

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 828 507**

51 Int. Cl.:

G01N 33/564 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2014** **E 14003703 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2020** **EP 3018478**

54 Título: **Un autoanticuerpo novedoso diagnósticamente relevante**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.05.2021

73 Titular/es:
**EUROIMMUN MEDIZINISCHE
LABORDIAGNOSTIKA AG (100.0%)
Seekamp 31
23560 Lübeck, DE**

72 Inventor/es:
**STÖCKER, WINFRIED;
KOMOROWSKI, LARS;
SCHARF, MADELEINE;
MISKE, RAMONA;
DENNO, YVONNE;
DETTMANN, INGA-MADELEINE;
PROBST, CHRISTIAN y
TIEDE, STEPHAN**

74 Agente/Representante:
GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 828 507 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

Un autoanticuerpo novedoso diagnósticamente relevante

5 La presente invención se refiere a un procedimiento *in vitro* de diagnóstico de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo la etapa detectar en una muestra de un paciente un autoanticuerpo de unión al código de base de datos ITPR1 Q14643; al uso de un polipéptido que comprende los aminoácidos 1-1251 de código de base de datos ITPR1 Q14643 o una variante teniendo al menos 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643 para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 3, comprendiendo la etapa detectar autoanticuerpos de unión al código de base de datos ITPR1 Q14643; al uso de un autoanticuerpo, preferentemente un autoanticuerpo aislado, de unión al polipéptido del código de base de datos ITPR1 Q14643, en el que el autoanticuerpo está preferentemente en el complejo con dicho polipéptido, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con el carcinoma de mama, y en el que es detectado un autoanticuerpo contra ITPR1.

10 El desarrollo de sistemas de diagnóstico para enfermedades neurológicas es un desafío continuo en la ciencia biomédica, sobre todo porque muchos de los síntomas encontrados pueden responder a una enorme variedad de causas, que incluyen enfermedades heredadas genéticamente, abuso de drogas, desnutrición, infecciones, lesiones, enfermedades psiquiátricas, defectos inmunológicos y cáncer.

15 Debido a que una enfermedad neurológica rara vez es asociada con un patrón característico de síntomas clínicos, a menudo es difícil proporcionar un diagnóstico confiable basado únicamente en la observación y el examen de los pacientes afectados o su historial médico.

20 No es posible sobreestimar la importancia de un diagnóstico temprano. Muchos trastornos neurológicos, en forma más preponderante las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, no tienen cura, pero hay fármacos disponibles que pueden ser usados para ralentizar su progresión. Cuanto antes sea el diagnóstico, mayores serán las posibilidades de aprovechar el espectro de fármacos disponibles para el beneficio completo del paciente.

25 Esto es aún más válido en el caso de enfermedades neurológicas asociadas con autoanticuerpos. En algunos casos, el vínculo entre un autoanticuerpo detectable específico y una afección es lo suficientemente fuerte como para permitir un diagnóstico inmediato.

30 Pero incluso si no lo es, la detección de autoanticuerpos puede indicar al médico a cargo los medios terapéuticos que pueden ser usados para mejorar la afección del paciente. Existe una variedad de inmunosupresores ampliamente usados que pueden ser usados independientemente de la naturaleza del objetivo del autoanticuerpo. Alternativamente, puede ser usada la aféresis para eliminar los autoanticuerpos de la sangre del paciente. En muchos casos, los pacientes pasaron a llevar una vida normal después de un diagnóstico y tratamiento tempranos de una enfermedad autoinmune neurológica.

35 Los ensayos diagnósticos basados en la detección de autoanticuerpos también pueden corroborar el diagnóstico de enfermedades diferentes de las asociadas a autoanticuerpos. Si resulta que una muestra de sangre carece de autoanticuerpos específicos, es probable que esto ayude al médico a cargo a excluir una variedad de posibilidades y así reducir el espectro de condiciones plausibles.

40 Los ejemplos de afecciones neurológicas que coinciden con la aparición de autoanticuerpos incluyen la neuromielitis óptica, una enfermedad caracterizada por la pérdida de la visión y la función de la médula espinal, y la encefalitis anti-receptor de NMDA, que se asocia con disfunción autonómica, hipoventilación, ataxia cerebelosa, hemiparesia, pérdida del conocimiento o catatonia. Si bien la participación de los autoanticuerpos y la naturaleza de estas afecciones como tales eran previamente poco conocidas, muchas de estas enfermedades ahora se pueden diagnosticar y tratar de manera eficiente debido a la disponibilidad de ensayos basados en la detección de autoanticuerpos.

45 Por lo tanto, es fundamental el desarrollo de enfoques novedosos para distinguir las afecciones neurológicas asociadas con los autoanticuerpos de otras.

El documento US2010/035360 desvela que puede ser hallado un autoanticuerpo contra ITPR1 en sueros de pacientes que tienen síndrome de Sjogren o artritis reumatoide.

El documento WO2005/017151 desvela la expresión de una proteína mutante que consiste en el dominio de canal de un receptor IP3.

50 Kurien Biji T (2009) XP002737576 (Methods in Molecular Biology 2009, vol. 536, pages 201-211) desvela la purificación por afinidad de autoanticuerpos de sueros.

El documento EP 2 952 898 desvela la detección de un autoanticuerpo contra ATPasa Na⁽⁺⁾/K⁽⁺⁾ neuronal humana para la detección de enfermedades neurológicas.

Un problema subyacente a la presente invención es proporcionar un agente y un procedimiento de diagnóstico de enfermedades neurológicas, distinguiendo más específicamente las enfermedades asociadas a síntomas neurológicos

y la aparición de autoanticuerpos de otros tipos de enfermedades.

Otro problema subyacente a la presente invención es proporcionar un autoanticuerpo que, cuando se halla en una muestra líquida extraída de un paciente, indique que dicho paciente sufre de una enfermedad autoinmune asociada con síntomas neurológicos.

- 5 Otro problema subyacente a la presente invención es proporcionar un agente y un procedimiento de diagnóstico y tratamiento de una enfermedad autoinmune asociada con síntomas neurológicos.

El problema subyacente a la presente invención se resuelve mediante el objeto de las reivindicaciones independientes y dependientes adjuntas.

- 10 En un primer aspecto, el problema subyacente a la presente invención es resuelto mediante un procedimiento *in vitro* de diagnóstico de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 1, la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, comprendiendo la etapa detectar en una muestra de un paciente de un autoanticuerpo de unión a ITPR1 código de base Q14643, en el que la detección del autoanticuerpo indica una mayor probabilidad de que el paciente sufra la enfermedad.

- 15 En una realización preferente, la muestra es un fluido corporal que comprende anticuerpos, preferentemente seleccionada del grupo que comprende sangre entera, suero, líquido cefalorraquídeo and saliva.

- 20 En un segundo aspecto, el problema subyacente a la presente invención es resuelto mediante el uso de un polipéptido que comprende los aminoácidos 1-1251 del ITPR1 de código de base Q14643 o una variante del mismo teniendo la capacidad de unirse específicamente a un autoanticuerpo del ITPR1 de código de base Q14643 para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, comprendiendo la etapa detectar autoanticuerpos que se unen al ITPR1 de código de base Q14643, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con carcinoma de mama, en el que la variante tiene al menos 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 como se define por el código de base de datos de Uniprot Q14643.

- 25 En un tercer aspecto, el problema subyacente a la presente invención es resuelto mediante el uso de un autoanticuerpo, preferentemente un autoanticuerpo aislado, que se une al polipéptido ITPR1, en el que el autoanticuerpo está preferentemente en complejo con dicho polipéptido, para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con carcinoma de mama, y en el que dicho autoanticuerpo contra ITPR1 es detectado.

- 30 En un cuarto aspecto, el problema subyacente a la presente invención es resuelto mediante el uso de un dispositivo médico o de diagnóstico comprendiendo un polipéptido que comprende los aminoácidos de 1-1251 de ITPR1 de código de base Q14643 o una variante del mismo teniendo la capacidad de unirse específicamente a un autoanticuerpo contra ITPR1 de código de base Q14643 para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, en la que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con carcinoma de mama, y en el que se detecta un autoanticuerpo contra ITPR1 de código de base Q14643, en el que la variante tiene al menos 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 según lo definido por el código de base de datos de Uniprot Q14643.

- 35 En una realización preferente de cualquier aspecto de la presente invención, el polipéptido es proporcionado en forma de una célula que comprende un ácido nucleico codificando dicho polipéptido o en forma de un tejido que comprende dicho polipéptido.

En una realización preferente de cualquier aspecto de la presente invención, el polipéptido es un polipéptido recombinante y/o aislado.

- 40 La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de los inventores de que pueden ser detectados autoanticuerpos para ITPR1 en muestras de diversos pacientes que sufren síntomas neurológicos, pero no en muestras obtenidas de sujetos sanos. La presencia de tales autoanticuerpos sugiere que la actividad y función de ITPR1 están alteradas en pacientes que tienen autoanticuerpos para ITPR1 por lo que se producen síntomas neurológicos.

- 45 La presente divulgación se refiere a un polipéptido que comprende un código de base de datos de ITPR1 humano Q14643 o variantes del mismo teniendo la capacidad de unirse específicamente a un autoanticuerpo contra ITPR1 de código de base de datos Q14643. A lo largo de la presente solicitud, cualquier código de base de datos citado se refiere a la base de datos de Uniprot, más específicamente la versión accesible en línea el 27 de octubre de 2014. D26070.1 representa una secuencia de nucleótidos que codifica ITPR1.

- 50 Receptor de trifosfato de inositol tipo 1 (ITPR1; también denominado en el estado de la técnica IP3R 1, receptor de IP3, receptor de InsP3 de tipo 1, receptor de 1,4,5-trifosfato de inositol, proteína fosfatasa 1 de tipo 1 y subunidad reguladora 94 de tipo 1 del receptor de 1,4,5-trifosfato de inositol) es un complejo de glicoproteína de membrana que actúa como un canal de Ca²⁺ tras la activación por el trifosfato de inositol (IP3). En los seres humanos, está codificado por el gen ITPR1 (también denominado en el estado de la técnica ACV; CLA4; IP3R; IP3R1; SCA15; SCA16; SCA29; INSP3R1; PPP1R94).
- 55

Los canales de liberación de Ca^{2+} intracelulares activados por IP3 están compuestos por cuatro subunidades del receptor de IP3 (N. Maeda, T. Kasai, S. Nakade, N. Yokota, T. Taguchi, M. Kasai and K. Mikoshiba, (1991) J. Biol. Chem. 266, 1109-1116). Existen al menos tres tipos de receptores IP3 (ITPR1, ITPR2 e ITPR3) (T. Furuichi and K. Mikoshiba, (1995) J. Neurochem. 64, 953-960), y existen tanto como homo- y heterotetrámeros (T. Monkawa, A. Miyawaki, T. Sugiyama, H. Yoneshima, M. Yamamoto-Hino, T. Furuichi, T. Saruta, M. Hasegawa and K. Mikoshiba, (1995) J. Biol. Chem. 270, 14700-14704).

A nivel funcional, el ITPR1 puede estar dividido en cinco dominios distintos: un dominio supresor de extremo N terminal (aminoácidos 1-225), un núcleo de unión a IP3 (aminoácidos 226-578), un dominio modulador y transductor (aminoácidos 579-2275), un dominio de canal con 6 hélices transmembrana (aminoácidos 2276-2589), y finalmente un dominio de acoplamiento de extremo C terminal (aminoácidos 2590-2749) (K. Uchida, H. Miyauchi, T. Furuichi, T. Michikawa, K. Mikoshiba, Critical regions for activation gating of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, J. Biol. Chem. 278 (2003) 16551-16560). El núcleo de unión de IP3 es una región esencial para la unión de IP3 específica (F. Yoshikawa, M. Morita, T. Monkawa, T. Michikawa, T. Furuichi and K. Mikoshiba. Mutation analysis of the ligand binding site of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. (1996) J. Biol. Chem. 271, 18277--18284) y contiene 11 aminoácidos básicos esenciales para su actividad (Bosanac *et al.*, 2002).

Aparte de una serie de bucles cortos entre las hélices transmembrana 1 y 2, y 3 y 4, solo un bucle más grande que comprende 106 aminoácidos ubicado entre las hélices transmembrana 5 y 6 está en contacto con el lumen del ER. Este bucle consiste en una región variable (66 aminoácidos) que contiene dos sitios de N-glicosilación seguidos de una región conservada (40 aminoácidos) que contribuye al poro del canal.

La liberación de Ca^{2+} inducida por IP3 es un proceso de cooperación positiva (T. Meyer, T. Wensel, and L. Stryer, Kinetics of calcium channel opening by inositol 1,4,5-trisphosphate. (1990) Biochemistry 29, 32-37.; J. Hirota, T. Michikawa, A. Miyawaki, T. Furuichi, I. Okura, and K. Mikoshiba, Kinetics of calcium release by immunoaffinity-purified inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in reconstituted lipid vesicles. (1995) J. Biol. Chem. 270, 19046-19051; T. Michikawa, J. Hirota, S. Kawano, M. Hiraoka, M. Yamada, T. Furuichi, and K. Mikoshiba. Calmodulin mediates calcium-dependent inactivation of the cerebellar type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. Neuron 23 (1999), 799-808), es decir, se requiere la unión de al menos dos moléculas de IP3 a un canal de receptor de IP3 tetramérico único, para la apertura del canal. ITPR1 es activado por IP3, en el que su afinidad por IP3 es menor que la de ITPR2, pero mayor que ITPR3 (C.L. Newton, G.A. Mignery, T.C. Südhof, Co-expression in vertebrate tissues and cell lines of multiple inositol 1,4,5-trisphosphate (InsP3) receptors with distinct affinities for InsP3, J. Biol. Chem. 269 (1994) 28613-28619; Missiaen *et al.*, 1998; Miyakawa *et al.*, 1998).

Además de IP3, el Ca^{2+} citosólico funciona como coagonista. Es importante destacar que el Ca^{2+} activa el receptor IP3 en concentraciones bajas, típicamente por debajo de 300 nM, mientras que inhibe el receptor IP3 en concentraciones más altas. (Lino, 1990; E.A. Finch, T.J. Turner, S.M. Goldin, Calcium as a coagonist of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced calcium release, Science 252 (1991) 443-446.; Bezprozvanny *et al.*, 1991; J.B. Parys, S.W. Sernett, S. DeLisle, P.M. Snyder, M.J. Welsh, K.P. Campbell, Isolation, characterization, and localization of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor protein in *Xenopus laevis* oocytes, J. Biol. Chem. 267 (1992) 18776-18782.).

El Ca^{2+} luminal también se considera importante, y el agotamiento de las reservas de Ca^{2+} lleva a una disminución de la sensibilidad del receptor IP3 (L. Missiaen, C.W. Taylor, M.J. Berridge, Spontaneous calcium release from inositol trisphosphate-sensitive calcium stores, Nature 352 (1991) 241-244; L. Missiaen, H. De Smedt, G. Droogmans, R. Casteels, Ca^{2+} release induced by inositol 1,4,5-trisphosphate is a steady-state phenomenon controlled by luminal Ca^{2+} in permeabilized cells, Nature 357 (1992) 599-602; D.L. Nunn, C.W. Taylor, Luminal Ca^{2+} increases the sensitivity of Ca^{2+} stores to inositol 1,4,5-trisphosphate, Mol. Pharmacol. 41 (1992) 115-119.; J.B. Parys, L. Missiaen, H. De Smedt, R. Casteels, Loading dependence of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca^{2+} release in the clonal cell line A7r5. Implications for the mechanism of quantal Ca^{2+} release, J. Biol. Chem. 268 (1993) 25206-25212.).

La modulación de la actividad del receptor IP3 ocurre por tres mecanismos principales: (1) el ambiente local, que incluye pH, concentración de ATP y Mg^{2+} y estado redox; (2) su estado de fosforilación, que depende de la actividad de muchas quinasas y fosfatasas diferentes, algunas de las cuales forman un complejo con el ITPR1; (3) proteínas reguladoras que afectan directamente la actividad del receptor IP3 de forma estimulante o inhibitoria (Mikoshiba, 2007; J.B. Parys, H. De Smedt, Inositol 1,4,5-trisphosphate and its receptors, Adv. Exp. Med. Biol. 740 (2012) 255-280; V. Vanderheyden, B. Devogelaere, L. Missiaen, H. De Smedt, G. Bultynck, J.B. Parys, Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca^{2+} release by reversible phosphorylation and dephosphorylation, Biochim. Biophys. Acta 1793 (2009) 959-970).

Las enseñanzas de la presente divulgación no solo pueden ser llevadas a cabo usando polipéptidos, en particular un polipéptido que comprende ITPR1 codificado por el código de base de datos Q14643, o ácidos nucleicos que tienen las secuencias exactas mencionadas en esta solicitud explícitamente, por ejemplo por función, nombre, secuencia o número de acceso, o implícitamente, sino también usando variantes de dichos polipéptidos o ácidos nucleicos.

El término "variante", como se usa en la presente memoria, se puede referir a al menos un fragmento de la secuencia de longitud completa a la que se hace referencia, más específicamente una o más secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos que, en relación con la secuencia de longitud completa, están truncadas en uno o ambos extremos

terminales por uno o más aminoácidos. En una realización preferente, el fragmento comprende los aminoácidos 1-2282. El fragmento comprende los aminoácidos 1-1251 del ITPR1 de código de base Q14643.

El término "variante" se refiere no solo a al menos un fragmento, sino también a un polipéptido o un fragmento del mismo que comprende secuencias de aminoácidos que son al menos 98 o 99% idénticas a la secuencia de aminoácidos de referencia a la que se hace referencia o el fragmento de la misma, en la que los aminoácidos distintos de los esenciales para la actividad biológica, por ejemplo, la capacidad de un antígeno para unirse a un (auto) anticuerpo, o el plegado o estructura del polipéptido se suprimen o sustituyen y/o uno o más de tales aminoácidos esenciales se reemplazan de forma conservadora y/o se añaden aminoácidos de manera que se conserve la actividad biológica del polipéptido. El estado de la técnica comprende varios procedimientos que se pueden usar para alinear dos secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos dadas y para calcular el grado de identidad, ver por ejemplo, Arthur Lesk (2008), *Introduction to bioinformatics*, Oxford University Press, 2008, 3rd edition. En una realización preferente, el software ClustalW (Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G. (2007). Clustal W y Clustal X versión 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947-2948) son usados mediante ajustes predeterminados.

Las variantes pueden comprender, además, modificaciones químicas, por ejemplo marcas isotópicas o modificaciones covalentes tales como glicosilación, fosforilación, acetilación, descarboxilación, citrulinación, hidroxilación y similares. El experto en la técnica está familiarizado con procedimientos para modificar polipéptidos. Cualquier modificación está diseñada de manera de no anular la actividad biológica de la variante.

Además, las variantes también se pueden generar mediante fusión con otros polipéptidos conocidos o variantes de los mismos y comprenden porciones o dominios activos, preferentemente con una identidad de secuencia de al menos 98 o 99% cuando se alinean con la porción activa de la secuencia de referencia, en la que el término "porción activa", como se usa en la presente memoria, se refiere a una secuencia de aminoácidos, que es menor que la secuencia de aminoácidos de longitud completa o, en el caso de una secuencia de ácido nucleico, codifica menos de la secuencia de aminoácidos de longitud completa, respectivamente, y/o es una variante de la secuencia natural, pero conserva al menos parte de la actividad biológica.

El término "variante" de un ácido nucleico comprende ácidos nucleicos cuya cadena complementaria hibrida, preferentemente en condiciones rigurosas, con el ácido nucleico de referencia o de tipo salvaje. La rigurosidad de las reacciones de hibridación la puede determinar fácilmente un experto en la técnica y, en general, es un cálculo empírico que depende de la longitud de la sonda, la temperatura de lavado y la concentración de sal. En general, las sondas más largas requieren temperaturas más altas para un apareamiento apropiado, mientras que las sondas más cortas menos. La hibridación generalmente depende de la capacidad del ADN desnaturalizado para volver a aparearse en cadenas complementarias presentes en un ambiente por debajo de su temperatura de fusión: cuanto mayor sea el grado de homología deseada entre la sonda y la secuencia hibridable, mayor será la temperatura relativa que se puede usar. Como resultado, las temperaturas relativas más altas pueden tender a causar que las condiciones de reacción sean más estrictas, mientras que las temperaturas más bajas lo harían menos. Para obtener detalles adicionales y una explicación de la rigurosidad de las reacciones de hibridación, véase Ausubel, F. M. (1995), *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc. Moreover, the person skilled in the art may follow the instructions given in the manual Boehringer Mannheim GmbH (1993) *The DIG System Users Guide for Filter Hybridization*, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany and in Liebl, W., Ehrmann, M., Ludwig, W., and Schleifer, K. H. (1991) *International Journal of Systematic Bacteriology* 41: 255-260 sobre la manera de identificar secuencias de ADN mediante hibridación. Pueden ser aplicadas condiciones estrictas para cualquier hibridación, es decir, la hibridación se produce solo si la sonda es un 70% o más idéntica a la secuencia diana. Las sondas que tienen un menor grado de identidad con respecto a la secuencia diana pueden hibridar, pero tales híbridos son inestables y se eliminarán en una etapa de lavado en condiciones rigurosas, por ejemplo, al reducir la concentración de sal a 2 x SSC u opcional y posteriormente, a 0,5 x SSC, mientras que la temperatura es, en orden de preferencia creciente aproximadamente 50 °C – 68 °C, aproximadamente 52 °C – 68 °C, aproximadamente 54 °C – 68 °C, aproximadamente 56 °C – 68 °C, aproximadamente 58 °C – 68 °C, aproximadamente 60 °C – 68 °C, aproximadamente 62 °C – 68 °C, aproximadamente 64 °C - 68 °C, aproximadamente 66 °C – 68 °C. En un aspecto, la temperatura es aproximadamente 64 °C - 68 °C o aproximadamente 66 °C - 68 °C. Es posible ajustar la concentración de sal a 0,2 x SSC o incluso 0,1 x SSC. Se pueden aislar secuencias de ácido nucleico que tengan un grado de identidad con respecto a la secuencia de referencia o de tipo salvaje de al menos 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99%. En un aspecto, el término variante de una secuencia de ácido nucleico, como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico que codifica la misma secuencia de aminoácidos y variantes de la misma que la secuencia de ácido nucleico de referencia, en línea con la degeneración del código genético.

La variante del polipéptido tiene la capacidad de unirse específicamente a los autoanticuerpos para ITPR1 hallados en pacientes y tiene al menos un 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 según lo definido en el código de base de datos de Uniprot Q14643.

El polipéptido, que comprende ITPR1 o una variante del mismo, cuando es usado para llevar a cabo las enseñanzas de la presente invención, puede ser proporcionado en cualquier forma y en cualquier grado de purificación, a partir de tejidos o células que comprenden dicho polipéptido en una forma endógena, más preferentemente células que

- sobreexpresan el polipéptido, lisados brutos o enriquecidos de tales células, un polipéptido purificado y/o aislado que es esencialmente puro. En una realización preferente, el polipéptido es un polipéptido nativo, en el que el término "polipéptido nativo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un polipéptido plegado, más preferentemente a un polipéptido plegado purificado de tejidos o células, más preferentemente de células o tejidos de mamíferos, opcionalmente de tejidos o células no recombinantes. El polipéptido puede ser una proteína recombinante, en el que el término "recombinante", como se usa en la presente memoria, se refiere a un polipéptido producido usando enfoques de ingeniería genética en cualquier etapa del proceso de producción, por ejemplo, mediante la fusión de un ácido nucleico que codifica el polipéptido con un promotor fuerte. para la sobreexpresión en células o tejidos o mediante la manipulación genética de la secuencia del polipéptido mismo. La persona experta en la técnica está familiarizada con procedimientos para manipular ácidos nucleicos y polipéptidos codificados (por ejemplo, descritos en Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989), *Molecular Cloning*, CSH o en Brown T. A. (1986), *Gene Cloning - an introduction*, Chapman & Hall) y para producir y purificar polipéptidos nativos o recombinantes (por ejemplo *Handbooks "Strategies for Protein Purification", "Antibody Purification", "Purifying Challenging Proteins", "Recombinant Protein Purification", "Affinity Chromatography", "Ion Exchange Chromatography", "Gel Filtration (Size Exclusion Chromatography)", "Hydrophobic Interaction Chromatography", "Multimodal Chromatography"* (2009/2010), published by GE Healthcare Life Sciences, and in Burgess, R. R., Deutscher, M. P. (2009), *Guide to Protein Purification*). En una realización preferente, un polipéptido es puro si al menos el 60, 70, 80, 90, 95 o 99 por ciento del polipéptido en la muestra respectiva consiste en dicho polipéptido según lo juzgado por electroforesis en gel de poliacrilamida SDS seguida de tinción con azul de Coomassie e inspección visual.
- Si el polipéptido que comprende ITPR1 o una variante del mismo es proporcionado en forma de tejido, es preferente que el tejido sea tejido de mamífero, por ejemplo, humano, rata, primate, burro, ratón, cabra, caballo, oveja, cerdo o vaca, más preferentemente tejido cerebral. Si es usado un lisado celular, es preferente que el lisado celular comprenda las membranas asociadas con la superficie de la célula. Si dicho polipéptido es proporcionado en forma de una célula recombinante, es preferente que la célula recombinante sea una célula eucariota tal como una célula de levadura, más preferentemente una célula de un eucariota multicelular tal como una planta, mamífero, rana o insecto, con máxima preferencia de un mamífero, por ejemplo rata, ser humano, primate, burro, ratón, cabra, caballo, oveja, cerdo o vaca. Por ejemplo, la célula puede ser una célula HEK293 transfectada con un ácido nucleico que codifica funcionalmente el polipéptido. El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos para preparar, transfectar y cultivar tales células, por ejemplo, los descritos en Phelan, M. C. (2001), *Basic Techniques in Mammalian Cell Tissue Culture*, John Wiley.
- El polipéptido comprende epítomos reconocidos por y/o se une específicamente a autoanticuerpos de unión a ITPR1. El experto en la técnica está familiarizado con las pautas usadas para diseñar péptidos que tengan suficiente inmunogenicidad, por ejemplo los descritos en Jackson, D. C., Fitzmaurice, C. J., Brown, L. E., Zeng, W. (1999), *Preparation and properties of totally synthetic immunogenes*, Vaccine Volume 18, Issues 3-4, September 1999, Pages 355-361; and Black, M., Trent, A., Tirrell, M. and Olive, C. (2010), *Advances in the design and delivery of peptide subunit vaccines with a focus on Toll-like receptor agonists*, Expert Rev Vaccines, 2010 February; 9(2): 157-173. En resumen, es deseable que el péptido cumpla la mayor cantidad posible de los siguientes requerimientos: (a) tiene un alto grado de hidrofiliidad, (b) comprende uno o más residuos seleccionados del grupo que comprende aspartato, prolina, tirosina y fenilalanina, (c) tiene, para mayor especificidad, escasa o nula homología con otros péptidos o polipéptidos conocidos, (d) necesita ser suficientemente soluble y (e) no comprende sitios de glicosilación o fosforilación a menos que sea necesario por motivos específicos. Alternativamente, se pueden seguir enfoques bioinformáticos, por ejemplo, los descritos por Moreau, V., Fleury, C., Piquer, D., Nguyen, C., Novali, N., Villard, S., Laune, D., Granier, C. and Molina, F. (2008), *PEPOP: Computational design of immunogenic peptides*, BMC Bioinformatics 2008, 9:71.
- El polipéptido, que comprende ITPR1 o una variante del mismo, cuando es usado de acuerdo con la presente divulgación, puede ser proporcionado en cualquier clase de conformación. Por ejemplo, el polipéptido puede ser un polipéptido esencialmente no plegado, parcial o totalmente plegado. En un aspecto preferente, el polipéptido es plegado en el sentido de que los epítomos que son esenciales para la unión al autoanticuerpo, o la proteína o variante de la misma en su totalidad, adoptan el plegado adoptado por la proteína nativa en su ambiente natural. El experto en la técnica está familiarizado con procedimientos adecuados para determinar si un polipéptido está plegado o no y, si lo está, qué estructura tiene, por ejemplo, proteólisis limitada, espectroscopia de RMN, espectroscopia de CD o cristalografía de rayos X (ver por ejemplo Banaszak LJ (2008), *Foundations of Structural Biology*, Academic Press, o Teng Q. (2013), *Structural Biology: Practical Applications*, Springer), preferentemente es usada espectroscopia de RMN multidimensional.
- El polipéptido puede ser una proteína de fusión que comprende secuencias de aminoácidos distintas de las tomadas de ITPR1, en particular una etiqueta De extremo C terminal o De extremo N terminal, preferentemente una etiqueta De extremo C terminal, que es, como se usa en la presente memoria, un motivo de secuencia adicional o polipéptido que tiene una función que tiene alguna función biológica o física y se puede usar, por ejemplo, para purificar, inmovilizar, precipitar o identificar el polipéptido. La etiqueta puede ser una secuencia o dominio capaz de unirse específicamente a un ligando, por ejemplo, una etiqueta seleccionada del grupo que comprende etiquetas His, tiorredoxina, proteína de unión a maltosa, glutatión-S-transferasa, una etiqueta de fluorescencia, por ejemplo, del grupo que comprende proteína verde fluorescente.

El polipéptido puede ser un polipéptido inmovilizado. El término "inmovilizado", como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula unida a un portador sólido insoluble en una solución acuosa, más preferentemente mediante un enlace covalente, interacciones electrostáticas, encapsulación o atrapamiento, por ejemplo, mediante desnaturalización de un polipéptido globular en un gel o mediante interacciones hidrófobas, con máxima preferencia mediante uno o más enlaces covalentes. Varios portadores adecuados, por ejemplo, superficies de papel, poliestireno, metal, silicio o vidrio, canales de microfluidos, membranas, perlas tales como perlas magnéticas, medios de cromatografía en columna, biochips, geles de poliacrilamida y similares, se han descrito en la bibliografía, por ejemplo, en Kim, D., and Herr, A. E. (2013), Protein immobilization techniques for microfluidic assays, *Biomicrofluidics* 7(4), 041501. De esta manera, la molécula inmovilizada, junto con el portador insoluble, puede ser separada de una solución acuosa en de forma sencilla, por ejemplo mediante filtración, centrifugación o decantación. Una molécula inmovilizada se puede inmovilizar de manera reversible o irreversible. Por ejemplo, la inmovilización es reversible si la molécula interactúa con el portador a través de interacciones iónicas que se pueden enmascarar mediante la adición de una alta concentración de sal o si la molécula está unida a través de un enlace covalente escindible, tal como un puente disulfuro que puede ser escindido mediante la adición de reactivos que contienen tiol. Por el contrario, la inmovilización es irreversible si la molécula está ligada al portador a través de un enlace covalente que no se puede escindir en una solución acuosa, por ejemplo, un enlace formado por la reacción de un grupo epóxido y un grupo amina como se usa frecuentemente para acoplar cadenas laterales de lisina a las columnas de afinidad. La proteína se puede inmovilizar indirectamente, por ejemplo, mediante la inmovilización de un anticuerpo u otra entidad que tenga afinidad por la molécula, seguido de la formación de un complejo a fines de inmovilizar el complejo de molécula-anticuerpo. En la bibliografía se describen varias formas de inmovilizar moléculas, por ejemplo en Kim, D., Herr, and A. E. (2013), Protein immobilization techniques for microfluidic assays, *Biomicrofluidics* 7(4), 041501. Además, varios reactivos y kits para las reacciones de inmovilización están disponibles comercialmente, por ejemplo, de Pierce Biotechnology.

Es esencial que la muestra usada para el diagnóstico de acuerdo con la presente invención comprenda anticuerpos, también denominados inmunoglobulinas. Normalmente, la muestra de un fluido corporal comprende un conjunto representativo de la totalidad de las inmunoglobulinas del individuo. Sin embargo, la muestra, una vez proporcionada, se puede someter a un procesamiento adicional que puede incluir fraccionamiento, centrifugación, enriquecimiento o aislamiento de la totalidad de las inmunoglobulinas o cualquier clase de inmunoglobulinas del individuo, lo que puede afectar la distribución relativa de las inmunoglobulinas de las diversas clases.

La enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, por ejemplo asociado con cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, carcinoma de mama, linfoma de Hodgkin, neuroblastoma, teratoma, linfoma no Hodgkin y cánceres de vejiga.

El término "diagnóstico", como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier clase de procedimiento que tiene como objetivo obtener información instrumental en la evaluación de si un paciente sufre o es probable o más probable que el sujeto promedio o comparativo, este último preferentemente tiene síntomas similares, para sufrir de una determinada enfermedad o trastorno en el pasado, en el momento del diagnóstico o en el futuro, para averiguar cómo está progresando la enfermedad o es probable que progrese en el futuro o para evaluar la capacidad de respuesta de un paciente con respecto a un determinado tratamiento, por ejemplo la administración de fármacos inmunosupresores. En otras palabras, el término "diagnóstico" comprende no solo diagnosticar, sino también pronosticar y/o controlar el curso de una enfermedad o trastorno.

En muchos casos, la mera detección, en otras palabras, determinar si en la muestra están presentes o no niveles detectables del anticuerpo, es suficiente para el diagnóstico. Si se puede detectar el autoanticuerpo, esta información será fundamental para el diagnóstico del médico e indica una mayor probabilidad de que el paciente sufra una enfermedad. En un aspecto preferente, puede ser determinada la concentración relativa del anticuerpo en el suero, en comparación con el nivel que puede ser hallado en el individuo sano promedio. Si bien en muchos casos puede ser suficiente determinar si los autoanticuerpos están o no presentes o detectables en la muestra, el procedimiento llevado a cabo para obtener información instrumental para el diagnóstico puede implicar determinar si la concentración es al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 10000 o 100000 veces mayor que la concentración encontrada en el individuo sano promedio.

El experto en la técnica apreciará que un médico usualmente no concluye si el paciente sufre o no o es probable que sufra una enfermedad, afección o trastornos basándose solo en un parámetro único de diagnóstico, sino que debe tener en cuenta otros aspectos, por ejemplo la presencia de otros autoanticuerpos, marcadores, parámetros sanguíneos, evaluación clínica de los síntomas del paciente o los resultados de los exámenes de imágenes médicas u otros procedimientos no invasivos tales como la polisomnografía, para llegar a un diagnóstico concluyente. Véase Baenkler H. W. (2012), General aspects of autoimmune diagnostics, in Renz, H., *Autoimmune diagnostics*, 2012, de Gruyter, page 3. El valor de un agente o procedimiento de diagnóstico también puede residir en la posibilidad de descartar una enfermedad, de este modo permite el diagnóstico indirecto de otro. En un aspecto preferente, el significado de cualquier síntoma o enfermedad a los que se hace referencia a lo largo de esta solicitud está en línea con el conocimiento del experto en la técnica al 31 de octubre de 2014 como lo demuestran los manuales de texto y las publicaciones científicas.

Por tanto, el término "diagnóstico" preferentemente no implica que los procedimientos o agentes de diagnóstico serán

definitivos y suficientes para finalizar el diagnóstico sobre la base de una prueba única, y mucho menos un parámetro, pero se puede referir a una contribución a lo que se denomina como un "diagnóstico diferencial", es decir, un procedimiento de diagnóstico sistemático que considera la probabilidad de una variedad de posibles condiciones sobre la base de una variedad de parámetros de diagnóstico. En consecuencia, el procedimiento, polipéptido o uso, opcionalmente para determinar si un paciente sufre una enfermedad, puede comprender determinar si un autoanticuerpo que se une a ITPR1 está presente en dicha muestra, en el que dicha determinación se realiza mediante el contacto de la muestra con el polipéptido y la detección de si la unión se produce entre dicho polipéptido y dicho autoanticuerpo, preferentemente usando un anticuerpo secundario marcado, más preferentemente usando un procedimiento del grupo que comprende radioinmunoensayo, transferencia de Western, transferencia en línea, ELISA, inmunofluorescencia indirecta, en el que dicho autoanticuerpo se une a dicho polipéptido si está presente en el muestra, y el diagnóstico de que el paciente sufre o tiene más probabilidades de sufrir dicho trastorno neurológico o cáncer si se determina que el autoanticuerpo está presente en la muestra.

El término "diagnóstico" también puede referirse a un procedimiento usado para distinguir entre dos o más afecciones asociadas con síntomas similares o idénticos.

El término "diagnóstico" también se puede referir a un procedimiento usado para elegir el régimen de tratamiento más prometedor para un paciente. En otras palabras, el procedimiento o agente puede estar relacionado para seleccionar un régimen de tratamiento para un sujeto. Por ejemplo, la detección de autoanticuerpos puede indicar que se va a seleccionar una terapia inmunosupresora, que puede incluir la administración al paciente de uno o más fármacos inmunosupresores.

Se puede usar una muestra líquida que comprende anticuerpos de un sujeto para practicar el procedimiento. Tal muestra líquida puede ser cualquier fluido corporal que comprende un conjunto representativo de anticuerpos del individuo, preferentemente una muestra que comprende anticuerpos de la clase de inmunoglobulina IgG del individuo, más preferentemente del grupo que comprende las subclases de IgG1, IgG2 e IgG4, más preferentemente de la subclase IgG4. Por ejemplo, una muestra puede ser líquido cefalorraquídeo (CSF), sangre o suero sanguíneo, linfa, líquido intersticial y es preferentemente suero o CSF, más preferentemente suero.

La etapa de poner en contacto una muestra líquida que comprende anticuerpos con el polipéptido se puede llevar a cabo mediante la incubación de una forma inmovilizada de dicho polipéptido en presencia de la muestra que comprende anticuerpos en condiciones que sean compatibles con la formación del complejo que comprende dicho polipéptido y un anticuerpo, preferentemente un autoanticuerpo que se une al polipéptido. La muestra líquida, posteriormente reducida en anticuerpos de unión al polipéptido, puede ser eliminada posteriormente, seguido de una o más etapas de lavado. Finalmente, se puede detectar el complejo que comprende el anticuerpo y el polipéptido. El término "condiciones compatibles con la formación del complejo" son condiciones que permiten que las interacciones específicas antígeno-anticuerpo formen el complejo que comprende el polipéptido y el anticuerpo. En un aspecto preferente, tales condiciones pueden comprender incubar el polipéptido en una muestra diluida 1: 100 en tampón PBS durante 30 minutos a 25 °C. El término "autoanticuerpo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un anticuerpo que se une específicamente a una molécula endógena del animal, preferentemente un mamífero, que produce dicho autoanticuerpo, en el que el nivel de dicho anticuerpo está más preferentemente elevado en comparación con el promedio de cualquier otro anticuerpo que se une específicamente a dicha molécula endógena. El autoanticuerpo es un autoanticuerpo que se une a ITPR1. Dicho autoanticuerpo se puede aislar de muestras tomadas de pacientes que sufren el trastorno neurológico caracterizado por dos o más, preferentemente todos los síntomas seleccionados del grupo que comprende trastorno de movimiento mixto, disminución aguda del rendimiento visual, disartria y disfagia.

En un aspecto preferente, la detección del complejo para el pronóstico, diagnóstico, procedimientos o kit de prueba comprende el uso de un procedimiento seleccionado del grupo que comprende técnicas de inmunodifusión, técnicas inmunolectroforéticas, inmunoensayos de dispersión de luz, inmunoensayos de dispersión de luz, técnicas de aglutinación, inmunoensayos marcados, tales como los del grupo que comprende inmunoensayos radiomarcados, inmunoensayos enzimáticos, inmunoensayos de quimioluminiscencia y técnicas de inmunofluorescencia. El experto en la técnica conoce estos procedimientos, que también se describen en el estado de la técnica, por ejemplo en Zane, H. D. (2001), Immunology - Theoretical & Practical Concepts in Laboratory Medicine, W. B. Saunders Company, en particular en el Capítulo 14.

Alternativamente, puede ser usada una muestra que comprende tejido que comprenda el polipéptido en lugar de una muestra líquida. La muestra de tejido es preferentemente de un tejido que expresa ITPR1 endógeno. Tal muestra, que puede tener la forma de una sección de tejido fijada sobre un portador, por ejemplo un cubreobjetos de vidrio para análisis microscópico, después se puede poner en contacto con el anticuerpo, preferentemente autoanticuerpo, que se une al polipéptido. El anticuerpo se marca preferentemente para permitir la distinción de los anticuerpos endógenos que se unen al polipéptido, de modo que se pueden detectar los complejos recién formados y, opcionalmente, cuantificar.

Cualquier dato que demuestra la presencia o ausencia del complejo que comprende el anticuerpo y el polipéptido se puede correlacionar con datos de referencia. Por ejemplo, la detección de dicho complejo indica que el paciente que proporcionó la muestra analizada ha sufrido, está sufriendo o es probable que sufra en el futuro de una enfermedad.

Si un paciente se ha diagnosticado previamente y se vuelve a correr el procedimiento para obtener información relevante para el diagnóstico, la cantidad de complejo detectada en ambas corridas se puede correlacionar para saber sobre la progresión de la enfermedad y/o el éxito de un tratamiento. Por ejemplo, si se encuentra que la cantidad de complejo aumenta, esto sugiere que el trastorno está progresando, es probable que se manifieste en el futuro y/o que cualquier tratamiento que se ha intentado no sea exitoso.

Puede ser usada una microplaca, ELISA de membrana, transferencia de puntos o transferencia en línea para llevar a cabo el procedimiento de diagnóstico de acuerdo con la invención. El experto en la técnica está familiarizado con la configuración experimental, que se describe en el estado de la técnica (Raoult, D., and Dasch, G. A. (1989), The line blot: an immunoassay for monoclonal and other antibodies. Its application to the serotyping of gram-negative bacteria. *J. Immunol. Methods*, 125 (1-2), 57-65; WO2013041540). En pocas palabras, los uno o más antígenos de interés, en el caso de la presente invención el polipéptido, pueden ser unidos a un portador, por ejemplo una membrana de nitrocelulosa, a menudo en combinación con antígenos y controles adicionales. El portador de nitrocelulosa se expone posteriormente a una muestra que comprende anticuerpos tales como suero diluido. Si la muestra comprende un anticuerpo que se une al antígeno, es formado un complejo que se puede detectar, preferentemente mediante incubación con un anticuerpo secundario que se une a la región constante del primer anticuerpo, tal anticuerpo secundario comprende un marcador detectable, por ejemplo, un isótopo radiactivo. Un colorante fluorescente o, en una realización preferente, una enzima activa fusionada o unida al anticuerpo secundario, tal como fosfatasa alcalina, que se puede analizar fácilmente usando sustratos cromogénicos seguido de un simple examen visual. Los reactivos, dispositivos y paquetes de software adecuados están disponibles comercialmente, por ejemplo en EUROIMMUN, Lübeck, Germany.

El diagnóstico o los procedimientos pueden contemplar el uso de inmunofluorescencia indirecta. El experto en la técnica está familiarizado con tales técnicas y la preparación de muestras adecuadas, descritas en el estado de la técnica (US4647543; Voigt, J., Krause, C., Rohwäder, E., Saschenbrecker, S., Hahn, M., Danckwardt, M., Feirer, C., Ens, K, Fechner, K, Barth, E, Martinetz, T., and Stöcker, W. (2012), Automated Indirect Immunofluorescence Evaluation of Antinuclear Autoantibodies on HEp-2 Cells," *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 2012, doi:10.1155/2012/65105; Bonilla, E., Francis, L., Allam, F., *et al.*, Immuno-fluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients, *Clinical Immunology*, vol. 124, no. 1, pp. 18-21, 2007). En resumen, un portador, tal como un cubreobjetos para uso en microscopía, está revestido con células o secciones de tejido que comprenden el antígeno, el polipéptido puede comprender una o más secuencias de ITPR1 o una variante del mismo. El portador que comprende el antígeno se expone a una muestra de paciente que comprende anticuerpos tales como suero diluido. Si la muestra comprende un anticuerpo que se une al antígeno, el complejo resultante se puede detectar, preferentemente mediante incubación con un anticuerpo secundario que comprende un colorante fluorescente tal como fluoresceína, seguido de examen visual usando microscopía de fluorescencia. Los reactivos, dispositivos y paquetes de software adecuados están disponibles en el comercio, por ejemplo en EUROIMMUN, Lübeck, Germany.

Una muestra sometida a una prueba que determina solo si está presente un autoanticuerpo que se une a ITPR1, pero es preferente que los procedimientos, pruebas, dispositivos de diagnóstico y similares contemplen la determinación de la presencia de autoanticuerpos contra una variedad de antígenos relacionados con enfermedades autoinmunes neurológicas o variantes de las mismas, por ejemplo Hu, Yo, Ri, CV2, PNMA1, PNMA2, DNER/Tr, ARHGAP26, ITPR1, CARPVIII, Zic4, Sox1, MAG, MP0, MBP, GAD65, anfifisina, recoverina, receptor de GABA A, receptor de GABA B, receptor de glicina, gefirina, IgLON5, DPPX, acuaporina-4, MOG, receptor de NMDA, receptores de AMPA, GRM1, GRM5, LGI1 y CASPR2. Por lo tanto, el procedimiento, uso, kit, dispositivo o similar puede comprender dos o más, preferentemente tres, cuatro, cinco o más antígenos o variantes de los mismos seleccionados del grupo que comprende Hu, Yo, Ri, CV2, PNMA1, PNMA2, DNER/Tr, ARHGAP26, ITPR1, CARPVIII, Zic4, Sox1, MAG, MP0, MBP, GAD65, anfifisina, recoverina, receptor de GABA A, receptor de GABA B, receptor de glicina, gefirina, IgLON5, DPPX, acuaporina-4, MOG, receptor de NMDA, receptores de AMPA, GRM1, GRM5, LGI1 y CASPR2, preferentemente del grupo que comprende Yo, CDR2L, DNER/Tr, ARHGAP26, Homer 3 y CARPVIII, más preferentemente ARHGAP26, Homer 3 y CARPVIII, estos antígenos preferentemente están inmovilizados, por ejemplo en una transferencia en línea.

De acuerdo con las enseñanzas de la presente divulgación, es proporcionado un anticuerpo, preferentemente un autoanticuerpo de unión al polipéptido usado para el diagnóstico de una enfermedad. La persona experta en la técnica está familiarizada con procedimientos para purificar anticuerpos, por ejemplo los descritos en Hermanson, G. T., Mallia, A. K. and Smith, P. K. (1992), *Immobilized Affinity Ligand Techniques*, San Diego: Academic Press. En resumen, un antígeno unido específicamente al anticuerpo de interés, cuyo antígeno es el polipéptido, es inmovilizado y usado para purificar, mediante cromatografía de afinidad, el anticuerpo de interés de una fuente adecuada. Puede ser usada como fuente una muestra líquida que comprende anticuerpos de un paciente que sufre el trastorno neurológico identificado por los inventores.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier resto de unión a base de inmunoglobulina, más preferentemente uno que comprende al menos una cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena liviana de inmunoglobulina, que incluye, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales y policlonales, así como variantes de un anticuerpo, en particular fragmentos, estos restos de unión son capaces de unirse al antígeno respectivo, más preferentemente unirse específicamente a este. El término "unión específica", como se usa en la

presente memoria, significa que la unión es más fuerte que una reacción de unión caracterizada por una constante de disociación de 1×10^{-5} M, más preferentemente 1×10^{-7} M, más preferentemente 1×10^{-8} M, más preferentemente 1×10^{-9} M, más preferentemente 1×10^{-10} M, más preferentemente 1×10^{-11} M, más preferentemente 1×10^{-12} M, según se determina mediante resonancia de plasmón superficial usando equipo Biacore a 25 °C en tampón PBS a pH 7. El anticuerpo puede estar aislado o en una mezcla que comprende anticuerpos, polipéptidos, metabolitos, células adicionales y similares. En caso de que el anticuerpo sea un autoanticuerpo, puede ser parte de una preparación de autoanticuerpos que es heterogénea o puede ser un autoanticuerpo homogéneo, en el que una preparación heterogénea comprende una pluralidad de especies de autoanticuerpos diferentes obtenibles por preparación de sueros de donantes humanos, por ejemplo mediante cromatografía de afinidad usando el antígeno inmovilizado para purificar cualquier autoanticuerpo capaz de unirse a dicho antígeno. Preferentemente, el anticuerpo es un autoanticuerpo, más preferentemente un autoanticuerpo de la clase IgG, con máxima preferencia del grupo de subclases que comprenden IgG1, IgG2 e IgG4, en particular IgG2. En otro aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo de mamífero, más preferentemente un anticuerpo de primate, con máxima preferencia un anticuerpo humano. El anticuerpo puede estar glicosilado o no glicosilado. El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos que se pueden usar para la identificación, producción y purificación de anticuerpos y variantes de los mismos, por ejemplo los descritos en el documento EP 2 423 226 A2 y las referencias del mismo. El anticuerpo se puede usar de acuerdo con las reivindicaciones como agente de diagnóstico, por sí mismo o en combinación, por ejemplo, en complejo con el polipéptido.

Para el diagnóstico puede ser usado un dispositivo médico o de diagnóstico que comprende el (auto)anticuerpo y/o el polipéptido. Preferentemente, dicho dispositivo médico o de diagnóstico comprende el polipéptido en una forma que permite ponerlo en contacto con una solución acuosa, más preferentemente la muestra líquida humana, de una manera sencilla. En particular, el polipéptido puede ser inmovilizado sobre la superficie de un portador, tal portador comprende, pero in limitación, placas o cubreobjetos de vidrio, biochips, placas de microtitulación, perlas, por ejemplo perlas magnéticas, columnas de cromatografía, membranas o similares. Los ejemplos de dispositivos médicos incluyen transferencia en línea, microplacas y biochips. Además del polipéptido, el dispositivo médico o de diagnóstico puede comprender polipéptidos adicionales, por ejemplo controles positivos o negativos u otros antígenos conocidos que se unen a autoanticuerpos de valor diagnóstico, particularmente aquellas otras enfermedades relacionadas asociadas con uno o más síntomas idénticos o similares.

El código de base de datos de los polipéptidos Q14643 puede ser usado en forma de una célula que comprende y/o expresa un ácido nucleico que codifica dicho polipéptido. Si es usado un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el polipéptido o una variante del mismo, dicho ácido nucleico puede ser un ácido nucleico no modificado. En un aspecto preferente, el ácido nucleico es un ácido nucleico que, como tal, no se encuentra en la naturaleza y comprende, en comparación con el ácido nucleico natural, al menos una modificación, por ejemplo un contenido isotópico o modificaciones químicas, por ejemplo una metilación, modificación de secuencia, marca o similar indicativo de origen sintético. En un aspecto preferente, el ácido nucleico es un ácido nucleico recombinante o una parte o un ácido nucleico y es, en una realización más preferente, parte de un vector, en el que puede estar funcionalmente unido con un promotor que permite la expresión, preferentemente sobreexpresión del ácido nucleico.

En un aspecto preferente, dicho ácido nucleico está dentro de una célula capaz de expresarlo con el fin de que el polipéptido o una variante del mismo se produzcan y, más preferentemente, estén dirigidos a la superficie de la célula. Dicha célula que comprende el ácido nucleico codificando el polipéptido puede ser usada de acuerdo con la presente invención. La célula puede ser cualquier clase de célula capaz de expresar el ácido nucleico, por ejemplo, una célula procariota o eucariota. En un aspecto preferente, la célula es una célula eucariota tal como una célula de levadura, una célula eucariota de un organismo multicelular, por ejemplo una célula de insecto, más preferentemente una célula de mamífero, por ejemplo una célula de ratón, y más preferentemente una célula humana.

El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos usados para sintetizar, modificar y amplificar dicho ácido nucleico y para transfectar células usando dicho ácido nucleico, preferentemente en un vector que permita el mantenimiento o expresión transitoria o permanente del ácido nucleico en la célula. El experto en la técnica también está familiarizado con una variedad de vectores adecuados, que están disponibles comercialmente, por ejemplo, de Origene. Por ejemplo, se puede usar un vector que codifica los constructos de fusión con una GFP De extremo C terminal. La célula puede ser de origen eucariota o procariota y es preferentemente una célula de mamífero, por ejemplo una célula HEK293, CHO o COS-7. La célula que comprende el ácido nucleico que codifica el polipéptido puede ser una célula recombinante o una célula aislada en la que el término "aislada" significa que la célula está enriquecida de modo que, en comparación con el ambiente del tipo salvaje de dicha célula, hay menos células de otra diferenciación o especie o, en efecto, no están presentes tales otras células.

La presente invención es ilustrada con mayor detalle en las siguientes figuras y secuencias y ejemplos no limitantes.

La **Fig. 1** muestra el resultado de un análisis de inmunofluorescencia indirecta (IF A) de un suero de paciente positivo que contiene autoanticuerpos contra ITPR1 con el patrón de tinción característico indicado por el autoanticuerpo.

La **Fig. 2A**, panel superior, muestra el análisis SDS-PAGE de histoinmunoprecipitados de cerebelo de rata. Tres sueros de referencia PCA positivos inmunoprecipitados mostraron, además de las inmunoglobulinas, una banda

de proteína correspondiente a una masa molecular de aproximadamente 300 kDa en SDS-PAGE teñido con coomassie coloidal. La banda estaba ausente en las muestras de control.

La **Fig. 2A**, panel inferior, muestra un análisis de transferencia Western con un anticuerpo policlonal anti-ITPR1 usando las mismas muestras. Ninguna banda es visible si se analizaron fracciones de sueros de control negativo.

5 La **Fig. 2B** muestra los resultados de la tinción doble IF A usando el anticuerpo policlonal anti-ITPR1 además del suero índice.

La **Fig. 3A** muestra el análisis de los sueros y controles de los pacientes por IF A con HEK293 que expresa ITPR1 y con HEK293 transfectado de forma simulada.

10 La **Fig. 3B** muestra la abolición competitiva de la unión del anticuerpo a las células de Purkinje por las fracciones HEK293 que contienen ITPR1. La fila superior muestra la tinción IF A en ausencia y la fila inferior muestra la tinción IFA en presencia de ITPR1.

Ejemplo: Identificación de autoanticuerpos ITPR1 en sueros de pacientes que sufren de enfermedad neurológica

15 El siguiente ejemplo demuestra que el autoanticuerpo de ITPR1 está asociado con una enfermedad neurológica. Se pudo detectar en tres de cada 30 pacientes que tienen diversos síntomas asociados con enfermedades neurológicas, mientras que estaba ausente en el suero de 50 sujetos sanos.

1. Materiales y procedimientos

Los reactivos fueron obtenidos de Merck, Darmstadt, Germany o Sigma-Aldrich, Heidelberg, Germany, si no se especifica lo contrario.

Ensayos de inmunofluorescencia indirecta

20 La IFA fue realizada usando cubreobjetos con una matriz de biochip de >60 sustratos de tejido y células, que incluyen las criosecciones de tejido cerebral (cerebelo de mono, rata y cerdo, hipocampo de rata, cerebro completo de ratón) y 28 células HEK293 recombinantes que expresan por separado autoantígenos cerebrales establecidos, que incluyen Yo/CDR2, CDR2L, DNER, ARHGAP26, CARP, Homer 3, Zic4, Sox1, GRM1, y GRM5 siguiendo el manual del fabricante (Euroimmun, Lübeck, Germany). En algunos experimentos, el anticuerpo policlonal contra ITPR1 (Dianova, Hamburgo, Germany) se incubó en la primera etapa seguido de incubación con IgG-Cy3 anti-conejo (Jackson Research, Suffolk, UK). Los resultados fueron evaluados por dos observadores independientes usando un microscopio de barrido láser (LSM700, Zeiss, Jena, Germany). En experimentos de inhibición competitiva, los antígenos recombinantes se mezclaron con una muestra de suero diluida 30 minutos antes del IF A como se describe en Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, *et al.* Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoanticuerpo screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol Suppl 1987;139:41-52.

Histoimmunoprecipitación (Histo-IP)

35 Fue diseccionado cerebelo de rata y congelado por choque en isopentano a -160 °C. A continuación, el tejido fue crioseccionado (4 µm) con un micrótopo SM2000R (Leica Microsystems, Nussloch, Germany), colocado sobre la superficie entera de los cubreobjetos de vidrio y secado. Después fueron incubados los cubreobjetos completos con suero del paciente (diluido 1:100) a 4 °C durante 3 horas seguido de 3 etapas de lavado con PBS que contiene Tween 20 0,2% (p/v). Fueron extraídos inmunocomplejos de las secciones mediante incubación en tampón de solubilización (tris-HCl 100 mmol/L pH 7,4, cloruro de sodio 150 mmol/L, EDTA 2,5 mmol/L, desoxicolato 0,5% (p/v), Triton X-100 1% (p/v) que contiene inhibidores de proteasa) a temperatura ambiente para 30 minutos. El material desprendido fue homogeneizado y centrifugado a 16.000 xg a 4 °C durante 15 minutos. A continuación, los sobrenadantes transparentes fueron incubados con Protein G Dynabeads (ThermoFisher Scientific, Dreieich, Germany) a 4 °C durante la noche para capturar inmunocomplejos. Después las perlas fueron lavadas 3 veces con PBS y se eluyeron con PBS que contiene ditiotreitol 5 mmol/L y dodecilsulfato de sodio 1% (p/v) a 95 °C durante 10 minutos, seguido de SDS-PAGE y espectrometría de masas o transferencia Western.

45 *SDS-PAGE y transferencia Western*

50 Las proteínas fueron analizadas mediante SDS-PAGE usando el sistema NuPAGE (ThermoFisher Scientific). Las proteínas separadas se identificaron mediante análisis espectrométrico de masas o se electrotransfirieron a una membrana de nitrocelulosa mediante transferencia en tanque con tampón de transferencia (ThermoFisher Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las membranas se bloquearon con tampón de transferencia universal (Euroimmun) durante 15 min y se incubaron con suero humano o el anticuerpo policlonal contra ITPR1 en tampón de transferencia universal más durante 3 horas, seguido de 3 etapas de lavado con tampón de transferencia universal (Euroimmun), una segunda incubación durante 30 minutos con IgG-AP anti-conejo (Sigma-Aldrich), 3 etapas de lavado y tinción con sustrato NBT/BCIP (Euroimmun).

Espectrometría de masa

La preparación de la muestra por espectrometría de masas se realizó según lo informado por Koy *et al.* (1). A menos que se indique lo contrario, hardware, software, dianas MALDI, estándares de péptidos y reactivos de matriz fueron obtenidos de Bruker Daltonics, Bremen, Germany.

- 5 En pocas palabras, las muestras fueron reducidas con ditiotreitól y sometidas a carbamidometilación con yodoacetamida antes de SDS-PAGE. Las proteínas fueron visualizadas con Azul brillante Coomassie G-250 y escindidas y decoloradas las bandas de proteínas visibles. Tras la digestión triptica, los péptidos fueron extraídos y sembrados con ácido α -ciano-hidroxicinámico en una diana MTP AnchorChip™ 384 TF.
- 10 Las mediciones de MALDI-TOF/TOF fueron realizadas con un sistema Smartbeam TOF/TOF200 de Autoflex III usando el software flexControl 3.0. Los espectros de MS para la huella digital de masa de péptidos (PMF) fueron registrados en modo reflector de ion positivo con 500 disparos y en un intervalo de masas de 700 Da a 4000 Da. Los espectros fueron calibrados externamente con el estándar de calibración de péptidos II disponible comercialmente, procesados con flexAnalysis 3.0 y las listas de picos fueron analizadas con BioTools 3.2.
- 15 El motor de búsqueda Mascot de Mascot Server 2.3 (Matrix Science, London, UK) fue usado para la identificación de proteínas mediante la búsqueda en la base de datos NCBI limitada a Mammalia. Los parámetros de búsqueda fueron los siguientes: la tolerancia de masa fue ajustada a 80 ppm, fue aceptado un sitio de escisión omitido y la carbamidometilación de residuos de cisteína así como la oxidación de residuos de metionina fueron establecidas como modificaciones fijas y variables, respectivamente. Para evaluar los aciertos de proteína, fue seleccionado un umbral de significación de $p < 0,05$.
- 20 Para una confirmación adicional de los aciertos de PMF, fueron seleccionados dos péptidos de cada proteína identificada para las mediciones de MS/MS usando el mecanismo de retroalimentación WARP de BioTools. Fueron registradas masas originales y de fragmentos con 400 y 1000 disparos, respectivamente. Los espectros fueron procesados y analizados según lo descrito anteriormente con una tolerancia de masa de fragmentos de 0,7 Da.

Clonación y expresión de ITPR1 en HEK293

- 25 El ADN codificador de ITPR1 humano (Genbank # BC172648, Source BioScience LifeSciences, Nottingham, United Kingdom) fue transferido al vector de expresión pTriEx-1 (Merck). La secuencia del vector resultante es denominada SEQ ID NÚM.: 2. El receptor fue expresado en la línea celular humana HEK293 después de la transfección mediada por ExGen500 (ThermoFisher Scientific) según las instrucciones del fabricante. Para la preparación de sustratos para IF A, fueron cultivadas HEK293 en cubreobjetos estériles, transfectadas, y se dejaron expresar las proteínas recombinantes durante 48 horas. Los cubreobjetos de vidrio fueron lavados con PBS, fijados con acetona durante 10 minutos a temperatura ambiente, secados al aire, cortados en fragmentos de tamaño milimétrico (biochips) y usados como sustratos en IF A como anteriormente. Alternativamente, las células fueron transfectadas en matraces T estándar y las células fueron recogidas después de 5 días. La suspensión celular fue centrifugada a $1.500 \times g$, 4°C durante 20 minutos y el sedimento resultante fue extraído con tampón de solubilización (véase con anterioridad).
- 35 Los extractos fueron almacenados en alícuotas a -80°C hasta su uso posterior.

Resultados

Caracterización de sueros de pacientes

El análisis de inmunofluorescencia indirecta de un suero de paciente positivo (en adelante, suero índice) reveló patrones característicos de inmunofluorescencia (**Fig. 1**).

Identificación de ITPR1 como el autoantígeno diana

- 40 En histoinmunoprecipitados de cerebelo de rata, tres sueros de referencia PCA positivos inmunoprecipitados mostraron, además de las inmunoglobulinas, una banda de proteína correspondiente a una masa molecular de aproximadamente 300 kDa en SDS-PAGE teñida con coomassie coloidal (**Fig. 2A**, panel superior). La banda estaba ausente en las muestras de control. La proteína precipitada fue identificada como ITPR1 mediante análisis espectrométrico de masas.
- 45

El análisis de transferencia Western con un anticuerpo policlonal anti-ITPR1 mostró una fuerte reacción a 300 kDa del inmunoprecipitado obtenido con los sueros índice, mientras que no hubo reacciones con las fracciones obtenidas con los sueros de control (**Fig. 2A**, panel inferior). Cuando fue usado para la tinción doble en IFA, el anticuerpo policlonal anti-ITPR1 produjo una superposición con los sueros índice (**Fig. 2B**).

- 50 Como prueba adicional de la identificación correcta del antígeno, los sueros y controles de los pacientes después fueron analizados por IFA con HEK293 que expresa ITPR1 y con HEK293 transfectado de forma simulada (**Fig. 3A**). Todos los sueros índice, pero ninguno de los controles, reaccionaron con las células que expresan ITPR1 de forma similar al anticuerpo anti-ITPR1. Por el contrario, la transfección simulada no produjo ninguna unión de anticuerpo. La congruencia de la diana de autoanticuerpos de los pacientes y ITPR1 se demostró adicionalmente mediante la

abolición competitiva dependiente de la dosis de la unión del anticuerpo a las células de Purkinje por las fracciones HEK293 que contienen ITPR1 (**Fig. 3B**). La unión del anticuerpo no fue afectada cuando fueron usadas fracciones comparables de HEK293 transfectadas de forma simulada.

Especificidad de autoanticuerpos anti-ITPR1

5 Los sueros de 30 pacientes con síntomas clínicos indicativos de una enfermedad neurológica que no contienen una variedad de autoanticuerpos indicativos de enfermedades neurológicas asociadas a autoanticuerpos (anti-NMDAR, anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-AQP4, anti- LGII, anti-CASPR2) y de 50 controles sanos fueron analizados por IFA. Ninguno de los sueros produjo un patrón de inmunofluorescencia similar al de los sueros índice sobre el sustrato recombinante.

10 **Listado de secuencias**

<110> EUROIMMUN

<120> Un autoanticuerpo novedoso diagnósticamente relevante

15

<130> P00037

<160> 3

20

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 16190

25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector de expresión

30

<400> 1

ES 2 828 507 T3

aggccacat	gtctgacaaa	atgtcgagtt	tcctacatat	tggagacatt	tgttctctgt	60
atgcggaggg	atctacgaat	ggatttatca	gcaccttagg	cttggttgat	gaccgttgtg	120
ttgtacagcc	agaagccggg	gaccttaaca	atccacccaa	gaaattcaga	gactgcctct	180
ttaagctatg	tcctatgaat	cgatactccg	cacagaaaca	gttctggaaa	gctgctaagg	240
ccggggccaa	cagcactaca	gatgcagtgc	tgctcaacaa	attgcatcat	gctgcagact	300
tggaaaagaa	gcagaatgag	acagaaaaca	ggaaattggt	ggggaccgtc	atccaatatg	360
gcaacgtgat	ccagctcctg	catttgaaaa	gcaataaata	cctgactgtg	aataagaggg	420
tcccagcctt	gctagagaag	aacgccatga	gggtgacggt	ggacgaggct	ggaaatgaag	480
ggctctgggt	ttacattcaa	ccattctaca	agcttcgctc	catcggagac	agtgtggtca	540
taggcgacaa	ggtagttttg	aatcctgtca	atgctggcca	gcctctaaat	gccagcagtc	600
atcagctggt	ggataacca	ggctgcaatg	aggtcaactc	cgtcaactgt	aatacaagct	660
ggaagatatt	gcttttcatg	aaatggagtg	ataacaaaga	cgatattctc	aaaggaggtg	720
atgtggtgag	gctcttccat	gccgagcaag	agaagtttct	cacctgcgat	gagcaccgga	780
agaagcagca	tgtgttctctg	aggaccaccg	gcaggcagtc	agccacatcg	gccaccagtt	840
ccaaagccct	gtgggaagtg	gaggtagtcc	agcacgacce	atgtcggggg	ggagctgggt	900
actggaatag	cctcttccgg	ttcaagcacc	tggctacagg	gcattacttg	gctgcagagg	960
tagaccctga	ctttgaggaa	gaatgcctgg	agtttcagcc	ctcagtgga	cctgatcagg	1020
atgcatctcg	gagtaggttg	agaaacgcgc	aagaaaaaat	ggtatactct	ctggtctccg	1080
tgctgaagg	caacgacatc	tcctccatct	ttgagctaga	ccccacgact	ctgcgtggag	1140
gtgacagcct	tgtcccaagg	aactcctatg	tccgtctcag	acacctgtgc	accaacacct	1200
gggtacacag	cacaaacatc	cccatctaca	aggaagagga	gaagcctgtg	atgctgaaaa	1260

ES 2 828 507 T3

ttggtacctc tcccctgaag gaggacaagg aagcatttgc catagttcct gtttcccctg 1320
 ctgaggttcg ggacctggac tttgccaatg atgccagcaa ggtgctgggc tccatcgctg 1380
 ggaagtggga aaagggcaca atcaccacaga atgagagaag gtctgtcacg aagcttttgg 1440
 aagacttggg ttactttgtc acgggtggaa ctaactctgg ccaagacgtg cttgaagttg 1500
 tcttctctaa gcccaatcga gagcggcaga agctgatgag ggaacagaat attctcaagc 1560
 agatcttcaa gctgttgcag gcccccttca cggactgogg ggatggcccg atgcttcggc 1620
 tggaggagct gggggatcag cgccatgctc ctttcagaca tatttgccga ctctgtaca 1680
 gggcctgcg aactcacag caagactaca ggaagaacca ggagtacata gccaaagcag 1740
 ttggcttcat gcagaagcag attggctatg acgtgctggc cgaagacacc atcactgccc 1800
 tgctccacaa caaccggaaa ctctggaga agcacatcac cgcggcagag attgacacgt 1860
 ttgtcagcct ggtgcgaaaag aacagggagc ccaggttctt ggattacctc tctgacctct 1920
 gcgtatccat gaacaagtca atccctgtga cacaggagct catctgtaa gctgtgctca 1980
 atcccaccaa tgctgacatc ctgattgaga ccaagctggt tctttctcgt tttgagtttg 2040
 aaggcgtttc cactggagag aatgctctgg aagccgggga ggatgaggaa gaggtgtggc 2100
 tgttctggag ggacagcaac aaagagatcc gtagtaagag tgtccgggaa ttggcgcaag 2160
 atgctaaaga gggacagaag gaagacaggg acatcctcag ctactacaga tatcagctga 2220
 acctctttgc aaggatgtgt ctggaccgcc agtacctggc catcaatgaa atctccgggc 2280
 agctggatgt tgatctcatt ctccgctgca tgtctgacga gaacctcccc tacgacctca 2340
 gggcatcctt ttgccgcctc atgcttcaca tgcatgtgga ccgagatccc caagagcagg 2400
 tgacacctgt gaaatatgcc cgactgtggt cagaaattcc ctctgagatc gccattgatg 2460
 actatgacag cagtggaaca tccaaagatg aaattaagga gaggtttgca cagacgatgg 2520
 agtttgtgga ggagtaccta agagatgtgg tttgtcaaag attccccttc tctgataagg 2580
 agaaaaataa gctcacgttt gaggttgtga acttagccag gaatctcata tactttggtt 2640
 tctacaactt ttctgacctt ctccgattaa ccaagatcct cttggcaatc ttagactgtg 2700
 tccatgtgac cactatcttc ccattagca agatgacaaa aggagaagag aataaaggca 2760
 gtaacgtgat gaggtctatc catggcgttg gggagctgat gaccaggtg gtgctgcggg 2820
 gaggaggctt cttgcccatg actcccatgg ctgcggcccc tgaaggaaat gtgaagcagg 2880
 cagagccaga gaaagaggac atcatggtca tggacaccaa gttgaagatc attgaaatac 2940
 tccagtttat tttgaatgtg agattggatt ataggatctc ctgcctcctg tgtatattta 3000
 agcgagagtt tgatgaaagc aattcccagt catcagaaac atcctccgga aacagcagcc 3060
 aggaagggcc aagtaatgtg ccaggtgctc ttgactttga acacattgaa gaacaagcgg 3120
 aaggcatcct tggaggaagt gaggagaaca cacctttgga cctggatgac catggtggca 3180

ES 2 828 507 T3

gaaccttctt cagggctcctg ctccacttga caatgcatga ctaccacccc ctgggtgtctg 3240
 gggccctgca gctcctcttt cggcacttca gccagaggca ggaggtcctt caggccttca 3300
 aacaggttca actgctggtt actagccaag atgtggacaa ctacaaacag atcaagcaag 3360
 acttgaccga actaaggtcc attgtggaga agtctgagct ctgggtgtac aaaggccaag 3420
 gtcccgatga gcctatggac ggagcctccg gtgaaaatga gcataagaaa accgaggagg 3480
 ggacgagcaa gccactgaag cacgagagca ccagcagcta caactaccga gtgggtgaaag 3540
 agattttgat tgcacttagc aagctctgcg tgcaggagag cgcgtcgggtg aggaagagcc 3600
 ggaagcagca gcaacgactg ctgaggaaca tgggcgacaca cgctgtgggtg ctggagctgc 3660
 tgcagatccc ctacgagaag gccgaagaca caaagatgca agagatcatg cggctggctc 3720
 atgaattttt gcagaatttc tgtgcaggca accagcagaa tcaagctttg ctgcataaac 3780
 acataaacct gtttctcaac ccagggattc tggaggcagt gacgatgcag cacatcttca 3840
 tgaacaactt ccagctgtgc agtgagatca acgagagagt ggtccagcac tttgttctact 3900
 gcatagagac ccacggctga aacgtccagt atatcaagtt tctccagacg attgtcaagg 3960
 cagaagggaa attcattaac aagtccaag acatggatcat ggctgagctt gtcaactctg 4020
 gagaggacgt cctcgtgttc tacaatgaca gagcctcttt ccagactctg atccagatga 4080
 tgcggctccga gcgtgaccgg atggatgaga acagccctct catgtaccac atccatctgg 4140
 tggagctctt ggccgtgtgc acagagggca agaattgtgta cacggagatc aagtgcaact 4200
 ccttgctccc gctcgatgac atcgttcgtg tggctactca tgaagactgc atccccgagg 4260
 ttaagatcgc ttacattaac ttcctgaatc actgctatgt ggatacggag gtggagatga 4320
 aggagattta cacaagcaac cacatgtgga agttgtttga gaatttctc gtggacatct 4380
 gcagggcctg taacaacaca agcgacagga agcacgcaga ctccattctg gagaagtacg 4440
 tcaactgaaat cgtgatgagc atcgtcacca ccttcttcag ctctcccttc tcagaccaga 4500
 gcaccactct gcagaccgac cagcctgtct ttgtgcaact cctgcaaggc gtgttccgag 4560
 ttaccactg caactggctg atgccgagcc aaaaagcctc ggtggagagc tgcacccggg 4620
 tgctctctga cgtagccaag agccgggcca tagccattcc tgttgacctg gacagccaag 4680
 tcaacaacct cttcctgaag tcccacaaca ttgtgcagaa aacagccctg aactggcggg 4740
 tatcagcccg aaacgccgct cgcagagact ctgtactggc agcatccaga gactaccgaa 4800
 atatcattga gaggttacag gacatcgtgt ctgccctaga ggaccggctc aggcccctgg 4860
 tgcaggctga gctgtctgtg ctctgtggatg ttctacacag accagaactg ctcttccccg 4920
 agaacacgga tgccaggagg aatgtgaga gtggagggtt catctgcaag ctaataaaac 4980
 ataccaagca actgctggag gagaatgaag agaaactatg cattaagtc ttacagaccc 5040

ES 2 828 507 T3

tcagggaaat	gatgaccaa	gacagaggct	atggagagaa	gcaaatttcc	attgatgaat	5100
cggaaaatgc	cgagctgcca	caggcaccgg	aagctgagaa	ctccacagag	caggagcttg	5160
aaccaagtcc	accctgagg	caactggaag	accataaaag	gggtgaggca	ctccgacaaa	5220
ttttggtcaa	ccgttactat	ggaaacatca	gaccttcagg	aagaagagag	agccttacca	5280
gctttggcaa	tggcccacta	tcaccaggag	gacctcagca	gcctggtgga	ggagggggag	5340
gtcctggatc	tagttccaca	agcaggggtg	agatgagcct	ggctgaggtt	cagtgtcacc	5400
tcgacaagga	gggggcctcc	aacctggtca	tcgatctcat	aatgaatgca	tccagtgacc	5460
gagtattcca	tгааagcatt	ctgctggcca	tcgcacttct	ggaaggaggc	aacaccacca	5520
tccagcactc	gtttttctgc	cggctgacag	aagataagaa	atcagagaag	ttcttcaagg	5580
ttttttacga	tcgaatgaag	gtggcccagc	aggaaatcaa	ggcgacagtg	acagtgaaca	5640
ccagcgactt	gggaaacaaa	aagaaagatg	atgaagtgga	cagggatgcc	ccgtcccggg	5700
agaaagccaa	agagcccaca	acacagataa	cagaagaggt	ccgggatcag	ctcctggaag	5760
catctgctgc	caccaggaaa	gcctttacca	ccttccggag	ggaggccgac	cctgatgacc	5820
attaccagtc	tggggagggc	accaggcta	caaccgacaa	agccaaggat	gacctagaga	5880
tgagcgctgt	catcaccatc	atgcagccta	tcctgcgctt	cctgcagctg	ctgtgtgaaa	5940
accacaaccg	agatctgcag	aatttccttc	gttgccaaaa	taataagacc	aactacaatt	6000
tggtgtgtga	gacactgcag	tttctggact	gtatttgtgg	gagcacaacc	ggaggccttg	6060
gtcttcttgg	actgtacata	aatgaaaaga	atgtagcact	tatcaaccaa	accctggaga	6120
gtctgacgga	gtactgtcaa	gggccttgcc	atgagaacca	gaactgcatc	gccaccacag	6180
agtccaatgg	catogatatc	atcacagccc	tcacctcaa	tgatatcaac	cctctgggaa	6240
agaagcggat	ggacctgggtg	ttagaactga	agaacaatgc	ttcgaagctg	ctactggcca	6300
tcatggaaag	cagacacgat	agtgaaaatg	cagagaggat	cctgtacaac	atgaggccca	6360
aggagctggt	ggaagtgatc	aagaaggcct	acatgcaagg	tgaagtggaa	tttgaggatg	6420
gggagaacgg	tgaggatgga	gctgcctcac	ccaggaacgt	gggccacaac	atctacatcc	6480
tcgctcacca	gttggctcgg	cataacaaag	aacttcaaac	catgctgaaa	cctggaggcc	6540
aggtggatgg	ggatgaagct	ctggagtctt	acgcgaagca	cacagcacia	attgagattg	6600
tcagactgga	ccggacaatg	gaacagatcg	tcttccctgt	gccagcatc	tgtgaattcc	6660
tgactaagga	atcgaaactt	cgaatatatt	acaccacaga	gcgggatgag	caaggtagca	6720
agatcaatga	cttcttctctg	cgctccgagg	acctctttaa	cgagatgaac	tggcagaaga	6780
aacttcgagc	ccagcctgtc	ttgtactggt	gtgcccogaaa	catgtctttc	tggagcagca	6840
tctccttcaa	cctggccgtc	ctgatgaacc	tgctggtggc	gtttttctat	ccatttaaag	6900
gagtgagggg	aggaacacta	gagccacact	ggtcaggcct	cctgcggaca	gcatgctca	6960

ES 2 828 507 T3

tctctctggc	cattgtcatt	gctctgcccc	agccccacgg	catccggggc	ttaattgctt	7020
ctacaatcct	acgactgata	ttttcagttg	ggttgcagcc	cacactgttt	ctgctgggag	7080
ctttcaatgt	ctgcaataaa	atcatcttcc	tgatgagctt	tgtgggcaac	tgtgggacct	7140
tcaccagagg	ctaccggggc	atggttctgg	atgtggagtt	cctctatcat	ttgctgtatc	7200
tactcatctg	tgccatgggc	ctcttcgtac	atgagttctt	ctatagcttg	ctgctttttg	7260
atthagtgta	cagagaggag	actttgctta	atgtcattaa	aagtgtcacc	cgcaatggac	7320
ggtccatcat	cttgacagcg	gtcctggctc	tgatcctggt	ttacctgttc	tcaattgtgg	7380
gctatctggt	cttcaaggat	gactttatct	tggaagtaga	taggttgccc	aatgaaacag	7440
ctgttccaga	aactggcgag	agtttgcca	acgatttctt	gtactctgat	gtgtgcaggg	7500
tagagacggg	ggagaactgc	acctctctcg	cacccaaaga	agagctgctc	cctgccgaag	7560
aaacggaaca	ggataaggaa	cacacgtgtg	agaccctgct	catgtgcata	gtcactgttc	7620
tgagtcacgg	gctgcggagt	gggggagggg	taggagacgt	gctcaggaag	ccatccaaag	7680
aggagcctct	gtttgctgca	agggtgatct	acgacctcct	cttcttcttc	atggatcatca	7740
tcatcgtcct	gaacctgatt	ttcggggctca	tcatcgacac	ctttgctgac	ctgaggagtg	7800
agaagcaaaa	gaaggaggag	atcttaaaaa	ccacgtgctt	catctgcggc	ttggaaaggg	7860
acaagtttga	caataagact	gtcacctttg	aagagcacat	caaggaagaa	cacaacatgt	7920
ggcactatct	gtgcttcata	gtgctggtga	aagtgaagga	ctccacagag	tacaccgggc	7980
ctgagagtta	cgtggcagag	atgatcaggg	aaagaaacct	tgattgggtc	cccagaatga	8040
gagccatgtc	cctggtcagc	agcgattctg	aaggggaaca	gaacgagctg	aggaacctgc	8100
aggagaagct	ggagtctacc	atgaagctgg	tcaccaatct	ttctggccag	ctgtcagaac	8160
taaaggacca	gatgacagaa	cagaggaagc	agaaacaaag	aatcggcctt	ctaggacata	8220
ctcctcacat	gaatgtcaac	ccacagcagc	cggcctaggc	ctcatggggc	ggcgcgcccc	8280
ccaccaccac	caccactgac	acgcaaggcc	ggatccagac	atgataagat	acattgatga	8340
gtttggacaa	accacaacta	gaatgcagtg	aaaaaaatgc	tttatttgtg	aaatttgtga	8400
tgctattgct	ttatttgtaa	ccattataag	ctgcaataaa	caagttaaca	acaacaattg	8460
cattcatttt	atgtttcagg	ttcaggggga	ggtgtgggag	gttttttaaa	gcaagtaaaa	8520
cctctacaaa	tgtggtatgg	ctgattatga	tccggctgcc	tgcgcggttt	cggtgatgac	8580
ggaccgggtcc	agatatacgc	gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	8640
tacgggggtca	ttagttcata	gcccatatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	8700
tggccccgct	ggctgaccgc	ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	8760
tcccatagta	acgccaatag	ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	8820

ES 2 828 507 T3

aactgccac ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt 8880
caatgacggt aaatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc 8940
tacttggcag tacatctacg tattagtcat cgctattacc atggtgatgc ggttttggca 9000
gtacatcaat gggcgtggat agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat 9060
tgacgtcaat gggagtttgt tttggcacca aaatcaacgg gactttctaa aatgtcgtaa 9120
caactccgcc ccattgacgc aaatgggocg taggcgtgta cgggtgggag tctatataag 9180
cagagctctc tggctaacta gagaaccac tgcttactgg cttatcgaaa ttaatacgac 9240
tcactatagg gagaccaag ctggctagcg tttaaactta agctagcttg gtaccgggg 9300
atcctctagg gcctctgagc tattccagaa gtagtgaaga ggcttttttg gaggcctagg 9360
cttttgcaaa aagctccgga tcgatcctga gaacttcagg gtgagtttgg ggacccttga 9420
ttgttctttc tttttcgcta ttgtaaaatt catgttatat ggagggggca aagttttcag 9480
gggtgtggtt agaatgggaa gatgtccctt gtatcaccat ggaccctcat gataattttg 9540
tttctttcac tttctactct gttgacaacc attgtctcct cttattttct tttcattttc 9600
tgtaactttt tcgttaaact ttagcctgca tttgtaacga atttttaa atcacttttgt 9660
ttatgtgca gattgtaagt actttctcta atcacttttt tttcaaggca atcagggtat 9720
attatattgt acttcagcac agtttttagag aacaattggt ataattaaat gataaggtag 9780
aatatttctg catataaatt ctggctggcg tggaaatatt cttattggta gaaacaacta 9840
catcctggtc atcatcctgc ctttctcttt atggttacia tgatatacac tgtttgagat 9900
gaggataaaa tactctgagt ccaaaccggg ccctctgct aacctgttc atgccttctt 9960
ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttgcaa 10020
agaattgtaa tacgactcac tatagggcga attgatatgt ctagattaga taaaagtaaa 10080
gtgattaaca gcgcattaga gctgcttaat gaggtcggaa tcgaaggttt aacaaccogt 10140
aaactcggcc agaagctcgg tgtagagcag cctacattgt attggcatgt aaaaaataag 10200
cgggctttgc tcgacgcctt agccattgag atggttagata ggcaccatac tcaacttttgc 10260
cctttagaag gggaaagctg gcaagatttt ttacgtaata acgctaaaag ttttagatgt 10320
gctttactaa gtcatcgca tggagcaaaa gtacatttag gtacacggcc tacagaaaaa 10380
cagtatgaaa ctctcgaaaa tcaattagcc tttttatgcc aacaaggttt ttcactagag 10440
aatgcattat atgactcag cgctgtgggg cattttactt taggttgcgt attggaagat 10500
caagagcatc aagtcgctaa agaagaaagg gaaacaccta ctactgatag tatgccgcca 10560
ttattacgac aagctatcga attatgtgat caccaagggtg cagagccagc cttcttattc 10620
ggccttgaat tgatcatatg cggattagaa aaacaactta aatgtgaaag tgggtccgcg 10680
tacagcggat cccgggaatt cagatcttat taaagcagaa cttgtttatt gcagcttata 10740

ES 2 828 507 T3

atggttacia ataaagcaat agcatcacia atttcaciaa taaagcattt ttttactgc 10800
 attctagttg tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg tcgaatccct 10860
 taagcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatctg tttatttttc taaatacatt 10920
 caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa 10980
 ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt 11040
 gccttctctg ttttctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt 11100
 tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt 11160
 ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg 11220
 tattatcccg tgttgacgcc gggcaagac aactcggctc ccgcatacac tattctcaga 11280
 atgacttggg tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa 11340
 gagaattatg cagtgtgcc ataaccatga gtgataaacac tgcggccaac ttacttctga 11400
 caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa 11460
 ctgccttga tcggtgggaa ccggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca 11520
 ccacgatgcc tgcagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta 11580
 ctctagcttc ccggcaacia ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac 11640
 ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc 11700
 gtgggtctcg cggatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag 11760
 ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgtgaga 11820
 taggtgcctc actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt 11880
 agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata 11940
 atctcatgac caaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag 12000
 aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt ttttctgog cgtaatctgc tgcttgcaaa 12060
 caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt 12120
 ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgtcctt ctagtgtagc 12180
 cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg tagcacogcc tacatactc gctctgctaa 12240
 tctgttacc agtggctgct gccagtgccg ataagtctgt tcttaccggg ttggactcaa 12300
 gacgatagtt accggataag gcgcagcggc cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc 12360
 ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa 12420
 gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggctcgaa 12480
 caggagagcg cacgaggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg 12540
 ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttctgatg ctctcaggg gggcggagcc 12600

ES 2 828 507 T3

tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttctt ggccttttgc tggccttgaa 12660
gctgtccctg atggtcgtca tctacctgcc tggacagcat ggcctgcaac gggggcatcc 12720
cgatgccgcc ggaagcgaga agaatacataa tggggaaggc catccagcct cgcgtcgcga 12780
acgccagcaa gacgtagccc agcgcgtcgg ccccgagatg cgcgcggtgc ggctgctgga 12840
gatggcggac gcgatggata tgttctgcca agggttggtt tgcgcattca cagttctccg 12900
caagaattga ttggctccaa ttcttggagt ggtgaatccg ttagcgaggc gccgccctgc 12960
ttcatccccg tggcccgttg ctgcgctttg ctggcgggtg ccccggaaga aatatatttg 13020
catgtcttta gttctatgat gacacaaacc ccgccagcg tcttgtcatt ggcgaattcg 13080
aacacgcaga tgcagtcggg gcggcgcggc ccgaggtcca cttcgcataa taaggtgacg 13140
cgtgtggcct cgaacaccga gcgaccctgc agcgaccgcg ttaacagcgt caacagcgtg 13200
ccgcagatcc cggggggcaa tgagatatga aaaagcctga actcaccgcg acgtctgtcg 13260
agaagtttct gatcgaaaag ttcgacagcg tctccgacct gatgcagctc tcggagggcg 13320
aagaatctcg tgctttcagc ttogatgtag gaggcgtgg atatgtcctg cgggtaaata 13380
gctgcgccga tggtttctac aaagatcgtt atgtttatcg gcactttgca tcggccgcgc 13440
tcccgatcc ggaagtgtt gacattgggg aattcagcga gagcctgacc tattgcatct 13500
cccgcctgc acaggtgtc acgttgcaag acctgcctga aaccgaactg cccgctgttc 13560
tgcagccggt cgcggaggcc atggatgcga tcgctgcggc cgatcttagc cagacgagcg 13620
ggttcggccc attcggaccg caaggaatcg gtcaatacac tacatggcgt gatttcatat 13680
gcgcgattgc tgatccccat gtgtatcact ggcaaactgt gatggacgac accgtcagtg 13740
cgtccgtcgc gcaggtctc gatgagctga tgctttgggc cgaggactgc cccgaagtcc 13800
ggcacctcgt gcacgcggat ttcggtcca acaatgtcct gacggacaat ggccgcataa 13860
cagcggatcat tgactggagc gaggcgatgt tcggggattc ccaatacgag gtcgccaaca 13920
tcttcttctg gaggccgtgg ttggcttgta tggagcagca gacgcgctac ttcgagcggg 13980
ggcatccgga gcttgaggga tcgcccgggc tccgggcgta tatgctccgc attggtcttg 14040
accaactcta tcagagcttg gttgacggca atttcgatga tgcagcttgg gcgcagggtc 14100
gatgcgagc aatcgtccga tccggagccg ggactgtcgg gcgtacacaa atcgcccgca 14160
gaagcgcggc cgtctggacc gatggctgtg tagaagtact cgccgatagt ggaaaccgac 14220
gccccagcac tcgtccgat cgggagatgg gggaggctaa ctgaaacacg gaaggagaca 14280
ataccggaag gaaccgcgc tatgacggca ataaaaagac agaataaaac gcacgggtgt 14340
tgggtcgttt gttcataaac gcggggttcg gtcccagggc tggcactctg tcgatacccc 14400
accgagacc cattggggcc aatacgcccg cgtttcttcc ttttccccac cccaccccc 14460
aagttcgggt gaaggcccag ggctcgcagc caacgtcggg gcggcaggcc ctgccatagc 14520

ES 2 828 507 T3

cactggcccc	gtgggttagg	gacggggtcc	cccatgggga	atggtttatg	gttcgtgggg	14580
gttattattt	tgggcgttgc	gtggggtcag	gtccacgact	ggactgagca	gacagacca	14640
tggtttttgg	atggcctggg	catggaccgc	atgtactggc	gcgacacgaa	caccgggct	14700
ctgtggctgc	caaacacccc	cgaccccaaa	aaaccaccgc	gcgatttct	ggcgtgcaa	14760
gctagtcgac	gatatcgta	gctcttcgct	cagcacgtga	cctggtgcat	gcgtatactg	14820
cttcgaccaa	ttctcatggt	tgacagctta	tcatcgcaga	tccgggcaac	gttgttgcca	14880
ttgctgcagg	cgcagaactg	gtaggtatgg	aagatctata	cattgaatca	atattggcaa	14940
ttagccatat	tagtcattgg	ttatatagca	taaatcaata	ttggctattg	gccattgcat	15000
acgttgatc	tatatcataa	tatgtacatt	tatattggct	catgtccaat	atgaccgcca	15060
tgttgacatt	gattattgac	tagttattaa	tagtaataca	ttacggggtc	attagtcat	15120
agcccatata	tggagtccg	cgttacataa	cttacggtaa	atggcccgcc	tggctgaccg	15180
cccaacgacc	cccgccatt	gacgtcaata	atgacgtatg	ttcccatagt	aacgccaata	15240
gggactttcc	attgacgtca	atgggtggag	tatttacggg	aaactgcca	cttggcagta	15300
catcaagtgt	atcatatgcc	aagtccgccc	cctattgacg	tcaatgacgg	taaatggccc	15360
gcctggcatt	atgccagta	catgacctta	cgggactttc	ctacttggca	gtacatctac	15420
gtattagtca	tcgctattac	catggtgatg	cggttttggc	agtacaccaa	tgggcgtgga	15480
tagcggtttg	actcacgggg	atttccaagt	ctccacccca	ttgacgtcaa	tgggagtttg	15540
ttttggcacc	aaaatcaacg	ggactttcca	aatgtcgta	ataacccgc	cccgttgacg	15600
caaatggcg	gtaggcgtgt	acgggtgggag	gtctatataa	gcagagctct	ccctatcagt	15660
gatagagatc	tcctatcag	tgatagagag	cttgcgttta	gtgaaccgtc	agatctctag	15720
aagctgggta	ccagctgcta	gcaagcttgg	aggcgtcg	acgctgcctt	cgccccgtgc	15780
cccgtccgc	cgccgcctcg	cgccgcccgc	cccggctctg	actgaccgcg	ttactcccac	15840
aggtgagcgg	gcgggacggc	ccttctcctt	cgggctgtaa	ttagcgttg	gtttaatgac	15900
ggcttgtttc	ttttctgtgg	ctgctgaaa	gccttgagg	gctccgggag	ggccctttgt	15960
gcggggggag	cggtcgggg	ctgtccgagg	ggggacggct	gccttcgggg	gggacggggc	16020
agggcggggt	tcggcttctg	gcgtgtgacc	ggcggctcta	gagcctctgc	taaccatggt	16080
catgccttct	tcttttctct	acagctcctg	ggcaacgtgc	tggttattgt	gctgtctcat	16140
cattttggca	aagaattgga	tcggaccgaa	ataggagata	taggccgtca		16190

5 <210> 2
<211> 1251
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fragmento ITPR1 1-1251

10 <400> 2

Met Ser Asp Lys Met Ser Ser Phe Leu His Ile Gly Asp Ile Cys Ser
1 5 10 15
Leu Tyr Ala Glu Gly Ser Thr Asn Gly Phe Ile Ser Thr Leu Gly Leu
20 25 30
Val Asp Asp Arg Cys Val Val Gln Pro Glu Thr Gly Asp Leu Asn Asn
35 40 45
Pro Pro Lys Lys Phe Arg Asp Cys Leu Phe Lys Leu Cys Pro Met Asn
50 55 60
Arg Tyr Ser Ala Gln Lys Gln Phe Trp Lys Ala Ala Lys Pro Gly Ala
65 70 75 80
Asn Ser Thr Thr Asp Ala Val Leu Leu Asn Lys Leu His His Ala Ala
85 90 95
Asp Leu Glu Lys Lys Gln Asn Glu Thr Glu Asn Arg Lys Leu Leu Gly
100 105 110
Thr Val Ile Gln Tyr Gly Asn Val Ile Gln Leu Leu His Leu Lys Ser
115 120 125
Asn Lys Tyr Leu Thr Val Asn Lys Arg Leu Pro Ala Leu Leu Glu Lys
130 135 140
Asn Ala Met Arg Val Thr Leu Asp Glu Ala Gly Asn Glu Gly Ser Trp
145 150 155 160
Phe Tyr Ile Gln Pro Phe Tyr Lys Leu Arg Ser Ile Gly Asp Ser Val
165 170 175
Val Ile Gly Asp Lys Val Val Leu Asn Pro Val Asn Ala Gly Gln Pro
180 185 190
Leu His Ala Ser Ser His Gln Leu Val Asp Asn Pro Gly Cys Asn Glu
195 200 205
Val Asn Ser Val Asn Cys Asn Thr Ser Trp Lys Ile Val Leu Phe Met
210 215 220
Lys Trp Ser Asp Asn Lys Asp Asp Ile Leu Lys Gly Gly Asp Val Val
225 230 235 240
Arg Leu Phe His Ala Glu Gln Glu Lys Phe Leu Thr Cys Asp Glu His
245 250 255
Arg Lys Lys Gln His Val Phe Leu Arg Thr Thr Gly Arg Gln Ser Ala
260 265 270
Thr Ser Ala Thr Ser Ser Lys Ala Leu Trp Glu Val Glu Val Val Gln
275 280 285
His Asp Pro Cys Arg Gly Gly Ala Gly Tyr Trp Asn Ser Leu Phe Arg
290 295 300
Phe Lys His Leu Ala Thr Gly His Tyr Leu Ala Ala Glu Val Asp Pro
305 310 315 320
Asp Gln Asp Ala Ser Arg Ser Arg Leu Arg Asn Ala Gln Glu Lys Met
325 330 335
Val Tyr Ser Leu Val Ser Val Pro Glu Gly Asn Asp Ile Ser Ser Ile
340 345 350
Phe Glu Leu Asp Pro Thr Thr Leu Arg Gly Gly Asp Ser Leu Val Pro
355 360 365
Arg Asn Ser Tyr Val Arg Leu Arg His Leu Cys Thr Asn Thr Trp Val
370 375 380
His Ser Thr Asn Ile Pro Ile Asp Lys Glu Glu Lys Pro Val Met
385 390 395 400
Leu Lys Ile Gly Thr Ser Pro Val Lys Glu Asp Lys Glu Ala Phe Ala
405 410 415
Ile Val Pro Val Ser Pro Ala Glu Val Arg Asp Leu Asp Phe Ala Asn
420 425 430
Asp Ala Ser Lys Val Leu Gly Ser Ile Ala Gly Lys Leu Glu Lys Gly
435 440 445
Thr Ile Thr Gln Asn Glu Arg Arg Ser Val Thr Lys Leu Leu Glu Asp
450 455 460
Leu Val Tyr Phe Val Thr Gly Gly Thr Asn Ser Gly Gln Asp Val Leu

465					470					475				480	
Glu	Val	Val	Phe	Ser	Lys	Pro	Asn	Arg	Glu	Arg	Gln	Lys	Leu	Met	Arg
				485					490					495	
Glu	Gln	Asn	Ile	Leu	Lys	Gln	Ile	Phe	Lys	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Phe
			500					505					510		
Thr	Asp	Cys	Gly	Asp	Gly	Pro	Met	Leu	Arg	Leu	Glu	Glu	Leu	Gly	Asp
		515					520					525			
Gln	Arg	His	Ala	Pro	Phe	Arg	His	Ile	Cys	Arg	Leu	Cys	Tyr	Arg	Val
		530				535					540				
Leu	Arg	His	Ser	Gln	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Asn	Gln	Glu	Tyr	Ile	Ala
545						550				555				560	
Lys	Gln	Phe	Gly	Phe	Met	Gln	Lys	Gln	Ile	Gly	Tyr	Asp	Val	Leu	Ala
				565					570					575	
Glu	Asp	Thr	Ile	Thr	Ala	Leu	Leu	His	Asn	Asn	Arg	Lys	Leu	Leu	Glu
			580					585					590		
Lys	His	Ile	Thr	Ala	Ala	Glu	Ile	Asp	Thr	Phe	Val	Ser	Leu	Val	Arg
		595					600					605			
Lys	Asn	Arg	Glu	Pro	Arg	Phe	Leu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Asp	Leu	Cys	Val
	610					615						620			
Ser	Met	Asn	Lys	Ser	Ile	Pro	Val	Thr	Gln	Glu	Leu	Ile	Cys	Lys	Ala
625					630					635				640	
Val	Leu	Asn	Pro	Thr	Asn	Ala	Asp	Ile	Leu	Ile	Glu	Thr	Lys	Leu	Val
				645						650				655	
Leu	Ser	Arg	Phe	Glu	Phe	Glu	Gly	Val	Ser	Ser	Thr	Gly	Glu	Asn	Ala
			660				665						670		
Leu	Glu	Ala	Gly	Glu	Asp	Glu	Glu	Glu	Val	Trp	Leu	Phe	Trp	Arg	Asp
		675					680					685			
Ser	Asn	Lys	Glu	Ile	Arg	Ser	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Leu	Ala	Gln	Asp
	690					695					700				
Ala	Lys	Glu	Gly	Gln	Lys	Glu	Asp	Arg	Asp	Val	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Arg
705					710					715				720	
Tyr	Gln	Leu	Asn	Leu	Phe	Ala	Arg	Met	Cys	Leu	Asp	Arg	Gln	Tyr	Leu
			725							730				735	
Ala	Ile	Asn	Glu	Ile	Ser	Gly	Gln	Leu	Asp	Val	Asp	Leu	Ile	Leu	Arg
			740					745					750		
Cys	Met	Ser	Asp	Glu	Asn	Leu	Pro	Tyr	Asp	Leu	Arg	Ala	Ser	Phe	Cys
		755					760					765			
Arg	Leu	Met	Leu	His	Met	His	Val	Asp	Arg	Asp	Pro	Gln	Glu	Gln	Val
	770					775					780				
Thr	Pro	Val	Lys	Tyr	Ala	Arg	Leu	Trp	Ser	Glu	Ile	Pro	Ser	Glu	Ile
785					790					795				800	
Ala	Ile	Asp	Asp	Tyr	Asp	Ser	Ser	Gly	Ala	Ser	Lys	Asp	Glu	Ile	Lys
			805						810					815	
Glu	Arg	Phe	Ala	Gln	Thr	Met	Glu	Phe	Val	Glu	Glu	Tyr	Leu	Arg	Asp
			820					825					830		
Val	Val	Cys	Gln	Arg	Phe	Pro	Phe	Ser	Asp	Lys	Glu	Lys	Asn	Lys	Leu
		835					840					845			
Thr	Phe	Glu	Val	Val	Asn	Leu	Ala	Arg	Asn	Leu	Ile	Tyr	Phe	Gly	Phe
	850				855						860				
Tyr	Asn	Phe	Ser	Asp	Leu	Leu	Arg	Leu	Thr	Lys	Ile	Leu	Leu	Ala	Ile
865					870					875				880	
Leu	Asp	Cys	Val	His	Val	Thr	Thr	Ile	Phe	Pro	Ile	Ser	Lys	Met	Ala
			885						890					895	
Lys	Gly	Glu	Glu	Asn	Lys	Gly	Ser	Asn	Val	Met	Arg	Ser	Ile	His	Gly
			900					905					910		
Val	Gly	Glu	Leu	Met	Thr	Gln	Val	Val	Leu	Arg	Gly	Gly	Gly	Phe	Leu
			915				920					925			
Pro	Met	Thr	Pro	Met	Ala	Ala	Ala	Pro	Glu	Gly	Asn	Val	Lys	Gln	Ala
			930			935					940				
Glu	Pro	Glu	Lys	Glu	Asp	Ile	Met	Val	Met	Asp	Thr	Lys	Leu	Lys	Ile
945					950					955				960	
Ile	Glu	Ile	Leu	Gln	Phe	Ile	Leu	Asn	Val	Arg	Leu	Asp	Tyr	Arg	Ile
			965						970					975	

Ser Cys Leu Leu Cys Ile Phe Lys Arg Glu Phe Asp Glu Ser Asn Ser
 980 985 990
 Gln Thr Ser Glu Thr Ser Ser Gly Asn Ser Ser Gln Glu Gly Pro Ser
 995 1000 1005
 Asn Val Pro Gly Ala Leu Asp Phe Glu His Ile Glu Glu Gln Ala Glu
 1010 1015 1020
 Gly Ile Phe Gly Gly Ser Glu Glu Asn Thr Pro Leu Asp Leu Asp Asp
 1025 1030 1035 1040
 His Gly Gly Arg Thr Phe Leu Arg Val Leu Leu His Leu Thr Met His
 1045 1050 1055
 Asp Tyr Pro Pro Leu Val Ser Gly Ala Leu Gln Leu Leu Phe Arg His
 1060 1065 1070
 Phe Ser Gln Arg Gln Glu Val Leu Gln Ala Phe Lys Gln Val Gln Leu
 1075 1080 1085
 Leu Val Thr Ser Gln Asp Val Asp Asn Tyr Lys Gln Ile Lys Gln Asp
 1090 1095 1100
 Leu Asp Gln Leu Arg Ser Ile Val Glu Lys Ser Glu Leu Trp Val Tyr
 1105 1110 1115 1120
 Lys Gly Gln Gly Pro Asp Glu Thr Met Asp Gly Ala Ser Gly Glu Asn
 1125 1130 1135
 Glu His Lys Lys Thr Glu Glu Gly Asn Asn Lys Pro Gln Lys His Glu
 1140 1145 1150
 Ser Thr Ser Ser Tyr Asn Tyr Arg Val Val Lys Glu Ile Leu Ile Arg
 1155 1160 1165
 Leu Ser Lys Leu Cys Val Gln Glu Ser Ala Ser Val Arg Lys Ser Arg
 1170 1175 1180
 Lys Gln Gln Gln Arg Leu Leu Arg Asn Met Gly Ala His Ala Val Val
 1185 1190 1195 1200
 Leu Glu Leu Leu Gln Ile Pro Tyr Glu Lys Ala Glu Asp Thr Lys Met
 1205 1210 1215
 Gln Glu Ile Met Arg Leu Ala His Glu Phe Leu Gln Asn Phe Cys Ala
 1220 1225 1230
 Gly Asn Gln Gln Asn Gln Ala Leu Leu His Lys His Ile Asn Leu Phe
 1235 1240 1245
 Leu Asn Pro
 1250

5 <210> 3
 <211> 2282
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Fragmento de ITPR

<400> 3

15

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

15

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

Leu Glu Glu Asn Glu Glu Lys Leu Cys Ile Lys Val Leu Gln Thr Leu
 1650 1655 1660
 Arg Glu Met Met Thr Lys Asp Arg Gly Tyr Gly Glu Lys Gly Glu Ala
 1665 1670 1675 1680
 Leu Arg Gln Val Leu Val Asn Arg Tyr Tyr Gly Asn Val Arg Pro Ser
 1685 1690 1695
 Gly Arg Arg Glu Ser Leu Thr Ser Phe Gly Asn Gly Pro Leu Ser Ala
 1700 1705 1710
 Gly Gly Pro Gly Lys Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Ser
 1715 1720 1725
 Ser Met Ser Arg Gly Glu Met Ser Leu Ala Glu Val Gln Cys His Leu
 1730 1735 1740
 Asp Lys Glu Gly Ala Ser Asn Leu Val Ile Asp Leu Ile Met Asn Ala
 1745 1750 1755 1760
 Ser Ser Asp Arg Val Phe His Glu Ser Ile Leu Leu Ala Ile Ala Leu
 1765 1770 1775
 Leu Glu Gly Gly Asn Thr Thr Ile Gln His Ser Phe Phe Cys Arg Leu
 1780 1785 1790
 Thr Glu Asp Lys Lys Ser Glu Lys Phe Phe Lys Val Phe Tyr Asp Arg
 1795 1800 1805
 Met Lys Val Ala Gln Gln Glu Ile Lys Ala Thr Val Thr Val Asn Thr
 1810 1815 1820
 Ser Asp Leu Gly Asn Lys Lys Lys Asp Asp Glu Val Asp Arg Asp Ala
 1825 1830 1835 1840
 Pro Ser Arg Lys Lys Ala Lys Glu Pro Thr Thr Gln Ile Thr Glu Glu
 1845 1850 1855
 Val Arg Asp Gln Leu Leu Glu Ala Ser Ala Ala Thr Arg Lys Ala Phe
 1860 1865 1870
 Thr Thr Phe Arg Arg Glu Ala Asp Pro Asp Asp His Tyr Gln Pro Gly
 1875 1880 1885
 Glu Gly Thr Gln Ala Thr Ala Asp Lys Ala Lys Asp Asp Leu Glu Met
 1890 1895 1900
 Ser Ala Val Ile Thr Ile Met Gln Pro Ile Leu Arg Phe Leu Gln Leu
 1905 1910 1915 1920
 Leu Cys Glu Asn His Asn Arg Asp Leu Gln Asn Phe Leu Arg Cys Gln
 1925 1930 1935
 Asn Asn Lys Thr Asn Tyr Asn Leu Val Cys Glu Thr Leu Gln Phe Leu
 1940 1945 1950
 Asp Cys Ile Cys Gly Ser Thr Thr Gly Gly Leu Gly Leu Leu Gly Leu
 1955 1960 1965
 Tyr Ile Asn Glu Lys Asn Val Ala Leu Ile Asn Gln Thr Leu Glu Ser
 1970 1975 1980
 Leu Thr Glu Tyr Cys Gln Gly Pro Cys His Glu Asn Gln Asn Cys Ile
 1985 1990 1995 2000
 Ala Thr His Glu Ser Asn Gly Ile Asp Ile Ile Thr Ala Leu Ile Leu
 2005 2010 2015
 Asn Asp Ile Asn Pro Leu Gly Lys Lys Arg Met Asp Leu Val Leu Glu
 2020 2025 2030
 Leu Lys Asn Asn Ala Ser Lys Leu Leu Leu Ala Ile Met Glu Ser Arg
 2035 2040 2045
 His Asp Ser Glu Asn Ala Glu Arg Ile Leu Tyr Asn Met Arg Pro Lys
 2050 2055 2060
 Glu Leu Val Glu Val Ile Lys Lys Ala Tyr Met Gln Gly Glu Val Glu
 2065 2070 2075 2080
 Phe Glu Asp Gly Glu Asn Gly Glu Asp Gly Ala Ala Ser Pro Arg Asn
 2085 2090 2095
 Val Gly His Asn Ile Tyr Ile Leu Ala His Gln Leu Ala Arg His Asn
 2100 2105 2110
 Lys Glu Leu Gln Ser Met Leu Lys Pro Gly Gly Gln Val Asp Gly Asp
 2115 2120 2125
 Glu Ala Leu Glu Phe Tyr Ala Lys His Thr Ala Gln Ile Glu Ile Val
 2130 2135 2140
 Arg Leu Asp Arg Thr Met Glu Gln Ile Val Phe Pro Val Pro Ser Ile

2145						2150						2155				2160
Cys	Glu	Phe	Leu	Thr	Lys	Glu	Ser	Lys	Leu	Arg	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Thr	
						2165						2170				2175
Glu	Arg	Asp	Glu	Gln	Gly	Ser	Lys	Ile	Asn	Asp	Phe	Phe	Leu	Arg	Ser	
			2180						2185					2190		
Glu	Asp	Leu	Phe	Asn	Glu	Met	Asn	Trp	Gln	Lys	Lys	Leu	Arg	Ala	Gln	
		2195						2200					2205			
Pro	Val	Leu	Tyr	Trp	Cys	Ala	Arg	Asn	Met	Ser	Phe	Trp	Ser	Ser	Ile	
	2210						2215					2220				
Ser	Phe	Asn	Leu	Ala	Val	Leu	Met	Asn	Leu	Leu	Val	Ala	Phe	Phe	Tyr	
2225					2230						2235				2240	
Pro	Phe	Lys	Gly	Val	Arg	Gly	Gly	Thr	Leu	Glu	Pro	His	Trp	Ser	Gly	
				2245					2250					2255		
Leu	Leu	Trp	Thr	Ala	Met	Leu	Ile	Ser	Leu	Ala	Ile	Val	Ile	Ala	Leu	
			2260						2265				2270			
Pro	Lys	Pro	His	Gly	Ile	Arg	Ala	Leu	Ile							
		2275					2280									

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento *in vitro* de diagnóstico de una enfermedad, preferentemente una enfermedad asociada con síntomas neurológicos, comprendiendo la etapa detectar en una muestra que comprende anticuerpos de un paciente un autoanticuerpo de unión al receptor de trifosfato de inositol tipo 1 (ITPR1) definido por el código de base de datos de Uniprot Q14643, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico preferentemente asociado con carcinoma de mama, en el que la detección del autoanticuerpo indica una probabilidad aumentada de que el paciente sufra la enfermedad.
5
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra es un fluido corporal que comprende anticuerpos, preferentemente seleccionado del grupo que comprende sangre entera, suero, líquido cefalorraquídeo.
10
3. Uso de un polipéptido que comprende los aminoácidos 1-1251 de ITPR1 definidos por el código de la base de datos de Uniprot Q14643 o una de sus variantes teniendo la capacidad de unirse específicamente a un autoanticuerpo contra ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643 para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, comprendiendo la etapa detectar autoanticuerpos de unión a ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con el carcinoma de mama, en el que la variante tiene al menos 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643.
15
4. Uso de un autoanticuerpo, preferentemente un autoanticuerpo aislado, de unión al polipéptido de ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643, en el que el autoanticuerpo está preferentemente en un complejo con dicho polipéptido, para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con el carcinoma de mama, y en el que dicho autoanticuerpo contra ITPR1 es detectado.
20
5. Uso de un dispositivo médico o de diagnóstico comprendiendo un polipéptido que comprende los aminoácidos 1-1251 de ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643 o una de sus variantes teniendo la capacidad de unirse específicamente a un autoanticuerpo contra ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643 para el diagnóstico *in vitro* de una enfermedad, en el que la enfermedad es un síndrome neurológico paraneoplásico, preferentemente asociado con el carcinoma de mama, y en el que es detectado un autoanticuerpo contra ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643, en el que la variante tiene al menos 98 por ciento de identidad de secuencia con ITPR1 según lo definido por el código de la base de datos de Uniprot Q14643.
25
30
6. El procedimiento o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el polipéptido es proporcionado en la forma de una célula que comprende un ácido nucleico que codifica dicho polipéptido, en el que el ácido nucleico es parte de un vector, en el cual está unido funcionalmente con un promotor que permite la expresión, o en la forma de un tejido que comprende dicho polipéptido.
35
7. El procedimiento o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el polipéptido es un polipéptido recombinante y/o aislado.

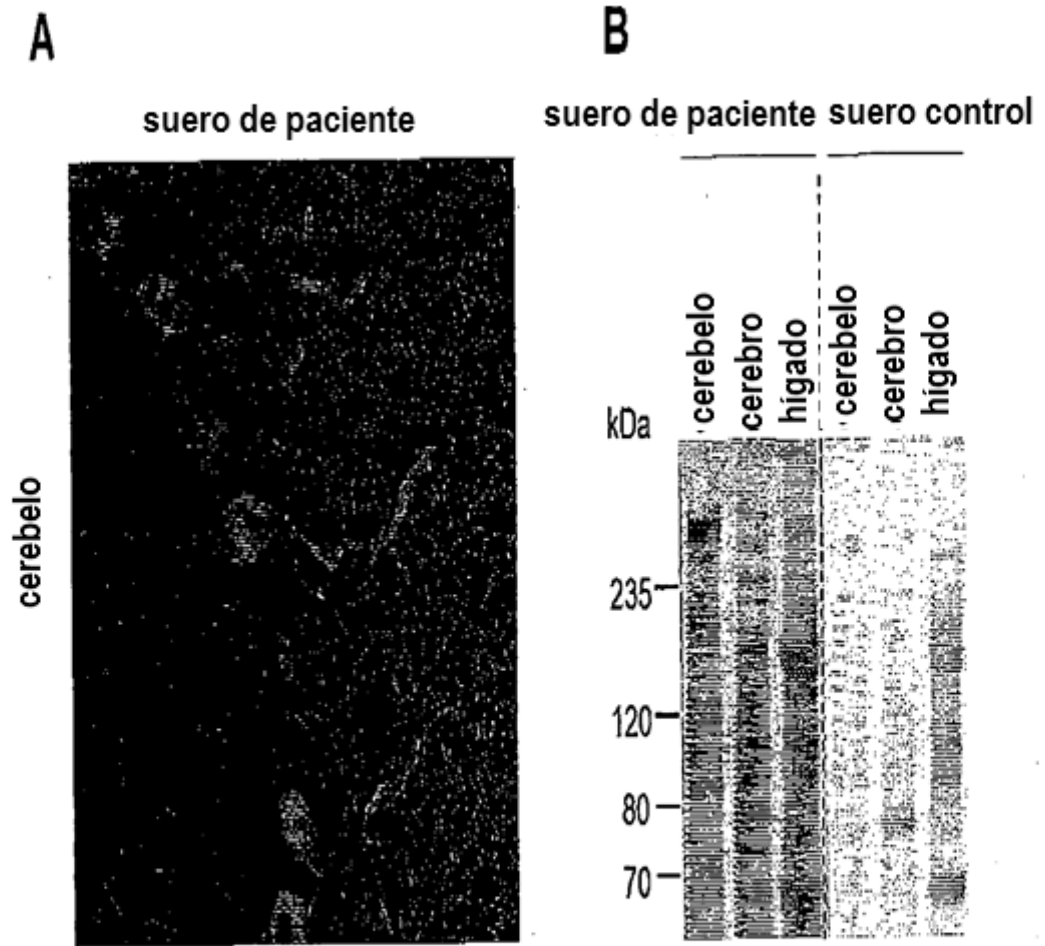


Figura 1

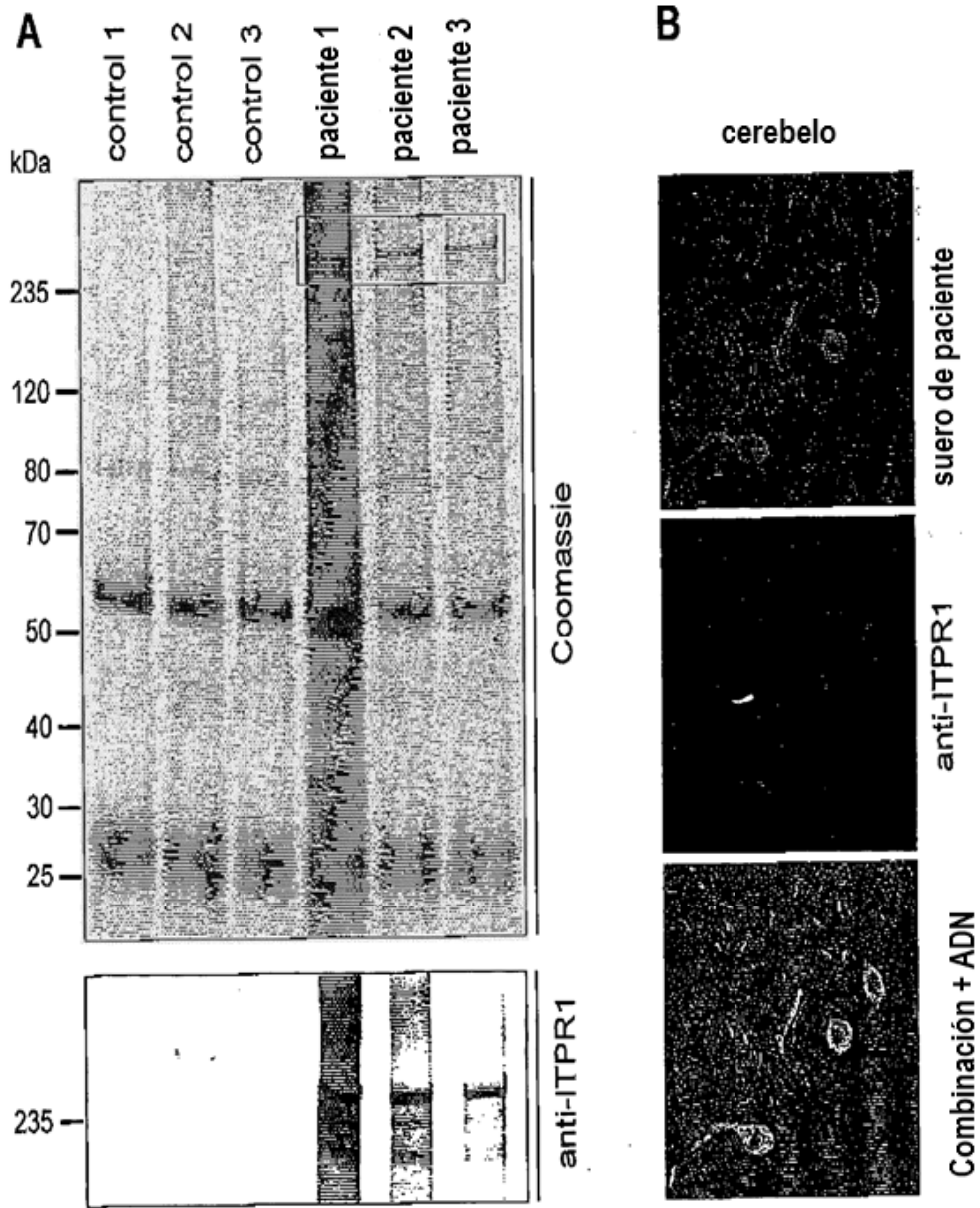


Figura 2

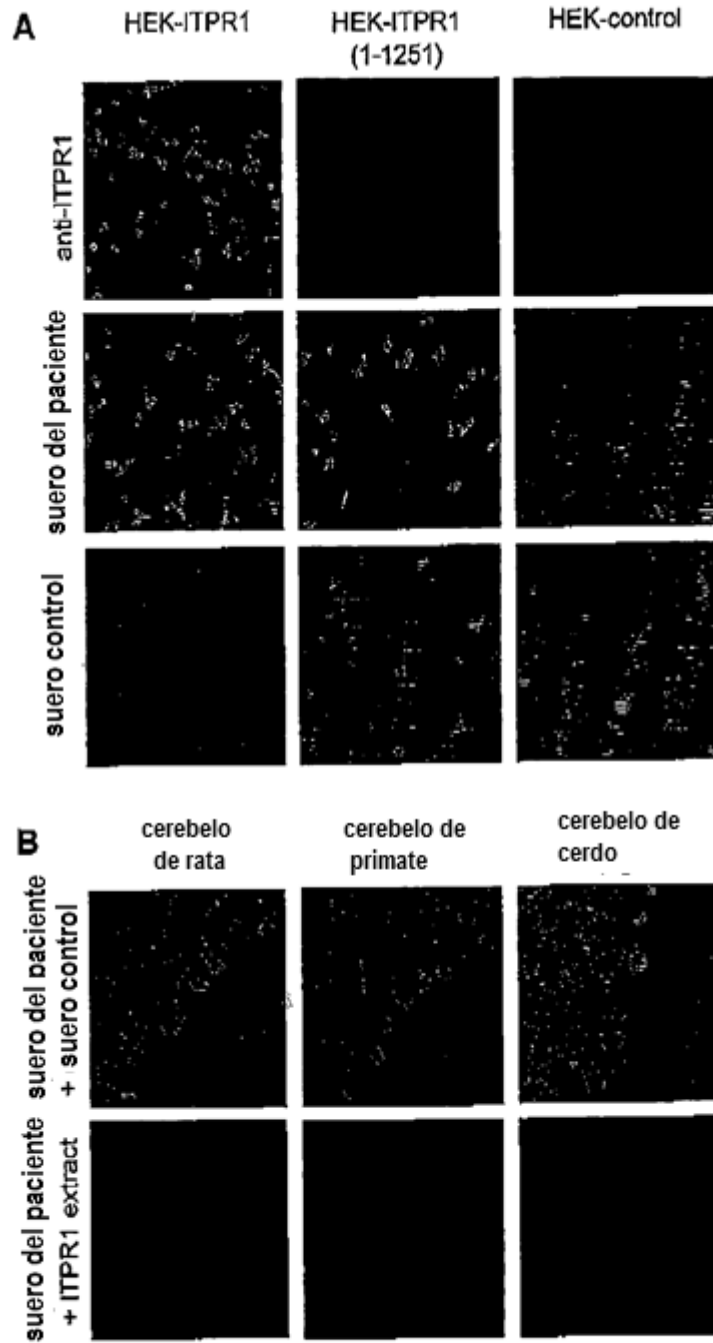


Figura 3