATCTGCCTGTTAT
 CTACTACGGCCAACGCGACGCGGCCAACAAAGTTACCGGATCCGCGCTTGTACACAT
 TTGCAAACCTCGCCTACGACAAGAACTGCACTTGGCTGTCACTATGCGAAATGT
 CAAGGCCCTGACAGAATCGTCATTAGTTGCATGTACAACAACGTCGTTCTTGACAA
 CGCTGTGATCTACGAGCCAGGAACTGCTTGCCTAAAAGATCAGGACTGCACTACTT
 ATCCTCAGTCCACATGCAAGGACAGCCTTTGCATTATTCCTACGCCACATCCACCA
 AATCCACCAAATCCACCACCTGCAATGTGTCCAAACGCTGAAATGACTGATGCAGC
 ACGAAAGAAGGTCCTCGACATGCACAACTGGCGCAGATCGCAGCTCGCTCTGGGA
 AACGTTCAAAACGGGAAAAATGCTTACAACCTGCCCCACTGCAACAGACATGTACA
 AGATGGAATATGATTGCGACCTCGAGAACAGCGCTCTAGCGTATGCAAAGCAATG
 TAGTCTCGTTGGTTTCAGCAGAAGGAACTCGTCCAGGAGAAGGCGAGAATGTCCAC
 AAAGGCGCTCTCGTAACCGATCCGGAGGCTGCAGTTCAGACCGCAGTTCAAGCAT
 GGTGGAGTCAAATCTCACAAAATGGACTCAATGCACAGATGAAATTCAGTGTCTTC
 TTGAAGGACAAGCCTGACGCTCCGACAGCGTTTACACAGATGGCGTGGGCCAAAT
 CCGTAAAGCTTGGATGTGCTGTCTCTAATTGTGAGGAGATACCTTCACCGTCTGT
 AGATACAAAGCTGCCGGAAACATCGTGGGCGAATTCATCTATACCAAGGGAAATG
 TATGCGACGCCTGTAAAGCCACATGCATTACCGCGGAAGGTCTTTGCCCAACGCCT
 TGAGCGGCCGC (SEQ ID NO: 31)

- En un esfuerzo por identificar herramientas para capturar y detectar antígeno de gusano de gancho y/o gusano de gancho en mamíferos con infección por gusano de gancho, los presentes inventores han determinado que una proteína modificada de aproximadamente 28 kDa, en vez de la versión de 56 kDa, está presente en las heces de animales caninos que tienen infección por *Ancylostoma*. (Esta versión de 28 kDa de ASP5 se denomina en el presente documento "CoproASP5"; la detección de CoproASP5 en heces de animales caninos con infección por *Ancylostoma* se describe en la sección de ejemplos incluida en el presente documento). Por tanto, en un aspecto, la presente invención proporciona polipéptidos que pueden usarse para generar anticuerpos que pueden usarse para capturar específicamente y detectar CoproASP5. Un polipéptido de este tipo que puede usarse para generar anticuerpos que pueden usarse para unirse a CoproASP5 se denomina polipéptido ASP5-1, que puede codificarse por la siguiente secuencia de ácido nucleico:

ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGC
 AGCCATATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTGCGGGATCCGAATTC
 GAGCTCACCACCTTGTCAGGAAATGATCTAACAGATGCTGAACGCACACTGCTA
 ACTAGGGTGCACAATTCCATTCGACGGGAAATAGCGCAAGGAGTTGCAAACAAC
 TACCATGGTGGTAAACTGCCTGCTGGAAAGAACATATACAGGATGAGATACAGC
 TGTGAGCTGGAACAGGCTGCTATTGATGCTAGTCAAACCTTCTGTTCCGCATCAT
 TGGAGGAACCACAGAAATATGGACAAAACATCCAAGCATACGTACACCATCTA
 TAATCGCTCGCCCGAAAAACGACCTTCTTGAAGATGCAGTGAAACAATGGTATCT
 GCCTGTTATCTACTACGGCCAGCGCGACGCGGCCAACAAAGTTTACGGATCCGCGC
 TTGTACACATTTGCAAACCTCGCCTACGACAAGAACTGCACTTGGCTGTCACT
 ATGCGAAATGTCAAGGCCCTGACAGAATCGTCATTAGTTGCATGTACAACAACGT
 CGTTCCTGACAACGCAGTGATCTACGAGCCTGGAAGTGTGCGTAAAAGATGCG
 GACTGCACTACTTATCCTCAGTCCACATGCAAGGACAGCCTTTGCATTATTCCTA
 CGCCACATCCACCAAATCCACCAAATCCACCACCAGCAATGAGTCCATGAGCGG
 CCGC (SEQ ID NO: 32)

Un experto en la técnica apreciará que debido a la degeneración del código genético, secuencias de ácido nucleico distintas de SEQ ID NO: 32 pueden codificar para el polipéptido de SEQ ID NO: 34 si se realizan sustituciones de codones apropiadas (silenciosas).

El análisis de las secuencias de gusano redondo correspondientes a SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 25 indicó que cada una de estas secuencias de gusano redondo contiene un marco de lectura abierto (ORF) grande. Específicamente, el ORF grande de SEQ ID NO: 24 corresponde a los nucleótidos 21 a 446 de SEQ ID NO: 24 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MLPITFLLAIIVGA AVAHRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMMCRPPSCECM
AGKGLRRTADGRCVPEAQCPKRMVVRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVPCP
RMCKPPGCECPASEGFVRNDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO:26).**

Además, el ORF grande de SEQ ID NO: 25 corresponde a los nucleótidos 21 a 446 de SEQ ID NO: 25 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MLPLTFLLAFIVGA AVAHRKCGPNEEWTECTGCEMKCGEGETPCPMMCRPPSCECM
AGKGLRRTPDGRCVPEAQCPKHMVVRDEKCGKNEKFLKCRGCEGTCKERLVPCPK
MCKPPGCECPASEGFVRNDKHECIKFDDCPK (SEQ ID NO:27).**

SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 30 se exponen en la solicitud provisional con n.º de serie 61/128.076 presentada el 19 de mayo de 2008 que se incorpora como referencia en su totalidad.

El análisis de las secuencias de gusano látigo correspondientes a SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 indicó que cada una de estas secuencias de gusano látigo contiene un ORF grande. Específicamente, el ORF grande de SEQ ID NO: 1 corresponde a los nucleótidos 32 a 1147 de SEQ ID NO: 1 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano látigo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MRLVFHAVIYLTGLFLDAVREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCTIAEG
RGCVPYGEQHFVVKPGHCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCCLTSGYDCTH
PLHFPIQPQPPVGQCPSKPRIPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLV
PGQGERPGNCPNEPRIRGTKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPG
HCPPIADVGSARYCDTDRDCDGPCKCCLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSR
PRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGT
KYDCRRDDDCDGGKQKCCYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO:3).**

Además, el ORF grande de SEQ ID NO: 2 corresponde a los nucleótidos 1 a 1059 de SEQ ID NO: 2 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano látigo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**VREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPYGEQDFEVVKPG
HCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCCLTSGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPSK
PRVPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVAGQGERPGNCPNEPRIR
GTKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPPIADVGSARYCDT
DRDCDGPCKCCLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANC
PDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGTKYDCRRDDDCDGGKQK
CCYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO:4).**

SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, y SEQ ID NO: 9 se exponen en la solicitud provisional con n.º de serie 61/128.077 presentada el 19 de mayo de 2008 que se incorpora como referencia en su totalidad.

El análisis de las secuencias de gusano redondo correspondientes a SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11 indicó que cada una de estas secuencias contiene un ORF grande. Específicamente, tal como se muestra, el ORF grande de SEQ ID NO: 10 corresponde a los nucleótidos 2 a 616 de SEQ ID NO: 11 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**KKIYGVAASRRRRHHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMH
YYEHLEGDAKHEATEQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEE
ALHAVTDEEKKQHIAEFGPACKKIYGVAASRRRRHHFTLENSLDTHLKWLSHEQKE
ELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGMLLALCILY (SEQ ID NO:12).**

Además, el ORF grande de SEQ ID NO: 11 corresponde a los nucleótidos 1 a 486 de SEQ ID NO: 11 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**IYGVAASRRRRHHFTLEKSLDTHLKWLSHEQKEELLKMKKDGKSKKELQDKVMHF
YEHLEGDAKHEATEQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEDA
LHAVTDEEKKQHIAEFGPACKEIFGVPIIDVRHHRDPYTNMTPDEVAEGLRS (SEQ ID
NO:13).**

SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, y SEQ ID NO: 16 se exponen en la solicitud provisional con n.º de serie 61/128.079 presentada el 19 de mayo de 2008 que se incorpora como referencia en su totalidad.

El análisis de las secuencias de gusano redondo correspondientes a SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 indicó que cada una de estas secuencias de gusano redondo contiene un marco de lectura abierto (ORF) grande. Específicamente, el ORF grande de SEQ ID NO: 17 corresponde a los nucleótidos 28 a 456 de SEQ ID NO: 17 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MLSVLALFALITFAVAGPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSP
GRGMRRTNDGRCIPASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNC
RPPGCECVAGAGFVRDAEGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO:19).**

Además, el ORF grande de SEQ ID NO: 2 corresponde a los nucleótidos 29 a 457 de SEQ ID NO: 18 y se predice que codifica para un polipéptido de gusano redondo que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MLSVLALFALITFAVADPKSCGPNEVWTECTGCELKCGQDEDTPCTLNCRPPSCECS
PGRGMRRTDDGRCIPASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNC
CRPPGCECVAGAGFVRDAAGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO:20).**

SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, y SEQ ID NO: 23 se exponen en la solicitud provisional con n.º de serie 61/128.099 presentada el 19 de mayo de 2008 que se incorpora como referencia en su totalidad.

El análisis de las secuencias de gusano de gancho correspondientes a SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 32 indicó que cada una de estas secuencias de gusano de gancho contiene un marco de lectura abierto (ORF) grande. Específicamente, el ORF grande de SEQ ID NO: 31 se predice que codifica para un polipéptido de gusano de gancho que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMASMTGGQQMGRGSEFELTTCPGNDLTDARTLLT
RVHNSIRREIAQGVANNYHGGKLPAGKNIYRMRYSCLEQA AIDASQTFCASLEEP
QKYGQNIQAYVTPSIARPKNDLLEDAVKQWYLPVIYYGQRDAANKFTDPRLYTFAN
LAYDKNTALGCHYAKCQGPDRIVISCMYNNVVPDNAVIEPGTACVKDQDCTTYPQ
STCKDSLIIPTPHPPNPPNPPAMCPNAEMTDAARKKVLDNMHNWRRSQLALGNVQ
NGKNAYNCPTATDMYKMEYDCDLENSALAYAKQCSLVGSAEGTRPGEGENVHKG
ALVTDPEAAVQTAVQAWWSQISQNGLNAMKFTAFLKDKPDAPTAFTQMAWAKS
VKLGCAVSNQADTFTVCRYKAAGNIVGEFIYTKGNVCDACKATCITAEGLCPTP
(SEQ ID NO:33).**

Los primeros 38 aminoácidos de SEQ ID NO: 33 se derivan de un vector de clonación, el experto en la técnica apreciará que esta porción puede omitirse o sustituirse por otras parejas de fusión adecuadas.

Además, el ORF grande de SEQ ID NO: 32 se predice que codifica para un polipéptido de gusano de gancho que

tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMASMTGGQQMGRGSEFELTTCPGNDLTDAERTLLT
RVHNSIRREIAQGVANNYHGGKLPAGKNIYRMRYSCLEQAIDASQTFCASLEEP
QKYGQNIQAYVTPSIARPKNDLLEDAVKQWYLPVIYYGQRDAANKFTDPRLYTFAN
LAYDKNTALGCHYAKCQGPDRIVISCMYNNVVPDNAVIEPGTACVKDADCTTYPQ
STCKDSLIIPTPHPPNPPNPPPAMSP (SEQ ID NO:34).**

- 5 Los polipéptidos de la presente invención se codifican por ácidos nucleicos que tienen una secuencia de nucleótidos que corresponde a la totalidad o a porciones de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 32 y todas las variantes conservativas de estas secuencias. Por tanto, debe entenderse que la secuencia de aminoácidos del polipéptido de la presente invención es variable.

10 Por ejemplo, el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a la totalidad o a una porción de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34 o la totalidad o una porción de una variante conservativa de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34.

20 En un ejemplo específico, el polipéptido de gusano redondo de la presente invención tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MHRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMMCRPPSCECMAGKGLRRTADGRGCV
EAQCPKRMVVRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVPCPRMCKPPGCECPASEGFV
RNDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO:28).**

25 En un ejemplo específico, el polipéptido de gusano látigo de la presente invención tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MVREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQHFVVKP
GHCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPPS
KPRIPGKWVDICAKHANC PDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGERPGNCPNEPRIR
GTKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPPIPADVGSARYCDT
DRDCDGP RKCLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANC
PDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGTKYDCRRDDDCD GKQK
CCYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO:5).**

30 En otro ejemplo específico, el polipéptido de gusano redondo de la presente invención tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MHHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKD GSKSKELQDKIMHYEHLLEGDAKH
EATEQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEEALHAVTDEEKK
QHIAEFGPACKKIYGVAAS (SEQ ID NO: 14).**

35 En otro ejemplo específico, el polipéptido de gusano redondo de la presente invención tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MGPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTNDGRCIP
ASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNCRPPGCECVAGAGFV
RDAEGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO: 21).**

40 En otro ejemplo específico, el polipéptido de gusano de gancho de la invención incluye una secuencia de

aminoácidos que es idéntica u homóloga a una secuencia representada por SEQ ID NO: 34.

Los 125 residuos de aminoácido que siguen al residuo de metionina N-terminal del polipéptido de gusano redondo correspondiente a SEQ ID NO: 28 representan específicamente los residuos de aminoácido 18 a 142 de SEQ ID NO: 26. La metionina N-terminal se añadió artificialmente al extremo N-terminal de este polipéptido llevando a cabo una técnica de clonación convencional. Anticuerpo obtenido contra el polipéptido correspondiente a SEQ ID NO: 28 fue útil para detectar antígeno de gusano redondo. Dado que la metionina N-terminal se añadió artificialmente, y no se piensa que exista de manera natural en *Toxocara* (el residuo que está inmediatamente antes que el residuo de histidina en la posición 18 en cada una de SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 27 es alanina, y no metionina), por tanto se contempla que el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a los residuos de aminoácido 18 a 142 de SEQ ID NO: 26, o, más específicamente:

**HRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMCRPPSCECMAGKGLRRTADGRCVPE
AQCPRMVKRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVPCPRMCKPPGCECPASEGFVR
NDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO:29).**

Los 353 residuos de aminoácido que siguen al residuo de metionina N-terminal del polipéptido de gusano látigo correspondiente a SEQ ID NO: 5 representan específicamente los residuos de aminoácido 20 a 353 de SEQ ID NO: 3. La metionina N-terminal se añadió artificialmente al extremo N-terminal de este polipéptido llevando a cabo una técnica de clonación convencional. Anticuerpo obtenido contra el polipéptido correspondiente a SEQ ID NO: 5 fue útil para detectar antígeno de gusano látigo. Dado que la metionina N-terminal se añadió artificialmente, y no se piensa que exista de manera natural en *Trichuris vulpis* (el residuo que está inmediatamente antes que el residuo de valina en la posición 20 en SEQ ID NO: 3 es alanina), por tanto se contempla que el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a los residuos de aminoácido 20 a 353 de SEQ ID NO: 3, o, más específicamente:

**VREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQHFEVVKPG
HCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGGQCPPSK
PRIPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGERPGNCPNEPRIRG
TKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPPIPADVGSARYCDTD
RDCDGPCKCCLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANCP
DPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGTTYDCRRDDDCDGGKQKC
CYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO:6).**

En otro ejemplo específico, el polipéptido de gusano látigo de la presente invención tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

**MVREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPG
HCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGGQCPPSKPR
VPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVAGQGERPGNCPNEPRIRGTK
YDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPPIPADVGSARYCDTDRDC
DGPRKCCLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEK
CCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGTTYDCRRDDDCDGGKQKCCYTTE
GRECVHGIWP (SEQ ID NO:7).**

Los 353 residuos de aminoácido que siguen al residuo de metionina N-terminal del polipéptido de gusano látigo correspondiente a SEQ ID NO: 7 representan específicamente los residuos de aminoácido 1 a 353 de SEQ ID NO: 4. La metionina N-terminal se añadió artificialmente al extremo N-terminal de este polipéptido llevando a cabo una técnica de clonación convencional. Anticuerpo obtenido contra el polipéptido correspondiente a SEQ ID NO: 7 fue útil para detectar antígeno de gusano látigo. Dado que la metionina N-terminal se añadió artificialmente, por tanto se contempla que el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a los residuos de aminoácido 1 a 353 de SEQ ID NO: 4, o, más específicamente:

VREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDFDCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPGH
CPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCCLTSGYDCTHPLHFPIQPQPPVGGQCPPSKPRV
PGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVAGQGERPGNCPNEPRIRGTKY
DCRRDDDDCDGVQKCCFTVEGRECVEPSRKPLDKPGHCPIPADVGSARYCDTDRDCD
GPRKCCLLSSRGYECKHPVHYPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCC
DTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRIRGTKYDCRRDDDDCDGKQKCCYTTEGR
ECVHGIWP (SEQ ID NO:8).

Los 129 residuos de aminoácido que siguen al residuo de metionina N-terminal del polipéptido de gusano redondo correspondiente a SEQ ID NO: 14 representan específicamente los residuos de aminoácido 14 a 142 de SEQ ID NO: 12. La metionina N-terminal se añadió artificialmente al extremo N-terminal de este polipéptido llevando a cabo una técnica de clonación convencional. Anticuerpo obtenido contra el polipéptido correspondiente a SEQ ID NO: 14 fue útil para detectar antígeno de gusano redondo. Dado que la metionina N-terminal se añadió artificialmente, y no se piensa que exista de manera natural en *Toxocara* (el residuo que está inmediatamente antes que el residuo de histidina en la posición 14 en cada una de SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13 es arginina, y no metionina), por tanto se contempla que el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a los residuos de aminoácido 14 a 142 de SEQ ID NO: 12, o, más específicamente:

HHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGDAKHE
ATEQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEEALHAVTDEEKKQ
HIAEFGPACKKIYGVAAS (SEQ ID NO: 15).

Con 128 aminoácidos, la proteína de gusano redondo DIV6728 (SEQ ID NO: 21) tiene aproximadamente 14 kD de tamaño y tiene un pI teórico de aproximadamente 6,54. Esta proteína pertenece a la superfamilia de TIL, que es un grupo de inhibidores de serina proteasa. En un esfuerzo por identificar herramientas para capturar y detectar gusano redondo y/o antígeno de gusano redondo en mamíferos con infección por gusano redondo, los presentes inventores han determinado que sólo está presente una porción truncada (de aproximadamente 7 kDa) de la proteína de longitud completa (14 kDa), y por tanto no la versión de 14 kDa, en las heces de animales caninos que tienen infección por *T. canis*. (Esta porción truncada de 7 kDa de DIV6728 se denomina en el presente documento "Copro6728"; la detección de Copro6728 en heces de animales caninos con infección por *T. canis* se describe en la sección de ejemplos incluida en el presente documento). Por tanto, en un aspecto la presente invención proporciona polipéptidos que pueden usarse para generar anticuerpos que pueden usarse para capturar específicamente y detectar Copro6728.

Los 127 residuos de aminoácido que siguen al residuo de metionina N-terminal del polipéptido de gusano redondo correspondiente a SEQ ID NO: 21 representan específicamente los residuos de aminoácido 17 a 143 de SEQ ID NO: 19. La metionina N-terminal se añadió artificialmente al extremo N-terminal de este polipéptido llevando a cabo una técnica de clonación convencional. También tal como se describe a lo largo de la sección de ejemplos, anticuerpo obtenido contra el polipéptido correspondiente a SEQ ID NO: 21 fue útil para detectar antígeno de gusano redondo. Dado que la metionina N-terminal se añadió artificialmente, y no se piensa que exista de manera natural en *Toxocara* (el residuo que está inmediatamente antes que el residuo de glicina en la posición 17 en cada una de SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 20 es alanina, y no metionina), por tanto se contempla que el polipéptido de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que corresponde a los residuos de aminoácido 17 a 143 de SEQ ID NO: 19, o, más específicamente:

GPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTNDGRCPA
SQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNCRPPGCECVAGAGFVR
DAEGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO: 22).

Además, en la figura 14 se muestra una alineación de SEQ ID NO: 28 (principalmente secuencia derivada de *Toxocara canis*; siendo la única excepción el residuo de metionina N-terminal) con SEQ ID NO: 27 (secuencia derivada de *Toxocara cati*). Dado que anticuerpo obtenido contra un polipéptido que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 28 fue útil para detectar *Toxocara cati*, se contempla adicionalmente que el polipéptido de la presente invención puede tener la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 30, en la que X en la posición 1 es M o está ausente, X en la posición 2 es L o está ausente, X en la posición 3 es P o está ausente, X en la posición 4 es L o está ausente (o X en la posición 4 es I, que ocupa la posición 4 de SEQ ID NO: 26), X en la posición 5 es T o está ausente, X en la posición 6 es F o está ausente, X en la posición 7 es L o está ausente, X en la posición 8 es L o está ausente, X en la posición 9 es A o está ausente, X en la posición 10 es F o está ausente (o X en la posición 10 es I, que ocupa la posición 10 de SEQ ID NO: 26), X en la posición 11 es I o está ausente, X en la posición 12 es V o está ausente, X en la posición 13 es G o está ausente, X en la posición 14 es A o está ausente, X en la posición 15 es A o está ausente, X en la posición 16 es V o está ausente, X en la posición 16

es M o A, X en la posición 35 es I o M, X en la posición 39 es Q o E, X en la posición 42 es Q o T, X en la posición 65 es A o P, X en la posición 78 es R o H, X en la posición 88 es P o K, X en la posición 111 es R o K, y X en la posición 132 es G o H.

Además, en la figura 5 se muestra una alineación de SEQ ID NO: 3 con respecto a SEQ ID NO: 4. Se contempla adicionalmente que el polipéptido de la presente invención puede tener la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 9, en la que X en la posición 1 es M o está ausente, X en la posición 2 es R o está ausente, X en la posición 3 es L o está ausente, X en la posición 4 es V o está ausente, X en la posición 5 es F o está ausente, X en la posición 6 es H o está ausente, X en la posición 7 es A o está ausente, X en la posición 8 es V o está ausente, X en la posición 9 es I o está ausente, X en la posición 10 es Y o está ausente, X en la posición 11 es L o está ausente, X en la posición 12 es T o está ausente, X en la posición 13 es L o está ausente, X en la posición 14 es G o está ausente, X en la posición 15 es F o está ausente, X en la posición 16 es L o está ausente, X en la posición 17 es T o está ausente, X en la posición 18 es D o está ausente, X en la posición 19 es A o está ausente (o X en la posición 19 es M, que ocupa la posición 19 de SEQ ID NO: 5), X en la posición 69 es H o D, X en la posición 136 es I o V y X en la posición 172 es P o A.

Además, en la figura 8 se muestra una alineación de SEQ ID NO: 14 (principalmente secuencia derivada de *Toxocara canis*; siendo la única excepción el residuo de metionina N-terminal) con SEQ ID NO: 13 (secuencia derivada de *Toxocara cati*). Dado que anticuerpo obtenido contra un polipéptido que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 14 fue útil para detectar *Toxocara cati*, se contempla adicionalmente que el polipéptido de la presente invención puede tener la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 16, en la que X en la posición 1 es I o está ausente, X en la posición 2 es Y o está ausente, X en la posición 3 es G o está ausente, X en la posición 4 es V o está ausente, X en la posición 5 es A o está ausente, X en la posición 6 es A o está ausente, X en la posición 7 es S o está ausente, X en la posición 8 es R o está ausente, X en la posición 9 es R o está ausente, X en la posición 10 es R o está ausente, X en la posición 11 es R o M, X en la posición 18 es N o K, X en la posición 37 es Q o K, X en la posición 52 es I o V, X en la posición 55 es Y o F, X en la posición 110 es E o D, X en la posición 133 es K o E, X en la posición 135 es Y o F, X en la posición 138 es A o P, X en la posición 139 es A o I, X en la posición 140 es S o D, X en la posición 141 es V o está ausente, X en la posición 142 es R o está ausente, X en la posición 143 es H o está ausente, X en la posición 144 es K o está ausente, X en la posición 145 es R o está ausente, X en la posición 146 es D o está ausente, X en la posición 147 es P o está ausente, X en la posición 148 es Y o está ausente, X en la posición 149 es T o está ausente, X en la posición 150 es N o está ausente, X en la posición 151 es M o está ausente, X en la posición 152 es T o está ausente, X en la posición 153 es P o está ausente, X en la posición 154 es D o está ausente, X en la posición 155 es E o está ausente, X en la posición 156 es V o está ausente, X en la posición 157 es A o está ausente, X en la posición 158 es E o está ausente, X en la posición 159 es G o está ausente, X en la posición 160 es L o está ausente, X en la posición 161 es R o está ausente, y X en la posición 162 es S o está ausente.

Además, en la figura 11 se muestra una alineación de SEQ ID NO: 21 (principalmente secuencia derivada de *Toxocara canis*; siendo la única excepción el residuo de metionina N-terminal) con SEQ ID NO: 20 (secuencia derivada de *Toxocara cati*). Dado que anticuerpo obtenido contra un polipéptido que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 21 fue útil para detectar *Toxocara cati*, se contempla adicionalmente que el polipéptido de la presente invención puede tener la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 23, en la que X en la posición 1 está ausente o es M, X en la posición 2 está ausente o es L, X en la posición 3 está ausente o es S, X en la posición 4 está ausente o es V, X en la posición 5 está ausente o es L, X en la posición 6 está ausente o es A, X en la posición 7 está ausente o es L, X en la posición 8 está ausente o es F, X en la posición 9 está ausente o es A, X en la posición 10 está ausente o es L, X en la posición 11 está ausente o es I, X en la posición 12 está ausente o es T, X en la posición 13 está ausente o es F, X en la posición 14 está ausente o es A, X en la posición 15 está ausente o es V, X en la posición 16 es M o A, X en la posición 17 es G o D, X en la posición 19 es E o K, X en la posición 42 es N o D, X en la posición 66 es N o D, y X en la posición 132 es E o A.

Un polipéptido de la presente invención puede tener la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 38, en la que el aminoácido en la posición 54 es E o A. En la invención se incluyen anticuerpos que se unen específicamente a este polipéptido.

Dado que los primeros 38 residuos de aminoácido del polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 34 no se derivaron de *Ancylostoma* (es decir, son secuencia de vector), se contempla adicionalmente que el péptido de la presente invención puede incluir una secuencia de aminoácidos que es idéntica u homóloga a una secuencia representada por SEQ ID NO: 34, en la que X en la posición 1 es M o está ausente, X en la posición 2 es G o está ausente, X en la posición 3 es S o está ausente, X en la posición 4 es S o está ausente, X en la posición 5 es H o está ausente, X en la posición 6 es H o está ausente, X en la posición 7 es H o está ausente, X en la posición 8 es H o está ausente, X en la posición 9 es H o está ausente, X en la posición 10 es H o está ausente, X en la posición 11 es S o está ausente, X en la posición 12 es S o está ausente, X en la posición 13 es G o está ausente, X en la posición 14 es L o está ausente, X en la posición 15 es V o está ausente, X en la posición 16 es P o está ausente, X en la posición 17 es R o está ausente, X en la posición 18 es G o está ausente, X en la posición 19 es S o está ausente, X en la posición 20 es H o está ausente, X en la posición 21 es M o está ausente, X en la posición 22 es A o está ausente, X en la posición 23 es S o está ausente, X en la posición 24 es M

o está ausente, X en la posición 25 es T o está ausente, X en la posición 26 es G o está ausente, X en la posición 27 es G o está ausente, X en la posición 28 es Q o está ausente, X en la posición 29 es Q o está ausente, X en la posición 30 es M o está ausente, X en la posición 31 es G o está ausente, X en la posición 32 es R o está ausente, X en la posición 33 es G o está ausente, X en la posición 34 es S o está ausente, X en la posición 35 es E o está ausente, X en la posición 36 es F o está ausente, X en la posición 37 es E o está ausente, y X en la posición 38 es L o está ausente. Además, dado que la S en la posición 251 en la SEQ ID NO: 33 se sustituyó artificialmente durante el procedimiento de clonación descrito en la sección de ejemplos en el presente documento en esa secuencia (la proteína ASP5 de *Ancylostoma* de tipo natural incluye un residuo de C en esa posición), se contempla que X en la posición 251 de SEQ ID NO: 34 puede ser o bien S o bien C.

También se contempla que una cualquiera o más de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34 pueden ser sólo una porción de una secuencia de polipéptido más grande, y por tanto pueden representar una secuencia parcial de una o más proteínas que se expresan normalmente en gusano redondo, por ejemplo, o una o más secuencias de polipéptido que se fusionan artificialmente con SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38, o Copro6728. El experto en la técnica reconocerá que existe una variedad de técnicas para fusionar artificialmente dos o más fragmentos de polipéptido entre sí.

Se contempla aún adicionalmente que el polipéptido de la presente invención puede incluir más de una de las SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38 y Copro6728. Por ejemplo, el polipéptido de la presente invención puede incluir las SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38, o Copro6728. Además, se contempla que el polipéptido de la presente invención puede incluir una pluralidad de fragmentos de polipéptido correspondientes a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38, o Copro6728. Por ejemplo, el polipéptido de la presente invención puede estar formado por una pluralidad de fragmentos de polipéptido correspondientes a SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 21 o SEQ ID NO: 28 que se fusionan entre sí. En otro ejemplo, el polipéptido de la presente invención puede estar formado por una pluralidad de fragmentos de polipéptido correspondientes a SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 21 o SEQ ID NO: 28 y una pluralidad de fragmentos de polipéptido correspondientes a SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 30 que se fusionan entre sí en cualquier combinación.

Aunque se expresó un polipéptido particular de la presente invención y se aisló mediante una técnica específica (que se describe en la sección de ejemplos incluida en el presente documento), el experto en la técnica reconocerá que cualquiera de los polipéptidos de la presente invención puede aislarse empleando una cualquiera o más de una variedad de técnicas. (Véase, por ejemplo, Sewald y Jakubke, *Peptides: Chemistry and Biology*, Wiley Publishing (2002); *Peptide Synthesis and Applications (Methods in Molecular Biology)* Howl, ed., Humana Press (2005); Jones, *Amino Acid and Peptide Synthesis*, Oxford University Press (2002), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad). Estas técnicas incluyen las que pueden llevarse a cabo para aislar polipéptidos que existen de manera natural que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, y Copro6728 y cualquier variante que se produce de manera natural de esos polipéptidos. Estas técnicas incluyen además las que pueden llevarse a cabo para generar artificialmente los polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, y Copro6728 y cualquier variante conservada de esos polipéptidos. Tales variantes pueden generarse, por ejemplo, empleando una cualquiera o más técnicas de mutagénesis o mediante síntesis directa.

Los polipéptidos de la presente invención pueden provocar una respuesta inmunitaria en un animal huésped que se

expone a estos polipéptidos para producir uno o más de los anticuerpos de la presente invención. Independientemente de la técnica mediante la cual se derivan, los polipéptidos de la presente invención se preparan preferiblemente en forma sustancialmente pura cuando van a usarse para el fin de obtener anticuerpos. Preferiblemente, estos polipéptidos son puros en al menos aproximadamente el 80%, más preferiblemente son puros en al menos aproximadamente el 90-95%, e incluso más preferiblemente son puros en al menos aproximadamente el 99%. En el presente documento se describen técnicas a modo de ejemplo para provocar una respuesta inmunitaria en un organismo huésped y para aislar anticuerpos del mismo, pero debe entenderse que la presente invención no se limita a esas técnicas. El experto en la técnica reconocerá que hay una pluralidad de técnicas para lograr el mismo objetivo sin apartarse del alcance y el espíritu de la invención.

IV. Anticuerpos de la invención

La presente invención incluye además anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se obtienen contra, y que se unen específicamente a, la totalidad o parte de uno o más polipéptidos de la presente invención, y también incluye composiciones que incluyen dichos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Cuando se ponen en contacto con una muestra obtenida de un mamífero, estos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno pueden unirse específicamente a un antígeno de gusano helmíntico particular. Por ejemplo los anticuerpos frente a gusano redondo y fragmentos de unión a antígeno pueden unirse específicamente a antígenos de gusano redondo presentes en la muestra, pero no pueden unirse específicamente a ningún antígeno de gusano de gancho o gusano látigo que puede estar presente en la muestra. Como ejemplo adicional, los anticuerpos frente a gusano látigo y fragmentos de unión a antígeno pueden unirse específicamente a antígenos de gusano látigo presentes en la muestra, pero no pueden unirse específicamente a ningún antígeno de gusano de gancho o gusano redondo que puede estar presente en la muestra. Los anticuerpos de la presente invención son adecuados para usarse sólo para capturar uno o más antígenos de gusano redondo, antígenos de gusano látigo y/o antígenos de gusano de gancho, sólo para detectar uno o más antígenos de gusano redondo, antígenos de gusano látigo y/o antígenos de gusano de gancho, o más preferiblemente, tanto para capturar como para detectar uno o más antígenos de gusano redondo, antígenos de gusano látigo y/o antígenos de gusano de gancho.

Los anticuerpos de la presente invención pueden pertenecer a cualquier clase de anticuerpos, incluyendo, por ejemplo, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, y pueden prepararse mediante cualquiera de una variedad de técnicas conocidas por el experto en la técnica. (Véase, por ejemplo, Dean, *Methods Mol. Biol.* 80:23-37 (1998); Dean, *Methods Mol. Biol.* 32:361-79 (1994); Baileg, *Methods Mol. Biol.* 32:381-88 (1994); Gullick, *Methods Mol. Biol.* 32:389-99 (1994); Drenckhahn *et al.* *Methods Cell. Biol.* 37:7-56 (1993); Morrison, *Ann. Rev. Immunol.* 10:239-65 (1992); Wright *et al.* *Crit. Rev. Immunol.* 12:125-68 (1992); Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988); y *Making and Using Antibodies: A Practical Handbook*, Howard y Kaser, eds., CRC Press (2006), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad).

En una técnica, el polipéptido de la invención se introduce en un animal huésped, tal como en conejo, ratón, rata, cobaya, cabra, cerdo, vaca, oveja, burro, perro, gato, pollo o caballo, por ejemplo. Puede provocarse una respuesta inmunitaria potenciada en el animal huésped asociando el polipéptido con un portador y/o exponiendo el huésped a un adyuvante, pero debe entenderse que la presente invención no requiere que el polipéptido esté asociado con un portador ni que se exponga el huésped al adyuvante. Un portador a modo de ejemplo que puede usarse con este fin es albúmina sérica bovina, tiroglobulina bovina, e inhibidor de tripsina de semilla de soja. Los adyuvantes a modo de ejemplo incluyen adyuvante completo o incompleto de Freund y adyuvante MDL-TDM. Independientemente de si el polipéptido está asociado con un portador de este tipo o de si el huésped se expone a un adyuvante, opcionalmente pueden realizarse inmunizaciones de refuerzo extrayéndole posteriormente sangre al animal huésped una o más veces. Entonces pueden purificarse anticuerpos policlonales que se unen específicamente al polipéptido a partir de antisueros obtenidos de la extracción o las extracciones de sangre. Tal purificación puede lograrse, por ejemplo, empleando técnicas de cromatografía de afinidad que implican asociar el polipéptido a un soporte sólido. El experto en la técnica conoce muy bien tales técnicas de cromatografía de afinidad.

En varias realizaciones, el anticuerpo frente a gusano redondo de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con el polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 21, (a continuación en el presente documento, estos anticuerpos particulares se denominan anticuerpos "anti-DIV6744", "anti-DIV6716" y "anti-DIV6728" respectivamente). El experto en la técnica reconocerá que la producción y el aislamiento de anticuerpos de anti-DIV6744, anti-DIV6716 y anti-DIV6728, o cualquier otro anticuerpo de la presente invención, no se limitan a ninguna técnica específica.

En otra realización, el anticuerpo frente a gusano redondo de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a 6728C (SEQ ID NO: 38). (A continuación en el presente documento, este anticuerpo particular se denomina anticuerpo "anti-Copro6728C"). En la sección de ejemplos en el presente documento se describe una técnica específica para producir y aislar este anticuerpo, pero el experto en la técnica reconocerá que la producción y el aislamiento de anticuerpo anti-Copro6728C no se limitan a esta técnica específica.

En realizaciones adicionales, el anticuerpo frente a gusano redondo de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con extracto de gusano redondo completo, extracto de intestino de gusano redondo, o extracto de órganos reproductores de gusano redondo, tal como se describe en la solicitud estadounidense con n.º de serie 11/763.592 titulada "Roundworm Coproantigen Detection", presentada el 15/6/2007.

En una realización adicional, el anticuerpo frente a gusano látigo de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con el polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 7 (a continuación en el presente documento, este anticuerpo particular se denomina anticuerpo "anti-DIV6901" o "anti-DIV6902"). El experto en la técnica reconocerá que la producción y el aislamiento de anticuerpo anti-DIV6901, anti-DIV6901 o cualquier otro anticuerpo de la presente invención, no se limitan a ninguna técnica específica.

En otra realización, un anticuerpo frente a gusano de gancho de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con el polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 34. (A continuación en el presente documento, este anticuerpo particular se denomina anticuerpo "anti-Asp5-1"). El experto en la técnica reconocerá que la producción y el aislamiento de anticuerpo anti-Asp5-1, o cualquier otro anticuerpo de la presente invención, no se limitan a ninguna técnica específica.

En una realización adicional, el anticuerpo frente a gusano de gancho de la presente invención es un anticuerpo que se obtiene en conejo inmunizando ese animal huésped con el polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 33, es decir sustancialmente con la proteína ASP5 de longitud completa de gusano de gancho, tal como se describe en la solicitud estadounidense con n.º de serie 11/763.583 titulada "Device, Kit and Method for Hookworm Antigen Detection", presentada el 15/6/2007.

En otras realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se obtienen en un huésped contra uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es una variante conservativa de la secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 28 y SEQ ID NO: 34. En algunas otras realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se obtienen en un huésped contra uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a la secuencia de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 38, Copro6728 y CoproAP5, o uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es una variante conservativa de cualquiera de esas secuencias.

En otra realización, los anticuerpos de la presente invención son anticuerpos que se unen específicamente a uno o más de los polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproAP5, o porciones antigénicas de los mismos.

En aún otras realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se unen específicamente a uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es una variante conservativa de la secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 34. En algunas otras realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se unen específicamente a uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a la secuencia de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproAP5, o uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es una variante conservativa de cualquiera de esas secuencias.

También se entiende que los anticuerpos de la invención pueden ser opcionalmente anticuerpos policlonales o monoclonales, anticuerpos de cadena sencilla (scFv), anticuerpos quiméricos, y fragmentos de los mismos. Pueden obtenerse y purificarse anticuerpos monoclonales que son específicos para el polipéptido de interés, por ejemplo, preparando líneas celulares que generan anticuerpos que tienen la especificidad deseada frente al polipéptido de interés. Pueden derivarse líneas celulares de esta clase a partir de células de un tipo particular (por ejemplo, células del bazo) que se aíslan de un animal huésped que se había inmunizado previamente con el polipéptido tal como se describió anteriormente. En tal caso, entonces pueden immortalizarse estas células, por ejemplo, fusionándolas con células de mieloma llevando a cabo una cualquiera de una variedad de técnicas de fusión conocidas por el experto en la técnica. En una técnica a modo de ejemplo, se incuban conjuntamente las células del animal huésped inmunizado con su pareja de fusión, por ejemplo, las células de mieloma, en presencia de un detergente durante un período de tiempo corto antes de sembrarse en placas en un medio que soporta el crecimiento de células híbridas (pero no la pareja de fusión de mieloma). Tal selección puede lograrse, por ejemplo, usando hipoxantina,

aminopterina y timidina (HAT). Cuando surgen células híbridas durante la selección, quizás en una o dos semanas tras comenzar el procedimiento de selección, se someten a prueba colonias híbridas individuales (y sus sobrenadantes) para determinar su capacidad para unirse al polipéptido o a los polipéptidos contra los que se inmunizó el animal huésped. Las colonias híbridas que tienen la especificidad de unión más óptima representarán los mejores candidatos a partir de los cuales pueden aislarse anticuerpos monoclonales. Por ejemplo, estos anticuerpos monoclonales pueden aislarse directamente del sobrenadante (es decir, el medio) en el que se hacen crecer estas colonias empleando una cualquiera de una variedad de técnicas conocidas por el experto en la técnica.

Los anticuerpos de la invención también pueden ser un anticuerpo de cadena sencilla (scFv), o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo. Los fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos son una porción de un anticuerpo intacto que comprende el sitio de unión a antígeno o la región variable de un anticuerpo intacto, en los que la porción está libre de los dominios constantes de cadena pesada de la región Fc del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂ y Fv. Además de la producción y purificación a partir de animales o células de mamífero, pueden seleccionarse anticuerpos, fragmentos de anticuerpo o estructuras distintas de anticuerpos basándose en diversas tecnologías *in vitro*, incluyendo presentación en fagos, presentación ribosómica o presentación bacteriana.

Los anticuerpos, incluyendo anticuerpos secundarios, pueden marcarse con cualquier tipo de marcador conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, marcadores fluorescentes, quimioluminiscentes, radiactivos, enzimas, partículas coloidales, radioisótopos y marcadores bioluminiscentes. En diversas realizaciones de la invención, el uno o más de los anticuerpos de la invención se marcan con una enzima, una partícula coloidal, un radionúclido o un fluoróforo. El marcador particulado puede ser, por ejemplo, una partícula de látex coloreada, sol de colorante o sol de oro conjugada con un anticuerpo.

Métodos, dispositivos y kits de la invención

Dispositivos y kits de la invención

La presente invención, en un aspecto, es una detección de la presencia o ausencia de uno o más antígenos helmínticos de una muestra, comprendiendo el dispositivo un soporte sólido, en el que el soporte sólido tiene inmovilizados sobre el mismo al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en (a) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; (b) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y (c) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo; y opcionalmente, (d) uno o más tipos de coproantígeno de gusano redondo, coproantígeno de gusano látigo y/o coproantígeno de gusano de gancho, en el que el uno o más tipos de coproantígeno de gusano redondo, coproantígeno de gusano látigo y coproantígeno de gusano de gancho se unen específicamente a los anticuerpos. El dispositivo está dispuesto para ayudar a unir específicamente y aislar coproantígenos helmínticos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en una muestra de un mamífero.

En un aspecto, el dispositivo incluye un soporte sólido, en el que uno o más anticuerpos de la invención están inmovilizados sobre el soporte sólido. El soporte sólido puede ser, pero no se limita a ser, la superficie interior, inferior, de un pocillo de una placa de microtitulación o un sustrato que se incluye como parte de un dispositivo de flujo lateral, por ejemplo. Una placa de microtitulación a modo de ejemplo es una placa de 96 pocillos Immulon 1B (que está disponible comercialmente de Thermo Scientific de Milford, MA), pero debe entenderse que el experto en la técnica reconocerá que una gran variedad de otras placas de microtitulación que no son la placa de 96 pocillos Immulon 1B permiten la inmovilización de anticuerpos sobre las mismas, y por tanto serán adecuadas para proporcionar el soporte sólido de la presente invención.

Un dispositivo de flujo lateral a modo de ejemplo es el dispositivo de flujo lateral que se describe en la patente estadounidense n.º 5.726.010. El dispositivo para realizar un ensayo de flujo lateral puede ser un dispositivo SNAP®, que está disponible comercialmente de IDEXX Laboratories, Inc. de Westbrook, ME. Sin embargo, debe entenderse que el experto en la técnica reconocerá que una gran variedad de otros dispositivos de flujo lateral que no son dispositivos SNAP® ni se describen en la patente estadounidense n.º 5.726.010 permiten la inmovilización de un anticuerpo sobre los mismos, y por tanto serán adecuados para usarse como dispositivo de la presente invención. Estos dispositivos pueden incluir, por ejemplo, dispositivos de flujo lateral que usan tecnología de oro coloidal.

Los anticuerpos usados en el dispositivo de la invención pueden inmovilizarse sobre el soporte sólido mediante cualquier metodología conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo, fijar de manera covalente o no covalente, directa o indirectamente, los anticuerpos al soporte sólido. Por tanto, aunque estos anticuerpos pueden fijarse al soporte sólido mediante adsorción física (es decir, sin usar grupos de unión químicos), también es cierto que estos anticuerpos pueden inmovilizarse al soporte sólido mediante cualquier método de unión química (es decir, con el uso de grupos de unión químicos) fácilmente conocido por un experto en la técnica.

También debe entenderse que el soporte sólido puede ser cualquier material adecuado para la inmovilización de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, el soporte sólido puede ser perlas, partículas, tubos, pocillos, sondas, tiras reactivas, puntas de pipeta, portaobjetos, fibras, membranas, papeles, celulosas naturales y modificadas, poliacrilamidas, agarosas, vidrio, polipropileno, polietileno, poliestireno, dextrano, nailon, amilasas, plásticos, magnetita o cualquier otro material adecuado fácilmente conocido por un experto en la técnica.

El dispositivo puede incluir opcionalmente uno o más reactivos de captura de antígeno marcados que pueden mezclarse con una muestra de un mamífero antes de la aplicación a un dispositivo de la invención. Cuando se incluye el reactivo de captura de antígeno marcado, el reactivo de captura de antígeno marcado puede depositarse o secarse, o no, sobre una superficie sólida del dispositivo. "Reactivo de captura de antígeno" se refiere a cualquier compuesto que es específico para el antígeno o los antígenos de interés. El reactivo de captura de antígeno marcado, tanto si se añade a la muestra de mamífero como si se deposita previamente sobre el dispositivo, puede ser, por ejemplo, un anticuerpo marcado específico para un antígeno de gusano redondo, incluyendo, pero sin limitarse a, los anticuerpos de la presente invención. En un ejemplo, puede usarse anticuerpo anti-DIV6744 conjugado con peroxidasa del rábano como reactivo de captura de antígeno marcado. En otro ejemplo, puede usarse anticuerpo anti-DIV6901 o anti-DIV6902 conjugado con peroxidasa del rábano como reactivo de captura de antígeno marcado. En un ejemplo adicional, puede usarse anticuerpo anti-DIV6716 conjugado con peroxidasa del rábano como reactivo de captura de antígeno marcado. En un ejemplo adicional, puede usarse anticuerpo anti-DIV6728 conjugado con peroxidasa del rábano como reactivo de captura de antígeno marcado. En aún un ejemplo adicional, puede usarse anticuerpo anti-Copro6728 conjugado con peroxidasa del rábano como reactivo de captura de antígeno marcado.

El dispositivo también puede incluir opcionalmente un reactivo líquido que transporta (tal como cuando el dispositivo es un dispositivo SNAP®, por ejemplo), o facilita de otro modo la retirada de (tal como cuando el dispositivo incluye una placa de microtitulación, por ejemplo) material no unido (por ejemplo, porciones sin reaccionar de la muestra de mamífero, tales como, por ejemplo, porciones sin reaccionar de extracto fecal, y reactivo de captura de antígeno no unido) alejándolo de la zona de reacción (fase sólida). El reactivo líquido puede ser un reactivo de lavado y servir sólo para retirar material no unido de la zona de reacción, o puede incluir un reactivo detector y servir tanto para retirar material no unido como para facilitar la detección de antígeno. Por ejemplo, en el caso de un reactivo de captura de antígeno conjugado con una enzima, el reactivo detector incluye un sustrato que produce una señal detectable tras la reacción con el conjugado enzima-anticuerpo en la zona de reacción (fase sólida). Alternativamente, en el caso de un reactivo de captura de antígeno marcado conjugado con una molécula radiactiva, fluorescente o de absorción de luz, el reactivo líquido actúa simplemente como disolución de lavado facilitando la detección de formación de complejo en la zona reactiva eliminando mediante lavado reactivo marcado no unido.

El reactivo líquido puede incluir además una cantidad limitada de un "inhibidor", es decir, una sustancia que bloquea el desarrollo del producto final detectable. Se define una cantidad limitada como que es una cantidad de inhibidor suficiente para bloquear el desarrollo de producto final hasta que la mayor parte o la totalidad del material no unido en exceso se transporta alejándolo de la segunda región, momento en el cual se produce producto final detectable.

El dispositivo de la presente invención también puede incluir diversos reactivos de unión inmovilizados en ubicaciones distintas del reactivo o los reactivos de captura de antígeno. Por ejemplo, puede incluirse un inmunorreactivo (un anticuerpo, antígeno o polipéptido) que reconoce una porción de anticuerpo específica de especie (por ejemplo, específica de gusano redondo) de un anticuerpo o reactivo de captura de antígeno marcado, o una porción de enzima de un reactivo marcado con enzima, como control positivo para evaluar la viabilidad de los reactivos dentro del dispositivo. Por ejemplo, un control positivo puede ser un anticuerpo anti-peroxidasa del rábano que se ha obtenido, por ejemplo, en cabra o ratón. Adicionalmente, puede incluirse un reactivo, por ejemplo, un anticuerpo, aislado de un miembro no inmunizado de la especie de la que se derivó la porción de anticuerpo del complejo antígeno-anticuerpo, como control negativo para evaluar la especificidad de formación de inmunocomplejo (es decir, complejo antígeno-anticuerpo).

Además de diseñarse para unirse específicamente y aislar coproantígenos helmínticos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho en una muestra de mamífero, el dispositivo de la invención puede diseñarse opcionalmente para permitir realizar una o más otras pruebas de diagnóstico. Por ejemplo, el soporte sólido también puede incluir reactivos para la detección de uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias. Los reactivos para la detección de uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias pueden ser, por ejemplo, uno o más anticuerpos o uno o más antígenos reconocidos por anticuerpos específicos para uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias.

En una realización, el dispositivo de la presente invención es una placa de microtitulación que incluye una pluralidad de pocillos, en la que cada pocillo incluye un soporte sólido que tiene Acp anti-DIV6744 inmovilizado sobre el mismo.

La placa puede usarse junto con un método de la presente invención para detectar la presencia o ausencia de uno o más coproantígenos helmínticos en una muestra. Por ejemplo, puede diagnosticarse una infección por gusano redondo en un mamífero detectando uno o más antígenos de gusano redondo con el Acp anti-DIV6744, uno o más

antígenos de gusano látego con el Acp anti-DIV6902, y uno o más antígenos de gusano de gancho con el Acp anti-Asp5-1, que se inmovilizan sobre el soporte sólido. En una realización, los antígenos que se detectan son coproantígenos. "Coproantígenos" son cualquier producto de gusano redondo, gusano látego o gusano de gancho que está presente en una muestra fecal y que puede unirse específicamente a anticuerpos. Por tanto, coproantígenos pueden ser gusano completo, huevos de gusano, fragmentos de gusano o producto secretados, excretados o expulsados mediante muda de gusano o una combinación de los mismos. Los coproantígenos incluyen además los polipéptidos de la presente invención, tales como los polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38, polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es una variante conservativa de esas secuencias, y/o fragmentos antigénicos de cualquiera de tales polipéptidos, y CoproASP5 y Copro6728, por ejemplo.

La invención incluye además kits de ensayo (por ejemplo, artículos de fabricación) para detectar y distinguir entre gusano redondo, gusano látego y/o gusano de gancho en una muestra de mamífero. Por tanto, un kit puede incluir uno o más dispositivos y/o composiciones de la presente invención. Por ejemplo, el kit puede incluir anticuerpos anti-gusano redondo y medios para determinar la unión de los anticuerpos a antígenos de gusano redondo, anticuerpos anti-gusano látego y medios para determinar la unión de los anticuerpos a antígenos de gusano látego, y anticuerpos anti-gusano de gancho y medios para determinar la unión de los anticuerpos a antígenos de gusano de gancho en la muestra. En un ejemplo particular, tal kit incluye el dispositivo que tiene inmovilizado un anticuerpo anti-gusano redondo, tal como anticuerpo anti-DIV6744, un anticuerpo anti-gusano látego, tal como anticuerpo anti-DIV6902, y un anticuerpo anti-gusano de gancho, tal como anticuerpo anti-Asp5-1, por ejemplo, uno o más reactivos de captura de antígeno (por ejemplo, un reactivo de captura de antígeno marcado no inmovilizado y un reactivo de captura de antígeno inmovilizado) y reactivo de lavado, así como reactivo detector y reactivos de control positivo y negativo, si se desea o es apropiado. En tales kits de prueba pueden incluirse otros componentes tales como tampones, controles y similares, conocidos por los expertos habituales en la técnica. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variarse para proporcionar concentraciones en disolución de los reactivos que optimizan sustancialmente la sensibilidad del ensayo. Particularmente, los reactivos pueden proporcionarse como polvos secos, habitualmente liofilizados, que en disolución proporcionarán una disolución de reactivo que tiene las concentraciones apropiadas para combinarse con una muestra. El presente kit puede incluir además instrucciones para llevar a cabo uno o más métodos de la presente invención, incluyendo instrucciones para usar cualquier dispositivo y/o composición de la presente invención que se incluye con el kit.

B. Métodos de la invención

La presente invención incluye además métodos para usar uno o más de los dispositivos, kits y/o composiciones de la presente invención para detectar la presencia o ausencia de uno o más antígenos helmínticos en una muestra. Por tanto, los métodos pueden llevarse a cabo para detectar la presencia o ausencia de gusano redondo, gusano látego y/o gusano de gancho en una muestra, tal como, por ejemplo, una muestra fecal, que se obtiene de un mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, un animal canino, animal felino, animal porcino, animal bovino o ser humano. Además, los métodos pueden llevarse a cabo para detectar *Toxocara*, tal como *T. canis* o *T. cati*, o *T. vitulorum*, *Ascaris*, tal como *A. lumbricoides* o *A. suum*, *Anisakis*, tal como *A. simplex*, *Pseudoterranova*, tal como *P. decipiens*, *Trichuris* y/o *Trichocephalus*, tal como *Trichuris vulpis*, *Trichuris campanula*, *Trichuris serrata*, *Trichuris suis*, *Trichuris trichiura*, *Trichuris discolor* y *Trichocephalus trichiuris*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenale*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme* y *Ancylostoma pluridentatum*, *Necator americanus*, y *Uncinaria stenocephala*, por ejemplo.

En los métodos de la presente invención, la detección de gusano redondo, gusano látego y/o gusano de gancho puede realizarse detectando la presencia o ausencia de uno o más antígenos de gusano redondo, gusano látego y/o gusano de gancho, tales como Copro6728 y CoproASP5 o los polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38 así como fragmentos antigénicos y/o variantes conservativas de esas secuencias, y CoproASP5, por ejemplo. Cuando la muestra sometida a prueba para detectar coproantígenos helmínticos son heces, la porción soluble de las heces puede recogerse mediante cualquier protocolo conocido en la técnica. Por ejemplo, además del protocolo específico descrito en la sección de ejemplos en el presente documento, las porciones solubles de la muestra generalmente pueden recogerse usando filtración, extracción, centrifugación, o simple mezclado seguido por sedimentación gravimétrica. El experto en la técnica reconocerá que también existe una variedad de formas de extraer y preparar muestras no fecales de un mamífero. Por ejemplo, la muestra puede ser un fluido corporal que se excreta de manera natural o se libera de otro modo por el mamífero o que se obtiene artificialmente del mamífero. Puede llevarse a cabo una extracción artificial de este tipo ordeñando el mamífero o inyectando una jeringuilla en el mamífero y extrayendo el fluido al interior de la jeringuilla. Una vez obtenido, el fluido puede fraccionarse opcionalmente (por ejemplo, puede fraccionarse suero a partir de sangre completa que luego se usa como muestra). Como otro ejemplo,

la muestra puede obtenerse realizando un frotis en el mamífero, tal como en la cavidad bucal del mamífero, por ejemplo. Aún como otro ejemplo, pueden obtenerse secciones de tejido mediante biopsia.

Los métodos incluyen poner en contacto la muestra de mamífero con uno o más anticuerpos específicos para coproantígenos helmínticos en condiciones que permiten que se forme un complejo antígeno/anticuerpo, es decir, un inmunocomplejo. Es decir, un anticuerpo se une específicamente a un coproantígeno presente en la muestra. El experto en la técnica está familiarizado con ensayos y condiciones que pueden usarse para detectar tal unión de complejo antígeno/anticuerpo. Por ejemplo, el complejo antígeno/anticuerpo puede detectarse usando un anticuerpo secundario que se une al complejo antígeno/anticuerpo. La formación de un complejo entre el antígeno y anticuerpos en la muestra puede detectarse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica.

Además, puede medirse la cantidad relativa de complejos anticuerpo-antígeno que se forman en una reacción particular con respecto a los formados en cualquier otra reacción mediante cualquier metodología conocida en la técnica para lograr ese objetivo. Cuando se determina que una muestra sometida a prueba tiene complejos anticuerpo-antígeno específicos (gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho), puede concluirse, basándose en los complejos específicos formados, que está presente un helminto específico en el mamífero huésped y qué helminto está presente (gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho). Cuando esto es cierto, puede concluirse que el mamífero a partir del cual se obtuvo la muestra de prueba alberga una infección por helmintos intestinales. Las conclusiones de que el mamífero que está sometiéndose a prueba alberga una infección por helmintos intestinales puede realizarlas un médico en un proveedor de servicios de diagnóstico o un cuidador del mamífero, tal como el veterinario del mamífero, por ejemplo. Cuando un cuidador de un mamífero determina (o se le informa de otro modo de que) un mamífero alberga una infección por helmintos y qué helminto está presente, el cuidador puede someter entonces al mamífero a un ciclo de tratamiento que está diseñado de manera óptima para librar al mamífero del helminto específicamente, más que de una infección por nematodos parásitos en general. Además, la presente invención puede usarse para confirmar que cualquier animal que ha recibido tratamiento para la infección por helminto específico se ha librado de tal infección. Un cuidador que sabe que una muestra incluye tanto gusano redondo como gusano látigo, pero no gusano de gancho, por ejemplo, puede usar este conocimiento para tratar al mamífero del que se tomó la muestra específicamente para gusano redondo administrando a ese mamífero un fármaco eficaz de manera óptima contra gusano redondo y un segundo fármaco eficaz de manera óptima contra gusano látigo. Si carece de tal conocimiento, el cuidador puede tratar, por ejemplo, de otro modo al mamífero con un fármaco que es eficaz de manera óptima sólo contra gusano redondo, sólo contra gusano látigo, o ni contra gusano redondo ni contra gusano látigo (en tales casos, el mamífero correría el riesgo de recibir un tratamiento subóptimo). Además, puede aconsejarse a los seres humanos que pueden ponerse en contacto con el animal infestado o sus excreciones que tomen precauciones frente a adquirir el parásito o los parásitos. En este contexto, es importante determinar la especie de gusano con alta especificidad, ya que algunos helmintos, tales como gusanos redondos y gusanos de gancho, pueden producir enfermedad significativa (por ejemplo, larva migratoria) en seres humanos, mientras que generalmente se acepta que el gusano látigo no desempeña un papel zoonótico de importancia en seres humanos.

Las etapas del método de la presente invención pueden incluir aplicar una muestra de mamífero a un dispositivo de la invención, que incluye un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho; un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo para formar complejos anticuerpo-coproantígeno en presencia de los coproantígenos, si los hay, en la muestra; y detectar la presencia o ausencia de los complejos anticuerpo-coproantígeno, si los hay. Los anticuerpos específicos para antígenos de gusanos redondos pueden fijarse directa o indirectamente a un sustrato o soporte sólido tal como un pocillo de microtitulación, parte de inmovilización de anticuerpo de un dispositivo SNAP[®], perla magnética, perla no magnética, columna, matriz, membrana, estera fibrosa compuesta por fibras naturales o sintéticas (por ejemplo, materiales basados en vidrio o celulosa o polímeros termoplásticos, tales como polietileno, polipropileno o poliéster), estructura sinterizada compuesta de materiales particulados (por ejemplo, vidrio o diversos polímeros termoplásticos), o película de membrana fundida compuesta por nitrocelulosa, nailon, polisulfona o similar (generalmente de naturaleza sintética). Todos estos materiales de sustrato pueden usarse en conformaciones adecuadas, tales como películas, láminas o placas, o pueden recubrirse sobre o unirse o laminarse a portadores inertes apropiados, tales como papel, vidrio, películas de plástico o tejidos. Los métodos adecuados para inmovilizar péptidos sobre fases sólidas incluyen interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes.

Sin embargo, los métodos de la presente invención no requieren usar los sustratos o las fases sólidas. El experto en la técnica reconocerá que hay varias formas en que puede llevarse a cabo el presente método para detectar la presencia o ausencia de gusano redondo sin implicar el uso de sustratos o fases sólidas. Sólo en un ejemplo, pueden llevarse a cabo métodos de inmunoprecipitación que no requieren el uso de sustratos o fases sólidas.

En algunas realizaciones de la invención, el complejo antígeno/anticuerpo se detecta cuando un reactivo indicador, tal como un conjugado enzimático, que se une al anticuerpo, cataliza una reacción detectable. Opcionalmente, puede aplicarse un reactivo indicador que incluye un compuesto de generación de señales al complejo

antígeno/anticuerpo en condiciones que permiten la formación de un complejo antígeno/anticuerpo/indicador detectable. Opcionalmente, el anticuerpo puede marcarse con un reactivo indicador antes de la formación de un complejo antígeno/anticuerpo.

La formación de un complejo antígeno/anticuerpo o complejo antígeno/anticuerpo/indicador en algunos de los métodos de la presente invención puede detectarse específicamente mediante métodos radiométricos, colorimétricos, fluorimétricos, fotométricos, de separación por tamaño o de precipitación. La detección de un complejo antígeno/anticuerpo también puede realizarse mediante la adición de un anticuerpo secundario que se acopla a un reactivo indicador que incluye un compuesto de generación de señales. Los reactivos indicadores que incluyen compuestos de generación de señales (marcadores) asociados con un complejo polipéptido/anticuerpo pueden detectarse usando los métodos descritos anteriormente y pueden incluir agentes cromogénicos, catalizadores tales como conjugados enzimáticos, compuestos fluorescentes tales como fluoresceína y rodamina, compuestos quimioluminiscentes tales como dioxetanos, acridinios, fenantridinios, rutenio y luminol, elementos radiactivos, marcadores visuales directos, así como cofactores, inhibidores, partículas magnéticas y similares. Los ejemplos de conjugados enzimáticos incluyen fosfatasa alcalina, peroxidasa del rábano, beta-galactosidasa y similares. La selección de un marcador particular no es crítica, pero podrá producir una señal o bien por sí mismo o bien conjuntamente con una o más sustancias adicionales.

Los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, los basados en competencia, reacción directa o ensayos de tipo sándwich, incluyendo, pero sin limitarse a ELISA, RIA, ensayos inmunofluorescentes (IFA), hemaglutinación (HA), inmunoensayo por polarización de fluorescencia (FPIA) y ensayos en placa de microtitulación (es decir, cualquier ensayo realizado en uno o más pocillos de una placa de microtitulación). Un ensayo de la invención incluye un ensayo de unión cromatográfico de flujo reversible, que puede realizarse, por ejemplo, usando un dispositivo SNAP[®]. Véase la patente estadounidense n.º 5.726.010.

En algunas realizaciones, el método de la invención facilita ensayos de unión específica de tipo sándwich o competencia. En un ensayo de tipo sándwich, se inmovilizan reactivos de captura de antígeno en una zona reactiva. Estos reactivos de captura de antígeno pueden unirse específicamente a antígenos en la muestra que está sometiéndose a prueba para detectar gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Tras la unión del antígeno de la muestra, se detecta el complejo reactivo de captura de antígeno/antígeno mediante cualquier método adecuado. Por ejemplo, el complejo puede hacerse reaccionar con reactivos de unión específica marcados (por ejemplo, un conjugado enzima-anticuerpo) y puede detectarse el antígeno (por ejemplo, tras la reacción con un sustrato).

En otras realizaciones del método de la presente invención, se realiza un ensayo de competencia. En un ensayo de competencia, se inmovilizan reactivos de captura de antígeno en la zona reactiva y se ponen en contacto simultáneamente con antígeno de una muestra y antígeno marcado (por ejemplo, un conjugado antígeno-enzima). La cantidad de marcador detectado en la zona reactiva es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra.

En algunas realizaciones del método, se fijan anticuerpos específicos para coproantígenos de un gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho a un sustrato o fase sólida. Se añade al sustrato una muestra que incluye posiblemente un antígeno de gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Se añaden anticuerpos que se unen específicamente a gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Los anticuerpos pueden ser los mismos anticuerpos usados en la fase sólida o pueden proceder de una fuente o especie diferente. Además, estos anticuerpos pueden unirse a un reactivo indicador, tal como un conjugado enzimático. Pueden llevarse a cabo etapas de lavado antes de cada adición. Puede añadirse un cromóforo o sustrato enzimático y puede permitirse que se desarrolle color. Puede detenerse la reacción de color y puede cuantificarse el color usando, por ejemplo, un espectrofotómetro y/o puede evaluarse subjetivamente el color por el ojo humano.

En otras realizaciones del método, se fijan anticuerpos específicos para coproantígenos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho a un sustrato o fase sólida. Se añade al sustrato una muestra que incluye posiblemente un antígeno de gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho. Se añaden segundos anticuerpos anti-especie que se unen específicamente a los coproantígenos. Estos segundos anticuerpos proceden de una especie diferente que los anticuerpos en la fase sólida. Se añaden terceros anticuerpos anti-especie que se unen específicamente a los segundos anticuerpos y que no se unen específicamente a los anticuerpos de la fase sólida. Los terceros anticuerpos pueden incluir un reactivo indicador, tal como un conjugado enzimático. Pueden llevarse a cabo etapas de lavado antes de cada adición. Puede añadirse un cromóforo o sustrato enzimático y puede permitirse que se desarrolle color. Puede detenerse la reacción de color y puede cuantificarse el color usando, por ejemplo, un espectrofotómetro y/o puede evaluarse subjetivamente el color por el ojo humano.

En un ejemplo específico, el método de la presente invención se lleva a cabo conjuntamente con un dispositivo que es un dispositivo de ensayo de flujo lateral añadiendo una muestra de mamífero preparada a una matriz de flujo del dispositivo en una primera región (una zona de aplicación de muestra). La muestra preparada se porta en una trayectoria de flujo de fluido mediante acción capilar hacia una segunda región de la matriz de flujo en la que existe un marcador particulado que puede unirse a, y formar un primer complejo con, un antígeno en la muestra. El

marcador particulado puede ser, por ejemplo, una partícula de látex coloreada, sol de colorante o sol de oro conjugado con un anticuerpo específico para un antígeno de gusano redondo. El primer complejo se porta a una tercera región de la matriz de flujo en la que se inmoviliza un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno de gusano redondo en una ubicación distinta. Se forma un segundo complejo entre el anticuerpo inmovilizado y el primer complejo. El marcador particulado que forma parte del segundo complejo puede visualizarse directamente por el ojo humano.

Cada anticuerpo frente a helminto específico puede ser un reactivo de captura de antígeno inmovilizado en una zona de reacción (fase sólida). Un segundo reactivo de captura de antígeno, es decir, un segundo anticuerpo frente a helminto específico que se ha conjugado con un marcador, o bien puede añadirse a la muestra antes de que la muestra se añada al dispositivo, o bien el segundo reactivo de captura de antígeno puede incorporarse en el dispositivo. Por ejemplo, el reactivo de captura de antígeno marcado puede depositarse y secarse en una trayectoria de flujo de fluido que proporciona comunicación de fluido entre una zona de aplicación de muestra y la fase sólida. El contacto del reactivo de captura de antígeno marcado con la muestra de prueba puede dar como resultado la disolución del reactivo de captura de antígeno marcado.

En una realización del método de la presente invención, se detecta coproantígeno helmíntico específico mediante ELISA. En la sección de ejemplos incluida en el presente documento se describen ejemplos específicos del método de ELISA de la presente invención. Aunque la presente invención se describe con respecto a estos métodos de ELISA específicos, sin embargo, ha de entenderse que los expertos habituales en la técnica reconocerán que pueden usarse etapas de ELISA alternativas, adicionales o sustitutas sin desviarse del objetivo básico logrado mediante este método de la invención.

En otra realización de la presente invención, el coproantígeno helmíntico se detecta usando un dispositivo de flujo lateral, tal como un dispositivo SNAP[®], por ejemplo.

Además, los métodos de la invención para la detección de infección por helmintos pueden combinarse con otros ensayos de diagnóstico para detectar la presencia de otros organismos o estados. Por ejemplo, los ensayos de la invención pueden combinarse con reactivos que detectan uno o más parásitos fecales distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos, una o más bacterias, uno o más parásitos portados por la sangre o sangre oculta o una combinación de los mismos. Al proporcionar dos o más sitios de unión únicos en un único dispositivo de ensayo (tal como, por ejemplo, dos puntos únicos en un dispositivo de ensayo SNAP[®]), la presente invención permite la detección de dos o más organismos a partir de una única muestra. En una realización, hay tres puntos únicos para la detección de infección o infestación pasada o presente procedentes de tres organismos (siendo los puntos los reactivos de unión o bien a antígeno o bien a anticuerpo) a partir de una única muestra (es decir, la misma muestra individual se expone a tres reactivos de captura en un único dispositivo). Aún en otra realización, hay cuatro puntos únicos para la detección de infección o infestación pasada o presente procedentes de cuatro organismos (siendo los puntos los reactivos de unión o bien a antígeno o bien a anticuerpo) a partir de una única muestra (es decir, la misma muestra individual se expone a los cuatro reactivos de captura en un único dispositivo). Sin embargo, ha de entenderse que el mismo dispositivo puede incluir más de cuatro puntos únicos y/o permitir la detección de más de cuatro organismos.

Los reactivos para la detección de uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias pueden ser, por ejemplo, uno o más anticuerpos o uno o más antígenos reconocidos por anticuerpos específicos para uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias.

Además, el método puede incluir opcionalmente el uso de uno o más ácidos nucleicos de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho, incluyendo, pero sin limitarse a, los ácidos nucleicos de la presente invención, para determinar la presencia o ausencia de gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho en una muestra de mamífero. Tal uso de estos ácidos nucleicos para determinar la presencia del helminto puede llevarse a cabo antes, después o simultáneamente con llevar a cabo cualquiera de los otros aspectos del método, incluyendo la detección de gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho mediante anticuerpos. Por tanto, en un aspecto, una vez detectado o no detectado un gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho en una muestra particular y diagnosticado el mamífero del que se obtuvo la muestra como que tiene o no tiene una infección por gusano redondo, gusano látigo y/o gusano de gancho, la muestra (o una muestra obtenida más tarde del mamífero diagnosticado) puede someterse a prueba para determinar la presencia o ausencia de uno cualquiera o más de los ácidos nucleicos, incluyendo uno cualquiera o más ácidos nucleicos de la invención. Cualquiera que no logre detectar un helminto específico en un mamífero particular mediante el uso de uno o más ácidos nucleicos (una vez que se ha detectado el helminto mediante el uso de uno o más anticuerpos) necesitará tener en cuenta la posibilidad de que los anticuerpos hayan detectado coproantígeno helmíntico antes de la aparición del ácido nucleico helmíntico detectable en la muestra. En tal caso, el cuidador del mamífero puede elegir ignorar la observación de que el ácido nucleico no haya logrado detectar el helminto y continuar tratando al mamífero específicamente para la infección por helmintos basándose en la observación de que los anticuerpos habían detectado de hecho el helminto. En otro aspecto, los ácidos nucleicos se usan para determinar la presencia o ausencia de helmintos en un mamífero particular, y entonces se evalúa adicionalmente la presencia o ausencia de helmintos usando los anticuerpos de la

presente invención. La detección de uno o más ácidos nucleicos helmínticos pueden llevarse a cabo usando cualquier técnica de detección de ácidos nucleicos conocida por el experto en la técnica. Por ejemplo, tal detección pueden llevarse a cabo realizando una técnica basada en PCR, tal como, pero sin limitarse a, por ejemplo, una técnica basada en PCR en tiempo real. Técnicas basadas en PCR a modo de ejemplo se describen, por ejemplo, en PCR Protocols (Methods in Molecular Biology), 2ª ed., Bartlett and Stirling, eds., Humana Press (2003); y Sambrook y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001); cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

La presente invención se describe específicamente con referencia a cinco ejemplos; sin embargo, no debe interpretarse como que se limita a los mismos.

Ejemplos

A menos que se indique lo contrario, se usaron los siguientes materiales y técnicas para generara datos descritos en uno o más de los ejemplos 1-4 tal como se describen a continuación.

Preparación de anticuerpo policlonal frente a gusano redondo. Se obtuvieron los anticuerpos policlonales "Acp anti-DIV6728", (IgG) en conejo contra un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 21, respectivamente y se purificaron a partir de suero usando métodos convencionales. En resumen, para Acp anti-DIV6728 se clonaron los nucleótidos 76 a 456 de SEQ ID NO: 17 dentro del marco en un vector (D8223, que es un derivado de pUC19) para crear el plásmido D8245. Específicamente, los 125 aminoácidos de SEQ ID NO: 21 que siguen al residuo de metionina en el extremo N-terminal de esa secuencia corresponden a una porción de SEQ ID NO: 19 y se codifican por la porción clonada de SEQ ID NO: 17. En el plásmido D8245, el residuo de metionina N-terminal se codifica por la secuencia de vector en la unión de ese plásmido en el que el vector estaba ligado a la secuencia clonada de SEQ ID NO: 17.

Entonces se escindió la secuencia de ADN que codifica para SEQ ID NO: 21 del plásmido D8245 mediante digestión por exonucleasas de restricción (NdeI y BamHI) y se purificó. Entonces se ligó esta secuencia purificada con el vector de expresión linealizado, pET28a, y se transformó el constructo circular resultante (pTDX198::DIV6728) en el interior de células de *E. coli* BL21 (DE3). (Se confirmó la secuencia completa del inserto mediante análisis de la secuencia de ADN). Se indujo la expresión de proteína de fusión con etiqueta de His mediante la adición de IPTG 1 mM a los cultivos de *E. coli* transformada. Se solubilizó la proteína recombinante en urea 6 M y se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico y afinidad por níquel. (Esta proteína recombinante se denomina a continuación en el presente documento "rDIV6728").

Tras introducir rDIV6728 en conejos, se purificó Acp anti-DIV6728 a partir del plasma de los conejos inmunizados aislando el anticuerpo IgG mediante cromatografía de afinidad por proteína G.

Preparación de anticuerpo policlonal frente a gusano látigo. Se obtuvo el anticuerpo policlonal "Acp anti-DIV6901" (IgG) en conejo contra un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 5 y se purificó a partir de suero usando métodos convencionales. En resumen, en el caso de Acp anti-DIV6901, se clonaron los nucleótidos 89 a 1147 de SEQ ID NO: 1 dentro del marco en un vector de expresión (D8223, que es un derivado de pUC 19) para crear el plásmido D9073. Específicamente, los 353 aminoácidos de SEQ ID NO: 5 que siguen al residuo de metionina en el extremo N-terminal de esa secuencia corresponden a una porción de SEQ ID NO: 3 y se codifican por la porción clonada de SEQ ID NO: 1.

Entonces se escindió la secuencia de ADN que codifica para SEQ ID NO: 5 a partir del plásmido D9073 mediante digestión por exonucleasas de restricción (NdeI y BamHI) y se purificó. Entonces se ligó esta secuencia purificada con el vector de expresión linealizado, pET28a, y se transformó el constructo circular resultante (pTDX233::DIV6901) en el interior de células *E. coli*. (Se confirmó la secuencia completa del inserto mediante análisis de la secuencia de ADN). Se indujo la expresión de proteína de fusión con etiqueta de His mediante la adición de IPTG 1 mM a los cultivos de *E. coli* transformada. Se solubilizó la proteína recombinante en urea 6 M y se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico y afinidad por níquel. (Esta proteína recombinante se denomina a continuación en el presente documento "rDIV6901"). Se purificó Acp anti-DIV6901 a partir del plasma de los conejos inmunizados aislando el anticuerpo IgG mediante cromatografía de afinidad por proteína G.

Preparación y aislamiento del anticuerpo policlonal frente a gusano de gancho. Se obtuvo el anticuerpo policlonal anti-ASP5-1 (IgG) en conejo contra un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a SEQ ID NO: 34 y se purificó a partir de suero usando métodos convencionales. En resumen, se clonaron los nucleótidos 50 a 427 de SEQ ID NO: 32 dentro del marco en un plásmido. Específicamente, los 129 aminoácidos de SEQ ID NO: 34 que siguen al residuo de metionina en el extremo N-terminal de esa secuencia corresponden a una porción de SEQ ID NO: 33 y se codifican por la porción clonada de SEQ ID NO: 32. En el plásmido, se codificó el residuo de metionina N-terminal por la secuencia de vector en la unión de ese plásmido en el que el vector estaba ligado a la secuencia clonada de SEQ ID NO: 32.

Entonces se escindió la secuencia de ADN que codifica para SEQ ID NO: 32 a partir del plásmido mediante

digestión por exonucleasas de restricción (NotI y SacI) y se purificó. Entonces se ligó esta secuencia purificada con el vector de expresión linealizado, pET28a, y se transformó el constructo circular resultante en el interior de células de *E. coli* BL21 (DE3). (Se confirmó la secuencia completa del inserto mediante análisis de la secuencia de ADN). Se indujo la expresión de proteína de fusión con etiqueta de His mediante la adición de IPTG 1 mM a los cultivos de *E. coli* transformada. Se solubilizó la proteína recombinante en urea 6 M y se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico y afinidad por níquel. (Esta proteína recombinante se denomina a continuación en el presente documento "rASP5-1").

Tras introducirse rASP5-1 en conejos, se purificó Acp anti-ASP5-1 a partir del plasma de los conejos inmunizados aislando el anticuerpo IgG mediante cromatografía de afinidad por proteína G.

Infección de animales caninos y felinos. Se efectuó la infección por nematodos parásitos administrando por vía oral aproximadamente 150-300 huevos en estado larvario de gusano redondo (*Toxocara canis*), 150-300 larvas infectivas de gusano de gancho (*Ancylostoma caninum*), o 700 huevos en estado larvario de gusano látego (*Trichuris vulpis*), o cualquier combinación de los tres a un animal canino o felino sano. Se confirmó la infección mediante la observación microscópica de huevos de gusano en muestras fecales obtenidas de estos animales huésped.

Preparación de muestra fecal de animales caninos y felinos. Animales caninos y felinos animales que se sabía que estaban libres de infección por gusanos parásitos o que tenían infección por uno, dos o los tres de gusano redondo, gusano de gancho o gusano látego proporcionaron la fuente de muestras fecales. Se suspendieron muestras (aproximadamente 1 gramo) a partir de muestras fecales de animales caninos o felinos congeladas, sin conservantes, en 4 ml de disolución de diluyente (la "disolución de diluyente" es base Tris 0,05 M; EDTA 1 mM; Kathon al 0,45%; sulfato de gentamicina 16 mg/l; Tween-20 al 0,05%; suero bovino fetal al 40%; suero de conejo al 10%; y suero de ratón al 5%). Se centrifugó la suspensión en una centrífuga de sobremesa a 4000 rpm durante 20 minutos para producir un primer sobrenadante. Se centrifugó el primer sobrenadante a 10.000 g durante 5 minutos para producir un segundo sobrenadante, que se denomina en el presente documento "extracto fecal".

Ensayos de ELISA. Se inmovilizaron Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp5-1 purificados (100 µl/pocillo; 3 µg/ml para el ejemplo 2) mediante adsorción física sobre placas de 96 pocillos Immulon 1B durante la noche a 4°C. Entonces se bloquearon las placas con BSA al 1% en Tris 0,1 M, pH 7,0 o durante 3 horas a temperatura ambiente, seguido por sacarosa al 2,5% en tampón Tris 0,1 M, pH 7,0 durante 3 horas a temperatura ambiente, aspirando el líquido, secando a temperatura ambiente. Se añadieron aproximadamente 100 µl de extracto fecal a cada pocillo y se permitió que se incubaran a temperatura ambiente durante una hora. Entonces se lavaron los pocillos cinco veces con una disolución de PBS-Tween-20 según métodos convencionales conocidos por los expertos habituales en la técnica. En un recipiente de reacción separado, se marcaron Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp5-1 con peroxidasa de rábano (HRP) usando el agente de reticulación 4-[N-maleimidometil]ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC) para crear un conjugado, y se añadió este conjugado (3 µg/ml para el ejemplo 2) a cada pocillo que tenía Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp5-1 inmovilizados. Tras un periodo de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se lavó el conjugado no unido de los pocillos usando disolución de PBS-Tween-20 según métodos convencionales conocidos por los expertos habituales en la técnica. Entonces se añadieron 50 µl de sustrato de peroxidasa TMBLUE® (SeraCare Life Sciences, West Bridgewater, MA) a cada pocillo y se incubaron las placas durante 10 minutos a temperatura ambiente. Tras detener cada reacción enzimática con dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,1% tras el periodo de incubación de 10 minutos, se midió el valor de densidad óptica (DO) de cada pocillo de la placa de 96 pocillos a A650 mediante técnicas espectrofotométricas convencionales usando un lector de placas ELISA para generar un "valor de DO650" (o, de manera más sencilla, un "valor de DO") para cada pocillo. En esta disposición, el valor de DO obtenido para cualquier pocillo particular de la placa de 96 pocillos era directamente proporcional a la cantidad de antígeno unido específicamente presente en el pocillo (si la IgG no estaba saturada).

EJEMPLO 1

Cuando se someten a prueba mediante ELISA en un formato de flujo lateral, Acp anti-DIV6728 se une específicamente a coproantígeno de gusano redondo, Acp anti-DIV6901 se une específicamente a coproantígeno de gusano látego, y Acp anti-Asp5-1 se une específicamente a coproantígeno de gusano de gancho. No hubo unión cruzada a coproantígeno entre los anticuerpos helmínticos y sus helmínticos no específicos. La unión específica a coproantígeno de gusano redondo mediante Acp anti-DIV6728, coproantígeno de gusano látego mediante Acp anti-DIV6901 y coproantígeno de gusano de gancho mediante Acp anti-Asp5-1 produce un cambio colorimétrico que puede observarse fácilmente por el ojo humano.

Un objetivo del ejemplo 1 era determinar si Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp 5-1 pueden usarse para capturar y unirse específicamente a sus respectivos coproantígenos helmínticos sin unión no específica en un ELISA de flujo lateral. El formato de flujo lateral que se usó fue un dispositivo de ensayo SNAP®, similar al que se describe en la patente estadounidense n.º 5.726.010. Además, se realizó el ensayo generalmente tal como se describe en esa misma patente. En resumen, entre otros componentes, el dispositivo de ensayo SNAP® incluía una cubeta de entrada de muestra, una matriz de flujo, una almohadilla de filtro previo de muestra para eliminar materia particulada que interfiere, una almohadilla de reactivo de unión específica, una zona reactiva y un depósito

absorbente. Se inmovilizaron Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp 5-1 en forma de puntos pequeños, redondos, en la zona reactiva mediante secado. Entonces se bloqueó la zona reactiva con BSA. Se mezcló un extracto fecal combinado (150 µl) de animales caninos con infección por gusano redondo con 200 µl (1,0 µg/ml) de Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901, o Acp anti-Asp 5-1 conjugados (los anticuerpos se purificaron por afinidad antes de marcarse con HRP tal como se describió anteriormente). Se añadió esta mezcla a la cubeta de muestra y entonces se permitió que fluyera a lo largo de la matriz de flujo. Mientras se encontraban en la matriz de flujo, los anticuerpos marcados con HRP se unieron específicamente a sus respectivos coproantígenos helmínticos presentes en el extracto fecal. Se permitió que los complejos resultantes (es decir, los que incluían los anticuerpos marcados con HRP y sus respectivos coproantígenos helmínticos) se unieran específicamente a los Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 o Acp anti-Asp 5-1 inmovilizados en la zona de reacción. Se invirtió el flujo a lo largo de la matriz de flujo poniendo en contacto el depósito absorbente con la matriz de flujo. En este momento, la disolución de detector y de lavado migraron al interior de la matriz de flujo para retirar cualquier componente no unido y para permitir la detección de cualquier complejo de analito que estuviera presente en el que el reactivo de captura estaba inmovilizado sobre la zona de reacción. (Esta etapa de detección duró aproximadamente ocho minutos). Se produjo la parada de la detección de los complejos de analito exponiendo los complejos de analito a azida de sodio al 0,1%.

Tal como se muestra en la figura 1C-E, la detección de complejos de analito específicos de helmintos en los que los anticuerpos específicos frente a gusano redondo, gusano látego y gusano de gancho se inmovilizaron sobre zonas de reacción separadas era visiblemente evidente para una infección por gusano redondo (1D), una infección por gusano látego (1E) y una infección por gusano de gancho (1C). En la muestra de control negativo mostrada en la figura 1A (disolución de diluyente sólo), no se detectaron complejos de analito. En una muestra de control negativa mostrada en la figura 1B, no se detectaron complejos de analito en los que el anticuerpo estaba inmovilizado sobre la zona de reacción de un dispositivo separado (la muestra de control negativa era una combinación de extractos fecales obtenidos de animales caninos que no albergaban una infección por helmintos). Por tanto, estos datos indican que pueden usarse Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp 5-1 en un formato de ELISA de flujo lateral para unirse separada y específicamente a su respectivo coproantígeno helmíntico. Esta unión específica es fácilmente visible por el ojo humano.

EJEMPLO 2

Cuando se someten a prueba mediante ELISA en un formato de placa de microtitulación, Acp anti-DIV6728 se une específicamente a coproantígeno de gusano redondo, pero no se une específicamente a coproantígeno de ninguno de gusano de gancho, gusano látego o gusano del corazón; Acp anti-DIV6901 se une específicamente a coproantígeno de gusano látego, pero no se une específicamente a coproantígeno de ninguno de gusano de gancho, gusano redondo o gusano del corazón; y Acp anti-Asp5-1 se une específicamente a coproantígeno de gusano de gancho, pero no se une específicamente a coproantígeno de ninguno de gusano redondo, gusano látego o gusano del corazón. La unión específica de coproantígeno de gusano redondo mediante Acp anti-DIV6728, coproantígeno de gusano látego mediante Acp anti-DIV6901 y coproantígeno de gusano de gancho mediante Acp anti-Asp5-1 produce un cambio colorimétrico que puede observarse fácilmente por el ojo humano.

Un objetivo del ejemplo 2 era determinar si la unión específica entre Acp anti-DIV6728 y coproantígeno de gusano redondo; Acp anti-DIV6901 y coproantígeno de gusano látego; y Acp anti-Asp5-1 y coproantígeno de gusano de gancho, mientras los Acp anti-DIV6728, Acp anti-DIV6901 y Acp anti-Asp5-1 estaban inmovilizados sobre un soporte sólido, podía producir un cambio colorimétrico que puede observarse por el ojo humano.

Haciendo referencia a la figura 2, se inmovilizó Acp anti-DIV6728 (3 µg/ml) sobre las superficies inferiores de los pocillos D1-D12 y E1-E12, se inmovilizó Acp anti-DIV6901 sobre las superficies inferiores de los pocillos G1-G12 y H1-H12 y se inmovilizó Acp anti-Asp5-1 sobre las superficies inferiores de los pocillos A1-A12 y B1-B12 de una placa de microtitulación tal como se describió anteriormente. Después de tal inmovilización, se expusieron los pocillos A3, B3, D3, E3, G3 y H3 a extracto fecal de un animal canino con infección por gusano del corazón (indicado mediante "HW" en la figura 2). Se expusieron los pocillos A4, B4, D4, E4, G4 y H4 al extracto fecal de un primer animal canino con infección por gusano de gancho, se expusieron los pocillos A5, B5, D5, E5, G5, y H5 a extracto fecal de un segundo animal canino con infección por gusano de gancho, y se expusieron los pocillos A6, B6, D6, E6, G6 y H6 a extracto fecal de un tercer animal canino con infección por gusano de gancho. Se expusieron los pocillos A7, B7, D7, E7, G7 y H7 a extracto fecal de un primer animal canino con infección por gusano redondo, se expusieron los pocillos A8, B8, D8, E8, G8 y H8 a extracto fecal de un segundo animal canino con infección por gusano redondo, y se expusieron los pocillos A9, B9, D9, E9, G9 y H9 a extracto fecal de un tercer animal canino con infección por gusano redondo. Se expusieron los pocillos A10, B10, D10, E10, G10 y H10 a extracto fecal de un primer animal canino con infección por gusano látego, se expusieron los pocillos A11, B11, D11, E11, G11 y H11 a extracto fecal de un segundo animal canino con infección por gusano látego y se expusieron los pocillos A12, B12, D12, E12, G12 y H12 a extracto fecal de un tercer animal canino con infección por gusano látego. Se expusieron los pocillos A1, B1, D1, E1, G1 y H1 a rDIV6728, rDIV6901, y rAsp5-1 (1 µg/ml), y por tanto estos pocillos sirvieron como controles positivos. No se expusieron los pocillos A2, B2, D2, E2, G2 y H2 a ningún extracto fecal ni a rDIV6728, rDIV6901 ni rAsp5-1 y por tanto estos pocillos sirvieron como controles negativos. Tras lavar, se expusieron los pocillos D1-12 y E1-12 a Acp anti-rDIV6728 marcado con HRP; se expusieron los pocillos G1-G12 y H1-H12 a Acp anti-rDIV6901 marcado con HRP; se expusieron los pocillos A1-A12 y B1-B12 a Acp anti-rAsp 5-1

marcado con HRP a 3 µg/ml tal como se describió anteriormente.

Tras la incubación de todos estos pocillos con sustrato de peroxidasa TMBLUE® y la posterior adición del SDS, se observó visualmente el cambio colorimétrico en los pocillos de Acp anti-DIV6728 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por gusano redondo (D7-D9 y E7-E9), pero no se observó cambio colorimétrico en ninguno de los pocillos de Acp anti-DIV6728 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por cualquiera de gusano de gancho, gusano látigo o gusano del corazón. Se observó visualmente cambio colorimétrico en los pocillos de Acp anti-DIV6901 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por gusano látigo (G10-G12 y H10-H12), pero no se observó cambio colorimétrico en ninguno de los pocillos de Acp anti-DIV6901 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por cualquiera de gusano de gancho, gusano redondo o gusano del corazón. Se observó visualmente cambio colorimétrico en los pocillos de Acp anti-Asp5-1 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por gusano de gancho (A4-A6 y B4-B6), pero no se observó cambio colorimétrico en ninguno de los pocillos de Acp anti-Asp5-1 que se habían expuesto a extracto fecal de animales caninos con infección por cualquiera de gusano redondo, gusano látigo o gusano del corazón.

Estos datos indican que Acp anti-DIV6728 detecta gusano redondo; Acp anti-DIV6901 detecta gusano látigo; y Acp anti-Asp5-1 detecta gusano de gancho en un formato ELISA de manera suficiente para producir un cambio colorimétrico que es robusto y fácilmente visible por el ojo humano. Además, estos datos indican que tal cambio colorimétrico permite que el ojo humano distinga fácilmente entre las muestras fecales específicas de helmintos que contienen gusano redondo, gusano de gancho y gusano látigo

EJEMPLO 3

Una versión truncada de DIV6728, Copro6728, está presente en heces de animales caninos con infección por *T. canis*.

A. Preparación de muestra fecal de animales caninos

Animales caninos que se sabía que albergaban una infección por gusano redondo (*T. canis*) o que no tenían una infección por gusanos parásitos proporcionaron la fuente de muestras fecales. Se suspendió una muestra (aproximadamente 1 gramo) de heces de animales caninos congeladas, sin conservantes, combinadas a partir de cinco animales caninos con infección por gusano redondo o sin infección en 4 ml de tampón de extracción ("tampón de extracción" es 1X solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,0-7,5 con Tween-20 al 0,05%). Se agitó esta suspensión con vórtice durante 2 minutos y entonces se centrifugó a 13.000 rpm durante 25 minutos para producir un primer sobrenadante. Entonces se centrifugó este primer sobrenadante a 10.000 rpm durante 5 minutos para producir un segundo sobrenadante. Este segundo sobrenadante se denomina a continuación en el presente documento "extracto fecal".

B. Intercambio iónico

La cromatografía de intercambio iónico puede enriquecer Copro6728 a partir de una muestra fecal. Se usaron muestras de PLRS para este estudio. En primer lugar se extrajo la muestra fecal con PBST (Tween 20 al 0,05%), pH 7,3. En primer lugar se diluyó la muestra con tampón de citrato de sodio, pH 3,0 y luego se ajustó el pH a 3 con HCl. Finalmente, se centrifugó la muestra y se cargó el sobrenadante en una columna de sulfopropilo (SP). Se eluyó la columna de SP con tampón de citrato de sodio 20 mM, pH 3 con NaCl 1 M, y se evaluaron las fracciones de elución mediante ELISA. Se recubrió la placa de ELISA con IgG de conejo anti-6728 a 3 µg/ml. Basándose en los resultados mostrados en la figura 15, queda claro que Copro6728 puede purificarse parcialmente y enriquecerse eluyendo la columna de SP con tampón de citrato de sodio con NaCl 1 M y Copro6728 está en la fracción entre A11 y C9 (figura 15).

C. Inmunotransferencia de tipo Western y SDS-PAGE

La inmunotransferencia de tipo Western y gel de SDS-PAGE mostraron que el peso molecular de Copro6728 es de aproximadamente 7 kD. Se mezclaron fracciones de elución de la columna de SP y se ajustó el pH de tampón a 7 con NaOH antes de cargarlo en una columna de afinidad, que se preparó uniendo la IgG de conejo anti-6728 con resina AminoLink (Pierce, Thermo Scientific). Se lavó la columna y se eluyó según las instrucciones del fabricante. Se cargaron las fracciones de elución en un gel de gradiente de Bis-Tris a del 4-12% de 10 pocillos y se transfirieron a membrana de nitrocelulosa para la inmunotransferencia de tipo Western. La inmunotransferencia de tipo Western, analizada con sonda de IgG de conejo anti-6728-HRP, mostró que la banda principal (Copro6728) era de aproximadamente 7 kD (flecha roja en la figura 16). Tras la concentración adicional, se visualizaron las mismas muestras sobre un gel de SDS-PAGE con tinción de proteína Imperial (Pierce, Thermo Scientific). Es visible una banda de 7 kD correspondiente al tamaño indicado por IgG anti-6728-HRP (flecha roja en la figura 17).

D. Análisis de espectrometría de masas

El análisis de espectrometría de masas en la banda cortada del gel de SDS-PAGE (señalada mediante una flecha roja en la figura 17) indicó que esta banda contiene Copro6728, y que la porción C-terminal de DIV6728 contiene Copro6728.

La banda de 7 kD que corresponde a la banda de 7 kD en la inmunotransferencia de tipo Western se cortó del gel de SDS-PAGE y se envió a Keck Center en la Universidad de Yale para el análisis de espectrometría de masas. En primer lugar se digirió por tripsina la muestra en el gel y entonces se analizó mediante CL-EM/EM usando el Q-Tof del espectrómetro de masas Ultima (Waters). Se encontraron dos péptidos específicos en la muestra mediante análisis de espectrometría de masas: Péptido 1: R.FVPCTR.N (SEQ ID NO: 35) y Péptido 2: R.DAEGNCIK.F (SEQ ID NO: 36).

El análisis de alineación en las secuencias de DIV6728 (SEQ ID NO: 21) y los dos péptidos identificados mediante análisis de EM indicó que ambos péptidos están ubicados en el extremo C-terminal de DIV6728 de longitud completa, confirmando que la banda de 7 kD identificada mediante inmunotransferencia de tipo Western se deriva de DIV6728. La ubicación de las dos secuencias peptídicas indica que una porción C-terminal de DIV6728 (Copro6728) estaba presente en las muestras fecales positivas para *T. canis*. La figura 18 muestra la longitud completa de DIV6728 (SEQ ID NO: 21) con los dos péptidos identificados mediante el análisis de EM resaltados en los recuadros sombreados.

EJEMPLO 4

Se generaron dos proteínas recombinantes que corresponden a 64 aminoácidos dentro de la porción N-terminal de DIV6728 y 65 aminoácidos dentro de la porción C-terminal de DIV6728.

Basándose en los datos del análisis de EM, inmunotransferencia de tipo Western y SDS-PAGE, se prepararon dos nuevos constructos de expresión que codificaban para truncamientos de DIV6728. Se denominaron 6728N (SEQ ID NO: 37) y 6728C (SEQ ID NO: 38) para el extremo N-terminal y el extremo C-terminal de DIV6728 de longitud completa, respectivamente. La figura 19 muestra una alineación de las secuencias de aminoácidos de 6728N (SEQ ID NO: 37) y 6728C (SEQ ID NO: 38) codificadas por los constructos.

A. Genes sintéticos para expresar 6728N y 6728C recombinantes

Se optimizaron mediante codón los genes para expresar polipéptidos de 6728N y 6728C para la expresión en *E. coli*, se sintetizaron y se clonaron en el vector pET28(a) con etiquetas de seis His(6) en el extremo N-terminal de cada proteína recombinante mediante GeneArt, (Josef-Engert-Str. 11D-93053 Regensburg, Alemania).

B. Expresión de proteínas recombinantes 6728N y 6728C

Se expresaron las proteínas recombinantes 6728N y 6728C en *E. coli* BL21(DE3) y se purificaron con una columna de níquel individual. Se transformó el plásmido pET28(a) 6728N dentro de BL21 (DE3), se hizo crecer hasta una DO de ~0,8 y se indujo con IPTG 1 mM (isopropil-1-tio-β-D-galactopiranosido) a 37°C durante 2 horas. Se lisaron las células con procesador Microfluidizer®, M-11EH. 6728N recombinante era soluble en el tampón Tris 20 mM, pH 8,0, con NaCl 500 mM y se purificó mediante elución gradual de la columna de níquel con concentraciones diferentes de imidazol en el tampón Tris 20 mM, pH 8,0, con NaCl 500 mM. Se eluyó 6728N recombinante de la columna de níquel mediante el mismo tampón con imidazol 500 mM. La figura 20 es un gel de SDS-PAGE cargado con diferentes muestras para comprobar la purificación de 6728N recombinante. 6728N recombinante tiene aproximadamente ~12 kD de tamaño (carril 9) en el gel.

Se transformó el plásmido pET28(a) 6728C dentro de BL21 (DE3), se hizo crecer hasta una DO de ~0,8 y se indujo con IPTG 1 mM (isopropil-1-tio-β-D-galactopiranosido) a 37°C durante 2 horas. Se lisaron las células con procesador Microfluidizer®, M-11EH. 6728C recombinante era soluble en el tampón Tris 20 mM, pH 8,0, con NaCl 500 mM y se purificó mediante elución gradual de la columna de níquel con concentraciones diferentes de imidazol en el tampón Tris 20 mM, pH 8,0, con NaCl 500 mM. Se eluyó 6728C recombinante de la columna de níquel mediante el mismo tampón con imidazol 500 mM. La figura 21 es un gel de SDS-PAGE cargado con diferentes muestras para confirmar la purificación de 6728C recombinante. 6728C recombinante tiene aproximadamente ~12 kD de tamaño (carril 9) en este gel.

C. Anticuerpos policlonales de conejo

El anticuerpo policlonal de conejo obtenido contra 6728C detecta antígeno en ELISA fecal, mientras que el anticuerpo policlonal contra 6728N no detecta antígeno en ELISA fecal

Se usaron proteínas recombinantes 6728N y 6728C, purificadas con una columna de níquel individual, se usaron para inmunizar conejos para la producción de anticuerpos policlonales. Se purificaron por afinidad anticuerpos policlonales de los sueros de conejos inmunizados con resina de proteína G y se usaron para recubrir placas Immulon I a 2 µg/ml. Se sometieron a prueba cuatro muestras de animales caninos diferentes con placas recubiertas

con anticuerpos diferentes. Los anticuerpos de los dos conejos inmunizados con 6728C recombinante podían diferenciar las muestras fecales positivas para *T. canis* de muestras positivas para gusano de gancho, gusano látigo y muestras negativas para nematodos. Sin embargo, los anticuerpos de los dos conejos inmunizados con 6728N recombinante no podían diferenciar las muestras fecales positivas para *T. canis* de muestras positivas para gusano de gancho, gusano látigo ni muestras negativas para nematodo (figura 22). Estos datos de ELISA demuestran adicionalmente que Copro6728 es una porción C-terminal de DIV6728 de longitud completa. Experimentos adicionales mostraron que anticuerpos obtenidos contra 6728N y 6728C sólo reconocen sus proteínas recombinantes relacionadas sin reactividad cruzada (figura 23). Ambos de estos anticuerpos policlonales reaccionan con DIV6728 recombinante de longitud completa tal como se espera (figura 23).

D. Inmunotransferencia de tipo Western

El anticuerpo policlonal de conejo contra 6728C recombinante puede reconocer las muestras fecales positivas para *T. canis* en inmunotransferencia de tipo Western, pero no el anticuerpo policlonal contra 6728N recombinante. Además de extracto de gusano completo *T. canis* (carril 1), se repartieron muestras fecales negativas para nematodos (carriles 2-4) y positivas para *T. canis* (carriles 5-7) mediante columna de SP con tampón de elución con alto contenido en sal (NaCl 1 M en tampón de citrato de sodio 20 mM, pH 3). Se cargaron extracto de gusano *T. canis* (carril 1), muestras cargadas en la columna (carril 2 y 5), fracción no retenida de la columna (carril 3 y 6) y elución de columna (carril 4 y 7) en gel de gradiente de Bis-Tris a del 4-12% de 10 pocillos, y entonces se transfirieron adicionalmente a membrana de nitrocelulosa, analizada con sonda de diferentes conjugados tal como se indica en las figuras 24-26. Tanto la IgG anti-6728 de longitud completa-HRP como la IgG anti-6728C-HRP podían diferenciar la muestra fecal positiva para *T. canis* de las muestras fecales negativas para nematodos (figura 24 y 25). Sin embargo, la IgG anti-6728N-HRP no podía diferenciar estas dos muestras fecales diferentes (figura 26). Estos datos confirmaron adicionalmente que Copro6728 sólo tiene aproximadamente la mitad del tamaño de DIV6728 de longitud completa, de acuerdo con los datos obtenidos del análisis de espectrometría de masas y ELISA fecal.

REIVINDICACIONES

1. Método de detección de la presencia o ausencia de uno o más antígenos helmínticos en una muestra, comprendiendo el método:
 - (a) poner en contacto una muestra de un mamífero con al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en:
 - (i) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho;
 - (ii) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y
 - (iii) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo
 - (b) formar complejos anticuerpo-coproantígeno en presencia de los coproantígenos, si los hay, en la muestra; y
 - (c) detectar la presencia o ausencia de los complejos anticuerpo-coproantígeno, si los hay.
2. Método de diagnóstico de si un mamífero tiene infección por uno o más gusanos parásitos, comprendiendo el método las etapas de:
 - (a) poner en contacto una muestra de un mamífero con al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en:
 - (i) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho;
 - (ii) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y
 - (iii) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo
 - (b) formar complejos anticuerpo-coproantígeno en presencia de los coproantígenos, si los hay, en la muestra;
 - (c) detectar la presencia o ausencia de los complejos anticuerpo-coproantígeno, si los hay; y
 - (d) diagnosticar que el mamífero tiene:
 - (i) una infección por gusano redondo si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano redondo;
 - (ii) una infección por gusano látigo si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano látigo; y
 - (iii) una infección por gusano de gancho si está presente un complejo anticuerpo-coproantígeno de gusano de gancho.
3. Método según la reivindicación 1 ó 2 en el que:
 - (a) el primer anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38 o Copro6728; o el primer anticuerpo se obtuvo contra un extracto de gusanos redondos completos, o extracto de órganos reproductores de gusano redondo, o extracto de intestinos de gusano redondo; y/o
 - (b) el segundo anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 9; y/o

(c) el tercer anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34, o CoproASP5.

4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que los anticuerpos primero, segundo y tercero pueden unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 30 o menos sustituciones de aminoácido conservadas con respecto a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38 y/o

en el que los coproantígenos son el polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 80% con respecto a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5.

5. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el gusano redondo es *Toxocara canis* o *Toxocara cati*, *Toxocara vitulorum*, *Toxascaris leonina*, *Baylisascaris procyonis*, *Ascaridia galli*, *Parascaris equorum*, *Ascaris suum*, *Ascaris lumbricoides*, *Anisakis simplex* o *Pseudoterranova decipiens*; y/o

en el que el gusano látigo es *Trichuris vulpis*, *Trichuris campanula*, *Trichuris serrata*, *Trichuris suis*, *Trichuris trichiura*, *Trichuris discolor* y *Trichocephalus trichiuris*; y/o

en el que el gusano de gancho es *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenal*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma tubaeforme* y *Ancylostoma pluridentatum*, *Necator americanus* y *Uncinaria stenocephala*.

6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el coproantígeno de gusano redondo, coproantígeno de gusano de gancho y/o coproantígeno de gusano látigo es de una muestra fecal, preferiblemente la muestra se obtiene de un mamífero que es un animal canino o un animal felino.

7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que los anticuerpos primero, segundo y tercero no se unen específicamente a ningún coproantígeno derivado de gusano del corazón.

8. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la etapa de detectar la presencia o ausencia de los complejos incluye además la etapa de proporcionar al menos un anticuerpo secundario que se une a al menos uno de los complejos, preferiblemente el al menos un anticuerpo secundario está marcado.

9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que uno o más de los anticuerpos primero, segundo y tercero están marcados y/o, en el que los anticuerpos primero, segundo y tercero están inmovilizados sobre un soporte sólido.

10. Método según la reivindicación 9, en el que el soporte sólido forma parte de un dispositivo de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, preferiblemente el dispositivo de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas es un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral.

11. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además la etapa de poner en contacto la muestra con uno o más reactivos para detectar uno o más del grupo que consiste en: uno o más parásitos distintos de gusanos, gusano del corazón, uno o más virus, uno o más hongos, y una o más bacterias, preferiblemente los reactivos para la detección de uno cualquiera o la totalidad del uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos y una o más bacterias son uno o más anticuerpos o uno o más antígenos reconocidos por anticuerpos específicos para el uno o más parásitos distintos de gusanos, uno o más virus, uno o más hongos o una o más bacterias.

12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende además la etapa de determinar la presencia o ausencia de un ácido nucleico del gusano redondo, gusano látigo o gusano de gancho, en el que el ácido nucleico tiene una secuencia que corresponde a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 o SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5 o tiene una identidad de al menos el 85% con respecto a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 o SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5.

13. Dispositivo para detectar la presencia o ausencia de uno o más antígenos helmínticos de una muestra; comprendiendo el dispositivo un soporte sólido, en el que el soporte sólido tiene inmovilizados sobre el mismo al menos dos anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en:
 - 5 (a) un primer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano redondo, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano de gancho;
 - (b) un segundo anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano látigo, pero no a un coproantígeno de gusano redondo o gusano de gancho; y
 - 10 (c) un tercer anticuerpo que puede unirse específicamente a un coproantígeno de gusano de gancho, pero no a un coproantígeno de gusano látigo o gusano redondo.
14. Dispositivo según la reivindicación 13, que comprende además uno o más tipos de antígeno de gusano redondo, antígeno de gusano látigo y/o antígeno de gusano de gancho, en el que el uno o más tipos de antígeno de gusano redondo, antígeno de gusano látigo y antígeno de gusano de gancho se unen específicamente a los anticuerpos.
15. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 13 ó 14, en el que:
 - 20 (a) el primer anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 38 o Copro6728 o una porción antigénica del mismo; o el primer anticuerpo se obtuvo contra un extracto de gusanos redondos completos, o extracto de órganos reproductores de gusano redondo, o extracto de intestinos de gusano redondo; y/o
 - 25 (b) el segundo anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 9 o una porción antigénica del mismo; y/o
 - 30 (c) el tercer anticuerpo puede unirse específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34, o CoproASP5, o una porción antigénica del mismo.
16. Dispositivo según la reivindicación 15, en el que la secuencia de aminoácidos del polipéptido tiene una identidad de al menos el 80% con respecto a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5, preferiblemente, en el que la secuencia de aminoácidos del polipéptido tiene 30 o menos sustituciones de aminoácido conservadas con respecto a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 o SEQ ID NO: 38.
17. Dispositivo según la reivindicación 13, en el que los anticuerpos primero, segundo y tercero se obtienen mediante inmunización con el polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5, o que tiene una porción antigénica de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, Copro6728 o CoproASP5.
18. Dispositivo según la reivindicación 13, en el que la muestra es una muestra fecal, preferiblemente la muestra es de un animal canino o un animal felino.
19. Dispositivo según la reivindicación 18, en el que los anticuerpos primero, segundo y tercero no se unen específicamente a ningún coproantígeno derivado de gusano del corazón.

20. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 19, en el que el dispositivo es un dispositivo de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, preferiblemente el dispositivo de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas es un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral.
- 5 21. Kit para la detección de uno o más coproantígenos de gusano redondo, uno o más coproantígenos de gusano látigo y/o uno o más coproantígenos de gusano de gancho en una muestra de mamífero, comprendiendo el kit el dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 13-20, y uno o más reactivos suficientes para la detección del uno o más antígenos.
- 10 22. Kit según la reivindicación 21, en el que el uno o más reactivos se seleccionan del grupo que consiste en uno o más reactivos indicadores, uno o más compuestos de marcaje de anticuerpos, uno o más anticuerpos, uno o más reactivos de captura de antígeno, uno o más inhibidores y uno o más reactivos de lavado.

15

Lista de secuencias

5	<110> Idexx Laboratories, Inc. Elsemore, David Allen Geng, Jinming Flynn, Laurie A. Crawford, Michael	
10	<120> Métodos, dispositivos, kits y composiciones para detectar gusano redondo, gusano látigo y gusano de gancho	
	<130> Documento 08-1283-WO	
15	<150> 61/122260 <151> 12-12-2008	
	<160> 38	
	<170> PatentIn versión 3.4	
20	<210> 1 <211> 1210 <212> ADN <213> <i>Trichuris vulpis</i>	
25	<400> 1	
	cattcactgc ggttgtaaaa gcagtgcaga aatgaggctg gtcttccatg cggttattta	60
	cctcacattg gggttcctca ccgacgccgt aagagaaaaa cgtggcaa at gtcctcctga	120
	accaccgatc gcaggaaaca cgatctactg ccgcgatgat tttgattgtg gaggaagaca	180
	gaagtgtctg acaattgcag aaggacgtgg atgctgtccg ccctatggtg aacaacattt	240
	cgaagtgggtg aaaccgggtc attgcccagc tattccagcg gttacgggca tggcgaactt	300
	ctgtaacact gatggcgact gtgatggacc gaaaaaatgt tgtctcacat cgcgcggcta	360
	cgattgcaca catccattac acttcccaat ccagccacaa cctccagtag gacagtgtcc	420
	tccttcaaag ccccgatatcc caggaaaatg ggtagacatc tgcgctaagc atgccaactg	480
	cccagacca gagaagtgtt gcgacacgga gtatggcaac cgatgtatgg atgttggtt	540
	agtgccagga caaggagaaa gaccaggcaa ttgcccgaac gaaccacgaa taagaggaac	600
	taaatacgat tgccgacgag acgatgactg cgacggtgtg cagaaatgct gcttcaactgt	660
	tgagggacgt gagtgcgtgg aaccaagtag aaaaccactg gacaagcccg gacattgtcc	720
	accaattccc gctgatgtgg gctcagccag gtactgcgac actgatcggg attgtgatgg	780
	accaagaaaa tgctgcctct cttcgcggtg ctatgaatgt aaacatccag tacactatcc	840
	cgatcgagtg gagccactag taggagaatg cccaccatca cgacctcgca ttcttgggaa	900
	atgggttgac atctgctcta agcatgccaa ctgcccagac ccagagaaat gttgcgacac	960
	ggagtatggc aaccgatgta tggacgttgg attagtgcct ggacaaggag aaaaacctgc	1020
	caactgcca aaggaaccac gaataagagg aactaagtac gactgtcgac gggacgatga	1080

ES 2 509 894 T3

```

ctgcgatggg aaacaaaagt gctgctacac aactgaaggc cgcgaatgcg tccatggtat 1140
atggccttaa atggttgctt cttcctataa taaaagcaaa cgaatcaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa 1210
<210> 2
<211> 1059
5 <212> ADN
   <213> Trichuris vulpis

<400> 2

gtaagagaaa aacgtggcaa atgtcctcct gaaccaccga tcgcaggaaa cacgatctac 60
tgccgcgatg attttgattg tggaggaaga cagaagtgcg gtacaattgc agaaggacgt 120
ggatgcgtgc cgccctatgg tgaacaagat ttcgaagtgg tgaaaccggg tcattgcccc 180
gctattccag cggttacggg catggcgaac ttctgtaaca ctgatggcga ctgtgatgga 240
cogaaaaaat gttgtctcac atcgcgcggc tacgattgta cacatccgtt acacttccca 300
atccagccac aacctccagt aggacagtgc cctccttcaa agccccgtgt tccaggaaaa 360
tgggtagaca tctgcgctaa gcatgccaat tgcccagacc cagagaagtg ttgcgacacg 420
gagtatggca accgatgtat ggatgttgga ttagtggcag gacaaggaga aagaccaggc 480
aattgcccga acgaaccacg aataagagga actaaatacg attgccgacg agacgatgac 540
tgcgacggtg tgcagaaatg ctgcttcact gttgagggac gtgagtgcgt ggaaccaagc 600
agaaaaccac tggacaagcc cggacattgt ccaccaatlc ccgctgatgt gggctcagcc 660
aggtactgcg aactgatcg ggattgtgat ggaccaagaa aatgctgcct ctcttcgcgt 720
ggctatgaat gtaaacaatc agtacactat cccgatcgag tggagccact agtaggagaa 780
tgcccaccat cagacctcg cattcctggg aaatggggtg acatctgctc taagcatgcc 840
aactgcccag acccagagaa atgttgcgac acggagtatg gcaaccgatg tatggacgtt 900
ggattagtgc ctggacaagg agaaaaacct gccaaactgcc caaaggaacc acgaataagg 960
ggaactaagt acgactgtcg acgggacgat gactgcgatg ggaaacaaaa gtgctgctac 1020
10 acaactgaag gccgcgaatg cgtccatggt atatggcct 1059

<210> 3
<211> 372
15 <212> PRT
   <213> Trichuris vulpis

<400> 3

Met Arg Leu Val Phe His Ala Val Ile Tyr Leu Thr Leu Gly Phe Leu
1           5           10           15

```

ES 2 509 894 T3

Thr Asp Ala Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro
20 25 30

Ile Ala Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly
35 40 45

Arg Gln Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro
50 55 60

Tyr Gly Glu Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala
65 70 75 80

Ile Pro Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp
85 90 95

Cys Asp Gly Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys
100 105 110

Thr His Pro Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln
115 120 125

Cys Pro Pro Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys
130 135 140

Ala Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu
145 150 155 160

Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu
165 170 175

Arg Pro Gly Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr
180 185 190

Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe
195 200 205

Thr Val Glu Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp
210 215 220

Lys Pro Gly His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg
225 230 235 240

Tyr Cys Asp Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu
245 250 255

ES 2 509 894 T3

Ser Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg
260 265 270

Val Glu Pro Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro
275 280 285

Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro
290 295 300

Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro
325 330 335

Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp
340 345 350

Gly Lys Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His
355 360 365

Gly Ile Trp Pro
370

<210> 4

<211> 353

<212> PRT

<213> *Trichuris vulpis*

<400> 4

Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly
1 5 10 15

Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys
20 25 30

Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu
35 40 45

Gln Asp Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala
50 55 60

Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly
65 70 75 80

Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro
85 90 95

5

10

ES 2 509 894 T3

Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro
 100 105 110
 Ser Lys Pro Arg Val Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His
 115 120 125
 Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn
 130 135 140
 Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Ala Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly
 145 150 155 160
 Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg
 165 170 175
 Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val Glu
 180 185 190
 Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 195 200 205
 His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 210 215 220
 Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg
 225 230 235 240
 Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro
 245 250 255
 Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
 260 265 270
 Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
 275 280 285
 Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
 290 295 300
 Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
 305 310 315 320
 Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
 325 330 335
 Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
 340 345 350
 Pro

ES 2 509 894 T3

<210> 5
 <211> 354
 <212> PRT
 5 <213> Artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 5

 Met Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala
 1 5 10 15

 Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln
 20 25 30

 Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly
 35 40 45

 Glu Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro
 50 55 60

 Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp
 65 70 75 80

 Gly Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His
 85 90 95

 Pro Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro
 100 105 110

 Pro Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys
 115 120 125

 His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly
 130 135 140

 Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Arg Pro
 145 150 155 160

 Gly Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys
 165 170 175

ES 2 509 894 T3

Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val
180 185 190

Glu Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro
195 200 205

Gly His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys
210 215 220

Asp Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser
225 230 235 240

Arg Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu
245 250 255

Pro Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys
260 265 270

Trp Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys
275 280 285

Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val
290 295 300

Pro Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile
305 310 315 320

Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys
325 330 335

Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile
340 345 350

Trp Pro

<210> 6

<211> 353

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 6

Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly

ES 2 509 894 T3

1	5	10	15
Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys	20	25	30
Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu	35	40	45
Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala	50	55	60
Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly	65	70	75
Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro	85	90	95
Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro	100	105	110
Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His	115	120	125
Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn	130	135	140
Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly	145	150	155
Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg	165	170	175
Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val Glu	180	185	190
Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly	195	200	205
His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp	210	215	220
Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg	225	230	235
Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro	245	250	255

ES 2 509 894 T3

Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
260 265 270

Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
275 280 285

Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
290 295 300

Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
305 310 315 320

Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
325 330 335

Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
340 345 350

Pro

<210> 7

<211> 354

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 7

Met Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala
1 5 10 15

Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln
20 25 30

Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly
35 40 45

Glu Gln Asp Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro
50 55 60

Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp
65 70 75 80

Gly Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His

ES 2 509 894 T3

85										90					95				
Pro	Leu	His	Phe	Pro	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Pro	Val	Gly	Gln	Cys	Pro				
			100					105					110						
Pro	Ser	Lys	Pro	Arg	Val	Pro	Gly	Lys	Trp	Val	Asp	Ile	Cys	Ala	Lys				
		115					120					125							
His	Ala	Asn	Cys	Pro	Asp	Pro	Glu	Lys	Cys	Cys	Asp	Thr	Glu	Tyr	Gly				
	130					135					140								
Asn	Arg	Cys	Met	Asp	Val	Gly	Leu	Val	Ala	Gly	Gln	Gly	Glu	Arg	Pro				
145					150					155					160				
Gly	Asn	Cys	Pro	Asn	Glu	Pro	Arg	Ile	Arg	Gly	Thr	Lys	Tyr	Asp	Cys				
				165					170					175					
Arg	Arg	Asp	Asp	Asp	Cys	Asp	Gly	Val	Gln	Lys	Cys	Cys	Phe	Thr	Val				
			180					185					190						
Glu	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Glu	Pro	Ser	Arg	Lys	Pro	Leu	Asp	Lys	Pro				
		195					200					205							
Gly	His	Cys	Pro	Pro	Ile	Pro	Ala	Asp	Val	Gly	Ser	Ala	Arg	Tyr	Cys				
	210					215					220								
Asp	Thr	Asp	Arg	Asp	Cys	Asp	Gly	Pro	Arg	Lys	Cys	Cys	Leu	Ser	Ser				
225					230					235					240				
Arg	Gly	Tyr	Glu	Cys	Lys	His	Pro	Val	His	Tyr	Pro	Asp	Arg	Val	Glu				
				245					250					255					
Pro	Leu	Val	Gly	Glu	Cys	Pro	Pro	Ser	Arg	Pro	Arg	Ile	Pro	Gly	Lys				
			260					265					270						
Trp	Val	Asp	Ile	Cys	Ser	Lys	His	Ala	Asn	Cys	Pro	Asp	Pro	Glu	Lys				
		275					280					285							
Cys	Cys	Asp	Thr	Glu	Tyr	Gly	Asn	Arg	Cys	Met	Asp	Val	Gly	Leu	Val				
	290					295					300								
Pro	Gly	Gln	Gly	Glu	Lys	Pro	Ala	Asn	Cys	Pro	Lys	Glu	Pro	Arg	Ile				
305					310					315					320				
Arg	Gly	Thr	Lys	Tyr	Asp	Cys	Arg	Arg	Asp	Asp	Asp	Cys	Asp	Gly	Lys				
				325					330					335					

ES 2 509 894 T3

Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile
340 345 350

Trp Pro

<210> 8

<211> 353

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 8

Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly
1 5 10 15

Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys
20 25 30

Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu
35 40 45

Gln Asp Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala
50 55 60

Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly
65 70 75 80

Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro
85 90 95

Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro
100 105 110

Ser Lys Pro Arg Val Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His
115 120 125

Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn
130 135 140

Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Ala Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly
145 150 155 160

Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg

ES 2 509 894 T3

				165						170						175			
Arg	Asp	Asp	Asp	Cys	Asp	Gly	Val	Gln	Lys	Cys	Cys	Phe	Thr	Val	Glu				
			180					185					190						
Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Glu	Pro	Ser	Arg	Lys	Pro	Leu	Asp	Lys	Pro	Gly				
		195					200					205							
His	Cys	Pro	Pro	Ile	Pro	Ala	Asp	Val	Gly	Ser	Ala	Arg	Tyr	Cys	Asp				
	210					215					220								
Thr	Asp	Arg	Asp	Cys	Asp	Gly	Pro	Arg	Lys	Cys	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg				
225					230					235					240				
Gly	Tyr	Glu	Cys	Lys	His	Pro	Val	His	Tyr	Pro	Asp	Arg	Val	Glu	Pro				
				245					250					255					
Leu	Val	Gly	Glu	Cys	Pro	Pro	Ser	Arg	Pro	Arg	Ile	Pro	Gly	Lys	Trp				
			260					265					270						
Val	Asp	Ile	Cys	Ser	Lys	His	Ala	Asn	Cys	Pro	Asp	Pro	Glu	Lys	Cys				
		275					280					285							
Cys	Asp	Thr	Glu	Tyr	Gly	Asn	Arg	Cys	Met	Asp	Val	Gly	Leu	Val	Pro				
	290					295					300								
Gly	Gln	Gly	Glu	Lys	Pro	Ala	Asn	Cys	Pro	Lys	Glu	Pro	Arg	Ile	Arg				
305					310					315					320				
Gly	Thr	Lys	Tyr	Asp	Cys	Arg	Arg	Asp	Asp	Asp	Cys	Asp	Gly	Lys	Gln				
				325					330					335					
Lys	Cys	Cys	Tyr	Thr	Thr	Glu	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	His	Gly	Ile	Trp				
			340					345					350						

Pro

<210> 9

<211> 369

<212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Sintético

<220>

<221> misc feature

 $\langle 222 \rangle$ (1)..($\bar{1}9$)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (69)..(69)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

5 <221> misc_feature

<222> (134)..(134)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

10 <221> misc_feature

<222> (170)..(170)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<400> 9

15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro
20 25 30

Ile Ala Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Glu Asp Cys Gly Gly
35 40 45

Arg Gln Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro
50 55 60

Tyr Gly Glu Gln Xaa Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala
65 70 75 80

Ile Pro Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Glu Cys Asn Ile Asp Gly Asp
85 90 95

Cys Asp Gly Met Cys Cys Leu Ile Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His
100 105 110

Pro Leu His Glu Thr Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro
115 120 125

Pro Ser Lys Pro Arg Xaa Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys
130 135 140

His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly
145 150 155 160

ES 2 509 894 T3

Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Xaa Gly Gly Glu Arg Pro Gly
 165 170 175
 Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Ile Lys Tyr Asp Cys Arg
 180 185 190
 Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Glu Thr Val Glu
 195 200 205
 Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 210 215 220
 His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 225 230 235 240
 Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg
 245 250 255
 Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro
 260 265 270
 Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
 275 280 285
 Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
 290 295 300
 Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
 305 310 315 320
 Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
 325 330 335
 Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
 340 345 350
 Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
 355 360 365

Pro

<210> 10

<211> 865

5 <212> ADN

<213> *Toxocara canis*

<400> 10

ES 2 509 894 T3

caagaagatt tatggtgtgg cagcttcgag acgaaggagg catcacttca cgctcgaaaa 60
cagtctggac acccacctga aatggcttag ccacgagcaa aaggaggaac tgctgcaaat 120
gaagaaggac ggcaaatcga agaaggagct ccaggataag atcatgcact attacgagca 180
cctcgaaggc gatgcgaaac atgaagcaac agagcaactg aagggcggat gccgcgagat 240
tcttaagcat gttgttggcg aggagaaagc agctgagatc aaagcactga aagattctgg 300
agcaagcaaa gatgagctta aagccaaggt cgaagaggca ctccacgcag tcaccgacga 360
agaaaagaag caacatatcg ccgaattcgg tccgcgatgc aagaagattt atggtgtggc 420
agcttcgaga cgaaggaggc atcacttcac gctcgaaaaac agtctggaca cccacctgaa 480
atggcttagc cacgagcaaa aggaggaact gctgcaaatg aagaaggacg gcaaatcgaa 540
gaaggagctc caggataaga tcatgacta ttacgagcac ctcgaaaggga tgctcctcgc 600
gctatgtatc ctgtattgac ggccttccaa cctatcacac ctgtcagtgc ggccttacat 660
tcgacgagcg tagaaagacc tgtcttcccta agcagctggg aaagtactgc ggaatcccag 720
aatctggaga ggcgtcggcg gaagttgggt agtcgtacta acacagcacg ctctcgttgg 780
tgcagatgtt gtgtgaaata cttttgtcag ttttccgtgt gttttaaata aataaaaaat 840
tccgtaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 865

<210> 11
<211> 632
<212> ADN
<213> *Toxocara cati*

<400> 11

atztatggtg tggcagcttc gagacgaagg aggcatacact tcacgctcga aaaaagtctg 60
gacacccacc tgaaatggct tagccacgag caaaaggagg aactgctgaa aatgaagaaa 120
gatgggaaat cgaagaagga gctccaggat aaggatgatgc acttctacga gcacctcgaa 180
ggcgatgcga aacatgaagc aacagagcaa ctgaagggcg gatgccgcga gatccttaag 240
catgttggtg gtgaggagaa agcagctgag atcaaagcac tgaaagattc tggagcaagc 300
aaagatgagc ttaaagccaa ggtcgaagat gcaactccacg cggtcaccga agaagaaaag 360
aagcaacata tcgccgaatt tggccagca tgcaaggaaa ttttcggggg gccggttgat 420
gttcgtcaca aacgcgaccc ttatacta atgacgccc atgaagttgc tgaaggacta 480
agaagttaac ggtgatcgag ctttttgcaa aaactgggtg atgcttttaa attcttttaa 540
gcotTTTTTct tgtgttattt cggaattgta ccacacgaac agttagttcc gaataaagaa 600
ctgtaattat gtaaaaaaaaa aaaaaaaaa aa 632

<210> 12
<211> 205
<212> PRT
<213> *Toxocara canis*

ES 2 509 894 T3

<400> 12

Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg Arg Arg His His Phe
1 5 10 15

Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu
20 25 30

Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys
35 40 45

Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp
50 55 60

Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile
65 70 75 80

Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Lys Ala Leu
85 90 95

Lys Asp Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Glu
100 105 110

Ala Leu His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu
115 120 125

Phe Gly Pro Ala Cys Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg
130 135 140

Arg Arg His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys
145 150 155 160

Trp Leu Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp
165 170 175

Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu
180 185 190

His Leu Glu Gly Met Leu Leu Ala Leu Cys Ile Leu Tyr
195 200 205

5

<210> 13

<211> 162

<212> PRT

<213> *Toxocara cati*

10

<400> 13

ES 2 509 894 T3

Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg Arg Arg His His Phe Thr Leu
1 5 10 15

Glu Lys Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu Gln Lys
20 25 30

Glu Glu Leu Leu Lys Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu
35 40 45

Gln Asp Lys Val Met His Phe Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp Ala Lys
50 55 60

His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile Leu Lys
65 70 75 80

His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Lys Ala Leu Lys Asp
85 90 95

Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Asp Ala Leu
100 105 110

His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu Phe Gly
115 120 125

Pro Ala Cys Lys Glu Ile Phe Gly Val Pro Ile Asp Val Arg His Lys
130 135 140

Arg Asp Pro Tyr Thr Asn Met Thr Pro Asp Glu Val Ala Glu Gly Leu
145 150 155 160

Arg Ser

<210> 14

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 14

Met His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp
1 5 10 15

ES 2 509 894 T3

Leu Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly
20 25 30

Lys Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His
35 40 45

Leu Glu Gly Asp Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly
50 55 60

Cys Arg Glu Ile Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu
65 70 75 80

Ile Lys Ala Leu Lys Asp Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala
85 90 95

Lys Val Glu Glu Ala Leu His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln
100 105 110

His Ile Ala Glu Phe Gly Pro Ala Cys Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala
115 120 125

Ala Ser
130

<210> 15
<211> 129
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 15

His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu
1 5 10 15

Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly Lys
20 25 30

Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His Leu
35 40 45

Glu Gly Asp Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys
50 55 60

Arg Glu Ile Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile

ES 2 509 894 T3

65					70					75					80
Lys	Ala	Leu	Lys	Asp	Ser	Gly	Ala	Ser	Lys	Asp	Glu	Leu	Lys	Ala	Lys
				85					90					95	
Val	Glu	Glu	Ala	Leu	His	Ala	Val	Thr	Asp	Glu	Glu	Lys	Lys	Gln	His
			100					105					110		
Ile	Ala	Glu	Phe	Gly	Pro	Ala	Cys	Lys	Lys	Ile	Tyr	Gly	Val	Ala	Ala
		115					120					125			

Ser

<210> 16
<211> 155
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Sintético

<220>
<221> misc_feature
<222> (1).. (11)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (52)..(52)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (55)..(55)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (110)..(110)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (133)..(133)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (135)..(135)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

ES 2 509 894 T3

<220>

<221> misc_feature

<222> (138)..(155)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

5

<400> 16

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His His Phe Thr Leu
1 5 10 15

Glu Xaa Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu Gln Lys
20 25 30

Glu Glu Leu Leu Xaa Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu
35 40 45

Gln Asp Lys Xaa Met His Xaa Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp Ala Lys
50 55 60

His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile Leu Lys
65 70 75 80

His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Phe Ala Leu Lys Asp
85 90 95

Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Xaa Ala Leu
100 105 110

His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu Phe Gly
115 120 125

Phe Ala Cys Lys Xaa Ile Xaa Gly Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
145 150 155

10

<210> 17

<211> 535

<212> ADN

<213> *Toxocara canis*

15

<400> 17

agtcagtagc cactttaatc catcagaatg ctctctgttc ttgcgctttt cgctcttatt 60

ES 2 509 894 T3

```

acttttgctg tggccggtcc ggaaagctgc ggtccaaacg aagtgtggac tgaatgtacc 120
ggttgcgaaat tgaatgtgg gcaagatgaa aatacgccgt gcacactaaa ctgtcgaccg 180
ccgtgatgtg agtgctctcc aggaagaggc atgagacgaa ccaacgatgg aaggtgcatt 240
ccggctagtc agtgcccgcg acacagggcc aagagagagg agcaatgcaa gccaaatgag 300
cagtggtcac cgtgccgagg atgtgaagga acatgcgcac aaagatttgt cccttgcaact 360
agaaactgcc gaccaccagg ctgtgaatgc gttgctggcg caggtttcgt acgtgacgct 420
gaaggaaaact gcatcaagtt cgacgattgc ccgaagtaaa taataaccat acaaattgct 480
gattccaatt aaaataataa atgagtccag ctgttaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 535

```

<210> 18

<211> 536

5 <212> ADN

<213> *Toxocara cati*

<400> 18

```

cagtcagcag ctacttttat ccatcggaat gctctctggt cttgcgcttt tcgctcttat 60
tactttcgct gtggccgacg cgaaaagttg cgggtccaaac gaagtgtgga ctgaatgtac 120
cggttgagag ttgaaatgag ggcaggatga ggatacgccg tgcacactaa actgtcggcc 180
gccgtcatgt gagtgtcac caggaagagg catgagacga accgacgatg ggaggtgcat 240
tccggctagt cagtgcccg c aacacagagc caagagagag gagcagtgca agccaaatga 300
gcagtgggtca ccgtgccgag gatgtgaagg aacatgcgca caaagatttg tcccttgcac 360
tagaaactgc cgaccaccag gatgtgaatg cgttgcgtggc gcaggtttcg tacgtgacgc 420
tgcaggaaat tgcacaaagt tcgacgattg cccgaagtaa ataataacca tactaattgc 480
10 tgattacaat taaaataata aatgagtcca gctgttaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 536

```

<210> 19

<211> 143

<212> PRT

15 <213> *Toxocara canis*

<400> 19

```

Met Leu Ser Val Leu Ala Leu Phe Ala Leu Ile Thr Phe Ala Val Ala
1           5           10           15

```

```

Gly Pro Glu Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
          20           25           30

```

```

Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu Asn
35           40           45

```

ES 2 509 894 T3

Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
50 55 60

Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
65 70 75 80

Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
85 90 95

Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
100 105 110

Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
115 120 125

Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
130 135 140

<210> 20

<211> 143

<212> PRT

<213> *Toxocara cati*

<400> 20

Met Leu Ser Val Leu Ala Leu Phe Ala Leu Ile Thr Phe Ala Val Ala
1 5 10 15

Asp Pro Lys Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
20 25 30

Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asp Thr Pro Cys Thr Leu Asn
35 40 45

Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
50 55 60

Thr Asp Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
65 70 75 80

Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
85 90 95

Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
100 105 110

Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val

ES 2 509 894 T3

	115		120		125											
	Arg	Asp	Ala	Ala	Gly	Asn	Cys	Ile	Lys	Phe	Asp	Asp	Cys	Pro	Lys	
	130						135					140				
5	<210> 21															
	<211> 128															
	<212> PRT															
	<213> Artificial															
	<220>															
10	<223> Sintético															
	<400> 21															
	Met	Gly	Pro	Glu	Ser	Cys	Gly	Pro	Asn	Glu	Val	Trp	Thr	Glu	Cys	Thr
	1				5					10					15	
	Gly	Cys	Glu	Leu	Lys	Cys	Gly	Gln	Asp	Glu	Asn	Thr	Pro	Cys	Thr	Leu
				20					25					30		
	Asn	Cys	Arg	Pro	Pro	Ser	Cys	Glu	Cys	Ser	Pro	Gly	Arg	Gly	Met	Arg
			35					40					45			
	Arg	Thr	Asn	Asp	Gly	Arg	Cys	Ile	Pro	Ala	Ser	Gln	Cys	Pro	Gln	His
		50					55					60				
	Arg	Ala	Lys	Arg	Glu	Glu	Gln	Cys	Lys	Pro	Asn	Glu	Gln	Trp	Ser	Pro
	65					70					75					80
	Cys	Arg	Gly	Cys	Glu	Gly	Thr	Cys	Ala	Gln	Arg	Phe	Val	Pro	Cys	Thr
					85					90					95	
	Arg	Asn	Cys	Arg	Pro	Pro	Gly	Cys	Glu	Cys	Val	Ala	Gly	Ala	Gly	Phe
				100					105					110		
	Val	Arg	Asp	Ala	Glu	Gly	Asn	Cys	Ile	Lys	Phe	Asp	Asp	Cys	Pro	Lys
			115					120					125			
15	<210> 22															
	<211> 127															
	<212> PRT															
	<213> Artificial															
	<220>															
20	<223> Sintético															
	<400> 22															
	Gly	Pro	Glu	Ser	Cys	Gly	Pro	Asn	Glu	Val	Trp	Thr	Glu	Cys	Thr	Gly
25	1				5					10					15	

ES 2 509 894 T3

Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu Asn
20 25 30

Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
35 40 45

Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
50 55 60

Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
65 70 75 80

Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
85 90 95

Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
100 105 110

Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
115 120 125

<210> 23

<211> 143

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(17)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (66)..(66)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (132)..(132)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<400> 23

ES 2 509 894 T3

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Pro Xaa Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
20 25 30

Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Xaa Thr Pro Cys Thr Leu Asn
35 40 45

Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
50 55 60

Thr Xaa Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
65 70 75 80

Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
85 90 95

Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
100 105 110

Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
115 120 125

Arg Asp Ala Xaa Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
130 135 140

<210> 24

<211> 469

<212> ADN

<213> *Toxocara canis*

<400> 24

atcagcaggt ttcgcttcaa atgcttccga taactttttt gctggcaatt attgtcgggtg 60

cagcagtagc tcaccgtaaa tgtggtccaa acgaagagtg gaccgaatgc actggttgcg 120

aaattaagtg cggtaagga gagcaaccat gccctatgat gtgtcgtccg ccatcgtgtg 180

aatgcatggc cggcaaagga ttacgaagaa cagcggacgg aagatgcgtg ccggaggcac 240

aatgccccaaa aagaatggta aagcgagacg aaaaatgtgg gccaaacgag aaattcctga 300

agtgcagagg ttgtgagggt acctgcaaag aacgtctcgt tccctgccct agaattgtgca 360

aaccaccagg ttgcgaatgc cccgcttcag aaggattcgt tcgcaatgac aaaggcgaat 420

gtatcaagtt cgacgactgc ccgaaataaa ttcaataaat caattttgt 469

<210> 25

<211> 548

<212> ADN

<213> *Toxocara cati*

<400> 25

ES 2 509 894 T3

```

atcagcaggt ttcgcttcaa atgcttccgt taactttttt gctggcattt attgtgggtg      60
cagcggtagc tcaccgtaaa tgtggtccaa atgaagagtg gacggaatgc actggctgcg      120
aatgaagtg cgggtaagga gagacaccat gccctatgat gtgtcgtccg ccatcgtgtg      180
aatgcatggc cggcaaagga ttacgaagaa caccggacgg aagatgtgtg ccggaggcac      240
aatgcccga aacatattgta aagcgagatg aaaaatgtgg gaaaaacgag aaattcctga      300
agtgcagagg atgtgagggg acgtgcaaag aacgtctcgt gccgtgccct aagatgtgca      360
aaccaccagg ttgcgaatgc ccggcttcgg aaggattcgt tcgcaatgac aaacacgaat      420
gtatcaagtt cgacgactgc cccaaataaa ttcaataaat cagtcttgtt gataaataca      480
atcgtgatgc tcacgttttt ttttcttgcc ataaaatcta tacttcccaa aaaaaaaaaa      540
aaaaaaaaa                                                                548

```

<210> 26
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> *Toxocara canis*

<400> 26

```

Met Leu Pro Ile Thr Phe Leu Leu Ala Ile Ile Val Gly Ala Ala Val
1           5           10           15

Ala His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
          20           25           30

Cys Glu Ile Lys Cys Gly Gln Gly Glu Gln Pro Cys Pro Met Met Cys
          35           40           45

Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr
          50           55           60

Ala Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Arg Met Val
          65           70           75           80

Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Pro Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg
          85           90           95
Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Arg Met
          100          105          110

Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg
          115          120          125

Asn Asp Lys Gly Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
          130          135          140

```

<210> 27
 <211> 142
 <212> PRT

ES 2 509 894 T3

<213> *Toxocara cati*

<400> 27

Met Leu Pro Leu Thr Phe Leu Leu Ala Phe Ile Val Gly Ala Ala Val
1 5 10 15

Ala His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
20 25 30

Cys Glu Met Lys Cys Gly Glu Gly Glu Thr Pro Cys Pro Met Met Cys
35 40 45

Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr
50 55 60

Pro Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys His Met Val
65 70 75 80

Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Lys Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg
85 90 95

Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Lys Met
100 105 110

Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg
115 120 125

5 Asn Asp Lys His Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
130 135 140

<210> 28

<211> 126

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Sintético

15 <400> 28

ES 2 509 894 T3

Met His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
1 5 10 15

Cys Glu Ile Lys Cys Gly Gln Gly Glu Gln Pro Cys Pro Met Met Cys
20 25 30

Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr
35 40 45

Ala Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Arg Met Val
50 55 60

Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Pro Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg
65 70 75 80

Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Arg Met
85 90 95

Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg
100 105 110

Asn Asp Lys Gly Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
115 120 125

<210> 29

<211> 125

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 29

His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly Cys
1 5 10 15

Glu Ile Lys Cys Gly Gln Gly Glu Gln Pro Cys Pro Met Met Cys Arg
20 25 30

Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr Ala
35 40 45

Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Arg Met Val Lys
50 55 60

ES 2 509 894 T3

Arg Asp Glu Lys Cys Gly Pro Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg Gly
65 70 75 80

Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Arg Met Cys
85 90 95

Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg Asn
100 105 110

Asp Lys Gly Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
115 120 125

<210> 30

<211> 142

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(17)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (78)..(78)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (88)..(88)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (111)..(111)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (132)..(132)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

<400> 30

5

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
20 25 30

Cys Glu Xaa Lys Cys Gly Xaa Gly Glu Xaa Pro Cys Pro Met Met Cys
35 40 45

Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr
50 55 60

Xaa Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Xaa Met Val
65 70 75 80

Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Xaa Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg
85 90 95

Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Xaa Met
100 105 110

Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg
115 120 125

Asn Asp Lys Xaa Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
130 135 140

<210> 31

<211> 1343

<212> ADN

<213> *Ancylostoma*

<400> 31

10

atgggcagca gccatcatca tcatcatcac agcagcggcc tggcgccgcg cggcagccat 60

atggctagca tgactggtgg acagcaaattg ggctcgcgat ccgaattcga gctcaccact 120

tgtccaggaa atgatctaac agatgctgaa cgcacactgc taactagggt gcacaattcc 180

15 attcgacggg aaatagcgca aggagttgca aacaactacc atggtggtaa actgcctgct 240

ES 2 509 894 T3

ggaaagaaca tatacaggat gagatacagc tgtgagctgg aacaggctgc tattgatgct 300
 agtcaaacct tctgttccgc atcattggag gaaccacaga aatatggaca aaacatccaa 360
 gcatacgtca caccatctat aatcgctcgc ccgaaaaacg accttcttga agatgcagtg 420
 aaacaatggg atctgcctgt tatctactac ggccaacgcg acgcggccaa caagttcacc 480
 gatccgcgct tgtacacatt tgcaaacctc gcctacgaca agaacactgc acttggtgtg 540
 cactatgcga aatgtcaagg ccttgacaga atcgtcatta gttgcatgta caacaacgtc 600
 gttcctgaca acgctgtgat ctacgagcca ggaactgctt gcgtaaaaga tcaggactgc 660
 actacttata ctacgtccac atgcaaggac agcctttgca ttattcctac gccacatcca 720
 ccaaatccac caaatccacc acctgcaatg tgtccaaacg ctgaaatgac tgatgcagca 780
 cgaaagaagg tctcgcacat gcacaactgg cgcagatcgc agctcgctct gggaaacgtt 840
 caaaacggga aaaatgctta caactgcccc actgcaacag acatgtacaa gatggaatat 900
 gattgcgacc tcgagaacag cgtctagcgc tatgcaaagc aatgtagtct cgttggttca 960
 gcagaaggaa ctcgctccagg agaaggcgag aatgtccaca aaggcgctct cgtaaccgat 1020
 ccggaggctg cagttcagac cgcagttcaa gcatggtgga gtcaaactct acaaaatgga 1080
 ctcaatgcac agatgaaatt cactgctttc ttgaaggaca agcctgacgc tccgacagcg 1140
 ttacacaga tggcgtgggc caaatccgta aagcttgat gtgctgtctc taattgtcag 1200
 gcagatacct tcaccgtctg tagatacaaa gctgccggaa acatcgtggg cgaattcatc 1260
 tataccaagg gaaatgtatg cgacgcctgt aaagccacat gcattaccgc ggaaggctct 1320
 tgcccaacgc cttgagcggc cgc 1343

<210> 32

<211> 767

<212> ADN

<213> *Ancylostoma*

<400> 32

atgggcagca gccatcatca tcatcatcac agcagcggcc tggcgccgcg cggcagccat 60
 atggctagca tgactggtgg acagcaaagc ggtcgcggat ccgaattcga gctcaccact 120
 tgtccaggaa atgatctaac agatgctgaa cgcacactgc taactagggt gcacaattcc 180
 attcgacggg aaatagcgca aggagttgca aacaactacc atgggtggtaa actgcctgct 240
 ggaaagaaca tatacaggat gagatacagc tgtgagctgg aacaggctgc tattgatgct 300
 agtcaaacct tctgttccgc atcattggag gaaccacaga aatatggaca aaacatccaa 360
 gcatacgtca caccatctat aatcgctcgc ccgaaaaacg accttcttga agatgcagtg 420
 aaacaatggg atctgcctgt tatctactac ggccagcgcg acgcggccaa caagtttacg 480

ES 2 509 894 T3

gatccgcgct tgtacacatt tgcaaacctc gcctacgaca agaacactgc acttggtgtg 540
 cactatgcga aatgtcaagg ccctgacaga atcgtcatta gttgcatgta caacaacgtc 600
 gttcctgaca acgcagtgat ctacgagcct ggaactgctt gcgtaaaaga tgcggactgc 660
 actacttata ctcagtccac atgcaaggac agcctttgca ttattcctac gccacatcca 720
 ccaaatccac caaatccacc accagcaatg agtccatgag cggccgc 767

<210> 33

<211> 444

<212> PRT

<213> *Ancylostoma*

<400> 33

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro
 1 5 10 15

Arg Gly Ser His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg
 20 25 30

Gly Ser Glu Phe Glu Leu Thr Thr Cys Pro Gly Asn Asp Leu Thr Asp
 35 40 45

Ala Glu Arg Thr Leu Leu Thr Arg Val His Asn Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Ile Ala Gln Gly Val Ala Asn Asn Tyr His Gly Gly Lys Leu Pro Ala
 65 70 75 80

Gly Lys Asn Ile Tyr Arg Met Arg Tyr Ser Cys Glu Leu Glu Gln Ala
 85 90 95

Ala Ile Asp Ala Ser Gln Thr Phe Cys Ser Ala Ser Leu Glu Glu Pro
 100 105 110

Gln Lys Tyr Gly Gln Asn Ile Gln Ala Tyr Val Thr Pro Ser Ile Ile
 115 120 125

Ala Arg Pro Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asp Ala Val Lys Gln Trp Tyr
 130 135 140

Leu Pro Val Ile Tyr Tyr Gly Gln Arg Asp Ala Ala Asn Lys Phe Thr
 145 150 155 160

Asp Pro Arg Leu Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Tyr Asp Lys Asn Thr
 165 170 175

10

ES 2 509 894 T3

Ala Leu Gly Cys His Tyr Ala Lys Cys Gln Gly Pro Asp Arg Ile Val
 180 185 190
 Ile Ser Cys Met Tyr Asn Asn Val Val Pro Asp Asn Ala Val Ile Tyr
 195 200 205
 Glu Pro Gly Thr Ala Cys Val Lys Asp Gln Asp Cys Thr Thr Tyr Pro
 210 215 220
 Gln Ser Thr Cys Lys Asp Ser Leu Cys Ile Ile Pro Thr Pro His Pro
 225 230 235 240
 Pro Asn Pro Pro Asn Pro Pro Pro Ala Met Cys Pro Asn Ala Glu Met
 245 250 255
 Thr Asp Ala Ala Arg Lys Lys Val Leu Asp Met His Asn Trp Arg Arg
 260 265 270
 Ser Gln Leu Ala Leu Gly Asn Val Gln Asn Gly Lys Asn Ala Tyr Asn
 275 280 285
 Cys Pro Thr Ala Thr Asp Met Tyr Lys Met Glu Tyr Asp Cys Asp Leu
 290 295 300
 Glu Asn Ser Ala Leu Ala Tyr Ala Lys Gln Cys Ser Leu Val Gly Ser
 305 310 315 320
 Ala Glu Gly Thr Arg Pro Gly Glu Gly Glu Asn Val His Lys Gly Ala
 325 330 335
 Leu Val Thr Asp Pro Glu Ala Ala Val Gln Thr Ala Val Gln Ala Trp
 340 345 350
 Trp Ser Gln Ile Ser Gln Asn Gly Leu Asn Ala Gln Met Lys Phe Thr
 355 360 365
 Ala Phe Leu Lys Asp Lys Pro Asp Ala Pro Thr Ala Phe Thr Gln Met
 370 375 380
 Ala Trp Ala Lys Ser Val Lys Leu Gly Cys Ala Val Ser Asn Cys Gln
 385 390 395 400
 Ala Asp Thr Phe Thr Val Cys Arg Tyr Lys Ala Ala Gly Asn Ile Val
 405 410 415

ES 2 509 894 T3

Gly Glu Phe Ile Tyr Thr Lys Gly Asn Val Cys Asp Ala Cys Lys Ala
420 425 430

Thr Cys Ile Thr Ala Glu Gly Leu Cys Pro Thr Pro
435 440

<210> 34

<211> 252

<212> PRT

<213> *Ancylostoma*

<400> 34

Met Gly Ser Ser His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro
1 5 10 15

Arg Gly Ser His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg
20 25 30

Gly Ser Glu Phe Glu Leu Thr Thr Cys Pro Gly Asn Asp Leu Thr Asp
35 40 45

Ala Glu Arg Thr Leu Leu Thr Arg Val His Asn Ser Ile Arg Arg Glu
50 55 60

Ile Ala Gln Gly Val Ala Asn Asn Tyr His Gly Gly Lys Leu Pro Ala
65 70 75 80

Gly Lys Asn Ile Tyr Arg Met Arg Tyr Ser Cys Glu Leu Glu Gln Ala
85 90 95

Ala Ile Asp Ala Ser Gln Thr Phe Cys Ser Ala Ser Leu Glu Glu Pro
100 105 110

Gln Lys Tyr Gly Gln Asn Ile Gln Ala Tyr Val Thr Pro Ser Ile Ile
115 120 125

Ala Arg Pro Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asp Ala Val Lys Gln Trp Tyr
130 135 140

Leu Pro Val Ile Tyr Tyr Gly Gln Arg Asp Ala Ala Asn Lys Phe Thr
145 150 155 160

Asp Pro Arg Leu Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Tyr Asp Lys Asn Thr
165 170 175

Ala Leu Gly Cys His Tyr Ala Lys Cys Gln Gly Pro Asp Arg Ile Val

ES 2 509 894 T3

	180		185		190
	Ile Ser Cys Met Tyr Asn Asn Val Val Pro Asp Asn Ala Val Ile Tyr				
	195		200		205
	Glu Pro Gly Thr Ala Cys Val Lys Asp Ala Asp Cys Thr Thr Tyr Pro				
	210		215		220
	Gln Ser Thr Cys Lys Asp Ser Leu Cys Ile Ile Pro Thr Pro His Pro				
	225		230		235
					240
	Pro Asn Pro Pro Asn Pro Pro Pro Ala Met Ser Pro				
		245		250	
	<210> 35				
	<211> 8				
5	<212> PRT				
	<213> Artificial				
	<220>				
	<223> Sintético				
10					
	<400> 35				
	Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg Asn				
	1		5		
15	<210> 36				
	<211> 10				
	<212> PRT				
	<213> Artificial				
20	<220>				
	<223> Sintético				
	<400> 36				
	Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe				
25	1		5		10
	<210> 37				
	<211> 64				
	<212> PRT				
30	<213> Artificial				
	<220>				
	<223> Sintético				
35	<400> 37				
	Met Gly Pro Glu Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr				
	1		5		10
					15

ES 2 509 894 T3

Gly Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu
20 25 30

Asn Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg
35 40 45

Arg Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His
50 55 60

<210> 38

<211> 65

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 38

Met Arg Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser
1 5 10 15

Pro Cys Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys
20 25 30

Thr Arg Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly
35 40 45

Phe Val Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro
50 55 60

Lys
65

FIG. 1

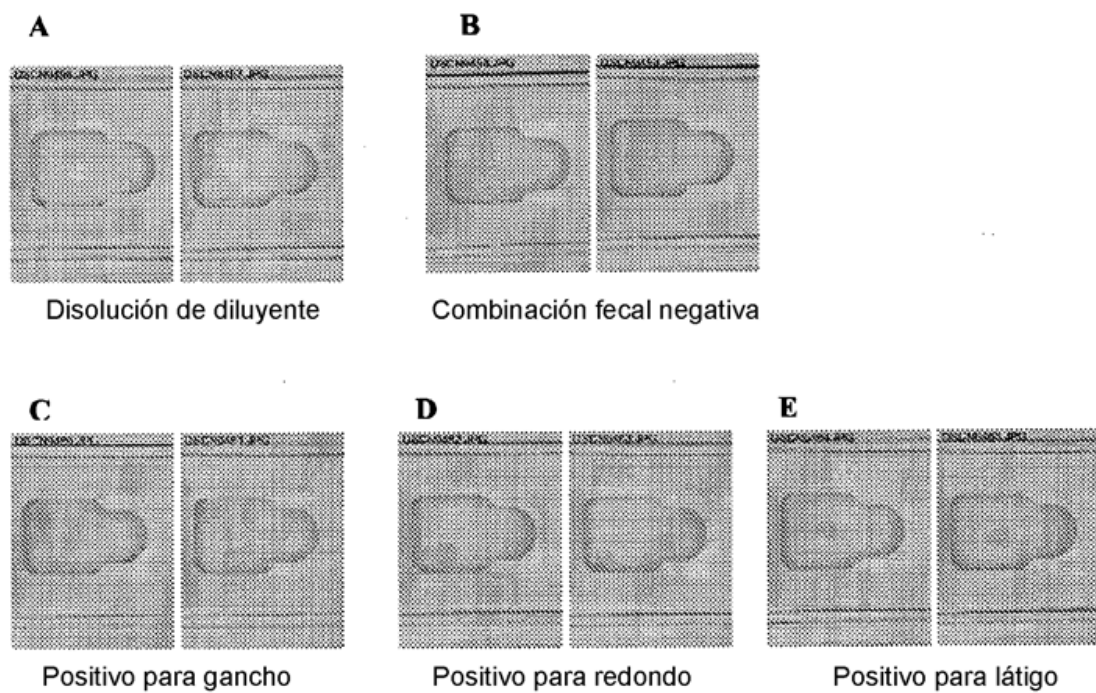
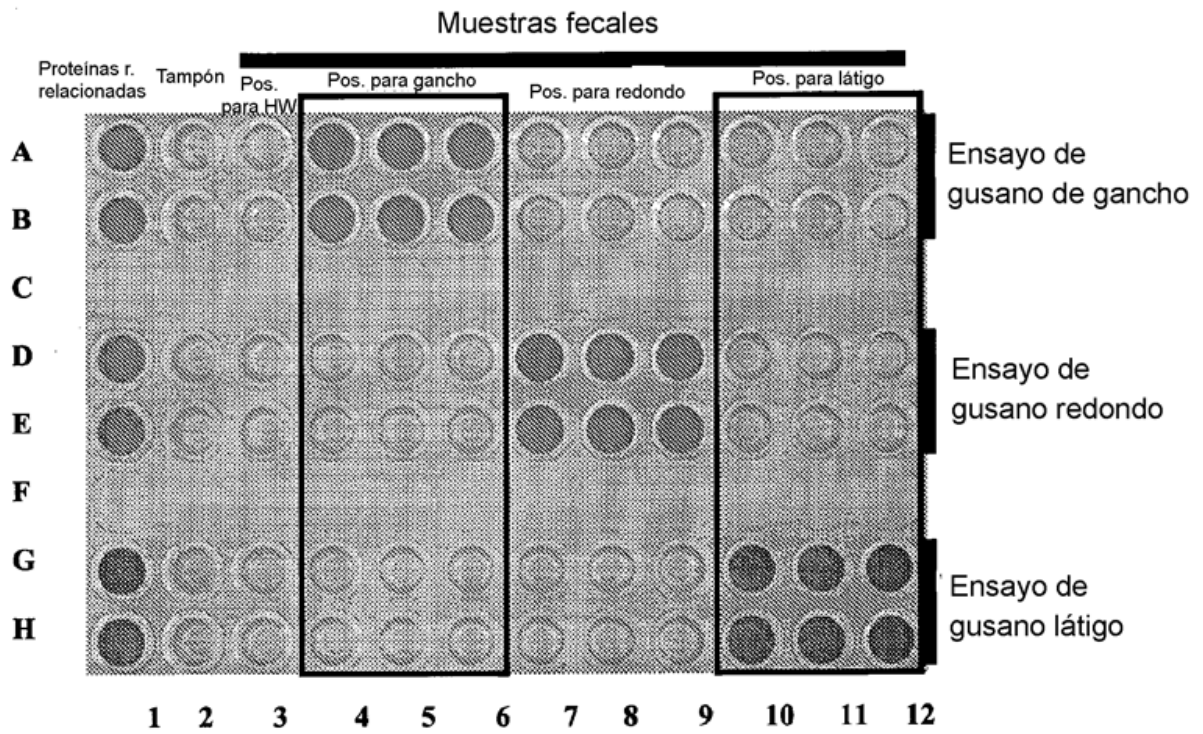


FIG. 2

Ensayos de tres nematodos



cattcactgc	ggttgtaaaa	gcagtgcaga	aatgaggctg	gtcttccatg	cggttattta	60
cctcacattg	gggttcctca	ccgacgccgt	aagagaaaaa	cgtggcaaat	gtcctcctga	120
accaccgatc	gcaggaaaaca	cgatctactg	ccgcgatgat	tttgattgtg	gaggaagaca	180
gaagtgctgt	acaattgcag	aaggacgtgg	atgcgtgccg	ccctatgggtg	aacaacattt	240
cgaagtgggtg	aaaccgggtc	attgcccagc	tattccagcg	gttacgggca	tggcgaactt	300
ctgtaacact	gatggcgact	gtgatggacc	gaaaaaatgt	tgtctcacat	cgcgcggtta	360
cgattgcaca	catccattac	acttcccaat	ccagccacaa	cctccagtag	gacagtgtcc	420
tccttcaaag	ccccgtatcc	caggaaaaatg	ggtagacatc	tgcgctaagc	atgccaactg	480
cccagaccca	gagaagtgtt	gcgacacgga	gtatggcaac	cgatgtatgg	atgttggatt	540
agtgccagga	caaggagaaa	gaccaggcaa	ttgcccgaa	gaaccacgaa	taagaggaa	600
taaatacgat	tgccgacgag	acgatgactg	cgacgggtgtg	cagaaatgct	gcttcaactgt	660
tgagggacgt	gagtgcgtgg	aaccaagtag	aaaaccactg	gacaagcccg	gacattgtcc	720
accaattccc	gctgatgtgg	gctcagccag	gtactgcgac	actgatcggtg	attgtgatgg	780
accaagaaaa	tgtctcctct	cttcgcgtgg	ctatgaatgt	aaacatccag	tacactatcc	840
cgatcgagtg	gagccactag	taggagaatg	cccaccatca	cgacctcgca	ttcctgggaa	900
atgggttgac	atctgctcta	agcatgccaa	ctgccagac	ccagagaaat	gttgcgacac	960
ggagtatggc	aaccgatgta	tggacgttgg	attagtgcct	ggacaaggag	aaaaacctgc	1020
caactgcca	aaggaaccac	gaataagagg	aactaagtac	gactgtcgac	gggacgatga	1080
ctgcgatggg	aaacaaaagt	gctgctacac	aactgaaggc	cgcgaatgcg	tccatggtat	1140
atggccttaa	atggttgctt	cttcctataa	taaaagcaaa	cgaatcaaaa	aaaaaaaaaa	1200
aaaaaaaaaa						1210

(SEQ ID NO:1)

FIG. 3

gtaagagaaa	aacgtggcaa	atgtcctcctgaaccaccga	tcgcaggaaa	cacgatctac	60
tgccgcgatg	atthttgattg	tggaggaagacagaaagtgt	gtacaattgc	agaaggacgt	120
ggatgcgtgc	cgccctatgg	tgaacaagatttcgaagtgg	tgaaacggg	tcattgcca	180
gctattccag	cggttacggg	catggcgaacttctgtaaca	ctgatggcga	ctgtgatgga	240
ccgaaaaaat	gttgtctcac	atcgcgcggtacgattgta	cacatccgtt	acacttccca	300
atccagccac	aacctccagt	aggacagtgccttcctcaa	agccccgtgt	tccaggaaaa	360
tgggtagaca	tctgcgctaa	gcatgccaattgcccagacc	cagagaagtg	ttgcgacacg	420
gagtatggca	accgatgtat	ggatgttggattagtggcag	gacaaggaga	aagaccaggc	480
aattgcccga	acgaaccacg	aataagaggaactaaatacg	attgccgacg	agacgatgac	540
tgcgacgggtg	tgcagaaatg	ctgcttcaactgttgaggac	gtgagtgcgt	ggaaccaagc	600
agaaaaccac	tggacaagcc	cggacattgtccaccaattc	ccgctgatgt	gggctcagcc	660
aggtactgcg	acactgatcg	ggattgtgatggaccaagaa	aatgctgcct	ctcttcgcgt	720
ggctatgaat	gtaaacatcc	agtacactatcccgatcgag	tggagccact	agtaggagaa	780
tgcccaccat	cacgacctcg	cattcctgggaaatgggttg	acatctgctc	taagcatgcc	840
aactgcccag	acccagagaa	atgttgcgacacggagtatg	gcaaccgatg	tatggacgtt	900
ggattagtgc	ctggacaagg	agaaaaacctgccaaactgcc	caaaggaacc	acgaataagg	960
ggaactaagt	acgactgtcg	acgggacgatgactgcgatg	ggaaacaaaa	gtgctgctac	1020
acaactgaag	gccgcgaatg	cgtccatggtatatggcct			1059

(SEQ ID NO:2)

FIG. 4

Consenso (SEQ ID NO: 9) XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXVREKRGKCPPEPIAGNTIYCRDDEDCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQXFEVVKPGHCPA
 10 20 30 40 50 60 70 80
 -----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 3) MRLVETAVIYLTGLTDAVREKRGKCPPEPIAGNTIYCRDDEDCGGRQKCCCTIAEGRGCVWYGEQHFVVKPGHCPA 80
 (SEQ ID NO: 4) -----VREKRGKCPPEPIAGNTIYCRDDFCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPGHCPA 61

Consenso (SEQ ID NO: 9) IPAVTGMANECHIDGDCGMCCCLISRGYDCTHPLHETIOQPFVGCPPSPKPRXPGKWVDICAKHANC PDPEKCCDTE
 90 100 110 120 130 140 150 160
 -----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 3) IPAVIGMANECNIDGDCGPKKCCCLISRGYDCTHPLHETIOQPFVGCPPSPKPRIPGKWVDICAKHANC PDPEKCCDTE 160
 (SEQ ID NO: 4) IPAVIGMANFCNIDGDCGPKKCCCLISRGYDCTHPLHETIOQPFVGCPPSPKPRIPGKWVDICAKHANC PDPEKCCDTE 141

Consenso (SEQ ID NO: 9) YGNRCMDVGLVXGGERPGNCPNEPRIRGIKYDCRRDDDCGVQKCCETVEGRECVESRKPLDKPGHC PPIPADVGSAR
 170 180 190 200 210 220 230 240
 -----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 3) YGNRCMDVGLVPGQGERPGNCPNEPRIRGTKYDCRRDDDCGVQKCCETVEGRECVESRKPLDKPGHC PPIPADVGSAR 240
 (SEQ ID NO: 4) YGNRCMDVGLVAGQGERPGNCPNEPRIRGIKYDCRRDDDCGVQKCCETVEGRECVESRKPLDKPGHC PPIPADVGSAR 221

Consenso (SEQ ID NO: 9) YCDTDRDCDGRKCCCLSSRGYECKHPVHYPDVEPLVGECPSPRIPGKWVDICSKHANC PDPEKCCDTEYGNRCMDVG
 250 260 270 280 290 300 310 320
 -----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 3) YCDTDRDCDGRKCCCLSSRGYECKHPVHYPDVEPLVGECPSPRIPGKWVDICSKHANC PDPEKCCDTEYGNRCMDVG 320
 (SEQ ID NO: 4) YCDTDRDCDGRKCCCLSSRGYECKHPVHYPDVEPLVGECPSPRIPGKWVDICSKHANC PDPEKCCDTEYGNRCMDVG 301

Consenso (SEQ ID NO: 9) LVFGQGEKPANCPEPRIRGTKYDCRRDDDCDGKQKCCYTTTEGRECVHGIWP
 330 340 350 360 370
 -----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 3) LVFGQGEKPANCPEPRIRGTKYDCRRDDDCDGKQKCCYTTTEGRECVHGIWP 372 (SEQ ID NO: 4)
 LVFGQGEKPANCPEPRIRGIKYDCRRDDDCDGKQKCCYTTTEGRECVHGIWP 353

FIG. 5

caagaagatt	tatgggtgtggcagcttcgag	acgaaggagg	catcacttca	cgctcgaaaa	60
cagtctggac	acccacctgaaatggcttag	ccacgagcaa	aaggaggaac	tgctgcaaat	120
gaagaaggac	ggcaaatcgaagaaggagct	ccaggataag	atcatgcact	attacgagca	180
cctcgaaggc	gatgcgaaacatgaagcaac	agagcaactg	aagggcggat	gccgcgagat	240
tcttaagcat	gttggttgccgaggagaaagc	agctgagatc	aaagcactga	aagattctgg	300
agcaagcaaa	gatgagcttaaagccaaggt	cgaagaggca	ctccacgcag	tcaccgacga	360
agaaaagaag	caacatatcgccgaattcgg	tcccgcacgc	aagaagattt	atgggtgtggc	420
agcttcgaga	cgaaggaggcatcacttcac	gctcgaaaac	agtctggaca	cccacctgaa	480
atggcttagc	cacgagcaaaaaggaggaact	gctgcaaatg	aagaaggacg	gcaaatcgaa	540
gaaggagctc	caggataagatcatgacta	ttacgagcac	ctcgaaggga	tgctcctcgc	600
gctatgtatc	ctgtattgacggccttccaa	cctatcacac	ctgtcagtgc	ggccttacat	660
tcgacgagcg	tagaaagacctgtcttccta	agcagctggg	aaagtactgc	ggaatcccag	720
aatctggaga	ggcgtcggcggaagttggtg	agtcgtacta	acacagcacg	ctctcgttgg	780
tgcagatggt	gtgtgaaatacttttgcag	ttttccgtgt	gttttaataa	aataaaaaat	840
tccgtaaaaa	aaaaaaaaaaaaaaaa	(SEQ ID			865
		NO: 10)			

FIG. 6

at tt ta tgg tgt ggc agcttc gag acga agg aggc atc act tc acg ct cga aaaa agt ctg	60
ga ca ccc ac ct gaa at gg ct ta gcc acg ag caaaa gg agg a act gct gaa at ga agaaa	120
ga tgg gaa at cga aga agg ag ct cc agg ata aggt gat gc act tct acg ag ca cct cga a	180
gg cga tgc ga aac at ga ag ca ac ag ag ca act ga aggg cg gat gcc cg ga gat cct ta ag	240
ca tgt tgt tgg tg agg aga agc ag ct ga gat caa ag cac tg aa ag att ct gg ag ca agc	300
aa ag at ga gct ta ag cca aggt cga ag at gc act cc ac gc ggt cac cga aga ag aaaa g	360
ag ca ac ata tc gcc ga att tgg tcc ag ca tgc aagg aaa ttttc ggggt gcc ggt gat	420
gt tgc tca caaac gcg acc ct ta act aata tgc agccc gat ga ag tt gct ga agg acta	480
aga ag tta ac ggt gat cga gct ttttt gcaaaa act gg tt gat gct tttta aatt ctt tta a	540
gc ctt tttt ct tgt gtt attt cgg aatt gt acc ac ac ga ac ag ttag ttcc ga ata agaa	600
ct gta att at gt aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa	632

(SEQ ID NO: 11)

FIG. 7

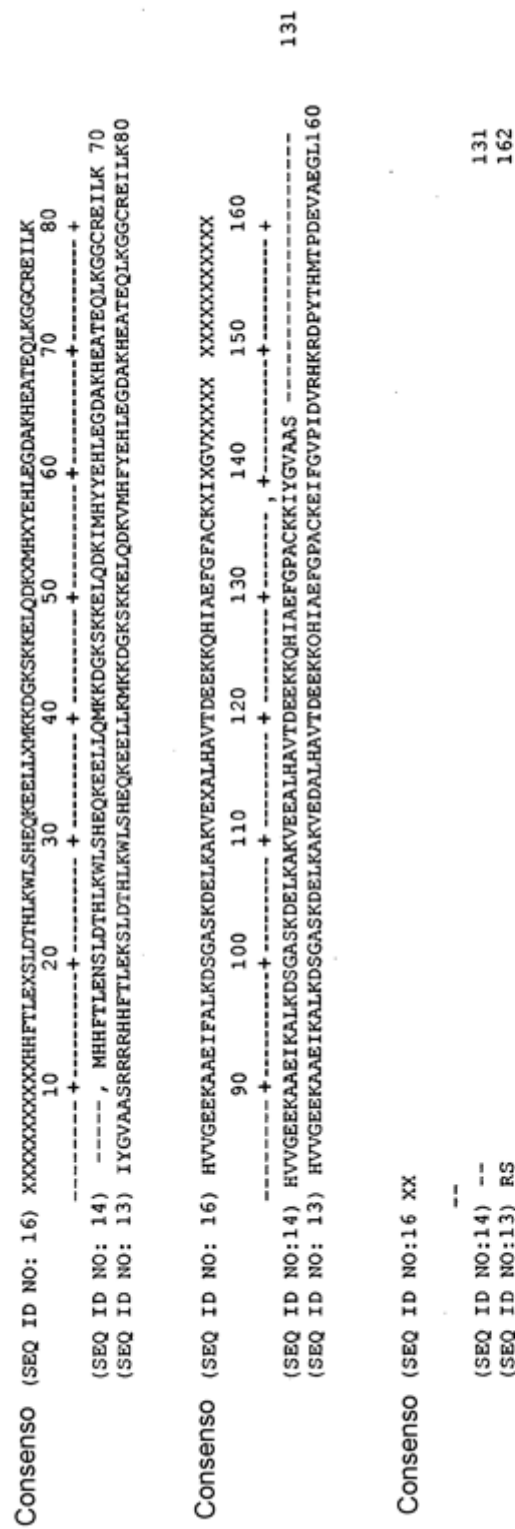


FIG. 8

agtcagtagc cactttaatc catcagaatg ctctctgttc ttgcgcttttctgctcttatt	60
acttttgctg tggccggtcc ggaaagctgc ggtccaaacg aagtgtggactgaatgtacc	120
ggttgcgaaat tgaaatgtgg gcaagatgaa aatacgccgt gcacactaaactgtcgaccg	180
ccgtcatgtg agtgctctcc aggaagaggc atgagacgaa ccaacgatggaagggtgcatt	240
ccggctagtc agtgcccgcac acacagggcc aagagagagg agcaatgcaagccaaatgag	300
cagtggtcac cgtgccgagg atgtgaagga acatgcgcac aaagatttgtcccttgact	360
agaaactgcc gaccaccagg ctgtgaatgc gttgctggcg caggtttcgtacgtgacgct	420
gaaggaaact gcatcaagtt cgacgattgc ccgaagtaaa taataaccatacaaatgct	480
gattccaatt aaaataataa atgagtccag ctgttaaaaa aaaaaaaaaaaaaaa	535

(SEQ ID NO:17)

FIG. 9

cagtcagcag	ctacttttat	ccatcggaat	gctctctgtt	cttgcgcttttcgctcttat	60
tacttttcgct	gtggccgatc	cgaaaagttg	cggtcctaac	gaagtgtggactgaatgtac	120
cggttgcgag	ttgaaatgcg	ggcaggatga	ggatacgccg	tgcacactaaactgtcggcc	180
gccgtcatgt	gagtgtcac	caggaagagg	catgagacga	accgacgatgggaggtgcat	240
tccggctagt	cagtgcgccg	aacacagagc	caagagagag	gagcagtgcaagccaaatga	300
gcagtgggtca	ccgtgccgag	gatgtgaagg	aacatgcgca	caaagatttgtcccttgac	360
tagaaactgc	cgaccaccag	gatgtgaatg	cgttgctggc	gcaggtttcgtacgtgacgc	420
tgcaggaaat	tgcataaagt	tcgacgattg	cccgaagtaa	ataataaccataactaattgc	480
tgattacaat	taaaataata	aatgagtcca	gctgttataaa	aaaaaaaaaaaaaaaaaaaa	536

(SEQ ID NO:18)

FIG. 10

Consenso (SEQ ID NO: 23) XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXSCGPNVWTECTGCELCGQDETFCTLNCRPPSCPCSPGRGMRRTXDGRCIPASQCQPHR
 10 20 30 40 50 60 70 80
 -----+-----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 21) -----MGPSGPNVWTECTGCELCGQDETFCTLNCRPPSCPCSPGRGMRRTNDGRCIPASQCQPHR 65
 (SEQ ID NO: 20) MLSVLALFALITFAVADPKSCGPNVWTECTGCELCGQDETFCTLNCRPPSCPCSPGRGMRRTDDGRCIPASQCQPHR 80

Consenso (SEQ ID NO: 23) AKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAXGNCKIKFDDCPK
 90 100 110 120 130 140
 -----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 21) AKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAXGNCKIKFDDCPK 128
 (SEQ ID NO: 20) AKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAXGNCKIKFDDCPK 143

FIG 11

atcagcaggt	ttcgcttcaa	atgcttccga	taacttttttgctggcaatt	attgtcggtg	60
cagcagtagc	tcaccgtaaa	tgtggtccaa	acgaagagtggaccgaatgc	actggttgcg	120
aaattaagtg	cgggtcaagga	gagcaaccat	gccctatgatgtgtcgtccg	ccatcgtgtg	180
aatgcatggc	cggcaaagga	ttacgaagaa	cagcggacggaagatgcgtg	ccggaggcac	240
aatgccccaa	aagaatggta	aagcgagacg	aaaaatgtgggccaacgag	aaattcctga	300
agtgcagagg	ttgtgaggg	acctgcaaag	aacgtctcgttccctgccct	agaatgtgca	360
aaccaccagg	ttgcgaatgc	cccgttcag	aaggattcgttcgcaatgac	aaaggcgaat	420
gtatcaagtt	cgacgactgc	ccgaaataaa	ttcaataaatcaattttgt	(SEQ ID NO: 24)	469

FIG. 12

atcagcaggt	ttcgcttcaa	atgcttccgt	taactttttt	gctggcattt	attgtgggtg	60
cagcggtagc	tcaccgtaaa	tgtgggtccaa	atgaagagtg	gacggaatgc	actggctgcg	120
aaatgaagtg	cgggtgaagga	gagacaccat	gccctatgat	gtgtcgtccg	ccatcgtgtg	180
aatgcatggc	cggcaaagga	ttacgaagaa	caccggacgg	aagatgtgtg	ccggaggcac	240
aatgcccga	acatatggta	aagcgagatg	aaaaatgtgg	gaaaaacgag	aaattcctga	300
agtgcagagg	atgtgagggt	acgtgcaaag	aacgtctcgt	gccgtgccct	aagatgtgca	360
aaccaccagg	ttgcgaatgc	ccggcttcgg	aaggattcgt	tcgcaatgac	aaacacgaat	420
gtatcaagtt	cgacgactgc	cccaaataaa	ttcaataaat	cagtcttggt	gataaataca	480
atcgtgatgc	tcacgttttt	ttttcttgcc	ataaaatcta	tacttcccaa	aaaaaaaaaa	540
aaaaaaaa	(SEQ ID					548
	NO: 25)					

FIG. 13

FIG. 14

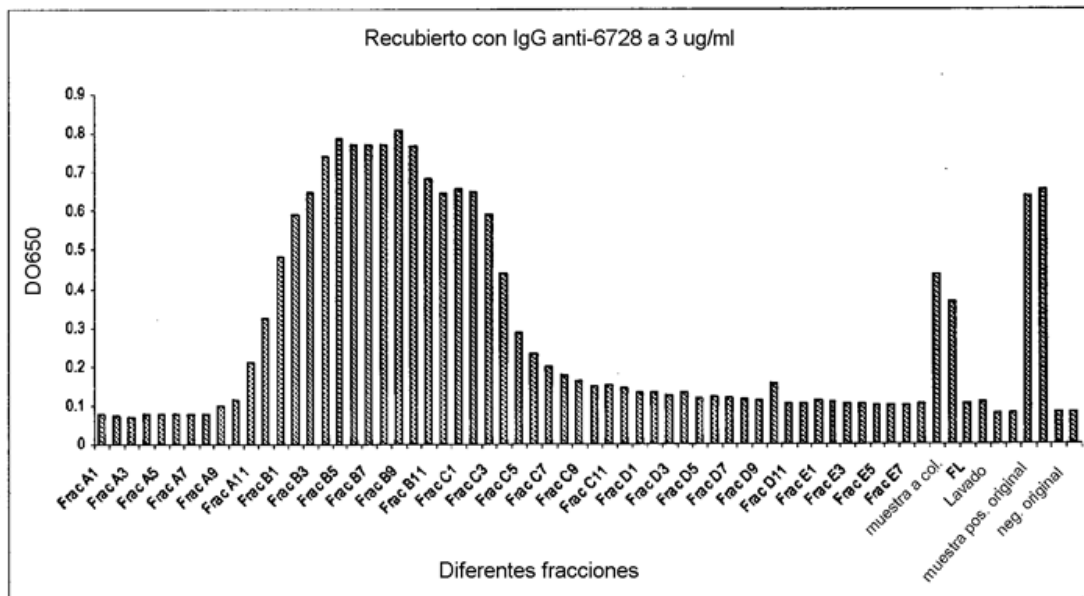


FIG. 15

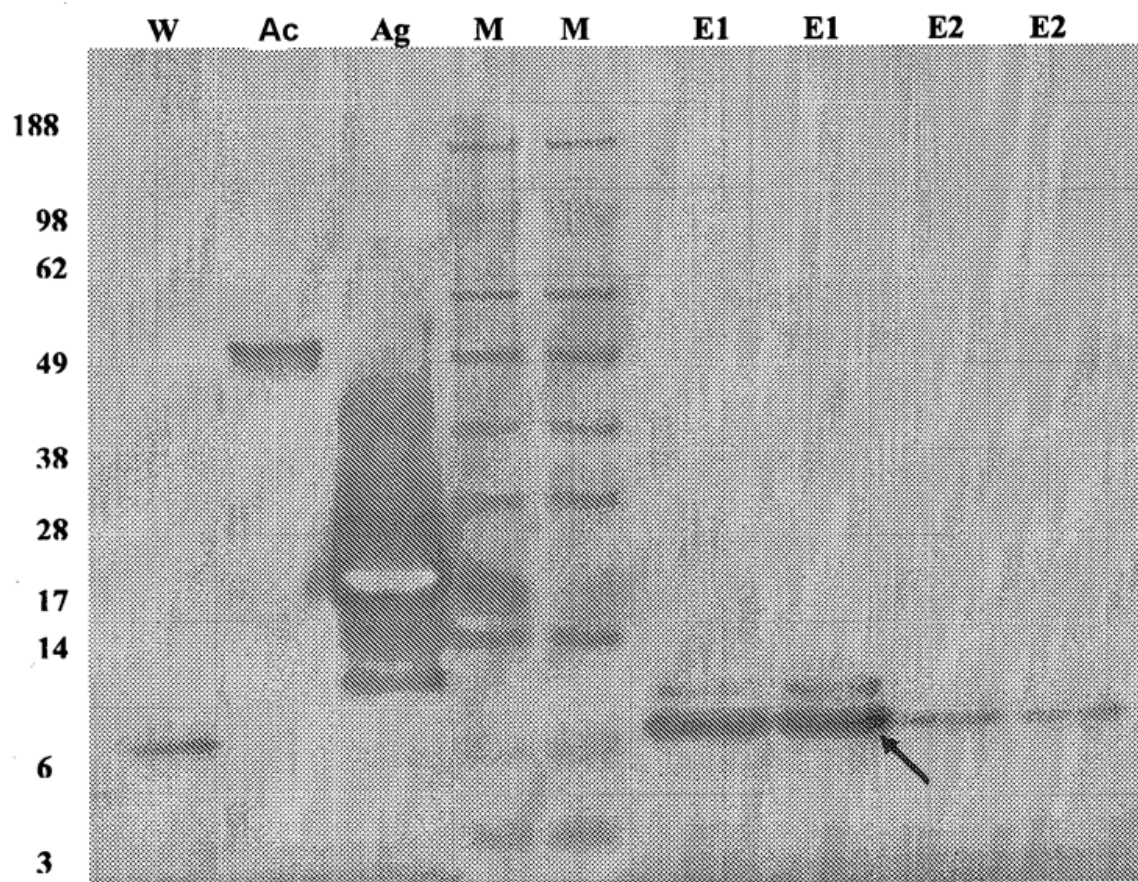


FIG. 16

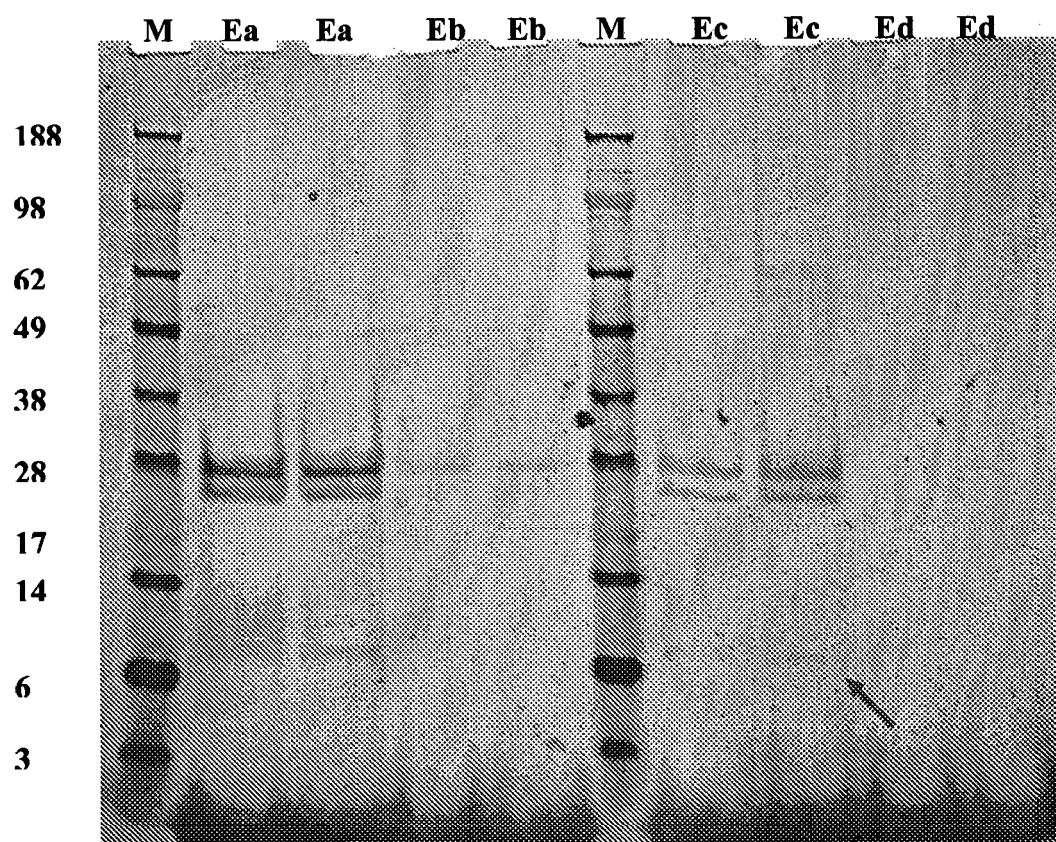


FIG. 17

MGPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRRTNDGRCIPASQCP
QHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAEGNCIK
FDDCPK (SEQ ID NO: 21)

FIG. 18

91

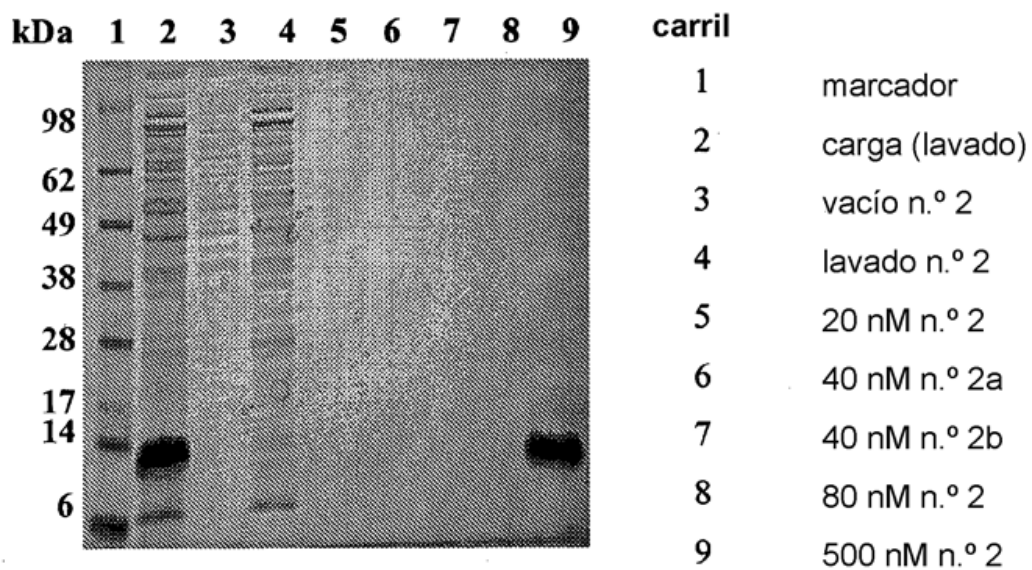


FIG. 20

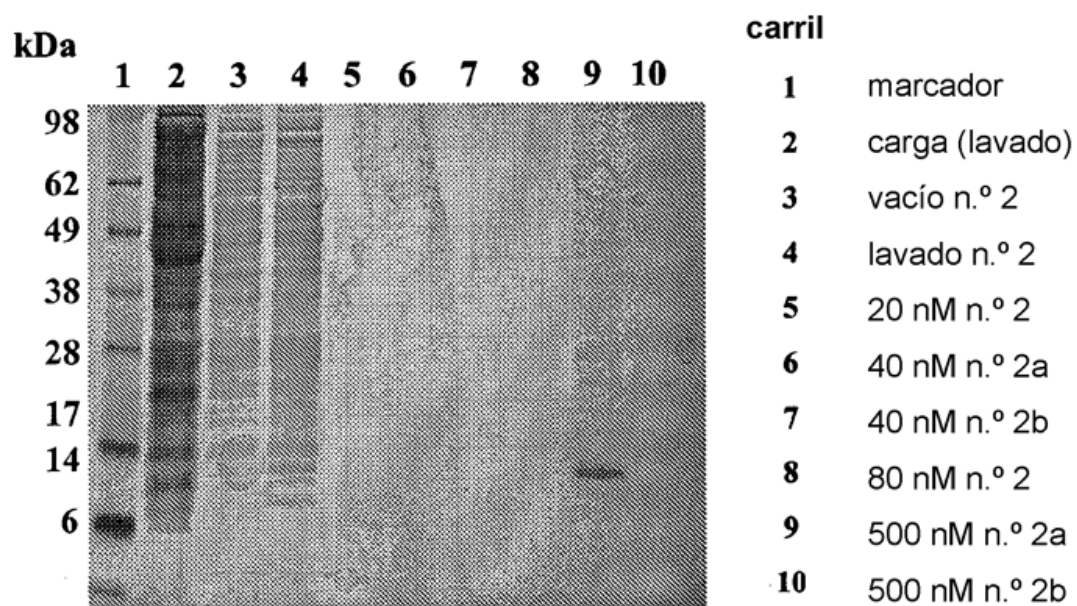


FIG. 21

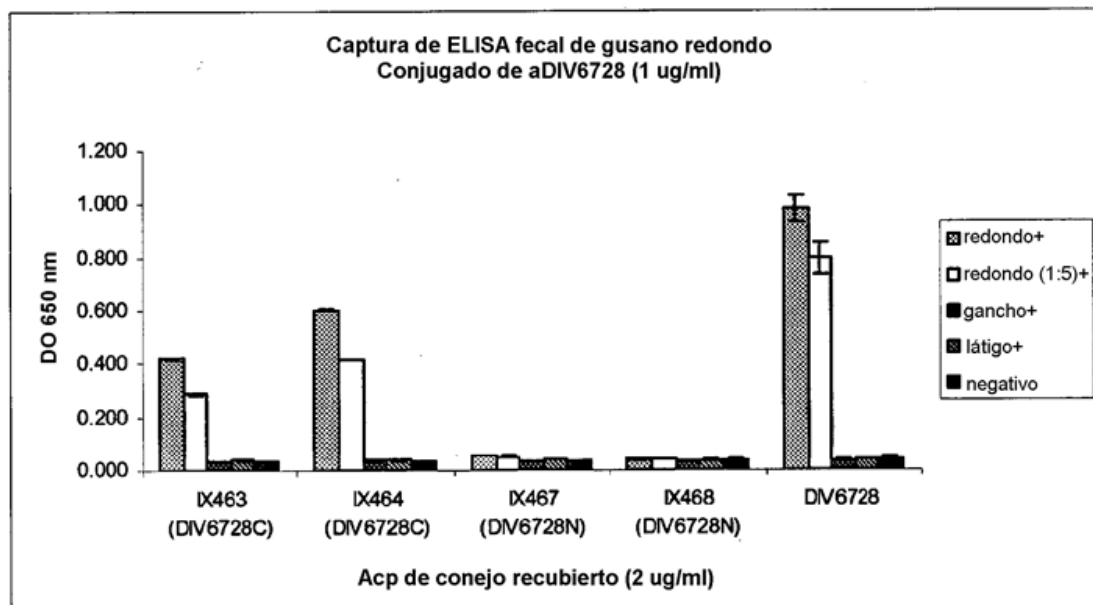


FIG. 22

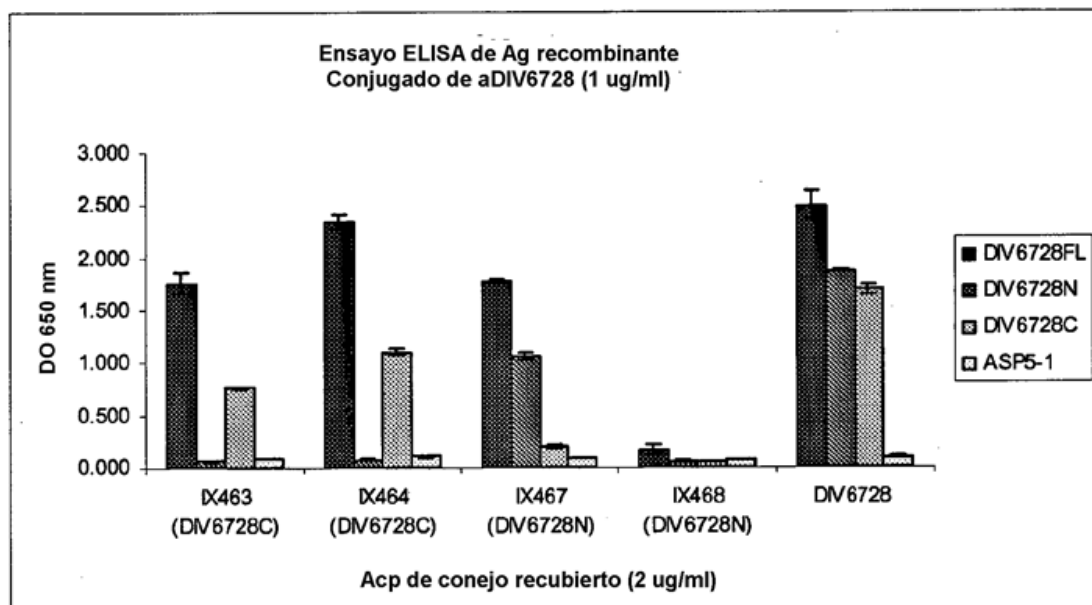


FIG. 23

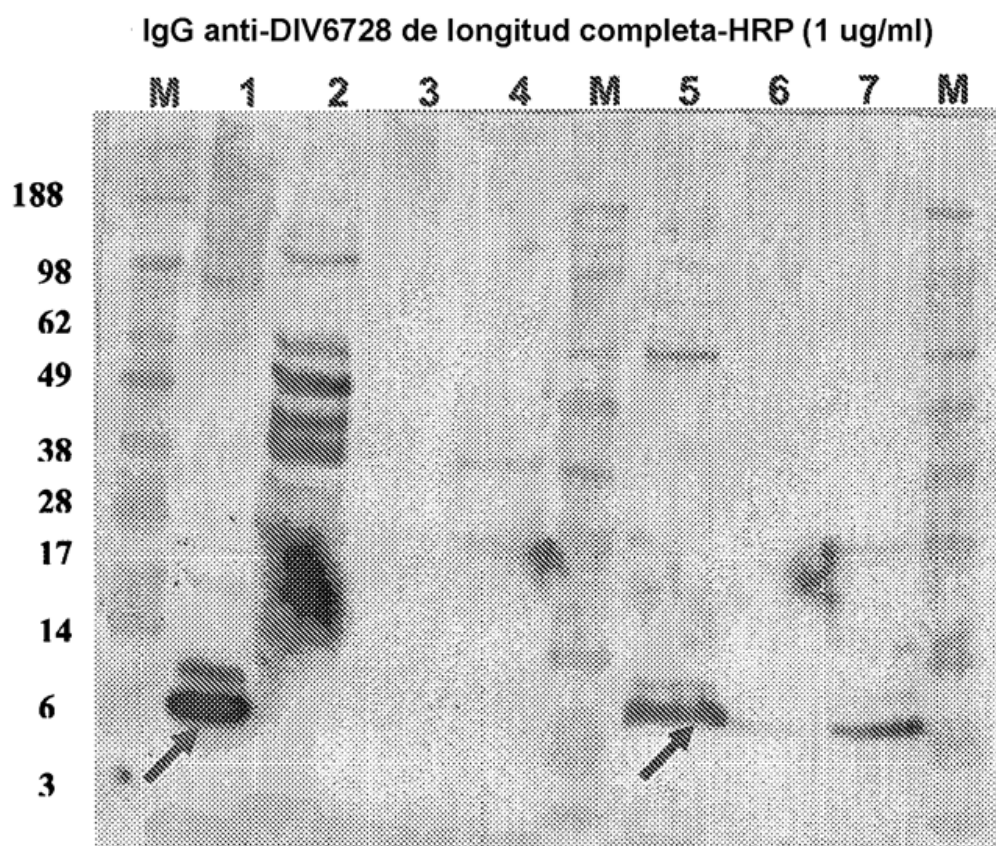


FIG. 24

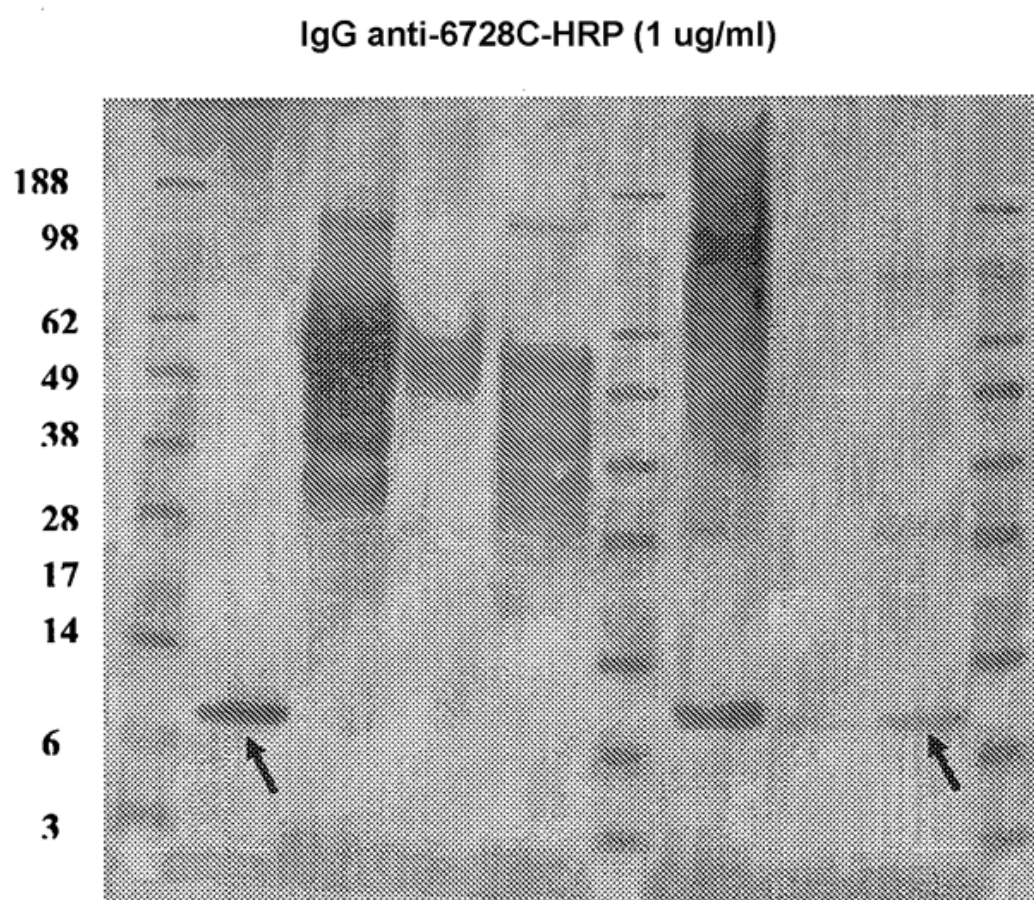


FIG. 25

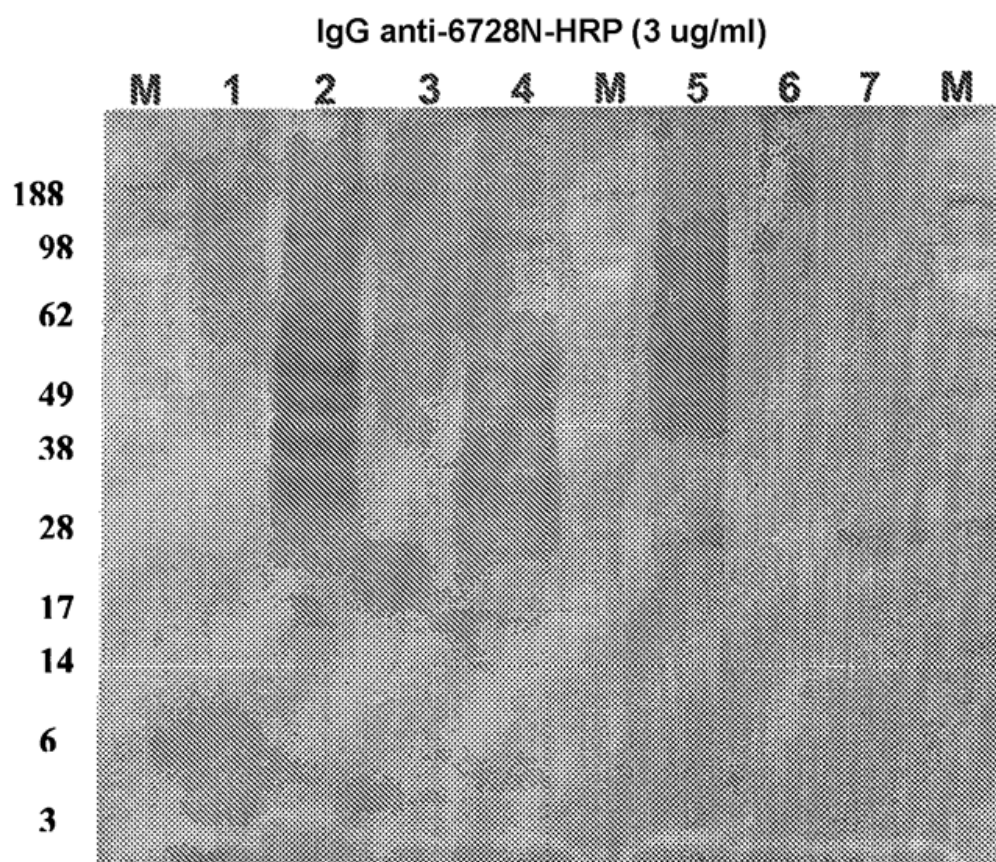


FIG. 26