

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 124**

51 Int. Cl.:

G01N 33/564 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.02.2013 PCT/EP2013/053707**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.08.2013 WO13124482**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2013 E 13711297 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2817623**

54 Título: **Identificación de propiedades de unión de anticuerpos reactivos con un miembro de la familia de los receptores de la insulina**

30 Prioridad:

24.02.2012 EP 12156930

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

04.12.2019

73 Titular/es:

**BERYSOL GMBH (100.0%)
Yorckstrasse 71
10965 Berlin, DE**

72 Inventor/es:

**SCHOMBURG, LUTZ;
MINICH, WALDEMAR y
KARASCH, SIEGMUND**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 734 124 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

Identificación de propiedades de unión de anticuerpos reactivos con un miembro de la familia de los receptores de la insulina

5 La presente invención se refiere a métodos útiles en la identificación de anticuerpos reactivos con uno o más miembros de la familia de los receptores de la insulina.

Antecedentes de la invención

10 La familia de receptores de la insulina (IRF) consiste principalmente en cuatro receptores que se unen a la insulina y/o al IGF1 con diferentes afinidades: el receptor de la insulina (IR), el receptor de IGF1 (IGF1R) y el receptor de IGF2 (IGF2R), y el receptor híbrido de la insulina-IGF1 (IIHR). Otro miembro huérfano de esta familia es el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR).

15 De los receptores mencionados anteriormente, IR, IGF1R, IIHR e IRRR pertenecen a la familia de los receptores de la tirosina quinasa activados por ligando, mientras que IGF2R es un monómero transmembrana con un gran dominio extracelular y sin capacidad de señalización intrínseca.

20 IR e IGF1R se expresan en la superficie celular en forma de homodímeros compuestos por dos monómeros idénticos, o en forma de heterodímeros compuestos por dos monómeros de receptores diferentes (por ejemplo, el receptor híbrido de la insulina-IGF1 (IIHR)). Los IIHR están ampliamente distribuidos en diferentes tejidos de mamíferos. Se comportan de una manera similar a IGF1R con respecto a la señalización de fosforilación de la tirosina inducida por ligando.

25 Los receptores tanto IGF1R como IR están compuestos por dos subunidades glicosiladas alfa y dos beta, en las que dos cadenas transmembrana alfa-beta forman juntas un heterotetrámero unido por enlaces disulfuro (beta-alfa-alfa-beta). Los receptores tienen un dominio de unión al ligando extracelular, un único dominio transmembrana y un dominio citoplasmático que muestra la actividad de la tirosina quinasa. El dominio extracelular está compuesto por las subunidades alfa completas y una parte del extremo N de las subunidades beta, mientras que la parte intracelular de las subunidades beta contiene el dominio tirosina quinasa (TK).

30 Aunque su estructura es similar, IGF1R e IR cumplen diferentes funciones fisiológicas. IR participa principalmente en las funciones metabólicas, mientras que IGF1R media el crecimiento y la diferenciación. Sin embargo, sus ligandos, la insulina y el IGF-1, pueden inducir efectos tanto mitogénicos como metabólicos cuando se unen a los receptores.

35 Debido a la relación estructural de los miembros de IRF, el ligando insulina no solo se une a IR, sino también a IGF1R y a IIHR, el ligando IGF-1 no solo se une a IGF1R, sino también a IR, IIHR e IGF2R, y el ligando IGF-2 no solo se une a IGF2R, sino también a IR, IIHR e IGF1R.

40 Se sabe que los autoanticuerpos desempeñan un papel importante en la generación de trastornos autoinmunitarios. Por ejemplo, la presencia de autoanticuerpos contra IR en un sujeto indica el inicio de la diabetes (resistencia a la insulina de tipo B).

45 Asimismo, actualmente se están desarrollando anticuerpos no endógenos contra IGF1R para proporcionar nuevos enfoques terapéuticos en el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, el fármaco candidato figitumumab, desarrollado por Pfizer Inc., y dalatuzumab, desarrollado por Merck & Co Inc., son anticuerpos terapéuticos monoclonales contra IGF1R, que actualmente se investigan para el tratamiento de varios tipos de cáncer. Por ejemplo, las solicitudes de patente WO 2002/053596 A, WO 2004/083248 A, WO 2005/016967 A, WO 2005/016970 A, US 2005/0249730, US 50 2005/0084906, WO 2005/052005 A, WO 2005/058967 A, WO 2005/094376 A, WO 2006/008639 A, WO 2006/013472 A y WO 2008/077546 A se refieren al tratamiento del cáncer mediante anticuerpos anti-IGF1R.

55 Masseyeff R. F. (editor jefe), Albert, W. H. y Staines N. A., "Methods in Immunologic Analysis", Vol 1: Fundamentals (1993) VCh Weinheim, pág. 475-490 enseña los principios básicos de un inmunoensayo de tipo sándwich de doble antígeno.

60 Todavía no se conoce por completo la frecuencia y el papel de los autoanticuerpos que son capaces de unirse a miembros de la IRF, y se requiere una investigación adicional para permitir el diagnóstico, la prevención y el tratamiento con éxito de los trastornos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, diabetes mellitus dependiente de la insulina (IDDM), enfermedad de Graves-Basedow, Orbitopatía de Graves), obesidad, trastornos neurológicos, trastornos del crecimiento, generación y desarrollo del cáncer (incluyendo cáncer de mama, colon, ovario, próstata, pulmón) y otros

trastornos celulares proliferativos y otras enfermedades o disfunciones. Por ejemplo, se ha informado de la señalización de IR disfuncional en trastornos entre los que se incluyen la diabetes de tipo I y II, la demencia y el cáncer.

Los métodos de ensayo más específicos y más sensibles pueden ser útiles para desarrollar una comprensión más profunda de estas vías complejas, y servirán como herramientas valiosas en el diagnóstico y la investigación en este contexto, por ejemplo, al permitir la diferenciación de diferentes estados fisiológicos entre un individuo sano y disfunciones progresivas. En particular, la medición de los autoanticuerpos contra miembros de IRF como marcadores serológicos puede ser útil en el diagnóstico precoz o diagnóstico diferencial, en la prevención y/o tratamiento de cualquiera de los trastornos autoinmunitarios mencionados anteriormente.

Asimismo, las mejoras de la presente invención permiten la identificación de moduladores de (es decir, activadores, inhibidores o moléculas que afectan o desencadenan de otra manera) la interacción de los miembros de la IRF y los anticuerpos analíticos que afectan o generan la actividad de los receptores, y que, por lo tanto, pueden ser adecuados como compuestos farmacéuticamente eficaces en el diagnóstico, la prevención y/o el tratamiento de cualquiera de las enfermedades que están relacionadas con los miembros de la IRF.

La expresión de una proteína de fusión IGF1R-luciferasa humana recombinante en células HEK293 transfectadas de manera estable ha sido demostrada por W. Minich *et al.* ("Detection of Autoantibodies to the Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor in Patients with Graves Orbitopathy by Luminescent Immunoprecipitation Analysis". Poster Presentation ITC 2010, París) que mostró la cuantificación de autoanticuerpos contra IGF1R en sueros de pacientes con orbitopatía de Graves usando un ensayo de inmunoprecipitación (IPA).

Jin K.-C. *et al.* (Bioanalysis, septiembre de 2011, 3(18): 2107-2117) informaron sobre el desarrollo de dos ensayos ELISA para la cuantificación de anticuerpos anti-IGFIR terapéuticos para estudiar sus propiedades farmacocinéticas. Estos dos ensayos se basan en métodos de ELISA clásicos que usan anticuerpos anti-IgG humana marcados o anticuerpos anti-IgGFc humana marcados como reactivo de detección.

Asimismo, Uschn Life Science Inc. (Wuhan, CN) proporciona un kit de ELISA para la detección del anticuerpo anti-receptor de la insulina humano. Este kit se basa en el principio de un inmunoensayo enzimático de tipo sándwich, en el que una placa de microtitulación se ha recubierto previamente con el antígeno. Tras la incubación con la muestra, se añade anticuerpo conjugado con biotina y se usa avidina conjugada con HRP como reactivo de detección.

En general, se sabe que el uso de anticuerpos anti-IgG o anti-IgGFc marcados como reactivo de detección puede formar complejos con anticuerpos unidos a antígenos inespecíficamente, lo que produce señales falsas positivas. De manera similar, se sabe que la técnica de amplificación de biotina-avidina produce relaciones de señal a ruido deficientes. Por lo tanto, todavía existe la necesidad de una tecnología de ensayo y una mejora del rendimiento, por ejemplo, en el área de los ensayos de cribado de alto rendimiento (HTS), en los que el tamaño de la muestra suele ser muy importante y tanto el consumo de volúmenes de muestra como los reactivos del ensayo siempre deben reducirse aún más debido a disponibilidades limitadas y a la necesidad de reducir los costes. Además, los análisis epidemiológicos o los ensayos de HTS se benefician de un número mínimo de etapas de reacción, un bajo tiempo de uso durante el manejo del ensayo y otras mejoras técnicas.

En este caso, la presente invención supera los problemas mencionados anteriormente proporcionando mejores métodos de detección empleados en el análisis y en la selección de anticuerpos reactivos con moléculas antigénicas que se seleccionan de la IRF. En particular, al proporcionar los nuevos métodos de inmunoensayo, la presente invención mejora sorprendentemente la especificidad y la sensibilidad de la detección de anticuerpos de la técnica anterior como se ha descrito anteriormente. El uso de los métodos de acuerdo con la invención es mucho más cercano a las condiciones fisiológicas y, por lo tanto, permite que las moléculas antigénicas expongan su estructura tridimensional correcta. Por consiguiente, los métodos de acuerdo con la presente invención no solo son favorables para realizar formatos de ensayo automatizados en laboratorios de investigación y clínicos, sino que son más sensibles y específicos que los ensayos de la técnica anterior.

Sorprendentemente, mediante los métodos de acuerdo con la presente invención, se encontró que las muestras positivas para autoanticuerpos reaccionan de manera cruzada con diferentes miembros de la IRF. Debido a la sensibilidad y especificidad sorprendentemente mejoradas de los métodos de acuerdo con la presente invención, el nuevo formato de ensayo permite una investigación y un desarrollo más diferenciados de nuevas terapias y herramientas de diagnóstico en la profilaxis y el tratamiento de trastornos y enfermedades relacionados con los miembros de la IRF. Asimismo, el método de acuerdo con la invención se puede realizar con cualquier tipo de anticuerpo bivalente adecuado de acuerdo con la presente invención, independientemente de la fuente de la que se derive el anticuerpo.

Sumario de la invención

Por lo tanto, es una realización de la presente invención proporcionar un método para la medición de autoanticuerpos contra miembros de la IRF como marcadores serológicos que comprenden detectar, en una muestra que se examinará, la presencia y/o las propiedades de unión de anticuerpos analíticos reactivos con una o más moléculas antigénicas, comprendiendo dicho método: (a) proporcionar una o más primeras moléculas antigénicas con las que puedan interactuar los anticuerpos analíticos cuando están presentes en dicha muestra y qué primera molécula antigénica se selecciona de la familia de receptores de la insulina (IRF); y (b) proporcionar una o más segundas moléculas antigénicas con las que los anticuerpos analíticos, cuando están presentes en dicha muestra, pueden interactuar y qué segunda molécula antigénica se selecciona de la IRF; y (c) poner en contacto dichas primeras moléculas antigénicas proporcionadas mediante la etapa (a) y dichas segundas moléculas antigénicas proporcionadas mediante la etapa (b) de forma simultánea o sucesiva con la muestra que se vaya a examinar, por lo que los anticuerpos analíticos, cuando están presentes en dicha muestra, pueden interactuar con dichas moléculas antigénicas para formar complejos que comprenden [primera molécula antigénica] - [anticuerpo analítico] - [segunda molécula antigénica]; y (d) antes, o simultáneamente a, o después de la etapa (c), proporcionar medios de inmovilización mediante los que dicha primera molécula antigénica, como está presente en dichos complejos formados en la etapa (c), respectivamente, como capaz de formar complejos en la etapa (c), se inmoviliza en un soporte sólido antes de, o simultáneamente a, o después de la etapa (c); y (e) antes, o simultáneamente a, o después de la etapa (c), proporcionar los primeros medios de marcaje mediante los que dicha segunda molécula antigénica, como está presente en dichos complejos formados en la etapa (c), respectivamente, como capaz de formar complejos en la etapa (c) se marca con dichos primeros medios de marcaje antes de, o simultáneamente a, o después de la etapa (c); y (g) detectar la presencia de complejos formados en o después de la etapa (c) para proporcionar una indicación de los anticuerpos analíticos presentes en dicha muestra. Asimismo, dicho método como el desvelado puede usarse para la identificación de un modulador de las propiedades de unión de dichos anticuerpos analíticos reactivos con una o más moléculas antigénicas en combinación con el conocimiento general del experto en la materia de la detección de compuestos activos con el potencial de usarlos como un compuesto farmacéuticamente activo.

Los métodos de acuerdo con la presente invención son, métodos *in vitro*. Además, pueden comprender etapas además de las mencionadas explícitamente anteriormente, que incluyan pretratamientos de las muestras o evaluación de los resultados (por ejemplo, con respecto a la detección de la presencia de complejos formados) obtenidos mediante los métodos. Los métodos pueden ser llevados a cabo manualmente y/o asistidos por automatización. Preferentemente, una o más de las etapas (a), (b), (c), (d), (e), (f) y/o (g) pueden ser asistidas total o parcialmente por la automatización, incluyendo el equipo de robótica y sensorial adecuado para la detección y/o un procesamiento y/o análisis implementado por ordenador en la etapa (g). Para un experto en la materia, se sabe que los métodos de acuerdo con la presente invención requieren calibración o estandarización para comparar las señales detectadas, por ejemplo, de la presencia de complejos con (una o más) cantidades conocidas de formación de complejos de referencia.

En otras realizaciones de la presente invención, dichas primeras moléculas antigénicas y dichas segundas moléculas antigénicas son idénticas o, como alternativa, no son idénticas (es decir, diferentes). En otras realizaciones de la presente invención, las dichas primeras moléculas antigénicas y las dichas segundas moléculas antigénicas no son idénticas y pertenecen a diferentes miembros de la IRF. En otras realizaciones de la presente invención, las dichas primeras moléculas antigénicas y/o las dichas segundas moléculas antigénicas están incrustadas en un entorno de membrana. En otras realizaciones más, los métodos de la presente invención permiten la detección de un anticuerpo contra un miembro de la IRF de aproximadamente 3 ng/ml, preferentemente, de aproximadamente 1 ng/ml, más preferentemente, de aproximadamente 0,3 ng/ml, incluso más preferentemente, de aproximadamente 0,1 ng/ml y más preferentemente de aproximadamente 0,03 ng/ml.

En otras realizaciones de los métodos de la presente invención, la una o más de las primeras moléculas antigénicas, que están inmovilizadas en un soporte sólido, se proporcionan antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención.

La una o más de las primeras moléculas antigénicas pueden inmovilizarse en un soporte sólido antes del contacto con una muestra que se vaya a investigar. Opcionalmente, el soporte sólido puede proporcionarse en una fase líquida (por ejemplo, dispersión, suspensión y coloide). Dichas una o más primeras moléculas antigénicas inmovilizadas se ponen posteriormente en contacto con dicha muestra de forma simultánea o sucesiva con el contacto de dicha muestra y con una o más segundas moléculas antigénicas. La una o más primeras moléculas antigénicas inmovilizadas cuando se ponen en contacto con dicha muestra pueden formar complejos intermedios que comprendan [primera molécula antigénica] - [anticuerpo analítico] en los que la una o más primera molécula antigénica está inmovilizada en un soporte sólido y el complejo intermedio inmovilizado así formado posteriormente se pone en contacto con la una o más segundas moléculas antigénicas, presentes en la solución, para formar los complejos descritos hasta ahora que comprenden [primera molécula antigénica] - [anticuerpo analítico] - [segunda molécula antigénica] directa o indirectamente inmovilizados a un soporte sólido a través de la primera molécula antigénica.

En otra realización de los métodos de acuerdo con la presente invención, la una o más segundas moléculas antigénicas, que están provistas de un medio de marcaje, se proporcionan antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención.

5 En otra realización de los métodos de acuerdo con la presente invención, la una o más de las primeras moléculas antigénicas, que están inmovilizadas en un soporte sólido y la una o más de las segundas moléculas antigénicas, que están provistas de un primer medio de marcaje, se proporcionan ambas antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención.

10 En otras realizaciones más de la presente invención, la una o más primeras moléculas antigénicas se inmovilizan en un soporte sólido y la una o más segundas moléculas antigénicas se proporcionan con medios de marcaje, mediante lo que la una o más segundas moléculas antigénicas se proporcionan en solución.

15 En otras realizaciones más de la presente invención, la una o más primeras moléculas antigénicas se inmovilizan sobre un soporte sólido y las una o más segundas moléculas antigénicas están provistas de medios de marcaje, mediante lo que la una o más primeras moléculas antigénicas y la una o más segundas moléculas antigénicas se proporcionan en solución.

20 Otros métodos de la presente divulgación comprenden controlar directamente la interacción de (i) los anticuerpos analíticos presentes en la muestra e (ii) una o más primeras moléculas antigénicas e (iii) una o más segundas moléculas antigénicas y según lo proporcionado por presente invención, empleando técnicas de ensayo sustancialmente conocidas en la técnica (por ejemplo, ensayos no competitivos o competitivos), por ejemplo, de tipo sándwich o tipo RET, este último tipo de ensayo no requiere inmovilización y separación de una o más de las primeras moléculas antigénicas de la fase líquida.

25 Otros métodos más de la presente divulgación permiten la identificación de moduladores, que son capaces de interactuar con los complejos formados en la etapa (c) y/o que son capaces de interferir en la formación de complejos de acuerdo con la etapa (c) según lo definido en el método de detección de anticuerpos analíticos de acuerdo con la presente invención.

30 Por consiguiente, otros métodos para detectar anticuerpos analíticos de la presente divulgación comprenden además la etapa (f) antes de, o concurrente a, o posterior a, la etapa (c), proporcionar uno o más moduladores capaces de interactuar con los complejos formados en etapa (c) y/o capaces de interferir en la formación de complejos de acuerdo con la etapa (c) y poner en contacto dichos uno o más moduladores de forma simultánea o sucesiva con dicha muestra, la dicha una o más primeras moléculas antigénicas y/o la dicha una o más segundas moléculas antigénicas previas a, o concurrentes con, o posteriores a la etapa (c), o poner en contacto dichos uno o más moduladores simultánea o sucesivamente con dichos complejos formados en o posteriores a la etapa (c).

40 En otros métodos de acuerdo con la presente divulgación, el uno o más moduladores se proporcionan antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención.

45 En otras realizaciones de los métodos de acuerdo con la presente invención, uno o más de dichos medios seleccionados del grupo que consiste en dichos medios de inmovilización y dichos primeros medios de marcaje se proporcionan antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención.

50 En un aspecto adicional, la presente solicitud desvela un kit, que es útil para la realización de cualquiera de los métodos de acuerdo con la presente invención que comprende (a) una o más de las primeras moléculas antigénicas seleccionadas de la IRF como se define en uno o más de los métodos de acuerdo con la invención; (b) una o más segundas moléculas antigénicas seleccionadas de la IRF como se define en uno o más de los métodos de acuerdo con la invención; (c₁) medios de inmovilización como se definen en uno o más de los métodos de acuerdo con la invención, y (d) primeros medios de marcaje como se definen en uno o más de los métodos de acuerdo con la invención, y, opcionalmente, uno o más anticuerpos analíticos, que son reactivos con una o más de las primera y segunda moléculas antigénicas como se define en uno o más de los métodos de acuerdo con la invención. En otro aspecto, el kit de acuerdo con la presente divulgación comprende (a) dichas primeras moléculas antigénicas inmovilizadas en un soporte sólido; y (b) dichas segundas moléculas antigénicas marcadas con un primer medio de marcaje.

60 En otras realizaciones más, la presente invención proporciona el uso de cualquiera de los métodos de acuerdo con la invención para el diagnóstico de la presencia o aparición de una enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina y/o para la identificación de un compuesto farmacéuticamente eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina.

Descripción detallada de la invención

Principalmente, los términos y las expresiones que se usan en la presente solicitud tendrán el significado del conocimiento general del experto en la materia. Sin embargo, cabe señalar el siguiente significado preferido de términos y expresiones especificadas: los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente a lo largo de la presente solicitud.

El término "muestra" que se va a investigar de acuerdo con la presente invención significará preferentemente cualquier muestra que sea esencialmente un líquido o una suspensión, preferentemente de origen biológico y/o químico. La muestra puede obtenerse mediante técnicas bien conocidas y puede significar preferentemente fluidos corporales aislados tales como sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, saliva, orina, líquido seminal, fluidos lagrimales y otros. La muestra puede abarcar además uñas cortadas, heces, otros excrementos, células separadas, homogenados celulares, homogenados tisulares u homogenados de órganos obtenidos de un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o individuo humano. Las muestras de tejido o las muestras de órganos se pueden obtener de cualquier tejido u órgano mediante, por ejemplo, biopsia. Las células separadas pueden obtenerse de los fluidos corporales o de los tejidos u órganos mediante técnicas de separación tales como la centrifugación o la clasificación celular. Preferentemente, las muestras de células, muestras de tejidos o muestras de órganos se obtienen de aquellas células, tejidos u órganos que expresan, contienen, acumulan, concentran o producen las moléculas antigénicas mencionadas en el presente documento. La muestra puede haber sido sometida a tratamiento y/o modificación, conocidos por el experto en la materia con el fin de permitir el almacenamiento o procesamiento adicional en un método de la invención. Por ejemplo, el experto en la materia sabe que la muestra puede diluirse en un tampón adecuado o, si la muestra se obtiene de la orina, cualquier biotina contenida en la muestra debe eliminarse para evitar la interferencia con la determinación precisa de la biotina, si se usa biotina como medio de marcaje en el método de la invención. La muestra puede seleccionarse de un individuo sospechoso de la aparición o presencia de una afección disfuncional seleccionada entre trastornos autoinmunitarios, trastornos del crecimiento, del desarrollo o del metabolismo energético, trastorno de la proteína de unión a hormonas del crecimiento, trastorno del receptor de las hormonas del crecimiento y trastornos de las hormonas del crecimiento. En una realización de la invención, la muestra puede comprender una cantidad conocida de anticuerpos analíticos y/o uno o más moduladores, preferentemente, una cantidad conocida de ambos anticuerpos analíticos y uno o más moduladores. Esto puede ser de particular relevancia para la identificación de moduladores como se ha descrito anteriormente.

En general, la expresión "molécula antigénica" de acuerdo con la presente invención significa cualquier molécula con la que un anticuerpo analítico puede interactuar y que es capaz de unirse a un (uno o más) anticuerpo analítico para formar complejos específicos que comprendan [anticuerpo analítico-molécula antigénica]. La molécula antigénica puede ser natural o sintética, y sus modificaciones son preferentemente tales que no afecten negativamente a las propiedades de unión en los métodos de acuerdo con la presente invención.

La expresión "anticuerpos analíticos" de acuerdo con la presente invención significa cualquier anticuerpo capaz de unirse a cualquier miembro de la IRF, respectivamente, capaz de unirse a uno o más de los receptores seleccionados del grupo que consiste en IR, IGF1R, IGF2R, IIDH e IRRR como se describe más adelante en el presente documento, cuya presencia se está analizando cuantitativa y/o cualitativamente. La expresión "anticuerpo analítico" puede incluir un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monocatenario, un anticuerpo biespecífico o un diacuerpo, un anticuerpo bivalente, un anticuerpo multispecífico, un anticuerpo sintético, un aptámero, un *spiegelmer*, un anticuerpo humano o humanizado, y un fragmento o una variante de los mismos, tales como, por ejemplo, fragmentos Fab, Fv o scFv, o un derivado modificado químicamente de cualquiera de estos, por ejemplo, conjugados de anticuerpo-fármaco, anticuerpos de dominio, nanocuerpos o anticuerpos miméticos (DARPin, proteínas de repetición de anquirina diseñadas). En realizaciones específicas de la presente invención, la expresión "anticuerpos analíticos" significa autoanticuerpos endógenos, anticuerpos terapéuticos y/o anticuerpos de diagnóstico.

La expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina", respectivamente, "familia de receptores de la insulina" (IRF) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido seleccionado del grupo que consiste en el receptor de la insulina (IR), el receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF1R), el receptor del factor de crecimiento 2 de tipo insulina (IGF2R), el receptor híbrido de la insulina-IGF1 (IIHR), el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), cualquier subunidad, variante, análogo, derivado y fragmento de los mismos. Preferentemente, la IRF es de origen animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o humano, más preferentemente, de origen humano.

En una realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa el receptor de la insulina (IR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo. En otra realización de la presente invención, solo dichas primeras moléculas antigénicas se seleccionan entre el receptor de la insulina (IR) o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.

- 5 En una segunda realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa el receptor del factor de crecimiento 1 de tipo insulina (IGF1R), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo. En otra realización de la presente invención, solo dichas primeras moléculas antigénicas se seleccionan entre el receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF1R), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 10 En una tercera realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa el receptor del factor de crecimiento 2 similar a la insulina (IGF2R) o cualquier variante del mismo. En otra realización de la presente invención, solo dichas primeras moléculas antigénicas se seleccionan entre el receptor del factor de crecimiento 2 similar a la insulina (IGF2R) o cualquier variante del mismo.
- 15 En una cuarta realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo. En otra realización de la presente invención, solo dichas primeras moléculas antigénicas se seleccionan entre el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 20 En una quinta realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo. En otra realización de la presente invención, solo dichas primeras moléculas antigénicas se seleccionan entre el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 25 En una sexta realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor de la insulina (IR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF1R), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 30 En una séptima realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor de la insulina (IR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor del factor de crecimiento 2 similar a la insulina (IGF2R) o cualquier variante del mismo.
- 35 En una octava realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor de la insulina (IR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 40 En una novena realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor de la insulina (IR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 45 En una décima realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor del factor de crecimiento 1 de tipo insulina (IGF1R), o cualquier otra subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor del factor de crecimiento 2 similar a la insulina (IGF2R) o cualquier variante del mismo.
- 50 En una undécima realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor del factor de crecimiento 1 de tipo insulina (IGF1R), o cualquier otra subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 55 En una duodécima realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado de entre el receptor del factor de crecimiento 1 de tipo insulina (IGF1R), o cualquiera subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.
- 60 En una decimotercera realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia del receptor de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor

del factor de crecimiento 2 de tipo insulina (IGF2R), o cualquier otra variante del mismo, y el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.

5 En una decimocuarta realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor del factor de crecimiento 2 de tipo insulina (IGF2R) o cualquier otra variante del mismo, y el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.

10 En una decimoquinta realización de los métodos de la invención, la expresión "miembro de la familia de receptores de la insulina" o "familia de receptores de la insulina" (IRF) significa cualquier polipéptido seleccionado entre el receptor híbrido de insulina-IGF1 (IIHR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo, y el receptor relacionado con los receptores de la insulina (IRRR), o cualquier subunidad o cualquier variante del mismo.

15 Los polipéptidos adecuados y sus genes correspondientes, que codifican los miembros de la IRF, son bien conocidos por los expertos en la materia. Los miembros de la IRF están disponibles en el mercado a partir de fuentes recombinantes (por ejemplo, de R&D Systems, Inc., Mineápolis, MN 55413, EE.UU, OriGene Technologies, Inc., Rockville, MD 20850, EE.UU.) y son bien conocidos de las bases de datos de secuencias de proteínas y ácidos nucleicos, tales como, por ejemplo, EMBL, Genbank y otros. Los números de acceso a la base de datos disponibles actualmente para miembros de la IRF se proporcionan para la especie humana en las proteínas receptoras específicas, sin embargo, no se debe entender que la presente invención se limite a las mismas.

25 La expresión "receptor de la insulina" (IR) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido aislado que tenga una secuencia de aminoácidos de origen natural o cualquier variante de la misma. Las secuencias de aminoácidos y las secuencias de genes que codifican el IR son bien conocidas por los expertos, por ejemplo, a partir de entradas en bases de datos de secuencias tales como UniProtKB, por ejemplo, P06213 (longitud de 1.382 aminoácidos de *Homo sapiens*). En otra realización de la presente invención, el IR se modifica para su uso en análisis *in vitro* de manera que no comprenda un dominio de tirosina quinasa intacto funcional o que pueda carecer completamente del dominio de tirosina quinasa intracelular debido a la eliminación, por ejemplo, mediante el uso de tecnologías recombinantes en la modificación de proteínas, que son bien conocidas por un experto en la materia. En otra realización más de la presente invención, IR significa una variante de IR, que presenta una frecuencia patógena o disfuncional en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un sujeto humano. En otra realización más de la presente invención, el IR está embebido en un entorno de membrana.

35 La expresión "receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina" (IGF1R) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido aislado que tenga una secuencia de aminoácidos de origen natural o cualquier variante de la misma. La secuencia de aminoácidos y la secuencia génica que codifica el IGF1R son bien conocidas por los expertos, por ejemplo, a partir de entradas en bases de datos de secuencias tales como UniProtKB, por ejemplo, P08069 (longitud de 1.367 aminoácidos de *Homo sapiens*) o C9J5X1 (longitud de 1.366 aminoácidos de *Homo Sapiens*). En otra realización de la presente invención, el IGF1R se modifica para su uso en análisis *in vitro* de modo que no comprenda un dominio de tirosina quinasa intacto funcional o que pueda carecer completamente del dominio de tirosina quinasa intracelular debido a la eliminación, por ejemplo, mediante el uso de tecnologías recombinantes en la modificación de proteínas, que son bien conocidas por un experto en la materia. En otra realización más de la presente invención, IGF1R significa una variante de IGF1R, que presenta una frecuencia patógena o disfuncional en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un sujeto humano. En otra realización más de la presente invención, el IGF1R está embebido en un entorno de membrana.

50 La expresión "receptor del factor de crecimiento 2 similar a la insulina" (IGF2R) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido aislado que tenga una secuencia de aminoácidos de origen natural o cualquier variante de la misma. La secuencia de aminoácidos y la secuencia génica que codifica el IGF2R son bien conocidas por los expertos, por ejemplo, a partir de entradas en bases de datos de secuencias tales como UniProtKB, por ejemplo, P11717 (longitud de 2491 aminoácidos de *Homo sapiens*). En otra realización de la presente invención, IGF2R significa una variante de IGF2R, que presenta una frecuencia patógena o disfuncional en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un sujeto humano. En otra realización más de la presente invención, el IGF2R está embebido en un entorno de membrana.

55 La expresión "receptor híbrido de insulina-IGF-1" (IIHR) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido aislado que tenga una secuencia de aminoácidos de origen natural o cualquier variante de la misma. La secuencia de aminoácidos y la secuencia génica que codifican el IIHR son bien conocidas por los expertos. En otra realización de la presente invención, el IIHR se modifica para su uso en análisis *in vitro* de modo que no comprenda un dominio de tirosina quinasa intacto funcional o que pueda carecer completamente del dominio de tirosina quinasa intracelular debido a la eliminación, por ejemplo, mediante el uso de tecnologías recombinantes en la modificación de proteínas, que son bien conocidas por un experto en la materia. En otra realización más de la presente invención, el

60

IIHR significa una variante de IIHR, que presenta una frecuencia patógena o disfuncional en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un sujeto humano. En otra realización más de la presente invención, el IIHR está embebido en un entorno de membrana.

5 La expresión "receptor relacionado con los receptores de la insulina" (IRRR) de acuerdo con la presente invención significa cualquier polipéptido aislado que tenga una secuencia de aminoácidos de origen natural o cualquier variante de la misma. La secuencia de aminoácidos y la secuencia génica que codifican el IRRR son bien conocidas por los expertos, por ejemplo, a partir de entradas en bases de datos de secuencias tales como UniProtKB, por ejemplo, P14616 (longitud de 1297 aminoácidos de *Homo sapiens*). En otra realización de la presente invención, la IRRR se
10 modifica para su uso en análisis *in vitro* de modo que no comprenda un dominio de tirosina quinasa intacto funcional o que pueda carecer completamente del dominio de tirosina quinasa intracelular debido a la eliminación, por ejemplo, mediante el uso de tecnologías recombinantes en la modificación de proteínas, que son bien conocidas por un experto en la materia. En otra realización más de la presente invención, IRRR significa una variante de IRRR, que presenta una frecuencia patógena o disfuncional en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un
15 sujeto humano. En otra realización más de la presente invención, el IRRR está embebido en un entorno de membrana.

La expresión "variante" de acuerdo con la presente invención significa cualquier fragmento, análogo, derivado, proteína de fusión, subunidad o cadena de subunidades de una molécula mencionada. Preferentemente, la variante puede tener al menos esencialmente las mismas propiedades biológicas que los respectivos polipéptidos o proteínas
20 mencionados, excepto por la actividad de la tirosina quinasa, las características de inmovilización y/o las características de marcaje. Además, debe entenderse que el término "variante" de acuerdo con la presente invención incluirá una secuencia de aminoácidos que difiera debido a al menos una sustitución, modificación, eliminación y/o adición de aminoácidos, en la que la secuencia de aminoácidos de la variante sigue siendo, preferentemente, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos
25 aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 92 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 97 %, al menos aproximadamente el 98 % o al menos aproximadamente el 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del respectivo polipéptido o proteína mencionados, preferentemente a lo largo de toda la longitud del polipéptido o proteína específicos. Las variantes pueden ser variantes alélicas o cualquier otro homólogo, parálogo u ortólogo específico.

30 Además, las variantes a las que se hace referencia en el presente documento incluyen fragmentos de los respectivos polipéptidos o proteínas mencionados anteriormente en la presente memoria de la IRF, siempre que estos fragmentos tengan esencialmente las mismas propiedades biológicas. Asimismo, las variantes a las que se hace referencia en el presente documento incluyen proteínas de fusión de los respectivos polipéptidos o proteínas mencionados
35 anteriormente de la IRF con polipéptidos, que son adecuados como medios de inmovilización, medios de marcaje o marcadores, siempre que dicha proteína de fusión mantenga esencialmente las mismas propiedades biológicas del respectivo polipéptido o proteína mencionados anteriormente de la IRF. Las variantes pueden incluir además modificaciones de dichos polipéptidos o proteínas mediante glicosilación, o cualquier otra modificación química o enzimática, siempre que estas variantes tengan esencialmente las mismas propiedades biológicas que se
40 mencionaron anteriormente.

Las variantes de acuerdo con la invención pueden incluir las denominadas sustituciones "silenciosas", las adiciones son eliminaciones que no alteran o alteran sustancialmente la actividad biológica. Más particularmente, las variantes de acuerdo con la presente invención pueden haber sido modificadas con respecto a uno o más de los restos de
45 aminoácidos, que están sustituidos con un resto de aminoácido conservado o no conservado, preferentemente, un resto de aminoácido conservado o similares, en las que uno o más de los restos de aminoácido puede incluir un radical sustituido. Dichas variantes se consideran dentro del alcance de las enseñanzas del presente documento. Lo más normalmente, las variantes son aquellas que varían en sustituciones conservativas de aminoácidos. Dichas sustituciones son aquellas que sustituyen un aminoácido dado en un polipéptido con otro aminoácido de características químicas similares. En este sentido, se entiende como sustituciones conservativas los reemplazos, uno por otro, entre los aminoácidos alifáticos pequeños A, V, L e I; entre los restos hidroxilo S y T; entre los restos ácidos D y E; entre los restos amida N y Q; entre los restos básicos K y R; y entre los restos aromáticos F e Y (de acuerdo con el código de una sola letra de los aminoácidos de la nomenclatura IUPAC).

55 En una realización de la presente invención, una "variante" comparte esencialmente las mismas propiedades biológicas. En otra realización de la presente invención, se usa una "variante" de un miembro de la IRF, que muestra una frecuencia patógena o disfuncional, es decir, que muestra una enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina en un animal (por ejemplo, ratón, rata, cobaya, perro, cerdo, primates) o un sujeto humano.

60 De acuerdo con otra realización de la presente invención, uno o más miembros de la IRF se modifican de manera que no comprendan un dominio de tirosina quinasa intacto funcional o que carezcan completamente del dominio de tirosina

quinasa intracelular, por ejemplo, por medio de tecnologías recombinantes en modificación de proteínas, que son bien conocidas por un experto en la materia.

5 La expresión "propiedades biológicas" de acuerdo con la comprensión de la presente invención significa las propiedades de unión de la respectiva molécula mencionada. En el caso de un miembro específico de la IRF, puede ser su capacidad para formar un complejo con insulina, IGF-1 y/o IGF-2 en condiciones adecuadas. Para el fin de la presente invención, se entiende que la propiedad de señalización de cualquier miembro de la IRF con respecto a la actividad de la tirosina quinasa se excluye expresamente. Opcionalmente, la expresión "propiedades biológicas" puede incluir además ciertas propiedades inmunológicas específicas de los polipéptidos, por ejemplo, si son específicamente detectables mediante el mismo método de ELISA. En particular, un miembro de la IRF presenta esencialmente las mismas "propiedades biológicas" que una variante del mismo, si ambos (a) pueden interactuar con los anticuerpos analíticos, (b) son detectables mediante el mismo método de ELISA y/o (c) son detectables mediante el método de detección de acuerdo con la presente invención.

15 En otra realización preferida de la invención, la una o más primeras moléculas antigénicas y la una o más segundas moléculas antigénicas son uno o más polipéptidos seleccionados del grupo que consiste en IR, IGF1R, IGF2R, IHR e IRRR.

20 La expresión "proporcionar antes de la etapa (c) del método de detección de autoanticuerpos", respectivamente, "proporcionar antes de la etapa (d) del método de identificación de moduladores" de acuerdo con la presente invención significará antes de poner en contacto dichas moléculas antigénicas y dichos anticuerpos analíticos en un método de la presente invención.

25 La expresión "detectar la presencia y/o las propiedades de unión" de acuerdo con la presente invención significa determinar la cantidad o concentración, preferentemente de forma cuantitativa. La medición se puede realizar directa o indirectamente. La medición directa se refiere a la medición de la cantidad o concentración de uno o más de los eductos de reacción y/o los productos de reacción basados en una señal que se obtiene de los propios uno o más eductos de reacción y/o productos de reacción, y cuya intensidad se correlaciona directamente con el número de moléculas de uno o más eductos de reacción y/o los productos de reacción en el volumen de reacción. Dicha señal se puede obtener, por ejemplo, midiendo la intensidad o el valor de una propiedad física o química específica de uno o más eductos de reacción y/o productos de reacción. La medición indirecta incluye la medición de una señal obtenida de un componente secundario (es decir, un componente que no es el propio educto de reacción o producto de reacción) o un sistema de lectura biológica, denominado "medio de marcaje" en la presente memoria descriptiva, por ejemplo, de respuestas celulares o transmembrana medibles, ligandos o productos de reacción enzimática, por ejemplo, por medio de fluoróforos, cromóforos, concentraciones de iones, que se realizan adecuadamente por medio de equipos ópticos, eléctricos y/o electrónicos. Para la medición de productos de reacción enzimática, preferentemente, la cantidad de sustrato es de saturación. Opcionalmente, el sustrato también se puede marcarse con un marcador detectable antes de la reacción. Preferentemente, las parejas de reacción se ponen en contacto con el sustrato durante un período de tiempo adecuado, que corresponde al tiempo necesario para que se produzca una cantidad detectable de uno o más productos de reacción, tal como una señal medible. En lugar de medir la cantidad o concentración de uno o más productos de reacción, se puede medir el tiempo necesario para la aparición de una cantidad o concentración dada (por ejemplo, detectable) de uno o más productos de reacción.

45 De acuerdo con la presente invención, "la detección de la presencia y/o las propiedades de unión" puede realizarse mediante todos los medios para determinar la cantidad de un educto de reacción y/o producto reacción conocido por el experto en la materia. Dichos medios comprenden dispositivos y métodos de inmunoensayo que pueden utilizar moléculas marcadas en diversos formatos de ensayo, competitividad u otros. Dichos ensayos desarrollarán una señal que es indicativa de la presencia o ausencia de los eductos de reacción y/o los productos de reacción. Además, la intensidad de la señal puede, preferentemente, correlacionarse directa o indirectamente (por ejemplo, ser inversamente proporcional) con la cantidad de eductos de reacción y/o productos de reacción en el volumen de reacción. Dichos métodos comprenden, preferentemente, biosensores, dispositivos ópticos acoplados a inmunoensayos, biochips, dispositivos analíticos tales como espectrómetros o dispositivos de cromatografía. Además, los métodos incluyen métodos basados en ELISA en los que se usan microplacas, micromatrices o conjuntos de tubos, opcionalmente, previamente tratados o recubiertos, inmunoensayos completamente automatizados o robóticos (disponibles, por ejemplo, sobre sistemas analizadores Roche-Elecsys™, Abbott-AxSYM™ o Brahms Kryptor™). Preferentemente, "detectar la presencia y/o las propiedades de unión" comprende las etapas que permitirán reunir a las parejas de reacción durante un período de tiempo adecuado.

60 El término "unión" de acuerdo con la presente invención incluye la unión tanto covalente como no covalente. La expresión "unión específica" significa una afinidad de unión de al menos 3 veces superior, preferentemente, de al menos aproximadamente 10 veces superior y, más preferentemente, de al menos aproximadamente 50 veces superior a la afinidad de unión a otras moléculas. En otra realización de la presente invención, el término "unión" significará la

unión de las parejas de unión en un ensayo de unión *in vitro* en condiciones adecuadas, preferentemente, en las condiciones de acuerdo con las instrucciones del fabricante del ensayo o de acuerdo con los métodos esencialmente como se define a continuación en el apartado de ejemplos. En general, "unión" significa una afinidad de unión (K_D - que significa el cociente entre la constante de disociación y la constante de asociación) de aproximadamente 10^{-14} M a 10^{-7} M, preferentemente, de aproximadamente 10^{-13} M a 10^{-9} M.

Un "modulador" de acuerdo con la presente divulgación incluye cualquier compuesto biológico o químico, una macromolécula (por ejemplo, superior a aproximadamente 5 kDa), una molécula pequeña (por ejemplo, inferior a aproximadamente 5 kDa o incluso inferior a aproximadamente 800 Da), un compuesto aislado o una mezcla de compuestos, un extracto u homogenados de origen tisular u orgánico, o un compuesto de origen sintético que comprende, por ejemplo, uno o más péptidos, polipéptidos (por ejemplo, anticuerpos policlonales o monoclonales, incluyendo anticuerpos monocatenarios, diacuerpos, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos humanizados, anticuerpos híbridos o fragmentos de los mismos, tales como fragmentos Fv, Fab y F(ab)₂), aptámeros, *spiegelmers*, ácidos nucleicos y/o moléculas pequeñas.

La expresión "molécula antigénica embebida en un entorno de membrana" de acuerdo con la presente invención significa que dicha molécula antigénica, que es en el caso de la IRF una proteína transmembrana, se proporciona en una membrana modelo o similar, que incluye cualquier ambiente sintético, natural o artificial adecuado de, por ejemplo, una estructura celular, de membrana, vesicular, micelar o liposomal, mediante el que dicha molécula antigénica es capaz de interactuar con los anticuerpos analíticos mencionados anteriormente y, por lo tanto, formar un complejo.

Los métodos de ensayo para proteínas embebidas en un entorno de membrana son bien conocidos por los expertos, por ejemplo, a partir de tecnologías y ensayos que usan membranas artificiales o biomiméticas, o bicapas lipídicas (en el presente documento, "membranas modelo"). Las membranas modelo se usan ampliamente para investigar proteínas de membrana, y muchas de ellas son adecuadas para la realización de los métodos de la presente invención, particularmente, si se puede evitar la desnaturalización de dicha molécula antigénica.

La expresión "membrana modelo" de acuerdo con la presente invención abarca, por ejemplo, cualquier liposoma o vesícula, tal como vesículas preparadas artificialmente que comprenden una, dos o más capas lipídicas de geometría esférica. Dichos liposomas y vesículas se usan como vehículos para el transporte de lípidos, proteínas y moléculas pequeñas; por lo tanto, se usan en la administración de productos farmacéuticos. Las vesículas o los liposomas se pueden preparar fácilmente mediante la ruptura de las membranas biológicas de los cultivos celulares, tejidos, órganos o estructuras subcelulares (por ejemplo, núcleo, aparato de Golgi, retículo endoplasmático y mitocondrias), por ejemplo, mediante sonicación y/o extrusión) y el posterior autoensamblaje de las estructuras lipídicas, mediante lo que se puede realizar fácilmente el marcaje con colorantes o polipéptidos marcados adecuados en RET. Otras "membranas modelo" pueden comprender bicapas lipídicas que se han ensamblado sintéticamente *in vitro*. Pueden estar hechos de uno o más lípidos sintéticos y/o naturales.

La expresión "membranas modelo" de acuerdo con la presente invención puede incluir además, por ejemplo, membranas lipídicas negras (BLM), vesículas, bicapas lipídicas, liposomas, micelas, bicelos, bicapas híbridas (por ejemplo, que comprenden una monocapa hidrófoba y una monocapa lipídica) y nanodiscos, que pueden estar anclados, apoyados o atados a una fase sólida o a un sustrato sólido, y que, opcionalmente, pueden estar dotados de un espaciador o cojín (por ejemplo, polietilenglicoles, oligonucleótidos, péptidos, polipéptidos (por ejemplo, estreptavidina), hidrogeles y otros) que pueden permitir mantener una distancia de la membrana y/o la molécula antigénica mencionada anteriormente al sustrato sólido. Preferentemente, el espaciador o cojín es una molécula hidrófila. A diferencia de una vesícula o una membrana celular, la bicapa soportada mencionada anteriormente puede tener una estructura plana asentada sobre un soporte sólido. Por lo tanto, solo la cara superior de la bicapa está expuesta a la solución. Por ejemplo, la preparación de proteoliposomas es bien conocida a partir de la solicitud de patente europea EP 1992688 A1, de la que los métodos de preparación de liposomas desvelados en cualquiera de los Ejemplos 1 a 20 se incorporan a la presente memoria por referencia.

El término "micelas" de acuerdo con la presente invención significa otro tipo de membranas modelo que carecen de una bicapa lipídica. En soluciones acuosas, las micelas son conjuntos de moléculas anfipáticas (por ejemplo, detergentes) con sus cabezas hidrófilas expuestas a disolventes y sus colas hidrófobas en el centro. Las micelas son capaces de solubilizar proteínas de membrana mediante su encapsulación parcial y la protección de sus superficies hidrófobas del disolvente. El término "bicelos" significa otro tipo de membrana modelo más que normalmente están formadas por dos lípidos, uno de los cuales forma una bicapa lipídica, mientras que el otro forma un conjunto anfipático, ensamblaje de tipo micelar, que protege el centro de bicapa de las moléculas de disolvente circundantes. El término "nanodiscos" significa un segmento de una bicapa encapsulada por una cubierta de proteína anfipática, una capa de lípidos o detergente. Las proteínas de membrana se pueden incorporar a y solubilizar mediante nanodiscos.

La expresión "enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina" de acuerdo con la presente invención significa preferentemente cualquier disfunción que esté relacionada con uno o más polipéptidos seleccionados del grupo que consiste en IR, IGF1R, IGF2R, IHR y IRRR, más preferentemente de uno, dos o tres polipéptidos seleccionados de dicha IRF. La expresión "enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina" de acuerdo con la presente invención abarca trastornos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, diabetes mellitus dependiente de la insulina (IDDM), enfermedad de Graves-Basedow, orbitopatía de Graves), y también trastornos y disfunciones tales como obesidad, trastornos neurológicos, trastornos del crecimiento, generación y desarrollo del cáncer (incluyendo cáncer de mama, colon, ovario, próstata, pulmón) y otros trastornos y disfunciones celulares proliferativos, ya sean de origen autoinmunitario o no, preferentemente, de origen autoinmunitario.

La expresión "medios de inmovilización" de acuerdo con la presente invención significa cualquier reactivo y/o proceso, que sea adecuado para inmovilizar dichas primeras moléculas antigénicas en un soporte sólido de acuerdo con el conocimiento del experto en la materia. Con respecto al tipo de soporte sólido y las condiciones empleadas de acuerdo con la presente invención, el soporte sólido y las condiciones, en general, no difieren fundamentalmente de los soportes sólidos y de las condiciones usados convencionalmente en técnicas de inmunoensayo conocidas. Un soporte sólido para su uso de acuerdo con la presente invención puede comprender una placa de ELISA como se emplea actualmente en técnicas de ELISA conocidas, o puede emplear cualquier otro soporte adecuado para su uso en la presente invención, tales como placas de microtitulación (que tienen 96, 384, 1.536 o 3.456 pocillos o más) o partes de las mismas, tubos, partículas, perlas magnéticas, nitrocelulosa o similares. Los materiales adecuados como soporte sólido que pueden usarse de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, materiales de columna disponibles en el mercado, perlas de poliestireno y otros vehículos, perlas de látex, perlas magnéticas, metal coloidal, superficies de vidrio y chips para su uso en tecnologías de microchips de proteínas, superficies silaniladas y chips para su uso en tecnologías de microchips de proteínas, superficies de silicona y chips para su uso en tecnologías de microchips de proteínas, vehículos de nitrocelulosa, vehículos de celulosa, membranas, membranas modelo, liposomas o células estabilizados (por ejemplo, duracitos), pocillos y paredes de las bandejas de reacción o placas de microtitulación, tubos de plástico, etc.

Las moléculas antigénicas como se definen anteriormente en el presente documento pueden inmovilizarse en cualquier vehículo que sea conocido por el experto en la materia. Los ejemplos de dichos vehículos incluyen vidrio, poliestireno, cloruro de polivinilo, polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nailon, amilosa, celulosa natural y modificada, poliácridamida, agarosa, magnetita y oro. El vehículo puede ser soluble o insoluble, en el caso de un vehículo insoluble; el vehículo es un sólido o coloide y, opcionalmente, puede proporcionarse en forma de suspensión.

Los métodos adecuados para inmovilizar dichas moléculas antigénicas son bien conocidos e incluyen, pero sin limitación, interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes y similares. También puede ser adecuado usar medios de inmovilización sólidos en suspensión de acuerdo con la presente invención, en los que el vehículo se proporciona en suspensión, por ejemplo, una microperla o microesfera que consista en microperlas o microesferas diferentes, opcionalmente marcadas, portando cada una moléculas diferentes. Los métodos para producir dichas suspensiones, por ejemplo, basados en la química en fase sólida y los grupos de protección fotolábiles, se conocen, por ejemplo, a partir del documento US 5.744.305.

El término "marcaje" de acuerdo con la presente invención significa el marcaje mediante métodos directos o indirectos. El marcaje directo implica el acoplamiento del marcador directamente (covalente o no covalentemente) a la molécula que se va a marcar. El marcaje indirecto implica la unión (covalente o no covalentemente) de un segundo ligando a la molécula que se va a marcar. Dicho segundo ligando debe unirse específicamente a la molécula que se va a marcar con una afinidad al menos 3 veces superior, preferentemente al menos 10 veces, y más preferentemente al menos 50 veces superior en condiciones de ensayo. Dicho segundo ligando puede estar acoplado con un medio marcador adecuado y/o puede unirse a un tercer ligando que se una al segundo ligando. El uso de ligandos de segundo orden, tercer orden o incluso de un orden superior se suele realizar para aumentar la señal. Los ligandos de segundo orden y de un orden superior adecuados pueden incluir anticuerpos, anticuerpos secundarios y el conocido sistema de estreptavidina-biotina (Vector Laboratories, Inc.). Asimismo, la molécula que se va a marcar o el sustrato también se puede "marcar" con uno o más marcadores conocidos en la técnica. Dichos marcadores pueden ser dianas para ligandos de orden superior. Los marcadores adecuados incluyen biotina, digoxigenina, marcador de His, Glutación-S-Transferasa, marcador de FLAG (N-DYKDDDDK-C), proteína de fluorescencia verde (GFP), marcador de myc, hemaglutinina (HA) del virus de la gripe A, proteína de unión a la maltosa y otros. En el caso de un péptido o polipéptido, el marcador generalmente se ubica en o cerca del extremo N y/o del extremo C.

Asimismo, la molécula que se va a marcar o el sustrato también se puede proporcionar con un "espaciador" adecuado conocido en la técnica para evitar, en el caso de moléculas voluminosas, cualquier limitación con respecto a las propiedades de unión debidas a constricciones espaciales.

5 La expresión "primer medio de marcaje" de acuerdo con la invención significará preferentemente cualquier medio de marcaje detectable directo o indirecto seleccionado del grupo de marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos o radiactivos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores bioluminiscentes, marcadores fluorescentes, marcadores magnéticos (por ejemplo, "perlas magnéticas", incluyendo los marcadores paramagnéticos y superparamagnéticos, marcadores de colorantes (cromóforos) y otros conocidos en la técnica. Los marcadores adecuados son detectables mediante un método de detección apropiado conocido en la técnica. Los marcadores adecuados pueden incluir además partículas de oro, perlas de látex, éster de acridán, luminol y rutenio. Preferentemente, son adecuados los marcadores no radiactivos.

10 Los marcadores enzimáticamente activos incluyen, por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa, luciferasa y derivados de las mismas. Los sustratos adecuados para la detección incluyen di-amino-bencidina (DAB), 3, 3'-5, 5'-tetrametilbencidina, NBT-BCIP (cloruro de tetrazolio 4-nitro-azul y fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indol, CDP-Star™ (Amersham Biosciences), ECL™ (Amersham Biosciences) y otros conocidos en la técnica.

15 Una combinación adecuada de enzima-sustrato puede dar lugar a un aumento o una disminución de un producto de reacción coloreado (cromóforo), fluorescencia, o quimioluminiscencia o bioluminiscencia, que se puede medir de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, usando un fotómetro, un foto-multiplicador y un sistema de película o cámara sensible a la luz). Los mismos principios se aplican para medir el criterio de valoración, el rendimiento o el desarrollo de una reacción enzimática.

20 Los marcadores de fluorescencia adecuados incluyen colorantes y proteínas fluorescentes (tales como GFP y sus derivados), Cy3, Cy5, Rojo Texas, fluoresceína y los colorantes Alexa (por ejemplo, Alexa 568). Otros marcadores fluorescentes adecuados se encuentran disponibles en el mercado, por ejemplo, de Molecular Probes (Oregón, EE.UU.). También se engloba el uso de puntos cuánticos como marcadores fluorescentes. Los ejemplos de proteínas fluorescentes incluyen, pero sin limitación, proteínas fluorescentes verdes, amarillas, cian, azules y rojas.

25 Los marcadores de quimioluminiscencia o bioluminiscencia adecuados incluyen, pero sin limitación, luciferasas procariotas (por ejemplo, codificadas por lux bacteriana) o eucariotas (por ejemplo, codificadas por luc de luciérnaga), así como variantes que poseen propiedades ópticas variadas o alteradas, tales como luciferasas que producen diferentes colores de luz, por ejemplo, derivadas de *Photinus pyralis*, de la esponja *Suberites domuncula* y los hongos *Mycena*. Asimismo, las fotoproteínas, por ejemplo, pueden ser adecuadas las fotoproteínas activadas por calcio y sus variantes diseñadas específicamente, que son capaces de producir luz normalmente en el intervalo de 200 nm a 1.100 nm, o en el espectro visible (es decir, entre aproximadamente 350 nm y 800 nm), por ejemplo, obelina del pólipo marino *Obelia longissima*, o Aequorina, por ejemplo, de la medusa luminiscente *Aequorea victoria* o de otros organismos puede ser adecuada, opcionalmente, en una membrana.

30 Los marcadores radiactivos adecuados incluyen ³⁵S, ¹²⁵I, ³²P, ³³P y similares. Se puede detectar un marcador radiactivo mediante cualquier método conocido y apropiado, por ejemplo, una película sensible a la luz o un generador de imágenes de fósforo.

35 Los métodos de detección adecuados de acuerdo con la presente invención también incluyen precipitación (particularmente, inmunoprecipitación), electroquimioluminiscencia (quimioluminiscencia generada eléctricamente), bioluminiscencia, RIA (radioinmunoensayo), ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción), enzimoinmunoanálisis de tipo sándwich, inmunoensayos de tipo sándwich (ECLIA), inmunoensayo fluorescente de lantánido potenciado por disociación (DELFIA™, PerkinElmer Inc., EE.UU.), ensayo de proximidad de centelleo (SPA), turbidimetría, nefelometría, turbidimetría o nefelometría potenciado por látex, ensayo de aglutinación en látex o ensayo inmune de fase sólida.

40 Métodos adicionales conocidos en la técnica (tales como electroforesis en gel, electroforesis en gel 2D, electroforesis en gel de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE), transferencia Western y espectrometría de masas), pueden usarse opcionalmente en combinación con el marcaje u otros métodos de detección como se ha descrito anteriormente.

45 La una o más moléculas antigénicas de acuerdo con la invención pueden proporcionarse directa o indirectamente con los medios de marcaje, sustancialmente como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

50 Secuencias:

60 Cebador P1 de SEQ ID NO: 1 (33-mero)
 Cebador P2 de SEQ ID NO: 2 (34-mero)
 Cebador P3 de SEQ ID NO: 3 (35-mero)
 Cebador P4 de SEQ ID NO: 4 (33-mero)

ADN de SEQ ID NO: 5 que codifica los aminoácidos 2-551 de la luciferasa de luciérnaga
 Secuencia de aminoácidos 2-551 de SEQ ID NO: 6 de la luciferasa de luciérnaga
 ADN de SEQ ID NO: 7 que codifica los aminoácidos 1-1367 del IGF1R humano
 Secuencia de aminoácidos 1-1367 de SEQ ID NO: 8 del IGF1R humano
 5 ADN de SEQ ID NO: 9 que codifica los aminoácidos 1-1919 de la fusión de IGF1R humano-luc
 Secuencia de aminoácidos 1-1919 de SEQ ID NO: 10 de la fusión de IGF1R humano-luc
 ADN de SEQ ID NO: 11 que codifica los aminoácidos 1-1370 del receptor de insulina humano
 Secuencia de aminoácidos 1-1370 de SEQ ID NO: 12 del receptor de insulina humano (IR)
 10 ADN de SEQ ID NO: 13 que codifica los aminoácidos 1-1922 de la fusión de IR humano-luc
 Secuencia de aminoácidos 1-1922 de SEQ ID NO: 14 de la fusión del receptor de la insulina humano-luc
 ADN de SEQ ID NO: 15 que codifica los aminoácidos 1-927 del dominio extracelular de IGF1R humano
 (ECDhIGF1R) Secuencia de aminoácidos 1-927 de SEQ ID NO: 16 del dominio extracelular de IGF1R humano
 (ECDhIGF1R)
 15 Cebador P5 de SEQ ID NO: 17 (33-mero)
 Cebador P6 de SEQ ID NO: 18 (33-mero)
 Cebador P7 de SEQ ID NO: 19 (36-mero)
 Cebador P8 de SEQ ID NO: 20 (83-mero)

20 A continuación, se ilustrará la presente invención mediante los siguientes ejemplos, que se entenderá que no limitan el alcance de la presente invención de ninguna manera.

Procedimientos experimentales:

Materiales:

25 Los cebadores de ADN (P1-P8) se obtuvieron de BioTeZ Berlin Buch GmbH (Berlín, Alemania); el vector pSP-luc+NF se obtuvo de Promega GmbH (Mannheim, Alemania); el vector pIRESneo se obtuvo de Clontech (Palo Alto, CA, Estados Unidos); el vector pCR-XL-TOPO-IR se obtuvo de ImaGenes GmbH (Berlín, Alemania); el vector pFastBac1 se obtuvo de Invitrogen; la IgG de cabra anti-humana (SIGMA) se marcó con NHS-éster de acridinio (Cayman
 30 Chemical Company, Ann Arbor, MI, EE.UU.); el IGF1 se obtuvo de Acris Antibodies (Herford, Alemania); la insulina se obtuvo de Sigma-Aldrich; el anticuerpo anti-IGFIR (Tyr1 165/Tyr1 166) se obtuvo de Novus Biologicals (Edinburgo, RU); el kit de ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo se obtuvo de Promega GmbH; las células de insecto High Five se adquirieron de Invitrogen; los tubos de poliestireno recubiertos con anticuerpo PGA14 (Selenotest LIA) se obtuvieron de ICI immunochemical intelligence GmbH (Berlín, Alemania). Si no se indica lo contrario, todos los
 35 demás reactivos y productos químicos se obtuvieron de Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Munich, Alemania) o Merck KGaA (Darmstadt, Alemania); las enzimas se obtuvieron de Promega o New England Biolabs (Ipswich, MA, Estados Unidos).

40 Ejemplo 1: Construcción de proteínas de fusión

Ejemplo 1A: Construcción de una proteína de fusión de IGF1R-luciferasa

45 Se amplificó el ADN (SEQ ID NO: 5) que codifica los aminoácidos 2-551 de la luciferasa de luciérnaga (SEQ ID NO: 6 en pSP-luc+NF) mediante PCR usando los cebadores P1 (SEQ ID NO: 1) y P2 (SEQ ID NO 2) que contiene los sitios de restricción de EcoRI y BamHI, respectivamente. Se digirió pIRESneo con las endonucleasas de restricción EcoRI y BamHI; el fragmento obtenido se reemplazó con el ADN que codifica la luciferasa de luciérnaga obtenido de la PCR mencionada anteriormente, dando lugar al plásmido pIRESneo-Luc.

50 Se amplificó el ADN (SEQ ID NO: 7) que codifica los aminoácidos 1-1367 del IGF1R humano (SEQ ID NO: 8) mediante PCR usando los cebadores P3 (SEQ ID NO: 3) y P4 (SEQ ID NO 4) que contienen los sitios de restricción de NotI y EcoRI, respectivamente. Se digirió pIRESneo-Luc con las endonucleasas de restricción NotI y BamHI, y el fragmento obtenido se reemplazó con la secuencia de ADN que codifica el IGF1R humano obtenido de la PCR mencionada anteriormente, dando lugar al vector pIRESneo-IGF1R-Luc que contenía SEQ ID NO: 9 codificante de SEQ ID NO:
 55 10.

Ejemplo 1B: Construcción de una proteína de fusión IR-luciferasa

60 Se amplificó el ADN (SEQ ID NO: 11 de pCR-XL-TOPO-IR) que codifica los aminoácidos 1-1370 del IR humano (SEQ ID NO: 12) mediante PCR usando los cebadores P5 (SEQ ID NO: 17) y P6 (SEQ ID NO: 18) que contienen los sitios de restricción de HpaI y MfeI, respectivamente. Se digirió pIRESneo-Luc con las endonucleasas de restricción EcoRV y EcoRI, y el fragmento obtenido se reemplazó con la secuencia de ADN que codifica el IR humano obtenido de la

PCR mencionada anteriormente, dando lugar al vector pIRESneo-IR-Luc que contenía SEQ ID NO: 13 codificante de SEQ ID NO: 14.

Ejemplo 1C: Construcción de una proteína de fusión del dominio extracelular de IGF1R (ECDhIGFIR) y el epítipo de 16 aminoácidos reconocido por los anticuerpos PGA14. Se amplificó el ADN (SEQ ID NO: 15) codificante de 927 aminoácidos del dominio extracelular del receptor de IGF1 humano (SEQ ID NO: 16) mediante PCR usando los cebadores P7 (SEQ ID NO: 19) y P8 (SEQ ID NO: 20) que contienen los sitios de restricción de BamHI y HindIII, respectivamente (P8 que contiene la secuencia de codificación para el epítipo de 16 aminoácidos reconocido por los anticuerpos PGA14). El vector pFastBac1 se digirió con las endonucleasas de restricción de BamHI y HindIII, y el fragmento obtenido se reemplazó con la secuencia de ADN que codifica el ECD de hIGFIR obtenido de la PCR mencionada anteriormente, dando lugar al vector pFastBac1-IGF1R-PGA14tag.

Ejemplo 2: Generación de células productoras de las proteínas de fusión IGF1R-Luc e IR-Luc

Ejemplo 2A: Generación de células HEK 293 productoras de IGF1R-Luc e IR-Luc

Se cultivaron células HEK 293 en DMEM complementado con suero bovino fetal al 10 %. Las células se cultivaron en una atmósfera de CO₂ al 5 % a 37 °C. Las células HEK 293 se transfectaron con el vector pIRESneo-IGF1R-Luc o el vector pIRESneo-IR-Luc usando el reactivo de transfección FuGENE6 (obtenido de Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. 48 horas después de la transfección, se inició la selección con G418 a 0,8 mg/ml (Gibco™ BRL, Invitrogen). Se seleccionaron clones estables que expresaban altos niveles de proteína de fusión.

Ejemplo 2B: Generación de baculovirus recombinante que expresa la proteína de fusión ECDhIGF1R-PGA14tag

Se transfirió la secuencia ECDhIGF1R-PGA14tag obtenida del ejemplo 1C al ADN de bácmido mediante recombinación específica de sitio en bacterias. Después, se usó el bácmido para generar un baculovirus completamente recombinante en células de insecto Sf9 de acuerdo con los protocolos suministrados por el fabricante (manual de sistema de expresión de Bac a Bac, Invitrogen).

Ejemplo 2C: Producción de proteína de fusión IGF1R-PGA14tag

Se cultivaron células de insecto High Five en suspensión en medio sin suero Express Five a una densidad de 2×10^6 células/ml. Las células fueron luego infectadas con baculovirus de IGF1R-PGA14tag recombinante a una multiplicidad de infección (Mdi) de 1,72 horas después de la infección, se recogió el medio celular y se almacenó a -80 °C.

Ejemplo 3: Control de los productos de expresión

Ejemplo 3A: Interacción de células IGF1R-Luc con IGF1

Se lavaron células HEK 293 confluentes cultivadas en una placa de 96 pocillos con medio de DMEM/F12 y se incubaron con IGF1 marcado con acridinio (aproximadamente $1,0 \times 10^6$ ULR/pocillo) diluido en 100 µl de DMEM/F12, BSA al 0,1 % durante 3 h a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. En experimentos adicionales, se añadió IGF1 sin marcar (0,3 mg/ml) junto con IGF1 marcado con acridinio para determinar la unión inespecífica. Tras la incubación, se lavaron las células con DMEM, se volvieron a suspender en PBS que contenía Triton X-100 al 2 % y los lisados obtenidos se midieron en un luminómetro Berthold Technologie AutoLumat Plus LB 953 durante 10 s. Cada valor representa el valor medio (ULR) +/- desviación típica (DT) de las mediciones por duplicado (unidades de luz relativas (ULR) x 1000).

Tabla 1	HEK 293 de tipo silvestre	HEK 293 IGF1R-Luc
IGF1 marcado	27 +/- 4	55 +/- 7
IGF1 marcado + IGF1 en exceso	11 +/- 1	12 +/- 1

Este resultado indica que las proteínas de fusión IGF1R-luc son procesadas correctamente y expresadas en la membrana celular.

Ejemplo 3B: Interacción de células IR-Luc con insulina

Se lavaron células HEK 293 confluentes cultivadas en una placa de 96 pocillos con medio de DMEM/F12 y se incubaron con insulina marcada con acridinio aproximadamente $1,0 \times 10^6$ ULR/pocillo) diluida en 100 µl de DMEM/F12, BSA al 0,1 % durante 3 h a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. En experimentos adicionales, se añadió insulina

sin marcar (0,3 mg/ml) junto con insulina marcada con acridinio para determinar la unión inespecífica. Tras la incubación, las células se lavaron con DMEM, se volvieron a suspender en PBS que contenía Triton X-100 al 2 % y los lisados obtenidos se midieron en un luminómetro Berthold Technologie AutoLumat Plus LB 953 durante 10 s. Cada valor representa el valor medio (ULR) +/- desviación típica (DT) de las mediciones por duplicado (ULR x 1000).

5

Tabla 2	HEK 293 de tipo silvestre	HEK 293 IR-Luc
Insulina marcada	32 +/- 2	78 +/- 6
Insulina marcada + insulina en exceso	13 +/- 2	17 +/- 3

Este resultado indica que las proteínas de fusión IR-luc son procesadas correctamente y expresadas en la membrana celular.

10 Ejemplo 4: Preparación de IGF1R-Luc y extracto de células IR-Luc

Se volvieron a suspender células HEK 293 confluentes (productoras bien de IGF1R-Luc o de IR-Luc) cultivadas en una placa de 75 cm² raspando en PBS y se lavaron en el mismo tampón mediante centrifugación a 2.500 rpm. Las células resultantes se lisaron en 0,5 ml de tampón que contenía HEPES-NaOH 20 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, Triton X-100 al 1 %, glicerol al 10 %. La suspensión se centrifugó a 5.000 rpm durante 15 min y el sobrenadante se recogió y se almacenó a -80 °C.

15

Ejemplo 5: Ensayo de inmunoprecipitación para autoanticuerpos IGF1R

Se diluyó el extracto de células IGF1R-Luc 10 veces con un tampón que contenía HEPES-NaOH 20 mM a pH 7,5, NaCl 50 mM, Triton X-100 al 1 %, glicerol al 10 %, BSA a 5 mg/ml. Para la inmunoprecipitación, se mezclaron 100 µl de extracto diluido (aproximadamente 1,0 x 10⁷ ULR) con 10 µl de una muestra (sonda de suero) y se incubaron durante la noche a 4 °C. Se precipitaron los complejos inmunitarios mediante la adición de 100 µl de suspensión de proteína A-sefarosa al 10 % en el mismo tampón durante 1 h a temperatura ambiente con agitación. La proteína A-sefarosa se sedimentó y se lavó 3 veces con 1 ml de tampón de lavado (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5, NaCl 60 mM, Tween 20 al 0,02 %). Por último, se midió la actividad de la luciferasa en un luminómetro Berthold (AutoLumat Plus LB 953) durante 10 s. Los resultados se expresaron como las ULR unidas. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado. Se comparó la capacidad de los sueros en bruto y los preparados de IgG aislados de la misma IgG sérica para inmunoprecipitar el receptor de IGF1.

20

25

30

Tabla 3	Suero [ULR]	ULR-suero [% de máx.]	IgG [ULR]	ULR-IgG [% de máx.]
1	417	0	238	0
2	619	0	181	0
3	781	1	392	1
4	669	0	414	1
5	348	0	293	0
6	121585	83	70472	92
7	145972	100	76178	100

(continuación)

Tabla 3	Suero [ULR]	ULR-suero [% de máx.]	IgG [ULR]	ULR-IgG [% de máx.]
8	130683	90	62441	82
9	55840	38	23002	30
10	131560	90	49699	65

Tabla 4: Dilución, recuperación y estabilidad del ensayo de autoanticuerpos IGF1R.

5 (A) Se diluyeron cinco sueros diferentes que contenían autoanticuerpos con tampón de incubación y se midieron en el ensayo como se describe en el Ejemplo 5. (B) Se analizaron cinco sueros con autoanticuerpos IGF1R, cinco sueros sin autoanticuerpos IGF1R y sus mezclas (1:1) en el ensayo como se describe en el Ejemplo 5. (C) La mezcla de cinco sueros se incubó a temperatura ambiente (TA) y a 4 °C durante períodos de tiempo dados y se analizó en el ensayo de autoanticuerpos IGF1R como se describe en el Ejemplo 5.

10 Tabla 4A: Experimentos de dilución para el ensayo de autoanticuerpos IGF1R.

Se diluyeron cinco sueros diferentes que contenían autoanticuerpos con tampón de incubación y se midieron en el ensayo como se describe en el Ejemplo 5. Se midió la actividad de luciferasa unida como se ha descrito anteriormente. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado (ULR x 1000).

15

Tabla 4A Suero (%)	Suero 1	Suero 2	Suero 3	Suero 4	Suero 5
100	76,3	93,7	71,8	41,3	86,6
50	50,2	54,6	39,6	21,5	51,8
25	27,1	30,1	24,2	13,9	27,6
10	11,6	13,9	11,4	6,6	12,2

Tabla 4B: Experimentos de recuperación para el ensayo de autoanticuerpos IGF1R.

20 Se analizaron cinco sueros sin autoanticuerpos IGF1R (A), cinco sueros con autoanticuerpos IGF1R (B) y sus mezclas (1:1) en el ensayo como se describe en el Ejemplo 5. Se midió la actividad de luciferasa unida como se ha descrito anteriormente. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado (ULR x 1000).

Tabla 4B	1	2	3	4	5
Suero A	4,9	5,6	3,3	3,2	3,4
Suero B	63,3	76,1	60,3	25,4	63,2
Mezcla A+B	35,0	42,1	33,4	15,0	37,4

Tabla 4C: Experimentos de estabilidad para el ensayo de autoanticuerpos IGF1R.

25 Se incubó el suero con autoanticuerpos IGF1R durante un tiempo diferente a 4 °C y a temperatura ambiente (TA). Las muestras de suero se analizaron en el ensayo como se describe en el Ejemplo 5. Se midió la actividad de luciferasa unida como se ha descrito anteriormente. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado (ULR x 1000).

30

Tabla 4C	0 días	5 días	10 días
4 °C	53,0	52,5	49,4
TA	53,0	52,2	53,8

Ejemplo 6: Aislamiento de IgG humana

35 Se mezcló 1 ml de suero humano con 1 ml de PBS y 0,2 ml de proteína G-sefarosa, y se incubaron durante la noche a 4 °C por agitación. La proteína G-sefarosa se sedimentó y se lavó diez veces con PBS. La IgG unida se eluyó con ácido cítrico 25 mM, se ajustó el pH a 7 usando Hepes-NaOH 1 M, pH 8. Se concentró la IgG eluída hasta 100 µl usando Speedvac a temperatura ambiente. La IgG se transfirió a un medio DMEM/F12 usando una filtración rápida en columna sephadex G25.

40 Ejemplo 7: Efecto de los autoanticuerpos contra la autofosforilación de IGF1R

Se sembraron células HepG2 en placas de 96 pocillos (10.000 células/pocillo), se incubaron 24 h en medio completo DMEM/F12 seguido de una incubación durante una noche en medio libre de suero DMEM/F12 que contenía BSA al 0,1 %. Tras la privación de suero, las células se incubaron con IgG humana (10-20 mg/ml) en medio DMEM/F12 durante 15 min hasta 1 h. Tras ello, en algunos casos, se añadió IGF1 (1 ng/ml) y las células se incubaron durante 15 minutos más. Las células se lavaron con PBS que contenía inhibidores de fosfatasa y se lisaron en tampón de HEPES-NaOH 20 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, Triton X100 al 2 %, glicerol al 10 %, inhibidores de fosfatasa. Los lisados celulares se sometieron a electroforesis en SDS PAGE al 10 % y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa. Se detectó el IGF1R fosforilado por tirosina en la transferencia usando un anticuerpo anti-IGFIR (Tyr1 165/Tyr1166). Las bandas se visualizaron usando un kit de detección de transferencia Western de quimioluminiscencia potenciada (Amersham ECL Plus, GE Healthcare, General Electric Deutschland Holding GmbH, Frankfurt, Alemania).

Ejemplo 8: Efecto de los autoanticuerpos sobre el crecimiento celular

Se sembraron células MCF7 a 2.500 células por pocillo (placas de 96 pocillos) y se incubaron durante una noche en medio DMEM/F12 completo. Las células se privaron de alimento en medio DMEM/F12 libre de suero que contenía BSA al 0,1 % durante 5 h, seguido de la adición de IgG (aproximadamente 10 mg/ml) de cinco sueros con bajas (1-5) y cinco sueros con altas (6-10) concentraciones de autoanticuerpos contra IGF1R (aislado de pacientes humanos), FCS al 1 % y IGF1 a 1 ng/ml. Las células se incubaron durante 5 días. Se usó el kit de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo para evaluar el número de células viables en cultivo de acuerdo con la cuantificación del ATP presente, de acuerdo con el manual del fabricante. El efecto inhibitor de los autoanticuerpos se expresó como el índice de inhibición calculado como el % de IIn = 100 x [(1 - (IgG de ensayo en ULR))/(combinación de IgG negativa en ULR)]. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado.

Tabla 5	Suero	Índice de inhibición (%)
	1	-7
	2	1
	3	-3
	4	-3
	5	-2
	6	20
	7	18
	8	22
	9	16
	10	21

Ejemplo 9: Ensayos Bridge

Ejemplo 9A: Ensayo Bridge para la detección de autoanticuerpos que interactúan con el receptor de IGF1 y el receptor de la insulina.

Se incubaron tubos de poliestireno recubiertos con anticuerpo PGA14 durante la noche a 4 °C con 200 µl de medio de células de insecto SF6 que contenía IGF1R-PGA14tag. Después, se lavaron los tubos de inmovilización de IGF1R-PGA14tag dos veces con 1 ml de tampón de Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, glicerol al 10 %. Luego, cada tubo se incubó durante la noche a 4 °C con una mezcla de 100 µl del mismo tampón que contiene BSA a 10 mg/ml y 100 µl de un muestra (sonda sérica). Los tubos se lavaron dos veces con 1 ml del mismo tampón y se incubaron durante una noche a 4 °C con 200 µl de IGF1R-Luc (o IR-Luc respectivamente) diluidos en el mismo tampón con BSA (aproximadamente 40 x 10⁶ ULR de actividad luciferasa). Tras la incubación, los tubos se lavaron cuatro veces con 1 ml de Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 100 mM, Triton X100 al 0,1 %. Por último, se midió la actividad de la luciferasa en un luminómetro Berthold (AutoLumat Plus LB 953) durante 10 s. Los resultados se expresaron como las ULR (unidades de luz relativas) unidas. Cada valor representa el valor medio de las mediciones por duplicado.

Tabla 6 Ensayo de Bridge	IGF1R-Luc [ULR]	IGF1R-Luc [% de máx.]	IR-Luc [ULR]	IR-Luc [% de máx.]
sin suero	2135	5	947	5
suero de control	5348	13	2616	15
suero 406	42240	100	4814	27
suero 522	39341	93	17961	100
suero 531	36646	87	12839	71

Ejemplo 9B: Límites de detección del suero del paciente

Se diluyó un suero positivo en IGF1R-Ab con Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, glicerol al 10 %, BSA a 10 mg/ml. El ensayo se realizó como se describe en el Ejemplo 9A. El suero negativo se define para dar una señal como control de tampón.

5

Tabla 7	Dilución de suero (v/v)	IGF1R-Luc [ULR]
	Sin diluir	64651
	1 / 4	38829
	1 / 16	20269
	1 / 64	8135
	1 / 256	5383
	fondo (suero negativo)	5369

Ejemplo 9C: Límites de detección de anticuerpos anti-IGFIR disponibles en el mercado

10 Se diluyó el anticuerpo monoclonal para el dominio extracelular de IGF1R (clon anti-IGFIR n.º 24-75, Millipore, EE. UU.) con Tris-HCl 20 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, glicerol al 10 %, BSA a 10 mg/ml. El ensayo se realizó como se describe en el Ejemplo 9A.

Tabla 8 Concentración de anticuerpo (ng/ml)	IGF1R-Luc [ULR]
50000	805261
12500	767157
3125	626879
781	475770
195	234773
49	88894
12	27013
3	11831
0,8	8856
0,2	5904
0,05	5369
fondo	5418

15 Este resultado indica que el límite de detección del ensayo de acuerdo con la invención es de aproximadamente 0,2 ng/ml de concentración de anticuerpo.

Ejemplo 10: Relevancia clínica del nivel de autoanticuerpos contra la proteína miembro de la IRF en seres humanos.

20 Se analizó el examen de muestras de suero de 1.001 sujetos (seres humanos adultos sanos) para determinar la presencia de niveles de autoanticuerpos del receptor de la insulina. Se determinó una frecuencia del 10 % de individuos positivos (n = 103) en comparación con individuos positivos y negativos en autoanticuerpos que revelaron una diferencia significativa en las concentraciones basales de glucosa ($p = 0,03$).

25 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Charite - Universitaetsmedizin Berlin ICI immunochemical intelligence GmbH

<120> IDENTIFICACIÓN DE MODULADORES DE PROPIEDADES DE UNIÓN DE ANTICUERPOS REACTIVOS CON UN MIEMBRO DE LA FAMILIA DE RECEPTORES DE LA INSULINA

30

<130> DG011022-P

<150> EP12156930.5

35

<151> 24/02/2012

<160> 20

<170> BiSSAP 1.2

ES 2 734 124 T3

5
<210> 1
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<221> fuente
<222> 1..33
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P1" /tipo_mol="ADN sin asignar"

15
<400> 1
gcggaattcg tcaccgacgc caaaaacata aag 33

20
<210>2
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

25
<220>
<221> fuente
<222> 1..34
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="Cebador P2" /tipo_mol="ADN sin asignar"

30
<400> 2
acgggattct tacacggcga tcttccgcc cttc 34

35
<210>3
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

40
<220>
<221> fuente
<222> 1..35
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="Cebador P3" /tipo_mol="ADN sin asignar"

45
<400> 3
acggcggccg catgaagtct ggctccggag gaggg 35

50
<210>4
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

55
<220>
<221> fuente
<222> 1..33
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P4" /tipo_mol="ADN sin asignar"

60
<400> 4
acggaattcg caggtcgaag actggggcag cgg 33

65
<210>5
<211> 1653
<212> ADN
<213> *Photinus pyralis*

70
<220>
<221> fuente
<222> 1..1653
<223> /organismo="*Photinus pyralis*" /nota="cds" /tipo_mol="ADN sin asignar"

ES 2 734 124 T3

<400> 5

gtcaccgacg ccaaaaacat aaagaaaggc cgggcgccat tctatccgct ggaagatgga	60
accgctggag agcaactgca taaggctatg aagagatagc ccctggttcc tggacaatt	120
gcttttacag atgcacatat cgaggtggac atcacttacg ctgagtactt cgaaatgtcc	180
gttcggttgg cagaagctat gaaacgatat gggctgaata caaatcacag aatcgtcgta	240
tgcaagtaaa actctcttca attctttatg ccgggtgttg gcgcggttatt tatcggagtt	300
gcagttgagc ccgcgaacga catttataat gaacgtgaat tgctcaacag tatgggcatt	360
tcgcagccta ccgtgggtgtt cgtttccaaa aaggggttgc aaaaaatttt gaacgtgcaa	420
aaaaagctcc caatcatcca aaaaattatt atcatggatt ctaaacgga ttaccagga	480
tttcagtcga tgtacacggt cgtcacatct catctacctc ccggttttaa tgaatacgat	540
tttgtgccag agtccttcga tagggacaag acaattgcac tgatcatgaa ctccctctgga	600
tctactggtc tgctaaagg tgcgctctg cctcatagaa ctgcctgctg gagattctcg	660
catgccagag atcctatfff tggcaatcaa atcattccgg atactgcat ttaagtgtt	720
gttcattcc atcacggttt tggaatgttt actacactcg gatatttgat atgtggattt	780
cgagtcgtct taatgtatag atttgaagaa gagctgtttc tgaggagcct tcaggattac	840
aagattcaaa gtgcgctgct ggtgccaaacc ctattctcct tcttcgcaa aagcactctg	900
attgacaaat acgattttatc taattttacac gaaattgctt ctggtggcgc tcccctctct	960
aaggaagtcg ggggaagcggg tgccaagagg ttccatctgc caggatcag gcaaggatat	1020
gggctcactg agactacatc agctattctg attacaccgg agggggatga taaaccgggc	1080
gcggtcggta aagttgttcc attttttgaa gcgaaggttg tggatctgga taccgggaaa	1140
acgctgggag ttaatcaaag aggcgaactg tgtgtgagag gtcctatgat tatgtccggt	1200
tatgtaaca atccggaagc gaccaacgcc ttgattgaca aggatggatg gctacattct	1260
ggagacatag cttactggga cgaagacgaa cacttcttca tcggtgaccg cctgaagtct	1320
ctgattaagt acaaaggcta tcaggtggct cccgctgaat tggaaatccat cttgctccaa	1380
cacccaaca tcttcgacgc aggtgtcgca ggtcttcccg acgatgacgc cggtgaactt	1440
cccgccgccg ttgttgtttt ggagcacgga aagacgatga cggaaaaaga gatcgtggat	1500
tacgtcgcca gtcaagtaac aaccgcgaaa aagttgcgag gaggagttgt gtttgggac	1560
gaagtaccga aaggtcttac cggaaaactc gacgcaagaa aaatcagaga gatcctcata	1620
aaggccaaga agggcgaaa gatcgcctgt taa	1653

5

<210>6

ES 2 734 124 T3

<211> 550
 <212> PRT
 <213> *Photinus pyralis*

5 <400>6

```

Val Thr Asp Ala Lys Asn Ile Lys Lys Gly Pro Ala Pro Phe Tyr Pro
1      5      10      15
Leu Glu Asp Gly Thr Ala Gly Glu Gln Leu His Lys Ala Met Lys Arg
20      25      30
Tyr Ala Leu Val Pro Gly Thr Ile Ala Phe Thr Asp Ala His Ile Glu
35      40      45
Val Asp Ile Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe Glu Met Ser Val Arg Leu Ala
50      55      60
Glu Ala Met Lys Arg Tyr Gly Leu Asn Thr Asn His Arg Ile Val Val
65      70      75      80
Cys Ser Glu Asn Ser Leu Gln Phe Phe Met Pro Val Leu Gly Ala Leu
85      90      95
Phe Ile Gly Val Ala Val Ala Pro Ala Asn Asp Ile Tyr Asn Glu Arg
100     105     110
Glu Leu Leu Asn Ser Met Gly Ile Ser Gln Pro Thr Val Val Phe Val
115     120     125
Ser Lys Lys Gly Leu Gln Lys Ile Leu Asn Val Gln Lys Lys Leu Pro
130     135     140
Ile Ile Gln Lys Ile Ile Ile Met Asp Ser Lys Thr Asp Tyr Gln Gly
145     150     155     160
Phe Gln Ser Met Tyr Thr Phe Val Thr Ser His Leu Pro Pro Gly Phe
165     170     175
Asn Glu Tyr Asp Phe Val Pro Glu Ser Phe Asp Arg Asp Lys Thr Ile
180     185     190
Ala Leu Ile Met Asn Ser Ser Gly Ser Thr Gly Leu Pro Lys Gly Val
195     200     205
Ala Leu Pro His Arg Thr Ala Cys Val Arg Phe Ser His Ala Arg Asp
210     215     220
Pro Ile Phe Gly Asn Gln Ile Ile Pro Asp Thr Ala Ile Leu Ser Val
225     230     235     240
Val Pro Phe His His Gly Phe Gly Met Phe Thr Thr Leu Gly Tyr Leu
    
```

ES 2 734 124 T3

					245					250					255
Ile	Cys	Gly	Phe	Arg	Val	Val	Leu	Met	Tyr	Arg	Phe	Glu	Glu	Glu	Leu
			260					265					270		
Phe	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Asp	Tyr	Lys	Ile	Gln	Ser	Ala	Leu	Leu	Val
		275					280					285			
Pro	Thr	Leu	Phe	Ser	Phe	Phe	Ala	Lys	Ser	Thr	Leu	Ile	Asp	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asp	Leu	Ser	Asn	Leu	His	Glu	Ile	Ala	Ser	Gly	Gly	Ala	Pro	Leu	Ser
305					310					315					320
Lys	Glu	Val	Gly	Glu	Ala	Val	Ala	Lys	Arg	Phe	His	Leu	Pro	Gly	Ile
			325						330					335	
Arg	Gln	Gly	Tyr	Gly	Leu	Thr	Glu	Thr	Thr	Ser	Ala	Ile	Leu	Ile	Thr
			340					345					350		
Pro	Glu	Gly	Asp	Asp	Lys	Pro	Gly	Ala	Val	Gly	Lys	Val	Val	Pro	Phe
		355					360					365			
Phe	Glu	Ala	Lys	Val	Val	Asp	Leu	Asp	Thr	Gly	Lys	Thr	Leu	Gly	Val
	370					375					380				
Asn	Gln	Arg	Gly	Glu	Leu	Cys	Val	Arg	Gly	Pro	Met	Ile	Met	Ser	Gly
385					390					395					400
Tyr	Val	Asn	Asn	Pro	Glu	Ala	Thr	Asn	Ala	Leu	Ile	Asp	Lys	Asp	Gly
			405						410					415	
Trp	Leu	His	Ser	Gly	Asp	Ile	Ala	Tyr	Trp	Asp	Glu	Asp	Glu	His	Phe
			420					425					430		
Phe	Ile	Val	Asp	Arg	Leu	Lys	Ser	Leu	Ile	Lys	Tyr	Lys	Gly	Tyr	Gln
		435					440					445			
Val	Ala	Pro	Ala	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Leu	Gln	His	Pro	Asn	Ile
	450					455					460				
Phe	Asp	Ala	Gly	Val	Ala	Gly	Leu	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	Gly	Glu	Leu
465					470					475					480
Pro	Ala	Ala	Val	Val	Val	Leu	Glu	His	Gly	Lys	Thr	Met	Thr	Glu	Lys
			485						490					495	
Glu	Ile	Val	Asp	Tyr	Val	Ala	Ser	Gln	Val	Thr	Thr	Ala	Lys	Lys	Leu
			500					505					510		
Arg	Gly	Gly	Val	Val	Phe	Val	Asp	Glu	Val	Pro	Lys	Gly	Leu	Thr	Gly
		515					520					525			
Lys	Leu	Asp	Ala	Arg	Lys	Ile	Arg	Glu	Ile	Leu	Ile	Lys	Ala	Lys	Lys
	530					535						540			
Gly	Gly	Lys	Ile	Ala	Val										
545					550										

<210>7
 <211> 4104
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>
 <221> fuente
 <222> 1. 4104
 <223> /organismo="*Homo sapiens*" /nota="IGF1R" /tipo_mol="ADN sin asignar"

10

<400> 7

ES 2 734 124 T3

atgaagtctg gctccggagg aggggtccccg acctcgctgt gggggctcct gtttctctcc	60
gccgcgctct cgctctggcc gacgagtgga gaaatctgcg ggccaggcat cgacatccgc	120
aacgactatc agcagctgaa gcgcctggag aactgcacgg tgatcgaggg ctacctccac	180
atcctgctca tctccaaggc cgaggactac cgcagctacc gttccccaa gctcacggtc	240
attaccgagt acttgctgct gttccgagtg gctggcctcg agagcctcgg agacctcttc	300

ES 2 734 124 T3

cccaacctca cggatcatccg cggctggaaa ctcttctaca actacgccct ggtcatcttc 360
 gagatgacca atctcaagga tattgggctt tacaacctga ggaacattac tcggggggcc 420
 atcaggattg agaaaaatgc tgacctctgt tacctctcca ctgtggactg gtccctgatc 480
 ctggatgcgg tgtccaataa ctacattgtg gggaataagc ccccaaagga atgtggggac 540
 ctgtgtccag ggaccatgga ggagaagccg atgtgtgaga agaccacat caacaatgag 600
 tacaactacc gctgctggac cacaaaccgc tgccagaaaa tgtgcccaag cacgtgtggg 660
 aagcgggcgt gcaccgagaa caatgagtgc tgccaccccg agtgcctggg cagctgcagc 720
 ggcctgaca acgacacggc ctgtgtagct tgccgccact actactatgc cggtgtctgt 780
 gtgcctgcct gcccgcccaa cacctacagg tttgagggct ggcgctgtgt ggaccgtgac 840
 ttctgcgcca acatcctcag cgccgagagc agcactccg aggggtttgt gatccacgac 900
 ggcgagtgca tgcaggagtg cccctcgggc ttcacccgca acggcagcca gagcatgtac 960
 tgcacccctt gtgaaggtcc ttgccgaag gtctgtgagg aagaaaagaa aacaaagacc 1020
 attgattctg ttacttctgc tcagatgctc caaggatgca ccatcttcaa gggcaatttg 1080
 ctcatthaaca tccgacgggg gaataacatt gcttcagagc tggagaactt catggggctc 1140
 atcgagggtg tgacgggcta cgtgaagatc cgccattctc atgccttggg ctccctgtcc 1200
 ttcttaaaaa accttcgcct catcctagga gaggagcagc tagaagggaa ttactccttc 1260
 tacgtcctcg acaaccagaa cttgcagcaa ctgtgggact gggaccaccg caacctgacc 1320
 atcaaagcag ggaaaatgta ctttgctttc aatcccaaat tatgtgtttc cgaaatttac 1380
 cgcatggagg aagtgcggg gactaaaggc cgccaaagca aaggggacat aaacaccagg 1440
 aacaacgggg agagagcctc ctgtgaaagt gacgtcctgc atttcacctc caccaccagc 1500
 tcgaagaatc gcatcatcat aacctggcac cggatccggc cccctgacta cagggatctc 1560
 atcagcttca ccgtttacta caaggaagca cccttaaga atgtcacaga gtatgatggg 1620
 caggatgcct ggggctccaa cagctggaac atggtggagc tggacctccc gcccaacaag 1680
 gacgtggagc ccggcatctt actacatggg ctgaagccct ggactcagta cgccgtttac 1740
 gtcaaggctg tgaccctcac catggtggag aacgaccata tccgtggggc caagagtgag 1800
 atcttgatca ttcgcaccaa tgcttcagtt ccttcattc ccttgacgt tctttcagca 1860
 tcgaactcct cttctcagtt aatcgtgaag tgaaccctc cctctctgcc caacggcaac 1920
 ctgagttact acattgtgcg ctggcagcgg cagcctcagg acggctacct ttaccggcac 1980
 aattactgct ccaaagacaa aatccccatc aggaagtatg ccgacggcac catcgacatt 2040
 gaggaggtca cagagaacct caagactgag gtgtgtggtg gggagaaagg gccttgctgc 2100
 gcctgcccc aactgaagc cgagaagcag gccgagaagg aggaggctga ataccgcaaa 2160
 gtctttgaga atttctgca caactccatc ttcgtgccca gacctgaaag gaagcggaga 2220

ES 2 734 124 T3

gatgtcatgc aagtggccaa caccacccatg tccagccgaa gcaggaacac cacggccgca 2280
gacacctaca acatcaccga cccggaagag ctggagacag agtacccttt ctttgagagc 2340
agagtggata acaaggagag aactgtcatt tctaaccttc ggcctttcac attgtaccgc 2400
atcgatatcc acagctgcaa ccacgaggct gagaagctgg gctgcagcgc ctccaacttc 2460
gtctttgcaa ggactatgcc cgcagaagga gcagatgaca ttcctgggcc agtgacctgg 2520
gagccaaggc ctgaaaactc catcttttta aagtggccgg aacctgagaa tcccaatgga 2580
ttgattctaa tgtatgaaat aaaatacggg tcacaagttg aggatcagcg agaatgtgtg 2640
tccagacagc aatacaggaa gtatggaggg gccaaagctaa accggctaaa cccggggaac 2700
tacacagccc ggattcaggc cacatctctc tctgggaatg ggtcgtggac agatcctgtg 2760
ttcttctatg tccaggccaa aacaggatat gaaaacttca tccatctgat catcgctctg 2820
cccgctcgtg tctgttgat cgtgggaggg ttggtgatta tgctgtacgt cttccataga 2880
aagagaaata acagcaggct ggggaatgga gtgctgtatg cctctgtgaa cccggagtac 2940
ttcagcgtcg ctgatgtgta cgttcctgat gagtgggagc tggctcggga gaagatcacc 3000
atgagccggg aacttgggca ggggtcgttt gggatggtct atgaaggagt tgccaagggc 3060
gtggtgaaa atgaacctga aaccagagtg gccattaaaa cagtgaacga ggccgcaagc 3120
atgcgtgaga ggattgagtt tctcaacgaa gcttctgtga tgaaggagtt caattgtcac 3180
catgtggtgc gattgctggg tgtggtgtcc caaggccagc caaactggc catcatggaa 3240
ctgatgacac ggggcgatct caaaagttat ctccggtctc tgaggccaga aatggagaat 3300
aatccagtcc tagcacctcc aagcctgagc aagatgattc agatggccgg agagattgca 3360
gacggcatgg catacctcaa cgccaataag ttcgtccaca gagacctgc tgcccgaat 3420
tgcatggtag ccgaagattt cacagtcaaa atcggagatt ttggtatgac gcgagatadc 3480
tatgagacag actattaccg gaaaggaggg aaagggtgc tgcccgtgcg ctggatgtct 3540
cctgagtccc tcaaggatgg agtcttcacc acttactcgg acgtctggtc cttcggggtc 3600
gtcctctggg agatcgccac actggccgag cagccctacc agggcttgtc caacgagcaa 3660
gtccttcgct tcgtcatgga gggcggcctt ctggacaagc cagacaactg tctgacatg 3720
ctgtttgaa tgatgcgcat gtgctggcag tataacccca agatgaggcc ttccttctg 3780
gagatcatca gcagcatcaa agaggagatg gaggcctggc tccgggaggt ctctttctac 3840
tacagcgagg agaacaagct gcccagaccg gaggagctgg acctggagcc agagaacatg 3900
gagagcgtcc ccctggacc ctcggcctcc tcgtcctccc tgccactgcc cgacagacac 3960
tcaggacaca aggccgagaa cggccccggc cctgggggtgc tggctcctccg cgccagcttc 4020
gacgagagac agccttacgc ccacatgaac gggggccgca agaacgagcg ggccttgccg 4080

ES 2 734 124 T3

ctgccccagt cttcgacctg ctga

4104

5 <210>8
<211> 1367
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<223> IGF1R
<400>8

ES 2 734 124 T3

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
1 5 10 15
Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
20 25 30
Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
35 40 45
Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
50 55 60
Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
65 70 75 80
Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
85 90 95
Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
100 105 110
Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
115 120 125
Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
130 135 140
Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
145 150 155 160
Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
165 170 175
Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
180 185 190
Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
195 200 205
Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
210 215 220
Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
225 230 235 240
Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
245 250 255
Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
260 265 270
Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
275 280 285
Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
290 295 300
Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
305 310 315 320
Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys
325 330 335
Lys Thr Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Met Leu Gln Gly
340 345 350
Cys Thr Ile Phe Lys Gly Asn Leu Leu Ile Asn Ile Arg Arg Gly Asn
355 360 365
Asn Ile Ala Ser Glu Leu Glu Asn Phe Met Gly Leu Ile Glu Val Val
370 375 380
Thr Gly Tyr Val Lys Ile Arg His Ser His Ala Leu Val Ser Leu Ser
385 390 395 400
Phe Leu Lys Asn Leu Arg Leu Ile Leu Gly Glu Glu Gln Leu Glu Gly

ES 2 734 124 T3

				405					410				415			
Asn	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Val	Leu	Asp	Asn	Gln	Asn	Leu	Gln	Gln	Leu	Trp	
			420					425					430			
Asp	Trp	Asp	His	Arg	Asn	Leu	Thr	Ile	Lys	Ala	Gly	Lys	Met	Tyr	Phe	
		435					440					445				
Ala	Phe	Asn	Pro	Lys	Leu	Cys	Val	Ser	Glu	Ile	Tyr	Arg	Met	Glu	Glu	
	450					455					460					
Val	Thr	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Ser	Lys	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg	
465					470					475					480	
Asn	Asn	Gly	Glu	Arg	Ala	Ser	Cys	Glu	Ser	Asp	Val	Leu	His	Phe	Thr	
				485					490					495		
Ser	Thr	Thr	Thr	Ser	Lys	Asn	Arg	Ile	Ile	Ile	Thr	Trp	His	Arg	Tyr	
			500					505					510			
Arg	Pro	Pro	Asp	Tyr	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Phe	Thr	Val	Tyr	Tyr	Lys	
		515					520					525				
Glu	Ala	Pro	Phe	Lys	Asn	Val	Thr	Glu	Tyr	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys	
	530					535					540					
Gly	Ser	Asn	Ser	Trp	Asn	Met	Val	Asp	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Asn	Lys	
545					550					555					560	
Asp	Val	Glu	Pro	Gly	Ile	Leu	Leu	His	Gly	Leu	Lys	Pro	Trp	Thr	Gln	
				565					570					575		
Tyr	Ala	Val	Tyr	Val	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Thr	Met	Val	Glu	Asn	Asp	
			580					585					590			
His	Ile	Arg	Gly	Ala	Lys	Ser	Glu	Ile	Leu	Tyr	Ile	Arg	Thr	Asn	Ala	
		595					600					605				
Ser	Val	Pro	Ser	Ile	Pro	Leu	Asp	Val	Leu	Ser	Ala	Ser	Asn	Ser	Ser	
	610					615					620					
Ser	Gln	Leu	Ile	Val	Lys	Trp	Asn	Pro	Pro	Ser	Leu	Pro	Asn	Gly	Asn	
625					630					635					640	
Leu	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Val	Arg	Trp	Gln	Arg	Gln	Pro	Gln	Asp	Gly	Tyr	
				645					650					655		
Leu	Tyr	Arg	His	Asn	Tyr	Cys	Ser	Lys	Asp	Lys	Ile	Pro	Ile	Arg	Lys	
			660					665					670			
Tyr	Ala	Asp	Gly	Thr	Ile	Asp	Ile	Glu	Glu	Val	Thr	Glu	Asn	Pro	Lys	
		675					680					685				
Thr	Glu	Val	Cys	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly	Pro	Cys	Cys	Ala	Cys	Pro	Lys	
	690					695					700					
Thr	Glu	Ala	Glu	Lys	Gln	Ala	Glu	Lys	Glu	Glu	Ala	Glu	Tyr	Arg	Lys	
705					710					715					720	
Val	Phe	Glu	Asn	Phe	Leu	His	Asn	Ser	Ile	Phe	Val	Pro	Arg	Pro	Glu	
				725					730					735		
Arg	Lys	Arg	Arg	Asp	Val	Met	Gln	Val	Ala	Asn	Thr	Thr	Met	Ser	Ser	
				740				745					750			
Arg	Ser	Arg	Asn	Thr	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Tyr	Asn	Ile	Thr	Asp	Pro	
		755				760						765				
Glu	Glu	Leu	Glu	Thr	Glu	Tyr	Pro	Phe	Phe	Glu	Ser	Arg	Val	Asp	Asn	
	770					775					780					
Lys	Glu	Arg	Thr	Val	Ile	Ser	Asn	Leu	Arg	Pro	Phe	Thr	Leu	Tyr	Arg	
785					790					795					800	
Ile	Asp	Ile	His	Ser	Cys	Asn	His	Glu	Ala	Glu	Lys	Leu	Gly	Cys	Ser	
				805					810					815		
Ala	Ser	Asn	Phe	Val	Phe	Ala	Arg	Thr	Met	Pro	Ala	Glu	Gly	Ala	Asp	
				820				825					830			
Asp	Ile	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Trp	Glu	Pro	Arg	Pro	Glu	Asn	Ser	Ile	
		835					840					845				
Phe	Leu	Lys	Trp	Pro	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Asn	Gly	Leu	Ile	Leu	Met	
	850					855					860					
Tyr	Glu	Ile	Lys	Tyr	Gly	Ser	Gln	Val	Glu	Asp	Gln	Arg	Glu	Cys	Val	
865					870					875					880	
Ser	Arg	Gln	Glu	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Gly	Gly	Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Leu	
				885					890					895		
Asn	Pro	Gly	Asn	Tyr	Thr	Ala	Arg	Ile	Gln	Ala	Thr	Ser	Leu	Ser	Gly	
			900					905						910		

ES 2 734 124 T3

Asn Gly Ser Trp Thr Asp Pro Val Phe Phe Tyr Val Gln Ala Lys Thr
 915 920 925
 Gly Tyr Glu Asn Phe Ile His Leu Ile Ile Ala Leu Pro Val Ala Val
 930 935 940
 Leu Leu Ile Val Gly Gly Leu Val Ile Met Leu Tyr Val Phe His Arg
 945 950 955 960
 Lys Arg Asn Asn Ser Arg Leu Gly Asn Gly Val Leu Tyr Ala Ser Val
 965 970 975
 Asn Pro Glu Tyr Phe Ser Ala Ala Asp Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp
 980 985 990
 Glu Val Ala Arg Glu Lys Ile Thr Met Ser Arg Glu Leu Gly Gln Gly
 995 1000 1005
 Ser Phe Gly Met Val Tyr Glu Gly Val Ala Lys Gly Val Val Lys Asp
 1010 1015 1020
 Glu Pro Glu Thr Arg Val Ala Ile Lys Thr Val Asn Glu Ala Ala Ser
 1025 1030 1035 1040
 Met Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Glu
 1045 1050 1055
 Phe Asn Cys His His Val Val Arg Leu Leu Gly Val Val Ser Gln Gly
 1060 1065 1070
 Gln Pro Thr Leu Val Ile Met Glu Leu Met Thr Arg Gly Asp Leu Lys
 1075 1080 1085
 Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro Glu Met Glu Asn Asn Pro Val Leu
 1090 1095 1100
 Ala Pro Pro Ser Leu Ser Lys Met Ile Gln Met Ala Gly Glu Ile Ala
 1105 1110 1115 1120
 Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala Asn Lys Phe Val His Arg Asp Leu
 1125 1130 1135
 Ala Ala Arg Asn Cys Met Val Ala Glu Asp Phe Thr Val Lys Ile Gly
 1140 1145 1150
 Asp Phe Gly Met Thr Arg Asp Ile Tyr Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys
 1155 1160 1165
 Gly Gly Lys Gly Leu Leu Pro Val Arg Trp Met Ser Pro Glu Ser Leu
 1170 1175 1180
 Lys Asp Gly Val Phe Thr Tyr Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
 1185 1190 1195 1200
 Val Leu Trp Glu Ile Ala Thr Leu Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu
 1205 1210 1215
 Ser Asn Glu Gln Val Leu Arg Phe Val Met Glu Gly Gly Leu Leu Asp
 1220 1225 1230
 Lys Pro Asp Asn Cys Pro Asp Met Leu Phe Glu Leu Met Arg Met Cys
 1235 1240 1245
 Trp Gln Tyr Asn Pro Lys Met Arg Pro Ser Phe Leu Glu Ile Ile Ser
 1250 1255 1260
 Ser Ile Lys Glu Glu Met Glu Pro Gly Phe Arg Glu Val Ser Phe Tyr
 1265 1270 1275 1280
 Tyr Ser Glu Glu Asn Lys Leu Pro Glu Pro Glu Glu Leu Asp Leu Glu
 1285 1290 1295
 Pro Glu Asn Met Glu Ser Val Pro Leu Asp Pro Ser Ala Ser Ser Ser
 1300 1305 1310
 Ser Leu Pro Leu Pro Asp Arg His Ser Gly His Lys Ala Glu Asn Gly
 1315 1320 1325
 Pro Gly Pro Gly Val Leu Val Leu Arg Ala Ser Phe Asp Glu Arg Gln
 1330 1335 1340
 Pro Tyr Ala His Met Asn Gly Gly Arg Lys Asn Glu Arg Ala Leu Pro
 1345 1350 1355 1360
 Leu Pro Gln Ser Ser Thr Cys
 1365

ES 2 734 124 T3

<210>9
<211> 5760
<212> ADN
5 <213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<222> 1..5760
10 <223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="fusión de hIGF1R-luc" /tipo_mol="ADN sin asignar"

<400>9

ES 2 734 124 T3

atgaagtctg gctccggagg agggtccccg acctcgctgt gggggctcct gtttctctcc	60
gccgcgctct cgctctggcc gacgagtgga gaaatctgcy ggccaggcat cgacatccgc	120
aacgactatc agcagctgaa gcgcctggag aactgcacgg tgatcgaggg ctacctccac	180
atcctgctca tctccaaggc cgaggactac cgcagctacc gcttccccaa gctcacggtc	240
attaccgagt acttgctgct gttccgagtg gctggcctcg agagcctcgg agacctcttc	300
cccaacctca cggatcatccg cggctggaaa ctcttctaca actacgccct ggtcatcttc	360
gagatgacca atctcaagga tattgggctt tacaacctga ggaacattac tcggggggcc	420
atcaggattg agaaaaatgc tgacctctgt tacctctcca ctgtggactg gtccctgatc	480
ctggatgcgg tgtccaataa ctacattgtg gggaataagc ccccaaagga atgtggggac	540
ctgtgtccag ggaccatgga ggagaagccg atgtgtgaga agaccacat caacaatgag	600
tacaactacc gctgctggac cacaaaccgc tgccagaaaa tgtgcccaag cacgtgtggg	660
aagcgggcgt gcaccgagaa caatgagtgc tgccaccccg agtgcctggg cagctgcagc	720
gcgcctgaca acgacacggc ctgtgtagct tgccgccact actactatgc cgggtgtctgt	780
gtgcctgcct gcccgcccaa cacctacagg tttgagggct ggcgctgtgt ggacctgac	840
ttctgcgcca acatcctcag cgccgagagc agcgactccg aggggtttgt gatccacgac	900
ggcgagtgca tgcaggagtg cccctcgggc ttcacccgca acggcagcca gagcatgtac	960
tgcatccctt gtgaaggtcc ttgcccgaag gtctgtgagg aagaaaagaa aacaaagacc	1020
attgattctg ttacttctgc tcagatgctc caaggatgca ccatcttcaa gggcaatttg	1080
ctcattaaca tccgacgggg gaataacatt gcttcagagc tggagaactt catggggctc	1140
atcgaggtgg tgacgggcta cgtgaagatc cgccattctc atgccttggc ctccttgtcc	1200
ttcctaataaa accttcgcct catcctagga gaggagcagc tagaaggga ttactccttc	1260
tacgtcctcg acaaccagaa cttgcagcaa ctgtgggact gggaccaccg caacctgacc	1320
atcaaagcag ggaaaatgta ctttgctttc aatcccaaat tatgtgtttc cgaatttac	1380
cgcatggagg aagtgacggg gactaaaggc cgccaaagca aaggggacat aaacaccagg	1440
aacaacgggg agagagcctc ctgtgaaagt gacgtcctgc atttcacctc caccaccagc	1500
tcaagaatc gcatcatcat aacctggcac cggtagccgc cccctgacta cagggatctc	1560
atcagcttca ccgtttacta caaggaagca ccctttaaga atgtcacaga gtatgatggg	1620

ES 2 734 124 T3

caggatgcct gcggctccaa cagctggaac atggtggacg tggacctccc gcccaacaag 1680
 gacgtggagc ccggcatcct actacatggg ctgaagccct ggactcagta cgccgtttac 1740
 gtcaaggctg tgacctcac catggtggag aacgaccata tccgtggggc caagagtgag 1800
 atcttgatac ttgcaccaa tgcttcagtt ccttccattc ccttggacgt tctttcagca 1860
 tcgaaactct cttctcagtt aatcgtgaag tggaaacctc cctctctgcc caacggcaac 1920
 ctgagttact acattgtgcg ctggcagcgg cagcctcagg acggctacct ttaccggcac 1980
 aattactgct ccaaagacaa aatccccatc aggaagtatg ccgacggcac catcgacatt 2040
 gaggagtca cagagaacct caagactgag gtgtgtggtg gggagaaagg gccttgctgc 2100
 gcctgcccc aactgaagc cgagaagcag gccgagaagg aggaggctga ataccgcaaa 2160
 gtctttgaga atttctgca caactccatc ttcgtgcccc gacctgaaag gaagcggaga 2220
 gatgtcatgc aagtggccaa caccaccatg tccagccgaa gcaggaacac cacggccgca 2280
 gacacctaca acatcaccga cccggaagag ctggagacag agtacccttt ctttgagagc 2340
 agagtggata acaaggagag aactgtcatt tctaaccttc ggcctttcac attgtaccgc 2400
 atcgatatcc acagctgcaa ccacgaggct gagaagctgg gctgcagcgc ctccaacttc 2460
 gtctttgcaa ggactatgcc cgcagaagga gcagatgaca ttcttgggcc agtgacctgg 2520
 gagccaaggc ctgaaaactc catcttttta aagtggccgg aacctgagaa tcccaatgga 2580
 ttgattctaa tgtatgaaat aaaatacga tcaacaagtg aggatcagcg agaatgtgtg 2640
 tccagacagg aatacaggaa gtatggaggg gccaaagctaa accggctaaa cccggggaac 2700
 tacacagccc ggattcaggc cacatctctc tctgggaatg ggtcgtggac agatcctgtg 2760
 ttcttctatg tccaggccaa aacaggatat gaaaacttca tccatctgat catcgctctg 2820
 cccgtcgctg tctgttgat cgtgggaggg ttggtgatta tgctgtacgt cttccataga 2880
 aagagaaata acagcaggct ggggaatgga gtgctgtatg cctctgtgaa cccggagtac 2940
 ttcagcgtg ctgatgtgta cgttctctgat gagtgggagg tggctcggga gaagatcacc 3000
 atgagccggg aactgggca ggggtcgttt gggatggtct atgaaggagt tgccaagggt 3060
 gtggtgaaag atgaacctga aaccagagtg gccattaaaa cagtgaacga ggccgcaagc 3120
 atgcgtgaga ggattgagtt tctcaacgaa gcttctgtga tgaaggagt caattgtcac 3180
 catgtggtgc gattgctggg tgtggtgtcc caaggccagc caaactggt catcatgaa 3240
 ctgatgacac ggggcatct caaaagtat ctccggtctc tgaggccaga aatggagaat 3300
 aatccagtcc tagcacctcc aagcctgagc aagatgattc agatggccgg agagattgca 3360
 gacggcatgg catacctcaa cgccaataag ttcgtccaca gagacctgc tgcccgaat 3420
 tgcatggtag ccgaagattt cacagtcaaa atcggagatt ttggtatgac gcgagatc 3480
 tatgagacag actattaccg gaaaggaggg aaagggtgc tgcccgtgcg ctggatgtct 3540

ES 2 734 124 T3

cctgagtccc tcaaggatgg agtcttcacc acttactcgg acgtctggtc cttcggggtc 3600
 gtcctctggg agatcgccac actggccgag cagccctacc agggcttgtc caacgagcaa 3660
 gtccttcgct tcgctcatgga gggcggcctt ctggacaagc cagacaactg tcctgacatg 3720
 ctgtttgaac tgatgcgcat gtgctggcag tataaccca agatgaggcc ttccttctctg 3780
 gagatcatca gcagcatcaa agaggagatg gagcctggct tccgggaggt ctccttctac 3840
 tacagcgagg agaacaagct gcccgagccg gaggagctgg acctggagcc agagaacatg 3900
 gagagcgtcc ccctggacc ctcggcctcc tcgtcctccc tgccactgcc cgacagacac 3960
 tcaggacaca aggccgagaa cggccccggc cctgggggtgc tggcctccg cgccagcttc 4020
 gacgagagac agccttacgc ccacatgaac gggggccgca agaacgagcg ggccttgccg 4080
 ctgccccagt cttcgacctg cgaattcgtc accgacgcca aaaacataaa gaaaggcccg 4140
 gcgccattct atccgctgga agatggaacc gctggagagc aactgcataa ggctatgaag 4200
 agatacgcc tggttcctg aacaattgct tttacagatg cacatatcga ggtggacatc 4260
 acttacgctg agtacttoga aatgtccgtt cggttggcag aagctatgaa acgatatggg 4320
 ctgaatacaa atcacagaat cgtcgtatgc agtgaaaact ctcttcaatt ctttatgccg 4380
 gtgttgggcg cgttatttat cggagttgca gttgcgcccg cgaacgacat ttataatgaa 4440
 cgtgaattgc tcaacagtat gggcatttcg cagcctaccg tgggtgttcgt ttccaaaag 4500
 ggggtgcaaa aaatthtga cgtgcaaaaa aagctcccaa tcatccaaaa aattattatc 4560
 atggattcta aaacggatta ccagggattt cagtcgatgt acacgttcgt cacatctcat 4620
 ctacctccg gttttaatga atacgatttt gtgccagagt ccttcgatag ggacaagaca 4680
 attgcaactga tcatgaactc ctctggatct actggctctgc ctaaagggtgt cgctctgcct 4740
 catagaactg cctgcgtgag attctcgcac gccagagatc ctatthttgg caatcaaatc 4800
 attccgata ctgcgatttt aagtgttgtt ccattccatc acggtthttg aatgtttact 4860
 aactcggat atthgatatg tggatttcga gtcgtcttaa tgtatagatt tgaagaagag 4920
 ctgtthctga ggagccttca ggattacaag attcaaagtg cgctgctggg gccaacctta 4980
 ttctcctct tcgccaaaag cactctgatt gacaaatagc atthtctaa ttacacgaa 5040
 attgcttctg gtggcgctcc cctctctaag gaagtcgggg aagcggttgc caagaggttc 5100
 catctgccag gtatcaggca aggatatggg ctcaactgaga ctacatcagc tattctgatt 5160
 acaccgagg gggatgataa accgggcgag gtcggtaaag ttgttccatt thttgaagcg 5220
 aaggttgagg atctggatac cgggaaaacg ctgggcgtta atcaaagagg cgaactgtgt 5280
 gtgagaggtc ctatgattat gtccggttat gtaacaatc cgggaagcag caacgccttg 5340
 attgacaagg atggatggct acattctgga gacatagctt actgggacga agacgaacac 5400

ES 2 734 124 T3

```
ttcttcatcg ttgaccgcct gaagtctctg attaagtaca aaggctatca ggtggctccc 5460
gctgaattgg aatccatctt gctccaacac cccaacatct tcgacgcagg tgtcgcaggt 5520
cttcccgcacg atgacgccgg tgaacttccc gccgccggtg ttgttttggg gcacggaaaag 5580
acgatgacgg aaaaagagat cgtggattac gtcgccagtc aagtaacaac cgcgaaaaag 5640
ttgcgcggag gagttgtgtt tgtggacgaa gtaccgaaag gtcttaccgg aaaactcgac 5700
gcaagaaaaa tcagagagat cctcataaag gccagaagg gcggaaagat cgccgtgtaa 5760
```

5 <210> 10
<211> 1919
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> proteína de fusión de hIGF1R-luc

<400> 10

ES 2 734 124 T3

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
 1 5 10 15
 Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
 20 25 30
 Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
 35 40 45
 Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
 50 55 60
 Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
 65 70 75 80
 Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
 85 90 95
 Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
 100 105 110
 Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
 115 120 125
 Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
 130 135 140
 Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
 145 150 155 160
 Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
 165 170 175
 Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys
 180 185 190
 Glu Lys Thr Thr Ile Asn Asn Glu Tyr Asn Tyr Arg Cys Trp Thr Thr
 195 200 205
 Asn Arg Cys Gln Lys Met Cys Pro Ser Thr Cys Gly Lys Arg Ala Cys
 210 215 220
 Thr Glu Asn Asn Glu Cys Cys His Pro Glu Cys Leu Gly Ser Cys Ser
 225 230 235 240
 Ala Pro Asp Asn Asp Thr Ala Cys Val Ala Cys Arg His Tyr Tyr Tyr
 245 250 255
 Ala Gly Val Cys Val Pro Ala Cys Pro Pro Asn Thr Tyr Arg Phe Glu
 260 265 270
 Gly Trp Arg Cys Val Asp Arg Asp Phe Cys Ala Asn Ile Leu Ser Ala
 275 280 285
 Glu Ser Ser Asp Ser Glu Gly Phe Val Ile His Asp Gly Glu Cys Met
 290 295 300
 Gln Glu Cys Pro Ser Gly Phe Ile Arg Asn Gly Ser Gln Ser Met Tyr
 305 310 315 320
 Cys Ile Pro Cys Glu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys Glu Glu Glu Lys

ES 2 734 124 T3

				325					330				335				
Lys	Thr	Lys	Thr	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Ser	Ala	Gln	Met	Leu	Gln	Gly		
			340					345					350				
Cys	Thr	Ile	Phe	Lys	Gly	Asn	Leu	Leu	Ile	Asn	Ile	Arg	Arg	Gly	Asn		
		355					360					365					
Asn	Ile	Ala	Ser	Glu	Leu	Glu	Asn	Phe	Met	Gly	Leu	Ile	Glu	Val	Val		
	370					375					380						
Thr	Gly	Tyr	Val	Lys	Ile	Arg	His	Ser	His	Ala	Leu	Val	Ser	Leu	Ser		
385				390						395					400		
Phe	Leu	Lys	Asn	Leu	Arg	Leu	Ile	Leu	Gly	Glu	Glu	Gln	Leu	Glu	Gly		
				405					410					415			
Asn	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Val	Leu	Asp	Asn	Gln	Asn	Leu	Gln	Gln	Leu	Trp		
			420					425					430				
Asp	Trp	Asp	His	Arg	Asn	Leu	Thr	Ile	Lys	Ala	Gly	Lys	Met	Tyr	Phe		
		435					440					445					
Ala	Phe	Asn	Pro	Lys	Leu	Cys	Val	Ser	Glu	Ile	Tyr	Arg	Met	Glu	Glu		
	450					455					460						
Val	Thr	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Ser	Lys	Gly	Asp	Ile	Asn	Thr	Arg		
465				470						475					480		
Asn	Asn	Gly	Glu	Arg	Ala	Ser	Cys	Glu	Ser	Asp	Val	Leu	His	Phe	Thr		
				485					490					495			
Ser	Thr	Thr	Thr	Ser	Lys	Asn	Arg	Ile	Ile	Ile	Thr	Trp	His	Arg	Tyr		
			500					505					510				
Arg	Pro	Pro	Asp	Tyr	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Phe	Thr	Val	Tyr	Tyr	Lys		
		515					520					525					
Glu	Ala	Pro	Phe	Lys	Asn	Val	Thr	Glu	Tyr	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys		
	530					535					540						
Gly	Ser	Asn	Ser	Trp	Asn	Met	Val	Asp	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Asn	Lys		
545					550					555					560		
Asp	Val	Glu	Pro	Gly	Ile	Leu	Leu	His	Gly	Leu	Lys	Pro	Trp	Thr	Gln		
				565					570					575			
Tyr	Ala	Val	Tyr	Val	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Thr	Met	Val	Glu	Asn	Asp		
			580					585					590				
His	Ile	Arg	Gly	Ala	Lys	Ser	Glu	Ile	Leu	Tyr	Ile	Arg	Thr	Asn	Ala		
		595					600					605					
Ser	Val	Pro	Ser	Ile	Pro	Leu	Asp	Val	Leu	Ser	Ala	Ser	Asn	Ser	Ser		
	610					615					620						
Ser	Gln	Leu	Ile	Val	Lys	Trp	Asn	Pro	Pro	Ser	Leu	Pro	Asn	Gly	Asn		
625					630					635					640		
Leu	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Val	Arg	Trp	Gln	Arg	Gln	Pro	Gln	Asp	Gly	Tyr		
				645					650					655			
Leu	Tyr	Arg	His	Asn	Tyr	Cys	Ser	Lys	Asp	Lys	Ile	Pro	Ile	Arg	Lys		
		660						665					670				
Tyr	Ala	Asp	Gly	Thr	Ile	Asp	Ile	Glu	Glu	Val	Thr	Glu	Asn	Pro	Lys		
		675					680					685					
Thr	Glu	Val	Cys	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly	Pro	Cys	Cys	Ala	Cys	Pro	Lys		
	690					695					700						
Thr	Glu	Ala	Glu	Lys	Gln	Ala	Glu	Lys	Glu	Glu	Ala	Glu	Tyr	Arg	Lys		
705					710					715					720		
Val	Phe	Glu	Asn	Phe	Leu	His	Asn	Ser	Ile	Phe	Val	Pro	Arg	Pro	Glu		
				725						730				735			
Arg	Lys	Arg	Arg	Asp	Val	Met	Gln	Val	Ala	Asn	Thr	Thr	Met	Ser	Ser		
			740					745					750				
Arg	Ser	Arg	Asn	Thr	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Tyr	Asn	Ile	Thr	Asp	Pro		
		755					760					765					
Glu	Glu	Leu	Glu	Thr	Glu	Tyr	Pro	Phe	Phe	Glu	Ser	Arg	Val	Asp	Asn		
	770					775					780						
Lys	Glu	Arg	Thr	Val	Ile	Ser	Asn	Leu	Arg	Pro	Phe	Thr	Leu	Tyr	Arg		
785					790					795					800		
Ile	Asp	Ile	His	Ser	Cys	Asn	His	Glu	Ala	Glu	Lys	Leu	Gly	Cys	Ser		
				805					810					815			
Ala	Ser	Asn	Phe	Val	Phe	Ala	Arg	Thr	Met	Pro	Ala	Glu	Gly	Ala	Asp		
			820					825					830				

ES 2 734 124 T3

```

Leu Pro Asp Asp Asp Ala Gly Glu Leu Pro Ala Ala Val Val Val Leu
      1845                      1850                      1855
Glu His Gly Lys Thr Met Thr Glu Lys Glu Ile Val Asp Tyr Val Ala
      1860                      1865                      1870
Ser Gln Val Thr Thr Ala Lys Lys Leu Arg Gly Gly Val Val Phe Val
      1875                      1880                      1885
Asp Glu Val Pro Lys Gly Leu Thr Gly Lys Leu Asp Ala Arg Lys Ile
      1890                      1895                      1900
Arg Glu Ile Leu Ile Lys Ala Lys Lys Gly Gly Lys Ile Ala Val
      1905                      1910                      1915

```

- 5 <210> 11
- <211> 4113
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*

- 10 <220>
- <221> fuente
- <222> 1..4113
- <223> /organismo="*Homo sapiens*" /nota="receptor de la insulina de ADNc" /tipo_mol="ADN sin asignar"

- 15 <400> 11

ES 2 734 124 T3

atgggcaccg ggggccggcg gggggcggcg gccgcgccgc tgctggtggc ggtggccgcg	60
ctgctactgg gcgccgggg ccacctgtac cccggagagg tgtgtcccgg catggatadc	120
cggaacaacc tcaactagggt gcatgagctg gagaattgct ctgtcatcga aggacacttg	180
cagatactct tgatgttcaa aacgaggccc gaagatttcc gagacctcag tttccccaaa	240
ctcatcatga tcaactgatta cttgctgctc ttccgggtct atgggctcga gagcctgaag	300
gacctgttcc ccaacctcac ggtcatccgg ggatcacgac tgttctttaa ctacgcgctg	360
gtcatcttcg agatggttca cctcaaggaa ctccggcctc acaacctgat gaacatcacc	420
cggggttctg tccgcatcga gaagaacaat gagctctgtt acttggccac tatcgactgg	480
tcccgtatcc tggattccgt ggaggataat tacatcgtgt tgaacaaaga tgacaacgag	540
gagtgtggag acatctgtcc ggtaccgog aagggcaaga ccaactgccc cggcaccgctc	600
atcaacgggc agtttgtcga acgatgttgg actcatagtc actgccagaa agtttgcccg	660
accatctgta agtcacacgg ctgcaccgcc gaaggcctct gttgccacag cgagtgcctg	720
ggcaactggt ctgagcccga cgaccccacc aagtgcgtgg cctgccgcaa cttctacctg	780
gacggcaggt gtgtggagac ctgcccgcc ccgactacc acttccagga ctggcgctgt	840
gtgaacttca gcttctgccca ggacctgcac cacaaatgca agaactcgcg gaggcagggc	900
tgccaccagt acgtcattca caacaacaag tgcacccctg agtgtccctc cgggtacacg	960
atgaattcca gcaacttgct gtgcacccca tgcctgggtc cctgtcccaa ggtgtgccac	1020
ctcctagaag gcgagaagac catcgactcg gtgacgtctg cccagagct ccgaggatgc	1080
accgtcatca acgggagtct gatcatcaac attcgaggag gcaacaatct ggcagctgag	1140
ctagaagcca acctcggcct cattgaagaa atttcagggt atctaaaaat ccgccgatcc	1200

ES 2 734 124 T3

tacgctctgg tgtcactttc cttcttccgg aagttacgtc tgattcgagg agagaccttg 1260
 gaaattggga actactcctt ctatgccttg gacaaccaga acctaaggca gctctgggac 1320
 tggagcaaac acaacctcac catcactcag gggaaactct tcttccacta taaccccaaa 1380
 ctctgcttgt cagaaatcca caagatggaa gaagtttcag gaaccaaggg gcgccaggag 1440
 agaaacgaca ttgccctgaa gaccaatggg gaccaggcat cctgtgaaaa tgagttactt 1500
 aaatthttctt acattcggac atcttttgac aagatcttgc tgagatggga gccgtactgg 1560
 cccccgact tccgagacct cttggggttc atgctgttct acaaagaggc cccttatcag 1620
 aatgtgacgg agttcgacgg gcaggatgcg tgtggttcca acagttggac ggtggtagac 1680
 attgaccac ccctgaggtc caacgacccc aatcacaga accaccagg gtggtgatg 1740
 cggggtctca agccctggac ccagtatgcc atctttgtga agaccctggt caccttttcg 1800
 gatgaacgcc ggacctatgg ggccaagagt gacatcattt atgtccagac agatgccacc 1860
 aaccctctg tgccctgga tccaatctca gtgtctaact catcatcca gattattctg 1920
 aagtggaaac caccctccga cccaatggc aacatcacc actacctggt tttctgggag 1980
 aggcaggcgg aagacagtga gctgttcgag ctggattatt gcctcaaagg gctgaagctg 2040
 ccctcgagga cctggtctcc accattcgag tctgaagatt ctcagaagca caaccagagt 2100
 gagtatgagg attcggccgg cgaatgctgc tcctgtcaa agacagactc tcagatcctg 2160
 aaggagctgg aggagtcctc gtttaggaag acgtttgagg attacctgca caacgtggtt 2220
 ttcgtcccca ggccatctcg gaaacgcagg tcccttggcg atgttgggaa tgtgacggtg 2280
 gccgtgccca cgggtggcagc tttccccaac acttctctga ccagcgtgcc cacgagtcg 2340
 gaggagcaca ggccctttga gaaggtggtg aacaaggagt cgctggtcat ctccggcttg 2400
 cgacacttca cgggctatcg catcgagctg caggcttgca accaggacac ccctgaggaa 2460
 cggtgacgtg tggcagccta cgtcagtgcg aggaccatgc ctgaagcaa ggctgatgac 2520
 attgttggcc ctgtgacgca tgaaatctt gagaaacacg tcgtccactt gatgtggcag 2580
 gagccgaagg agcccaatgg tctgatcgtg ctgtatgaag tgagttatcg gcgatatggt 2640
 gatgaggagc tgcactctctg cgtctcccgc aagcaactcg ctctggaacg gggctgcagg 2700
 ctgctggtggc tgtcaccggg gaactacagc gtgcgaatcc gggccacctc cttgctgggc 2760
 aacggctctt ggacggaacc cacctatttc tacgtgacag actattttaga cgtcccgtca 2820
 aatattgcaa aaattatcat cggccccctc atctttgtct ttctcttcag tgttgtgatt 2880
 ggaagtattt atctattcct gagaaagagg cagccagatg ggccgctggg accgctttac 2940
 gcttcttcaa accctgagta tctcagtgcc agtgatgtgt ttccatgctc tgtgtacgtg 3000
 ccggacgagt gggaggtgct tcgagagaag atcacctcc ttcgagagct ggggcagggc 3060

ES 2 734 124 T3

tccttcggca tgggtgatga gggcaatgcc agggacatca tcaaggtga ggcagagacc 3120
 cgcgtagcgg tgaagacggt caacgagtca gccagtctcc gagagcggat tgagttcctc 3180
 aatgaggcct cggatcatgaa gggcttcacc tgccatcatg tggtagcgcct cctgggagtg 3240
 gtgtccaagg gccagcccac gctggtggtg atggagctga tggctcacgg agacctgaag 3300
 agctacctcc gttctctgcg gccagaggct gagaataatc ctggccgcc tccccctacc 3360
 cttcaagaga tgattcagat ggcggcagag attgctgacg ggatggccta cctgaacgcc 3420
 aagaagtttg tgcatacggga cctggcagcg agaaactgca tggtagccca tgattttact 3480
 gtcaaaattg gagactttgg aatgaccaga gacatctatg aaacggatta ctaccggaaa 3540
 gggggcaagg gtctgctccc tgtacggtgg atggcaccgg agtccctgaa ggatggggtc 3600
 ttcaccactt cttctgacat gtggtccttt ggcgtggtcc tttgggaaat caccagcttg 3660
 gcagaacagc cttaccaagg cctgtctaataaacaggtgt tgaattttgt catggatgga 3720
 gggtagctgg atcaaccoga caactgtcca gagagagtca ctgacctcat gcgcatgtgc 3780
 tggcaattca accccaagat gaggccaacc ttctctggaga ttgtcaacct gctcaaggac 3840
 gacctgcacc ccagctttcc agaggtgtcg ttcttcaca gcgaggagaa caaggtccc 3900
 gagagtgagg agctggagat ggagtttgag gacatggaga atgtgccctt ggaccgttcc 3960
 tcgactgtc agaggagga ggcggggggc cgggatggag ggtcctcgct gggtttcaag 4020
 cggagctacg aggaacacat cccttacaca cacatgaacg gaggcaagaa aaacgggagg 4080
 attctgacct tgcctcggtc caatccttcc taa 4113

5 <210> 12
 <211> 1370
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <223> receptor de la insulina

<400> 12

ES 2 734 124 T3

Met Gly Thr Gly Gly Arg Arg Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Ala Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly His Leu Tyr Pro Gly
 20 25 30
 Glu Val Cys Pro Gly Met Asp Ile Arg Asn Asn Leu Thr Arg Leu His
 35 40 45
 Glu Leu Glu Asn Cys Ser Val Ile Glu Gly His Leu Gln Ile Leu Leu
 50 55 60
 Met Phe Lys Thr Arg Pro Glu Asp Phe Arg Asp Leu Ser Phe Pro Lys
 65 70 75 80
 Leu Ile Met Ile Thr Asp Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Tyr Gly Leu
 85 90 95
 Glu Ser Leu Lys Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Ser
 100 105 110
 Arg Leu Phe Phe Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Val His Leu
 115 120 125
 Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Asn Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val

ES 2 734 124 T3

130						135										140
Arg	Ile	Glu	Lys	Asn	Asn	Glu	Leu	Cys	Tyr	Leu	Ala	Thr	Ile	Asp	Trp	
145						150					155					160
Ser	Arg	Ile	Leu	Asp	Ser	Val	Glu	Asp	Asn	Tyr	Ile	Val	Leu	Asn	Lys	
						165					170					175
Asp	Asp	Asn	Glu	Glu	Cys	Gly	Asp	Ile	Cys	Pro	Gly	Thr	Ala	Lys	Gly	
						180					185					190
Lys	Thr	Asn	Cys	Pro	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Gln	Phe	Val	Glu	Arg	
						195					200					205
Cys	Trp	Thr	His	Ser	His	Cys	Gln	Lys	Val	Cys	Pro	Thr	Ile	Cys	Lys	
						210					215					220
Ser	His	Gly	Cys	Thr	Ala	Glu	Gly	Leu	Cys	Cys	His	Ser	Glu	Cys	Leu	
225						230					235					240
Gly	Asn	Cys	Ser	Gln	Pro	Asp	Asp	Pro	Thr	Lys	Cys	Val	Ala	Cys	Arg	
						245					250					255
Asn	Phe	Tyr	Leu	Asp	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Tyr	
						260					265					270
Tyr	His	Phe	Gln	Asp	Trp	Arg	Cys	Val	Asn	Phe	Ser	Phe	Cys	Gln	Asp	
						275					280					285
Leu	His	His	Lys	Cys	Lys	Asn	Ser	Arg	Arg	Gln	Gly	Cys	His	Gln	Tyr	
						290					295					300
Val	Ile	His	Asn	Asn	Lys	Cys	Ile	Pro	Glu	Cys	Pro	Ser	Gly	Tyr	Thr	
305						310					315					320
Met	Asn	Ser	Ser	Asn	Leu	Leu	Cys	Thr	Pro	Cys	Leu	Gly	Pro	Cys	Pro	
						325					330					335
Lys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu	Lys	Thr	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	
						340					345					350
Ser	Ala	Gln	Glu	Leu	Arg	Gly	Cys	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Ser	Leu	Ile	
						355					360					365
Ile	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Asn	Asn	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	Ala	Asn	
						370					375					380
Leu	Gly	Leu	Ile	Glu	Glu	Ile	Ser	Gly	Tyr	Leu	Lys	Ile	Arg	Arg	Ser	
385						390					395					400
Tyr	Ala	Leu	Val	Ser	Leu	Ser	Phe	Phe	Arg	Lys	Leu	Arg	Leu	Ile	Arg	
						405					410					415
Gly	Glu	Thr	Leu	Glu	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	
						420					425					430
Gln	Asn	Leu	Arg	Gln	Leu	Trp	Asp	Trp	Ser	Lys	His	Asn	Leu	Thr	Ile	
						435					440					445
Thr	Gln	Gly	Lys	Leu	Phe	Phe	His	Tyr	Asn	Pro	Lys	Leu	Cys	Leu	Ser	
						450					455					460
Glu	Ile	His	Lys	Met	Glu	Glu	Val	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Glu	
465						470					475					480
Arg	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Thr	Asn	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Cys	Glu	
						485					490					495
Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	Phe	Ser	Tyr	Ile	Arg	Thr	Ser	Phe	Asp	Lys	Ile	
						500					505					510
Leu	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Tyr	Trp	Pro	Pro	Asp	Phe	Arg	Asp	Leu	Leu	
						515					520					525
Gly	Phe	Met	Leu	Phe	Tyr	Lys	Glu	Ala	Pro	Tyr	Gln	Asn	Val	Thr	Glu	
						530					535					540
Phe	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys	Gly	Ser	Asn	Ser	Trp	Thr	Val	Val	Asp	
545						550					555					560
Ile	Asp	Pro	Pro	Leu	Arg	Ser	Asn	Asp	Pro	Lys	Ser	Gln	Asn	His	Pro	
						565					570					575
Gly	Trp	Leu	Met	Arg	Gly	Leu	Lys	Pro	Trp	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ile	Phe	
						580					585					590
Val	Lys	Thr	Leu	Val	Thr	Phe	Ser	Asp	Glu	Arg	Arg	Thr	Tyr	Gly	Ala	
						595					600					605
Lys	Ser	Asp	Ile	Ile	Tyr	Val	Gln	Thr	Asp	Ala	Thr	Asn	Pro	Ser	Val	
						610					615					620
Pro	Leu	Asp	Pro	Ile	Ser	Val	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Gln	Ile	Ile	Leu	
625						630					635					640

ES 2 734 124 T3

Lys Trp Lys Pro Pro Ser Asp Pro Asn Gly Asn Ile Thr His Tyr Leu
 645 650 655
 Val Phe Trp Glu Arg Gln Ala Glu Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Asp
 660 665 670
 Tyr Cys Leu Lys Gly Leu Lys Leu Pro Ser Arg Thr Trp Ser Pro Pro
 675 680 685
 Phe Glu Ser Glu Asp Ser Gln Lys His Asn Gln Ser Glu Tyr Glu Asp
 690 695 700
 Ser Ala Gly Glu Cys Cys Ser Cys Pro Lys Thr Asp Ser Gln Ile Leu
 705 710 715 720
 Lys Glu Leu Glu Glu Ser Ser Phe Arg Lys Thr Phe Glu Asp Tyr Leu
 725 730 735
 His Asn Val Val Phe Val Pro Arg Pro Ser Arg Lys Arg Arg Ser Leu
 740 745 750
 Gly Asp Val Gly Asn Val Thr Val Ala Val Pro Thr Val Ala Ala Phe
 755 760 765
 Pro Asn Thr Ser Ser Thr Ser Val Pro Thr Ser Pro Glu Glu His Arg
 770 775 780
 Pro Phe Glu Lys Val Val Asn Lys Glu Ser Leu Val Ile Ser Gly Leu
 785 790 795 800
 Arg His Phe Thr Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gln Ala Cys Asn Gln Asp
 805 810 815
 Thr Pro Glu Glu Arg Cys Ser Val Ala Ala Tyr Val Ser Ala Arg Thr
 820 825 830
 Met Pro Glu Ala Lys Ala Asp Asp Ile Val Gly Pro Val Thr His Glu
 835 840 845
 Ile Phe Glu Asn Asn Val Val His Leu Met Trp Gln Glu Pro Lys Glu
 850 855 860
 Pro Asn Gly Leu Ile Val Leu Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Arg Tyr Gly
 865 870 875 880
 Asp Glu Glu Leu His Leu Cys Val Ser Arg Lys His Phe Ala Leu Glu
 885 890 895 900
 Arg Gly Cys Arg Leu Arg Gly Leu Ser Pro Gly Asn Tyr Ser Val Arg
 905 910
 Ile Arg Ala Thr Ser Leu Ala Gly Asn Gly Ser Trp Thr Glu Pro Thr
 915 920 925
 Tyr Phe Tyr Val Thr Asp Tyr Leu Asp Val Pro Ser Asn Ile Ala Lys
 930 935 940
 Ile Ile Ile Gly Pro Leu Ile Phe Val Phe Leu Phe Ser Val Val Ile
 945 950 955 960
 Gly Ser Ile Tyr Leu Phe Leu Arg Lys Arg Gln Pro Asp Gly Pro Leu
 965 970 975
 Gly Pro Leu Tyr Ala Ser Ser Asn Pro Glu Tyr Leu Ser Ala Ser Asp
 980 985 990
 Val Phe Pro Cys Ser Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp Glu Val Ser Arg
 995 1000 1005
 Glu Lys Ile Thr Leu Leu Arg Glu Leu Gly Gln Gly Ser Phe Gly Met
 1010 1015 1020
 Val Tyr Glu Gly Asn Ala Arg Asp Ile Ile Lys Gly Glu Ala Glu Thr
 1025 1030 1035 1040
 Arg Val Ala Val Lys Thr Val Asn Glu Ser Ala Ser Leu Arg Glu Arg
 1045 1050 1055
 Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Gly Phe Thr Cys His
 1060 1065 1070
 His Val Val Arg Leu Leu Gly Val Val Ser Lys Gly Gln Pro Thr Leu
 1075 1080 1085
 Val Val Met Glu Leu Met Ala His Gly Asp Leu Lys Ser Tyr Leu Arg
 1090 1095 1100
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Glu Asn Asn Pro Gly Arg Pro Pro Pro Thr
 1105 1110 1115 1120
 Leu Gln Glu Met Ile Gln Met Ala Ala Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala
 1125 1130 1135
 Tyr Leu Asn Ala Lys Lys Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn

ES 2 734 124 T3

atgggcaccg	ggggccggcg	gggggcgggcg	gccgcgccgc	tgctggtggc	ggtggccgcg	60
ctgctactgg	gcgccgcggg	ccacctgtac	cccggagagg	tgtgtcccgg	catggatata	120
cggaacaacc	tactaggtt	gcatgagctg	gagaattgct	ctgtcatoga	aggacacttg	180
cagatactct	tgatgttcaa	aacgaggccc	gaagatttcc	gagacctcag	ttccccaaa	240
ctcatcatga	tcactgatta	cttgctgctc	ttccgggtct	atgggctoga	gagcctgaag	300
gacctgttcc	ccaacctcac	ggatcatccg	ggatcacgac	tgttctttaa	ctacgcgctg	360
gtcatcttcg	agatggttca	cctcaaggaa	ctcggcctct	acaacctgat	gaacatcacc	420
cggggttctg	tccgcatcga	gaagaacaat	gagctctggt	acttgccac	tatcgactgg	480
tcccgtatcc	tggattccgt	ggaggataat	tacatcgtgt	tgaacaaaga	tgacaacgag	540
gagtgtggag	acatctgtcc	gggtaccgcg	aagggaaga	ccaactgcc	cgccaccgtc	600

ES 2 734 124 T3

atcaacgggc agtttgcga acgatgttg actcatagtc actgccagaa agtttgcccg 660
 accatctgta agtcacacgg ctgcaccgcc gaaggcctct gttgccacag cgagtgcctg 720
 ggcaactggt ctgagcccga cgaccccacc aagtgcgtgg cctgccgcaa cttctacctg 780
 gacggcaggt gtgtggagac ctgcccgcc ccgtactacc acttccagga ctggcgtgt 840
 gtgaacttca gcttctgcca ggacctgcac cacaaatgca agaactcgcg gaggcagggc 900
 tgccaccagt acgtcattca caacaacaag tgcattccctg agtgtccctc cgggtacacg 960
 atgaattcca gcaacttgct gtgcacccca tgcctgggtc cctgtcccaa ggtgtgccac 1020
 ctctagaag gcgagaagac catcgactcg gtgacgtctg cccaggagct ccgaggatgc 1080
 accgtcatca acgggagtct gatcatcaac attcgaggag gcaacaatct ggcagctgag 1140
 ctagaagcca acctcggcct cattgaagaa atttcagggt atctaaaaat ccgccgatcc 1200
 tacgctctgg tgtcactttc cttcttccgg aagttacgtc tgattcgagg agagaccttg 1260
 gaaattggga actactcctt ctatgccttg gacaaccaga acctaaggca gctctgggac 1320
 tggagcaaac acaacctcac catcactcag gggaaactct tcttccacta taacccccaaa 1380
 ctctgcttgt cagaaatcca caagatggaa gaagtttcag gaaccaaggg gcgccaggag 1440
 agaaacgaca ttgccctgaa gaccaatggg gaccaggcat cctgtgaaaa tgagttactt 1500
 aaattttctt acattcggac atcttttgac aagatcttgc tgagatggga gccgtactgg 1560
 cccccgact tccgagacct cttggggttc atgctgttct acaaagaggc cccttatcag 1620
 aatgtgacgg agttcgacgg gcaggatgcg tgtggttcca acagttggac ggtggtagac 1680
 attgaccac ccctgaggtc caacgacccc aatcacaga accaccagg gtggctgatg 1740
 cggggtctca agccctggac ccagtatgcc atctttgtga agaccctggt cacctttctg 1800
 gatgaacgcc ggacctatgg ggccaagagt gacatcattt atgtccagac agatgccacc 1860
 aaccctctg tggccctgga tccaatctca gtgtctaact catcatcca gattattctg 1920
 aagtggaaac caccctccga cccaatggc aacatcacc actacctggt tttctgggag 1980
 aggcaggcgg aagacagtga gctgttcgag ctggattatt gcctcaaagg gctgaagctg 2040
 ccctcgagga cctggtctcc accattcgag tctgaagatt ctcagaagca caaccagagt 2100
 gagtatgagg attcggccgg cgaatgctgc tcctgtccaa agacagactc tcagatcctg 2160
 aaggagctgg aggagtctc gtttaggaag acgtttgagg attacctgca caacgtggtt 2220
 ttcgtcccca ggccatctcg gaaacgcagg tcccttggcg atgttgggaa tgtgacggtg 2280
 gccgtgcca cggtggcagc tttccccaac acttctcoga ccagcgtgcc cacgagtcg 2340
 gaggagcaca ggccttttga gaagtggtg aacaaggagt cgctggtcat ctccgcttg 2400
 cgacacttca cgggctatcg catcgagctg caggcttga accaggacac ccctgaggaa 2460
 cgggtcagtg tggcagccta cgtcagtcg aggacatgc ctgaagccaa ggctgatgac 2520

ES 2 734 124 T3

attgttggcc ctgtgacgca tgaatcttt gagaacaacg tcgtccactt gatgtggcag 2580
 gagccgaag agcccaatgg tctgatcgtg ctgtatgaag tgagttatcg gcgatatggt 2640
 gatgaggagc tgcattctctg cgtctcccgc aagcacttcg ctctggaacg gggctgcagg 2700
 ctgctggggc tgtcaccggg gaactacagc gtgcgaatcc gggccacctc ccttgcgggc 2760
 aacggctctt ggacggaacc cacctatttc tacgtgacag actatttaga cgtcccgtca 2820
 aatattgcaa aaattatcat cggccccctc atctttgtct ttctcttcag tgttgtgatt 2880
 ggaagtattt atctattcct gagaaagagg cagccagatg ggccgctggg accgctttac 2940
 gcttcttcaa accctgagta tctcagtgcc agtgatgtgt ttccatgctc tgtgtacgtg 3000
 ccggacgagt gggaggtgtc tcgagagaag atcacctcc ttcgagagct ggggcagggc 3060
 tccttcggca tgggtgatga gggcaatgcc agggacatca tcaaggtga ggcagagacc 3120
 cgctggtggc tgaagacggt caacgagtca gccagtctcc gagagcggat tgagttcctc 3180
 aatgaggcct cggatcatga gggcttcacc tgccatcatg tgggtgcgct cctgggagtg 3240
 gtgtccaag gccagcccac gctggtggtg atggagctga tggctcacgg agacctgaag 3300
 agctacctcc gttctctgcg gccagaggct gagaataatc ctggccgccc tccccctacc 3360
 cttcaagaga tgattcagat ggcggcagag attgctgacg ggatggccta cctgaacgcc 3420
 aagaagttt tgcattcggga cctggcagcg agaaactgca tggtcgcca tgattttact 3480
 gtcaaaattg gagactttgg aatgaccaga gacatctatg aaacggatta ctaccgaaa 3540
 gggggcaagg gtctgctccc tgtacggtgg atggcaccgg agtccctgaa ggatggggtc 3600
 ttcaccactt cttctgacat gtggtccttt ggcgtggtcc tttgggaaat caccagcttg 3660
 gcagaacagc cttaccaagg cctgtctaata gaacaggtgt tgaattttgt catggatgga 3720
 gggatatctg atcaaccoga caactgtcca gagagagtca ctgacctcat gcgcatgtgc 3780
 tggcaattca accccaagat gaggccaacc ttcctggaga ttgtcaacct gctcaaggac 3840
 gacctgcacc ccagctttcc agagggtcgc ttcttcaca gcgaggagaa caaggctccc 3900
 gagagtgagg agctggagat ggagtttgag gacatggaga atgtgcccct ggaccttcc 3960
 tcgcaactgc agagggagga ggcggggggc cgggatggag ggtcctcgtc gggtttcaag 4020
 cggagctacg aggaacacat cccttacaca cacatgaacg gaggcaagaa aaacggcgg 4080
 attctgacct tgctcggtc caatcctcc caattgtca ccgacgcaa aaacataaag 4140
 aaaggcccgg cgccattcta tccgctggaa gatggaaccg ctggagagca actgcataag 4200
 gctatgaaga gatacgcctt gggtcctgga acaattgctt ttacagatgc acatctcgag 4260
 gtggacatca cttacgctga gtacttcgaa atgtccgttc ggttggcaga agctatgaaa 4320
 cgatatgggc tgaatacaaa tcacagaatc gtcgatgca gtgaaaactc tcttcaattc 4380

ES 2 734 124 T3

```

tttatgccgg tgttggggcgc gttatattatc ggagttgcag ttgcgcccgc gaacgacatt 4440
tataatgaac gtgaattgct caacagtatg ggcatttcgc agcctaccgt ggtgttcgtt 4500
tccaaaaagg ggttgcaaaa aatdddgaac gtgcaaaaaa agctcccaat catccaaaaa 4560
attattatca tggattctaa aacggattac cagggatttc agtcgatgta cacgttcgtc 4620
acatctcatc tacctcccgg ttttaatgaa tacgattttg tgccagagtc cttcgatagg 4680
gacaagacaa ttgcaactgat catgaactcc tctggatcta ctggctctgcc taaaggtgtc 4740
gctctgcctc atagaactgc ctgctgaga ttctcgcag ccagagatcc tatttttggc 4800
aatcaaatca ttccggatac tgcgatttta agtgttgttc cattccatca cggttttgga 4860
atgtttacta cactcggata tttgatatgt ggatttcgag tcgtcttaat gtatagattt 4920
gaagaagagc tgtttctgag gagccttcag gattacaaga ttcaaagtgc gctgctggtg 4980
ccaaccctat tctccttctt cgccaaaagc actctgattg acaaatcga tttatctaata 5040
ttacacgaaa ttgcttctgg tggcgcctccc ctctctaagg aagtcgggga agcggttgcc 5100
aagaggttcc atctgccagg tatcaggcaa ggatatgggc tcaactgagac tacatcagct 5160
attctgatta cacccgaggg ggatgataaa ccgggcgcgg tcggtaaagt tgttccattt 5220
tttgaagcga aggttggtgga tctggatacc gggaaaacgc tgggcgttaa tcaagaggc 5280
gaactgtgtg tgagagggtcc tatgattatg tccggttatg taaacaatcc ggaagcgacc 5340
aacgccttga ttgacaagga tggatggcta cattctggag acatagctta ctgggacgaa 5400
gacgaacact tcttcatcgt tgaccgcctg aagtctctga ttaagtacaa aggctatcag 5460
gtggctcccg ctgaattgga atccatcttg ctccaacacc ccaacatctt cgacgcaggt 5520
gtcgcaggtc ttcccacga tgacgcgggt gaacttcccg ccgccgttgt tgttttgag 5580
cacggaaaga cgatgacgga aaaagagatc gtggattacg tcgccagtca agtaacaacc 5640
gcgaaaaagt tgccgggag agttgtgttt gtggacgaag taccgaaagg tcttaccgga 5700
aaactcgacg caagaaaaat cagagagatc ctcataaagg ccaagaaggg cggaagatc 5760
gccgtgtaa 5769

```

- 5 <210> 14
- <211> 1922
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> proteína de fusión de hIR-luc

- <400> 14

ES 2 734 124 T3

Met Gly Thr Gly Gly Arg Arg Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Leu Val
1 5 10 15
Ala Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly His Leu Tyr Pro Gly
20 25 30
Glu Val Cys Pro Gly Met Asp Ile Arg Asn Asn Leu Thr Arg Leu His

ES 2 734 124 T3

			35					40				45					
Glu	Leu	Glu	Asn	Cys	Ser	Val	Ile	Glu	Gly	His	Leu	Gln	Ile	Leu	Leu		
	50					55					60						
Met	Phe	Lys	Thr	Arg	Pro	Glu	Asp	Phe	Arg	Asp	Leu	Ser	Phe	Pro	Lys		
65					70					75					80		
Leu	Ile	Met	Ile	Thr	Asp	Tyr	Leu	Leu	Leu	Phe	Arg	Val	Tyr	Gly	Leu		
				85					90					95			
Glu	Ser	Leu	Lys	Asp	Leu	Phe	Pro	Asn	Leu	Thr	Val	Ile	Arg	Gly	Ser		
			100					105					110				
Arg	Leu	Phe	Asn	Tyr	Ala	Leu	Val	Ile	Phe	Glu	Met	Val	His	Leu			
		115					120					125					
Lys	Glu	Leu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Leu	Met	Asn	Ile	Thr	Arg	Gly	Ser	Val		
	130					135					140						
Arg	Ile	Glu	Lys	Asn	Asn	Glu	Leu	Cys	Tyr	Leu	Ala	Thr	Ile	Asp	Trp		
145				150						155				160			
Ser	Arg	Ile	Leu	Asp	Ser	Val	Glu	Asp	Asn	Tyr	Ile	Val	Leu	Asn	Lys		
				165					170					175			
Asp	Asp	Asn	Glu	Glu	Cys	Gly	Asp	Ile	Cys	Pro	Gly	Thr	Ala	Lys	Gly		
			180					185					190				
Lys	Thr	Asn	Cys	Pro	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Gln	Phe	Val	Glu	Arg		
		195					200					205					
Cys	Trp	Thr	His	Ser	His	Cys	Gln	Lys	Val	Cys	Pro	Thr	Ile	Cys	Lys		
	210					215					220						
Ser	His	Gly	Cys	Thr	Ala	Glu	Gly	Leu	Cys	Cys	His	Ser	Glu	Cys	Leu		
225					230					235				240			
Gly	Asn	Cys	Ser	Gln	Pro	Asp	Asp	Pro	Thr	Lys	Cys	Val	Ala	Cys	Arg		
				245					250					255			
Asn	Phe	Tyr	Leu	Asp	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Thr	Cys	Pro	Pro	Pro	Tyr		
			260					265					270				
Tyr	His	Phe	Gln	Asp	Trp	Arg	Cys	Val	Asn	Phe	Ser	Phe	Cys	Gln	Asp		
		275					280					285					
Leu	His	His	Lys	Cys	Lys	Asn	Ser	Arg	Arg	Gln	Gly	Cys	His	Gln	Tyr		
	290					295					300						
Val	Ile	His	Asn	Asn	Lys	Cys	Ile	Pro	Glu	Cys	Pro	Ser	Gly	Tyr	Thr		
305				310						315				320			
Met	Asn	Ser	Ser	Asn	Leu	Leu	Cys	Thr	Pro	Cys	Leu	Gly	Pro	Cys	Pro		
				325					330					335			
Lys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu	Lys	Thr	Ile	Asp	Ser	Val	Thr		
			340					345					350				
Ser	Ala	Gln	Glu	Leu	Arg	Gly	Cys	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Ser	Leu	Ile		
			355				360					365					
Ile	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Asn	Asn	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	Ala	Asn		
	370					375					380						
Leu	Gly	Leu	Ile	Glu	Glu	Ile	Ser	Gly	Tyr	Leu	Lys	Ile	Arg	Arg	Ser		
385				390						395				400			
Tyr	Ala	Leu	Val	Ser	Leu	Ser	Phe	Phe	Arg	Lys	Leu	Arg	Leu	Ile	Arg		
			405						410					415			
Gly	Glu	Thr	Leu	Glu	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn		
			420					425					430				
Gln	Asn	Leu	Arg	Gln	Leu	Trp	Asp	Trp	Ser	Lys	His	Asn	Leu	Thr	Ile		
			435				440					445					
Thr	Gln	Gly	Lys	Leu	Phe	Phe	His	Tyr	Asn	Pro	Lys	Leu	Cys	Leu	Ser		
	450					455					460						
Glu	Ile	His	Lys	Met	Glu	Val	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Glu			
465				470					475					480			
Arg	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Thr	Asn	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Cys	Glu		
			485						490					495			
Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	Phe	Ser	Tyr	Ile	Arg	Thr	Ser	Phe	Asp	Lys	Ile		
			500					505					510				
Leu	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Tyr	Trp	Pro	Pro	Asp	Phe	Arg	Asp	Leu	Leu		
		515					520					525					
Gly	Phe	Met	Leu	Phe	Tyr	Lys	Glu	Ala	Pro	Tyr	Gln	Asn	Val	Thr	Glu		
	530					535					540						

ES 2 734 124 T3

Phe Asp Gly Gln Asp Ala Cys Gly Ser Asn Ser Trp Thr Val Val Asp
 545 550 555 560
 Ile Asp Pro Pro Leu Arg Ser Asn Asp Pro Lys Ser Gln Asn His Pro
 565 570 575
 Gly Trp Leu Met Arg Gly Leu Lys Pro Trp Thr Gln Tyr Ala Ile Phe
 580 585 590
 Val Lys Thr Leu Val Thr Phe Ser Asp Glu Arg Arg Thr Tyr Gly Ala
 595 600 605
 Lys Ser Asp Ile Ile Tyr Val Gln Thr Asp Ala Thr Asn Pro Ser Val
 610 615 620
 Pro Leu Asp Pro Ile Ser Val Ser Asn Ser Ser Gln Ile Ile Leu
 625 630 635 640
 Lys Trp Lys Pro Pro Ser Asp Pro Asn Gly Asn Ile Thr His Tyr Leu
 645 650 655
 Val Phe Trp Glu Arg Gln Ala Glu Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Asp
 660 665 670
 Tyr Cys Leu Lys Gly Leu Lys Leu Pro Ser Arg Thr Trp Ser Pro Pro
 675 680 685
 Phe Glu Ser Glu Asp Ser Gln Lys His Asn Gln Ser Glu Tyr Glu Asp
 690 695 700
 Ser Ala Gly Glu Cys Cys Ser Cys Pro Lys Thr Asp Ser Gln Ile Leu
 705 710 715 720
 Lys Glu Leu Glu Glu Ser Ser Phe Arg Lys Thr Phe Glu Asp Tyr Leu
 725 730 735
 His Asn Val Val Phe Val Pro Arg Pro Ser Arg Lys Arg Arg Ser Leu
 740 745 750
 Gly Asp Val Gly Asn Val Thr Val Ala Val Pro Thr Val Ala Ala Phe
 755 760 765
 Pro Asn Thr Ser Ser Thr Ser Val Pro Thr Ser Pro Glu Glu His Arg
 770 775 780
 Pro Phe Glu Lys Val Val Asn Lys Glu Ser Leu Val Ile Ser Gly Leu
 785 790 795 800
 Arg His Phe Thr Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gln Ala Cys Asn Gln Asp
 805 810 815
 Thr Pro Glu Glu Arg Cys Ser Val Ala Ala Tyr Val Ser Ala Arg Thr
 820 825 830
 Met Pro Glu Ala Lys Ala Asp Asp Ile Val Gly Pro Val Thr His Glu
 835 840 845
 Ile Phe Glu Asn Asn Val Val His Leu Met Trp Gln Glu Pro Lys Glu
 850 855 860
 Pro Asn Gly Leu Ile Val Leu Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Arg Tyr Gly
 865 870 875 880
 Asp Glu Glu Leu His Leu Cys Val Ser Arg Lys His Phe Ala Leu Glu
 885 890 895
 Arg Gly Cys Arg Leu Arg Gly Leu Ser Pro Gly Asn Tyr Ser Val Arg
 900 905 910
 Ile Arg Ala Thr Ser Leu Ala Gly Asn Gly Ser Trp Thr Glu Pro Thr
 915 920 925
 Tyr Phe Tyr Val Thr Asp Tyr Leu Asp Val Pro Ser Asn Ile Ala Lys
 930 935 940
 Ile Ile Ile Gly Pro Leu Ile Phe Val Phe Leu Phe Ser Val Val Ile
 945 950 955 960
 Gly Ser Ile Tyr Leu Phe Leu Arg Lys Arg Gln Pro Asp Gly Pro Leu
 965 970 975
 Gly Pro Leu Tyr Ala Ser Ser Asn Pro Glu Tyr Leu Ser Ala Ser Asp
 980 985 990
 Val Phe Pro Cys Ser Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp Glu Val Ser Arg
 995 1000 1005
 Glu Lys Ile Thr Leu Leu Arg Glu Leu Gly Gln Gly Ser Phe Gly Met
 1010 1015 1020
 Val Tyr Glu Gly Asn Ala Arg Asp Ile Ile Lys Gly Glu Ala Glu Thr
 1025 1030 1035 1040
 Arg Val Ala Val Lys Thr Val Asn Glu Ser Ala Ser Leu Arg Glu Arg

ES 2 734 124 T3

				1045						1050					1055
Ile	Glu	Phe	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Val	Met	Lys	Gly	Phe	Thr	Cys	His
				1060						1065					1070
His	Val	Val	Arg	Leu	Leu	Gly	Val	Val	Ser	Lys	Gly	Gln	Pro	Thr	Leu
				1075						1080					1085
Val	Val	Met	Glu	Leu	Met	Ala	His	Gly	Asp	Leu	Lys	Ser	Tyr	Leu	Arg
				1090						1095					1100
Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Asn	Asn	Pro	Gly	Arg	Pro	Pro	Pro	Thr
1105						1110					1115				1120
Leu	Gln	Glu	Met	Ile	Gln	Met	Ala	Ala	Glu	Ile	Ala	Asp	Gly	Met	Ala
						1125					1130				1135
Tyr	Leu	Asn	Ala	Lys	Lys	Phe	Val	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn
						1140					1145				1150
Cys	Met	Val	Ala	His	Asp	Phe	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Asp	Phe	Gly	Met
						1155					1160				1165
Thr	Arg	Asp	Ile	Tyr	Glu	Thr	Asp	Tyr	Tyr	Arg	Lys	Gly	Gly	Lys	Gly
						1170					1175				1180
Leu	Leu	Pro	Val	Arg	Trp	Met	Ala	Pro	Glu	Ser	Leu	Lys	Asp	Gly	Val
1185						1190					1195				1200
Phe	Thr	Thr	Ser	Ser	Asp	Met	Trp	Ser	Phe	Gly	Val	Val	Leu	Trp	Glu
						1205					1210				1215
Ile	Thr	Ser	Leu	Ala	Glu	Gln	Pro	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Asn	Glu	Gln
						1220					1225				1230
Val	Leu	Lys	Phe	Val	Met	Asp	Gly	Gly	Tyr	Leu	Asp	Gln	Pro	Asp	Asn
						1235					1240				1245
Cys	Pro	Glu	Arg	Val	Thr	Asp	Leu	Met	Arg	Met	Cys	Trp	Gln	Phe	Asn
						1250					1255				1260
Pro	Lys	Met	Arg	Pro	Thr	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	Asn	Leu	Leu	Lys	Asp
1265						1270					1275				1280
Asp	Leu	His	Pro	Ser	Phe	Pro	Glu	Val	Ser	Phe	Phe	His	Ser	Glu	Glu
						1285					1290				1295
Asn	Lys	Ala	Pro	Glu	Ser	Glu	Glu	Leu	Glu	Met	Glu	Phe	Glu	Asp	Met
						1300					1305				1310
Glu	Asn	Val	Pro	Leu	Asp	Arg	Ser	Ser	His	Cys	Gln	Arg	Glu	Glu	Ala
						1315					1320				1325
Gly	Gly	Arg	Asp	Gly	Gly	Ser	Ser	Leu	Gly	Phe	Lys	Arg	Ser	Tyr	Glu
						1330					1335				1340
Glu	His	Ile	Pro	Tyr	Thr	His	Met	Asn	Gly	Gly	Lys	Lys	Asn	Gly	Arg
1345						1350					1355				1360
Ile	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Asn	Pro	Ser	Gln	Leu	Val	Thr	Asp	Ala
						1365					1370				1375
Lys	Asn	Ile	Lys	Lys	Gly	Pro	Ala	Pro	Phe	Tyr	Pro	Leu	Glu	Asp	Gly
						1380					1385				1390
Thr	Ala	Gly	Glu	Gln	Leu	His	Lys	Ala	Met	Lys	Arg	Tyr	Ala	Leu	Val
						1395					1400				1405
Pro	Gly	Thr	Ile	Ala	Phe	Thr	Asp	Ala	His	Ile	Glu	Val	Asp	Ile	Thr
						1410					1415				1420
Tyr	Ala	Glu	Tyr	Phe	Glu	Met	Ser	Val	Arg	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Lys
1425						1430					1435				1440
Arg	Tyr	Gly	Leu	Asn	Thr	Asn	His	Arg	Ile	Val	Val	Cys	Ser	Glu	Asn
						1445					1450				1455
Ser	Leu	Gln	Phe	Phe	Met	Pro	Val	Leu	Gly	Ala	Leu	Phe	Ile	Gly	Val
						1460					1465				1470
Ala	Val	Ala	Pro	Ala	Asn	Asp	Ile	Tyr	Asn	Glu	Arg	Glu	Leu	Leu	Asn
						1475					1480				1485
Ser	Met	Gly	Ile	Ser	Gln	Pro	Thr	Val	Val	Phe	Val	Ser	Lys	Lys	Gly
						1490					1495				1500
Leu	Gln	Lys	Ile	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Lys	Leu	Pro	Ile	Ile	Gln	Lys
1505						1510					1515				1520
Ile	Ile	Ile	Met	Asp	Ser	Lys	Thr	Asp	Tyr	Gln	Gly	Phe	Gln	Ser	Met
						1525					1530				1535
Tyr	Thr	Phe	Val	Thr	Ser	His	Leu	Pro	Pro	Gly	Phe	Asn	Glu	Tyr	Asp
						1540					1545				1550

ES 2 734 124 T3

Phe Val Pro Glu Ser Phe Asp Arg Asp Lys Thr Ile Ala Leu Ile Met
 1555 1560 1565
 Asn Ser Ser Gly Ser Thr Gly Leu Pro Lys Gly Val Ala Leu Pro His
 1570 1575 1580
 Arg Thr Ala Cys Val Arg Phe Ser His Ala Arg Asp Pro Ile Phe Gly
 1585 1590 1595 1600
 Asn Gln Ile Ile Pro Asp Thr Ala Ile Leu Ser Val Val Pro Phe His
 1605 1610 1615
 His Gly Phe Gly Met Phe Thr Thr Leu Gly Tyr Leu Ile Cys Gly Phe
 1620 1625 1630
 Arg Val Val Leu Met Tyr Arg Phe Glu Glu Glu Leu Phe Leu Arg Ser
 1635 1640 1645
 Leu Gln Asp Tyr Lys Ile Gln Ser Ala Leu Leu Val Pro Thr Leu Phe
 1650 1655 1660
 Ser Phe Phe Ala Lys Ser Thr Leu Ile Asp Lys Tyr Asp Leu Ser Asn
 1665 1670 1675 1680
 Leu His Glu Ile Ala Ser Gly Gly Ala Pro Leu Ser Lys Glu Val Gly
 1685 1690 1695
 Glu Ala Val Ala Lys Arg Phe His Leu Pro Gly Ile Arg Gln Gly Tyr
 1700 1705 1710
 Gly Leu Thr Glu Thr Thr Ser Ala Ile Leu Ile Thr Pro Glu Gly Asp
 1715 1720 1725
 Asp Lys Pro Gly Ala Val Gly Lys Val Val Pro Phe Phe Glu Ala Lys
 1730 1735 1740
 Val Val Asp Leu Asp Thr Gly Lys Thr Leu Gly Val Asn Gln Arg Gly
 1745 1750 1755 1760
 Glu Leu Cys Val Arg Gly Pro Met Ile Met Ser Gly Tyr Val Asn Asn
 1765 1770 1775
 Pro Glu Ala Thr Asn Ala Leu Ile Asp Lys Asp Gly Trp Leu His Ser
 1780 1785 1790
 Gly Asp Ile Ala Tyr Trp Asp Glu Asp Glu His Phe Phe Ile Val Asp
 1795 1800 1805
 Arg Leu Lys Ser Leu Ile Lys Tyr Lys Gly Tyr Gln Val Ala Pro Ala
 1810 1815 1820
 Glu Leu Glu Ser Ile Leu Leu Gln His Pro Asn Ile Phe Asp Ala Gly
 1825 1830 1835 1840
 Val Ala Gly Leu Pro Asp Asp Asp Ala Gly Glu Leu Pro Ala Ala Val
 1845 1850 1855
 Val Val Leu Glu His Gly Lys Thr Met Thr Glu Lys Glu Ile Val Asp
 1860 1865 1870
 Tyr Val Ala Ser Gln Val Thr Thr Ala Lys Lys Leu Arg Gly Gly Val
 1875 1880 1885
 Val Phe Val Asp Glu Val Pro Lys Gly Leu Thr Gly Lys Leu Asp Ala
 1890 1895 1900
 Arg Lys Ile Arg Glu Ile Leu Ile Lys Ala Lys Lys Gly Gly Lys Ile
 1905 1910 1915 1920
 Ala Val

- 5 <210> 15
- <211> 2781
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <221> fuente
- <222> 1..2781
- <223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="dominio extracelular de IGF1R humano" /tipo_mol="ADN sin asignar"

- 15 <400> 15

atgaagtctg gctccggagg aggggtccccg acctcgctgt gggggctcct gtttctctcc 60

ES 2 734 124 T3

gccgcgctct cgctctggcc gacgagtgga gaaatctgcg ggccaggcat cgacatccgc 120
 aacgactatc agcagctgaa gcgcctggag aactgcacgg tgatcgaggg ctacctccac 180
 atcctgctca tctccaaggc cgaggactac cgcagctacc gttccccaa gctcacggtc 240
 attaccgagt acttgctgct gttccgagtg gctggcctcg agagcctcgg agacctcttc 300
 cccaacctca cggtcacccg cggctggaaa ctcttctaca actacgccct ggtcatcttc 360
 gagatgacca atctcaagga tattgggctt tacaacctga ggaacattac tcggggggcc 420
 atcaggattg agaaaaatgc tgacctctgt tacctctcca ctgtggactg gtcctgatc 480
 ctggatgcgg tgtccaataa ctacattgtg gggaataagc ccccaaagga atgtggggac 540
 ctgtgtccag ggaccatgga ggagaagccg atgtgtgaga agaccacat caacaatgag 600
 tacaactacc gctgctggac cacaaaccgc tgccagaaaa tgtgcccaag cacgtgtggg 660
 aagcggcgt gcaccgagaa caatgagtgc tgccaccccg agtgcctggg cagctgcagc 720
 gcgcctgaca acgacacggc ctgtgtagct tgccgccact actactatgc cgggtgtctgt 780
 gtgcctgcct gcccgcccaa cacctacagg tttgagggtt ggcgctgtgt ggaccgtgac 840
 ttctgcgcca acatcctcag cgcgagagc agcactccg aggggtttgt gatccacgac 900
 ggcgagtgca tgcaggagtg cccctcgggc ttcacccgca acggcagcca gagcatgtac 960
 tgcacccctt gtgaaggctc ttgcccgaag gtctgtgagg aagaaaagaa aacaaagacc 1020
 attgattctg ttacttctgc tcagatgctc caaggatgca ccatcttcaa gggcaatttg 1080
 ctcatthaaca tccgacgggg gaataacatt gcttcagagc tggagaactt catggggctc 1140
 atcgagggtg tgacgggcta cgtgaagatc cgccattctc atgccttggg ctccttgtcc 1200
 ttctataaaa accttcgcct catcctagga gaggagcagc tagaaggaa ttactccttc 1260
 tacgtcctcg acaaccagaa cttgcagcaa ctgtgggact gggaccaccg caacctgacc 1320
 atcaaagcag ggaaaatgta ctttgctttc aatcccaaat tatgtgtttc cgaaatttac 1380
 cgcattggag aagtgacggg gactaaaggg cgccaaagca aaggggacat aacaccagc 1440
 aacaacgggg agagagcctc ctgtgaaagt gacgtcctgc attcacctc caccaccagc 1500
 tcgaagaatc gcatcatcat aacctggcac cggtagccgg cccctgacta cagggatctc 1560
 atcagcttca ccgtttacta caaggaagca ccctttaaga atgtcacaga gtatgatggg 1620
 caggatgcct gcggctccaa cagctggaac atggtggacg tggacctccc gcccaacaag 1680
 gacgtggagc ccggcatctt actacatggg ctgaagccct ggactcagta cgccgtttac 1740
 gtcaaggctg tgaccctcac catggtggag aacgaccata tccgtggggc caagagtgag 1800
 atcttgtaaca ttcgcaccaa tgcttcagtt ccttccattc ccttggacgt tctttcagca 1860
 tcgaactcct cttctcagtt aatcgtgaag tggaaacctc cctctctgcc caacggcaac 1920

ES 2 734 124 T3

ctgagttact acattgtgcg ctggcagcgg cagcctcagg acggctacct ttaccggcac 1980
aattactgct ccaaagacaa aatccccatc aggaagtatg cgcacggcac catcgacatt 2040
gaggaggcca cagagaaccc caagactgag gtgtgtggtg gggagaaagg gccttgctgc 2100
gcctgcccc aactgaagc cgagaagcag gccgagaagg aggaggctga ataccgcaa 2160
gtctttgaga atttcctgca caactccatc ttcgtgcca gacctgaaag gaagcggaga 2220
gatgtcatgc aagtggcaa caccaccatg tccagccgaa gcaggaacac cacggccgca 2280
gacacctaca acatcaccga cccggaagag ctggagacag agtacccttt ctttgagagc 2340
agagtggata acaaggagag aactgtcatt tctaacctc gccctttcac attgtaccgc 2400
atcgatatcc acagctgcaa ccacgaggct gagaagctgg gctgcagcgc ctccaacttc 2460
gtctttgcaa ggactatgcc cgcagaagga gcagatgaca ttcctgggcc agtgacctgg 2520
gagccaaggc ctgaaaactc catcttttta aagtggccgg aacctgagaa tcccaatgga 2580
ttgattctaa tgtatgaaat aaaatacggg tcacaagttg aggatcagcg agaatgtgtg 2640
tccagacagg aatacaggaa gtatggaggg gccaaagctaa accggctaaa cccggggaac 2700
tacacagccc ggattcaggc cacatctctc tctgggaatg ggtcgtggac agatcctgtg 2760
ttcttctatg tccaggccaa a 2781

5 <210> 16
<211> 927
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> domino extracelular de IGF1R humano

<400> 16

ES 2 734 124 T3

Met Lys Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Ser Leu Trp Gly Leu
 1 5 10 15
 Leu Phe Leu Ser Ala Ala Leu Ser Leu Trp Pro Thr Ser Gly Glu Ile
 20 25 30
 Cys Gly Pro Gly Ile Asp Ile Arg Asn Asp Tyr Gln Gln Leu Lys Arg
 35 40 45
 Leu Glu Asn Cys Thr Val Ile Glu Gly Tyr Leu His Ile Leu Leu Ile
 50 55 60
 Ser Lys Ala Glu Asp Tyr Arg Ser Tyr Arg Phe Pro Lys Leu Thr Val
 65 70 75 80
 Ile Thr Glu Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Ala Gly Leu Glu Ser Leu
 85 90 95
 Gly Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Trp Lys Leu Phe
 100 105 110
 Tyr Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Thr Asn Leu Lys Asp Ile
 115 120 125
 Gly Leu Tyr Asn Leu Arg Asn Ile Thr Arg Gly Ala Ile Arg Ile Glu
 130 135 140
 Lys Asn Ala Asp Leu Cys Tyr Leu Ser Thr Val Asp Trp Ser Leu Ile
 145 150 155 160
 Leu Asp Ala Val Ser Asn Asn Tyr Ile Val Gly Asn Lys Pro Pro Lys
 165 170 175
 Glu Cys Gly Asp Leu Cys Pro Gly Thr Met Glu Glu Lys Pro Met Cys

ES 2 734 124 T3

Thr	Glu	Val	Cys	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly	Pro	Cys	Cys	Ala	Cys	Pro	Lys
	690					695					700				
Thr	Glu	Ala	Glu	Lys	Gln	Ala	Glu	Lys	Glu	Glu	Ala	Glu	Tyr	Arg	Lys
705					710						715				720
Val	Phe	Glu	Asn	Phe	Leu	His	Asn	Ser	Ile	Phe	Val	Pro	Arg	Pro	Glu
				725						730					735
Arg	Lys	Arg	Arg	Asp	Val	Met	Gln	Val	Ala	Asn	Thr	Thr	Met	Ser	Ser
				740						745					750
Arg	Ser	Arg	Asn	Thr	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Tyr	Asn	Ile	Thr	Asp	Pro
				755				760							765
Glu	Glu	Leu	Glu	Thr	Glu	Tyr	Pro	Phe	Phe	Glu	Ser	Arg	Val	Asp	Asn
						775									780
Lys	Glu	Arg	Thr	Val	Ile	Ser	Asn	Leu	Arg	Pro	Phe	Thr	Leu	Tyr	Arg
785						790									800
Ile	Asp	Ile	His	Ser	Cys	Asn	His	Glu	Ala	Glu	Lys	Leu	Gly	Cys	Ser
				805						810					815
Ala	Ser	Asn	Phe	Val	Phe	Ala	Arg	Thr	Met	Pro	Ala	Glu	Gly	Ala	Asp
				820						825					830
Asp	Ile	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Trp	Glu	Pro	Arg	Pro	Glu	Asn	Ser	Ile
				835				840							845
Phe	Leu	Lys	Trp	Pro	Glu	Pro	Glu	Asn	Pro	Asn	Gly	Leu	Ile	Leu	Met
							855					860			
Tyr	Glu	Ile	Lys	Tyr	Gly	Ser	Gln	Val	Glu	Asp	Gln	Arg	Glu	Cys	Val
865						870					875				880
Ser	Arg	Gln	Glu	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Gly	Gly	Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Leu
						885					890				895
Asn	Pro	Gly	Asn	Tyr	Thr	Ala	Arg	Ile	Gln	Ala	Thr	Ser	Leu	Ser	Gly
				900					905						910
Asn	Gly	Ser	Trp	Thr	Asp	Pro	Val	Phe	Phe	Tyr	Val	Gln	Ala	Lys	
							915								925

5 <210> 17
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..33
 <223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P5" /tipo_mol=ADN sin asignar"

15 <400> 17
 acggtaaca tgggcaccgg gggccggcgg ggg 33

20 <210> 18
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..33
 <223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P6" /tipo_mol=ADN sin asignar"

<400> 18
 acgcaattgc agcaagatct tgtcaaaaga tgt 33

30 <210> 19

ES 2 734 124 T3

<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<221> fuente
<222> 1..36
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P7" /tipo_mol=ADN sin asignar"

10 <400> 19
atcggatcca ccatgaagtc tggctccgga ggaggg 36

<210> 20
<211> 83
15 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
20 <222> 1..83
<223> /organismo="Secuencia artificial" /nota="cebador P8" /tipo_mol=ADN sin asignar"

<400> 20

atcaagcttc actttcctgc tcctgggtgc tgattctctg aaagctcact gctgccaagt 60

25 ttggcctgga catagaagaa cac 83

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para la medición de autoanticuerpos contra miembros de la IRF como marcadores serológicos que comprenden detectar, en una muestra que se examinará, la presencia y/o las propiedades de unión de anticuerpos analíticos reactivos con una o más moléculas antigénicas, comprendiendo dicho método:
- 10 (a) proporcionar una o más primeras moléculas antigénicas con las que puedan interactuar los anticuerpos analíticos cuando están presentes en dicha muestra y qué primera molécula antigénica se selecciona de la familia de receptores de la insulina (IRF); y
- 15 (b) proporcionar una o más segundas moléculas antigénicas con las que los anticuerpos analíticos, cuando están presentes en dicha muestra, pueden interactuar y qué segunda molécula antigénica se selecciona de la IRF; y
- (c) poner en contacto dichas primeras moléculas antigénicas proporcionadas mediante la etapa (a) y dichas segundas moléculas antigénicas proporcionadas mediante la etapa (b) de forma simultánea o sucesiva con la muestra que se vaya a examinar, por lo que los anticuerpos analíticos, cuando están presentes en dicha muestra, pueden interactuar con dichas moléculas antigénicas para formar complejos que comprenden [primera molécula antigénica] - [anticuerpo analítico] - [segunda molécula antigénica]; y
- 20 (d) antes, o simultáneamente a, o después de la etapa (c), proporcionar medios de inmovilización mediante los que dicha primera molécula antigénica, como está presente en dichos complejos formados en la etapa (c), respectivamente, como capaz de formar complejos en la etapa (c), se inmoviliza en un soporte sólido antes de, o simultáneamente a, o después de la etapa (c); y
- 25 (e) antes, o simultáneamente a, o después de la etapa (c), proporcionar los primeros medios de marcaje mediante los que dicha segunda molécula antigénica, como está presente en dichos complejos formados en la etapa (c), respectivamente, como capaz de formar complejos en la etapa (c) se marca con dichos primeros medios de marcaje antes de, o simultáneamente a, o después de la etapa (c); y
- (g) detectar la presencia de dichos complejos formados en o después de la etapa (c) para proporcionar una indicación de los anticuerpos analíticos presentes en dicha muestra.
- 30 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además:
- (f) antes, o simultáneamente a, o después de la etapa (c), proporcionar uno o más moduladores capaces de interactuar con los complejos formados en etapa (c) y/o capaces de interferir en la formación de complejos de acuerdo con la etapa (c) y poner en contacto dichos uno o más moduladores de forma simultánea o sucesiva con dicha muestra, la dicha una o más primeras moléculas antigénicas y/o la dicha una o más segundas moléculas antigénicas previas a, o concurrentes con, o posteriores a la etapa (c), o poner en contacto dichos uno o más moduladores simultánea o sucesivamente con dichos complejos formados en o posteriores a la etapa (c).
- 35 3. El método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 2, en el que dichas primeras moléculas antigénicas y dichas segundas moléculas antigénicas son idénticas.
- 40 4. El método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dichas primeras moléculas antigénicas y/o dichas segundas moléculas antigénicas están embebidas en un ambiente de membrana.
- 45 5. El método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dichas una o más primeras moléculas antigénicas y/o dichas una o más segundas moléculas antigénicas carecen de un dominio de tirosina quinasa funcionalmente intacto.
- 50 6. El método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho anticuerpo analítico que se debe detectar en dicha muestra es un autoanticuerpo endógeno o un anticuerpo monoclonal.
- 55 7. El método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 5, en el que uno o más de dichos medios seleccionados del grupo que consiste en dichos primeros medios de marcaje, dichos medios de inmovilización y dichos moduladores se proporcionan antes de poner en contacto dichas moléculas antigénicas y dichos anticuerpos analíticos.
- 60 8. El uso del método de acuerdo con una o más reivindicaciones 1 a 7 para el diagnóstico de la presencia o aparición de una enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina.
9. El uso del método de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 7 para la identificación de un compuesto farmacéuticamente eficaz para el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad relacionada con la familia de receptores de la insulina.