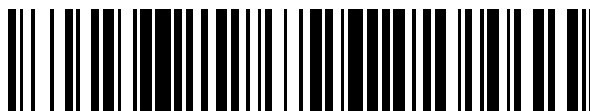


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 736 165**

51 Int. Cl.:

C07K 14/72 (2006.01)
C07K 14/59 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/564 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2002** **E 11158927 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019** **EP 2383290**

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

30 Prioridad:

23.08.2001 GB 0120649
01.07.2002 GB 0215212

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.12.2019

73 Titular/es:

RSR LIMITED (100.0%)
7 Robin Lane, High Bentham
Lancaster LA2 7AB, GB

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 736 165 T3

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

DESCRIPCIÓN

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

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

La tirotropina o la hormona estimulante de la tiroides (TSH) es una hormona hipofisaria que desempeña un papel clave en la regulación de la función de la tiroides. Su liberación está estimulada por la hormona TRH que se forma en el hipotálamo y controla la formación y liberación de las hormonas tiroideas importantes, tiroxina (T4) y triyodotironina (T3). Sobre la base de un mecanismo de retroalimentación, el contenido de hormona tiroidea del suero controla la liberación de TSH. La formación de T3 y T4 por las células tiroideas es estimulada por la TSH mediante un procedimiento en el que la TSH liberada por la pituitaria se une al receptor de la TSH de la membrana celular de la tiroides.

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

La enfermedad tiroidea autoinmune (AITD) es la enfermedad autoinmune más común que afecta a diferentes poblaciones en todo el mundo. Una proporción de pacientes con AITD, principalmente aquellos con enfermedad de Graves, tienen autoanticuerpos del receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente. Los autoanticuerpos se unen al receptor de la TSH y generalmente imitan las acciones de la TSH, estimulando la glándula tiroides para producir altos niveles de hormonas tiroideas. Estos autoanticuerpos se describen como que tienen actividad estimulante. En algunos pacientes, los autoanticuerpos se unen al receptor de la TSH pero no estimulan la producción de hormona tiroidea y se describen como que tienen actividad bloqueadora [J Sanders, Y Oda, SA Roberts, M. Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith "Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship". Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. Ed. T F Davies 1997 11 (3): 451-479. Pub. Bailliere Tindall, Londres].

Las mediciones de los autoanticuerpos del receptor de la TSH son importantes en el diagnóstico y el manejo de la AITD, particularmente la enfermedad de Graves. Actualmente se utilizan tres tipos de ensayos para medir los autoanticuerpos del receptor de la TSH:

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

La medición de los autoanticuerpos del receptor de la TSH usando tales ensayos se describe en las referencias J Sanders, Y Oda, S-A Roberts, M. Maruyama, J Furmaniak, B Rees Smith "Understanding the thyrotrophin receptor function-structure relationship". Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. Ed. T F Davies 1997 11 (3): 451-479. Pub. Bailliere Tindall, Londres y J Sanders, Y Oda, S Roberts, A Kiddie, T Richards, J Bolton, V McGrath, S Walters, D Jaskolski, J Furmaniak, B Rees Smith "The interaction of TSH receptor autoantibodies with 125I-labelled TSH receptor". Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1999 84 (10): 3797-3802. 52). Además, se han descrito procedimientos y ensayos para detectar autoanticuerpos en los documentos EP 1078986, DE19651093 o WO99/64865.

Sin embargo, hay una serie de limitaciones asociadas con el uso de los ensayos disponibles en la actualidad descritos anteriormente para medir autoanticuerpos del receptor de la TSH. Los ensayos competitivos del tipo (a) que están disponibles en diferentes formatos son generalmente sensibles, relativamente fáciles de realizar y adaptables para el uso rutinario. Sin embargo, los ensayos de radioreceptores competitivos conocidos hasta la fecha para detectar autoanticuerpos del receptor de la TSH tienen desventajas fundamentales de naturaleza práctica que pueden atribuirse al hecho de que la capacidad de unión de las preparaciones del receptor de la TSH generalmente reacciona muy sensiblemente a los cambios en el receptor o en una biomolécula unida por el. La unión de biomoléculas que son de naturaleza peptídica o proteica, por ejemplo, hormonas o autoanticuerpos, para los receptores es por lo general muy complicada en la naturaleza, y la unión específica entre el receptor y la biomolécula es mucho más sensible a las alteraciones estructurales, en particular del receptor, que es el caso de un par de unión antígeno/anticuerpo habitual que es la base de la mayoría de los inmunoensayos en los que están

involucrados los receptores. Los intentos de inmovilizar y/o marcar el receptor de la TSH han conducido, en general, a alteraciones estructurales que han perjudicado enormemente la funcionalidad del receptor.

En lo que respecta a los bioensayos del tipo mencionado en (b), estos tienden a ser caros, requieren mucho tiempo, requieren personal altamente cualificado y son esencialmente inadecuados para el uso rutinario.

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

La presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

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

Se proporciona por la presente descripción, por lo tanto, para uso en diagnóstico o terapia de enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria (es decir, una secuencia continua, de residuos de aminoácidos) de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

(en particular, dicha secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos); en el que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más particularmente, se proporciona mediante la presente descripción para uso en el diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los cuales interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

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

Alternativamente, la presente descripción proporciona un uso para el diagnóstico o la terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los que interactúan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), comprendiendo dicha secuencia polipeptídica, que consiste en o que consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

(en particular, dicha secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos);
en el que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

La presente descripción proporciona además el uso en el diagnóstico o la terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, (en particular dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos);
en el que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más particularmente, la presente descripción proporciona además el uso en el diagnóstico o la terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, (en particular dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos); en el que los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

La presente descripción proporciona además el uso en el diagnóstico o la terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más los epítomos del receptor de la TSH con los cuales los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, (en particular dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, y/o la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos); en el que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos) con dicha secuencia polipeptídica, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

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

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

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

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

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

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

Un uso diagnóstico o terapéutico particularmente preferido de acuerdo con la presente descripción, comprende el uso en el diagnóstico o terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH:

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

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos adicionales del receptor de la TSH con los cuales interactúan los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o los fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos,

en los que los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) con dichas secuencias polipeptídicas, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Más particularmente, dicho uso diagnóstico o terapéutico puede comprender:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítopos adicionales del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos;

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

Alternativamente, dicho uso diagnóstico o terapéutico puede comprender:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de la TSH con los cuales los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; y

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

en los que los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos) con dichas secuencias de polipéptidos, para permitir dicho diagnóstico o terapia.

Un uso terapéutico o diagnóstico particularmente preferido de acuerdo con la presente descripción comprende el uso en el diagnóstico o la terapia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH:

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

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

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

Más particularmente, dicho uso diagnóstico o terapéutico puede comprender:

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

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos adicionales del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dicha secuencia

polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos;

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

Alternativamente, dicho uso diagnóstico o terapéutico puede comprender:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de la TSH con los cuales los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos adicionales del receptor de la TSH con los que interactúan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos,

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

También puede preferirse además que el uso diagnóstico o terapéutico mencionado anteriormente emplee:

(i) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; y

(ii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos adicionales del receptor de la TSH con los cuales interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; además emplea:

(iii) una secuencia polipeptídica que comprende, que consiste en o consiste esencialmente en parte o en su totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos adicionales del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dicha secuencia polipeptídica que comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 381 a 385 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 381 a 385 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos.

Más particularmente, dicho uso diagnóstico o terapéutico preferido emplea:

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

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

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

Como se apreciará en las figuras adjuntas, las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente pueden ser de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, ratón, rata u ovino, y las secuencias específicas de aminoácidos en cada una de las especies mencionadas anteriormente se describen a continuación con mayor detalle con referencia a las Figuras 1, 3, 5 y 7.

También se proporciona mediante la presente descripción uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos), dichos uno o más epítomos del receptor de la TSH que comprenden, que consisten en o que consisten esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

Más particularmente, la presente descripción proporciona uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dichos uno o más epítomos del receptor de la TSH que comprenden, que consisten en o que consisten esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

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

10 Alternativamente, la presente descripción proporciona uno o más epítomos del receptor de la TSH con los cuales los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH interactúan (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), dichos uno o más epítomos del receptor de la TSH que comprenden, que consisten en o que consisten esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

25 La presente descripción proporciona además uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), dichos uno o más epítomos del receptores de la TSH que comprenden, que consisten o que consisten esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

40 como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, (en particular los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquier de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos; o los aminoácidos números
45 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos).

50 Más particularmente, la presente descripción proporciona además uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), dichos uno o más epítomos del receptor de la TSH que comprenden, que consisten en o que consisten esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o
55 derivados de tales fragmentos:

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

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

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

La presente descripción proporciona además uno o más epítomos del receptor de la TSH con los que interactúan los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), dichos epítomos del receptor de la TSH que comprenden, que consisten en o que consiste esencialmente en uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

Más preferiblemente, generalmente se prefiere que uno o más epítomos del receptor de la TSH comprendan uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

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

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

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

También se proporciona mediante la presente descripción un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende, consiste

en o consiste esencialmente en una parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

(en particular los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos y/o los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos), con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), con la excepción de un receptor de la TSH de longitud completa.

Más particularmente, la presente descripción proporciona un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos) y que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria (que es una secuencia continua de residuos de aminoácidos) de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con los cuales pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

Alternativamente, la presente descripción proporciona un polipéptido con el que pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos) y que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria (que es una secuencia continua de residuos de aminoácidos) de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

(en particular los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos y/o los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos), con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos); con la excepción de un receptor de la TSH de longitud completa.

La presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende, que consiste en, o que consiste esencialmente en una parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con el cual pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

Más particularmente, la presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con el que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

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

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

La presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos) y que comprende, consiste en o consiste esencialmente en parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con el que pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en de la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos:

los aminoácidos números 22 a 91 de un receptor de la TSH,

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

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

Más preferiblemente, generalmente se prefiere que un polipéptido de acuerdo con la presente descripción pueda comprender parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de uno o más epítomos de un receptor de la TSH con los cuales pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y, como tal, comprende, consiste en o consiste esencialmente en la conformación estructural primaria de uno o más de los siguientes, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos o variantes, análogos o derivados de dichos fragmentos, con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos):

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

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

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

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

También se prefiere de acuerdo con la presente descripción que se proporcione un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

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

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

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

Más particularmente, la presente descripción proporciona un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

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

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

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

Alternativamente, la presente descripción proporciona un polipéptido con el que pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

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

(ii) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos);

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

La presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de la TSH con la que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), que comprende el polipéptido, consiste en o consiste esencialmente en:

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

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

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

Más particularmente, la presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

- (i) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, con los que pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un TSH receptor con tales autoanticuerpos); y
- (ii) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, con los cuales pueden interactuar los autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un TSH receptor con tales autoanticuerpos);

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

La presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

- (i) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH como se representa en una de las secuencias de aminoácidos de la Figura 5, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un TSH receptor con tales linfocitos); y
- (ii) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH como se representa en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la Figura 3, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos, con los cuales pueden interactuar los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un TSH receptor con tales linfocitos);

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

También se prefiere de acuerdo con la presente descripción que se proporcione un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos del receptor de la TSH con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o los linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

- (i) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos);
- (ii) la conformación estructural primaria de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los aminoácidos números 246 a 260 de un receptor de la TSH, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con dichos autoanticuerpos o linfocitos); y

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

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

Más particularmente, la presente descripción proporciona además un polipéptido con el que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos) y que comprende parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos de un receptor de la TSH con los que pueden interactuar los autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con tales autoanticuerpos o linfocitos), cuyo polipéptido comprende, consiste en o consiste esencialmente en:

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

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

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

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

Como se apreciará en las Figuras adjuntas, tales secuencias de aminoácidos pueden ser de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, de ratón, rata u ovino, y las secuencias específicas de aminoácidos en cada una de las especies mencionadas anteriormente se describen a continuación con mayor detalle con referencia a las Figuras 1, 3, 5 y 7. Adecuadamente, en el caso en que los polipéptidos de acuerdo con el segundo aspecto de la presente descripción comprenden secuencias de aminoácidos correspondientes a parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de más de un epítomo de un receptor de la TSH, las secuencias de aminoácidos respectivas correspondientes a parte o la totalidad de la conformación estructural primaria de los epítomos respectivos se pueden separar mediante secuencias de aminoácidos enlazadoras para proporcionar preferiblemente las secuencias de aminoácidos respectivas en una conformación, disposición o secuencia que se asemeja o se parece sustancialmente a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como la presente en un sitio activo de un receptor de la TSH, y/o puede ser eficaz para proporcionar las secuencias de aminoácidos respectivas referidas anteriormente de un receptor de la TSH en una conformación, disposición o secuencia óptima para interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

Las secuencias polipeptídicas preferidas y los polipéptidos de acuerdo con la presente descripción comprenden, consisten en, o consisten esencialmente en, las secuencias numeradas de aminoácidos específicamente mencionadas de un receptor de la TSH como se muestra respectivamente en cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 o 7 adjuntas. Como se indicó anteriormente, sin embargo, la presente invención también cubre "variantes", "análogos", "derivados" y "fragmentos" de secuencias específicas de aminoácidos descritas en el presente documento y los términos "variantes", "análogos", "derivados" y "fragmentos" como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a secuencias de polipéptidos y polipéptidos de acuerdo con la presente descripción (tales como polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el presente documento con referencia a las Figuras adjuntas) pueden caracterizarse como secuencias de polipéptidos y polipéptidos que retienen esencialmente la misma función o actividad biológica (en términos de la interacción del autoanticuerpo y/o linfocito como se describe en el presente documento) que las secuencias polipeptídicas y polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos específicos como se describe en el

presente documento con referencia a las Figuras adjuntas. Adecuadamente, las variantes, análogos, derivados y fragmentos, o variantes, análogos o derivados de los fragmentos como se describen en el presente documento pueden tener una conformación estructural primaria de aminoácidos como se observa en las Figuras adjuntas, en las cuales varios o unos pocos (tal como 5 a 10, 1 a 5 o 1 a 3) de los residuos de aminoácidos se sustituyen, eliminan o agregan, en cualquier combinación. Especialmente preferidas entre estas son las sustituciones silenciosas, las adiciones son eliminaciones que no alteran o alteran sustancialmente la actividad o función biológica de los polipéptidos de acuerdo con la presente descripción como se describió específicamente anteriormente. Las sustituciones conservadoras pueden preferirse como se describe a continuación con mayor detalle.

Más particularmente, las variantes, análogos o derivados de polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas pueden ser:

- (i) aquellos en los que uno o más de los residuos de aminoácidos están sustituidos con un residuo de aminoácido conservado o no conservado (preferiblemente un residuo de aminoácido conservado); o
- (ii) aquellos en los que uno o más de los residuos de aminoácidos incluyen un grupo sustituyente; o
- (iii) aquellos que comprenden además aminoácidos adicionales que pueden ser eficaces para proporcionar los números de aminoácidos mencionados anteriormente de un receptor de la TSH que están presentes en un polipéptido de la presente invención en una conformación, disposición o secuencia que se parece o se parece sustancialmente a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como está presente en un sitio activo de un receptor de la TSH, y/o puede ser eficaz para proporcionar los números de aminoácidos mencionados anteriormente de un receptor de la TSH que están presentes en un polipéptido de la presente invención en una conformación, disposición o secuencia óptima para la interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

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

Típicamente, las variantes, análogos o derivados pueden ser aquellos que varían de una referencia (tales como polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas) por sustituciones de aminoácidos conservadoras. Tales sustituciones son aquellas que sustituyen un aminoácido dado en un polipéptido por otro aminoácido de características similares. Típicamente, se observa como sustituciones conservadoras los reemplazos, uno por otro, entre los aminoácidos alifáticos A, V, L e I; entre los residuos hidroxilo S y T; entre los residuos ácidos D y E; entre los residuos amida N y Q; entre los residuos básicos K y R; y entre los residuos aromáticos F y Y.

Se puede preferir que las variantes, análogos o derivados proporcionados por la presente descripción sean aquellos que además comprenden aminoácidos adicionales que pueden ser efectivos para proporcionar los mencionados anteriormente con los números de aminoácidos de un receptor de la TSH que están presentes en un polipéptido de la presente invención en una conformación, disposición o secuencia que parece o sustancialmente se parece a una conformación, disposición o secuencia de aminoácidos como la presente en un sitio activo de un receptor de la TSH, y/o puede ser eficaz para proporcionar los números de aminoácidos anteriormente mencionados de un receptor de la TSH que están presentes en un polipéptido de la presente invención en una conformación, disposición o secuencia óptima para la interacción con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

Más particularmente, el término "fragmento" como se usa en el presente documento denota un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es completamente igual a una parte, pero no a toda la secuencia de aminoácidos de un polipéptido que tiene una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados, como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, y variantes o derivados de los mismos y dichos fragmentos pueden ser "independientes", es decir, no formar parte o se fusionan con otros aminoácidos o polipéptidos, o pueden estar comprendidos dentro de un polipéptido más grande del cual forman una parte o región. Como se apreciará, los fragmentos de acuerdo con la presente invención comprenden o contienen la conformación estructural primaria de los aminoácidos presentes en uno o más epítopos de un receptor de la TSH como se describe en el presente documento para que sea capaz de interactuar con autoanticuerpos y/o linfocitos como se describe en el presente documento.

Los polipéptidos de la presente descripción, por lo tanto, incluyen polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, así como polipéptidos (a saber, variantes, análogos y derivados como se mencionaron anteriormente) que tienen al menos 70 % de identidad con polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, preferiblemente al menos 80 % de identidad con los polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, y más preferiblemente al menos un 90 % de identidad con los polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en este documento con referencia a las figuras adjuntas y aún más preferiblemente al menos un 95 % de identidad con polipéptidos que tienen una conformación

estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas y también incluye fragmentos de dichos polipéptidos sustancialmente como se mencionó anteriormente.

Un polipéptido de acuerdo con la presente descripción se obtiene adecuadamente, o puede obtenerse mediante la expresión de un polinucleótido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describe a continuación. Alternativamente, los polipéptidos de la invención pueden producirse sintéticamente mediante sintetizadores de péptidos convencionales que emplean técnicas que son bien conocidas en la técnica. Un polipéptido de acuerdo con la presente descripción así obtenido puede ser ventajoso al estar libre de asociación con otros polipéptidos eucariotas o contaminantes que de otro modo podrían asociarse con él en su entorno natural.

Los polipéptidos de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describe en el presente documento pueden expresarse en diversos sistemas que generan proteínas recombinantes. Por ejemplo, para la expresión en *E. coli*, el ADNc que codifica los polipéptidos apropiados de acuerdo con la presente invención se puede clonar en un vector, tal como pET22, pMEX8, pGEX2T o pQE81L His o un equivalente. En el caso de la expresión en levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* o *Schizosaccharomyces pombe*), pueden emplearse vectores tales como pYES2, pESP2 o pYES2/CT o un equivalente. El vector AcMNPV (Bac-N-Blue) o un equivalente puede usarse para la expresión en células de insecto y los vectores pRC/CMV, pcDNA3.1 o un equivalente pueden usarse para la expresión en células de mamíferos, tales como las células de ovario de hámster chino (CHO). Un polipéptido de acuerdo con la presente descripción puede expresarse como una proteína discreta, o como una proteína de fusión unida a, por ejemplo, glutatión S transferasa (GST) o un enlazador de polihistidina. Para una proteína discreta, se puede usar la purificación por cromatografía en columna de afinidad utilizando un anticuerpo monoclonal de ratón para la parte relevante de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción acoplado a una partícula de sefarosa. Si un polipéptido de acuerdo con la presente descripción se fusiona con GST, se puede usar la purificación por cromatografía de glutatión sefarosa para aislar la proteína de fusión. Se pueden usar proteasas específicas para separar GST de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción y se puede usar una segunda ronda de cromatografía de glutatión sefarosa para separar GST de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción. En el caso de péptidos unidos al enlazador de polihistidina, la purificación se puede llevar a cabo utilizando cromatografía de afinidad con metal inmovilizado.

La presente descripción proporciona además un proceso para preparar un polipéptido sustancialmente como se describió anteriormente, cuyo proceso comprende:

- (i) proporcionar una célula huésped sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento;
- (ii) cultivar la célula huésped; y
- (iii) recuperar un polipéptido de acuerdo con la presente descripción del mismo.

La recuperación de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción puede emplear típicamente técnicas de aislamiento y purificación convencionales, tales como separaciones cromatográficas o separaciones inmunológicas, conocidas por un experto en la técnica.

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

- (i) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento;
- (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos o secuencias de los números de aminoácidos especificados de un receptor de la TSH que se definen o se definen por referencia a cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7 ;
- (iii) una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de (ii), cuya secuencia de nucleótidos comprende bases de nucleótidos que codifican los números de aminoácidos especificados mencionados anteriormente de un receptor de la TSH que se definen por referencia a cualquiera de las Figuras 1, 3, 5 y 7, y cuyas bases de nucleótidos se definen por referencia a cualquiera de las Figuras 2, 4, 6 y 8;
- (iv) una secuencia de nucleótidos que difiere de la secuencia de (iii) en la secuencia del codón debido a la degeneración del código genético;
- (v) una secuencia de nucleótidos que comprende una variación alélica de la secuencia de (iii);
- (vi) una secuencia de nucleótidos que comprende un fragmento de cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii), (iv) o (v); o
- (vii) una secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones rigurosas con cualquiera de las secuencias de (i), (ii), (iii), (iv), (v) o (vi).

Las bases de nucleótidos de un polinucleótido de acuerdo con la presente descripción, que codifican para las regiones de epítipo mencionadas anteriormente de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, se pueden resumir de la siguiente manera.

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

Los polinucleótidos de la presente invención pueden estar en forma de ADN, incluyendo, por ejemplo, ADNc, ADN sintético y ADN genómico obtenidos apropiadamente mediante clonación o producidos por técnicas de síntesis química o por una combinación de los mismos. Una realización preferida de la presente invención comprende preferiblemente ADNc o ADN sintético. La secuencia de codificación que codifica un polipéptido de acuerdo con la presente descripción puede ser idéntica a la secuencia de codificación de un polinucleótido como se menciona anteriormente en (iii) y se define por referencia a cualquiera de las Figuras 2, 4, 6 y 8. También puede ser un polinucleótido con una secuencia diferente, que, como resultado de la redundancia (degeneración) del código genético, codifica un polipéptido de acuerdo con la presente descripción.

La presente descripción se refiere además a variantes de los polinucleótidos descritos anteriormente en el presente documento que codifican polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de los fragmentos y sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento con mayor detalle. Una variante del polinucleótido puede ser una variante natural tal como una variante alélica natural, o puede ser una variante que no se sabe que ocurra naturalmente. Dichas variantes no naturales del polinucleótido se pueden hacer mediante técnicas de mutagénesis.

Entre las variantes a este respecto están las variantes que difieren de los polinucleótidos mencionados anteriormente por sustituciones, eliminaciones o adiciones de nucleótidos. Las sustituciones, eliminaciones o adiciones pueden implicar uno o más nucleótidos. Las alteraciones en las regiones codificantes pueden producir sustituciones, eliminaciones o adiciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, de nuevo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Las variantes de polinucleótidos de acuerdo con la presente descripción son adecuadamente al menos el 70 % idénticos en toda su longitud a un polinucleótido que codifica polipéptidos que tienen una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas, y polinucleótidos que son complementarios a, o que hibridan con dichos polinucleótidos. Alternativamente, los más preferidos son los polinucleótidos que comprenden una región que es al menos el 80 % idéntica en toda su longitud a un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una conformación estructural primaria de aminoácidos especificados como se describe en el presente documento con referencia a las figuras adjuntas y los polinucleótidos que son complementarias a, o hibridan con, tales polinucleótidos. A este respecto, los polinucleótidos al menos el 90 % idénticos en toda su longitud a los mismos son particularmente preferidos, y entre estos polinucleótidos particularmente preferidos, aquellos con al menos el 95 % de identidad son especialmente preferidos. Además, aquellos con al menos un 97 % de identidad son altamente preferidos entre aquellos con al menos un 95 % de identidad, y entre estos aquellos con al menos un 98 % de identidad y al menos un 99 % de identidad son particularmente altamente preferidos, con al menos un 99 % de identidad siendo el más preferido.

Sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, la presente descripción se refiere además a polinucleótidos que se hibridan con las secuencias descritas anteriormente en el presente documento. A este respecto, la presente descripción se refiere especialmente a polinucleótidos que se hibridan en condiciones rigurosas con los polinucleótidos descritos anteriormente en el presente documento. Como se usa en este documento, el término "condiciones rigurosas" significa que la hibridación ocurrirá solo si hay al menos un 95 % y preferiblemente al menos un 97 % de identidad complementaria entre las secuencias.

La presente descripción también se refiere a vectores, que comprenden un polinucleótido o polinucleótidos de la presente descripción, células huésped que se modifican genéticamente con vectores de la descripción y la producción de polipéptidos de la invención mediante técnicas recombinantes.

- 5 La presente descripción, por lo tanto, proporciona además un sistema de vector biológicamente funcional que porta un polinucleótido sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y que es capaz de introducir el polinucleótido en el genoma de un organismo huésped.

- 10 Las células huésped pueden modificarse genéticamente para incorporar polinucleótidos y expresar polipéptidos de la presente descripción y la presente descripción proporciona además una célula huésped que se transforma o transfecta con un polinucleótido, o uno o más polinucleótidos, o un sistema de vectores, cada uno sustancialmente como se describe en el presente documento. La secuencia de ADN apropiada puede insertarse en el vector mediante cualquiera de una variedad de técnicas bien conocidas y rutinarias.

- 15 De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente descripción, también se proporciona un procedimiento de detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un humano) sospechoso de sufrir, ser susceptible de, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

- 20 (a) proporcionar ya sea (i) dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto o (ii) linfocitos aislados de dicha muestra;
 (b) poner en contacto dicha muestra o linfocitos aislados con un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (adecuadamente en condiciones
 25 que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho polipéptido interactúe con autoanticuerpos, o linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de la TSH, y presentes en, o aislados de, dicha muestra; y
 (c) controlar el grado, o efecto, de la interacción de dicho polipéptido con cualquiera de dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de la TSH y presentes o aislados de dicha muestra, lo
 30 que proporciona una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, en dicha muestra, o aislados de dicha muestra.

- Sustancialmente, como se describió anteriormente, un procedimiento de acuerdo con la presente descripción es adecuado para la detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una
 35 muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto. Sin embargo, un procedimiento de acuerdo con la presente descripción puede adaptarse particularmente para su uso en la detección de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto sustancialmente como se describe más adelante con mayor detalle.

- 40 En la presente descripción se proporciona en particular, por lo tanto, un procedimiento de detección de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un humano) sospechoso de sufrir, susceptible a, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

- 45 (a) proporcionar dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto;
 (b) poner en contacto dicha muestra con un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para
 50 permitir que dicho polipéptido interactúe con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH y presente en dicha muestra; y
 (c) controlar el grado de interacción de dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH y presente en dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos en dicha muestra.

- 55 Un procedimiento de acuerdo con la presente descripción puede emplear típicamente un control, tal como una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, en otras palabras, un sujeto que se sabe que no tiene una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH.

- Un procedimiento para detectar autoanticuerpos para un receptor de la TSH de acuerdo con la presente descripción
 60 puede comprender monitorizar directamente la interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en la muestra de fluido corporal del sujeto y (ii) un polipéptido, tal como se proporciona en la presente invención, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, típicamente empleando técnicas de ensayo de tipo sándwich no competitivas conocidas en la técnica.

- 65 Típicamente, en un procedimiento de acuerdo con la presente descripción que emplea técnicas no competitivas, el monitoreo del grado de interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en la muestra y (ii) un

polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, puede comprender proporcionar medios de marcación a un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, o a un compañero de unión para autoanticuerpos para un receptor de la TSH, pudiendo cualquiera de las técnicas monitorizar la interacción descrita anteriormente. Por ejemplo, un procedimiento de acuerdo con la presente descripción puede comprender marcar directa o indirectamente un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento; poner en contacto el polipéptido así marcado con una muestra de fluido corporal que se está examinando para detectar autoanticuerpos del receptor de la TSH a fin de proporcionar una mezcla de los mismos; y agregar a la mezcla un compañero de unión para los autoanticuerpos para un receptor de la TSH (tal como un reactivo anti-IgG) presente en la muestra de fluido corporal, para causar la precipitación de cualquier complejo de polipéptidos marcados y autoanticuerpos del receptor de la TSH presentes en la mezcla. Alternativamente, se puede preferir que un procedimiento de acuerdo con la presente descripción comprenda además la adición de un compañero de unión marcado para los autoanticuerpos del receptor de la TSH (tal como un reactivo anti-IgG marcado, por ejemplo, proteína A o IgG antihumana, o el receptor de la TSH marcado de longitud completa o un epítipo del mismo) a una mezcla obtenida al poner en contacto (i) un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, inmovilizado en un soporte y (ii) una muestra de fluido corporal que se está examinando para detectar autoanticuerpos para un receptor de la TSH.

Alternativamente, puede preferirse que un procedimiento de detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la muestra de fluido corporal de acuerdo con la presente descripción utilice los principios empleados en ensayos competitivos conocidos. Por ejemplo, un procedimiento de acuerdo con la presente descripción puede emplear al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Típicamente, un competidor como se emplea en un procedimiento de ensayo competitivo de acuerdo con la presente descripción puede comprender uno o más anticuerpos, que pueden ser naturales o parcial o totalmente producidos sintéticamente. Un competidor como se emplea en la presente descripción puede comprender alternativamente cualquier otra proteína (por ejemplo, TSH) que tenga un dominio o región de unión que sea capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Preferiblemente, sin embargo, un competidor como se emplea en la presente descripción comprende un anticuerpo monoclonal, recombinante o policlonal (especialmente un anticuerpo monoclonal), capaz de competir con los autoanticuerpos del receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento..

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

Normalmente, la monitorización en un procedimiento de ensayo competitivo de acuerdo con la presente descripción comprende comparar:

(i) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en ausencia de dicha muestra de fluido corporal que se está analizando (que es una muestra que se sospecha con enfermedad), opcionalmente en presencia de una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, típicamente un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH; con

(ii) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en presencia de dicha muestra de fluido corporal que se está analizando.

Típicamente, la comparación implica observar una disminución en la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y el competidor en (ii) en comparación con (i) para proporcionar una indicación de la presencia de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en dicha muestra. Típicamente, la disminución en la interacción se puede observar al marcar directa o indirectamente al competidor y al monitorear cualquier cambio en la interacción del competidor así marcado con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió en este documento anteriormente en ausencia y en presencia de una muestra del fluido corporal que se está analizando para detectar

autoanticuerpos contra un receptor de la TSH. Adecuadamente, un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede inmovilizarse para facilitar el control mencionado anteriormente.

5 Alternativamente, también se proporciona mediante la presente descripción un procedimiento de detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) sospechoso de sufrir, ser susceptible, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

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

(b) poner en contacto dicha muestra con

15 (i) un receptor de la TSH de longitud completa (típicamente un receptor de la TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante), y

20 (ii) al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos para un receptor de la TSH), para permitir que dicho receptor de la TSH de longitud completa interactúe ya sea con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en dicha muestra, o dicho competidor; y

25 (c) controlar la interacción de dicho receptor de la TSH de longitud completa con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de la TSH en dicha muestra.

El receptor de la TSH de longitud completa puede ser típicamente de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, de ratón, rata u ovino y más preferiblemente un receptor de la TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante. Un competidor para uso en tal ensayo comprende típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal (preferiblemente monoclonal) sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Adecuadamente, un marcador detectable que puede emplearse en un procedimiento de acuerdo con la presente descripción puede seleccionarse del grupo que consiste en marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores fluorescentes, colorantes y similares.

35 En el caso de que se emplee un marcador isotópico (tal como ^{125}I , ^{14}C , ^3H o ^{35}S), el control puede comprender medir la radioactividad dependiente de la unión de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. La radiactividad generalmente se mide utilizando un contador gamma o un contador de centelleo líquido.

40 En el caso de un procedimiento de detección para linfocitos de acuerdo con la presente descripción, generalmente se prefiere que los linfocitos se aislen inicialmente de una muestra de fluido corporal de un sujeto usando técnicas bien conocidas por un experto en la técnica seguido por el contacto con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción para estimular la proliferación de los linfocitos aislados. El monitoreo del efecto de la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción y tales linfocitos proliferantes, típicamente emplea medios conocidos en la técnica para monitorear tal proliferación de linfocitos.

De acuerdo con otra realización particularmente preferida de la presente descripción, se proporciona un kit para la detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un humano) sospechoso de sufrir, ser susceptible de, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho kit:

55 (a) un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento;

60 (b) medios para poner en contacto ya sea (i) una muestra de fluido corporal obtenida de dicho sujeto, o (ii) linfocitos aislados de una muestra de fluido corporal obtenida de dicho sujeto, con dicho polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (adecuadamente bajo condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho polipéptido interactúe con autoanticuerpos, o linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de la TSH, y presente en, o aislado a partir de dicha muestra; y

65 (c) medios para monitorear el grado, o efecto, de la interacción de dicho polipéptido con cualquiera de dichos autoanticuerpos, o dichos linfocitos, producidos en respuesta a un receptor de la TSH y presentes en, o aislados

de, dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos, o linfocitos, en dicha muestra o aislados de dicha muestra.

Básicamente como se describió anteriormente, un kit de acuerdo con la presente descripción es adecuado para la detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto. Sin embargo, un kit de acuerdo con la presente descripción puede adaptarse particularmente para su uso en la detección de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto sustancialmente como se describe más adelante con mayor detalle.

En la presente descripción se proporciona en particular, por lo tanto, un kit para la detección de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento;

(b) medios para poner en contacto una muestra de fluido corporal obtenida de dicho sujeto con dicho polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho polipéptido interactúe con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH y presentes en dicha muestra; y

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

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

Un kit para la detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH de acuerdo con la presente descripción puede comprender medios para monitorear directamente la interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en la muestra de fluido corporal del sujeto y (ii) un polipéptido, como se proporciona en la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, que comprende típicamente medios de ensayo de tipo sándwich no competitivos conocidos en la técnica.

Típicamente, en un kit de acuerdo con la presente descripción que comprende medios de ensayo no competitivos, se proporcionan medios para controlar el grado de interacción de (i) autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en la muestra y (ii) un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, y puede comprender medios de marcación proporcionados ya sea a un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, o a un compañero de unión para autoanticuerpos a un receptor de la TSH, cualquiera de los cuales permitiría el monitoreo de la interacción descrita anteriormente. Por ejemplo, un kit de acuerdo con la presente descripción puede comprender medios para marcar directa o indirectamente un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento; medios para poner en contacto el polipéptido marcado de este modo con una muestra de fluido corporal que se está examinando para detectar autoanticuerpos de un receptor de la TSH para proporcionar una mezcla de los mismos; un compañero de unión para autoanticuerpos para un receptor de la TSH (tal como un reactivo anti-IgG) presente en la muestra de fluido corporal; y medios para añadir el compañero de unión a la mezcla para provocar la precipitación de cualesquiera complejos del polipéptido marcado y los autoanticuerpos de receptor de la TSH presentes en la mezcla. Alternativamente, puede preferirse que un kit de acuerdo con la presente descripción comprenda además un compañero de unión marcado para autoanticuerpos del receptor de la TSH (tal como un reactivo anti-IgG marcado, por ejemplo, proteína A o anti-IgG humana, o un receptor de la TSH marcado de longitud completa o un epítipo del mismo) y medios para agregar el compañero de unión marcado a una mezcla obtenida poniendo en contacto (i) un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento inmovilizado a un soporte y (ii) una muestra de fluido corporal que se está analizando para autoanticuerpos para un receptor de la TSH.

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

Típicamente, un competidor como se emplea en un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente descripción puede comprender uno o más anticuerpos, que pueden ser naturales o parcial o totalmente producidos sintéticamente. Un competidor como se emplea en la presente descripción puede comprender alternativamente cualquier otra proteína que tenga un dominio o región de unión que sea capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Preferiblemente, sin embargo, un competidor como se emplea en la presente descripción comprende un anticuerpo monoclonal o policlonal (especialmente un anticuerpo monoclonal), capaz de competir con los autoanticuerpos del receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Típicamente, por lo tanto, un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente descripción puede comprender además al menos un competidor, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, por lo que un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede interactuar con cualquiera de los competidores, tal como un anticuerpo monoclonal o policlonal, o autoanticuerpos para un receptor de la TSH presentes en una muestra de fluido corporal que se está analizando.

Los medios de monitorización típicos en un kit de ensayo competitivo de acuerdo con la presente descripción comprenden medios para comparar:

(i) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en ausencia de dicha muestra de fluido corporal que se está analizando (que es una muestra sospechosa de enfermedad), opcionalmente en presencia de una muestra de fluido corporal de un sujeto normal, típicamente un sujeto que se sabe que no tiene enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH; con

(ii) la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y uno o más competidores sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal), en presencia de dicha muestra de fluido corporal que se está analizando.

Típicamente, la comparación implica observar una disminución en la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y el competidor en (ii) en comparación con (i) para proporcionar una indicación de la presencia de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en dicha muestra. Típicamente, la disminución en la interacción se puede observar al marcar directa o indirectamente al competidor y al monitorear cualquier cambio en la interacción del competidor así marcado con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento en ausencia y en presencia de una muestra del fluido corporal que se está analizando para detectar autoanticuerpos para un receptor de la TSH. Adecuadamente, un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede inmovilizarse para facilitar el control mencionado anteriormente.

Alternativamente, la presente descripción también proporciona un kit para la detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto (en particular un ser humano) sospechoso de sufrir, ser susceptible, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho kit:

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

(b) al menos un competidor capaz de competir con autoanticuerpos para un receptor de la TSH en la interacción del mismo con un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento;

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de la TSH de longitud completa y dicho competidor (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos para un receptor de la TSH), para permitir que dicho receptor de la TSH de longitud completa interactúe con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en dicha muestra, o dicho competidor; y

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

El receptor de la TSH de longitud completa puede ser típicamente de origen humano, porcino, bovino, canino, felino, de ratón, rata u ovino y más preferiblemente un receptor de la TSH de longitud completa obtenido de forma recombinante. Un competidor para uso en tal kit de ensayo comprende típicamente un anticuerpo monoclonal o policlonal (preferiblemente monoclonal) sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

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

10 En el caso de que se emplee un marcador isotópico (tal como ^{125}I , ^{14}C , ^3H o ^{35}S), los medios de monitoreo pueden comprender medios para medir la radioactividad dependiente de la unión de un polipéptido de acuerdo con la presente invención sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. La radiactividad generalmente se mide utilizando un contador gamma o un contador de centelleo líquido.

15 En el caso de un kit para la detección de linfocitos de acuerdo con la presente descripción, generalmente se prefiere que se proporcionen medios para aislar inicialmente linfocitos de una muestra de fluido corporal de un sujeto, usando técnicas bien conocidas por un experto en la técnica, y también se proporcionan medios para poner en contacto un polipéptido de acuerdo con la presente invención con tales linfocitos aislados para estimular la proliferación de los últimos por los primeros. Los medios (también conocidos por un experto en la técnica) para
20 monitorizar el efecto de la interacción de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción y tales linfocitos proliferantes, también se proporcionan en un kit de este tipo de acuerdo con la presente descripción.

Se apreciará a partir de la descripción anterior que la presente descripción proporciona procedimientos de ensayo y kits para detectar autoanticuerpos (en particular) o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. La
25 detección de tales autoanticuerpos y/o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en la muestra de fluido corporal (o al menos el nivel de dichos autoanticuerpos y/o linfocitos en la muestra) es indicativa de la presencia de enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en el sujeto del cual se obtuvo la muestra y, por lo tanto, puede permitir el diagnóstico de la posible aparición o presencia de
30 enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH.

Por lo tanto, la presente descripción proporciona además un procedimiento para diagnosticar la posible aparición o presencia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en un sujeto (en particular un ser humano) sospechoso de sufrir, susceptible de, tener o recuperarse de, una enfermedad
35 autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo el procedimiento la detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal del sujeto sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, y por lo tanto los autoanticuerpos y/o linfocitos detectados pueden proporcionar un diagnóstico de la posible aparición o presencia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en el sujeto.

40 La presente descripción proporciona además un procedimiento para retrasar o prevenir la aparición de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en un sujeto animal (en particular un sujeto humano) sospechoso de sufrir, susceptible a o recuperándose de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, cuyo procedimiento comprende detectar inicialmente
45 autoanticuerpos o linfocitos indicativos del inicio o la presencia de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, proporcionando de este modo un diagnóstico del posible inicio de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en el sujeto, y posteriormente, tratar terapéuticamente al sujeto para retrasar el inicio y/o prevenir la enfermedad
50 autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH.

Un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento es particularmente adecuado para uso en el tratamiento terapéutico de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH. Por ejemplo, la tolerancia puede lograrse
55 administrando un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento a un sujeto (en particular un sujeto humano) que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH.

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

La presente invención proporciona además un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Graves.

5 Las composiciones o medicamentos de acuerdo con la presente descripción deben contener una cantidad terapéutica o profiláctica de al menos un polipéptido de acuerdo con la presente descripción en un vehículo farmacéuticamente aceptable. El portador farmacéutico puede ser cualquier sustancia compatible, no tóxica, adecuada para el suministro de los polipéptidos al paciente. Se puede usar agua estéril, alcohol, grasas, ceras y sólidos inertes como portadores. Los adyuvantes farmacéuticamente aceptables, agentes tamponantes, agentes dispersantes y similares, también pueden incorporarse en las composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones pueden contener un único polipéptido o pueden contener dos o más polipéptidos de acuerdo con la presente descripción.

15 Puede ser deseable acoplar un polipéptido de acuerdo con la presente descripción a inmunoglobulinas, por ejemplo, IgG, o a las células linfoides del paciente que está siendo tratado para promover la tolerancia. Dicho enfoque se describe en Bradley-Mullen, Activation of Distinct Subsets of T Suppressor Cells with Type III Pneumococcal Polysaccharide Coupled to Syngeneic Spleen Cells, en: IMMUNOLOGICAL TOLERANCE TO SELF AND NON-SELF, Buttisto et al., eds., Annals NY Acad. Sci. Vol. 392, páginas 156-166, 1982. Alternativamente, los polipéptidos pueden modificarse para mantener o mejorar la unión al MHC mientras se reduce o elimina la unión al receptor de células T asociado. De esta manera, los polipéptidos modificados pueden competir con un receptor de la TSH natural para inhibir la activación de las células T auxiliares y, por lo tanto, inhibir la respuesta inmune. En todos los casos, se debe tener cuidado de que la administración de las composiciones farmacéuticas de la presente invención mejore, pero no potencie la respuesta autoinmune.

25 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente descripción son útiles para la administración parenteral. Preferiblemente, las composiciones se administrarán por vía parenteral, es decir, por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. Por lo tanto, la descripción proporciona composiciones para administración parenteral a un paciente, en las que las composiciones comprenden una solución o dispersión de los polipéptidos en un vehículo aceptable, como se describió anteriormente. La concentración de los polipéptidos en la composición farmacéutica puede variar ampliamente, es decir, desde menos de aproximadamente el 0,1 % en peso, siendo generalmente de al menos aproximadamente el 1 % en peso hasta tanto como el 20 % en peso o más. Las composiciones farmacéuticas típicas para inyección intramuscular se elaboran para contener, por ejemplo, 1 ml de agua tamponada estéril y 1 a 100 µg de un polipéptido purificado de la presente invención. Una composición típica para infusión intravenosa podría elaborarse para contener de 100 a 500 ml de solución estéril de Ringer y de 100 a 500 mg de un polipéptido purificado de la presente descripción. Los procedimientos reales para preparar composiciones administrables por vía parenteral son bien conocidos en la técnica y se describen con más detalle en diversas fuentes, incluyendo, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, décima quinta edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980).

40 Además de usar un polipéptido de acuerdo con la presente descripción directamente en composiciones farmacéuticas, también es posible usar un polipéptido de acuerdo con la presente descripción para mejorar la tolerancia a un receptor de la TSH en un sujeto sospechoso de sufrir, tener o recuperarse de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, empleando los siguientes principios. Más particularmente, los linfocitos de sangre periférica pueden recogerse del sujeto de una manera convencional y estimularse mediante la exposición a un polipéptido de acuerdo con la presente descripción, como se definió anteriormente. Normalmente, estarán presentes otros mitógenos y potenciadores del crecimiento, por ejemplo, fitohemaglutinina, interleuquina 2 y similares. Las células T auxiliares en proliferación pueden aislarse y clonarse, también bajo la estimulación de un polipéptido de acuerdo con la presente descripción. Los clones que continúan proliferando pueden usarse luego para preparar composiciones terapéuticas para el sujeto. Las células T clonadas pueden ser atenuadas, por ejemplo, por exposición a radiación, y administrado al sujeto para inducir tolerancia. Alternativamente, el receptor de células T o porciones del mismo pueden aislarse mediante procedimientos convencionales de purificación de proteínas de las células T clonadas y administrarse al individuo. Dichos procedimientos de inmunoterapia se describen generalmente en Sinha et al., (1990) Science 248: 1380-1388.

55 En algunos casos, después de que una célula T auxiliar se haya clonado como se describió anteriormente, puede ser posible desarrollar péptidos terapéuticos a partir del receptor de células T, en las que los péptidos serían beneficiosos para tratar a una población de pacientes que se sospecha que padecen, son susceptibles de tener o se recuperan de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH. En tales casos, el gen del receptor de células T puede aislarse y clonarse mediante técnicas convencionales y péptidos basados en el receptor producido por técnicas recombinantes como se describió anteriormente. Los péptidos producidos de forma recombinante pueden incorporarse luego en composiciones farmacéuticas como se describió anteriormente.

65 También se proporciona mediante la presente descripción un procedimiento de clonación de linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH, cuyo procedimiento comprende:

proporcionar una fuente de linfocitos;

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

aislar y clonar los linfocitos proliferantes.

La presente descripción también proporciona el uso de linfocitos clonados preparados como anteriormente, en el tratamiento terapéutico de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH. Se proporciona, por lo tanto, una composición farmacéutica que comprende linfocitos clonados preparados como anteriormente, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para los mismos y el uso de tales linfocitos clonados en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, en particular la enfermedad de Graves.

También se proporciona mediante la presente descripción uno o más agentes terapéuticos identificados que proporcionan un efecto terapéutico mediante la interacción con aminoácidos que comprenden parte o la totalidad de la conformación primaria de aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, y la presente descripción proporciona además uno o más agentes terapéuticos para su uso en la interacción terapéutica con aminoácidos que comprenden parte o la totalidad de la conformación primaria de los aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y como tales para su uso en el tratamiento terapéutico de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH.

Por lo tanto, la presente descripción proporciona además un procedimiento para tratar una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en un sujeto, procedimiento que comprende inicialmente la detección de autoanticuerpos o linfocitos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida del sujeto sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, proporcionando así un diagnóstico de enfermedad autoinmune en el sujeto, y administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico eficaz en el tratamiento de tal enfermedad autoinmune, tal como como un polipéptido de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

La presente descripción también proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH en un sujeto (en particular un sujeto humano), procedimiento que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico identificado por proporcionar un efecto terapéutico mediante la interacción con aminoácidos que comprenden parte o la totalidad de la conformación primaria de los aminoácidos de uno o más epítomos de un receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento

La cantidad de agente terapéutico administrado dependerá del estado de la enfermedad autoinmune específica que se esté tratando, posiblemente de la edad del paciente y, en última instancia, será a discreción de un médico tratante.

La presente descripción proporciona además, en combinación, un kit sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico eficaz en el tratamiento de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Sustancialmente, como se describió anteriormente en el presente documento, la muestra de fluido corporal que se está analizando mediante la presente descripción típicamente comprenderá muestras de sangre u otras fracciones de d fluido sanguíneo, tal como en particular muestras de suero o muestras de plasma, pero la muestra puede en principio ser otro fluido biológico, tal como saliva u orina o extractos de tejido solubilizados, o se pueden obtener mediante biopsia con aguja.

La presente descripción proporciona además un compañero de unión para un receptor de la TSH, tal como un anticuerpo para un receptor de la TSH, o un fragmento de un anticuerpo para un receptor de la TSH, cuyo compañero de unión puede interactuar con uno o más epítomos para un receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, en particular los aminoácidos números 277 a 296 de un receptor de la TSH. Adecuadamente, los anticuerpos proporcionados por la presente descripción pueden ser monoclonales (preferidos), recombinantes o policlonales. Típicamente, un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal, como se proporciona en la presente descripción, está en forma sustancialmente purificada.

Más específicamente, un anticuerpo monoclonal como se proporciona en la presente descripción puede comprender cualquiera de los anticuerpos monoclonales 3C7, 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 y 14D3 o fragmentos activos de los mismos, como se describe en los ejemplos y se ilustran adicionalmente por las figuras adjuntas. Los anticuerpos como 2B4, 8E2, 18C5, 4D7, 16E5, 17D2, 3B3 y 14D3, o fragmentos activos de los mismos, como se describe en los ejemplos, tienen preferiblemente una alta afinidad por un receptor de la TSH, tal como al menos

aproximadamente 10^8 molar⁻¹. Por lo tanto, la presente descripción proporciona además un anticuerpo monoclonal que tiene una afinidad de al menos aproximadamente 10^8 molar⁻¹ para uno o más epítomos de un receptor de la TSH y cuyo epítomo es proporcionado por una cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos de un receptor de la TSH:

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

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

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

La presente descripción también proporciona un anticuerpo monoclonal que tiene una afinidad de al menos aproximadamente 10^8 molar⁻¹ para uno o más epítomos de un receptor de la TSH y cuyo epítomo es proporcionado por una cualquiera de los siguientes secuencias de aminoácidos de un receptor de la TSH:

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

De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente descripción, se proporciona un compañero de unión para un receptor de la TSH, cuyo compañero de unión es capaz de unirse a un receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH, cuyo compañero de unión no comprende TSH o autoanticuerpos producidos naturalmente para el receptor de la TSH.

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

En un caso preferido, la presente descripción proporciona un compañero de unión para un receptor de la TSH, cuyo compañero de unión es capaz de unirse al receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH y que comprende:

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

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

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

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

Se puede preferir de acuerdo con la presente descripción que un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento comprenda un dominio V_H de anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento emparejado con un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende tanto los dominios V_H como V_L para un receptor de la TSH, aunque como se discutió adicionalmente, un

dominio V_H de anticuerpo, o un dominio V_L de anticuerpo, pueden usarse independientemente para unir un receptor de la TSH. Se apreciará, por lo tanto, que un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_H de anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento en ausencia de un dominio V_L de anticuerpo. También se apreciará, por lo tanto, que un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento en ausencia de un dominio V_H de anticuerpo. Alternativamente, un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede comprender un dominio V_H de anticuerpo emparejado con un dominio V_L de anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende los dominios V_H y V_L para un receptor de la TSH.

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

Se prevé además de acuerdo con la presente descripción que los dominios V_H sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento pueden emparejarse con dominios V_L distintos de los descritos específicamente en este documento. También se contempla adicionalmente de acuerdo con la presente descripción que los dominios V_L sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento pueden emparejarse con dominios V_H distintos de los descritos específicamente en este documento.

De acuerdo con una realización alternativa de la presente descripción, se proporciona un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento para un receptor de la TSH, cuyo compañero de unión es capaz de unirse al receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH y que puede comprender:

un dominio V_H de anticuerpo que comprende:

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

un dominio V_L de anticuerpo que comprende:

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

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

Una o más de las CDR mencionadas anteriormente pueden tomarse de los dominios V_H y V_L descritos anteriormente en el presente documento e incorporarse en un marco adecuado. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de una o más CDR sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede incorporarse en regiones marco de anticuerpos que difieren de aquellos específicamente descritos en este documento, incorporando por lo tanto dichos anticuerpos una o más CDR y que son capaces de unirse al receptor de la TSH, preferiblemente para estimular el receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Alternativamente, un compañero de unión de acuerdo con la presente descripción puede comprender un polipéptido capaz de unirse al receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y que comprende la conformación estructural primaria de aminoácidos representada por una o más CDR como se describió específicamente en el presente documento, opcionalmente junto con otros aminoácidos, cuyos aminoácidos adicionales pueden mejorar la afinidad de unión de una o más CDR como se describe en el presente documento para un receptor de la TSH o pueden no tener sustancialmente ningún papel en afectar las propiedades de unión del polipéptido para un receptor de la TSH.

Preferiblemente, un compañero de unión de acuerdo con la presente descripción incluye un anticuerpo. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, describe una inmunoglobulina ya sea natural o parcial o totalmente producida sintéticamente. El término también cubre cualquier polipéptido que tenga un dominio de unión que sea, o sea sustancialmente homólogo a, un dominio de unión a anticuerpo. Ejemplos de anticuerpos son los isotipos de inmunoglobulina y sus subclases y fragmentos isotípicos que comprenden un dominio de unión a antígeno tal como Fab, scFv o similares.

En particular, los fragmentos de anticuerpos específicamente como se describen en el presente documento forman un aspecto importante de la presente descripción. De esta manera, cuando un compañero de unión de acuerdo con la presente invención comprende un anticuerpo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, el anticuerpo puede comprender cualquiera de los siguientes fragmentos: (i) el fragmento Fab que consiste en los dominios V_L , V_H , C_L y C_H1 ; (ii) el fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y C_H1 ; (iii) el fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H ; (iv) el fragmento dAb que consiste en un dominio V_H ; (v) regiones CDR aisladas; (vi) fragmentos $F(ab')_2$, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados; y (vii) moléculas Fv de cadena sencilla (scFv), en las que un dominio V_H y un dominio V_L están unidos por un enlazador peptídico que permite que los dos dominios se asocien para formar un sitio de unión a antígeno.

Alternativamente, en el caso de que un compañero de unión de acuerdo con la presente descripción comprenda un anticuerpo, el anticuerpo puede comprender un anticuerpo completo, por lo que el anticuerpo incluye regiones variables y constantes, cuyas regiones variable y constante pueden ilustrarse adicionalmente para los anticuerpos proporcionados por la presente invención en referencia a cualquiera de las Figuras 9 a 24, o 41 a 52.

La presente descripción también abarca variantes, análogos y derivados de los compañeros de unión específicos, anticuerpos, dominios V_H , dominios V_L , CDR y polipéptidos descritos en el presente documento, cuyas variantes, análogos y derivados conservan la capacidad de unirse al receptor de la TSH, para estimular el receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Los términos variantes, análogos y derivados se describen sustancialmente en el presente documento antes de describir adicionalmente con mayor detalle con respecto a los polipéptidos de acuerdo con la presente descripción y lo que se entiende por estos términos como se describió anteriormente en el presente documento se aplica también a variantes, análogos y derivados de los compañeros de unión específicos de acuerdo con la presente descripción.

La presente descripción también proporciona un compañero de unión adicional capaz de unirse al receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente, y cuyo compañero de unión además puede competir por la unión al receptor de la TSH con cualquier compañero de unión específico descrita en el presente documento, cuyo compañero de unión adicional no comprende TSH o autoanticuerpos para un receptor de la TSH. En particular, este compañero de unión adicional puede comprender un anticuerpo adicional que tiene un sitio de unión para una región del epítipo de un receptor de la TSH adecuadamente como se describió anteriormente en el presente documento, que es un anticuerpo adicional capaz de unirse al receptor de la TSH para estimular el receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente y puede competir por la unión al receptor de la TSH con cualquier compañero de unión específico descrito en este documento.

También se proporciona mediante la presente descripción un polinucleótido que comprende:

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

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

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

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

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

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

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

Las variantes de polinucleótidos de acuerdo con la presente descripción son adecuadamente al menos un 70 % idénticas en toda su longitud a cualquier secuencia de polinucleótidos de (i), los más preferidos son polinucleótidos que comprenden una región que es al menos un 80 % idéntica en toda su longitud a cualquier secuencia de polinucleótidos de (i), son particularmente preferidos los polinucleótidos al menos el 90 % idénticos en toda su longitud a cualquier secuencia de polinucleótidos de (i), y entre estos polinucleótidos particularmente preferidos, aquellos con al menos el 95 % de identidad son especialmente preferidos. Lo que se entiende por variantes de secuencias polinucleotídicas específicas descritas en el presente documento se describieron anteriormente en el presente documento con mayor detalle.

La presente descripción proporciona además un sistema de vector biológicamente funcional que porta un polinucleótido sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y que es capaz de introducir el polinucleótido en el genoma de un organismo huésped.

La presente descripción también se refiere a células huésped que se transforman con polinucleótidos de la invención y a la producción de compañeros de unión de la descripción mediante técnicas recombinantes. Las células huésped pueden ser modificadas genéticamente para incorporar polinucleótidos y expresar compañeros de unión de la presente descripción.

Un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede tener aplicaciones diagnósticas y terapéuticas, y puede interactuar o unirse de manera ventajosa con una o más regiones epitópicas de un receptor de la TSH sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Por consiguiente, un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento puede emplearse en procedimientos de detección para detectar autoanticuerpos sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y también en procedimientos de diagnóstico sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. De esta manera, los compañeros de unión de acuerdo con la presente invención pueden emplearse en lugar de los competidores descritos hasta ahora para su uso en procedimientos de detección para detectar autoanticuerpos sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento y también en procedimientos de diagnóstico sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. De manera similar, los compañeros de unión de acuerdo con la presente descripción pueden emplearse en lugar de los competidores descritos hasta ahora para su uso en kits para uso en la detección de autoanticuerpos sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

La presente descripción también proporciona un procedimiento de detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

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

(b) poner en contacto dicha muestra con

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

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

(adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho receptor de la TSH, dichos uno o más epítopos del mismo o dichos polipéptidos, interactúen con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más compañeros de unión; y

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

Preferiblemente, un procedimiento de acuerdo con la presente descripción como se menciona anteriormente, comprende además proporcionar medios de marcación para uno o más compañeros de unión, medios de marcación adecuados que son sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

La presente descripción también proporciona un procedimiento de detección de autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto del que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

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

(b) poner en contacto dicha muestra con

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

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

(adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho receptor de la TSH, dichos uno o más epítopos del mismo o dichos polipéptidos, interactúen con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de la TSH presentes en dicha muestra, o dichos uno o más miembros de unión; y

(c) controlar la interacción de dicho receptor de la TSH, dichos uno o más epítopos del mismo o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos presentes en dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos para un receptor de la TSH en dicha muestra;

en el que dichos uno o más miembros de unión están directamente o indirectamente inmovilizados a una superficie antes o después de la etapa (b).

Típicamente, los uno o más miembros de unión comprenden uno o más compañeros de unión de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Adecuadamente, se proporcionan medios de marcación para el receptor de la TSH, los uno o más epítopos del mismo o el polipéptido.

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

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

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

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

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

De manera adecuada, un kit como el mencionado anteriormente comprende además medios de marcación para los uno o más compañeros de unión, siendo los medios de marcación adecuados sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

La presente descripción también proporciona un kit para la detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de la TSH, comprendiendo dicho kit:

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

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

(c) medios para poner en contacto dicha muestra de fluido corporal de dicho sujeto, dicho receptor de la TSH, dichos uno o más epítomos de los mismos o dicho polipéptido, y dichos uno o más miembros de unión, (adecuadamente en condiciones que permiten la interacción de un receptor de la TSH con autoanticuerpos producidos en respuesta a un receptor de la TSH) para permitir que dicho receptor de la TSH, dichos uno o más epítomos del mismo o dicho polipéptido, interactúen con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de la TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más miembros de unión;

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

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

Típicamente, los uno o más miembros de unión comprenden uno o más compañeros de unión de acuerdo con la presente descripción sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento. Adecuadamente, se proporcionan medios de marcación para el receptor de la TSH, los uno o más epítomos del mismo o el polipéptido.

Adecuadamente, se puede emplear un procedimiento o kit como se ha mencionado anteriormente, un polipéptido o epítomo de acuerdo con la presente descripción, sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

Sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, en presencia de autoanticuerpos para el receptor de la TSH, la unión del receptor de la TSH al miembro de unión inmovilizado o compañero de unión disminuirá. Un procedimiento y un kit de este tipo para la detección de autoanticuerpos para un receptor de la TSH pueden ser ventajosos para aliviar problemas que pueden asociarse con el receptor de la TSH cuando se inmovilizan en una superficie.

Un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento también se puede emplear de manera útil en la terapia. Por lo tanto, la presente descripción proporciona además procedimientos de tratamiento que comprenden la administración de un compañero de unión específico sustancialmente tal como se describió anteriormente en el presente documento, composiciones farmacéuticas que comprenden un compañero de unión específico sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento (junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables para el mismo), y el uso de un compañero de unión específico sustancialmente como se describió anteriormente en la fabricación de

un medicamento o composición, en particular un medicamento o composición para uso en la estimulación de tejido tiroideo y/o tejido que contiene un receptor de la TSH. En particular, un compañero de unión específico de acuerdo con la presente descripción puede emplearse en oncología, y en particular para uso en el diagnóstico, manejo y tratamiento del cáncer de tiroides.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente descripción incluyen aquellas adecuadas para administración oral, parenteral y tópica, aunque la ruta más adecuada generalmente dependerá de la condición de un paciente y de la enfermedad específica que se está tratando. La cantidad precisa de un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento para ser administrada a un paciente será responsabilidad de un médico tratante, aunque la dosis empleada dependerá de una serie de factores, que incluyen la edad y el sexo del paciente, la enfermedad específica que se está tratando y la vía de administración sustancialmente como se describió anteriormente.

La presente descripción proporciona además un procedimiento para estimular el tejido tiroideo y/o el tejido que contiene un receptor de la TSH, procedimiento que comprende administrar a un paciente que necesita tal estimulación una cantidad diagnóstica o terapéuticamente efectiva de un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento.

La presente descripción también proporciona en combinación, un compañero de unión sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, junto con uno o más agentes adicionales capaces de estimular el tejido tiroideo y/o el tejido que contiene un receptor de la TSH, para uso simultáneo, separado o secuencial en la estimulación del tejido tiroideo y/o tejido que contiene un receptor de la TSH. Preferiblemente, los uno o más agentes adicionales comprenden TSH humana recombinante y/o una o más variantes, análogos, derivados o fragmentos de los mismos, o variantes, análogos o derivados de tales fragmentos. Alternativamente, los uno o más agentes adicionales pueden actuar independientemente de la unión al receptor de la TSH.

Las siguientes explicaciones ilustrativas se proporcionan para facilitar la comprensión de ciertos términos utilizados en este documento. Las explicaciones se proporcionan por conveniencia y no son limitativas de la invención.

COMPAÑERO DE UNIÓN, o MIEMBRO DE UNIÓN, PARA UN RECEPTOR DE LA TSH, describe una molécula que tiene una especificidad de unión por un receptor de la TSH. Un compañero de unión o miembro de unión como se describe en el presente documento puede ser derivado naturalmente o producido total o parcialmente sintéticamente. Dicho compañero de unión o miembro de unión tiene un dominio o región que se une específicamente y, por lo tanto, es complementario a una o más regiones epitópicas de un receptor de la TSH.

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

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

FR denota regiones marco y representa el resto de los dominios variables ligeros y dominios variables pesados que no están presentes en las CDR.

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

CÉLULA HUÉSPED es una célula que se ha transformado o transfectado, o que es capaz de transformación o transfección por una secuencia de polinucleótidos exógena.

IDENTIDAD, como se conoce en la técnica, es la relación entre dos o más secuencias de polipéptidos, o dos o más secuencias de polinucleótidos, como se determina por comparación de las secuencias.

LC denota una cadena ligera de una molécula de anticuerpo.

LA ESTIMULACIÓN DE UN RECEPTOR DE LA TSH por un compañero de unión o miembro de unión como se describe en este documento denota la capacidad del compañero de unión o el miembro de unión para unirse a un receptor de la TSH y, por lo tanto, efectuar, por ejemplo, la producción de AMP cíclico como resultado de tal unión al receptor de la TSH. Dicha estimulación es análoga a las respuestas observadas en la unión de TSH o los autoanticuerpos del receptor de la TSH, a un receptor de la TSH y, de esta manera, un compañero de unión o miembro de unión como se describe en el presente documento imita el efecto de la TSH, o al autoanticuerpo del receptor de la TSH, que se une a un receptor de la TSH.

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

DOMINIO V_H denota regiones o dominios variables en cadenas pesadas de moléculas de anticuerpo.

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

- 5 La presente descripción se ilustrará ahora mediante las siguientes figuras y ejemplos, que no limitan el alcance de la descripción de ninguna manera.

La Figura 1 enumera los aminoácidos 1 a 200 de (en el siguiente orden) receptores de la TSH humana, porcina, bovina, felina, canina, de ratón, rata y ovina.

- 10 La Figura 2 enumera las bases de nucleótidos 1 a 300 que codifican para las regiones de (en el siguiente orden) los receptores de la TSH felina, bovina, canina, de ratón, porcina, de rata, ovina y humana.

- 15 La Figura 3 enumera los aminoácidos 200 a 300 de (en el siguiente orden) receptores de la TSH humana, porcina, bovina, felina, canina, de ratón, rata y ovina.

La Figura 4 enumera las bases de nucleótidos 700 a 899 que codifican para regiones de (en el siguiente orden) receptores de la TSH felina, bovina, canina, de ratón, porcina, de rata, ovina y humana.

- 20 La Figura 5 enumera los aminoácidos 250 a 449 de (en el siguiente orden) receptores de la TSH humana, porcina, bovina, felina, canina, de ratón, rata y ovina. Las secuencias BTSHR.PRO y CTSHR.PRO son un aminoácido más corto que las otras secuencias de TSHR enumeradas en la figura, y se incluye "x" para fines de alineación.

- 25 La Figura 6 enumera las bases de nucleótidos 750 a 1100 que codifican para regiones de (en el siguiente orden) receptores de la TSH felina, bovina, canina, de ratón, porcina, de rata, ovina y humana. Las secuencias COW.SEQ y CAT.SEQ son tres nucleótidos más cortas que las otras secuencias TSHR enumeradas en la figura, y se incluye "NNN" para fines de alineación.

- 30 La Figura 7 enumera los aminoácidos 350 a 500 de (en el siguiente orden) receptores de la TSH humana, porcina, bovina, felina, canina, de ratón, de rata y ovina. Las secuencias BTSHR.PRO y CTSHR.PRO son un aminoácido más corto que las otras secuencias de la TSHR enumeradas en la figura, y se incluye "x" para fines de alineación.

- 35 La Figura 8 enumera las bases de nucleótidos 1100 a 1299 que codifican para las regiones de (en el siguiente orden) receptores de la TSH felina, bovina, canina, de ratón, porcina, de rata, ovina y humana.

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

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

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

- 45 La Figura 12 enumera los aminoácidos de la cadena ligera (LC) de 4D7, que muestra la región o el dominio variable (a saber, los aminoácidos números 9 a 111), las CDR (a saber, los aminoácidos números 24 a 38 de CDR1, los aminoácidos números 54 a 60 de CDRII y los aminoácidos números 93 a 101 de CDRIII) y la región o dominio constante (a saber, los aminoácidos números 112 a 211).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Más específicamente, las Figuras 1 a 8 ilustran lo siguiente:

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

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

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

50 La Figura 3 enumera los aminoácidos 200 a 300 de los receptores de la TSH en las especies mencionadas anteriormente, que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos empleadas en la presente descripción:

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

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplo 1

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

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

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

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

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

(3) Reconocimiento de epítopos por MAb

El análisis de transferencia Western [Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies". Thyroid 2000 10 (12): 1051-1059.] Mostró que el MAb 2B4 se unió a un epítipo entre el aminoácido (aa) 380 y 418, el MAb 8E2 a un epítipo entre los aa 22 y 91 y el MAb 18b5 a un epítipo entre el aa 246 y 260 de la secuencia del receptor de la TSH. El análisis con superposición de los péptidos del receptor de la TSH que cubren estas regiones [Y Oda, J Sanders, M Evans, A Kiddie, A Munkley, C James, T Richards, J Wills, J Furmaniak, B Rees Smith "Epitope analysis of the human thyrotrophin (TSH) receptor using monoclonal antibodies". Thyroid 2000 10 (12): 1051-1059], mostró que MAb 2B4 reaccionó con los aa 381 a 385, MAb 8E2 con los aa 36 a 42 y MAb 18C5 con los aa 247 a 260.

(4) Preparación del receptor de la TSH marcado con ¹²⁵I

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

temperatura ambiente con un receptor de la TSH solubilizado y luego se usaron en un ensayo de inmunoprecipitación como se describe en la etapa (5).

(5) Inhibición de la unión del autoanticuerpo del receptor de la TSH (TRAb) al receptor de la TSH por los MAb

La inhibición de la unión de TRAb al receptor de la TSH por los MAb se probó de la siguiente manera: Se incubaron previamente 10 µL del receptor de la TSH marcado con ¹²⁵I (30.000 cpm) preparado en la etapa (4) con 20 µL de Fab 2B4 (5 y 10 mg/ml) durante 15 minutos a temperatura ambiente, seguido por incubación con 20 µL de suero de paciente positivo TRAb durante una hora a temperatura ambiente. Luego se agregaron 50 µL de Proteína A en fase sólida (un reactivo anti-IgG humana) y se continuó la incubación durante una hora a temperatura ambiente, seguido de una etapa de lavado y centrifugación a 1500 xg a 4 °C durante 30 minutos; aspiración y conteo de la radiactividad de los sedimentos. Se llevaron a cabo experimentos similares con los Fab 8E2 y 18C5 y la combinación de dos Fab juntos.

Resultados del Ejemplo 1

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

Ejemplo 2

Procedimientos

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

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

Los fragmentos F(ab)₂ se produjeron a partir de los MAb IgG purificados por digestión con pepsina seguido de cromatografía en una columna de afinidad de proteína A como se describe en Y. Oda, J. Sanders, S. Roberts, M. Maruyama, RP Kato, M. Pérez, VB Petersen, N. Wedlock, J. Furmaniak, B. Rees Smith 1998 "Binding characteristics of antibodies to the TSH receptor". Journal of Molecular Endocrinology 20: 233-244.

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

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

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

(a) Procedimiento PEG para uso con TSHR solubilizado con detergente

La inhibición de la unión de ¹²⁵I-TSH al receptor de la TSH solubilizado con detergente se analizó en un ensayo en el que se incubaron previamente 50 µL de MAb purificado como se describe en los procedimientos (1) anteriores durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 100 µL de ¹²⁵I-TSH (30.000 cpm) seguido de incubación a 37 °C durante una hora. Los complejos de ¹²⁵I-TSH y el receptor de la TSH se precipitaron mediante la adición de 2 ml de polietilenglicol al 16,5 % y 25 µL de suero de donante de sangre sano, se centrifugó a 1.500 xg durante 30 minutos a 4 °C, se aspiró y se contó la radioactividad de los sedimentos en un contador gamma.

(b) Procedimiento utilizando tubos recubiertos con TSHR

En este procedimiento, los tubos de plástico se recubren primero con un MAb tal como 4E31 que se une a una parte del TSHR no relacionado con la unión de TSH o TRAb. Luego se agregan preparaciones de TSH solubilizadas con detergente, se capturan con el MAb del TSHR y luego se inmovilizan en la superficie del tubo de tal manera que se puedan unir a TSH o TRAb. En particular, el MAb 4E31 reactivo con el extremo terminal C de TSHR C (10 µg/ml de

preparación de F(ab)₂ en Na₂CO₃ 0,1 M pH 9,2) se agregó a tubos de plástico (Nune Maxisorp, 200 µL por tubo) y se dejó que el recubrimiento procediera durante la noche a 4 °C. Después del lavado y el recubrimiento posterior (10 mg/ml de albúmina de suero bovino), los tubos se lavaron nuevamente con tampón de ensayo (Tris-HCl 10 mM, pH 7,8, NaCl 50 mM, 1 mg/ml de albúmina de suero bovino, Triton X 100 al 0,1 %). Luego se agregaron 200 µL de una preparación de TSHR solubilizada con detergente y se incubaron durante la noche a 4 °C, seguido de las etapas de aspiración y lavado. Después de eso, se agregaron 20 µL de tampón de "inicio" (Tris-HCl 10 mM, pH 7,8, NaCl 50 mM, 1 mg/ml de albúmina de suero bovino, NaN₃ 6 mM, Triton X-100 al 1 %) a los tubos recubiertos con TSHR seguido por 100 µL de MAb IgG purificada o sueros de pacientes y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas con agitación suave. Después de la aspiración, los tubos se lavaron dos veces con 1 ml de tampón de ensayo antes de la adición de 100 µL de ¹²⁵I-TSH (80.000 cpm) y la incubación a temperatura ambiente durante 20-60 minutos con agitación. Los tubos se lavaron dos veces con 1 ml de tampón de ensayo, se aspiraron y se contaron en un contador gamma.

(3) Análisis de las actividades de estimulación o bloqueo de la tiroides de los MAb.

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

Además, se analizó la capacidad de los MAb para estimular la producción de AMP cíclico en células de ovario de hámster chino (CHO) que expresan TSHR humana, tal como describen M. Kita, L. Ahma, P C. Mariani, H. Viase, P Unger, PN Graves, TF Davies 1999 "Regulation and transfer of a murine model of thyrotrophin receptor antibody mediated Graves' disease". Endocrinology 140: 1392-1398.

(4) Unión de MAb marcados con ¹²⁵I al TSHR y efecto de TRAb

La IgG purificada a partir de dos de los MAb que mostraron actividad de simulación de la tiroides (16E5 y 14D3, Tabla 2) se marcó con ¹²⁵I seguido de separación de ¹²⁵I no incorporado por filtración en Sephadex G-50 como en (4) en el Ejemplo 1.

Los tubos de plástico se recubrieron con preparaciones de TSHR como en 2b arriba. Posteriormente, se agregaron 100 µL de suero de prueba (de donantes de sangre sanos o de pacientes con enfermedad de Graves) y se incubaron los tubos durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación. Después de esta incubación, los tubos se lavaron 2 veces con tampón de ensayo. Luego, se agregaron 100 µL de IgG 16E5 o 14D3 marcados con ¹²⁵I (30.000 cpm diluidos en Tris-HCl 20 mM, pH 7,3, NaCl 50 mM, 1 mg/ml de albúmina de suero bovino, Triton X-100 al 0,1 %) a los tubos y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Luego, los tubos se lavaron dos veces con el mismo tampón que se usó para diluir los MAb marcados con ¹²⁵I y se contaron en un contador gamma.

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

Preparaciones de TSH solubilizadas con detergente (20 µL se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con 100 µL de suero de prueba y 20 µL de tampón de inicio (2b arriba). Luego se agregaron 100 µL de esta mezcla a tubos de plástico recubiertos con MAb del TSHR (como en 2b arriba) y se incubó durante 1 hora con agitación a temperatura ambiente. Luego los tubos se aspiraron y se lavaron dos veces (2b arriba) y 100 µL (30.000 cpm) de la preparación de F(ab)₂ de MAb 4E31 de TSHR del extremo terminal C marcado con ¹²⁵I como en el punto 4 anterior. Después de una incubación adicional durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación, se aspiraron los tubos, se lavaron dos veces y se contó la radioactividad con un contador gamma.

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

Los cebadores sentido y antisentido incluían secuencias adicionales del sitio de endonucleasas de restricción 5' para facilitar la clonación de productos de PCR. Los productos de RT-PCR se clonaron en el ADN de pUC18 preparado por el procedimiento de Qiagen (Qiagen) y se secuenciaron por el procedimiento de Sanger-Coulson

Resultados del Ejemplo 2

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

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

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

Esto indicó que los sueros de pacientes con enfermedad de Graves con actividad de TRAb inhiben la unión de MAb 16E5 del TSHR a TSHR. Los experimentos adicionales con 16E5 marcado se muestran en la tabla 5, en la que se comparan los efectos de los sueros de pacientes con enfermedad de Graves en (a) 16E5 marcado con ^{125}I con tubos recubiertos con TSHR y (b) unión con TSH marcado con ^{125}I a tubos recubiertos con TSHR. Se realizaron experimentos similares a los que se muestran en la tabla 5 con MAb 14D3 del TSHR marcado con ^{125}I y los resultados se muestran en la tabla 6.

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

(3) Como se muestra en la tabla 8, los tubos de plástico recubiertos con MAb 16E5 fueron capaces de unirse a TSHR y esta unión fue inhibida por los sueros de Graves que contienen autoanticuerpos TSHR. En particular, la detección de la unión a TSHR por parte del MAb 4E31 del TSHR marcado con ^{125}I mostró que (a) en presencia de sueros de donantes de sangre sanos, la unión a 4E31 marcado varió de 13,5-17,8 % del total de cpm añadidas, mientras que (b) en presencia de los sueros de Graves, la unión de MAb marcado varió de 1,8-4,8 % de las cpm totales agregadas. Se obtuvieron resultados similares con tubos de plástico recubiertos con MAb 14D3 (tabla 9).

Conclusiones

Los resultados presentados en las tablas 2-9 muestran:

(a) se han producido MAb del TSHR y fragmentos Fab de MAb que pueden estimular células tiroideas aisladas de forma similar a TRAb en los sueros de pacientes y de manera similar a la TSH. Diferentes MAb muestran diferentes grados de actividad estimulante.

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

(c) cuando los MAb se recubren sobre superficies de plástico, pueden unir los preparados de TSHR. Esta unión es inhibida por TRAb en los sueros de pacientes, proporcionando así un nuevo tipo de ensayo de TRAb.

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

Ejemplo 3

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

Procedimiento

La inhibición de la unión de Fab ^{125}I -16E5 al receptor de la TSH solubilizado con detergente se analizó en un ensayo en el que se incubaron 50 μL del MAb IgG (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) como se describió anteriormente con el receptor durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 100 μL de Fab ^{125}I -16E5 (30.000 cpm) seguido de incubación a temperatura ambiente durante 2 horas. Los complejos de Fab ^{125}I -16E5 y el receptor de la TSH se precipitaron mediante la adición de 2 ml de polietilenglicol al 16,5 % y 50 μL de suero de donante de sangre sano, se centrifugaron a 1500 x g durante 30 minutos a 4 °C, se aspiraron y la radioactividad de los sedimentos contados en un contador gamma.

Los resultados se muestran en la Tabla 10. A partir de la Tabla 10 se puede observar que el MAb 4D7 (que se une a la región del epitopo 246 a 260 y estimula células tiroideas aisladas) inhibe bastante fuertemente la unión del Fab 16E5 al receptor de la TSH (24,2 % de inhibición). Otros dos MAb, 3C7 y 18C5 también inhiben fuertemente la unión

a Fab 16E5 (17 y 15,7 % de inhibición, respectivamente) y también se unen a la región del epítipo 246 a 260. Se observa una inhibición débil con los otros MAb. Esto sugiere que la región del epítipo 246 a 260 está implicada en la unión de 16E5 al receptor de la TSH. Como los otros MAb 14D3 y 17D2 estimulantes compiten bien con la unión de 16E5 al receptor de la TSH, como se puede observar en la Tabla 10, la región del epítipo 246 a 260 es probablemente también importante para la unión del receptor de la TSH mediante 14D3 y 17D2.

Tabla 1: Inhibición de la unión de TRAb en el suero del paciente (K3) al receptor de la TSH por los Fab MAb

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

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

en la que A = ^{125}I -TSHR (cpm) inmunoprecipitado en presencia de sueros de prueba y MAb Fab de prueba como porcentaje del total de cpm de material agregado al tubo;

B = ^{125}I -TSHR (cpm) inmunoprecipitado en presencia de sueros de prueba y tampón de ensayo como porcentaje del total de cpm de material agregado al tubo.

Los resultados anteriores muestran que:

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

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

(3) uno o más de los MABs reactivos con una o más de las secuencias de receptores de la TSH anteriores se pueden usar para detectar y medir TRAb.

Tabla 2: Actividad estimulante de la tiroides de los MAb del TSHR probados utilizando células tiroideas porcinas aisladas

Muestra de prueba	Estimulación (%) ¹	Inhibición de la unión de TSH (%) ^{2,3}
IgG 16E5 200 µg/ml	466	nt

ES 2 736 165 T3

	20 µg/ml	332	83,3
	2 µg/ml	269	73,6
	0,2 µg/ml	157	nt
	0,02 µg/ml	52	nt
IgG 14D3	200 µg/ml	557	nt
	20 µg/ml	351	76,4
	2 µg/ml	323	61,0
	0,2 µg/ml	227	nt
	0,02 µg/ml	78	nt
IgG 17D2	200 µg/ml	377	nt
	20 µg/ml	207	81,3
	2 µg/ml	134	73,7
IgG 4D7	200 µg/ml	259	33 4
	20 µg/ml	31	nt
IgG^a 3B3	200 µg/ml	34	30,7
	20 µg/ml	37	6.1
IgG^a 2B4	20 µg/ml	100	nt
	2 µg/ml	116	69,9
Fab 3C7	1 mg/ml	348	45,2
Fab 4D7	1 mg/ml	512	48,6
Fab 16E5	200 µg/ml	425	53 ⁵
Fab 14D3	200 µg/ml	648	64 ⁵
Fab 17D2	200 µg/ml	274	45 ⁵
Fab^a 3B3	200 µg/ml	42	66,5 ⁴
Fab⁶ 2G2	1 mg/ml	55	0
	200 µg/ml	37	0
Paciente + para TRAb	dil 1:2	771	65 ⁷
	dil 1:4	530	nt
Reunión de sueros de donantes de sangre sanos	29		0,6
Suero negativo para TRAb	70		0

Notas de la Tabla 2

¹ Las preparaciones de IgG o Fab de MAb se diluyeron en la reunión de sueros de donantes de sangre sanos. La estimulación (%) se calculó como 100 veces la relación de: AMP cíclico producido en presencia de la muestra de prueba a AMP cíclico producido en presencia de una reunión de sueros de donantes de sangre sanos. Un nivel de estimulación de > 180 % se evaluó como positivo, es decir, este nivel de estimulación siempre fue mayor que el observado por los sueros de donantes de sangre sanos individuales.

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

³ Procedimiento = tubo recubierto

⁴ Inhibición probada a 250 µg/ml

⁵ Inhibición probada a 10 µg/ml

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

⁷ Inhibición con suero no diluido

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

nt = no probado a esta concentración

Tabla 3

Muestra de prueba ¹	Estimulación (%) ²	Inhibición de la unión a TSH (%) ^{3,4}
16E5 20 µg/ml	850	78,55
14D3 20 µg/ml	908	71,85
2B4 20 µg/ml	111	84,4
Muestra de prueba ¹	Estimulación (%) ²	Inhibición de la unión a TSH (%) ^{3,4}
Paciente + para TRAb	850	65,06
Reunión de sueros de donantes de sangre sanos	100	0

Notas de la Tabla 3:

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

² La estimulación (%) se calculó como 100 veces la relación de: AMP cíclico producido en presencia de la muestra de prueba con respecto a AMP cíclico producido en presencia de una reunión de sueros de donantes de sangre sanos.

³ La inhibición del nivel de unión a TSH de > 10 % es positiva.

⁴ Procedimiento = tubos recubiertos

⁵ Inhibición probada a 10 µg/ml

⁶ Probado por inhibición sin diluir.

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

Material de prueba ¹	Inhibición de la unión a TSH (%) ²	¹²⁵ I-16E5 unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado)
G1	21	5,6
G2	22,7	6,5
G3	24,7	3,5
G4	22,7	6,0
G5	28,1	3,6
G6	29,4	2,5
G7	29,3	5,8
G8	39	1,9
G9	31,9	6,8

(continuación)

Material de prueba ¹	Inhibición de la unión a TSH (%) ²	¹²⁵ I-16E5 unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado)
G10	34,8	5,4
G11	34,5	3,4
G12	35,3	4,2
G13	35,6	6,2
G14	36,9	2,8
G15	30,3	4,3
G16	35	2,2
G17	47,6	3,9
G18	43	3,4
G19	53,5	3,7
G20	59,2	7,5
G21	58,9	4,9
NPS	<14	27,5
NSF 1	<14	23,3
NSF 2	<14	30,2
NSF 3	<14	29,1
NSF 4	<14	22,8
NSF 5	<14	28,9
NSF 6	<14	31,0
NSF 7	<14	29,2
NSF 8	<14	35,3
NSF 9	<14	26,3
NSF 10	<14	25,2
Notas de la Tabla 4: ¹ Sueros G1-G22 son de pacientes con enfermedad de Graves Sueros NSF 1- NSF 10 son de donantes de sangre sanos NPS = reunión de sueros de donantes de sangre sanos ² Inhibición de la unión a TSH> 14 % es positiva; Procedimiento utilizado PEG		

Tabla 5: Efecto de los sueros de pacientes con enfermedad de Graves sobre la unión de ¹²⁵I-16E5 y la unión de ¹²⁵I-TSH a tubos recubiertos con TSHR

Material de prueba ¹	¹²⁵ I-16E5 unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I- 16E5 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-TSH (%) ^{2,3}
G23	13,2	44,0	8,9	27,1

ES 2 736 165 T3

(continuación)

Material de prueba ¹	¹²⁵ I-16E5 unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I- 16E5 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-TSH (%) ^{2,3}
G28	5,8	75,4	3,8	68,5
G29	13,3	43,6	8,0	34,4
G30	9,2	61,0	5,3	56,9
G32	11,9	49,6	7,5	38,4
G36	15,5	34,3	10,1	17,5
G38	16,1	31,8	10,0	18,3
G41	17,8	24,6	10,8	11,4
G43	5,9	75,0	4,0	67,2
G44	18,6	21,2	12,4	negativa
G45	5,1	78,4	3,5	71,0
G46	3,8	83,9	2,7	77,9
G47	7,2	69,5	4,3	64,8
G48	6,9	70,8	4,8	60,8
G49	9,1	61,4	6,1	49,6
G50	8,7	63,1	6,3	48,4
G51	11,9	49,6	7,9	35,2
G52	12,3	47,9	7,4	39,0
NSF 4	23,0	2,6	12,5	negativa
NSF 5	25,3	negativa	12,3	negativa
NSF 10	22,4	5,1	12,5	negativa
NSF 16	23,3	1,3	12,0	1,8
NSF 17	24,2	negativa	11,5	5,3
NSF 18	19,9	15,7	11,2	8,0
NSF 20	21,5	8,9	12,3	negativa
NSF 21	23,3	1,3	12,3	negativa
NSF 22	24,5	negativa	12,4	negativa
NSF 26	26,5	negativa	12,8	negativa

Notas de la Tabla 5:

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

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

³ La inhibición de la unión se calculó utilizando la fórmula:

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

en la que A = unión en presencia del suero de prueba,

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

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

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

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

(continuación)

Material de prueba ¹	¹²⁵ I-14D3 unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ²	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-14D3 (%) ^{2,3}	¹²⁵ I-TSH unido a tubos recubiertos con TSHR (% de recuento total agregado) ⁴	Inhibición de la unión de ¹²⁵ I-TSH (%) ^{3,4}
NSF 16	17,7	negativa	12,0	1,1
NSF 17	17,0	2,7	11,5	4,6
NSF 18	16,6	8,6	11,2	7,3
NSF 20	18,3	negativa	12,3	negativa
NSF 21	16,8	3,6	12,3	negativa
NSF 22	16,3	6,7	12,4	negativa
NSF 26	18,4	negativa	12,8	negativa

Notas de la Tabla 6:

¹ Sueros G23-G41 son de pacientes con enfermedad de Graves; sueros NSF son de donantes de sangre sanos

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

³ La inhibición de la unión se calculó utilizando la fórmula:

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

en la que A = unión en presencia del suero de prueba,

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

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

Tabla 7: Efecto de los sueros de diversos pacientes sobre la unión al tubo recubierto con TSHR por TSH, 16E5 y 14D3 marcados

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

Notas de la Tabla 7:

¹ El suero G42 es de un paciente con enfermedad de Graves;
los sueros D1 y D2 son de pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (positivos para autoanticuerpos para ácido glutámico descarboxilasa);

los sueros A1 y A2 son de pacientes con enfermedad de Addison (positivos para autoanticuerpos esteroides 21-hidroxilasa)

Todas las muestras de prueba se diluyeron en una reunión de sueros de donantes de sangre sanos y el factor de dilución se mostró como/5,/10,/20 o/100

² La inhibición de la unión se calculó utilizando la fórmula:

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

en la que A = unión en presencia del suero de prueba,

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

Tabla 8: Efecto de sueros de pacientes sobre la unión del TSHR a tubos revestidos con F(ab)₂ 16E5

Material de prueba ¹	TSHR marcado con ¹²⁵ I-4E31 unido a tubos recubiertos con F(ab) ₂ 16E5 (% de recuento total agregado)	Inhibición de la unión ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ³
G43	1,8	91,4	72,3
G44	4,8	77,2	45,1
G45	3,0	85,6	71,8
G46	2,0	90,2	83,8
G47	1,8	91,4	75,3
NSF 10	17,8	14,4	<14
NSF 17	14,8	29,1	<14
NSF 21	13,5	34,9	<14

Notas de la Tabla 8:

¹ Los sueros G43-47 son de pacientes con enfermedad de Graves;

Los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² La inhibición de la unión se calculó utilizando la fórmula:

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

en la que A = unión marcada con 4E31 en presencia del suero de prueba;

B = Media de la unión marcada con 4E31 para sueros de donantes de sangre sanos (15,4 %)

³ La inhibición de la unión de TSH > 14 % es positiva; Procedimiento utilizado PEG

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

Material de prueba ¹	TSHR marcado con ¹²⁵ I-4E31 unido a tubos recubiertos con F(ab) ₂ 14D3 (%de recuento total agregado)	Inhibición de la unión ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ³
Suero A	4,0	70	72
Suero B	6,9	49	40
Suero C	3,0	78	85

(continuación)

Material de prueba ¹	TSHR marcado con ¹²⁵ I-4E31 unido a tubos recubiertos con F(ab) ² 14D3 (%de recuento total agregado)	Inhibición de la unión ²	Inhibición de la unión de TSH (%) ³
Suero D	2,6	81	80
NSF 5	15,1	-12	<14
NSF 17	14,6	-9	<14
NSF 21	12,0	10	<14
NSF 23	11,8	12	<14

Notas de la Tabla 9:

¹ Los sueros A-D son de pacientes con enfermedad de Graves;

Los sueros NSF son de donantes de sangre sanos

² La inhibición de la unión se calculó utilizando la fórmula:

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

en la que A = unión marcada con 4E31 en presencia del suero de prueba;

B = Media de la unión marcada con 4E31 para sueros de donantes de sangre sanos (15,4 %)

³ La inhibición de la unión de TSH > 14 % es positiva; Procedimiento utilizado PEG

Tabla 10: Inhibición de la unión de Fab ¹²⁵I-16E5 a TSHR por los MAb TSHR

IgG (100 µg/ml)	% de inhibición	Región del epítipo (aa)
16E5	70,4	-
17D3	68,8	-
14D3	67,6	-
17D2	69,2	-
2G2	negativa	Específica para tiroglobulina
5D6	negativa	22-41
8E2	negativa	22-41
4B5	7,1	22-41
10C4	negativa	37-56
10D5	negativa	37-71
4D2	negativa	37-71
2E2	negativa	52-71
1D6	negativa	202-221
7B5	negativa	202-221
16B6	negativa	202-221
3C3	11,2	202-236

(continuación)

IgG (100 µg/ml)	% de inhibición	Región del epítipo (aa)
4B4	negativa	217-236
4E4	negativa	217-236
8D3	negativa	217-236
6D7	negativa	217-236
18C5	15,7	246-260
3C7	17	246-260
4D7	24,2	246-260
3B3	8,8	277-296
5B5	negativa	307-326
4E6	negativa	307-326
6E2	negativa	322-341
9C2	negativa	322-341
6B4	negativa	337-356
3E4	negativa	337-371
3F3	negativa	352-371
3B2	negativa	352-371
7C2	negativa	367-386
2B4	negativa	381-385
3E6	5,4	381-385
8E3	4,8	381-385
7C4	negativa	381-385
1D5	4,2	381-385
4E2	negativa	381-385
3D3	negativa	382-401
2C4	negativa	382-401
10C2	negativa	382-401
7E5	negativa	382-401

REIVINDICACIONES

1. Un kit para la detección de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de TSH, comprendiendo dicho kit:

(a) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos de un receptor de TSH que comprende los aminoácidos números 246-260 de un receptor de TSH o un polipéptido que comprende uno o más de dichos epítomos de un receptor de TSH;

(b) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos para un receptor de TSH, anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmento del mismo que comprende:

una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 30 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 32 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende ambas cadenas pesada y ligera; o una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 34 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 36 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende dichas cadenas pesada y ligera; o una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 38 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 40 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende dichas cadenas pesada y ligera;

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

(d) medios para monitorear la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos de un receptor de TSH o dicho polipéptido con dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos en dicha muestra.

2. Un procedimiento para la detección de autoanticuerpos para un receptor de TSH en una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto que se sospecha que padece, es susceptible de tener o se recupera de una enfermedad autoinmune asociada con una reacción inmune a un receptor de TSH, comprendiendo dicho procedimiento:

(a) poner en contacto una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto con (i) un receptor de TSH de longitud completa, uno o más epítomos de un receptor de TSH que comprende los aminoácidos números 246-260 de un receptor de TSH o un polipéptido que comprende uno o más de dichos epítomos de un receptor de TSH, y (ii) uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos para un receptor de TSH, anticuerpo monoclonal o recombinante o un fragmento del mismo que comprende:

una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 30 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 32 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende ambas cadenas pesada y ligera; o una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 34 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 36 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende dichas cadenas pesada y ligera; o una región variable de cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 38 emparejada con una región variable de cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos para la región variable como se muestra en la Figura 40 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende ambas cadenas pesada y ligera;

para permitir que dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos de un receptor de TSH o dicho polipéptido, interactúen con cualquiera de los autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, o dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos; y

(b) monitorizar la interacción de dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos de un receptor de la TSH o dicho polipéptido, con dichos autoanticuerpos para un receptor de TSH presente en dicha muestra, proporcionando así una indicación de la presencia de dichos autoanticuerpos en dicha muestra.

3. Un kit de acuerdo con la reivindicación 1 o un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos para uno o más epítomos del receptor de TSH es un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo que comprende un dominio F_{ab} o un anticuerpo recombinante o fragmento del mismo que comprende un dominio F_{ab} , que comprende: una cadena

pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 30 emparejada con una cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 32 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende dichas cadenas pesada y ligera; o una cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 34 emparejada con una cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 36 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende ambas cadenas pesada y ligera; o una cadena pesada (HC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 38 emparejada con una cadena ligera (LC) de anticuerpo codificada por una secuencia de polinucleótidos como se muestra en la Figura 40 para proporcionar un sitio de unión al anticuerpo que comprende ambas cadenas pesada y ligera.

4. Un kit de acuerdo con la reivindicación 1 o 3, que comprende además medios para inmovilizar directa o indirectamente dichos uno o más epítomos de un receptor de TSH o dicho polipéptido, en una superficie antes, simultáneamente con, o después de poner en contacto dicha muestra de fluido corporal con dichos uno o más epítomos o dicho polipéptido.

5. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 4, que comprende además medios para inmovilizar directa o indirectamente dicho anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmentos del mismo para uno o más epítomos del receptor de TSH en una superficie antes, simultáneamente con o después de poner en contacto dicha muestra de fluido corporal con dicho anticuerpo monoclonal o recombinante.

6. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 5, que comprende un receptor de TSH de longitud completa.

7. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 6, que comprende un polipéptido.

8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, que comprende además la etapa de inmovilizar directa o indirectamente dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos de un receptor de TSH o dicho polipéptido, en una superficie antes, simultáneamente con, o después de poner en contacto dicha muestra de fluido corporal con dicho receptor de TSH, dichos uno o más epítomos o dicho polipéptido.

9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, 3 u 8, que comprende además la etapa de inmovilizar directa o indirectamente dicho anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmentos del mismo para uno o más epítomos del receptor de TSH en una superficie antes, simultáneamente con o después de poner en contacto dicha muestra de fluido corporal con dicho anticuerpo monoclonal o recombinante.

10. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 8 o 9, que comprende usar un receptor de TSH de longitud completa.

11. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 8 o 9, que comprende usar un polipéptido.

12. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, o 3 a 7 o un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3, u 8 a 11, en el que dicho polipéptido comprende los aminoácidos 22 a 260 de un receptor de TSH.

13. Un kit de acuerdo con la reivindicación 12 o un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho polipéptido consiste en los aminoácidos 22 a 260 de un receptor de TSH.

14. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 7, o 12 a 13, que comprende además medios de marcación para dicho anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmentos del mismo.

15. Un kit de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dicho medio de marcación comprende un marcador seleccionado del grupo que consiste en marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores fluorescentes y colorantes.

16. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3 u 8 a 11, que comprende adicionalmente marcar dicho anticuerpo monoclonal o recombinante o fragmentos del mismo.

17. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dicha marcación comprende usar un marcador seleccionado del grupo que consiste en marcadores enzimáticos, marcadores isotópicos, marcadores quimioluminiscentes, marcadores fluorescentes y colorantes.

18. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dichos uno o más anticuerpos monoclonales o recombinantes o fragmentos de los mismos se inmovilizan directa o indirectamente sobre una superficie ya sea antes o después de la etapa (a).

	MRPTPLLQLALLLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT	La mayoría
1	MRPADLLQLVLLLDLPRDLGGMGCSPPCECHQEEDFRVT	HTSHR. PRO
1	MSLTPLLQLALVLALPRSLRGKGCPSPPCECHQEDDFRVT	PTSHR. PRO
1	MRPTPLLRLALFLVLPSSLGGERCPSPPCECRQEDDFRVT	BTSHR. PRO
1	MRQTPLLQLALLLSLPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT	CTSHR. PRO
1	MRPPPLLHLALLLALPRSLGGKGCPSPPCECHQEDDFRVT	DTSHR. PRO
1	MRPGSLLLLVLLLALSRLRGKECASPPCECHQEDDFRVT	MTSHR. PRO
1	MRPGSLLQLTLLLALPRSLWGRGCTSPPECHQEDDFRVT	RTSHR. PRO
1	MRPTPLLRLALLLVLPSSLWGERCPSPPECRQEDDFRVT	STSHRP. PRO
	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	La mayoría
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKLIETHLRTIPSHAFSNLPNISR	HTSHR. PRO
41	CKDIHSIPPLPPNTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	PTSHR. PRO
41	CKDIQSIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	BTSHR. PRO
41	CKDIHRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	CTSHR. PRO
41	CKDIHRIPTLPPSTQTLKFIETQLKTIPSRAFSNLPNISR	DTSHR. PRO
41	CKELHRIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	MTSHR. PRO
41	CKELHQIPSLPPSTQTLKLIETHLKTIPSLAFSSLPNISR	RTSHR. PRO
41	CKDIQRIPSLPPSTQTLKFIETHLKTIPSRAFSNLPNISR	STSHRP. PRO
	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPG	La mayoría
81	IYVSIDVTLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRNLTIDPD	HTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESQSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYINPG	PTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	BTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPG	CTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLSHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTSIDPD	DTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPD	MTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQRLPHSFYNLSKMTHIEIRNTRSLTYIDPD	RTSHR. PRO
81	IYLSIDATLQQLESHSFYNLSKVTHIEIRNTRSLTYIDSG	STSHRP. PRO
	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	La mayoría
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLKMFDPDLTKVSTDIFFILEITD	HTSHR. PRO
121	ALKDLPLLKFLGIFNTGLRIFDPDLTKVYSTDVFFILEITD	PTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD	BTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDLTKVYSTDVFFILEITD	CTSHR. PRO
121	ALKELPLLKFLGIFNTGLGVFPDVTKVYSTDVFFILEITD	DTSHR. PRO
121	ALTELPLLKFLGIFNTGLRIFDPDLTKIYSTDIFFILEITD	MTSHR. PRO

121	ALTELPLKFLGIFNTGLRIFPDLTKIYSTDVFFILEITD	RTSHR. PRO
121	ALKELPLKFLGIFNTGLRVFPDLTKIYSTDVFFILEITD	STSHRP. PRO
	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	La mayoría
161	NPYMTSIPVNAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGYAFNGT	HTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT	PTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	BTSHR. PRO
161	NPYMTSIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	CTSHR. PRO
161	NPYMASIPANAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	DTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSVQGHAFNGT	MTSHR. PRO
161	NPYMTSVPENAFQGLCNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	RTSHR. PRO
161	NPYMTSVPANAFQGLSNETLTLKLYNNGFTSIQGHAFNGT	STSHRP. PRO

Fig 1

	ATGAGGCCGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGCTGCTTCTCG	La mayoría
1	ATGAGGCCGACGCCCCCTGCTGCAGCTGGCGTTACTTCTCT	SEQ DE GATO
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGCTGGCGCTGTTTCTGG	SEQ DE VACA
1	ATGAGGCCGCGCCCCCTGCTGCACCTGGCGCTGCTTCTCG	SEQ DE PERRO
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTGCTGCTTGTCTGCTGCTCG	SEQ DE RATÓN
1	ATGAGTCTGACGCCCCCTGTTGCAGCTGGCGCTCGTTCTCG	SEQ DE PTSHR
1	ATGAGGCCAGGGTCCCTGCTCCAGCTCACTCTGCTGCTCG	SEQ DE RATA
1	ATGCGGCCGACGCCCCCTCCTGCGGTTGGCGCTGCTTCTGG	SEQ DE OVEJA
1	ATGAGGCCGGCGGACTTGCTGCAGCTGGTGCTGCTGCTCG	SEQ DE HTSHR
	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	La mayoría
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCCGTCTCC	SEQ DE GATO
41	TCTTGCCCAGCAGCCTCGGTGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	SEQ DE VACA
41	CCCTGCCCAGGAGCCTGGGGGGGAAGGGGTGTCTTCTCC	SEQ DE PERRO
41	CCCTGTCCAGGAGCCTGCGGGGCAAGAGTGTGCGTCTCC	SEQ DE RATÓN
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCAGGGGGAAAGGGGTGTCCGTCTCC	SEQ DE PTSHR
41	CCCTGCCCAGGAGCCTCTGGGGCAGAGGGTGTACTTCTCC	SEQ DE RATA
41	TCTTGCCCAGCAGCCTCTGGGGGGAGAGGTGTCCGTCTCC	SEQ DE OVEJA
41	ACCTGCCCAGGAGCCTGGGCGGAATGGGGTGTTCGTCTCC	SEQ DE HTSHR
	GCCCTGCGAGTGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	La mayoría
81	GCCCTGCGAGTGTCACCAGGAAGATGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE GATO
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE VACA
81	CCCCTGTGAGTGCCACCAGGAGGATGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE PERRO
81	ACCCTGTGAGTGTCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE RATÓN
81	GCCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE PTSHR
81	ACCCTGCGAATGCCACCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE RATA
81	GCCCTGCGAATGCCGCCAGGAGGACGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE OVEJA
81	ACCCTGCGAGTGCCATCAGGAGGAGGACTTCAGAGTCACC	SEQ DE HTSHR
	TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGCA	La mayoría
121	TGCAAGGATATTCACCGTATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	SEQ DE GATO
121	TGCAAGGACATCCAGAGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA	SEQ DE VACA
121	TGCAAGGATATCCACCGCATCCCCACCTACCACCCAGCA	SEQ DE PERRO
121	TGCAAGGAGCTCCACCGAATCCCCAGCCTGCCGCCAGCA	SEQ DE RATÓN
121	TGCAAGGATATCCACAGCATCCCCCCTTACCACCCAATA	SEQ DE PTSHR
121	TGCAAGGAACTCCACCAAATCCCCAGCCTACCGCCCAGCA	SEQ DE RATA
121	TGCAAGGACATCCAGCGCATCCCTAGCTTACCCCCCAGCA	SEQ DE OVEJA
121	TGCAAGGATATTCACCGCATCCCCAGCTTACCGCCCAGTA	SEQ DE HTSHR
	CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	La mayoría
161	CGCAGACTCTGAAATTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	SEQ DE GATO
161	CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	SEQ DE VACA
161	CGCAGACTCTGAAGTTTATAGAGACTCAGCTGAAAACCAT	SEQ DE PERRO
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCATCTGAAGACCAT	SEQ DE RATÓN
161	CTCAGACACTAAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	SEQ DE PTSHR
161	CCCAGACTCTGAAGCTCATCGAGACTCACCTGAAGACCAT	SEQ DE RATA
161	CGCAGACCCTGAAGTTTATAGAGACTCATCTGAAAACCAT	SEQ DE OVEJA
161	CGCAGACTCTGAAGCTTATTGAGACTCACCTGAGAACTAT	SEQ DE HTSHR

Fig 2

	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	La mayoría
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE GATO
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE VACA
201	TCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE PERRO
201	ACCCAGTCTTGCATTTTTCGAGTCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE RATÓN
201	CCCCAGTCGTGCATTTTCAAATCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE PTSHR
201	TCCCAGTCTTGCCTTTTTCGAGCCTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE RATA
201	TCCCAGTCGTGCGTTCTCAAATTTGCCCAATATTTCCAGG	SEQ DE OVEJA
201	TCCAAGTCATGCATTTTCTAATCTGCCCAATATTTCCAGA	SEQ DE HTSHR
	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	La mayoría
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGACTGGAAT	SEQ DE GATO
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCAGCTGGAAT	SEQ DE VACA
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAT	SEQ DE PERRO
241	ATCTATTTATCTATAGATGCAACTCTGCAGCGGCTGGAAC	SEQ DE RATÓN
241	ATCTACCTGTCAATAGATGCAACTCTACAGCAGCTGGAAT	SEQ DE PTSHR
241	ATCTATCTATCCATAGATGCCACTCTGCAGCGACTGGAGC	SEQ DE RATA
241	ATCTACTTGTCAATAGATGCGACTTTGCAGCAACTGGAAT	SEQ DE OVEJA
241	ATCTACGTATCTATAGATGTGACTCTGCAGCAGCTGGAAT	SEQ DE HTSHR
	CACATTCCTTCTACAATTTG	La mayoría
281	CACATTCCTTCTACAATTTG	SEQ DE GATO
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	SEQ DE VACA
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	SEQ DE PERRO
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	SEQ DE RATÓN
281	CACAGTCCTTCTACAATTTG	SEQ DE PTSHR
281	CACATTCTTTCTACAATTTG	SEQ DE RATA
281	CACATTCCTTCTACAATTTA	SEQ DE OVEJA
281	CACACTCCTTCTACAATTTG	SEQ DE HTSHR

Fig 2 continuación

	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT	La mayoría
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPSLLDVSQTSVT	HTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVFSGPTLLDVSYTSVT	PTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYTSVT	BTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT	CTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLSAIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT	DTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDNDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT	MTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDKDAFGGVYSGPTLLDVSYTSVT	RTSHR. PRO
200	TKLDAVYLNKNKYLTVIDQDAFAGVYSGPTLLDISYTSVT	STSHRP. PRO
	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	La mayoría
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	HTSHR. PRO
240	ALPPKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	PTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLRKLPLSLSFLHLTRADLSY	BTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	CTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	DTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKDTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	MTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIAKNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	RTSHR. PRO
240	ALPSKGLEHLKELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSY	STSHRP. PRO
	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	La mayoría
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	HTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	PTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILQSLM	BTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	CTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	DTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	MTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKKIRGILESLM	RTSHR. PRO
280	PSHCCAFKNQKNIRGILQSLM	STSHRP. PRO

Fig 3

	TCTTACACCAGTGTCCTGCCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	La mayoría
700	TCTTACACCAGTGTCCTGCCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	SEQ DE GATO
700	TCTTATACCAGTGTCACAGCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	SEQ DE VACA
700	TCTTACACCAGTGTTACTGCCCTGCCATCCAAAGGCCTGG	SEQ DE PERRO
700	TCTTCCACCAGCGTCACTGCCCTTCCCTCCAAAGGCCTGG	SEQ DE RATÓN
700	TCTTATACCAGTGTTACTGCCCTGCCACCCAAAGGCCTGG	SEQ DE PTSHR
700	TCTTCCACCAGCGTACTGCTCTTCCCTCCAAAGGCCTGG	SEQ DE RATA
700	TCTTATACCAGTGTCCTGCCCCTACCATCCAAAGGCCTGG	SEQ DE OVEJA
700	TCTCAAACCAGTGTCCTGCCCCTTCCATCCAAAGGCCTGG	SEQ DE HTSHR
	AGCACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	La mayoría
740	AGCACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE GATO
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE VACA
740	AGCATCTAAAGGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE PERRO
740	AGCACCTCAAAGAACTGATCGCAAAAGACACTTGGACTCT	SEQ DE RATÓN
740	AACACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAATACTTGGACTCT	SEQ DE PTSHR
740	AGCACCTCAAAGAGCTGATCGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE RATA
740	AACACCTGAAGGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE OVEJA
740	AGCACCTGAAGGAACTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCT	SEQ DE HTSHR
	AAAGAACTTCCACTTTTCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	La mayoría
780	AAAGAACTTCCACTTACCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE GATO
780	AAGGAACTTCTCTTTCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE VACA
780	AAAGAACTCCCACTTTCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE PERRO
780	CAAAAAGCTCCCGCTGTCGTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE RATÓN
780	AAAGAACTTCCACTGTCCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE PTSHR
780	CAAAAAGCTCCCGCTGTCCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE RATA
780	AAAGAACTTCTCTTTCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE OVEJA
780	TAAGAACTTCCACTTTCTTGAGTTTCTTCCACTCACA	SEQ DE HTSHR
	CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	La mayoría
820	CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE GATO
820	CGGGCTGACCTTTCTTATCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	SEQ DE VACA
820	CGGGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE PERRO
820	CGGGCTGACCTCTCTTACCCGAGCCACTGCTGCGCTTTTA	SEQ DE RATÓN
820	CGAGCTGACCTTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE PTSHR
820	CGGGCTGACCTCTCTTACCCAGTCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE RATA
820	CGGGCTGACCTTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE OVEJA
820	CGGGCTGACCTTTCTTACCCAGCCACTGCTGTGCTTTTA	SEQ DE HTSHR
	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	La mayoría
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	SEQ DE GATO
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	SEQ DE VACA
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	SEQ DE PERRO
860	AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGAT	SEQ DE RATÓN
860	AGAATCAGAAGAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAAT	SEQ DE PTSHR
860	AGAACCAGAAGAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGAT	SEQ DE RATA
860	AGAATCAGAAGAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAAT	SEQ DE OVEJA
860	AGAATCAGAAGAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTGAT	SEQ DE HTSHR

Fig 4

	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	La mayoría
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	HTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	PTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	BTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	CTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	DTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	MTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	RTSHR. PRO
250	KELIARNTWTLKKLPLSLSFLHLTRADLSYPSHCCAFKNQ	STSHRP. PRO
	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFYQYEED	La mayoría
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNALNSPLHQYEEN	HTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNAVNGPFYQYEED	PTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSASALNGPFYQYEDX	BTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNALNGPFDQYEYEE	CTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNTLNGPFDQYEYEE	DTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNLRGPIYQYEED	MTSHR. PRO
290	KKIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSVNVMRGPVYQYEED	RTSHR. PRO
290	KNIRGILESLMCNESSIRSLRQRKSASALNGPFYQYEED	STSHRP. PRO
	LGDSAGYKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	La mayoría
330	LGDSIVGYKEKSKFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	HTSHR. PRO
330	LGDSIVGNKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	PTSHR. PRO
330	LGDSAGYKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	BTSHR. PRO
330	LGDSAGYKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	CTSHR. PRO
330	LGDSAGYKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	DTSHR. PRO
330	PGDNSVGYKQNSKFQESPSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	MTSHR. PRO
330	LGDNHVGKQNSKFQEGPSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	RTSHR. PRO
330	LGDSAGYKENSQFQDTHSNHYVVFEEQEDEIIGFGQE	STSHRP. PRO
	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	La mayoría
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	HTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	PTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	BTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	CTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	DTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	MTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	RTSHR. PRO
370	LKNPQEETLQAFDSHYDYTVCGGSEDMVCTPKSDEFNPCE	STSHRP. PRO
	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	La mayoría
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	HTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	PTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	BTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	CTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	DTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	MTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	RTSHR. PRO
410	DIMGYKFLRIWWFVSLALLGNVFLVILLTSHYKLTVP	STSHRP. PRO

Fig 5

	GGAAGTGTAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	La mayoría
750	GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	SEQ DE GATO
750	GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAGGAAACTT	SEQ DE VACA
750	GGAGCTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTC	SEQ DE PERRO
750	AGAACTGATCGCAAAAGACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC	SEQ DE RATÓN
750	GGAAGTGTAGCAAGAAATACCTGGACTCTAAAGAAACTT	SEQ DE PTSHR
750	AGAGCTGATCGCAAGAACACCTGGACTCTCAAAAAGCTC	SEQ DE RATA
750	GGAATTGATAGCAAGAAACACTTGGACTCTAAAGAAACTT	SEQ DE OVEJA
750	GGAAGTGTAGCAAGAAACACCTGGACTCTAAGAAACTT	SEQ DE HTSHR
	CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	La mayoría
790	CCACTTACCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	SEQ DE GATO
790	CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	SEQ DE VACA
790	CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	SEQ DE PERRO
790	CCGCTGTCGTTGAGTTTCCTTCACCTCACTCGGGCTGACC	SEQ DE RATÓN
790	CCACTGTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGAGCTGACC	SEQ DE PTSHR
790	CCCCGTCTCTTGAGTTTCCTTCACCTCACTCGGGCTGACC	SEQ DE RATA
790	CCTCTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	SEQ DE OVEJA
790	CCACTTTCCTTGAGTTTCCTTCACCTCACACGGGCTGACC	SEQ DE HTSHR
	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	La mayoría
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE GATO
830	TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE VACA
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE PERRO
830	TCTCTTACCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAACCAGAA	SEQ DE RATÓN
830	TTTCTTATCCAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE PTSHR
830	TCTCTTACCCAAAGTCACTGCTGTGCTTTTAAGAACCAGAA	SEQ DE RATA
830	TTTCTTATCCGAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE OVEJA
830	TTTCTTACCCAAAGCCACTGCTGTGCTTTTAAGAATCAGAA	SEQ DE HTSHR
	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	La mayoría
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	SEQ DE GATO
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	SEQ DE VACA
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAA	SEQ DE PERRO
870	GAAAATCAGGGGAATCCTGGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	SEQ DE RATÓN
870	GAAGATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTAATGTGTAATGAG	SEQ DE PTSHR
870	GAAAATCAGGGGAATCCTAGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	SEQ DE RATA
870	GAATATCAGAGGAATCCTTCAGTCTTTAATGTGTAACGAG	SEQ DE OVEJA
870	GAAAATCAGAGGAATCCTTGAGTCTTTGATGTGTAATGAG	SEQ DE HTSHR
	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	La mayoría
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	SEQ DE GATO
910	AGCAGTATTCGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCAAGTG	SEQ DE VACA
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATA	SEQ DE PERRO
910	AGCAGTATCCGGAACCTTCGTCAAAGGAAATCAGTGAACA	SEQ DE RATÓN
910	AGCAGTATTCGGAGCCTGCGTCAGAGAAAATCTGTGAATG	SEQ DE PTSHR
910	AGTAGTATCCGGAACCTGCGTCAAAGAAAGTCAAGTGAACG	SEQ DE RATA
910	AGCAGTATTTGGGGCCTGCGTCAGAGAAAATCCGCGAGTG	SEQ DE OVEJA
910	AGCAGTATGCAGAGCTTGCGCCAGAGAAAATCTGTGAATG	SEQ DE HTSHR

Fig 6

	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT	La mayoría
950	CTTTGAATGGTCCCTTCGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	SEQ DE GATO
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAGGATNNNCT	SEQ DE VACA
950	CTTTGAATGGCCCCCTTTGACCAGGAATATGAAGAGTATCT	SEQ DE PERRO
950	TCTTGAGGGGTCCCATCTACCAGGAATATGAAGAAGATCC	SEQ DE RATÓN
950	CTGTAAATGGTCCCTTTTACCAAGAATATGAAGAGGATCT	SEQ DE PTSHR
950	TCATGAGGGGTCCCGTCTACCAGGAATATGAAGAAGGTCT	SEQ DE RATA
950	CTTTGAATGGTCCCTTCTACCAGGAATATGAAGAGGATCT	SEQ DE OVEJA
950	CCTTGAATAGCCCCCTCCACCAGGAATATGAAGAGAATCT	SEQ DE HTSHR
	GGGTGACAGCAGTGTTGGGTACAAGGAAAACCTCCAAGTTC	La mayoría
990	AGGTGACAGCCATGCTGGATATAAGGACAACTCTAAGTTC	SEQ DE GATO
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	SEQ DE VACA
990	GGGTGACAGCCATGCTGGGTACAAGGACAACTCTCAGTTC	SEQ DE PERRO
990	GGGTGACAACAGTGTTGGGTACAAACAAAACCTCCAAGTTC	SEQ DE RATÓN
990	GGGCGACACGAGTGTTGGGAATAAGGAAAACCTCCAAGTTC	SEQ DE PTSHR
990	GGGTGACAACCATGTTGGGTACAAACAAAACCTCCAAGTTC	SEQ DE RATA
990	GGGTGATGGCAGTGCTGGGTACAAGGAGAACTCCAAGTTC	SEQ DE OVEJA
990	GGGTGACAGCATTGTTGGGTACAAGGAAAAGTCCAAGTTC	SEQ DE HTSHR
	CAGGATACCCATAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG	La mayoría
1030	CAGGATACTCGCAGCAACTCTCATTATTATGTCTTCTTTG	SEQ DE GATO
1030	CAAGATACCCAAAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	SEQ DE VACA
1030	CAGGATACCGATAGCAATTCTCATTATTATGTCTTCTTCG	SEQ DE PERRO
1030	CAGGAGAGCCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	SEQ DE RATÓN
1030	CAGGATACCCATAGCAACTCCCATTACTACGTCTTCTTTG	SEQ DE PTSHR
1030	CAGGAGGGCCCCAAGCAACTCTCACTATTACGTCTTCTTTG	SEQ DE RATA
1030	CAAGATACCCACAGCAACTCTCATTACTATGTCTTCTTTG	SEQ DE OVEJA
1030	CAGGATACTCATAACAACGCTCATTATTACGTCTTCTTTG	SEQ DE HTSHR
	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	La mayoría
1070	AAGAACAANNNGACGAGATCCTTGGTTTTGG	SEQ DE GATO
1070	AGGAGCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG	SEQ DE VACA
1070	AAGAACAAGAAGATGAGATCCTCGGTTTTGG	SEQ DE PERRO
1070	AAGAACAAGAGGATGAGGTCGTTGGTTTCGG	SEQ DE RATÓN
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	SEQ DE PTSHR
1070	AAGAACAAGAGGACGAGATCATCGGTTTCGG	SEQ DE RATA
1070	AGGATCAAGAAGATGAGATCATCGGTTTTGG	SEQ DE OVEJA
1070	AAGAACAAGAGGATGAGATCATTGGTTTTGG	SEQ DE HTSHR

Fig 6 continuación

	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	La mayoría
350	AHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTI	HTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	PTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	BTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQXDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	CTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEILGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	DTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEVVVGFGQELKNPQEETLQAFESHYDYTV	MTSHR. PRO
350	SHYYVFFEEQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDSHYDYTV	RTSHR. PRO
350	SHYYVFFEDQEDEIIGFGQELKNPQEETLQAFDNHYDYTV	STSHR. PRO
	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	La mayoría
390	CGDSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	HTSHR. PRO
390	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	PTSHR. PRO
390	CGGSEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	BTSHR. PRO
390	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	CTSHR. PRO
390	CGGNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	DTSHR. PRO
390	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYRFLRIVVWFVSLAL	MTSHR. PRO
390	CGDNEDMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSPMAL	RTSHR. PRO
390	CGGSEEMVCTPKSDEFNPCEDIMGYKFLRIVVWFVSLAL	STSHR. PRO
	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	La mayoría
430	LGNVFLVILLTSHYKLNVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	HTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	PTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGLYLLL	BTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	CTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	DTSHR. PRO
430	LGNIFVLLILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	MTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGYLLL	RTSHR. PRO
430	LGNVFLVILLTSHYKLTVPFRFLMCNLAFADFCMGLYLLL	STSHR. PRO
	IASVDLYTHSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	La mayoría
470	IASVDLYTHSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	HTSHR. PRO
470	IASVDLYTQSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	PTSHR. PRO
470	IASVDLYTQSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	BTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYNNHAIDWQTGPGCNAAGFF	CTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	DTSHR. PRO
470	IASVDLYTHSEYNNHAIDWQTGPGCNTAGFF	MTSHR. PRO

470	IASVDLYTHTEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	RTSHR.PRO
470	IASVDLYTQSEYYNHAIWQTGPGCNTAGFF	STSHR.PRO

Fig 7

	GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCTCCAGGC	La mayoría
1100	GCCAGGAGCTTAAAAACCCACAAGAAGAGACCCTACAGGC	SEQ DE GATO
1100	GCCAACAGCTCAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC	SEQ DE VACA
1100	GGCAGGAGCTTAAAAACCCACAGGAAGAGACCCTCCAGGC	SEQ DE PERRO
1100	GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC	SEQ DE RATÓN
1100	GCCAAGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACCCTCCAGGC	SEQ DE PTSHR
1100	GCCAAGAGCTCAAAAATCCTCAGGAAGAGACTCTCCAAGC	SEQ DE RATA
1100	GCCAAGAGCTTAAAAACCCCCAGGAGGAGACCCTGCAGGC	SEQ DE OVEJA
1100	GCCAGGAGCTCAAAAACCCCCAGGAAGAGACTCTACAAGC	SEQ DE HTSHR
	CTTTGACAGCCATTATGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT	La mayoría
1140	CTTCGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGAGGCAAT	SEQ DE GATO
1140	CTTTGACAGCCATTACGACTATACCGTGTGTGGGGGCAGT	SEQ DE VACA
1140	CTTTGATAGCCATTATGACTACACTGTGTGTGGTGGCAAT	SEQ DE PERRO
1140	CTTCGAGAGCCACTATGACTACACGGTGTGTGGGGACAAC	SEQ DE RATÓN
1140	CTTTGACAGCCATTACGACTACACCGTGTGTGGGGGCAGT	SEQ DE PTSHR
1140	CTTCGACAGCCACTATGACTACACTGTGTGTGGGGACAAC	SEQ DE RATA
1140	CTTTGACAACCATTACGACTATACCGTGTGCGGGGGAGT	SEQ DE OVEJA
1140	TTTTGACAGCCATTATGACTACACCATATGTGGGGACAGT	SEQ DE HTSHR
	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	La mayoría
1180	GAAGACATGGTGTGTACTCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	SEQ DE GATO
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC	SEQ DE VACA
1180	GAAGACATGGTGTGTACTCCTAAGTCAGATGAGTTCAACC	SEQ DE PERRO
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGACGAGTTTAACC	SEQ DE RATÓN
1180	GAAGACATGGTGTGCACCCCCAAGTCAGATGAGTTCAACC	SEQ DE PTSHR
1180	GAGGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCAGACGAGTTTAACC	SEQ DE RATA
1180	GAGGAGATGGTGTGTACCCCCAAGTCGGATGAGTTCAACC	SEQ DE OVEJA
1180	GAAGACATGGTGTGTACCCCCAAGTCCGATGAGTTCAACC	SEQ DE HTSHR
	CCTGTGAAGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	La mayoría
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	SEQ DE GATO
1220	CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT	SEQ DE VACA
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGGATTGT	SEQ DE PERRO
1220	CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAGGTTCTGAGAATCGT	SEQ DE RATÓN
1220	CCTGTGAAGACATAATGGGCTACAGGTTCTGAGAATCGT	SEQ DE PTSHR
1220	CCTGTGAAGATATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATCGT	SEQ DE RATA
1220	CCTGTGAGGACATCATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	SEQ DE OVEJA
1220	CGTGTGAAGACATAATGGGCTACAAGTTCCTGAGAATTGT	SEQ DE HTSHR
	GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	La mayoría
1260	GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	SEQ DE GATO
1260	GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC	SEQ DE VACA
1260	GGTGTGGTTTGTAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	SEQ DE PERRO
1260	GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATATC	SEQ DE RATÓN
1260	GGTGTGGTTTGTAGCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	SEQ DE PTSHR
1260	GGTATGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC	SEQ DE RATA
1260	GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAACGTC	SEQ DE OVEJA
1260	GGTGTGGTTTGTGAGTCTGCTGGCTCTCCTGGGCAATGTC	SEQ DE HTSHR

Fig 8

4D7 - HC

DVQLKHS GP ELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGL
INPYTG GTNYNQKFKGKAKLTVDKSSSTAFMELL SLTSEDSAVYYCARDG
NLDYWGQ GTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA
HPASKTKVD

Fig 9

4D7 - HC

DVQLKHS GP ELVKPGASMKISCKASGYSFT	GYTMN	WVKQSHGKNLEWIGL	50
Cebador de PCR	CDR I		
INPYTG GTNYNQKFKG	KAKLTVDKSSSTAFMELL SLTSEDSAVYYCAR	DG	100
CDR II		CDR III	
NLDY	WGQ GTTLTVSS	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE	150
	región constante		
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVA			200
HPASKTKVD			209
Cebador de PCR			

Fig 10

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSFMHWFQQIPGQPPKL
 LIYAASNQSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY
 TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
 KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSPIVKSFNRECE

Fig 11

4D7 - LC

SIVMSQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDNYGFSFMHWFQQIPGQPPKL	50
Cebador de PCR CDR I	
LIYAASNQSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPY	100
CDR II CDR III	
TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
región constante	
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA	200
THKTSTSPIVKSFNRECE	218
Cebador de PCR	

Fig 12

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYNGATSYNQKFEDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASKTKVD

Fig 13

16E5 - HC

DVQLVQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFT	GYNMHWVKQSHGKSLEWIGY	50
Cebador de PCR	CDR I	
IDPYNGATSYNQKFED	KATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAR	100
CDR II		
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSS	AKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK	150
CDR III	región constante	
GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTSPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI		200
TCNVAHPASKTKVD		214
Cebador de PCR		

Fig 14

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVPGERVVFSCRASQSIGTSIHWHYQORTNGSPRLLIK
 ASESISGIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNRECE

Fig 15

16E5 - LC

DILLTQSPAILSVPGERVVFSC	RASQSIGTSIH	WHYQORTNGSPRLLIK	50
Cebador de PCR	CDR I		
ASESIS	GIFSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYC	QQSNRWPLT	100
CDR II		CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI			150
región constante			
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT			200
STSPIVKSFNRECE			214
Cebador de PCR			

Fig 16

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFTAYNMHWVKQTHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYHQKFKGKATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK
GYFPESVTVTNWSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTPPSSAWPSQTV
TCSVAHPASNTTVD

Fig 17

17D2 - HC

DVQIQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYSFT	<u>AYNMH</u>	WVKQTHGKSLEWIGY	50
Cebador de PCR	CDR I		
<u>IDPYSGATSYHQKFKG</u>	KATLTVDKSSSTAYMRLNSLTSEDSAVYYCAR	<u>RW</u>	100
CDR II			
<u>DWDPYAMDY</u>	WGQGTSTVTVSS	AKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVK	150
CDR III	región constante		
GYFPESVTVTNWSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTPPSSAWPSQTV			200
TCSVA	<u>HPASNTTVD</u>		214
Cebador de PCR			

Fig 18

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKY
 ASASISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNSWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFNRNEC

Fig 19

17D2 - LC

SVEMSQSPAILSVSPGERISFSC	<u>RASQSIGTSIH</u>	WYQQRTNGSPRLLIKY	50
Cebador de PCR	CDR I		
<u>ASASIS</u>	GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC	<u>QQSNSWPLT</u>	100
CDR II		CDR III	
GTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKI			150
región constante			
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKT			200
STSPIVKS	<u>FNRNEC</u>		214
Cebador de PCR			

Fig 20

14D3 - HC

DVQMQQPGPELVKPGASLKMSCKASGYSFTGYNMHWVKQSHGKSLEWIGY
IDPYSGATSYNQKFEGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRW
DWDPYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTSGSSVTLGCLVK
GYFPEPVTLTWNSSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSI
TCNVAHPASNTKVD

Fig 21

14D3 - HC

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

Fig 22

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVVFACRASQSIGTSIH~~WYQ~~QRTNGSPRLLIKY
 ASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQTNRWPLTFGA
 GTKLELKRADAAPT~~VSIFPPS~~SEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV~~KWKI~~
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT~~LT~~KDEYERHNSYTCEATHKT
 STSPIVKSFN~~RNEC~~

Fig 23

14D3 - LC

NILMTQSPAILSVPGERVVFAC	<u>RASQSIGTSIH</u>	WYQRTNGSPRLLIKY	50
Cebador de PCR	CDR I		
<u>ASESIS</u>	GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC	<u>QQTNRWPLT</u>	100
CDR II		CDR III	
GTKLELKRADAAPT	VSIFPPS	SEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
	región constante	KWKI	
DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT	LT	KDEYERHNSYTCEATHKT	200
STSPIVK	<u>SFN</u>	<u>RNEC</u>	214
Cebador de PCR			

Fig 24

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc
aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcactggctacacca
tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt
attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa
ggccaaattaactgtagacaagtcacccagcacagccttcagtgagctcc
tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggt
aaccttgactactggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa
aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccc aaa
ctaactccatgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggctatttccctgag
ccagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac
cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga
ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc
caccagccagcaagaccaaggtcgac

Fig 25

4D7 - HC

gacgtccagctgaagcactcaggacctgagctggtgaagcctggagcttc50
Cebador de PCR

aatgaagatatcctgtaaggcttctggttactcattcactggctacacca 100
CDR I

tgaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactt 150

attaatccttacactggtggtactaactacaaccagaagttcaagggcaa 200
CDR II

ggccaaattaactgtagacaagtcacccagcacagccttcattggagctcc250

tcagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggg 300
CDR III

aaccttgactacttggggccaaggcaccactctcacagtctcctcagccaa 350

aacgacacccccatctgtctatccactggcccctggatctgctgccaaa 400
región constante

ctaactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttcctgag 450

ccagtgaacgtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacac 500

cttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtga 550

ctgtcccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgcc 600

caccagccagcaagaccaaggtcgac 627
Cebador de PCR

Fig 26

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttctttggctgtgtctctagggca
gagggccaccatctcctgcagagccagcgaaactgttgataattatggct
ttagttttatgcactgggtccaacagataccgggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccggggctccctgccaggttag
tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg
aggatgatactgcaatgtatctgtcagcaaagtaaggaggttccgtac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

Fig 27

4D7 - LC

agcattgtgatgtcacagtcgccagcttcttttggtgtgtctcttagggca50
Cebador de PCR

gagggccaccatctcctgcagagccagcgaactggttgataattatggct 100
CDR I

ttagttttatgcactggttccaacagataccgggacagccacccaaactc 150

ctcatctatgctgcatccaaccaaggatccggggtccctgccaggtttag 200
CDR II

tggcagtgggtctgggacagacttcagcctcaacatccatcctatggagg250

aggatgatactgcaatgtattttctgtcagcaaagtaaggaggttccgtac 300
CDR III

acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaaa**cgggctgatgctgcacc** 350
región constante

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtg 400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc 450

aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgctcctgaacagttg 500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca 550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc 600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga 650
Cebador de PCR

gtgt 654

Fig 28

16E5 - HC

gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc
 agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcactgggtacaaca
 tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgggtat
 attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggacaa
 ggccacattgactgtagacaaaatcttcagcacagcctacatgcagctca
 acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
 gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
 cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcggtctatccactggccctg
 tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag
 ggttatttcctgagccagtgcacctgacctggaactctggatccctgtc
 cagtgggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc
 tcagcagctcagtgcactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctc
 acctgcaatgtggcccacccggccagcaagaccaaggtcgac

Fig 29

16E5 - HC

<u>gacgtccagttggtgcaatctggacctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
agtgaagatgtcctgcaaggcttctggttactcattcact <u>ggctacaaca</u>	100
	CDR I
<u>tgcact</u> tgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggg <u>tat</u>	150
<u>attgatccttacaatggtgctactagctacaaccagaaattcgaggac</u> aa	200
CDR II	
ggccacattgactgtagacaaatcttcagcacagcctacatgcagctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga <u>agatgg</u>	300
	CDR III
<u>gactgggacccttatgctatggactact</u> tggggtcaaggaacctcagtcac	350
cgtctcctca <u>gccaaaacaacagcccatcggtctatccactggccctg</u>	400
región constante	
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctggtcaag	450
ggttatttccctgagccagtgacctgacctggaactctggatccctgtc	500
cagtgggtgtgcacacctccccagctgtcctgcagtctgacctctacacc	550
tcagcagctcagtgactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac	600
acctgcaatgtggcc <u>caccgggccagcaagaccaaggtcgac</u>	642
Cebador de PCR	

Fig 30

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagtcctccagccatcctgtctgtgagtcaggaga
aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtcctatctctgggatattttctaggtttagtggcagtgatc
agggacagattttactcttaccatcaacagtggtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtg

Fig 31

16E5 - LC

gacatcttgctgactcagtctccagccatcctgtctgtgagtccaggaga50

Cebador de PCR

aagagtcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac 100

CDR I

actgggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat 150

gcttctgagtccatctctgggatattttctaggtttagtggcagtggatc 200

CDR II

agggacagattttactcttaccatcaacagtggtggagtctgaagatattg250

cagattattactgtcaacaaagtaataggtggccgctcacgttcggagct 300

CDR III

gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat350

región constante

cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt400

gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt450

gatggcagtgaacgacaaaatggcgctcctgaacagttggactgatcagga500

cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg550

acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca600

tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt 642

Cebador de PCR

Fig 32

17D2 - HC

gacgtccagatccagcagtcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
 agtgaagatgtcctgcaaggcttctgggttactcattcactgcctacaaca
 tgcactgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggttat
 attgatccttacagtgggtgctactagctaccaccagaaattcaagggcaa
 ggccacattgactggtgacaaatcttccagcacagcctacatgcgcctca
 acagcctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaagaagatgg
 gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaacctcagtcac
 cgtctcctcagccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccctg
 ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag
 ggctacttccctgagtcagtgactgtgacttggaaactctggatccctgtc
 cagcagtggtgcacaccttcccagctctcctgcagtcctggactctacacta
 tgagcagctcagtgactgtccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc
 acctgcagcgttgctcaccggccagcaacaccacggtcgac

Fig 33

17D2 - HC

<u>gacgtccagatccagcagtcctgggctgagctggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
agtgaagatgtcctgcaaggtctctggttactcattcact <u>gcctacaaca</u>	100
CDR I	
<u>tgcac</u> tgggtgaagcagacccatggaaagagccttgagtggattggt <u>tat</u>	150
<u>attgatccttacagtgggtgctactagctaccaccagaaattcaagggc</u> aa	200
CDR II	
ggccacattgactgttgacaaatcttcagcacagcctacatgcgcctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtcctattactgtgcaaga <u>agatgg</u>	300
<u>gactgggacccttatgctatggactac</u> tggggcaaggaacctcagtcac	350
CDR III	
cgtctcctca <u>gccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccctg</u>	400
región constante	
ggtgtggagatacaactggttcctccgtgactctgggatgcctggtcaag	450
ggctacttcctgagtcagtcagtcgtgacttggaactctggatccctgtc	500
cagcagtggtgcacaccttcccagctctcctgcagtcctggactctacacta	550
tgagcagctcagtcagtcgtccctccagcgcctggccaagtcagaccgtc	600
acctgcagcgttgct <u>cacccggccagcaacaccaacggtcgac</u>	642
Cebador de PCR	

Fig 34

17D2 - LC

agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtccaggaga
aagaatcagtttctcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcattaagtat
gcttctgcgtctatctctgggatcccttccagggttagtgggcagtggtatc
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaagtaatagctggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

Fig 35

17D2 - LC

<u>agcgttgagatgtcacagtcgccagccatcctgtctgtgagtcaggaga</u>	50
Cebador de PCR	
aagaatcagttttctcctgc <u>agggccagtcagagcattggcacaagcatac</u>	100
CDR I	
<u>act</u> tggtatcagcaaagaacaaatggtttctccaaggcttctcattaag <u>tat</u>	150
<u>gctttctgcgtctatctct</u> gggatcccttcaggttttagtggcagtggtatc	200
CDR II	
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg	250
cagattattactgt <u>caacaaagtaatagctggccgctcacg</u> ttcgggtgt	300
CDR III	
gggaccaagctggagctgaaac gggctgatgctgcaccaactgtatccat	350
región constante	
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt	400
gctttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt	450
gatggcagtgaaacgacaaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga	500
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg	550
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca	600
tcaacttcacccattgtcaaga <u>gcttcaacaggaatgagtgt</u>	642
Cebador de PCR	

Fig 36

14D3 - HC

gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctggtgaagcctggagcttc
actaaagatgtcctgcaaggcttctgggttactcattcactggctacaaca
tgcactgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggatat
attgatccttacagtgggtgctactagctacaaccagaaattcgagggcaa
ggccacattgactgtagacaaatcttccagcacagcctacatgcagctca
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagaagatgg
gactgggacccttatgctatggactactggggtcaaggaaacctcagtcac
cgtctcctcagccaaaacaacagcccatcggtctatccactggccctg
tgtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag
ggttatttccctgagccagtgccttgacctggaactctggatccctgtc
cagtgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagtctgacctctacaccc
tcagcagctcagtgcactgtaacctcgagcacctggcccagccagtcctac
acctgcaatgtggcccacccagccagcaacaccaagggtcgac

Fig 37

14D3 - HC

<u>gacgtccagatgcagcagcctgggcctgagctgggtgaagcctggagcttc</u>	50
Cebador de PCR	
actaaagatgtcctgcaaggttcttggttactcattcact <u>ggctacaaca</u>	100
CDR I	
<u>tgcac</u> tgggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattgga <u>tat</u>	150
<u>attgatccttacagtgggtgctactagctacaaccagaaattcgagggc</u> aa	200
CDR II	
ggccacattgactgtagacaaatcttcagcacagcctacatgcagctca	250
acagcctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaaga <u>agatgg</u>	300
CDR III	
<u>gactgggacccttatgctatggactact</u> tggggtcagggaacctcagtcac	350
cgtctcctcag gccaaaacaacagcccatcggtctatccactggccctg	400
constante	
t gtgtggagatacaagtggctcctcggtgactctaggatgcctgggtcaag	450
ggttat ttccctgagccagtga ccctgacctggaactctggatccctgtc	500
cagtgg tg tg cacac cttccc agctgt cctgc agt ctgac ct tacaccc	550
tcagcag ct cagtga ct gtaac ct cgagc ac ctggccc ag ccagtccatc	600
acctgcaatgtggcc <u>cacccagccagcaacaccaaggtcgac</u>	642
Cebador de PCR	

Fig 38

14D3 - LC

aacattctgatgacacagtcctccagccatcttgtctgtgagtcaggaga
aagagtcagtttcgcctgcagggccagtcagagcattggcacaagcatac
actggtatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaagtat
gcttctgagtcctatctctgggatcccttccaggtttagtggcagtggtatc
aggacagatcttactcttagcatcaacagtggtggagtcctgaagatattg
cagattattactgtcaacaaactaataggtggccgctcacgttcggtgct
gggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccat
cttcccaccatccagtgagcagtttaacatctggaggtgcctcagtcgtgt
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctcacgttgaccaagg
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca
tcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt

Fig 39

14D3 - LC

<u>aacattctgatgacacagtctccagccatcttgtctgtgagtccaggaga</u>	50
Cebador de PCR	
aagagtcagtttgcctgc <u>agggccagtcagagcattggcacaagcatac</u>	100
CDR I	
<u>ad</u> tggatcagcaaagaacaaatggttctccaaggcttctcataaag <u>tat</u>	150
<u>gcttctgagtctatctct</u> gggatcccttccaggtttagtggcagtggtatc	200
CDR II	
agggacagattttactcttagcatcaacagtggtggagtctgaagatattg	250
cagattattactgt <u>caacaaactaataggtggccgctcacg</u> ttcgggtgct	300
CDR III	
gggaccaagctggagctgaaac gggctgatgctgcaccaactgtatccat	350
región constante	
cttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgt	400
gcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagatt	450
gatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcagga	500
cagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaagg	550
acgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagaca	600
tcaacttcacccattgtcaaga <u>gcttcaacaggaatgagtgt</u>	642
Cebador de PCR	

Fig 40

3B3 - HC

DVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIKDTYMHWMKQRPEQGLEWIGR
IDPANGNTKYDPKFRGKATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDVAVYYCAYDG
YWGQGTLLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT
VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNV~~AHPA~~
SSTKVD

Fig 41

3B3 - HC

DVQLQQPGAELVKPGASVKLSCTTSGVNIK	<u>DTYMH</u>	WMKQRPEQGLEWIGR	50
Cebador de PCR	CDR I		
<u>IDPANGNTKYDPKFRG</u>	KATITADTSSNTVYVQLRSLTSEDVAVYYCAY	<u>DG</u>	100
CDR II		CDR III	
<u>Y</u> WGQGTLLVTVSAA	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVT		150
	región constante		
VTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNV	<u>AHPA</u>	200	
	Cebador de PCR		
<u>SSTKVD</u>			206

Fig 42

3B3 - LC

NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL
LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL
TFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA
THKTSTSPIVKSFKANEC

Fig 43

3B3 - LC

NIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNNFMHWYQQKPGQSPRL	50
Cebador de PCR CDR I	
LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTNPVEADDVATYYCQQSHKDPL	100
CDR II CDR III	
TFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV	150
región constante	
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA	200
THKTSTSPIVKSFKANEC	218
Cebador de PCR	

Fig 44

3C7 - HC

DVQLKHS GP ELVKPGASMKISCKASGYSTGYTMNWVKQSHGKNLDWIGL
INPYNGGTSYDQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG
LMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVA
HPASKTKVD

Fig 45

3C7 - HC

DVQLKHS GP ELVKPGASMKISCKASGYST	GYTMNWVKQSHGKNLDWIGL	50
Cebador de PCR	CDR I	
INPYNGGTSYDQKFKG	KATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDG	100
CDR II		
LMDYWGQGTSTVTVSS	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE	150
CDR III	región constante	
PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSSETVTCNVA		200
HPASKTKVD		209
Cebador de PCR		

Fig 46

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFCRASQSV DYNGISYMHWFQQKPGQPPKL
LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQS FEPH
TFGGGTKLEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINV
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDY SMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEA
THKTSTSPIVKSFN RNEC

Fig 47

3C7 - LC

DIVMTQTPASLAVSLGQRATIFC	<u>RASQSV DYNGISYMH</u>	WFQQKPGQPPKL	50
Cebador de PCR	CDR I		
LIYA	<u>AASNLES</u>	GIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC	100
	CDR II	CDR III	
<u>T</u>	FGGGTKLEIK	RADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINV	150
	región constante		
KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDY SMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEA			200
THKTSTSPIVKS			218
	<u>FN RNEC</u>		
	Cebador de PCR		

Fig 48

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFTRYWIHWLKQRPGQGLEWIGA
IFPGNRDTSYNQRFKGKAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTRWP
YYGSIYVNFDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL
VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE
TVTCNVAHPASSTKVD

Fig 49

2B4 - HC

DVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKASGYSFT	<u>RYWIHWLKQRPGQGLEWIGA</u>	50
Cebador de PCR	CDR I	
<u>IFPGNRDTSYNQRFKG</u>	KAEVTAVTSASTAYLDLSSLTNEDSAVYYCTR	100
CDR II		
<u>YYGSIYVNFDY</u>	WGQGTTLTVSS AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCL	150
CDR III	región constante	
VKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSE	200	
TVTCNVA	<u>HPASSTKVD</u>	216
Cebador de PCR		

Fig 50

2B4 - LC

DIVMTQSPLSLPVS LGDQASIS CRTSQNLVHRNGNTYLHWY LQKPGQSPK
LLIYKISNRFSGV PDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQGTHVP
PTFGGGTKLEIKRA DAAPTVSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDI
N
VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCE
ATHKTSTSPIVKSFNRNEC

Fig 51

2B4 - LC

DIVMTQSP	SLPVS	LG	DQAS	ISC	RTSQNLVHR	NGNTYLH	WYLQKPGQSPK	50
Cebador de PCR				CDR I				
LLIY	KISNRFS	GVPDR	FSGSG	SGTD	FTLKIS	RVEA	EDLG	100
CDR II						CDR III		
PT	FGGG	TKLEIK	RADA	APT	VSIF	PPS	SEQLTSGG	150
región constante								
VKWKIDG								200
SERQNGVLNSWTDQDSK								
STYSMSSTLT								
LTKDEYERHNSYTCE								
ATHKTSTSP								219
IVKSFNRNEC								
Cebador de PCR								

Fig 52

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc
 agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaaagacacctata
 tgcactggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaagg
 attgatcctgcgaatggtaataactaaatattgacccgaaattccggggcaa
 ggccactataacagcagacacatcctccaacacgggtctacgtgcaactca
 gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatggg
 tactggggccaagggactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc
 cccatctgtctatccactggcccctggatctgctgcccactaactcca
 tgggtgaccctgggatgcctgggtcaagggtatattccctgagccagtgaca
 gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagc
 tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtccct
 ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggttggccacccggcc
 agcagcaccaaggctcgac

Fig 53

3B3 - HC

gacgtccagctccagcagcctggagcagagcttgtgaagccaggggcctc50
Cebador de PCR
 agtcaagttgtcctgcaccacttctggcgtcaacattaaagacacctata 100
CDR I
 tgcactggatgaagcagaggcctgaacagggcctggagtggattggaagg 150
 attgatcctgcgaatggtaataactaaatatgaccgcgaattccggggc 200
CDR II
 ggccactataacagcagacacatcctccaacacgggtctacgtgcaactca250
 gaagcctgacatctgaggacactgccgtctattactgtgcctatgatgg 300
CDR III
 tactggggccaagggaactctggtcactgtctctgcagccaaaacgacacc 350
región constante
 cccatctgtctatccactggccccctggatctgctgccaaaactaactcca400
 tggtgaccctgggatgcctggcgaagggtatctccctgagccagtgaca450
 gtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagc500
 tgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgactgtcccct550
 ccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggttgccacccggcc600
Cebador de PCR
 agcagcaccaaggctcgac 618

Fig 54

3B3 - LC

aacattgtgatgacccaaactccagcctctttggctgtgtctotagggca
 gagggccaccatatcctgcagagccagtgaaagtgttgatagttatggca
 ataattttatgcactggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc
 ctcatctatcgtgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
 tggcagtgggtctaggacagacttcaccctcaccactaatcctgtggagg
 ctgatgatgttgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc
 acgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaacgggctgatgctgcacc
 aactgtatccatcttcccaccatccagtgcagcagttaacatctggaggtg
 cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
 aagtgggaagattgatggcagtgaacgacaaaaatggcgtcctgaacagttg
 gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca
 cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgagggc
 actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaaggaacatga
 gtgt

Fig 55

3B3 - LC

aacattgtgatgacccaaactccagcctcttttggtgtgtctctagggca50

Cebador de PCR

gagggccaccatatactgcagagccagtgaagtggtgatagttatggca 100

CDR I

ataattttatgcactgggtaccagcagaaaccaggacagtcacccagactc 150

ctcatctatcgatcatccaacctagaatctgggatccctgccagggttcag 200

CDR II

tggcagtggtgtctaggacagacttcacctcaccactaatcctgtggagg250

ctgatgatgttgcaacctattactgtcagcaaagtcataaggatccgctc 300

CDR III

acgttcgggtgctgggaccaagctggagctgaaa**cgggctgatgctgcacc** 350

región constante

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcaggttaacatctggagggt400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc450

aagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga650

Cebador de PCR

gtgt 652

Fig 56

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca
 atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccat
 gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactta
 ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagttcaagggcaag
 gccacattaactgtagacaagtcacccagcacagcctacatggagctcct
 cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc
 tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa
 acgacacccccatctgtctatccactggccccctggatctgctgccccaaac
 taactccatggtgacctgggatgcctggtcaagggctatttcctgagc
 cagtgcacagtgcacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacc
 tccccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac
 tgccccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacggtgccc
 acccgccagcaagaccaaggtcgac

Fig 57

3C7 - HC

gacgtccagctgaagcatcaggacctgagctggtgaagcctggagcttca50
Cebador de PCR
 atgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacacccat 100
CDR I
gaactgggtgaagcagagccatggaaagaaccttgagtggattggactta 150
CDR II
ttaatccttacaatggtggtactagctacgaccagaagttcaagggcaag 200

 gccacattaactgtagacaagtcacccagcacagcctacatggagctcct250

 cagtctgacatctgaggactctgcagtctattactgtgcaagagatggcc 300
CDR III
tgatggactactggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctcagccaaa 350
región constante
acgacacccccatctgtctatccactggccctggatctgctgcccac400
taactccatggtgaccctgggatgcctggtcaagggctatttcctgagc450
cagtgcagtgacctggaactctggatccctgtccagcgggtgtgcacacc500
ttcccagctgtcctgcagtctgacctctacactctgagcagctcagtgac550
tgccccctccagcacctggcccagcgagaccgtcacctgcaacgttgccc600

acccggccagcaagaccaaggtcgac 626
Cebador de PCR

Fig 58

3C7 - LC

gatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca
gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa
ttagttatatgcactgggtccaacagaaaccaggacagccacccaaactc
ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag
tggcagtgggtctgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggagg
aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac
acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaaacgggctgatgctgcacc
aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtg
cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc
aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttg
gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacccctca
cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctataacctgtgaggcc
actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga
gtgt

Fig 59

3C7 - LC

gatatattgtgatgacccaaactccagcttctttggctgtgtctctaggaca50

Cebador de PCR

gagagccactatcttctgcagagccagccagagtgtcgattataatggaa 100

CDR I

ttagttatatgcactggttccaacagaaaccaggacagccacccaaactc 150

ctcatctatgctgcatccaacctagaatctgggatccctgccaggttcag 200

CDR II

tggcagtgggtctgggacagacttcacctcaacatccatcctgtggagg250

aggaagatgctgcaacctattactgtcagcaaagttttgaggatccgcac 300

CDR III

acgttcggaggggggaccaagctggaaataaaaa**cgggctgatgctgcacc** 350

región constante

aactgtatccatcttcccaccatccagtgagcaggttaacatctggaggtg400

cctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtc450

aagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgctcctgaacagttg500

gactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctca550

cgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggcc600

actcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatga650

Cebador de PCR

gtgt 654

Fig 60

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagctctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc
cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga
tacctgggttaaaacagaggcctggacaggggtctagaatggattggtgct
atctttcctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa
ggccgaagtgactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca
gtagcctgacaaatgaggactctgcgggtctattactgtacaagatggcct
tactatgggttccatctaogttaactttgactactggggccaaggcaccac
tctcacagctctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg
cccctggatctgctgccccaaactaactccatgggtgacccctgggatgcctg
gtcaagggctatctccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc
cctgtccagcgggtgtgcacaccttcccagctgtcctgcagctctgacctct
acactctgagcagctcagtgactgtccctccagcacctggcccagcgag
accgtcacctgcaacggttggccacccagccagcagcaccaagggtcgac

Fig 61

2B4 - HC

gacgtccagctgcagcagctctgggactgtgctggcaaggcctggggcttc50

Cebador de PCR

cgtgaggatgtcctgcaaggcttctggctacagctttaccaggtactgga 100

CDR I

tacactgggttaaaacagaggcctggacaggggtctagaatggattggtgct 150

attttctcctggaaatcgtgataccagttacaaccagaggttcaagggcaa 200

CDR II

ggccgaagtgaactgcagtcacatccgccagcactgcctacttggacctca250

gtagcctgacaaatgaggactctgcggtctattactgtacaagatggcct 300

tactatgggtccatctacgttaactttgactadtggggccaaggcaccac 350

CDR III

tctcacagtctcctcagccaaaacgacacccccatctgtctatccactgg400

región constante

cccctggatctgctgccaaactaactccatgggtgaccctgggatgcctg450

gtcaagggctatttccctgagccagtgacagtgacctggaactctggatc500

cctgtccagcgggtgtgcacacctcccagctgtcctgcagtctgacctct550

acactctgagcagctcagtgactgtcccctccagcacctggcccagcgag600

accgtcacctgcaacgttgcccaccagccagcagcaccaaggtcgac 648

Cebador de PCR

Fig 62

2B4 - LC

gatattgtgatgacccagtctcctctctccctgcctgtcagtcttggaga
tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg
gaaacacctattttacattggtacctgcagaagccaggccagtctccaaag
ctcctgatttacaaaatttccaaccgattttctgggggtcccagacagggt
cagtggcagtggatcaggacagatttcacactcaagatcagcagagtgg
aggctgaggatctgggagtttatttctgctctcaaggtacacatgttcct
ccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgggctgatgctgc
accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag
gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat
gtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacag
ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcacc
tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag
gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa
tgagtgt

Fig 63

2B4 - LC

gatattgtgatgacccagtcctcctctctccctgcctgtcagtccttgaga50

Cebador de PCR

tcaagcctccatctcttgcagaactagtcagaaccttgtacacaggaatg 100

CDR I

gaaacacctatttacattggtagctgcagaagccaggccagtcctccaaag 150

ctcctgatttacaaaatttccaaccgattttctgggggtcccagacaggtt 200

CDR II

cagtggcagtgatcagggacagatttcacactcaagatcagcagagtg250

aggctgaggatctgggagtttattttctgctctcaagggtacacatgttcct 300

CDR III

ccgacgttcgggtggaggcaccaagctggaaatcaaa**cgggctgatgctgc** 350

región constante

accaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggag400

gtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaat450

gtcaagtggaagattgatggcagtgaaacgacaaaatggcgctcctgaacag500

ttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccc550

tcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgag600

gccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaa650

Cebador de PCR

tgagtgt 657

Fig 64