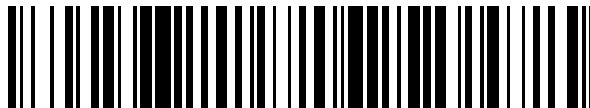


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 910 184**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/569** (2006.01)

**C07K 14/005** (2006.01)

**C07K 14/165** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2020** **E 20215445 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.02.2022** **EP 3869199**

54 Título: **Un procedimiento y reactivos para el diagnóstico del SARS-CoV-2**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.05.2022**

73 Titular/es:

**EUROIMMUN MEDIZINISCHE  
LABORDIAGNOSTIKA AG (50.0%)  
Seekamp 31  
23560 Lübeck, DE y  
CHARITÉ - UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**STEINHAGEN, KATJA;  
MESSING, CLAUDIA;  
LATTWEIN, ERIK;  
STIBA, KONSTANZE;  
LINDHORST, FABIAN;  
NEUGEBAUER, EVA;  
MÜLLER, MARCEL y  
CORMAN, VICTOR**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

**ES 2 910 184 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 procedimiento y reactivos para el diagnóstico del SARS-CoV-2

La presente invención se refiere a un procedimiento para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2 que comprende el paso de detectar la presencia o ausencia de un anticuerpo de clase IgA frente a la SEQ ID NO1 en una muestra de sangre de un sujeto y un uso de un anticuerpo de clase IgA frente a la SEQ ID NO1 para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2, donde el uso es para el diagnóstico temprano de una infección por SARS-CoV-2.

A finales de 2019, un número creciente de pacientes de neumonía con patógeno desconocido surgió de Wuhan, la capital de la provincia china de Hubei, a casi toda China. Se aisló un novedoso coronavirus y, basándose en su filogenia, taxonomía y práctica establecida, el Grupo de Estudio de Coronavirus (CSG) lo reconoció como hermano de los coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y lo etiquetó como coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2).

Aunque el SARS-CoV-2 es generalmente menos patógeno que el SARS-CoV y el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), tiene una transmisibilidad relativamente alta. Dado que los síntomas pueden ser leves y confundirse con un resfriado, existe el peligro de que los pacientes no sean conscientes de que han sido infectados y puedan ayudar a que el virus se propague más.

Corman et al. publicaron un ensayo basado en la RT-PCR en tiempo real para la detección del SARS-CoV-2 (Corman et al. (2020) Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR, [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2)). WO14045254 divulga ensayos para diagnosticar una infección por MERS.

El documento US2005/0112559 divulga reactivos derivados de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV para el diagnóstico del SARS-CoV.

El documento WO2005118813 divulga composiciones inmunogénicas asociadas a la proteína de espiga del SARS-CoV.

El documento US2006/0188519 divulga péptidos inmunorreactivos derivados del SARS-CoV.

Jiang *et al.* (Jiang, S., Du, L., Shi, Z. *Emerging Microbes and Infections*, 2020 Vol. 9, 275-277) discuten las estrategias terapéuticas relacionadas con el SARS-CoV-2.

Meyer et al. (*Virus research* 194 (2014), 175-183) discuten los ensayos serológicos relacionados con los virus corona emergentes.

Hsueh *et al.*, informaron de que la IgG podía detectarse tan pronto como cuatro días después del inicio de una infección por SARS, simultáneamente o un día antes que la IgM y la IgA (Hsue, P. R., Huang, L. M., Chen, P. J., Kao, C. L., y Yang P. C. (2004) Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralization antibodies after infection with SARS-associated coronavirus, *Clinical Microbiology and Infection*, 10(12), 1062-1066.

Sin embargo, los ensayos basados en la PCR tienen varias deficiencias. En particular, se requiere una muestra del tracto respiratorio superior del paciente. La recuperación incorrecta de una muestra de este tipo puede dar lugar a resultados falsos negativos. Además, los resultados pueden no reflejar el estado de la enfermedad del paciente. Por lo tanto, sería deseable una prueba serológica.

Por lo tanto, un problema subyacente a la presente invención es proporcionar un ensayo y reactivos para la detección serológica temprana del SARS-CoV-2.

Los problemas se resuelven con el objeto de las reivindicaciones independientes y dependientes.

En un primer aspecto, el problema se resuelve mediante un procedimiento para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2 que comprende el paso de detectar la presencia o ausencia de un anticuerpo de clase IgA contra SEQ ID NO1 en una muestra de sangre de un sujeto.

En una realización preferida, se detecta la presencia de un anticuerpo de clase IgG y/o IgM contra SEQ ID NO1 además de un anticuerpo de clase IgA contra SEQ ID NO1.

En una realización preferida, la muestra se selecciona del grupo que comprende sangre entera, suero o plasma.

En una realización preferida, el anticuerpo se detecta utilizando un anticuerpo secundario marcado, preferentemente unido a anticuerpos de clase IgA.

En una realización preferida, el anticuerpo de clase IgA se detecta utilizando un procedimiento seleccionado del grupo que comprende la colorimetría, la inmunofluorescencia, la detección de actividad enzimática, la quimioluminiscencia y la radiactividad.

En una realización preferida, la infección se detecta en una etapa temprana.

- 5 En un <sup>tercer</sup> aspecto, el problema se resuelve mediante el uso de un anticuerpo de clase IgA de la SEQ ID NO1, para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2, donde el uso es para el diagnóstico temprano de una infección por SARS-CoV-2.

10 La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de los inventores de que los anticuerpos contra SEQ ID NO1 pueden detectarse en una fase temprana de la infección, siendo los anticuerpos de clase IgA detectables antes que los anticuerpos IgG.

15 El término "diagnóstico", tal y como se utiliza aquí, se refiere a cualquier tipo de procedimiento destinado a obtener información instrumental en la evaluación de si un paciente sufre o es probable o más probable que la media o un sujeto comparativo, este último preferentemente con síntomas similares, de sufrir cierta 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 tratamiento. En otras palabras, el término "diagnóstico" comprende no sólo el diagnóstico, sino también el pronóstico y/o el seguimiento del curso de una enfermedad o trastorno. Es probable o más probable que el sujeto sufra una infección por SARS-CoV-2 si se detecta un anticuerpo IgA y/o IgG y/o IgM contra SEQ ID NO1 en muestras suyas.

La muestra es preferentemente un mamífero, más preferentemente una muestra humana.

20 Por lo tanto, el término "diagnóstico" no implica preferentemente que los procedimientos o agentes de diagnóstico según la presente invención sean definitivos y suficientes para finalizar el diagnóstico sobre la base de una sola prueba, y mucho menos de un parámetro, sino que puede referirse a una contribución a lo que se denomina "diagnóstico diferencial", es decir, un procedimiento de diagnóstico sistemático que considera la probabilidad de una serie de posibles afecciones sobre la base de una serie de parámetros de diagnóstico. En una realización preferida, el término "SARS-CoV-2", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a un virus caracterizado por el genoma depositado en GenBank bajo el código de acceso MN908947 y sus derivados que tiene al menos 80, preferentemente 85, preferentemente 88, preferentemente 90, preferentemente 91, preferentemente 92, preferentemente 93, preferentemente 94, preferentemente 95, preferentemente 96, preferentemente 97, preferentemente 98, preferentemente 99, preferentemente 99,5, preferentemente 99,8, preferentemente 99,9 o 99,99 por ciento de identidad de secuencia en toda la secuencia de nucleótidos del genoma. Todas las entradas de la base de datos utilizadas aquí corresponden a la versión en línea en la fecha de presentación de la solicitud. En una realización preferida, el término "diagnóstico" significa que el procedimiento o el producto o el uso pueden utilizarse para ayudar en el diagnóstico de una enfermedad o para identificar a un sujeto con riesgo de padecer una enfermedad. El término "diagnóstico" también puede referirse a un procedimiento o agente utilizado para elegir el régimen de tratamiento más prometedor para un paciente. En otras palabras, el procedimiento o agente puede estar relacionado con la selección de un régimen de tratamiento para un sujeto.

40 En una realización preferida, el procedimiento según la presente invención comprende el paso de proporcionar el portador de utilidad diagnóstica y una muestra de un paciente sospechoso de estar infectado, preferentemente un mamífero, más preferentemente un paciente humano. El portador está recubierto con el polipéptido que comprende la SEQ ID NO1 o una variante del mismo. A continuación, el portador puede ponerse en contacto con la muestra en condiciones que permitan la unión de cualquier anticuerpo al polipéptido que comprende la SEQ ID NO1 o una variante de la misma. A continuación, se puede retirar la muestra y lavar el soporte con la célula para eliminar cualquier resto de muestra. Un anticuerpo secundario o un reactivo o medio similar que se una al anticuerpo y que lleve un marcador detectable puede entonces ponerse en contacto con el portador en condiciones que permitan la formación de un complejo entre cualquier anticuerpo unido y el anticuerpo secundario. A continuación, se puede lavar el soporte para eliminar el anticuerpo secundario no unido. Por último, se detecta la presencia del anticuerpo comprobando si se puede detectar el anticuerpo secundario.

50 En una realización preferida, el procedimiento se utiliza más de una vez para examinar muestras del mismo paciente, preferentemente en días diferentes. Por ejemplo, la presencia o ausencia de anticuerpos puede detectarse diariamente durante una o dos semanas. En una realización preferida, se examinan al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 muestras en días diferentes.

El procedimiento según la presente invención también puede utilizarse para examinar la potencia y la utilidad de un fármaco antiviral.

55 El procedimiento según la presente invención también puede utilizarse para detectar si la sangre donada está contaminada con coronavirus.

El anticuerpo que se va a detectar se une preferentemente de forma específica a la SEQ ID NO1. La unión específica significa preferentemente que la reacción de unión es más fuerte que una reacción de unión caracterizada por una

constante de disociación de  $1 \times 10^{-5}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-7}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-8}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-9}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-10}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-11}$  M, más preferentemente  $1 \times 10^{-12}$  M, determinada por resonancia de plasmón de superficie utilizando un equipo Biacore a 25 °C en tampón PBS a pH 7.

- 5 Las enseñanzas de la presente invención no sólo pueden llevarse a cabo utilizando polipéptidos que tengan las secuencias exactas a las que se hace referencia en esta solicitud de forma explícita, por ejemplo por función, nombre, secuencia o número de acceso, o de forma implícita, sino también utilizando variantes de dichos polipéptidos.

10 El término "variante", tal como se utiliza aquí, puede referirse a al menos un fragmento de la secuencia de longitud completa a la que se hace referencia o a un polipéptido que comprende dicho fragmento, más específicamente a una o más secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos que están, en relación con la secuencia de longitud completa, truncadas en uno o ambos terminales por uno o más aminoácidos. Dicho fragmento comprende o codifica para un péptido que tiene al menos 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 o 600 aminoácidos sucesivos de la secuencia original o para una variante de la misma. Por ejemplo, la SEQ ID NO12 es un fragmento ejemplar que puede utilizarse.

15 El término "variante" se refiere no sólo a al menos un fragmento, sino también a un polipéptido o a un fragmento del mismo que comprende secuencias de aminoácidos, preferentemente un fragmento que comprende al menos 25, más preferentemente 50, más preferentemente 200 aminoácidos sucesivos, que son al menos 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de referencia a la que se hace referencia o al fragmento de la misma, en los que se suprimen o sustituyen aminoácidos distintos de los esenciales para la actividad biológica, por ejemplo la capacidad de unirse específicamente a un anticuerpo de interés, o el pliegue o la estructura del polipéptido, y/o se sustituyen uno o más de dichos aminoácidos esenciales de forma conservadora y/o se añaden o suprimen aminoácidos de forma que se preserve, al menos parcialmente, la actividad biológica del polipéptido. El estado de la técnica comprende varios procedimientos que pueden utilizarse para alinear dos secuencias dadas de ácidos nucleicos o aminoácidos y calcular el grado de identidad, véase, por ejemplo Arthur Lesk (2008), Introduction to bioinformatics, Oxford University Press, 2008, 3ª edición. En una realización preferida, 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. Bioinformática, 23, 2947-2948) se utiliza aplicando la configuración por defecto.

20 Las publicaciones relacionadas con el SARS-CoV-2 sobre secuencias de aminoácidos específicas, tales como las de Beal et al., pueden ayudar al experto a diseñar variantes (Beal, J., Mitechell, T., Wyschogrod, W., Manthey, J, y Clore, A. (2020) Highly Distinguished Amino Acid Sequences of 2019-nCoV (Wuhan Coronavirus) doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929497> así como publicaciones relacionadas con el SARS-CoV, por ejemplo Hua, R., Zhou, Y., Wang, Y., Hua, Y and Tong, T. (2004) Identification of two antigenic epitopes on SARS-CoV spike protein, BBR 319, 929-935, donde se pueden encontrar epitopos homólogos y se pueden identificar epitopos del SARS-CoV-2 a causa de su homología. Por ejemplo, los posibles epitopos pueden derivarse de la SEQ ID NO5.

25 Las variantes pueden, además, comprender modificaciones químicas, por ejemplo, marcadores tales como marcadores isotópico o marcadores detectables o modificaciones covalentes tales como glicosilación, fosforilación, acetilación, descarboxilación, citrulinación, hidroxilación y similares. El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos de modificación de polipéptidos. Además, las variantes también pueden generarse mediante la fusión con otros polipéptidos conocidos o variantes de los mismos, por ejemplo, enlazadores artificiales, etiquetas de afinidad, otros antígenos y similares. Por ejemplo, la SEQ ID NO3 es una proteína de fusión.

30 La variante del polipéptido tiene actividad biológica. Dicha actividad biológica es la capacidad de unirse al anticuerpo correspondiente. Comprende un epítipo que tiene la capacidad o tiene en sí mismo la capacidad de unirse a un anticuerpo de clase IgA a la SEQ ID NO1, preferentemente de una muestra de un paciente que sufre de SARS-CoV-2, donde más preferentemente el epítipo comprende una secuencia que comprende al menos 5, 6, 7 u 8 residuos de aminoácidos. Más preferentemente, no se une específicamente a homólogos de SEQ ID NO1 de otros coronavirus, preferentemente del grupo que comprende MERS (SEQ ID NO6), NL63 (SEQ ID NO10), 229E (SEQ ID NO7), OC43 (SEQ ID NO8) y HKU1 (SEQ ID NO9), más preferentemente del grupo que comprende SARS-CoV-1 (SEQ ID NO11), MERS NL63, 229E, OC43 y HKU1.

35 La detección del anticuerpo para el diagnóstico o los procedimientos según la presente invención comprende el uso de un procedimiento seleccionado del grupo que comprende las técnicas de inmunodifusión, las técnicas inmunolectroforéticas, los inmunoensayos de dispersión de la luz, las técnicas de aglutinación, los inmunoensayos marcados como los del grupo que comprende los inmunoensayos radiomarcados, los inmunoensayos enzimáticos como los ensayos colorimétricos, los inmunoensayos de quimioluminiscencia y las técnicas de inmunofluorescencia. En una realización preferida, el complejo se detecta utilizando un procedimiento seleccionado del grupo que comprende técnicas de inmunodifusión, técnicas inmunolectroforéticas, inmunoensayos de dispersión de luz, técnicas de aglutinación, inmunoensayos marcados del grupo que comprende inmunoensayos radiomarcados, inmunoensayos de quimioluminiscencia y técnicas de inmunofluorescencia. El experto en la técnica está familiarizado con 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. Preferentemente, el formato de la prueba es un ELISA y se utiliza una placa de microtitulación con pocillos como soporte de utilidad diagnóstica.

5 Un anticuerpo secundario es un anticuerpo que se une a todos los anticuerpos de una clase de anticuerpos, preferentemente una clase de anticuerpos humanos, preferentemente anticuerpos IgA e IgG e IgM, preferentemente IgA. Los anticuerpos secundarios suelen reconocer el dominio constante de dicha clase. Existe una amplia gama de ellos en el mercado.

10 El soporte de utilidad diagnóstica se selecciona preferentemente del grupo que comprende un portaobjetos de vidrio, preferentemente para microscopía, un biochip, una placa de microtitulación, un dispositivo de flujo lateral, una tira reactiva, una membrana, preferentemente una transferencia en línea, una columna de cromatografía y una perla, preferentemente una placa de microtitulación.

15 Un polipéptido, preferentemente el polipéptido que comprende la SEQ ID NO1 o una variante del mismo, puede ser una proteína recombinante, donde el término "recombinante", tal como se utiliza aquí, se refiere a un polipéptido producido utilizando enfoques de ingeniería genética en cualquier etapa del proceso de producción, por ejemplo, mediante la fusión de un ácido nucleico que codifica el polipéptido a un promotor fuerte para la sobreexpresión en células o tejidos o mediante la ingeniería de la secuencia del propio polipéptido. El experto en la técnica está familiarizado con los procedimientos de ingeniería de ácidos nucleicos y polipéptidos codificados (por ejemplo, los 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 "Estrategias para la purificación de proteínas", "Antibody Purification", publicados por GE Healthcare Life Sciences y en Burgess, R. R., Deutscher, M. P. (2009): Guía para la purificación de proteínas). En otra realización preferida, el polipéptido es un polipéptido aislado, donde el término "aislado" significa que el polipéptido ha sido enriquecido en comparación con su estado de producción utilizando un enfoque biotecnológico o sintético y es preferentemente puro, es decir, al menos el 60, 70, 80, 90, 95 o 99 por ciento del polipéptido en el líquido respectivo consiste en dicho polipéptido según se juzga por electroforesis en gel de poliacrilamida SDS seguida de tinción con azul de Coomassie e inspección visual. Preferentemente, cualquier polipéptido en un portador utilizado como medio para capturar un anticuerpo es puro.

30 Se puede utilizar un anticuerpo secundario que comprenda un marcador detectable para detectar anticuerpos de la clase IgA e IgG e IgM, preferentemente de la clase IgA de la SEQ ID NO1. En una realización preferida, el marcador se selecciona del grupo que comprende un marcador fluorescente, uno radiactivo o un marcador enzimáticamente activo, preferentemente uno que catalice una reacción colorimétrica. Como marcador fluorescente puede utilizarse FITC u otro derivado de la fluoresceína. Una proteína con actividad de peroxidasa puede utilizarse como marcador enzimáticamente activo. Preferentemente el anticuerpo secundario reconoce anticuerpos de mamíferos, más preferentemente humanos. Preferentemente, el anticuerpo secundario es un anticuerpo monoclonal.

35 Se describe además en el presente documento un kit que comprende un polipéptido que comprende la SEQ ID NO1 o una variante del mismo, preferentemente recubierto a un soporte de utilidad diagnóstica, más preferentemente una placa de microtitulación, y uno o más, preferentemente todos los reactivos de los anticuerpos, donde el anticuerpo secundario puede comprender un marcador detectable, un tampón de muestra, una solución de detección, preferentemente una solución de cromógeno/sustrato, una solución de parada y una lámina protectora.

40 Un calibrador es un reactivo que se une a un polipéptido que comprende la SEQ ID NO1 o una variante del mismo y que preferentemente es reconocido por anticuerpos secundarios que reconocen anticuerpos de clase IgA. El calibrador puede ser un anticuerpo IgA frente a la SEQ ID NO1. Un control positivo es una solución que comprende un compuesto como el anticuerpo frente a la SEQ ID NO1, preferentemente del grupo que comprende anticuerpos de clase IgA, IgG e IgM, más preferentemente IgA, de la muestra de un paciente que padece SARS-coV-2 en una cantidad tal que se obtiene un resultado positivo utilizando el procedimiento según la presente invención. Un control negativo es un reactivo que carece de dicho compuesto y podría comprender suero de una persona sana. Se puede utilizar un tampón de lavado para lavar la placa de microtitulación después de la incubación para eliminar los anticuerpos inespecíficos y podría ser PBS. El medio para detectar la presencia de un anticuerpo podría ser un anticuerpo secundario que se une a la clase de anticuerpos que se va a detectar, preferentemente anticuerpos humanos de clase IgA, y que esté marcado, preferentemente con una enzima, más preferentemente con una enzima que tenga actividad de peroxidasa. El tampón de la muestra puede utilizarse para diluir la muestra del paciente y puede ser PBS. La solución de detección puede producir una señal en presencia del anticuerpo secundario marcado y es preferentemente una solución reveladora de color y más preferentemente 3,3',5,5' tetrametilbenzidina/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La solución de parada puede añadirse a una reacción para detener la reacción de la solución de detección y puede comprender un ácido fuerte, preferentemente ácido sulfúrico 0,5 M. La lámina protectora puede colocarse encima de la placa de microtitulación para evitar la evaporación.

55 La presente memoria descriptiva comprende una serie de novedosas secuencias de ácidos nucleicos y polipéptidos, más específicamente

**SEQ ID NO1 (Proteína de espiga del SARS-CoV-2 S1)**

VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTK  
RFDNPVLPFNDGVYFASTSEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNATNVVIKVFCEQFCNDPFL  
GVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFNIDGYF  
KIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTGDSGSSGWTAGAAAY  
YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVR  
FPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNLDL  
CFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYL  
YRLFRRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYPYRVVVL  
SFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDA  
VRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYST  
GSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRAR

**SEQ ID NO2 (Proteína de espiga del SARS-CoV-2 , etiquetada con his terminalmente en C, tal como se expresa en células para el ejemplo)**

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV  
TWFAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTSEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNATN  
VVIKVFCEQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGN  
FKNLREFVFNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLT  
GDSGSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLSFTVEKGIY  
QTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSAFS  
TFKCYGVSPTKLNLDL CFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWN  
SNNLDSKVGGNYNYLYRLFRRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQ  
PTNGVGYQPYPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKF  
LPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPV  
AIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRA  
RLEHHHHHHHHH

**SEQ ID NO3 (Proteína de espiga del SARS-CoV-2 , etiquetada con his en C, como después de la escisión del péptido señal, utilizada en los ejemplos)**

VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTK  
RFDNPVLPFNDGVYFASTSEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNATNVVIKVFCEQFCNDPFL  
GVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFNIDGYF  
KIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTGDSGSSGWTAGAAAY  
YVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVR  
FPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNLDL  
CFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYL  
YRLFRRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYPYRVVVL  
SFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDA  
VRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYST  
GSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARLEHHHHHHHHH

## ES 2 910 184 T3

### **SEQ ID NO4 (Proteína de espiga del SARS-CoV-2, secuencia de nucleótidos que codifica la SEQ ID NO2)**

ATGTTTCGATTCCCTTGTCTGCTGCCTTTGGTTAGCAGTCAGTGTGTCAACCTGACAAC  
CGCACGCAACTGCCGCCAGCTTACACCAACTCTTTCACAAGAGGCGTCTACTACCCGGA  
CAAAGTGTTCGCTCATCAGTGCTGCACTCTACACAAGATTTGTTTCTGCCATTCTTCTC  
TAACGTAACCTGGTTTCACGCGATTCATGTGTCTGGGACAAATGGGACCAAGCGCTTCG  
ACAACCCCGTGCTGCCATTCAATGACGGGGTGTATTTTGCCTCCACCGAGAAATCCAAT  
ATCATCCGAGGATGGATTTTTCGGTACTACGCTGGACTCTAAAACGCAGTCTCTTTGATC  
GTTAATAACGCCACAAATGTTGTCATTAAGGTGTGCGAGTTTCAGTTCTGTAATGATCCC  
TTTCTGGGTGTGTATTACCACAAGAATAACAAGTCATGGATGGAAAGCGAGTTTCGCGT  
GTAICTAAGTGCCAATAACTGCACATTCGAGTATGTGTCCCAGCCTTTCCTGATGGATCT  
CGAAGGCAAACAGGGGAACTTCAAGAATCTGCGCGAGTTTCGTGTTAAGAACATCGACG  
GTTATTTCAAGATCTACAGCAAACATACCCATTAACCTGGTCAGGGATCTCCCTCAGG  
GATTCTCCGCCCTGGAACCCTTGGTGGACTTGCCATTGGGATTAACATCACTAGATTC  
CAGACCCTGCTGGCCCTTACCGTTCCTATCTTACTCCTGGCGACAGTAGCAGTGGATG  
GACCGCAGGAGCAGCCGCTTACTATGTAGGCTATCTGCAGCCACGGACCTTCTCCTC  
AAGTACAATGAAAATGGTACCATAACTGATGCTGTGGACTGCGCTCTGGATCCACTCTC  
CGAAACTAAATGCACCCTTAAAAGCTTCACGGTCGAAAAGGGAATCTACCAGACAAGTA  
ACTTTCGGGTACAACCCACTGAGTCCATCGTGCGGTTTCCTAACATCACAAATCTCTGC  
CCCTTGGTGAAGTGTTTAAAGCCACTAGTTTCGCTTCTGTTTATGCGTGGAATCGGAA  
GAGGATTTCCAATTGCGTGGCAGACTACTCTGTCTGTATAATAGCGCTAGCTTCAGCA  
CCTTCAAATGTTACGGGGTAAGCCCAACTAACTGAACGACCTCTGTTTTACCAACGTGT  
ATGCCGATAGCTTTGTCATACGAGGAGATGAGGTTTCGTGAGATTGCTCCTGGCCAAACG  
GGGAAAATCGCAGACTACAACACTACAAGCTTCCCGACGACTTCACAGGATGCGTGATCGC  
GTGGAACCTCAAATAATCTGGATAGCAAGGTTGGTGGCAATTATAACTACCTGTATCGACT  
GTTTCAGGAAAAGCAACCTCAAACCCTTTGAGCGCGACATCAGCACCGAGATATACCAAG  
CCGTTTCAACACCTTGCAATGGGGTGGAAAGGTTTAACTGCTATTTCCCACTTCAGAGC  
TATGGGTTTTAGCCAACCAATGGAGTCGGCTACCAGCCCTATCGGGTGGTAGTCCTGTC  
CTTTGAGCTGTTGCATGCGCCTGCCACAGTCTGTGGCCCTAAGAAGAGTACGAATCTGG  
TGAAGAACAAGTGCCTCAACTTCAATTTTAAAGGCTTACTGGAACAGGAGTTCTGACC  
GAGTCCAACAAGAAATTCCTTCTTTTCAGCAGTTTGAAGGGATATAGCCGACACTAC  
CGATGCCGTTCCGGGATCCACAGACTGGAGATTCTGGACATTACTCCGTGCTCATTG  
GCGGTGTATCTGTATCACACCTGGGACCAATACCTCAAATCAGGTGGCTGTGCTCTAC  
CAGGATGTGAATTGTACCGAAGTTCCAGTGGCAATTCATGCCGATCAACTGACTCCAC  
CTGGAGAGTGTACAGTACTGGCAGTAACGTGTTTCAGACAAGAGCTGGCTGTCTCATAG  
GCGCAGAACACGTCAACAACAGCTATGAGTGTGACATTCCGATCGGCGCAGGCATCTG  
TGCATCTACCAGACGCAAACCAACTCTCCAGAAGAGCCAGGCTCGAGCACCACCAT  
CACCATCACCATCACTAA

### **SEQ ID NO5 (posible epítipo)**

NLKPFRDISTE

### **SEQ ID NO6 (S1[MERS\_CoV])**

YVDVGPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGRTYSNITITYQGLFPYQGD  
HGDMYVYSAGHATGTTTPQKLFVANYSQDVKQFANGFVVRIGAAANSTGTVIISPSTSATIRKI  
YPAFMLGSSVGNFSDGKMGRFFNHTLVLLPDGCGTLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSF  
ATYHTPATDCSDGNYNRNASLNSFKEYFNLRNCTFMYTYNITEDEILEWFGITQTAQGVHLF  
SSRYVDLYGGNMFQFATLPVYDTIKYYSIIPHSIRSISQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLDFSD  
GYIRRAIDCGFNDSLHCSYESFDVESGVYSVSSFEAKPSGVSVEQAEGVECDFSPLLSG  
TPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDYFSYPLSMKSD  
LSVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVN  
ANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRQKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQYGT  
DTNSVCPKLEFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTAVGVRQQRFVYDAYQNLV  
GYYSDDGNYYCLRACVSPVSVIYDKETKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRSMLKRR  
DSTYGPLQTPVGCVLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPTSTLTPRSVR

**SEQ ID NO7 (S1[HCov-229E])**

CQTTNGLNTSYSVCNGCVGYSENVFAVESGGYIPSDFAFNNWFLNTNTSSVVDGVVRSFQP  
LLLNLWSVSGLRFTTGFVYFNGTGRGDCKGFSSDVLSDVIRYNLNFEEENLRRGTILFKTSY  
GVVVFYCTNNTLVSGDAHIPFGTVLGNFYCFVNTTIGNETTSAFV GALPKTVREFVISRTGHF  
YINGRYFTLGNVEAVNFVNTTAETTDFACTVALASYADVLVNVSQTSIANIICNSVINRLRCD  
QLSFDVPDGFYSTSPIQSVELPVSI VSLPVYHKHTFIVLYVDFKPKQSGGGKCFNCYPAGVNIT  
LANFNETKGPLCVDTSHFTTKYVAVYANVGRWSASINTGNCPFSFGKVN NFVKFGSVCFL  
KDIPGGCAMPIVANWAYS KYTIGSLYVSWSDGDGITGVPQPV EGVSSFMNVTLDKCTKYNI  
YDVSGVG VIRVSNDFLNGITYTSTSGNLLGFKDVTKGTIYSITPCNPPDQLVVYQQA VVGA  
MLSENF TSYGFSNVVELPKFFYA

**SEQ ID NO8 (S1[HCov-OC43])**

AVIGDLKCTSDNINDKDTGPPPISTDTVDVTNGLGTYVLD RYV LN T T L F L N G Y Y P T S G S T Y R  
NMALKGSVLLSRLWFKPPFLSDFINGIFAKVKNTKVIKDRVMYSEFP AITIGSTFVN TSY SVV  
QPR TINSTQDGD NK LQGLLEV SVCQY NMCEYPQTICH PNLGNHRKELWHLDTGVV SCLYK  
RNFTYDVNADYLYFHFYQEGGTFYAYFTDTGVVTKFLFN VYLG MALSHYYVMPLTCNSKLT L  
EYWTPLTSRQYLLAFNQDGIIFNAEDCM SDFMSEIKCKTQSIAPPTGVYELNGYTVQPIADV  
YRRKPNLPNCNIEAWLNDKSVSP LNWERKTF SNCNFNMSSLMSFIQADSFTCNNIDA AKIY  
GMC FSSITIDKFAIPNGRKVDLQLGNLGYLQSFNYRIDTTATSCQLYNNLPAANVSVSRFNPS  
TWNKRFGFIEDSVFKPRPAGVLTNH DVVYAQHCFKAPKNFCPCKLNGSCVGS GP GKNNGI  
GTCPAGTNYLTCDNLCTPDPIFTGT YKCPQTKSLVGIGEHCSGLAVKSDYCGGNSCTCRP  
QAFLGWSADSCLQGDKCNIFANFILHDVNSGLTCSTDLQKANTDIILGVCVNYDLYGILGQGI  
FVEVNATYYNSWQNLLYDSNGNLYGFRDYIINRTFMIRSCYSGRVSA AFHANSSEPALLFRN  
IKCNVYFNNSLTRQLQPINYFDSYLGCVVNAYNSTAISVQTCDLTVGSGYCVDYSKNRRSRG

**SEQ ID NO9 (S1[HCov-HKU1])**

AVIGDFNCTNSFINDYNKTIPIRISEVDVSLGLGTYVLRVYLNTLLFTGYFPKSGANFRD  
LALKGSIYLLSTLWYKPPFLSDFNNGIFSKVKNTKLYVNNNTLYSEFSTIVIGSVFVNTSYTIVWQP  
HNGILEITACQYTMCEYPHTVCKSKGSIRNESWHIDSSEPLCLFKKNFTYNVSADWLYFHFY  
QERGVFYAYYADVGMPTTFLFLSLYLGILSHYYVMLPTCNAISSNTDNETLEYWWTPLSRRQ  
YLLNFDEHGVITNAVDCSSSFLSEIQCKTQSFAPNTGVYDLSGFTVKPVATVYRRIPNLPDCD  
IDNWLNNVSVPSPLNWERRIFSNCFNLSTLLRLVHVDSFSCNNLDKSKIFGSCFNISITVDFK  
AIPNRRRDDLLQLGSSGFLQSSNYKIDISSSSCQLYSLPLVNVNTINNFNPSSWNRRYGFSGF  
NLSSYDVVYSDHCFVNSDFCPCADPSVNSCAKSKPPSAICPAGTKYRHCDLDTTLYVKN  
WCRCSCLPDPISTYSPNTCPQKKVVVIGEGHCPGLGINEEKCGTQLNHSSCFSPDAFLGW  
SFDSCISNNRCNIFSNFIFNGINS GTTCSNDLLYSNTEISTGVCVNYDLYGITGQGIFKEVSAA  
YYNNWQNLLYDSNGNIIGFKDFLTNKYITILPCYSGRVSAAFYQNSSSPALLYRNLCASYVLN  
NISFISQPFYFDSYLGCVLNAVNLTSYSVSSCDLRMGSGFCIDYALPSSRRKR

**SEQ ID NO10 (S1[HCov-NL63])**

FFTCNSNANLSMLQLGVPDNSSTIVTGLLPTHWF CANQSTSVYSANGFFYIDVGNHRSAFAL  
HTGYYDANQYYIYVTNEIGLNASVTLKICKFSRNTTFDFLSNASSSFD CIVNLLFTEQLGAPLG  
ITISGETVRLHLYNVTRTFYVPAAYKLTKLSVKCYFNYSVFSVNVATVTVNVTTTHNGRVVNY  
TVCCDCNGYTDNIFSVQQDGRIPNGFPFNWFLLTNGSTLVDGVSRLYQPLRLTCLWPVPG  
LKSSTGFVYFNATGSDVNCNGYQHNSVVDVMRYNLNFSANSLDNLKS GVI VFKTLQYDVL F  
YCSNSSSGVLDTTIPFGPSSQPYCFINSTINTTHVSTFVGILPPTVREIVVARTGQFYINGFK  
YFDLGFIEAVNFNVTTASATDFWTVAFATFVDVLVNVSATNIQNLLYCDSPFEKLQCEHLQFG  
LQDGFYSANFLDDNVLPETYVALPIYYQHTDINFATASFGGSCYVCKPHQVNISLNGNTSV  
CVRTSHFSIRIYINRVKSGSPGDSSWHIYLKSGTCPF SFSKLN NFQKFKTICFSTVEVPGSCN  
FPLEATWHYTSYTIVGALYVTWSEGNISITGVPYPVSGIREFSNLVLNNCTKYNIDYVGTGIIR  
SSNQSLAGGITYVSN SGNLLGFKNVSTGNIFIVTPCNQPDQVAVYQQSIIGAMTAVNESRYG  
LQNLLQLPNFYV

**SEQ ID NO11 (S1[SARS\_CoV])**

SGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRS DTLYL TQDLFLPFYSNVTGFHTIN  
HTFGNPVIPFKDGIYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNNKSQSVIIINNSTNVVIRACNFELCDNP  
FFAVSKPMGTQTHMIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNKDGF LYVYK  
GYQPIDVVRDLPSGFNTLKPIFKLPLGINITNFRAILTAFSPAQDIWGTSAAAYFVG YLKPTTF  
MLKYDENGITITDAVDCSQNPLAELKCSVKSFEIDKGIYQTSNFRVVP SGDVVRFPNITNLCPF  
GEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNDLCFSNVYADSF  
VVKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGN YNYKYRYLRHGKL  
RPFERDISNVPFSPDGKPCPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATV  
CGPKLSTDLIKNQCVNFNGLTGTGVLTPSSKRFQPFQFGRDVSDFDTSVRDPKTSEILD  
ISPCSFGGVSVITPGTNASSEVAVLYQDVNCTDVSTAIHADQLTPAWRIYSTGNNVFQTQAG  
CLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTVSLRL

**SEQ ID NO12 (fragmento de la SEQ ID NO1)**

NSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGV  
 YFASTEKSNIIRGWIFGTTLDLSDKTSLLIVNNATNVVIVKVEFCQFCNDPFLGVYHKNKSWM  
 ESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDL  
 PQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTGPDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRFTLLKY  
 NENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN  
 ATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGD  
 EVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFR  
 DISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPVRVWVLSFELLHAPATVCGP  
 KKSTNLVKNKCVNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPC  
 SFGGVSIVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIG  
 AEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQT

La presente invención se ilustra además mediante los siguientes ejemplos, secuencias y figuras de los que pueden extraerse otras características, realizaciones, aspectos y ventajas de la presente invención. Todos los procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento pueden utilizarse en la práctica o en las pruebas de la presente invención, describiéndose en el presente documento los procedimientos y materiales adecuados.

**Ejemplos****Muestras**

Ocho muestras de pacientes resultaron positivas al SARS-coV-2 por PCR, tal como lo describen Corman *et al.* (Corman et al. (2020) Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR, [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2)), que se obtuvieron entre 6 y 14 días después de la infección, y 14 muestras de dichos pacientes obtenidas en un momento anterior después de la infección.

Además, se disponía de una serie de muestras que contenían diversos coronavirus, incluyendo 18 muestras de pacientes infectados con MERS, tres muestras de pacientes infectados con SARS-CoV-1, cuatro pacientes con NL63, tres pacientes con 229E, seis pacientes con OC43 y tres pacientes con HKU1.

**Preparación de placas de microtitulación recubiertas con antígeno**

La SEQID NO2 se expresó en células HEK293T utilizando la clonación estándar de la SEQ ID NO4 en el plásmido pTriEx-1 con una secuencia señal artificial y una etiqueta His C-terminal, lo que dio como resultado la expresión de la SEQ ID NO2 y, tras la eliminación del péptido señal, la SEQ ID NO3. Las células transfectadas se cultivaron a 37°C y 8,5% de CO2 en medio de Eagle modificado de Dulbecco con 10% de suero fetal de ternera, 100 U/ml de penicilina y 0,1 mg/ml de estreptomina durante tres a cinco días. Las células fueron recolectadas, se resuspendieron en 20 mM Tris-HCl pH 7,4, 10% (p/v) de sacarosa, 5 mM de EDTA, 1 mM de PMSF y se almacenaron a -80°C hasta su uso posterior.

Para preparar la SEQ ID NO3, el sobrenadante del cultivo celular se ajustó a 5 mmol/l de cloruro de tris, pH 8,0, 164 mmol/l de cloruro de sodio, 50 mmol/l de cloruro de magnesio, 20 mmol/l de imidazol, 0,1% de Tritón X-100, se aclaró por centrifugación durante 30 minutos a 17.600xg, 4°C, se aplicó a Nickel Rapid Run (Agarose Bead Technologies, Miami, FL, USA) equilibrado con 5 mmol/l de cloruro de tris, pH 8,0, 300 mmol/l de cloruro de sodio, 20 mmol/l de imidazol y se eluyó aumentando la concentración de imidazol a 150 mmol/l. Todas las fracciones que contenían SEQ ID NO3 se agruparon y concentraron por ultrafiltración (VivaSpin, Sartorius, Gottingen, Alemania). La preparación final se almacenó a -80°C hasta su uso posterior.

La preparación proteica final de la SEQ ID NO3 se trató con o sin 16 mmol/l de ditiotreitol y se incubó a 70°C o a temperatura ambiente durante 10 minutos, seguido de electroforesis en gel SDS y tinción de Coomassie.

La identidad de las proteínas se verificó por espectrometría de masas.

Para su uso en ELISA de microtitulación, la proteína purificada se diluyó en PBS hasta concentraciones finales de aproximadamente 1,5 µg/ml y se utilizó para recubrir placas de microtitulación ELISA (Nunc, Roskilde, Dinamarca) durante la noche.

**Procedimiento experimental**

Las muestras se diluyeron 1:101 en tampón de muestra de IgG, se aplicaron a placas de microtitulación y se incubaron como se describe para los kits de prueba EUROIMMUN ELISA comerciales, utilizando reactivos disponibles en el mercado (por ejemplo, EI 2260-9601 G/A). Se siguió el manual de EI 2260-9601 G/A. En resumen: 60 min a 37 °C; 3 lavados con tampón de lavado; adición de 100 µl de conjugado anti-IgG humana (conejo) o conjugado anti-IgA humana

(conejo) marcado con peroxidasa por pocillo; incubación durante 30 min a 37 °C; 3 pasos de lavado utilizando tampón de lavado EUROIMMUN; adición de 100 µl de solución de cromógeno/sustrato (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por pocillo; incubación durante 30 min a temperatura ambiente; adición de 100 µl de solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M de ácido sulfúrico); medición de la densidad óptica a 450 nm frente a 630 nm como referencia.

- 5 La calibración se llevó a cabo utilizando calibradores disponibles en el mercado (número de producto EI 2606-9601 A, EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG). Se calculó una relación dividiendo la extinción de la muestra de control o del paciente por la extinción del calibrador. Los resultados inferiores a 0,8 se consideraron negativos, los resultados entre 0,8 y 1,1 dudosos y los resultados superiores a 1,1 positivos.

**Resultados**

- 10 Los datos primarios se muestran en la Tabla 1

		datos sin procesar		Corte OD	datos sin procesar		Corte OD
				0,100			0,200
		IgG (OD)	dil. 1:	IgG (Relación)	IgA (OD)	dil. 1:	IgA(Relacion)
				pos: ≥ 1,1			pos: ≥ 1,1
				bl. 0,8-1,0			bl. 0,8-1,0
1	Calibrador	1,911	300	19,1	3,055	600	15,3
2	Calibrador	1,593	600	15,9	2,204	1200	11,0
3	Calibrador	1,077	1200	10,8	1,068	2400	5,3
4	Calibrador	0,697	2400	7,0	0,529	4800	2,6
5	Calibrador	0,441	4800	4,4	0,314	9600	1,6
6	Calibrador	0,248	9600	2,5	0,155	19200	0,8
7	Calibrador	0,132	19200	1,3	0,078	38400	0,4
8	Calibrador	0,066	38400	0,7	0,051	76800	0,3
9	SARS2, etapa tardía	0,157		1,6	1,402		7,0
10	SARS2, etapa tardía	0,075		0,8	0,377		1,9
11	SARS2, etapa tardía	0,276		2,8	9,999		50,0
12	SARS2, etapa tardía	0,027		0,3	0,027		0,1
13	SARS2, etapa tardía	0,023		0,2	0,064		0,3
14	SARS2, etapa tardía	0,119		1,2	1,142		5,7
15	SARS2, etapa tardía	0,031		0,3	0,203		1,0
16	SARS2, etapa tardía	0,079		0,8	0,385		1,9

ES 2 910 184 T3

17	SARS2, < día 6	0,021		0,2	0,055		0,3
18	SARS2, < día 6	0,019		0,2	0,084		0,4
19	SARS2, < día 6	0,021		0,2	0,225		1,1
20	SARS2, < día 6	0,018		0,2	0,192		1,0
21	SARS2, < día 6	0,033		0,3	0,599		3,0
22	SARS2, < día 6	0,029		0,3	0,331		1,7
23	SARS2, < día 6	0,013		0,1	0,030		0,2
24	SARS2, < día 6	0,017		0,2	0,097		0,5
25	SARS2, < día 6	0,027		0,3	0,214		1,1
26	SARS2, < día 6	0,016		0,2	0,021		0,1
27	SARS2, < día 6	0,014		0,1	0,073		0,4
28	SARS2, < día 6	0,014		0,1	0,042		0,2
29	SARS2, < día 6	0,015		0,2	0,030		0,2
30	SARS2, < día 6	0,015		0,2	0,079		0,4
31	MERS 1	0,013		0,1	0,042		0,2
32	MERS 2	0,008		0,1	0,017		0,1
33	MERS 3	0,011		0,1	0,038		0,2
34	MERS 4	0,008		0,1	0,011		0,1
35	MERS 5	0,008		0,1	0,027		0,1
36	MERS 6	0,008		0,1	0,035		0,2
37	MERS 7	0,009		0,1	0,013		0,1
38	MERS 8	0,017		0,2	0,036		0,2
39	MERS 9	0,010		0,1	0,024		0,1
40	MERS 10	0,007		0,1	0,012		0,1
41	MERS 11	0,020		0,2	0,026		0,1
42	MERS 12	0,008		0,1	0,026		0,1
43	MERS 13	0,015		0,2	0,021		0,1
44	MERS 14	0,012		0,1	0,036		0,2
45	MERS 15	0,024		0,2	0,066		0,3
46	MERS 16	0,021		0,2	0,080		0,4
47	MERS 17	0,008		0,1	0,039		0,2
48	MERS 18	0,029		0,3	0,104		0,5
49	SARS-1	0,214		2,1	0,285		1,4
50	SARS-1	0,596		6,0	0,227		1,1
51	SARS-1	0,128		1,3	0,260		1,3
52	OC43	0,035		0,4	0,126		0,6
53	OC43	0,029		0,3	0,098		0,5
54	OC43	0,016		0,2	0,041		0,2
55	OC43	0,011		0,1	0,048		0,2
68	NL63	0,013		0,1	0,023		0,1
69	NL63	0,027		0,3	0,039		0,2
70	NL63	0,036		0,4	0,057		0,3
71	NL63	0,019		0,2	0,030		0,2
72	229E	0,041		0,4	0,045		0,2
73	229E	0,022		0,2	0,024		0,1
74	229E	0,030		0,3	0,034		0,2
75	OC43	0,050		0,5	0,100		0,5

76	OC43	0,079		0,8	0,201		1,0
77	HKU1	0,023		0,2	0,054		0,3
78	HKU1	0,019		0,2	0,055		0,3
79	HKU1	0,010		0,1	0,029		0,1

**Conclusiones**

Los resultados muestran que los anticuerpos de SEQ ID NO1 pueden utilizarse para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2 en muestras de pacientes humanos.

- 5 La comparación de los datos obtenidos con anticuerpos secundarios que reconocen anticuerpos de clase IgG e IgA muestra que la detección de anticuerpos IgA es más sensible: 4/14 muestras de pacientes tomadas en una fase más temprana de la infección, antes de los seis días posteriores al inicio de la enfermedad, pudieron identificarse correctamente como positivas cuando se detectaron anticuerpos de clase IgA, mientras que la detección de IgG en las mismas muestras dio resultados negativos.
- 10 Ambos ensayos mostraron reactividad cruzada con muestras de pacientes de SARS-CoV-1, pero prácticamente ninguna de las muestras de pacientes infectados con MERS, NL63, 229E, OC43 y HKU1.

**LISTADO DE SECUENCIAS**

- <110> EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG
- <120> Un procedimiento y reactivos para el diagnóstico del SARS-CoV-2
- 15 <130> 20PP007EP
- <160> 12
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 670
- 20 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Proteína de Espiga del SARS-CoV-2 S1
- <400>1

ES 2 910 184 T3

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



ES 2 910 184 T3

Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly  
420 425 430

Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro  
435 440 445

Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro  
450 455 460

Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr  
465 470 475 480

Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val  
485 490 495

Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro  
500 505 510

Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe  
515 520 525

Asn Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe  
530 535 540

Leu Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala  
545 550 555 560

Val Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser  
565 570 575

Phe Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln  
580 585 590

Val Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala  
595 600 605

Ile His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly  
610 615 620

Ser Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His  
625 630 635 640

Val Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys  
645 650 655

Ala Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg  
660 665 670

<210> 2

<211> 695

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de espiga del SARS-CoV-2, etiquetada con his terminalmente en C

ES 2 910 184 T3

<400>2

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val  
 1 5 10 15

Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe  
 20 25 30

Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu  
 35 40 45

His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp  
 50 55 60

Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp  
 65 70 75 80

Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu  
 85 90 95

Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser  
 100 105 110

Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile  
 115 120 125

Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr  
 130 135 140

Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr  
 145 150 155 160

Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu  
 165 170 175

Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe  
 180 185 190

Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr  
 195 200 205

ES 2 910 184 T3

Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu  
 210 215 220

Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr  
 225 230 235 240

Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser  
 245 250 255

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro  
 260 265 270

Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala  
 275 280 285

Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys  
 290 295 300

Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val  
 305 310 315 320

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys  
 325 330 335

Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala  
 340 345 350

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu  
 355 360 365

Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro  
 370 375 380

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe  
 385 390 395 400

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly  
 405 410 415

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys  
 420 425 430

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn  
 435 440 445

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe  
 450 455 460

ES 2 910 184 T3

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys  
465 470 475 480

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly  
485 490 495

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val  
500 505 510

Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys  
515 520 525

Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn  
530 535 540

Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu  
545 550 555 560

Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val  
565 570 575

Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe  
580 585 590

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val  
595 600 605

Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile  
610 615 620

His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser  
625 630 635 640

Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val  
645 650 655

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala  
660 665 670

Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Leu Glu His  
675 680 685

His His His His His His His  
690 695

<210> 3

<211> 680

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína de espiga del SARS-CoV-2, etiquetada con his terminalmente en C, como después de la escisión del péptido señal

ES 2 910 184 T3

<400>3

Val Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser  
 1 5 10 15

Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val  
 20 25 30

Leu His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr  
 35 40 45

Trp Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe  
 50 55 60

Asp Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr  
 65 70 75 80

Glu Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp  
 85 90 95

Ser Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val  
 100 105 110

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

Tyr Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val  
 130 135 140

Tyr Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe  
 145 150 155 160

Leu Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu  
 165 170 175

Phe Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His  
 180 185 190

Thr Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu  
 195 200 205

Glu Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln  
 210 215 220

ES 2 910 184 T3

Thr Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser  
 225 230 235 240

Ser Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln  
 245 250 255

Pro Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp  
 260 265 270

Ala Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu  
 275 280 285

Lys Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg  
 290 295 300

Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu  
 305 310 315 320

Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr  
 325 330 335

Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val  
 340 345 350

Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser  
 355 360 365

Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser  
 370 375 380

Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr  
 385 390 395 400

Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly  
 405 410 415

Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly  
 420 425 430

Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro  
 435 440 445

Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro  
 450 455 460

Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr



ES 2 910 184 T3

atgttcgat tccttgttct gctgcctttg gtttagcagtc agtgtgtcaa cctgacaact 60  
 cgcacgcaac tgccgccagc ttacaccaac tctttcacia gagcgtcta ctacccggac 120  
 aaagtgtttc gctcatcagt gctgcaactc acacaagatt tgtttctgcc attcctctct 180  
 aacgtaacct ggtttcacgc gattcatgtg tctgggacaa atgggaccaa gcgcttcgac 240  
 aaccccgctg tgccattcaa tgacggggtg tattttgcct ccaccgagaa atccaatc 300  
 atccgaggat ggattttcgg tactacgctg gactctaaaa cgcagtctct cttgatcgtt 360  
 aataacgcca caaatgttgt cattaagggtg tgcgagtttc agttctgtaa tgatcccttt 420  
 ctgggtgtgt attaccacia gaataacaag tcatggatgg aaagcgagt tgcggtgtac 480  
 tcaagtgccataactgcac attcgagtat gtgtcccagc ctttcctgat ggatctcgaa 540  
 ggcaaacagc ggaacttcaa gaactcgcgc gagttcgtgt ttaagaacat cgacggttat 600  
 ttcaagatct acagcaaaca tacaccatt aacctggtca gggatctccc tcagggattc 660  
 tccgccctgg aacccttggg ggacttgccc attgggatta acatcactag attccagacc 720  
 ctgctggccc ttcaccgttc ctatcttact cctggcgaca gtagcagtgg atggaccgca 780  
 ggagcagccg cttactatgt aggctatctg cagccacgga ccttcctcct caagtacaat 840  
 gaaaatggta ccataactga tgctgtggac tgcgctctgg atccactctc cgaaactaaa 900  
 tgcaccctta aaagcttcac ggtcgaaaag ggaatctacc agacaagtaa ctttcgggta 960  
 caaccactg agtccatcgt gcggtttcct aacatcacia atctctgccc ctttgggtgaa 1020  
 gtgtttaacg ccaactaggt cgcttctgtt tatgctgga atcggaagag gatttccaat 1080  
 tgcgtggcag actactctgt cctgtataat agcgttagct tcagcacctt caaatgttac 1140  
 ggggtaagcc caactaaact gaacgacctc tgttttaccia acgtgtatgc cgatagettt 1200  
 gtcatacagag gagatgaggt tcgtcagatt gctcctggcc aaacggggaa aatcgagac 1260  
 tacaactaca agcttcccga cgacttcaca ggatgcgtga tgcggtgaa ctcaaataat 1320  
 ctggatagca aggttggtgg caattataac tacctgtatc gactgttcag gaaaagcaac 1380  
 ctcaaaccct ttgagcgcga catcagcacc gagatatacc aagccgggtc aacaccttgc 1440  
 aatggggtgg aagggtttaa ctgctatttc ccacttcaga gctatgggtt tcagccaacc 1500  
 aatggagtcg gctaccagcc ctatcgggtg gtagtcctgt cctttgagct gttgatcgcg 1560  
 cctgccacag tctgtggccc taagaagagt acgaatctgg tgaagaacia gtgctcaac 1620  
 ttcaatttta acggttgac tggaacagga gttctgaccg agtccaacia gaaattcctt 1680  
 ccttttcagc agtttgaag ggatatagcc gacactaccg atgccgttcg ggatccacag 1740  
 aactgggaga ttctggacat tactccgtgc tcatttggcg gtgtatctgt catcacacct 1800  
 gggaccaata cctcaaatca ggtggctgtg ctctaccagg atgtgaattg taccgaagtt 1860  
 ccagtggcaa tcatgcccga tcaactgact cccacctgga gaggttacag tactggcagt 1920  
 aacgtgtttc agacaagagc tggctgtctc ataggcgcag aacacgtcaa caacagctat 1980  
 gagtgtgaca ttccgatcgg cgcaggcatc tgtgatcct accagacgca aaccaactct 2040  
 ccagaagag ccaggtcga gcaccacat caccatcacc atcaactaa 2088

<210> 5

<211> 12

ES 2 910 184 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> posible epitopo

5

<400>5

Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu  
1 5 10

<210> 6

<211> 734

<212> PRT

10

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> S1 [MERS\_CoV]

<400>6

Tyr Val Asp Val Gly Pro Asp Ser Val Lys Ser Ala Cys Ile Glu Val  
1 5 10 15

Asp Ile Gln Gln Thr Phe Phe Asp Lys Thr Trp Pro Arg Pro Ile Asp  
20 25 30

Val Ser Lys Ala Asp Gly Ile Ile Tyr Pro Gln Gly Arg Thr Tyr Ser  
35 40 45

Asn Ile Thr Ile Thr Tyr Gln Gly Leu Phe Pro Tyr Gln Gly Asp His  
50 55 60

Gly Asp Met Tyr Val Tyr Ser Ala Gly His Ala Thr Gly Thr Thr Pro  
65 70 75 80

Gln Lys Leu Phe Val Ala Asn Tyr Ser Gln Asp Val Lys Gln Phe Ala  
85 90 95

Asn Gly Phe Val Val Arg Ile Gly Ala Ala Ala Asn Ser Thr Gly Thr  
100 105 110

Val Ile Ile Ser Pro Ser Thr Ser Ala Thr Ile Arg Lys Ile Tyr Pro  
115 120 125

ES 2 910 184 T3

Ala Phe Met Leu Gly Ser Ser Val Gly Asn Phe Ser Asp Gly Lys Met  
 130 135 140

Gly Arg Phe Phe Asn His Thr Leu Val Leu Leu Pro Asp Gly Cys Gly  
 145 150 155 160

Thr Leu Leu Arg Ala Phe Tyr Cys Ile Leu Glu Pro Arg Ser Gly Asn  
 165 170 175

His Cys Pro Ala Gly Asn Ser Tyr Thr Ser Phe Ala Thr Tyr His Thr  
 180 185 190

Pro Ala Thr Asp Cys Ser Asp Gly Asn Tyr Asn Arg Asn Ala Ser Leu  
 195 200 205

Asn Ser Phe Lys Glu Tyr Phe Asn Leu Arg Asn Cys Thr Phe Met Tyr  
 210 215 220

Thr Tyr Asn Ile Thr Glu Asp Glu Ile Leu Glu Trp Phe Gly Ile Thr  
 225 230 235 240

Gln Thr Ala Gln Gly Val His Leu Phe Ser Ser Arg Tyr Val Asp Leu  
 245 250 255

Tyr Gly Gly Asn Met Phe Gln Phe Ala Thr Leu Pro Val Tyr Asp Thr  
 260 265 270

Ile Lys Tyr Tyr Ser Ile Ile Pro His Ser Ile Arg Ser Ile Gln Ser  
 275 280 285

Asp Arg Lys Ala Trp Ala Ala Phe Tyr Val Tyr Lys Leu Gln Pro Leu  
 290 295 300

Thr Phe Leu Leu Asp Phe Ser Val Asp Gly Tyr Ile Arg Arg Ala Ile  
 305 310 315 320

Asp Cys Gly Phe Asn Asp Leu Ser Gln Leu His Cys Ser Tyr Glu Ser  
 325 330 335

Phe Asp Val Glu Ser Gly Val Tyr Ser Val Ser Ser Phe Glu Ala Lys  
 340 345 350

Pro Ser Gly Ser Val Val Glu Gln Ala Glu Gly Val Glu Cys Asp Phe  
 355 360 365

Ser Pro Leu Leu Ser Gly Thr Pro Pro Gln Val Tyr Asn Phe Lys Arg



ES 2 910 184 T3

Tyr Ser Asp Asp Gly Asn Tyr Tyr Cys Leu Arg Ala Cys Val Ser Val  
625 630 635 640

Pro Val Ser Val Ile Tyr Asp Lys Glu Thr Lys Thr His Ala Thr Leu  
645 650 655

Phe Gly Ser Val Ala Cys Glu His Ile Ser Ser Thr Met Ser Gln Tyr  
660 665 670

Ser Arg Ser Thr Arg Ser Met Leu Lys Arg Arg Asp Ser Thr Tyr Gly  
675 680 685

Pro Leu Gln Thr Pro Val Gly Cys Val Leu Gly Leu Val Asn Ser Ser  
690 695 700

Leu Phe Val Glu Asp Cys Lys Leu Pro Leu Gly Gln Ser Leu Cys Ala  
705 710 715 720

Leu Pro Asp Thr Pro Ser Thr Leu Thr Pro Arg Ser Val Arg  
725 730

<210> 7

<211> 521

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> S1 [HCoV-229E]

<400>7

Cys Gln Thr Thr Asn Gly Leu Asn Thr Ser Tyr Ser Val Cys Asn Gly  
1 5 10 15

Cys Val Gly Tyr Ser Glu Asn Val Phe Ala Val Glu Ser Gly Gly Tyr  
20 25 30

Ile Pro Ser Asp Phe Ala Phe Asn Asn Trp Phe Leu Leu Thr Asn Thr  
35 40 45

Ser Ser Val Val Asp Gly Val Val Arg Ser Phe Gln Pro Leu Leu Leu  
50 55 60

Asn Cys Leu Trp Ser Val Ser Gly Leu Arg Phe Thr Thr Gly Phe Val  
65 70 75 80

Tyr Phe Asn Gly Thr Gly Arg Gly Asp Cys Lys Gly Phe Ser Ser Asp  
85 90 95

Val Leu Ser Asp Val Ile Arg Tyr Asn Leu Asn Phe Glu Glu Asn Leu



ES 2 910 184 T3

Asn Cys Pro Phe Ser Phe Gly Lys Val Asn Asn Phe Val Lys Phe Gly  
 355 360 365

Ser Val Cys Phe Ser Leu Lys Asp Ile Pro Gly Gly Cys Ala Met Pro  
 370 375 380

Ile Val Ala Asn Trp Ala Tyr Ser Lys Tyr Tyr Thr Ile Gly Ser Leu  
 385 390 395 400

Tyr Val Ser Trp Ser Asp Gly Asp Gly Ile Thr Gly Val Pro Gln Pro  
 405 410 415

Val Glu Gly Val Ser Ser Phe Met Asn Val Thr Leu Asp Lys Cys Thr  
 420 425 430

Lys Tyr Asn Ile Tyr Asp Val Ser Gly Val Gly Val Ile Arg Val Ser  
 435 440 445

Asn Asp Thr Phe Leu Asn Gly Ile Thr Tyr Thr Ser Thr Ser Gly Asn  
 450 455 460

Leu Leu Gly Phe Lys Asp Val Thr Lys Gly Thr Ile Tyr Ser Ile Thr  
 465 470 475 480

Pro Cys Asn Pro Pro Asp Gln Leu Val Val Tyr Gln Gln Ala Val Val  
 485 490 495

Gly Ala Met Leu Ser Glu Asn Phe Thr Ser Tyr Gly Phe Ser Asn Val  
 500 505 510

Val Glu Leu Pro Lys Phe Phe Tyr Ala  
 515 520

<210> 8

<211> 745

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> S1 [HCoV-OC43]

<400>8

Ala Val Ile Gly Asp Leu Lys Cys Thr Ser Asp Asn Ile Asn Asp Lys  
 1 5 10 15

Asp Thr Gly Pro Pro Pro Ile Ser Thr Asp Thr Val Asp Val Thr Asn  
 20 25 30

Gly Leu Gly Thr Tyr Tyr Val Leu Asp Arg Val Tyr Leu Asn Thr Thr



ES 2 910 184 T3

Thr Gln Ser Ile Ala Pro Pro Thr Gly Val Tyr Glu Leu Asn Gly Tyr  
 290 295 300

Thr Val Gln Pro Ile Ala Asp Val Tyr Arg Arg Lys Pro Asn Leu Pro  
 305 310 315 320

Asn Cys Asn Ile Glu Ala Trp Leu Asn Asp Lys Ser Val Pro Ser Pro  
 325 330 335

Leu Asn Trp Glu Arg Lys Thr Phe Ser Asn Cys Asn Phe Asn Met Ser  
 340 345 350

Ser Leu Met Ser Phe Ile Gln Ala Asp Ser Phe Thr Cys Asn Asn Ile  
 355 360 365

Asp Ala Ala Lys Ile Tyr Gly Met Cys Phe Ser Ser Ile Thr Ile Asp  
 370 375 380

Lys Phe Ala Ile Pro Asn Gly Arg Lys Val Asp Leu Gln Leu Gly Asn  
 385 390 395 400

Leu Gly Tyr Leu Gln Ser Phe Asn Tyr Arg Ile Asp Thr Thr Ala Thr  
 405 410 415

Ser Cys Gln Leu Tyr Tyr Asn Leu Pro Ala Ala Asn Val Ser Val Ser  
 420 425 430

Arg Phe Asn Pro Ser Thr Trp Asn Lys Arg Phe Gly Phe Ile Glu Asp  
 435 440 445

Ser Val Phe Lys Pro Arg Pro Ala Gly Val Leu Thr Asn His Asp Val  
 450 455 460

Val Tyr Ala Gln His Cys Phe Lys Ala Pro Lys Asn Phe Cys Pro Cys  
 465 470 475 480

Lys Leu Asn Gly Ser Cys Val Gly Ser Gly Pro Gly Lys Asn Asn Gly  
 485 490 495

Ile Gly Thr Cys Pro Ala Gly Thr Asn Tyr Leu Thr Cys Asp Asn Leu  
 500 505 510

Cys Thr Pro Asp Pro Ile Thr Phe Thr Gly Thr Tyr Lys Cys Pro Gln  
 515 520 525

Thr Lys Ser Leu Val Gly Ile Gly Glu His Cys Ser Gly Leu Ala Val  
 530 535 540

ES 2 910 184 T3

Lys Ser Asp Tyr Cys Gly Gly Asn Ser Cys Thr Cys Arg Pro Gln Ala  
545 550 555 560

Phe Leu Gly Trp Ser Ala Asp Ser Cys Leu Gln Gly Asp Lys Cys Asn  
565 570 575

Ile Phe Ala Asn Phe Ile Leu His Asp Val Asn Ser Gly Leu Thr Cys  
580 585 590

Ser Thr Asp Leu Gln Lys Ala Asn Thr Asp Ile Ile Leu Gly Val Cys  
595 600 605

Val Asn Tyr Asp Leu Tyr Gly Ile Leu Gly Gln Gly Ile Phe Val Glu  
610 615 620

Val Asn Ala Thr Tyr Tyr Asn Ser Trp Gln Asn Leu Leu Tyr Asp Ser  
625 630 635 640

Asn Gly Asn Leu Tyr Gly Phe Arg Asp Tyr Ile Ile Asn Arg Thr Phe  
645 650 655

Met Ile Arg Ser Cys Tyr Ser Gly Arg Val Ser Ala Ala Phe His Ala  
660 665 670

Asn Ser Ser Glu Pro Ala Leu Leu Phe Arg Asn Ile Lys Cys Asn Tyr  
675 680 685

Val Phe Asn Asn Ser Leu Thr Arg Gln Leu Gln Pro Ile Asn Tyr Phe  
690 695 700

Asp Ser Tyr Leu Gly Cys Val Val Asn Ala Tyr Asn Ser Thr Ala Ile  
705 710 715 720

Ser Val Gln Thr Cys Asp Leu Thr Val Gly Ser Gly Tyr Cys Val Asp  
725 730 735

Tyr Ser Lys Asn Arg Arg Ser Arg Gly  
740 745

<210> 9

<211> 744

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> S1 [HCoV-HKU1]

<400>9

ES 2 910 184 T3

Ala Val Ile Gly Asp Phe Asn Cys Thr Asn Ser Phe Ile Asn Asp Tyr  
 1 5 10 15

Asn Lys Thr Ile Pro Arg Ile Ser Glu Asp Val Val Asp Val Ser Leu  
 20 25 30

Gly Leu Gly Thr Tyr Tyr Val Leu Asn Arg Val Tyr Leu Asn Thr Thr  
 35 40 45

Leu Leu Phe Thr Gly Tyr Phe Pro Lys Ser Gly Ala Asn Phe Arg Asp  
 50 55 60

Leu Ala Leu Lys Gly Ser Ile Tyr Leu Ser Thr Leu Trp Tyr Lys Pro  
 65 70 75 80

Pro Phe Leu Ser Asp Phe Asn Asn Gly Ile Phe Ser Lys Val Lys Asn  
 85 90 95

Thr Lys Leu Tyr Val Asn Asn Thr Leu Tyr Ser Glu Phe Ser Thr Ile  
 100 105 110

Val Ile Gly Ser Val Phe Val Asn Thr Ser Tyr Thr Ile Val Val Gln  
 115 120 125

Pro His Asn Gly Ile Leu Glu Ile Thr Ala Cys Gln Tyr Thr Met Cys  
 130 135 140

Glu Tyr Pro His Thr Val Cys Lys Ser Lys Gly Ser Ile Arg Asn Glu  
 145 150 155 160

Ser Trp His Ile Asp Ser Ser Glu Pro Leu Cys Leu Phe Lys Lys Asn  
 165 170 175

Phe Thr Tyr Asn Val Ser Ala Asp Trp Leu Tyr Phe His Phe Tyr Gln  
 180 185 190

Glu Arg Gly Val Phe Tyr Ala Tyr Tyr Ala Asp Val Gly Met Pro Thr  
 195 200 205

Thr Phe Leu Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Thr Ile Leu Ser His Tyr Tyr  
 210 215 220

Val Met Pro Leu Thr Cys Asn Ala Ile Ser Ser Asn Thr Asp Asn Glu  
 225 230 235 240

Thr Leu Glu Tyr Trp Val Thr Pro Leu Ser Arg Arg Gln Tyr Leu Leu  
 245 250 255

ES 2 910 184 T3

Asn Phe Asp Glu His Gly Val Ile Thr Asn Ala Val Asp Cys Ser Ser  
 260 265 270

Ser Phe Leu Ser Glu Ile Gln Cys Lys Thr Gln Ser Phe Ala Pro Asn  
 275 280 285

Thr Gly Val Tyr Asp Leu Ser Gly Phe Thr Val Lys Pro Val Ala Thr  
 290 295 300

Val Tyr Arg Arg Ile Pro Asn Leu Pro Asp Cys Asp Ile Asp Asn Trp  
 305 310 315 320

Leu Asn Asn Val Ser Val Pro Ser Pro Leu Asn Trp Glu Arg Arg Ile  
 325 330 335

Phe Ser Asn Cys Asn Phe Asn Leu Ser Thr Leu Leu Arg Leu Val His  
 340 345 350

Val Asp Ser Phe Ser Cys Asn Asn Leu Asp Lys Ser Lys Ile Phe Gly  
 355 360 365

Ser Cys Phe Asn Ser Ile Thr Val Asp Lys Phe Ala Ile Pro Asn Arg  
 370 375 380

Arg Arg Asp Asp Leu Gln Leu Gly Ser Ser Gly Phe Leu Gln Ser Ser  
 385 390 395 400

Asn Tyr Lys Ile Asp Ile Ser Ser Ser Ser Cys Gln Leu Tyr Tyr Ser  
 405 410 415

Leu Pro Leu Val Asn Val Thr Ile Asn Asn Phe Asn Pro Ser Ser Trp  
 420 425 430

Asn Arg Arg Tyr Gly Phe Gly Ser Phe Asn Leu Ser Ser Tyr Asp Val  
 435 440 445

Val Tyr Ser Asp His Cys Phe Ser Val Asn Ser Asp Phe Cys Pro Cys  
 450 455 460

Ala Asp Pro Ser Val Val Asn Ser Cys Ala Lys Ser Lys Pro Pro Ser  
 465 470 475 480

Ala Ile Cys Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Arg His Cys Asp Leu Asp Thr  
 485 490 495

Thr Leu Tyr Val Lys Asn Trp Cys Arg Cys Ser Cys Leu Pro Asp Pro  
 500 505 510

ES 2 910 184 T3

Ile Ser Thr Tyr Ser Pro Asn Thr Cys Pro Gln Lys Lys Val Val Val  
515 520 525

Gly Ile Gly Glu His Cys Pro Gly Leu Gly Ile Asn Glu Glu Lys Cys  
530 535 540

Gly Thr Gln Leu Asn His Ser Ser Cys Phe Cys Ser Pro Asp Ala Phe  
545 550 555 560

Leu Gly Trp Ser Phe Asp Ser Cys Ile Ser Asn Asn Arg Cys Asn Ile  
565 570 575

Phe Ser Asn Phe Ile Phe Asn Gly Ile Asn Ser Gly Thr Thr Cys Ser  
580 585 590

Asn Asp Leu Leu Tyr Ser Asn Thr Glu Ile Ser Thr Gly Val Cys Val  
595 600 605

Asn Tyr Asp Leu Tyr Gly Ile Thr Gly Gln Gly Ile Phe Lys Glu Val  
610 615 620

Ser Ala Ala Tyr Tyr Asn Asn Trp Gln Asn Leu Leu Tyr Asp Ser Asn  
625 630 635 640

Gly Asn Ile Ile Gly Phe Lys Asp Phe Leu Thr Asn Lys Thr Tyr Thr  
645 650 655

Ile Leu Pro Cys Tyr Ser Gly Arg Val Ser Ala Ala Phe Tyr Gln Asn  
660 665 670

Ser Ser Ser Pro Ala Leu Leu Tyr Arg Asn Leu Lys Cys Ser Tyr Val  
675 680 685

Leu Asn Asn Ile Ser Phe Ile Ser Gln Pro Phe Tyr Phe Asp Ser Tyr  
690 695 700

Leu Gly Cys Val Leu Asn Ala Val Asn Leu Thr Ser Tyr Ser Val Ser  
705 710 715 720

Ser Cys Asp Leu Arg Met Gly Ser Gly Phe Cys Ile Asp Tyr Ala Leu  
725 730 735

Pro Ser Ser Arg Arg Lys Arg Arg  
740

<210> 10

<211> 702

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> S1 [HCoV-NL63]

<400>10

ES 2 910 184 T3

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

ES 2 910 184 T3

Asn Gly Ser Thr Leu Val Asp Gly Val Ser Arg Leu Tyr Gln Pro Leu  
 225 230 235 240

Arg Leu Thr Cys Leu Trp Pro Val Pro Gly Leu Lys Ser Ser Thr Gly  
 245 250 255

Phe Val Tyr Phe Asn Ala Thr Gly Ser Asp Val Asn Cys Asn Gly Tyr  
 260 265 270

Gln His Asn Ser Val Val Asp Val Met Arg Tyr Asn Leu Asn Phe Ser  
 275 280 285

Ala Asn Ser Leu Asp Asn Leu Lys Ser Gly Val Ile Val Phe Lys Thr  
 290 295 300

Leu Gln Tyr Asp Val Leu Phe Tyr Cys Ser Asn Ser Ser Ser Gly Val  
 305 310 315 320

Leu Asp Thr Thr Ile Pro Phe Gly Pro Ser Ser Gln Pro Tyr Tyr Cys  
 325 330 335

Phe Ile Asn Ser Thr Ile Asn Thr Thr His Val Ser Thr Phe Val Gly  
 340 345 350

Ile Leu Pro Pro Thr Val Arg Glu Ile Val Val Ala Arg Thr Gly Gln  
 355 360 365

Phe Tyr Ile Asn Gly Phe Lys Tyr Phe Asp Leu Gly Phe Ile Glu Ala  
 370 375 380

Val Asn Phe Asn Val Thr Thr Ala Ser Ala Thr Asp Phe Trp Thr Val  
 385 390 395 400

Ala Phe Ala Thr Phe Val Asp Val Leu Val Asn Val Ser Ala Thr Asn  
 405 410 415

Ile Gln Asn Leu Leu Tyr Cys Asp Ser Pro Phe Glu Lys Leu Gln Cys  
 420 425 430

Glu His Leu Gln Phe Gly Leu Gln Asp Gly Phe Tyr Ser Ala Asn Phe  
 435 440 445

Leu Asp Asp Asn Val Leu Pro Glu Thr Tyr Val Ala Leu Pro Ile Tyr  
 450 455 460

Tyr Gln His Thr Asp Ile Asn Phe Thr Ala Thr Ala Ser Phe Gly Gly



ES 2 910 184 T3

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



ES 2 910 184 T3

Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu Asn Ala Pro  
 485 490 495

Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Leu Ser Thr Asp Leu Ile Lys Asn Gln  
 500 505 510

Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr  
 515 520 525

Pro Ser Ser Lys Arg Phe Gln Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Val  
 530 535 540

Ser Asp Phe Thr Asp Ser Val Arg Asp Pro Lys Thr Ser Glu Ile Leu  
 545 550 555 560

Asp Ile Ser Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly  
 565 570 575

Thr Asn Ala Ser Ser Glu Val Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys  
 580 585 590

Thr Asp Val Ser Thr Ala Ile His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Ala Trp  
 595 600 605

Arg Ile Tyr Ser Thr Gly Asn Asn Val Phe Gln Thr Gln Ala Gly Cys  
 610 615 620

Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asp Thr Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro  
 625 630 635 640

Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr His Thr Val Ser Leu Leu Arg  
 645 650 655

Leu

<210> 12

<211> 649

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> fragmento de SEQ ID NO1

<400>12

Asn Ser Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser  
 1 5 10 15

Ser Val Leu His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn



ES 2 910 184 T3

Thr Leu Lys Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn  
 275 280 285

Phe Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr  
 290 295 300

Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser  
 305 310 315 320

Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr  
 325 330 335

Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly  
 340 345 350

Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala  
 355 360 365

Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly  
 370 375 380

Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe  
 385 390 395 400

Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val  
 405 410 415

Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu  
 420 425 430

Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser  
 435 440 445

Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln  
 450 455 460

Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg  
 465 470 475 480

Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys  
 485 490 495

Gly Pro Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe  
 500 505 510

Asn Phe Asn Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys  
 515 520 525

ES 2 910 184 T3

Lys Phe Leu Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr  
 530 535 540

Asp Ala Val Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro  
 545 550 555 560

Cys Ser Phe Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser  
 565 570 575

Asn Gln Val Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro  
 580 585 590

Val Ala Ile His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser  
 595 600 605

Thr Gly Ser Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala  
 610 615 620

Glu His Val Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly  
 625 630 635 640

Ile Cys Ala Ser Tyr Gln Thr Gln Thr  
 645

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2 que comprende el paso de detectar la presencia o ausencia de un anticuerpo de clase IgA contra SEQ ID NO1 en una muestra de sangre de un sujeto.
- 5 2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que se detecta la presencia de un anticuerpo de clase IgG y/o IgM contra la SEQ ID NO1 además de un anticuerpo de clase IgA contra la SEQ ID NO1.
3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que la muestra se selecciona del grupo que comprende sangre total, suero o plasma.
- 10 4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que un anticuerpo de clase IgA de la SEQ ID NO1 se detecta utilizando un anticuerpo secundario marcado que se une a anticuerpos de clase IgA, preferentemente anticuerpos de clase IgA humanos.
5. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el anticuerpo IgA se detecta utilizando un procedimiento seleccionado del grupo que comprende la colorimetría, la inmunofluorescencia, la detección de la actividad enzimática, la quimioluminiscencia y la radiactividad.
- 15 6. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la infección se detecta en una fase temprana, que es de 5 o menos días después de la aparición de los síntomas de la enfermedad.
- 20 7. Un uso de un anticuerpo de clase IgA frente a la SEQ ID NO1 para ayudar en el diagnóstico de una infección por SARS-CoV-2 en una fase temprana, que es 5 o menos días después de la aparición de los síntomas de la enfermedad, en la que es probable que un sujeto sufra una infección por SARS-CoV-2 si se detecta un anticuerpo de clase IgA frente a la SEQ ID NO1 en una muestra de sangre del sujeto.
8. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la muestra es un mamífero, preferentemente una muestra humana.