

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 807 902**

51 Int. Cl.:

G01N 33/94 (2006.01)

C07K 16/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.08.2013 PCT/US2013/055826**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014 WO14031662**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2013 E 13831110 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 2888590**

54 Título: **Anticuerpos para olanzapina y uso de los mismos**

30 Prioridad:

21.08.2012 US 201261691645 P

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

24.02.2021

73 Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)

Turnhoutseweg 30

2340 Beerse , BE

72 Inventor/es:

HRYHORENKO, ERIC;

SANKARAN, BANUMATHI;

DECORY, THOMAS R.;

TUBBS, THERESA;

COLT, LINDA;

REMMERIE, BART M.;

SALTER, RHYS;

DONAHUE, MATTHEW GARRETT y

GONG, YONG

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 807 902 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

Anticuerpos para olanzapina y uso de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de los inmunoensayos, y en particular a los anticuerpos que se unen a la olanzapina que pueden usarse en inmunoensayos para la detección de la olanzapina.

10 **Antecedentes**

La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico crónico y debilitante que afecta aproximadamente al 0,45-1% de la población mundial (van Os, J.; Kapur, S. "Schizophrenia" Lancet 2009, 374, 635-645). Los objetivos principales del tratamiento son lograr una remisión sostenida de los síntomas psicóticos, reducir el riesgo y las consecuencias de una recaída y mejorar el funcionamiento del paciente y la calidad de vida en general. Aunque muchos pacientes con esquizofrenia son capaces de lograr la estabilidad de los síntomas con los medicamentos antipsicóticos disponibles, la mala adherencia a los medicamentos es una razón común de recaída con los medicamentos orales administrados diariamente. Varios estudios (Abdel-Baki, A.; Ouellet-Plamondon, C.; Malla, A. "Pharmacotherapy Challenges in Patients with First-Episode Psychosis" Journal of Affective Disorders 2012, 138, S3-S14) que investigan los resultados del incumplimiento han demostrado que los pacientes con esquizofrenia que no toman sus medicamentos según lo prescrito tienen mayores tasas de recaída, ingreso hospitalario y suicidio, así como una mayor mortalidad. Se estima que del 40 al 75% de los pacientes con esquizofrenia tienen dificultades para cumplir con un régimen de tratamiento oral diario (Lieberman, J. A.; Stroup, T. S.; McEvoy, J. P.; Swartz, M. S.; Rosenheck, R. A.; Perkins, D. O.; Keefe, R. S. E.; Davis, S. M.; Davis, C. E.; Lebowitz, B. D.; Severe, J.; Hsiao, J. K. "Effectiveness of Antipsychotic Drugs in Patients with Chronic Schizophrenia" New England Journal of Medicine 2005, 353(12), 1209-1223).

La monitorización terapéutica de fármacos (TDM) es la cuantificación de las concentraciones en suero o plasma de fármacos, incluyendo los fármacos antipsicóticos, para la monitorización y optimización del tratamiento. Dicha monitorización permite, por ejemplo, la identificación de pacientes que no se adhieren a su régimen de medicación, que no están logrando dosis terapéuticas, que no responden a dosis terapéuticas, que tienen tolerabilidad subóptima, que tienen interacciones fármaco-fármaco farmacocinéticas, o que tienen un metabolismo anormal que da como resultado concentraciones en plasma inapropiadas. Existe una considerable variabilidad individual en la capacidad del paciente para absorber, distribuir, metabolizar y excretar fármacos antipsicóticos. Dichas diferencias pueden estar provocadas por enfermedad concurrente, edad, medicación concomitante o peculiaridades genéticas. Las diferentes formulaciones de fármacos también pueden influir en el metabolismo de los fármacos antipsicóticos. La TDM permite la optimización de dosis para pacientes individuales, mejorando los resultados terapéuticos y funcionales. La TDM permite además que un médico que prescribe asegure el cumplimiento con las dosis prescritas y el logro de concentraciones séricas efectivas.

Hasta la fecha, los métodos para determinar los niveles de concentraciones en suero o en plasma de fármacos antipsicóticos implican el uso de cromatografía líquida (LC) con detección de espectrometría de masas o UV, y radioinmunoensayos (ver, por ejemplo, Woestenborghs et al., 1990 "On the selectivity of some recently developed RIA's" en Methodological Surveys in Biochemistry and Analysis 20:241-246. Analysis of Drugs and Metabolites, Including Anti-infective Agents; Heykants et al., 1994 "The Pharmacokinetics of Risperidone in Humans: A Summary", J Clin Psychiatry 55/5, suppl:13-17; Huang et al., 1993 "Pharmacokinetics of the novel anti-psychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects", Clin Pharmacol Ther 54:257-268). Los radioinmunoensayos detectan uno o ambos de risperidona y paliperidona. Salamone et al. en la Patente de Estados Unidos Nº 8.088.594 divulgan un inmunoensayo competitivo para risperidona que usa anticuerpos que detectan tanto la risperidona como la paliperidona pero no metabolitos farmacológicamente inactivos. Los anticuerpos usados en el inmunoensayo competitivo se desarrollan contra un inmunógeno particular. ID Labs Inc. (Londres, Ontario, Canadá) comercializa un ELISA para la olanzapina, otro fármaco antipsicótico, que también utiliza un formato competitivo. Las Instrucciones de uso indican que el ensayo está diseñado para propósitos de detección y está destinado a uso forense o de investigación, y no está destinado específicamente para uso terapéutico. Las instrucciones recomiendan que todas las muestras positivas deberían confirmarse con cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS) e indican que el anticuerpo usado detecta la olanzapina y la clozapina (ver ID Labs Inc., "Instructions For Use Data Sheet IDEL-F083", Fecha de Rev. 8 de agosto de 2011). Algunos de estos métodos, concretamente HPLC y GC/MS pueden ser caros y requerir mucho trabajo, y generalmente solo se realizan en laboratorios grandes o de especialidades que tienen el equipo apropiado.

Existe una necesidad de otros métodos para determinar los niveles de fármacos antipsicóticos, particularmente métodos que puedan realizarse en el consultorio de un médico que prescribe (donde el tratamiento para un paciente individual puede ajustarse en consecuencia de una manera mucho más oportuna) y en otros entornos médicos que carecen de equipos LC o GC/MS o que requieren de resultados de pruebas rápidos.

65

Sumario de la invención

La presente invención se dirige a un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo, que se une a la olanzapina y que se selecciona del grupo que consiste de: i) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende:

a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 11; b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 11; c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 11; d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 12; e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 12; y f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 12; o ii) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende: a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 15; b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 15; c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 15; d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 16; e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 16; y f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 16.

Los anticuerpos de la presente invención pueden proporcionarse en kits de ensayo y dispositivos de ensayo, siendo un dispositivo actualmente preferido un dispositivo de ensayo de flujo lateral que proporciona análisis de punto de atención.

La invención proporciona además un método para detectar olanzapina en una muestra. El método comprende: (i) poner en contacto una muestra con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención que está marcado con un marcador detectable, en donde el anticuerpo marcado y la olanzapina presentes en la muestra forman un complejo marcado; y (ii) detectar el complejo marcado para detectar olanzapina en la muestra.

Además se proporciona un método de inmunoensayo competitivo para detectar olanzapina en una muestra. El método comprende: (i) poner en contacto una muestra con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención, y con olanzapina o un compañero de unión competitiva de la olanzapina, en donde uno del anticuerpo y la olanzapina o compañero de unión competitiva de la misma está marcado con un marcador detectable, y en donde la muestra de olanzapina compite con la olanzapina o el compañero de unión competitiva de la misma para unirse al anticuerpo; y (ii) detectar el marcador para detectar la muestra de olanzapina.

Breve descripción de los dibujos

Las Figs. 1-3 muestran resultados ELISA competitivos generados con tres hibridomas 11.1 de fusión de ratón diferentes;

La Fig. 4 muestra el formato de inmunoensayo competitivo usado en un dispositivo de ensayo de flujo lateral; La Fig. 5 muestra una curva de respuesta a la dosis típica generada con el clon 35 del anticuerpo de olanzapina;

La Fig. 6 muestra una curva de respuesta a la dosis típica generada con el clon 61 del anticuerpo de olanzapina;

La Fig. 7 muestra una curva de respuesta a la dosis típica generada con el anticuerpo 3F11 de olanzapina;

La Fig. 8 muestra el diseño de chip de un dispositivo de ensayo de flujo lateral de acuerdo con la presente invención;

La Fig. 9 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para un control positivo de aripiprazol generado con el anticuerpo 5C7 y un compañero de unión competitiva de aripiprazol marcado;

La Fig. 10 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para un control positivo de olanzapina generado con el anticuerpo 4G9-1 y un compañero de unión competitiva marcado con olanzapina;

La Fig. 11 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para un control positivo de quetiapina generado con el anticuerpo 11 y un compañero de unión competitiva de quetiapina marcado;

La Fig. 12 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para un control positivo de risperidona generado con el anticuerpo 5-9 y un compañero de unión competitiva de risperidona marcado;

La Fig. 13 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene aripiprazol generado con el anticuerpo 5C7 de aripiprazol en presencia de un compañero de unión competitiva de aripiprazol marcado, sin curva de respuesta a la dosis para olanzapina, quetiapina o risperidona en presencia de un compañero de unión competitiva marcado para cada uno;

La Fig. 14 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene olanzapina generada con el anticuerpo 4G9-1 de olanzapina en presencia de un compañero de unión competitiva marcado con olanzapina, sin curva de respuesta a la dosis para aripiprazol, quetiapina o risperidona en presencia de un compañero de unión competitiva marcado para cada uno;

La Fig. 15 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene quetiapina

generada con el anticuerpo 11 de quetiapina en presencia de un compañero de unión competitiva de quetiapina marcado, sin curva de respuesta a la dosis para aripiprazol, olanzapina o risperidona en presencia de un compañero de unión competitivo marcado para cada uno;

5 La Fig. 16 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene risperidona generada con el anticuerpo de risperidona 5-9 en presencia de un compañero de unión competitiva de risperidona marcado, sin curva de respuesta a la dosis para aripiprazol, olanzapina o quetiapina en presencia de un compañero de unión competitivo marcado para cada uno;

10 La Fig. 17 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene aripiprazol generado con el anticuerpo 5C7 de aripiprazol en presencia de un compañero de unión competitiva de aripiprazol marcado, sin curva de respuesta a la dosis para olanzapina, quetiapina o risperidona en presencia de anticuerpo y un compañero de unión competitivo marcado para cada uno;

15 La Fig. 18 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene olanzapina generada con el anticuerpo 4G9-1 de olanzapina en presencia de un compañero de unión competitiva marcado con olanzapina, sin curva de respuesta a la dosis para aripiprazol, quetiapina o risperidona en presencia de anticuerpo y un compañero de unión competitiva marcado para cada uno;

20 La Fig. 19 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene quetiapina generada con el anticuerpo de quetiapina 11 en presencia de un compañero de unión competitiva de quetiapina marcado, sin curva de dosis-respuesta para aripiprazol, olanzapina o risperidona en presencia de un anticuerpo y un compañero de unión competitiva marcado para cada uno;

25 La Fig. 20 muestra una curva de respuesta a la dosis típica para una muestra que contiene risperidona generada con el anticuerpo de risperidona 5-9 en presencia de un compañero de unión competitivo de risperidona marcado, sin curva de respuesta a la dosis para aripiprazol, olanzapina o quetiapina en presencia de anticuerpo y compañero de unión competitiva marcado para cada uno;

La Fig. 21 muestra una comparación de la curva de respuesta a la dosis de aripiprazol generada como control positivo con la curva de respuesta a la dosis de aripiprazol generada en el formato multiplex;

La Fig. 22 muestra una comparación de la curva de respuesta a la dosis de olanzapina generada como control positivo con la curva de respuesta a la dosis de olanzapina generada en el formato multiplex;

La Fig. 23 muestra una comparación de la curva de respuesta a la dosis de quetiapina generada como control positivo con la curva de respuesta a la dosis de quetiapina generada en el formato multiplex; y

30 La Fig. 24 muestra una comparación de la curva de respuesta a la dosis de risperidona generada como control positivo con la curva de respuesta a la dosis de risperidona generada en el formato multiplex.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

35 Los siguientes términos se usan para describir las relaciones de secuencias entre dos o más secuencias de polinucleótidos o aminoácidos: "secuencia de referencia", "ventana de comparación", "identidad de secuencia", "porcentaje de identidad de secuencia", "identidad sustancial", "similitud" y "homólogo". Una "secuencia de referencia" es una secuencia definida usada como base para una comparación de secuencias; una secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia más grande, por ejemplo, un segmento de una secuencia de longitud completa de ADNc o gen dada en una lista de secuencias o puede comprender una secuencia completa de ADNc o gen; una secuencia de referencia puede comprender un segmento de una secuencia completa de aminoácidos que codifica una proteína como se proporciona en un listado de secuencias o puede comprender una secuencia completa de aminoácidos que codifica una proteína. Generalmente, una secuencia de referencia tiene por lo menos 18 nucleótidos o 6 aminoácidos de longitud, frecuentemente por lo menos 24 nucleótidos u 8 aminoácidos de longitud, y a menudo por lo menos 48 nucleótidos o 16 aminoácidos de longitud. Como dos secuencias de polinucleótidos o aminoácidos pueden (1) comprender una secuencia (es decir, una porción de la secuencia completa de nucleótidos o aminoácidos) que es similar entre las dos moléculas, y (2) pueden comprender además una secuencia que es divergente entre las dos secuencias de polinucleótidos o aminoácidos, las comparaciones de secuencias entre dos (o más) moléculas se realizan típicamente comparando secuencias de las dos moléculas sobre una "ventana de comparación" para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia. Una "ventana de comparación", como se usa en la presente, se refiere a un segmento conceptual de por lo menos 18 posiciones contiguas de nucleótidos o 6 aminoácidos en donde la secuencia de polinucleótidos o la secuencia de aminoácidos puede compararse con una secuencia de referencia de por lo menos 18 nucleótidos contiguos o 6 aminoácidos y en donde la porción de la secuencia de polinucleótidos o la secuencia de aminoácidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones, deleciones, sustituciones y similares (es decir, huecos) del 20 por ciento o menos en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para un alineamiento óptimo de las dos secuencias. El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación puede realizarse mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineamiento por homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), mediante la búsqueda del método de similitud de Pearson y Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software Wisconsin Genetics versión 7.0 (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), paquetes de software Geneworks o MacVector), o mediante inspección, y se selecciona el mejor alineamiento (es decir, que resulta en el porcentaje más alto de identidad sobre la ventana de comparación) generada por los varios métodos.

65

El término "identidad de secuencia" significa que dos secuencias de polinucleótidos o aminoácidos son idénticas (es decir, en una base de nucleótido por nucleótido o residuo de aminoácido por residuo) en la ventana de comparación. El término "porcentaje de identidad de secuencia" se calcula comparando dos secuencias alineadas óptimamente sobre la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que se producen bases de ácidos nucleicos (por ejemplo, A, T, C, G o U) o residuos de aminoácidos idénticos en ambas secuencias para producir el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana) y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia. El término "identidad sustancial" como se usa en la presente denota una característica de una secuencia de polinucleótidos o aminoácidos, en donde la secuencia de polinucleótidos o aminoácidos comprende una secuencia que tiene por lo menos un 85 por ciento de identidad de secuencia, preferiblemente por lo menos de un 90 a un 95 por ciento de identidad de secuencia, más habitualmente por lo menos un 99 por ciento de secuencia identidad en comparación con una secuencia de referencia sobre una ventana de comparación de por lo menos 18 posiciones de nucleótidos (6 aminoácidos), frecuentemente sobre una ventana de por lo menos 24-48 posiciones de nucleótidos (8-16 aminoácidos), en donde el porcentaje de identidad de secuencia se calcula comparando la secuencia de referencia con la secuencia que puede incluir deleciones o adiciones que suman un 20 por ciento o menos de la secuencia de referencia en la ventana de comparación. La secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia más grande. El término "similitud", cuando se usa para describir un polipéptido, se determina comparando la secuencia de aminoácidos y las sustituciones de aminoácidos conservadas de un polipéptido con la secuencia de un segundo polipéptido. El término "homólogo", cuando se usa para describir un polinucleótido, indica que dos polinucleótidos, o secuencias designadas de los mismos, cuando están óptimamente alineados y se comparan, son idénticos, con inserciones o deleciones de nucleótidos apropiadas, en por lo menos el 70% de los nucleótidos, habitualmente de aproximadamente el 75% al 99%, y más preferiblemente por lo menos aproximadamente del 98% al 99% de los nucleótidos.

Un "marcador", "molécula detectora", "informador" o "marcador detectable" como se usa en la presente es cualquier molécula que produce, o se le puede inducir que produzca, una señal detectable. El marcador puede conjugarse con un analito, inmunógeno, anticuerpo u otra molécula, como un receptor o una molécula que puede unirse a un receptor, como un ligando, particularmente un hapteno o anticuerpo. Un marcador puede unirse directa o indirectamente por medio de una fracción de enlace o de puente. Los ejemplos no limitativos de marcadores incluyen isótopos radiactivos (por ejemplo, ¹²⁵I), enzimas (por ejemplo, β-galactosidasa, peroxidasa), fragmentos de enzimas, sustratos de enzimas, inhibidores de enzimas, coenzimas, catalizadores, fluoróforos (por ejemplo, rodamina, isotiocianato de fluoresceína o FITC, o Dylight 649), colorantes, quimioluminiscentes y luminiscentes (por ejemplo, dioxetanos, luciferina) o sensibilizadores.

La divulgación proporciona un anticuerpo aislado que se une a la olanzapina. La divulgación proporciona además un kit de ensayo y un dispositivo de ensayo que comprende el anticuerpo. Además, la divulgación proporciona un método para detectar olanzapina en una muestra, incluyendo un método de inmunoensayo competitivo.

La presente invención se dirige a un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo, que se une a la olanzapina y que se selecciona del grupo que consiste de: i) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende: a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 11; b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 11; c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 11; d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 12; e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 12; y f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 12; o ii) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende: a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 15; b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 15; c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 15; d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 16; e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 16; y f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 16.

En una realización adicional, la presente divulgación se dirige a un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo, que se une a la olanzapina y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos un 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 35 o SEQ ID NO: 39.

En una realización adicional, la presente divulgación se dirige a un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo, que se une a la olanzapina y que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos un 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 40.

5 Las realizaciones actualmente preferidas del anticuerpo de la presente invención son: un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12; o un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16.

10 Detalles adicionales de los anticuerpos de la presente invención se proporcionan en la sección siguiente titulada "Anticuerpos".

15 La presente invención proporciona además un kit de ensayo que comprende el anticuerpo, así como un dispositivo de ensayo que comprende el anticuerpo. Preferiblemente, el dispositivo de ensayo es un dispositivo de ensayo de flujo lateral. Detalles adicionales de los kits de ensayo y los dispositivos de ensayo se proporcionan a continuación en la sección titulada "Kits y dispositivos de ensayo".

20 La invención proporciona además un método para detectar olanzapina en una muestra. El método comprende: (i) poner en contacto una muestra con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención que está marcado con un marcador detectable, en donde el anticuerpo marcado y la olanzapina presentes en la muestra forman un complejo marcado; y (ii) detectar el complejo marcado para detectar olanzapina en la muestra. Detalles adicionales del método de detección de olanzapina de acuerdo con la presente invención se proporcionan en la sección siguiente titulada "Inmunoensayos".

25 Además, se proporciona un método de inmunoensayo competitivo para detectar olanzapina en una muestra. El método comprende: (i) poner en contacto una muestra con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención, y con olanzapina o un compañero de unión competitiva de la olanzapina, en donde uno del anticuerpo y la olanzapina o compañero de unión competitiva del mismo está marcado con un marcador detectable, y en donde la muestra de olanzapina compite con la olanzapina o el compañero de unión competitiva de la misma para unirse al anticuerpo; y (ii) detectar el marcador para detectar la muestra de olanzapina. En la sección siguiente titulada "Inmunoensayos" se proporcionan detalles adicionales del método de inmunoensayo competitivo para detectar olanzapina de acuerdo con la presente invención.

35 En una realización preferida de la presente invención, la detección de olanzapina está acompañada de la detección de uno o más analitos además de la olanzapina. Preferiblemente, el uno o más analitos son fármacos antipsicóticos distintos de la olanzapina, y más preferentemente los fármacos antipsicóticos distintos de la olanzapina se seleccionan del grupo que consiste de: aripiprazol, risperidona, paliperidona, quetiapina y metabolitos de los mismos.

40 Como se ha analizado anteriormente, los anticuerpos de la presente invención pueden usarse en ensayos para detectar la presencia y/o la cantidad del fármaco antipsicótico en muestras de pacientes. Dicha detección permite la monitorización terapéutica del fármaco permitiendo todos los beneficios del mismo. La detección de niveles de fármacos antipsicóticos puede ser útil para muchos propósitos, cada uno de los cuales representa otra realización de la presente invención, incluyendo: determinación de la adherencia o cumplimiento del paciente con la terapia prescrita; uso como herramienta de decisión para determinar si un paciente debe pasarse de un régimen antipsicótico oral a un régimen antipsicótico inyectable de acción prolongada; uso como herramienta de decisión para determinar si el nivel de dosis o el intervalo de dosificación de antipsicóticos orales o inyectables debe aumentarse o disminuirse para garantizar el logro o el mantenimiento de niveles de fármaco eficaces o seguros; uso como ayuda en el inicio de la terapia farmacológica antipsicótica al proporcionar evidencia del logro de niveles mínimos de pK; uso para determinar la bioequivalencia del fármaco antipsicótico en múltiples formulaciones o de múltiples fuentes; uso para evaluar el impacto de la polifarmacia y las potenciales interacciones fármaco-fármaco; y uso como una indicación de que un paciente debe excluirse o incluirse en un ensayo clínico y como ayuda en la monitorización posterior de la adherencia a los requisitos de medicación del ensayo clínico.

55 ANTICUERPOS

60 La presente invención proporciona un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo que se une a la olanzapina como se define en las reivindicaciones. El término "anticuerpo" se refiere a una proteína específica capaz de unirse a un antígeno o una porción del mismo (de acuerdo con esta invención, capaz de unirse a un fármaco antipsicótico o metabolito del mismo). Un anticuerpo se produce en respuesta a un inmunógeno que puede haberse introducido en un huésped, por ejemplo, un animal o un humano, mediante inyección. El término genérico "anticuerpo" incluye anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales y fragmentos de anticuerpos.

65 "Anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo de unión a antígeno" se refiere a un anticuerpo intacto, o un fragmento del mismo, que compite con el anticuerpo intacto por la unión. En términos generales, se dice que un

anticuerpo o fragmento de anticuerpo de unión a antígeno se une específicamente a un antígeno cuando la constante de disociación es menor o igual a 1 μM , preferiblemente menor o igual a 100 nM y lo más preferible menor o igual a 10 nM. La unión puede medirse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, un ejemplo siendo el uso de un instrumento BIAcore™.

Los anticuerpos están compuestos por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cada cadena pesada tiene un dominio o región variable (V_H) seguida de un dominio o región constante (C_{H1}), una región bisagra y dos dominios o regiones constantes más (C_{H2} y C_{H3}). Cada cadena ligera tiene un dominio o región variable (V_L) y un dominio o región constante (C_L). Los dominios o regiones variables de las cadenas pesada y ligera forman el parátipo del anticuerpo (una estructura análoga a una cerradura), que es específica para un epítipo particular (similarmente análogo a una llave), permitiendo que el parátipo y el epítipo se unan con precisión. Dentro del dominio variable, los giros variables de las cadenas β , tres en cada una de las cadenas ligera y pesada, son responsables de la unión al antígeno. Estos giros se denominan regiones determinantes de la complementariedad (CDR, concretamente, CDR1, CDR2 y CDR3).

Los fragmentos de anticuerpos comprenden una porción de un anticuerpo intacto, preferiblemente la región variable o de unión al antígeno del anticuerpo intacto. Los fragmentos de unión incluyen fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$ y Fv; diacuerpos; minicuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpos de cadena sencilla (por ejemplo, scFV); y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Se entiende que un anticuerpo distinto de un anticuerpo "bienespecífico" o "bifuncional" tiene cada uno de sus sitios de unión idénticos.

Como se usa en la presente, "epítipo" incluye cualquier determinante de proteína capaz de unirse específicamente a una inmunoglobulina o receptor de células T. Los determinantes epitópicos habitualmente consisten de agrupaciones de moléculas de superficie químicamente activas como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y habitualmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Se dice que dos anticuerpos "se unen al mismo epítipo" ("compiten") si un anticuerpo muestra que compite con el segundo anticuerpo en un ensayo de unión competitiva, por cualquiera de los métodos bien conocidos por los expertos en la técnica (como el método BIAcore™ referido anteriormente). En referencia a un hapteno (como la olanzapina u otro fármaco antipsicótico), puede generarse un anticuerpo contra la molécula de hapteno no antigénico conjugando el hapteno con un portador inmunogénico. Luego se genera un anticuerpo que reconoce un "epítipo" definido por el hapteno.

"Aislado" cuando se usa en el contexto de un anticuerpo significa alterado "por la mano del hombre" desde cualquier estado natural; es decir, que, si se produce en la naturaleza, se ha cambiado o eliminado de su entorno original, o ambos. Por ejemplo, un anticuerpo de origen natural presente de manera natural en un animal vivo en su estado natural no está "aislado", pero el mismo anticuerpo separado de los materiales coexistentes de su estado natural está "aislado", como el término se emplea en la presente. Los anticuerpos pueden aparecer en una composición, como un reactivo de inmunoensayo, que no son composiciones de origen natural, y en la misma permanecen anticuerpos aislados en el sentido de ese término tal como se emplea en la presente.

"Reactividad cruzada" se refiere a la reacción de un anticuerpo con un antígeno que no se usó para inducir ese anticuerpo.

Preferiblemente, el anticuerpo de la presente invención se unirá al fármaco y a cualquier metabolito farmacológicamente activo deseado. Al alterar la localización de la unión de un portador inmunogénico en un conjugado de fármacos, la selectividad y la reactividad cruzada con metabolitos y/o fármacos relacionados pueden modificarse en los anticuerpos. Para la olanzapina, la reactividad cruzada con el fármaco relacionado clozapina puede ser o no deseable, y la reactividad cruzada con metabolitos de olanzapina como 10-N-glurionida o 4-N-desmetil olanzapina puede ser o no deseable. Pueden generarse anticuerpos que detecten múltiples de estos fármacos y/o metabolitos, o pueden generarse anticuerpos que detecten cada uno por separado (definiendo por tanto las propiedades de "unión específica" del anticuerpo). Un anticuerpo se une específicamente a uno o más compuestos cuando su unión del uno o más compuestos es equimolar o sustancialmente equimolar.

Los anticuerpos en la presente se describen mediante las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de sus dominios variables. Cada uno se generó inoculando a un huésped con un conjugado que comprende un fármaco antipsicótico conjugado con un portador inmunogénico. Habiendo proporcionado ahora las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de los mismos, los anticuerpos pueden producirse mediante los métodos recombinantes como se describen en la Patente de Estados Unidos N° 4.166.452.

Pueden generarse también fragmentos de anticuerpos que contienen sitios de unión específicos para el fármaco antipsicótico. Tales fragmentos incluyen, entre otros, los fragmentos $F(ab')_2$ que pueden producirse por digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo y los fragmentos Fab que pueden generarse reduciendo los puentes disulfuro de fragmentos $F(ab')_2$. Alternativamente, pueden construirse bibliotecas de expresión de Fab para permitir la identificación rápida y fácil de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada (Huse et al., Science 256:1270-1281 (1989)). Los fragmentos de anticuerpos Fab, Fv y ScFv pueden expresarse y secretarse

5 todos a partir de *Escherichia coli*, lo que permite la producción de grandes cantidades de estos fragmentos. Alternativamente, los fragmentos Fab'-SH pueden recuperarse directamente de *E. coli* y acoplarse químicamente para formar fragmentos F(ab')₂ (Carter et al., *BioTechnology* 10:163-167 (1992)). Los expertos en la técnica conocen otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos. También se prevén fragmentos de Fv de cadena sencilla (scFv) (ver las Patentes de Estados Unidos N° 5.761.894 y 5.587.458). Los fragmentos Fv y scFv son las únicas especies con sitios de combinación intactos que carecen de regiones constantes; por tanto, es probable que muestren una unión no específica reducida. El fragmento de anticuerpo también puede ser un "anticuerpo lineal", por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.642.870, por ejemplo. Tales fragmentos de anticuerpos lineales pueden ser monoespecíficos o biespecíficos.

10 KITS Y DISPOSITIVOS DE ENSAYO

15 Puede proporcionarse un kit de ensayo (también referido como kit de reactivos) que comprende un anticuerpo como se ha descrito anteriormente. Un kit de reactivos representativo puede comprender un anticuerpo que se une al fármaco antipsicótico, la olanzapina, un complejo que comprende un análogo de un fármaco antipsicótico o un derivado del mismo acoplado a una fracción marcadora, y opcionalmente también puede comprender uno o más calibradores que comprenden una cantidad conocida de un fármaco antipsicótico o un estándar relacionado.

20 La frase "kit de ensayo" se refiere a un conjunto de materiales y reactivos que se usa para realizar un ensayo. Los reactivos pueden proporcionarse en combinación envasados en el mismo recipiente o en recipientes separados, dependiendo de su reactividad cruzada y estabildades, y en forma líquida o liofilizada. Las cantidades y proporciones de reactivos proporcionados en el kit pueden seleccionarse para proporcionar resultados óptimos para una aplicación particular. Un kit de ensayo que incorpora las características de la presente invención comprende anticuerpos que se unen a la olanzapina. El kit puede comprender además compañeros de unión competitiva de olanzapina y materiales de calibración y control.

30 La frase "material de calibración y control" se refiere a cualquier material estándar o de referencia que contenga una cantidad conocida de un analito. Una muestra sospechosa de contener un analito y el material de calibración correspondiente se analizan en condiciones similares. La concentración del analito se calcula comparando los resultados obtenidos para el espécimen desconocido con los resultados obtenidos para el estándar. Esto se hace comúnmente mediante la construcción de una curva de calibración.

35 Los anticuerpos que incorporan características de la presente invención pueden incluirse en un kit, recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para su utilización. Cuando los anticuerpos se suministran en un kit, los diferentes componentes del inmunoensayo pueden envasarse en recipientes separados y mezclarse antes de su uso. Tal envasado de los componentes por separado puede permitir el almacenamiento a largo plazo sin disminuir sustancialmente el funcionamiento de los componentes activos. Además, los reactivos pueden envasarse en entornos inertes, por ejemplo, bajo una presión positiva de gas nitrógeno, gas argón o similares, lo que es especialmente preferido para los reactivos que son sensibles al aire y/o la humedad.

40 Los reactivos incluidos en los kits que incorporan características de la presente invención pueden suministrarse en todo tipo de recipientes de tal manera que las actividades de los diferentes componentes se conserven sustancialmente mientras que los propios componentes no se adsorben ni alteran sustancialmente por los materiales del recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, pero no están limitados a, ampollas, botellas, tubos de ensayo, viales, matraces, jeringuillas, sobres, por ejemplo, revestidos con papel de aluminio y similares. Los recipientes pueden estar compuestos de cualquier material adecuado incluyendo, pero no limitados a, vidrio, polímeros orgánicos, por ejemplo, policarbonato, poliestireno, polietileno, etc., cerámica, metal, por ejemplo, aluminio, aleaciones de metal, por ejemplo, acero, corcho, y similares. Además, los recipientes pueden comprender uno o más puertos de acceso estériles, por ejemplo, para acceder a través de una aguja, como puede ser proporcionado por un tabique. Los materiales preferidos para tabiques incluyen caucho y politetrafluoroetileno del tipo vendido por DuPont (Wilmington, DE) con el nombre comercial TEFLON. Además, los recipientes pueden comprender dos o más compartimentos separados por particiones o membranas que pueden retirarse para permitir el mezclado de los componentes.

55 Los kits de reactivos que incorporan características de la presente invención también pueden suministrarse con materiales de instrucciones. Las instrucciones pueden imprimirse, por ejemplo, en papel y/o suministrarse en un medio legible electrónicamente. Alternativamente, pueden proporcionarse instrucciones dirigiendo a un usuario a un sitio web de Internet, por ejemplo, especificado por el fabricante o distribuidor del kit y/o por correo electrónico.

60 El anticuerpo también puede proporcionarse como parte de un dispositivo de ensayo. Dichos dispositivos de ensayo incluyen dispositivos de ensayo de flujo lateral. Un tipo común de dispositivo de ensayo de flujo lateral desechable incluye una zona o área para recibir la muestra líquida, una zona de conjugado y una zona de reacción. Estos dispositivos de ensayo son conocidos comúnmente como tiras reactivas de flujo lateral. Emplean un material poroso, por ejemplo, nitrocelulosa, que define una ruta para el flujo de fluido capaz de soportar el flujo capilar. Los

ejemplos incluyen los mostrados en las Patentes de Estados Unidos N° 5.559.041, 5.714.389, 5.120.643 y 6.228.660.

5 Otro tipo de dispositivo de ensayo es un dispositivo de ensayo no poroso que tiene proyecciones para inducir el flujo capilar. Los ejemplos de tales dispositivos de ensayo incluyen el dispositivo de flujo lateral abierto como se divulga en las Publicaciones Internacionales de PCT N° WO 2003/103835, WO 2005/089082, WO 2005/118139 y WO 2006/137785.

10 En un dispositivo de ensayo no poroso, el dispositivo de ensayo generalmente tiene por lo menos una zona de adición de muestras, por lo menos una zona de conjugado, por lo menos una zona de reacción y por lo menos una zona de absorción. Las zonas forman una ruta de flujo por la cual fluye la muestra desde la zona de adición de muestras a la zona de absorción. También se incluyen elementos de captura, como anticuerpos, en la zona de reacción, capaces de unirse al analito, opcionalmente depositados en el dispositivo (como por recubrimiento); y un material conjugado marcado también capaz de participar en reacciones que permitirán la determinación de la concentración del analito, depositado en el dispositivo en la zona de conjugado, en donde el material conjugado marcado lleva un marcador para la detección en la zona de reacción. El material conjugado se disuelve a medida que fluye la muestra a través de la zona de conjugado formando un penacho conjugado de material conjugado marcado disuelto y muestra que fluye en sentido descendente hacia la zona de reacción. A medida que el penacho conjugado fluye hacia la zona de reacción, el material conjugado será capturado por los elementos de captura, como a través de un complejo de material conjugado y analito (como en un ensayo "sándwich") o directamente (como en un ensayo "competitivo"). El material conjugado disuelto no unido será barrido más allá de la zona de reacción hacia la por lo menos una zona de absorción. Tales dispositivos pueden incluir proyecciones o micropilares en la ruta de flujo.

25 Un instrumento como el divulgado en las Publicaciones de Patente de Estados Unidos N° US20060289787A1 y US 20070231883A1, y las Patentes de Estados Unidos N° 7.416.700 y 6.139.800, es capaz de detectar el material conjugado unido en la zona de reacción. Los marcadores comunes incluyen tintes fluorescentes que pueden ser detectados por instrumentos que excitan los tintes fluorescentes e incorporan un detector capaz de detectar los tintes fluorescentes.

30 INMUNOENSAYOS

Los anticuerpos así producidos pueden usarse en inmunoensayos para reconocer/unirse al fármaco antipsicótico, detectando de este modo la presencia y/o cantidad del fármaco en una muestra de paciente. Preferiblemente, el formato de ensayo es un formato de inmunoensayo competitivo. Tal formato de ensayo y otros ensayos se describen, entre otros sitios, en Hampton et al. (Serological Methods, A Laboratory Manual, APS Press, St. Paul, MN 1990) y Maddox et al. (J. Exp. Med. 158: 12111, 1983).

40 El término "analito" se refiere a cualquier sustancia o grupo de sustancias, cuya presencia o cantidad debe determinarse. Los análisis de fármacos antipsicóticos representativos incluyen, pero no están limitados a, risperidona, paliperidona, olanzapina, aripiprazol y quetiapina.

45 El término "compañero de unión competitiva" se refiere a una sustancia o grupo de sustancias, que puede emplearse en un inmunoensayo competitivo, que se comporta de manera similar a un analito con respecto a la afinidad de unión a un anticuerpo. Los compañeros de unión competitiva representativos incluyen, pero no están limitados a, derivados de fármacos antipsicóticos y similares.

50 El término "detectar" cuando se usa con un analito se refiere a cualquier método cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo, así como a todos los demás métodos para determinar un analito en general, y un fármaco antipsicótico en particular. Por ejemplo, un método que simplemente detecta la presencia o ausencia de un fármaco antipsicótico en una muestra se encuentra dentro del alcance de la presente invención, al igual que los métodos que proporcionan datos sobre la cantidad o concentración del fármaco antipsicótico en el muestra. Los términos "detectar", "determinar", "identificar" y similares se usan como sinónimos en la presente, y todos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

55 Una realización preferida de la presente invención es un inmunoensayo competitivo en el que los anticuerpos que se unen al fármaco antipsicótico, o el fármaco o compañero de unión competitiva del mismo, se unen a un soporte sólido (como la zona de reacción en un dispositivo de ensayo de flujo lateral) y el fármaco marcado o la compañero de unión competitiva del mismo, o el anticuerpo marcado, respectivamente, y una muestra derivada del huésped se pasa sobre el soporte sólido y la cantidad de marcador detectada unida al soporte sólido puede correlacionarse con una cantidad de fármaco en la muestra.

60 Puede analizarse cualquier muestra que se sospeche que contenga un analito, por ejemplo, un fármaco antipsicótico, de acuerdo con los métodos de las realizaciones actualmente preferidas. La muestra puede pretratarse si se desea y puede prepararse en cualquier medio conveniente que no interfiera con el ensayo. Preferiblemente, la

65

muestra comprende un medio acuoso como un fluido corporal de un huésped, lo más preferible plasma o suero.

Debe entenderse que se contemplan todo tipo de inmunoensayos que emplean anticuerpos para su uso de acuerdo con las realizaciones actualmente preferidas, incluyendo ensayos en los que los anticuerpos están unidos a fases sólidas y ensayos en los que los anticuerpos están en medios líquidos. Los métodos de inmunoensayos que pueden usarse para detectar analitos usando anticuerpos que incorporan características de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, ensayos competitivos (limitado por reactivos) en los que el analito marcado (análogo de analito) y el analito en una muestra compiten por anticuerpos y ensayos inmunométricos de sitio único en los que el anticuerpo está marcado; y similares.

Todos los ejemplos se llevaron a cabo usando técnicas estándar, que son bien conocidas y rutinarias para los expertos en la técnica, excepto donde se describa lo contrario con detalle. Las técnicas de biología molecular rutinarias de los siguientes ejemplos pueden llevarse a cabo como se describe en los manuales de laboratorio estándar, como Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989))

EJEMPLO 1

Anticuerpos contra Aripiprazol

Anticuerpo 17.3 clon 3D7

El hibridoma designado 17.3 clon 3D7 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para el aripiprazol. El anticuerpo se designa 17.3 clon 3D7. La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 17.3 clon 3D7 se designa con la SEQ ID NO: 41 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 42. Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 3D7, los nucleótidos 136-165 de la SEQ ID NO: 41 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 211-231 de la SEQ ID NO: 41 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 328-354 de la SEQ ID NO: 41 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 3D7, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 42 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 42 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-375 de la SEQ ID NO: 42 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 17.3 clon 3D7, y se designan SEQ ID NO: 43 (cadena ligera) y SEQ ID NO: 44 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 3D7, los residuos de aminoácidos 46-55 de la SEQ ID NO: 43 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 71-77 de la SEQ ID NO: 43 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 110-118 de la SEQ ID NO: 43 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 3D7, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 44 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 44 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-125 de la SEQ ID NO: 44 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 17.3 clon 5C7 (primero)

El hibridoma designado 17.3 clon 5C7 (primero) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para el aripiprazol. El anticuerpo se designa 17.3 clon 5C7 (primero). La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 17.3 clon 5C7 (primero) se designa con la SEQ ID NO: 45 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 46. Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (primero), los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 45 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 45 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 45 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (primero), los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 46 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 46 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-378 de la SEQ ID NO: 46 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 17.3 clon 5C7 (primero), y se designan con la SEQ ID NO: 47 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 48 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (primero), los residuos de aminoácidos 44-54 de la SEQ ID NO: 47 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de

aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 47 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 47 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (primero), los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 48 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 48 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-126 de la SEQ ID NO: 48 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 17.3 clon 5C7 (segundo)

El hibridoma designado 17.3 clon 5C7 (segundo) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para aripiprazol. El anticuerpo se designa 17.3 clon 5C7 (segundo). La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 17.3 clon 5C7 (segundo) se designa con la SEQ ID NO: 49 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 50. Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (segundo), los nucleótidos 130-174 de la SEQ ID NO: 49 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 220-240 de la SEQ ID NO: 49 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 337-363 de la SEQ ID NO: 49 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (segundo), los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 50 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 50 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-390 de la SEQ ID NO: 50 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 17.3, clon 5C7 (segundo) y se designan SEQ ID NO: 51 (cadena ligera) y SEQ ID NO: 52 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (segundo), los residuos de aminoácidos 44-58 de la SEQ ID NO: 51 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 74-80 de la SEQ ID NO: 51 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 113-121 de la SEQ ID NO: 51 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (segundo), los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 52 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 52 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-130 de la SEQ ID NO: 52 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 17.3 clon 5C7 (tercero)

El hibridoma designado 17.3 clon 5C7 (tercero) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para el aripiprazol. El anticuerpo se designa 17.3 clon 5C7 (tercero). La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero) se designa con la SEQ ID NO: 53 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 54. Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero), los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 53 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 53 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 53 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero), los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 54 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 54 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-366 de la SEQ ID NO: 54 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos correspondientes predichas de las regiones de cadena variable del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero), y se designan con la SEQ ID NO: 55 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 56 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero), los residuos de aminoácidos 44-54 de la SEQ ID NO: 55 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 55 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 55 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 17.3 clon 5C7 (tercero), los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 56 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 56 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-122 de la SEQ ID NO: 56 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

EJEMPLO 2

Anticuerpos contra la olanzapina

Anticuerpo 11.1 clon 35

5 El hibridoma designado 11.1 clon 35 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la olanzapina. El anticuerpo se designa como clon 11.1 35. La secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena ligera (V_L) del mAb 11.1 clon 35 se designa con la SEQ ID NO: 9 y la de la región variable de cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 10. Dentro de la V_L del mAb 11.1 clon 35, los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 9 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 9 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 9 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 11.1 clon 35, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 10 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 10 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-366 de la SEQ ID NO: 10 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

15 También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 11.1 clon 35, y se designan SEQ ID NO: 11 (cadena ligera) y SEQ ID NO: 12 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 11.1 clon 35, los residuos de aminoácidos 44-54 de la SEQ ID NO: 11 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 11 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 11 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 11.1 clon 35, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 12 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 12 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-122 de la SEQ ID NO: 12 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 11.1 clon 61

30 El hibridoma designado 11.1 clon 61 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la olanzapina. El anticuerpo se designa como clon 61 11.1. La secuencia de nucleótidos de la región variable de cadena ligera (V_L) del mAb 11.1 clon 61 se designa con la SEQ ID NO: 13 y la de la región variable de cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 14. Dentro de la V_L del mAb 11.1 clon 61, los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 13 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 13 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 13 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 11.1 clon 61, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 14 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 14 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-366 de la SEQ ID NO: 14 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

45 También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 11.1 clon 61, y se designan con la SEQ ID NO: 15 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 16 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 11.1 clon 61, los residuos de aminoácidos 44-54 de la SEQ ID NO: 15 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 15 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 15 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 11.1 clon 61, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 16 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 16 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-122 de la SEQ ID NO: 16 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 15.5 clon 3F11 (primero)

55 El hibridoma designado 15.5 clon 3F11 (primero) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la olanzapina. El anticuerpo se designa como 15.5 clon 3F11 (primero). La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 15.5 clon 3F11 (primero) se designa con la SEQ ID NO: 29 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 30. Dentro de la V_L del mAb 15.5 clon 3F11 (primero), los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 29 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 29 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 29 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 clon 3F11 (primero), los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 30 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-252 de la SEQ ID NO: 30 representan la segunda región determinante de la

complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 355-381 de la SEQ ID NO: 30 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

5 También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de
cadena variable del mAb 15.5 clon 3F11 (primero), y se designan con la SEQ ID NO: 31 (cadena ligera) y la SEQ ID
NO: 32 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 15.5 clon 3F11 (primero), los residuos de aminoácidos 44-54 de la
SEQ ID NO: 31 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de
aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 31 representan la segunda región determinante de la complementariedad
10 (CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 31 representan la tercera región determinante de
la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 clon 3F11 (primero), los residuos de aminoácidos 44-
54 de la SEQ ID NO: 32 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos
de aminoácidos 69-84 de la SEQ ID NO: 32 representan la segunda región determinante de la complementariedad
(CDR2); y los residuos de aminoácidos 119-127 de la SEQ ID NO: 32 representan la tercera región determinante de
la complementariedad (CDR3).

15 Anticuerpo 15.5 clon 3F11 (segundo)

El hibridoma designado 15.5 clon 3F11 (segundo) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para
la olanzapina. El anticuerpo se designa como 15.5 clon 3F11 (segundo). La secuencia de nucleótidos de la región
variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 15.5 clon 3F11 (segundo) se designa con la SEQ ID NO: 33 y la de la
región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 34. Dentro de la V_L del mAb 15.5 clon 3F11
20 (segundo), los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID NO: 33 representan la primera región determinante de la
complementariedad (CDR1); los nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 33 representan la segunda región
determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 33 representan la
tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 clon 3F11 (segundo),
25 los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 34 representan la primera región determinante de la complementariedad
(CDR1); los nucleótidos 205-261 de la SEQ ID NO: 34 representan la segunda región determinante de la
complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 358-381 de la SEQ ID NO: 34 representan la tercera región
determinante de la complementariedad (CDR3).

30 También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de
cadena variable del mAb 15.5 clon 3F11 (segundo), y se designan con la SEQ ID NO: 35 (cadena ligera) y la SEQ ID
NO: 36 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 15.5 clon 3F11 (segundo), los residuos de aminoácidos 44-54 de
la SEQ ID NO: 35 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de
35 aminoácidos 70-76 de la SEQ ID NO: 35 representan la segunda región determinante de la complementariedad
(CDR2); y los residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 35 representan la tercera región determinante de
la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 clon 3F11 (segundo), los residuos de aminoácidos 45-
54 de la SEQ ID NO: 36 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos
de aminoácidos 69-87 de la SEQ ID NO: 36 representan la segunda región determinante de la complementariedad
40 (CDR2); y los residuos de aminoácidos 120-127 de la SEQ ID NO: 36 representan la tercera región determinante de
la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 15.5 subclon 4G9-1

45 El hibridoma designado 15.5 subclon 4G9-1 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la
olanzapina. El anticuerpo se designa 15.5 subclon 4G9-1. La secuencia de nucleótidos de la región variable de la
cadena ligera (V_L) del mAb 15.5 subclon 4G9-1 se designa con la SEQ ID NO: 37 y la de la región variable de la
cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 38. Dentro de la V_L del mAb 15.5 subclon 4G9-1, los nucleótidos
130-162 de la SEQ ID NO: 37 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los
50 nucleótidos 208-228 de la SEQ ID NO: 37 representan la segunda región determinante de la complementariedad
(CDR2); y los nucleótidos 325-351 de la SEQ ID NO: 37 representan la tercera región determinante de la
complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 subclon 4G9-1, los nucleótidos 130-162 de la SEQ ID
NO: 38 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-252 de la
SEQ ID NO: 38 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos
55 358-381 de la SEQ ID NO: 38 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de
cadena variable del mAb 15.5 subclon 4G9-1, y se designan con la SEQ ID NO: 39 (cadena ligera) y la SEQ ID NO:
60 40 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 15.5 subclon 4G9-1, los residuos de aminoácidos 44-54 de la SEQ ID
NO: 39 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos
70-76 de la SEQ ID NO: 39 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los
residuos de aminoácidos 109-117 de la SEQ ID NO: 39 representan la tercera región determinante de la
complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 15.5 subclon 4G9-1, los residuos de aminoácidos 44-54 de la
SEQ ID NO: 40 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de
65 aminoácidos 69-84 de la SEQ ID NO: 40 representan la segunda región determinante de la complementariedad

(CDR2); y los residuos de aminoácidos 120-127 de la SEQ ID NO: 40 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

EJEMPLO 3

5

Anticuerpos contra la quetiapina

Anticuerpo 13.2 subclon 89-3 (primero)

10

El hibridoma designado 13.2 subclon 89-3 (primero) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la quetiapina. El anticuerpo se designa 13.2 subclon 89-3 (primero). La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero) se designa con la SEQ ID NO: 17 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 18. Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero), los nucleótidos 127-174 de la SEQ ID NO: 17 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 220-240 de la SEQ ID NO: 17 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 337-363 de la SEQ ID NO: 17 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero), los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 18 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 18 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-387 de la SEQ ID NO: 18 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

15

20

25

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero), y se designan con la SEQ ID NO: 19 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 20 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero), los residuos de aminoácidos 43-58 de la SEQ ID NO: 19 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 74-80 de la SEQ ID NO: 19 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 113-121 de la SEQ ID NO: 19 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-3 (primero), los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 20 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 20 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-129 de la SEQ ID NO: 20 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

30

35

Anticuerpo 13.2 subclon 89-3 (segundo)

40

El hibridoma designado 13.2 subclon 89-3 (segundo) secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la quetiapina. El anticuerpo se designa 13.2 subclon 89-3 (segundo). La secuencia de nucleótidos del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo) de la región variable de la cadena ligera (V_L) se designa con la SEQ ID NO: 21 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 22. Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo), los nucleótidos 127-174 de la SEQ ID NO: 21 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 220-240 de la SEQ ID NO: 21 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 337-363 de la SEQ ID NO: 21 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo), los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 22 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 22 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 367-387 de la SEQ ID NO: 22 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

45

50

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo), y se designan con la SEQ ID NO: 23 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 24 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo), los residuos de aminoácidos 43-58 de la SEQ ID NO: 23 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 74-80 de la SEQ ID NO: 23 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 113-121 de la SEQ ID NO: 23 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-3 (segundo), los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 24 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 24 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 123-129 de la SEQ ID NO: 24 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

55

60

Anticuerpo 13.2 subclon 89-5

65

El hibridoma designado 13.2 subclon 89-5 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la quetiapina. El anticuerpo se designa 13.2 subclon 89-5. La secuencia de nucleótidos de la región variable de la

cadena ligera (V_L) del mAb 13.2 subclon 89-5 se designa con la SEQ ID NO: 25 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 26. Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-5, los nucleótidos 127-174 de la SEQ ID NO: 25 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 220-240 de la SEQ ID NO: 25 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 337-363 de la SEQ ID NO: 25 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-5, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 26 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 26 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 367-387 de la SEQ ID NO: 26 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 13.2 subclon 89-5, y se designan con la SEQ ID NO: 27 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 28 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 13.2 subclon 89-5, los residuos de aminoácidos 43-58 de la SEQ ID NO: 27 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 74-80 de la SEQ ID NO: 27 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 113-121 de la SEQ ID NO: 27 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 13.2 subclon 89-5, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 28 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 28 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 123-129 de la SEQ ID NO: 28 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

EJEMPLO 4

Anticuerpos contra la risperidona/paliperidona

Anticuerpo 5_9

El hibridoma designado 5_9 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la risperidona (y su metabolito paliperidona). El anticuerpo se designa 5-9. La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 5-9 se designa con la SEQ ID NO: 1 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 2. Dentro de la V_L del mAb 5-9, los nucleótidos 130-180 de la SEQ ID NO: 1 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 226-246 de la SEQ ID NO: 1 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 343-369 de la SEQ ID NO: 1 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 5-9, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 2 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 2 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-366 de la SEQ ID NO: 2 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 5-9, y se designan con la SEQ ID NO: 3 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 4 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 5-9, los residuos de aminoácidos 44-60 de la SEQ ID NO: 3 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 76-82 de la SEQ ID NO: 3 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 115-123 de la SEQ ID NO: 3 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 5-9, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 4 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de SEQ ID NO: 4 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-122 de la SEQ ID NO: 4 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

Anticuerpo 5_5

El hibridoma designado 5_5 secreta un anticuerpo monoclonal (mAb) específico para la risperidona (y su metabolito paliperidona). El anticuerpo se designa 5-5. La secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (V_L) del mAb 5-5 se designa con la SEQ ID NO: 5 y la de la región variable de la cadena pesada (V_H) se designa con la SEQ ID NO: 6. Dentro de la V_L del mAb 5-5, los nucleótidos 130-180 de la SEQ ID NO: 5 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 226-246 de la SEQ ID NO: 5 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 343-369 de la SEQ ID NO: 5 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 5-9, los nucleótidos 133-162 de la SEQ ID NO: 6 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los nucleótidos 205-255 de la SEQ ID NO: 6 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los nucleótidos 352-366 de la SEQ ID NO: 6 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

También se determinaron las secuencias de aminoácidos predichas correspondientes de las regiones de cadena variable del mAb 5-5, y se designan con la SEQ ID NO: 7 (cadena ligera) y la SEQ ID NO: 8 (cadena pesada). Dentro de la V_L del mAb 5-5, los residuos de aminoácidos 44-60 de la SEQ ID NO: 7 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 76-82 de la SEQ ID NO: 7 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 115-123 de la SEQ ID NO: 7 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3). Dentro de la V_H del mAb 5-5, los residuos de aminoácidos 45-54 de la SEQ ID NO: 8 representan la primera región determinante de la complementariedad (CDR1); los residuos de aminoácidos 69-85 de la SEQ ID NO: 8 representan la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2); y los residuos de aminoácidos 118-122 de la SEQ ID NO: 8 representan la tercera región determinante de la complementariedad (CDR3).

EJEMPLO 5

Inmunoensayos competitivos para olanzapina e inmunoensayo competitivo multiplex para aripiprazol, olanzapina, quetiapina y risperidona/paliperidona

Después de una serie de inmunizaciones con inmunógenos de olanzapina, se probaron hemorragias de cola de ratón para reactividad usando un ELISA. Los sobrenadantes de hibridoma también se probaron, y los datos de ELISA que se muestran en las Tablas 1 y 2 siguientes muestran la reactividad de varios hibridomas (el compañero de fusión era células NSO).

Tabla 1

Dilución	Placa 2												Ag = Bt-Compuesto Nº11	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1/400	25	26	27	28	29	30	31	21	33	34	35	36	Ag = Bt-Compuesto Nº11	
1/1200														
1/3600														
1/10800														
1/400	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48		
1/1200														
1/3600														
1/10800														
1/400	0.0136	0.0432	0.131	0.0654	0.4092	0.039	0.016	0.1408	0.0712	1.4854	2.0086	0.0861		Ag = Bt-Compuesto Nº11
1/1200	0.0113	0.0194	0.0477	0.0291	0.1293	0.031	0.012	0.0374	0.0126	0.4411	0.8874	0.0362		
1/3600	0.0092	0.0118	0.0233	0.0153	0.0462	0.013	0.009	0.0314	0.0275	0.2073	0.3555	0.0217		
1/10800	0.0105	0.0111	0.0159	0.0107	0.0224	0.012	0.009	0.0172	0.0168	0.0972	0.147	0.0141		
1/400	0.0333	0.1512	1.1412	1.0762	0.3042	0.04	0.449	0.1619	1.8038	0.0933	0.7666	1.258		
1/1200	0.0144	0.055	0.4575	0.3223	0.0907	0.016	0.144	0.0402	0.1536	0.0288	0.2956	0.4374		
1/3600	0.008	0.0333	0.2036	0.1077	0.0361	0.011	0.051	0.0206	0.708	0.0165	0.1212	0.2072		
1/10800	0.0109	0.0181	0.0885	0.0581	0.027	0.01	0.045	0.0217	0.5338	0.0132	0.0585	0.0954		

Tabla 2

	Placa 3	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Dilución	1											
100	1B2	1C4	2B3	2G5	3A3	3E9	3F11	4G9	5D11	6G2	#13	Empty
100												
300												
300												
900												
900												
2700												
2700												
100	0.0628	0.5634	2.9908	1.9083	0.7869	2.7554	2.296	1.027	0.1174	0.8223	0.041	0
100	0.0527	0.429	2.7862	1.3797	0.6534	2.3072	2.0249	0.934	0.1115	0.7692	0.0386	0.0057
300	0.0202	0.1452	1.3705	0.5961	0.2337	1.3963	0.8952	0.2999	0.0378	0.2486	0.0177	0.0031
300	0.0208	0.1408	1.3166	0.5235	0.2173	1.1112	0.9114	0.3116	0.0406	0.2483	0.0174	0.0052
900	0.0132	0.0242	0.4925	0.1967	0.0849	0.4472	0.2986	0.0896	0.0179	0.0851	0.012	0.0039
900	0.0148	0.0554	0.4551	0.1731	0.0839	0.4471	0.3499	0.0951	0.018	0.0863	0.0128	0.0055
2700	0.0109	0.0259	0.1877	0.0713	0.0334	0.1709	0.1381	0.0352	0.0111	0.036	0.0094	0.0041
2700	0.0122	0.028	0.1835	0.0903	0.0404	0.1924	0.1502	0.0409	0.0113	0.0325	0.0094	0.005

El sobrenadante se probó luego mediante ELISA de competición para determinar si las señales eran específicas para la olanzapina. Las Figs. 1-3 muestran los resultados de tres hibridomas representativos resultantes de la fusión de ratón 11.1. Los datos muestran reactividad específica para la olanzapina con reactividad variada para la clozapina.

La Fig. 4 muestra el formato de inmunoensayo competitivo usado en un dispositivo de ensayo de flujo lateral en el que el anticuerpo de captura, un clon de olanzapina, se depositó en un chip junto con un conjugado de detección que consistía de olanzapina conjugada con un fluoróforo. En este formato competitivo como se muestra en la Fig. 4, un nivel bajo de analito (olanzapina) da como resultado una señal alta, mientras que un nivel alto de analito (olanzapina) da como resultado una señal baja. La cantidad de olanzapina en la muestra puede calcularse a partir de la pérdida de fluorescencia en comparación con una muestra de control sin fármaco presente. En la figura 5 se muestra una curva de respuesta a la dosis típica generada con el clon 35 de olanzapina, con el clon 61 de olanzapina mostrándose en la Fig. 6, y con el clon 3F11 de olanzapina mostrándose en la Fig. 7.

La Fig. 8 muestra el diseño de chip de un dispositivo de ensayo de flujo lateral de acuerdo con una realización de la presente invención. El dispositivo incluye una zona o área para recibir la muestra, una zona de conjugado (que contiene los compañeros de unión competitiva marcados deseados) y una zona de reacción (se indican ocho áreas dentro de la zona de reacción; cada área puede contener un anticuerpo deseado separado) La muestra fluye desde la zona de muestra a través de la zona de conjugado y hacia la zona de reacción.

Las Figs. 9-12 muestran curvas de respuesta a la dosis típicas para un control positivo de aripiprazol (muestra que contiene aripiprazol) generado con el anticuerpo 5C7 depositado en la zona de reacción 2 y un compañero de unión competitiva del aripiprazol marcado en la zona de conjugado (Fig. 9), un control positivo de olanzapina (muestra que contiene olanzapina) generada con el anticuerpo 4G9-1 depositado en la zona de reacción 4 y un compañero de unión competitiva marcado con olanzapina en la zona de conjugado (Fig. 10), un control positivo de quetiapina (muestra que contiene quetiapina) generado con el anticuerpo 11 depositado en la zona de reacción 6 y un compañero de unión competitiva de quetiapina marcado en la zona de conjugado (Fig. 11), y un control positivo de risperidona (muestra que contiene risperidona) generado con el anticuerpo 5-9 depositado en la zona de reacción 8 y un compañero de unión competitiva de risperidona marcado en la zona de conjugado (Fig. 12) Los compañeros de unión competitiva marcados en la zona de conjugado compiten con los fármacos presentes en las muestras para unirse a los anticuerpos. Se detecta la cantidad de marcador y es una indicación de al cantidad de fármaco presente en la muestra (la cantidad de señal siendo inversamente proporcional a la cantidad de fármaco en la muestra - ver Fig. 4).

Para confirmar que los conjugados de compañeros de unión competitiva marcados no se unen a los anticuerpos depositados en las zonas de reacción, se llevaron a cabo controles negativos usando muestras que no contenían fármacos. En referencia a la Tabla 3, una muestra que no contiene aripiprazol se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada, pero no aripiprazol marcado) y a la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo el anticuerpo aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2. La Tabla 3 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis y que los conjugados de olanzapina, quetiapina y risperidona que se mueven por acción capilar a través de la zona de reacción no se unen al anticuerpo aripiprazol.

Tabla 3

Aripiprazol-Clon 5C7-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
ARIP-MM1	OLAN, QUET, RISP	ARIP	2	0.77	1.56	3.99
ARIP-MM1	OLAN, QUET, RISP		4	-0.02	0.06	4.14
ARIP-MM1	OLAN, QUET, RISP		6	0.09	0.10	4.29
ARIP-MM1	OLAN, QUET, RISP		8	0.13	0.12	4.61
Otros Conjugados no se unen a aripiprazol						

En referencia a la Tabla 4, una muestra que no contiene olanzapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, quetiapina marcada y risperidona marcada, pero no olanzapina marcada) y hacia zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo el anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4. La Tabla 4 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis y los conjugados de aripiprazol, quetiapina y risperidona que se mueven por acción capilar a través de la zona de reacción no se unen al anticuerpo de olanzapina.

Tabla 4

OLAN-Clon 4G9-1-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
OLAN-MM1	ARIP,QUET,RISP		2	-0.03	0.05	4.38
OLAN-MM1	ARIP,QUET,RISP	OLAN	4	0.74	1.10	4.56
OLAN-MM1	ARIP,QUET,RISP		6	0.06	0.09	4.79
OLAN-MM1	ARIP,QUET,RISP		8	0.11	0.13	5.17
Otros Conjugados no se unen a Olanzapina						

En referencia a la Tabla 5, una muestra que no contiene quetiapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada y risperidona marcada, pero no quetiapina marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6. La Tabla 5 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis y que los conjugados de aripiprazol, olanzapina y risperidona que se mueven por acción capilar a través de la zona de reacción no se unen al anticuerpo quetiapina.

Tabla 5

Quetiapina-Clon 11-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
QUET-MM1	ARIP,OLAN,RISP		2	-0.01	0.07	3.85
QUET-MM1	ARIP,OLAN,RISP		4	0.01	0.12	4.01
QUET-MM1	ARIP,OLAN,RISP	QUET	6	0.03	0.08	4.24
QUET-MM1	ARIP,OLAN,RISP		8	0.04	0.07	4.56
Otros Conjugados no se unen a Quetiapina						

Con referencia a la Tabla 6, una muestra que no contiene risperidona se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada y quetiapina marcada, pero no risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpos contra risperidona (5-9) en la zona de reacción 8. La Tabla 6 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis y los conjugados de aripiprazol, olanzapina y quetiapina que se mueven por acción capilar a través de la zona de reacción no se unen al anticuerpo de risperidona.

Tabla 6

Risperidona-Clon 5-9-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET		2	0.02	0.11	7.43
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET		4	0.05	0.14	7.73
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET		6	0.20	0.19	8.11
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET	RISP	8	1.97	3.23	8.85
Otros Conjugados no se unen a Risperidona						

Para confirmar que los conjugados de compañeros de unión competitiva marcados se unen solo a sus anticuerpos respectivos depositados en las zonas de reacción, se llevaron a cabo controles negativos adicionales usando de nuevo muestras que no contienen fármacos. Con referencia a la Tabla 7, una muestra que no contiene aripiprazol se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2, así como anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4, anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6 y anticuerpo de risperidona (5-9) en la zona de reacción 8. La Tabla 7 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis excepto para el anticuerpo 5C7 de aripiprazol (en la zona de reacción 2).

Tabla 7

Aripiprazol-Clon 5C7-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
ARIP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP	ARIP	2	60.34	97.53	5.44
ARIP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		4	2.86	3.91	11.66
ARIP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		6	1.12	1.23	11.03
ARIP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		8	3.14	4.19	12.94
Solo se une la Zona de Reacción de Aripiprazol						

En referencia a la Tabla 8, una muestra que no contiene olanzapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo olanzapina marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2, así como anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4, anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6 y anticuerpo de risperidona (5-9) en la reacción zona 8. La Tabla 8 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis excepto para el anticuerpo de olanzapina 4G9-1 (en la zona de reacción 4).

Tabla 8

OLAN-Clon 4G9-1-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
OLAN-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		2	0.02	0.08	4.86
OLAN-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP	OLAN	4	34.23	51.80	5.39
OLAN-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		6	0.22	0.32	5.39
OLAN-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		8	0.15	0.17	5.59
Solo se Une la Zona de Reacción de Olanzapina						

En referencia a la Tabla 9, una muestra que no contiene quetiapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo quetiapina marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2, así como anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4, anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6 y anticuerpo de risperidona (5-9) en la reacción zona 8. La Tabla 9 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis excepto para el anticuerpo 11 de quetiapina (en la zona de reacción 6).

Tabla 9

Quetiapina-Clon 11-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
QUET-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		2	0.13	0.41	10.02
QUET-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		4	0.08	0.23	10.47
QUET-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP	QUET	6	140.35	181.33	7.91
QUET-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		8	1.58	2.61	11.53
Solo se une la Zona de Reacción de Quetiapina						

En referencia a la Tabla 10, una muestra que no contiene risperidona se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2, así como anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4, anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6 y anticuerpo de risperidona (5-9) en la reacción zona 8. La Tabla 10 siguiente muestra los resultados, confirmando que no hay respuesta a la dosis excepto para el anticuerpo de risperidona 5-9 (en la zona de reacción 8).

Tabla 10

Risperidona-CLon 5-9-Modelo Matemático 1 (Conc. Ong/ml)						
Ensayo-MM	Conj	Zona de Reacción	Posición de Lectura	Area Media Máxima	Altura Media Máxima	Fondo Medio
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		2	1.03	1.51	9.07
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		4	0.65	0.91	9.60
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP		6	2.61	6.39	10.48
RISP-MM1	ARIP,OLAN,QUET,RISP	RISP	8	55.98	100.91	11.58

Solo se une la Zona de Reacción de Risperidona

Los resultados mostrados anteriormente confirman que los conjugados de compañeros de unión competitiva marcados se unen solo a sus respectivos anticuerpos en la zona de reacción.

Las Figs. 13-16 muestran curvas típicas de respuesta a la dosis en zonas de reacción de anticuerpos específicos, y una prueba de concentración baja/alta de respuesta a la dosis para cada ensayo específico en presencia de otros conjugados. En la Fig. 13, una muestra que contiene aripiprazol se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2. Se generó una curva de respuesta a la dosis típica como se muestra en la Fig. 13 solo para aripiprazol, y no para olanzapina, quetiapina o risperidona.

En la Fig. 14, una muestra que contiene olanzapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4. Se generó una curva de respuesta a la dosis típica como se muestra en la Fig. 14 solo para olanzapina, y no para aripiprazol, quetiapina o risperidona.

En la Fig. 15, una muestra que contiene quetiapina se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6. Se generó una curva de respuesta a la dosis típica como se muestra en la Fig. 15 solo para quetiapina, y no para aripiprazol, olanzapina o risperidona.

En la Fig. 16, una muestra que contiene risperidona se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (esta vez conteniendo aripiprazol marcado, olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de risperidona (5-9) en la zona de reacción 8. Se generó una curva de respuesta a la dosis típica como se muestra en la Fig. 16 solo para risperidona, y no para aripiprazol, olanzapina o quetiapina.

Las Figs. 17-20 muestran curvas de respuesta a la dosis típicas para cada ensayo en presencia de otros conjugados y anticuerpos. En la Fig. 17, una muestra que contiene aripiprazol se deposita en la zona de muestra y se mueve por acción capilar a través de la zona de conjugado (que contiene de nuevo aripiprazol marcado, olanzapina marcada, quetiapina marcada y risperidona marcada) y hacia la zona de reacción. La zona de reacción contiene de nuevo anticuerpo de aripiprazol (5C7) en la zona de reacción 2, así como anticuerpo de olanzapina (4G9-1) en la zona de reacción 4, anticuerpo de quetiapina (11) en la zona de reacción 6 y anticuerpo de risperidona (5-9) en la zona de reacción 8. Se generó una curva de respuesta a la dosis típica para aripiprazol, como se muestra en la Fig. 17. Cuando se depositó una muestra que contenía olanzapina en la zona de muestra de este chip, se generó una curva de respuesta a la dosis típica para olanzapina como se muestra en la Fig. 18. Cuando se depositó una muestra que contenía quetiapina en la zona de muestra de este chip, se generó una curva de respuesta a la dosis típica para quetiapina como se muestra en la Fig. 19. Cuando se depositó una muestra que contenía risperidona en la zona de muestra de este chip, se generó una curva de respuesta a la dosis típica para risperidona como se muestra en la Fig. 20.

Las Figs. 21-24 muestran comparaciones de las curvas de respuesta a la dosis generadas como controles positivos (Figs. 9-12) con las curvas de respuesta a la dosis generadas en el formato multiplex (Figs. 17-20). La comparación para aripiprazol se muestra en la Fig. 21; para olanzapina en la Fig. 22; para quetiapina en la Fig. 23; y para risperidona en la Fig. 24. Estas figuras muestran que las curvas de control positivo son similares a las curvas multiplex.

Estos datos muestran que un dispositivo de ensayo de flujo lateral de la presente invención puede usarse para detectar múltiples fármacos antipsicóticos usando una única muestra de un paciente en un dispositivo portátil de punto de atención.

LISTADO DE SECUENCIAS

5	<110> Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. Janssen Pharmaceutica NV	
	<120> Anticuerpos para Olanzapina y uso de los mismos	
	<130> CDS5133WOPCT	
10	<150> US 61/691,645	
	<151> 2012-08-21	
	<160> 56	
15	<170> PatentIn versión 3.5	
	<210> 1	
	<211> 399	
	<212> ADN	
20	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia de Anticuerpo	
25	<400> 1	
	atggaatcac agactcaggt cctcatgtcc ctgctgctct ggatatctgg tacctatggg	60
30	gacattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgagtgtgg caacaggaga taaggctact	120
	atgagctgca agtccagtca gagtctgttc aacagtagaa accaaaagag ctacttggcc	180
	tgggtaccagc agaagccatg gcagcctcct aaactgctga tctacggggc atccactag	240
35	gaatctgggg tcctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc	300
	atcagcagtg tgcaggctga agacctggca atttattact gtcagaatga ttatagttat	360
40	ccattcacgt tcggcacggg gacaaaattg gaaataaga	399
	<210> 2	
	<211> 399	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia de Anticuerpo	
50	<400> 2	
	atgggattca gcaggatcct tctcttcctc ctgtcagtaa ctacaggtgt ccaactcccag	60
55	gcttttctac aacaatctgg ggctgagctg gtgaggcctg gggcctcagt gaagatgtcc	120
	tgcaaggcct ctggctccac atttaccagt tacaatatac actgggtcaa gcagacacct	180
	agacagggcc tggaatggat tggagctatt tatccaggaa atggtgatac ttcctacaat	240
60	cagaagttca agggcagggc cacactgact atagacaaat cctccagcac agcctacatg	300
	cagctcagca gcctgacatc tgaagactct gcggctctatt tctgtgctaa ctggggcttt	360
65	gagtactggg gtcaaggcac cactctctca gtctcctca	399

ES 2 807 902 T3

<210> 3
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 3

10

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
 1 5 10 15

15

Gly Thr Tyr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30

20

Val Ala Thr Gly Asp Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

25

Leu Phe Asn Ser Arg Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
 50 55 60

30

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

35

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 85 90 95

40

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr
 100 105 110

45

Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Thr Gly Thr
 115 120 125

Lys Leu Glu Ile Arg
 130

<210> 4
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

55

<400> 4

60

Met Gly Phe Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

65

Val His Ser Gln Ala Phe Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg
 20 25 30

ES 2 807 902 T3

Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Thr Phe
 35 40 45

5 Thr Ser Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu
 50 55 60

10 Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn
 65 70 75 80

15 Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

20 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

25 Tyr Phe Cys Ala Asn Trp Gly Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125

Leu Ser Val Ser Ser
 130

30 <210> 5
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 5

40 atggaatcac agactcaggt cctcatgtcc ctgctgctct ggatatctgg tacctatggg 60
 gagattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgagtggtg caacaggaga taaggctact 120
 45 atgagctgca agtccagtca gagtctgttc aacagtagaa accaaaagag ctacttggcc 180
 tggtagcagc agaagccatg gcagcctcct aaactgctga tctacggggc atccactag 240
 gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc 300
 50 atcagcagtg tgcaggctga agacctggca atttattact gtcagaatga ttatagttat 360
 ccattcacgt tcggcacggg gacaaaattg gaaataaga 399

55 <210> 6
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 6

65

ES 2 807 902 T3

atgggattca gcaggatctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctacaggtgt ccaactcccag 60
 gcttttctac aacaatctgg ggctgagctg gtgaggcctg gggcctcagt gaagatgtcc 120
 5 tgcaaggcct ctggctccac atttaccagt tacaatatac actgggtcaa gcagacacct 180
 agacagggcc tggaatggat tggagctatt tatccaggaa atgggtgatac ttcctacaat 240
 10 cagaagttca agggcagggc cacactgact atagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
 cagctcagca gcctgacatc tgaagactct gcggtctatt tctgtgctaa ctggggcttt 360
 gagtactggg gtcaaggcac cactctctca gtctcctca 399

<210> 7
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 7

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

<210> 8
 <211> 133
 <212> PRT

ES 2 807 902 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

5

<400> 8

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

45

<210> 9

<211> 381

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

50

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 9

55	atggagtcac	agactcaggt	ctttgtattc	gtggtgctct	ggttgtctgg	tggagatgga	60
	gacattgtga	tgaccagtc	tcaaaaattc	atgtccacat	cactaggaga	cagggtcagc	120
60	atcacctgca	aggccagtca	gaatgtggga	atztatgttt	cctggtatca	acagaaacca	180
	gggaaatctc	ctaaagcact	aatttactgg	tcttcaaacc	ggttcactgg	agtccctgat	240
	cgtttcacag	gcagtgatc	tgggacagac	ttcactctca	ccatcaccga	tgtgcagtct	300

65

ES 2 807 902 T3

gaagacttgg cagattatatt ctgtgagcaa tatagcagcg atccgtatac gttcggatcg 360

gggaccaagc tggaaataaa a 381

5
 <210> 10
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

15
 atggaaagac actggatctt tctcttctctg ttgtcagtaa ctgcaggtgt ccaactcccag 60

gtccaactgc agcagctctgc ggctgaactg gcaagacctg gggcctcagt gaagatgtcc 120

20
 tgcaagactt ctggctacac cttcactagc gaccggatgc actgggtaat acagaggcct 180

ggacaggggc tggagtggat tggatacatt cttcctagaa atgtttatac taaatacaat 240

25
 aaaaagttca aggacaaggc cacattgact gcagacacat cctccagtat agcctacatc 300

caactgagca gcctgacatc tgaagactct gcagtctatt actgtgtaaa gtctgacggg 360

ggctactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctca 399

30
 <210> 11
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

40
 <400> 11

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

45
 Gly Gly Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser
 20 25 30

50
 Thr Ser Leu Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn
 35 40 45

55
 Val Gly Ile Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
 50 55 60

60
 Lys Ala Leu Ile Tyr Trp Ser Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp
 65 70 75 80

65
 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr
 85 90 95

ES 2 807 902 T3

Asp Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Glu Gln Tyr Ser
 100 105 110

5 Ser Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 12
 <211> 133
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

15 <400> 12

Met Glu Arg His Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

20 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Ala Ala Glu Leu Ala Arg
 20 25 30

25 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

30 Thr Ser Asp Arg Met His Trp Val Ile Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

35 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Leu Pro Arg Asn Val Tyr Thr Lys Tyr Asn
 65 70 75 80

40 Lys Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser
 85 90 95

45 Ile Ala Tyr Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

50 Tyr Tyr Cys Val Lys Ser Asp Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125

55 Leu Thr Val Ser Ser
 130

<210> 13
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 13

65

ES 2 807 902 T3

atggagtcac agactcaggt ctttgtattc gtgttgctct ggttgtctgg tggatgatga 60
 gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cactaggaga cagggtcagc 120
 5 atcacctgca aggccagtca gaatgtggga atttatgtat cctggtatca acagaaacca 180
 gggaaatctc ctaaagcact aatttattgg gcatcaaacc ggttcactgg agtccctgat 240
 10 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcaccaa tgtgcagtct 300
 gaagacttgg cagaatattt ctgtgaacaa tatagcagcg atccgtatac gttcggatcg 360
 gggaccaagc tagaaataaa a 381

15
 <210> 14
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 25
 <400> 14

atggaaaggc actggatctt tctcttctcg ttgtcagtaa ctgcaggtgt ccaactccag 60
 gtccaactgc agcagtctgc ggcctgaactg gtaagacctg ggcctcagt gaagatgtcc 120
 30 tgcaagactt ctggctacat cttcactagc gaccggatgc actgggtaaa acagaggcct 180
 ggacagggtc tggagtggat tggatacatt attcctagaa atttttatac taaatacaat 240
 35 cagaaattca aggacaaggc cacattgact gcagacacat cctccaatac agcctacatg 300
 cagttgagca gcctgacatc tgaagactct gcagtctatt actgtgtgaa atctgacggg 360
 gcctactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctca 399

40
 <210> 15
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 50
 <400> 15

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15
 55 Gly Gly Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser
 20 25 30
 60 Thr Ser Leu Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn
 35 40 45
 65 Val Gly Ile Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
 50 55 60

ES 2 807 902 T3

Lys Ala Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Asn Arg Phe Thr Gly Val Pro Asp
 65 70 75 80
 5 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr
 85 90 95
 10 Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Glu Gln Tyr Ser
 100 105 110
 15 Ser Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125
 <210> 16
 <211> 133
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 25 <400> 16
 Met Glu Arg His Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 30 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Ala Ala Glu Leu Val Arg
 20 25 30
 35 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Ile Phe
 35 40 45
 40 Thr Ser Asp Arg Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 45 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ile Pro Arg Asn Phe Tyr Thr Lys Tyr Asn
 65 70 75 80
 50 Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 55 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110
 60 Tyr Tyr Cys Val Lys Ser Asp Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125
 65 Leu Thr Val Ser Ser
 130
 <210> 17

ES 2 807 902 T3

<211> 393
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 17

10 atgaagttgc ctgtaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagtagtgat 60
 gttgtgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
 15 tcttgttggt ctagtcagag cctttagtagac agttatggaa acacctatctt acattggtat 180
 ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240
 ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
 20 agagtggagg ctgaggatct ggggaatttac ttttgctctc aaactacata tgttccgtat 360
 acgttcggat cggggaccaa gctggaaatg aaa 393

25 <210> 18
 <211> 420
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 18

35 atggaatgga cctgggtctt tctcttctc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccaactcccag 60
 gttcagctgc accagtctgg agctgagctg atgaagcctg gggcctcagt gaagatatcc 120
 40 tgcaaggcta ccggctacac atttagtagg tactggatag agtggataaa acagaggcct 180
 ggccatggcc ttgagtggat tggagagttt ctacctggaa gtggaaattc taactacaat 240
 gctaaattca agggcaaggc caccttcaact gcagcaacat cctccaacac agcctacatg 300
 45 caactcagca gtgtgacatc tgaagactct gccgtctatt tctgtgcaac ctggtacgat 360
 gttaactacc gctatcttat ggactattgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420

50 <210> 19
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 19

60 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

65

ES 2 807 902 T3

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

ES 2 807 902 T3

<210> 23
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 23

10

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

15

Ser Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30

20

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

25

Val Arg Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60

30

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80

35

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

40

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
 100 105 110

45

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
 115 120 125

Glu Ile Lys
 130

<210> 24
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

55

<400> 24

60

Met Glu Trp Thr Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

65

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Val Leu Met Lys
 20 25 30

ES 2 807 902 T3

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

5 Ile Arg Tyr Trp Ile Glu Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly His Gly Leu
 50 55 60

10 Asp Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ser Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

15 Glu Asn Phe Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95

20 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Gln Asp Ser Ala Val
 100 105 110

25 Tyr Tyr Cys Ala Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Met Asp
 115 120 125

30 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

30 <210> 25
 <211> 393
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 25

40 atgaagttgc ctgtaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagcagtgat 60
 attgtgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
 45 tcttgcaggt ctagtcagag ccttgtacgc agtaatggaa acacctattt acattggtac 180
 ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240
 ggggtccccg acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
 50 agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagtacaca tgttccgtat 360
 acgttcggat cggggaccaa gctggaaata aaa 393

55 <210> 26
 <211> 420
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 26

65

ES 2 807 902 T3

atggaatgga cctgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ccgcaggtgt ccaactcccag 60
 gttcagctgc agcagtctgg agctgtactg atgaagcctg ggcctcagt gaagatatcc 120
 5 tgcaaggcta ctggctacac attcattagg tactggatag agtgggtaaa gaagaggcct 180
 ggacatggcc ttgactggat tggagaaatt ttacctggaa gtggaagttc taactacaat 240
 10 gagaacttca aggtcaaggc cactttcact gtagatactt cctccaacac agcctacatg 300
 caactcaaca gcctgacatc tcaggactct gccgtctatt actgtgcaat ttggtacgat 360
 ggtaattacc gctctcttat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420

15

<210> 27

<211> 131

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

25 <400> 27

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

30

Ser Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30

35

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

40

Val Arg Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60

45

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80

50

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

55

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
 100 105 110

60

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
 115 120 125

65 <210> 28

Glu Ile Lys
 130

ES 2 807 902 T3

<211> 140
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 28

10 Met Glu Trp Thr Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

15 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Val Leu Met Lys
 20 25 30

20 Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

25 Ile Arg Tyr Trp Ile Glu Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly His Gly Leu
 50 55 60

30 Asp Trp Ile Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Ser Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

35 Glu Asn Phe Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95

40 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Gln Asp Ser Ala Val
 100 105 110

45 Tyr Tyr Cys Ala Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Met Asp
 115 120 125

50 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 29
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 29

60

65

ES 2 807 902 T3

atgagtgtgc ccaactcaggt cctggcattg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
 gatatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 120
 5 atcacatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatntag catggtatca gcagaaacag 180
 ggaaaatctc ctcaagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcgggaagg tgtgccatca 240
 10 aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct 300
 gaggattttg ggacttatta ctgtcttcat tattacaata ttccgctcac gttcgggtgct 360
 15 gggaccacgc tggagctgaa a 381

<210> 30
 <211> 414
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

25 <400> 30

atgagagtgc tgattctttt gtggctgttc acagcctttc ctggtttcct gtctgatgtg 60
 cagcttcagg agtcaggacc tggcctggty aaaccttctc agtctctgtc cgtcacctgc 120
 30 actgtcactg gctactccat catcagtggc tattactgga actggatccg gcagtttcca 180
 ggaaacaaac tggagtggct gggctccata cacaacagtg gtcgcactaa ctacaatcca 240
 35 tctctcaaaa gtcgaatctc tatcagtoga gacacatcca agaaccaatt cttcctgcag 300
 ctggattctg tgactactga ggacacagcc acatattact gtcacttggg ggacgatggc 360
 40 acctactctg ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 414

<210> 31
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

50 <400> 31

55

60

65

ES 2 807 902 T3

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15
 5 Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
 20 25 30
 10 Ala Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn
 35 40 45
 15 Ile His Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
 50 55 60
 20 Gln Leu Leu Val Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80
 25 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn
 85 90 95
 30 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Leu His Tyr Tyr
 100 105 110
 35 Asn Ile Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Thr Leu Glu Leu Lys
 115 120 125
 40 <210> 32
 <211> 138
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 50 <400> 32
 55
 60
 65

ES 2 807 902 T3

1 Met Arg Val Leu Ile Leu Leu Trp Leu Phe Thr Ala Phe Pro Gly Phe
 5 Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
 10 Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Ile
 15 Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu
 20 Glu Trp Leu Gly Ser Ile His Asn Ser Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Pro
 25 Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 30 Phe Phe Leu Gln Leu Asp Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
 35 Tyr Cys His Leu Gly Asp Asp Gly Thr Tyr Ser Ala Met Asp Tyr Trp
 40 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 45

<210> 33
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 33

atgaggacc ctgctcagtt tcttggaaac ttggttgctct ggtttccagg tatcaagtgt 60
 50 gacatcaaga tgaccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 120
 atctcttgca aggcgagtc ggacattaat cgctatttaa gctggttcct gcagaaacca 180
 55 gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt acaaacagat tagtagatgg ggtcccatca 240
 aggttcagtg gcagtgatc tggacaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 300
 gaagatttgg gaatttatta ttgtctacat tatgctgagt ttcctcccac gttcgggtgct 360
 60 gggactaagc tggagctgaa a 381

<210> 34
 <211> 414
 <212> ADN

ES 2 807 902 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

5

<400> 34

	atgtacttgg gactgaactg tgtattcata gtttttctct taaaagggtg ccagagtgaa	60
10	gtgaaacttg aggagtctgg aggaggcttg gtacaacctg gaggatccat gaaactctcc	120
	tgtgttgcct ctggattcat tttcagtaac tactggatgg actggatccg ccagtctcca	180
15	gagaagggac ttgagtgggt tgctcaaatt agattgagat ctaataatta tgcgacacat	240
	tatgcgagat ctttgaaagg gaggttcacc atctcaagag atgattccaa aagtactgtc	300
20	tacctgcaaa tgaacagttt aagaactgaa gactctggca tttattactg tacgaggact	360
	atgattacga caccagcta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca	414

<210> 35

<211> 127

25

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

30

<400> 35

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

ES 2 807 902 T3

<210> 36
 <211> 138
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 36

10

Met Tyr Leu Gly Leu Asn Cys Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Lys Gly
 1 5 10 15

15

Val Gln Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30

20

Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe
 35 40 45

25

Ser Asn Tyr Trp Met Asp Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
 50 55 60

30

Glu Trp Val Ala Gln Ile Arg Leu Arg Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His
 65 70 75 80

35

Tyr Ala Glu Ser Leu Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

40

Lys Ser Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Ser
 100 105 110

45

Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Arg Thr Met Ile Thr Thr Pro Ser Tyr Trp
 115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 37
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

55

<400> 37

60

65

ES 2 807 902 T3

atgagtggtgc ccaactcaggt cctggcattg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
gatatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 120
5 atcacatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatttag catggtatca gcagaaacag 180
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat acaaaatcct tggcgggaagg tgtgccatca 240
10 aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatctacag cctgcagcct 300
gcggattttg gggcttatta ctgtcttcat tattataata ctccgctcac tttcggtgct 360
gggaccaagc tagagctgag a 381

15
<210> 38
<211> 414
<212> ADN
20 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Secuencia de Anticuerpo

25 <400> 38
atgagagtgc tgattctttt gtggctgttc acagcctttc ctggtatcct gtctgatgtg 60
30 cagcttcagg agtcaggacc tggcctgggtg aaaccttctc agtctctgtc cgtcacctgc 120
actgtcactg gcttctccat caccagtgggt tattactgga actggatccg gcagtttcca 180
ggaaacaaac tggagtggat gggctacata cacaacagtg gtcgcactaa ctacaatcca 240
35 tctctcaaaa gtcgaatctc tctactcga gacacatcca aaaaccagtt cttcctgcag 300
ttgagttctg tgactaatgc ggacacagcc acatattact gtcacttggg ggacgatgggt 360
40 acctcctatg ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 414

<210> 39
<211> 127
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Secuencia de Anticuerpo

50 <400> 39
Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15
55 Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser

60
65

ES 2 807 902 T3

Tyr Cys His Leu Gly Asp Asp Gly Thr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 115 120 125

5 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135

10 <210> 41
 <211> 384
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 41

20 atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt catactgtcc 60
 agaggacaaa ttgtttctcac ccagttctcca gcaatcatgt ctgcatctct gggggaggag 120
 atcaccctaa cctgcagtgcc cagctcgagt gtaaattaca tgcactggta ccagcagaag 180
 25 tcaggcactt ctcccaaact cttgatttat agcacatcca acctggcttc tggagtcctt 240
 tctcgcttca gtggcagtggt gtctgggacc ttttattctc tcacaatcag cagtgtggag 300
 30 gctgaagatg ctgccgatta ttactgccat cagtggagta gttatccgta cacgttcgga 360
 ggggggacca agctggaaat aaaa 384

35 <210> 42
 <211> 408
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 42

45 atggaatgga gttggatatt tctctttctc ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccaactctgag 60
 gtccagttgc agcagttctgg acctgagctg gtaaagcctg gggcttcagt gaagatgtcc 120
 tgcaaggctt ctggatacac attcactaac tatgttattt actgggtgaa gcagaagcct 180
 50 gggcagggcc ttgagtgatg ttgatataatt aatccttaca atgatggtac taagtacaat 240
 gagaagttca aaggcaaggc cacactgact gcagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
 55 gagctcagta gcctgacctc tgaggactct gcggctctatt actgtgcctg taacttcctc 360
 tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcctca 408

60 <210> 43
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

ES 2 807 902 T3

<400> 43

5 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

10 Val Ile Leu Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
20 25 30

15 Met Ser Ala Ser Leu Gly Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser
35 40 45

20 Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
50 55 60

25 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

30 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile
85 90 95

35 Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp
100 105 110

40 Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 44

<211> 136

<212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de Anticuerpo

45 <400> 44

50 Met Glu Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
1 5 10 15

55 Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
20 25 30

60 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

65 Thr Asn Tyr Val Ile Tyr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

ES 2 807 902 T3

	Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn	
	65	70 75 80
5	Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser	
		85 90 95
10	Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val	
		100 105 110
15	Tyr Tyr Cys Ala Cys Asn Phe Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln	
		115 120 125
20	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser	
		130 135
	<210> 45	
	<211> 381	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
25	<220>	
	<223> Secuencia de Anticuerpo	
	<400> 45	
30	atggagtcac agattcaggc atttgtattc gtgtttctct ggttgtctgg tgttgacgga	60
	gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc	120
35	atcacctgca aggccagtc ggatgtgaat actgctgtag cctggtatca aaaaaatta	180
	ggacaatctc ctaaactgct gatttattgg gcatccacc ggcacactgg agtccctgat	240
40	cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat tatactctca ccatcagcag tgtgcaggct	300
	gaagacctgg cactttatta ctgtcagcaa cattatagca ctccgtacac gttcggaggg	360
	gggaccaagc tggaaataaa a	381
45	<210> 46	
	<211> 411	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
50	<220>	
	<223> Secuencia de Anticuerpo	
	<400> 46	
55	atgggatgga gctatatcat cctctttttg gtagcaacag ctacagatgt ccaactcccag	60
	gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgacgcctg gggcttcagt gaagctgtcc	120
60	tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa gcagaggcct	180
	ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctggca acggtcgtac taactacaat	240
65	gataatttca tgatcagggc cacactgact gtggacaaat cctccagcac agcctacatg	300

caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aagcctctac 360

ggtagcctct ttgcttctg gggccaaggg actctgggtca ctgtctctgc a 411

5 <210> 47
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 47

15 Met Glu Ser Gln Ile Gln Ala Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

20 Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser
 20 25 30

25 Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
 35 40 45

30 Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Leu Gly Gln Ser Pro
 50 55 60

35 Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp
 65 70 75 80

40 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

45 Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr
 100 105 110

50 Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 48
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 48

60 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Asp
 1 5 10 15

65 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Thr
 20 25 30

ES 2 807 902 T3

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

5 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

10 Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

15 Asp Asn Phe Met Ile Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

20 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

25 Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Leu Tyr Gly Thr Leu Phe Ala Ser Trp Gly
 115 120 125

30 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 130 135

<210> 49
 <211> 393
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 49

atggagacag acacactcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ttccactggt 60
 gacattgtac tgacacagtc tcctgtttcc ttaactatct ctctgggcca gagggccacc 120
 atctcatgca gggccagcca aagtgtcagt gcatctagct atagttatat gcaactggtac 180
 caacagaaag caggacagcc acccaaactc ctcatcaagt atgcatccaa cctagaatct 240
 ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 300
 cctgtggagg agggcgatc tgcaacatac tactgtcaac acaattggga ggttcctccg 360
 acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aag 393

<210> 50
 <211> 423
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 <400> 50

65

ES 2 807 902 T3

atggactcca ggctcaattt agttttcctt gtccttgttt taaaagggtg ccagtgtgat 60
 gtgcagttgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gaggggcccg gaaactctcc 120
 5 tgtgcagcct ctggattcac gttcagtagc tttggaatgc actgggttcg tcaggctcca 180
 gagaaggggc tggaatgggt cgcatatatt agtagtgcca gtagtaccat ctactataga 240
 10 gacacagtga agggccgatt caccatctcc agagacaatc ccaagaacac cctgttcctg 300
 caaatgacca gtctaaggtc tgaggacacg gccatgtatt actgtgcaag agggggggta 360
 15 gtagtttcga aagatggaaa ctttgactac tggggccaag gcaccactct cgcagtctcc 420
 tca 423

<210> 51
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 25 <400> 51

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

<210> 52

ES 2 807 902 T3

<211> 141
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 52

10 Met Asp Ser Arg Leu Asn Leu Val Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
 1 5 10 15

15 Val Gln Cys Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20

20 Pro Gly Gly Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

25 Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu
 50 55 60

30 Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Arg
 65 70 75 80

35 Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn
 85 90 95

40 Thr Leu Phe Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

45 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Val Val Val Ser Lys Asp Gly Asn Phe
 115 120 125

50 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Ala Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 53
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

<400> 53

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggycct ctggtgctct gttttcaagg taccagatgt 60

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 120

aycagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 180

gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaagtt tacactcagg agtcccatca 240

65

ES 2 807 902 T3

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 300
 gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tatagtaagc ttccgtacac gttcggaggg 360
 5 gggaccaaac tggaataaa a 381

<210> 54
 <211> 399
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

15 <400> 54

atggaaaggc actggatctt tctcttctctg ttgtcagtaa ctgcaggtgt ccaactccag 60
 20 gtccaactgc agcagctctgc ggctgaactg gtaagacctg gggcctcagt gaagatgtcc 120
 tgcaagactt ctggctacat cttcactagc gaccggatgc actgggtaaa acagaggcct 180
 ggacaggggc tggagtggat tggatacatt attcctagaa atttttatac taaatacaat 240
 25 cagaaattca aggacaaggc cacattgact gcagacacat cctccaatac agcctacatg 300
 cagttgagca gcctgacatc tgaagactct gcagtctatt actgtgtgaa atctgacggg 360
 30 gcctactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctctctca 399

<210> 55
 <211> 127
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo

40 <220>
 <221> característica miscelánea
 <222> (41)..(41)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

45 <400> 55

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15
 50 Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
 20 25 30
 55 Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Xaa Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly
 35 40 45
 60 Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50 55 60

65

ES 2 807 902 T3

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80
 5 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
 85 90 95
 10 Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser
 100 105 110
 15 Lys Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125
 <210> 56
 <211> 133
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de Anticuerpo
 25 <400> 56
 Met Glu Arg His Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15
 30 Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Ala Ala Glu Leu Val Arg
 20 25 30
 35 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Ile Phe
 35 40 45
 40 Thr Ser Asp Arg Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 45 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ile Pro Arg Asn Phe Tyr Thr Lys Tyr Asn
 65 70 75 80
 50 Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 55 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Val Lys Ser Asp Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125
 60 Leu Thr Val Ser Ser
 130
 65

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o un fragmento de unión del mismo, que se une a olanzapina y que se selecciona del grupo que consiste de:

- 5 i) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende:
- 10 a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 11;
- 15 b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 11;
- 20 c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 11;
- d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 12;
- e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 12; y
- f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 12; o

25 ii) un anticuerpo aislado o un fragmento del mismo que comprende:

- 30 a) la secuencia de la CDR1 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 44 a 54 de la SEQ ID NO: 15;
- 35 b) la secuencia de la CDR2 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 70 a 76 de la SEQ ID NO: 15;
- c) la secuencia de la CDR3 de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos 109 a 117 de la SEQ ID NO: 15;
- d) la secuencia de la CDR1 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 45 a 54 de la SEQ ID NO: 16;
- e) la secuencia de la CDR2 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 69 a 85 de la SEQ ID NO: 16; y
- f) la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 118 a 122 de la SEQ ID NO: 16.

40 2. El anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 1.i) que comprende una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12.

45 3. El anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 1.ii) que comprende una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

50 4. El anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el fragmento de unión se selecciona del grupo de fragmentos que consiste de fragmentos Fv, F(ab'), F(ab')₂, scFv, minicuerpo o diacuerpo.

55 5. Un kit de ensayo que comprende el anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

60 6. Un dispositivo de ensayo que comprende el anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, como en donde el dispositivo es un dispositivo de ensayo de flujo lateral.

65 7. Un método para detectar olanzapina en una muestra, el método comprendiendo:

- i) poner en contacto una muestra con el anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 marcado con un marcador detectable, en donde el anticuerpo aislado marcado o fragmento de unión del mismo y la olanzapina presentes en la muestra forman un complejo marcado; y
- (ii) detectar el complejo marcado para detectar olanzapina en la muestra.

8. Un método de inmunoensayo competitivo para detectar olanzapina en una muestra, el método comprendiendo:

- (i) poner en contacto una muestra con un anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, y con olanzapina o un compañero de unión competitiva de la olanzapina, en donde uno del anticuerpo aislado o fragmento de unión del mismo y la olanzapina o compañero de unión

competitiva de la misma está marcado con un marcador detectable, y en donde la muestra de olanzapina compete con la olanzapina o el compañero de unión competitiva de la misma para unirse al anticuerpo; y (ii) detectar el marcador para detectar la muestra de olanzapina.

5 **9.** El método de la reivindicación 8, en donde la olanzapina o el compañero de unión competitiva de la misma está marcado con el marcador detectable; o en donde el anticuerpo aislado o el fragmento de unión del mismo está marcado con un marcador detectable; o en donde el inmunoensayo se realiza en un dispositivo de ensayo de flujo lateral y la muestra se aplica al dispositivo.

10 **10.** El método de la reivindicación 7 u 8, que comprende además detectar la presencia de uno o más analitos además de la olanzapina.

15 **11.** El método de la reivindicación 10, en donde el uno o más analitos son fármacos antipsicóticos distintos de la olanzapina.

12. El método de la reivindicación 11, en donde los fármacos antipsicóticos distintos de la olanzapina se seleccionan del grupo que consiste de: risperidona, paliperidona, quetiapina, aripiprazol, y metabolitos de los mismos.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

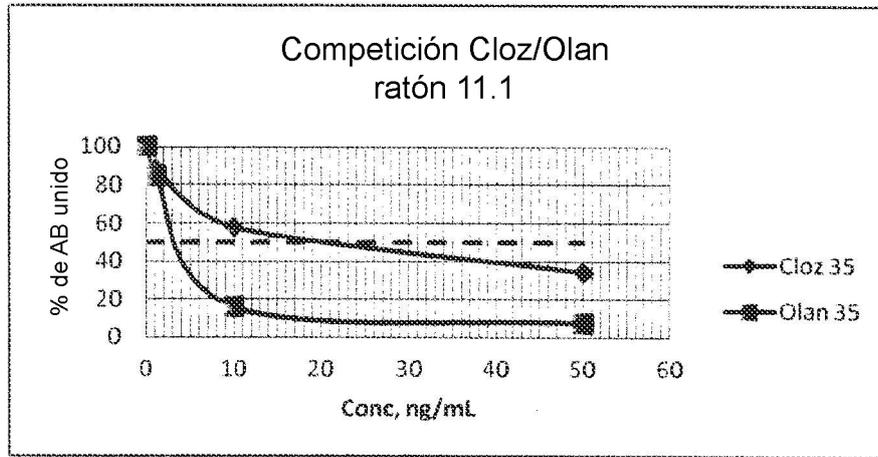


Fig. 2

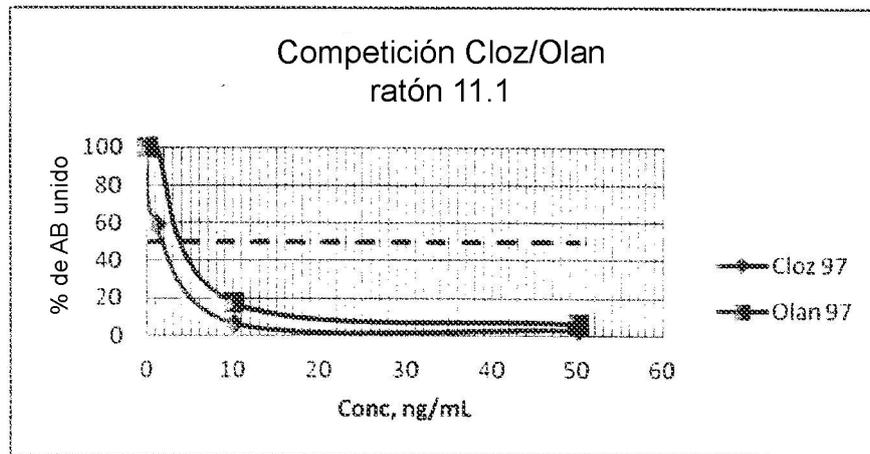


Fig. 3

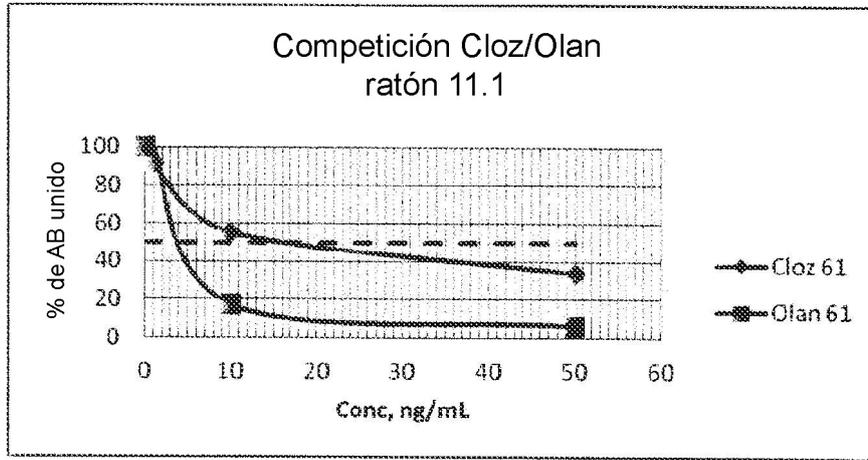


Fig. 4

Formatos Competitivos: Ab Abajo

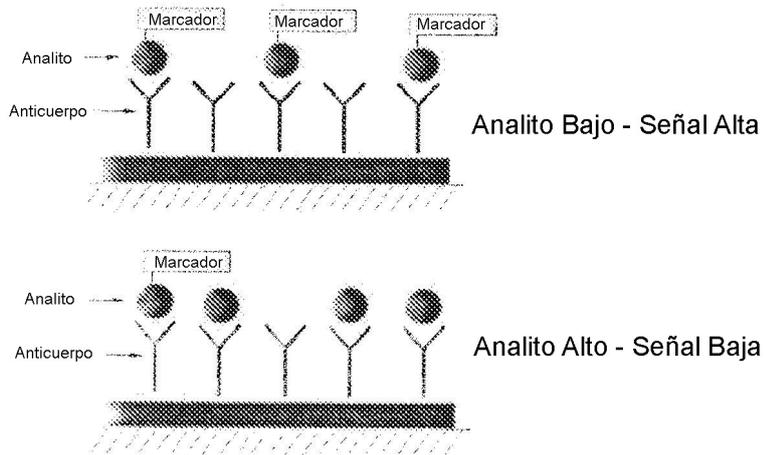


Fig. 5

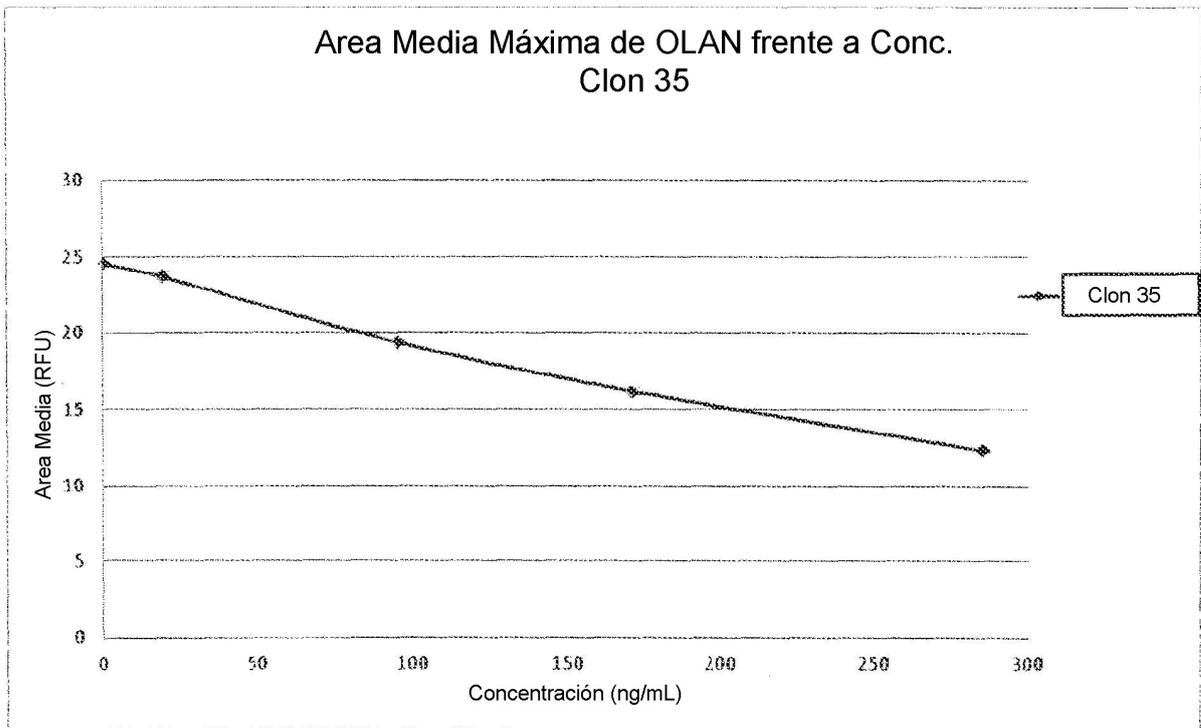


Fig. 6

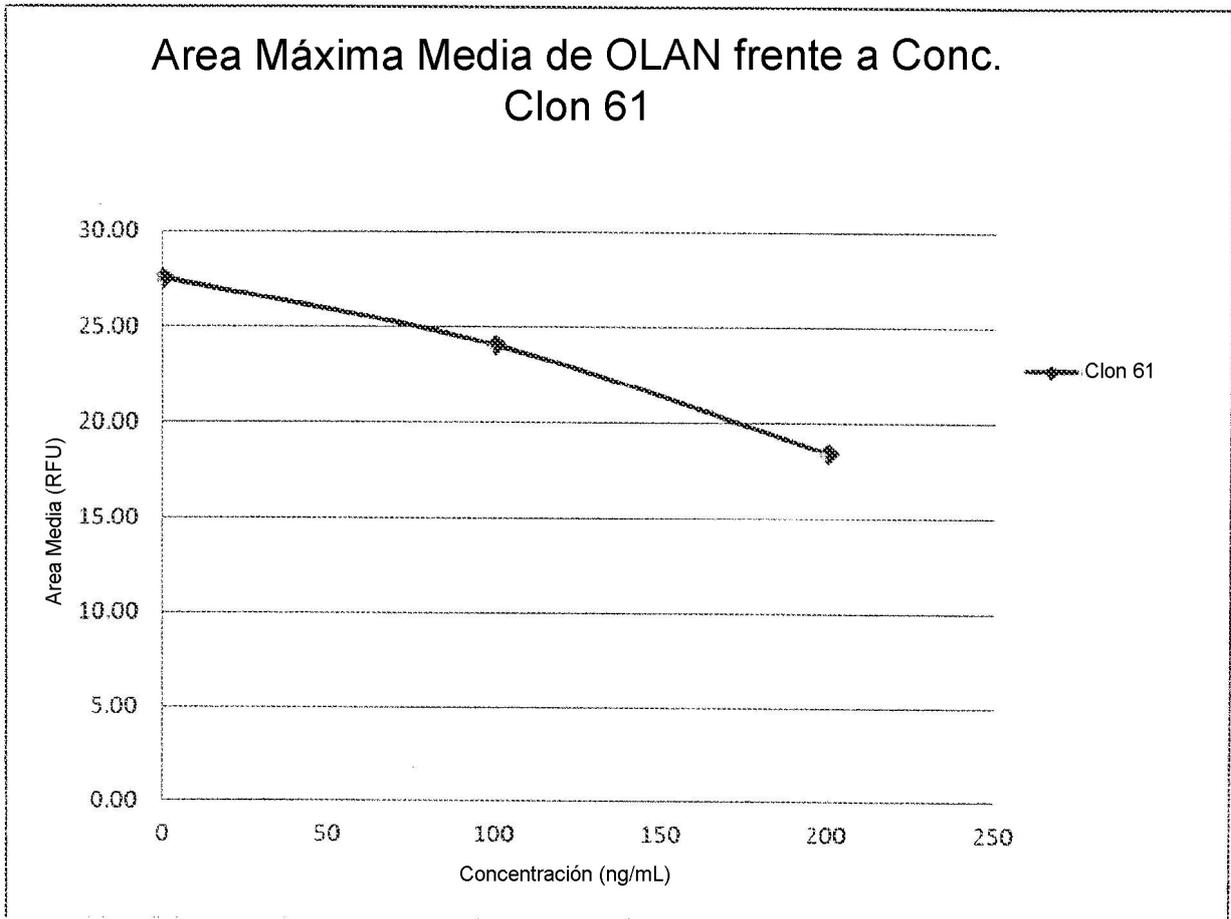


Fig. 7

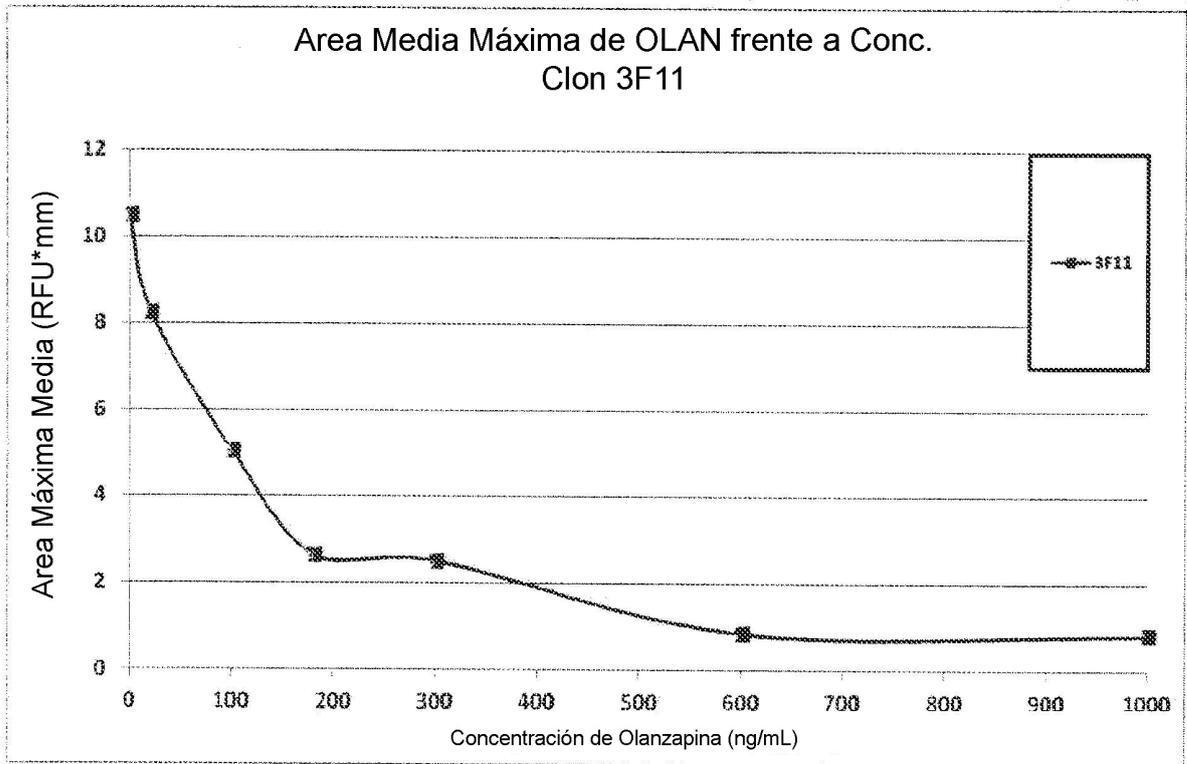


Fig. 8

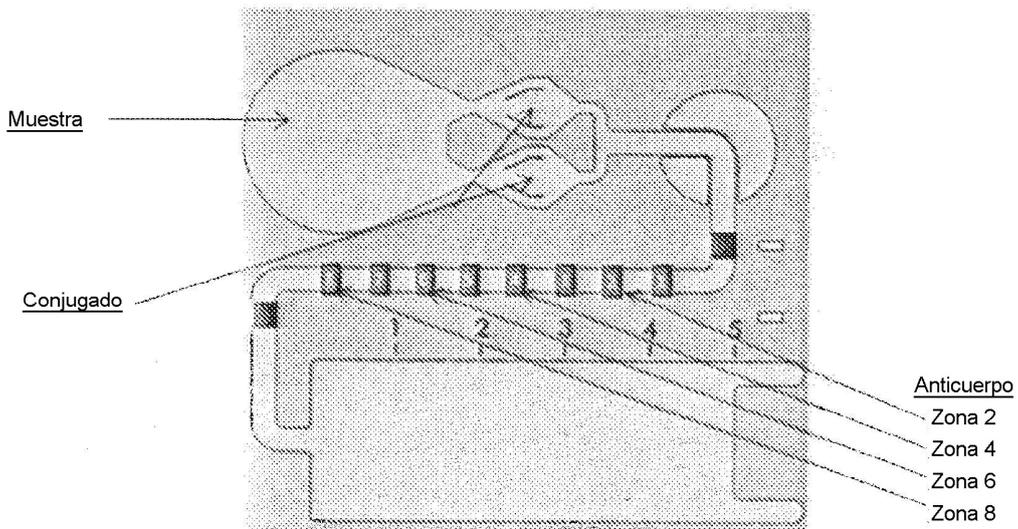


Fig. 9

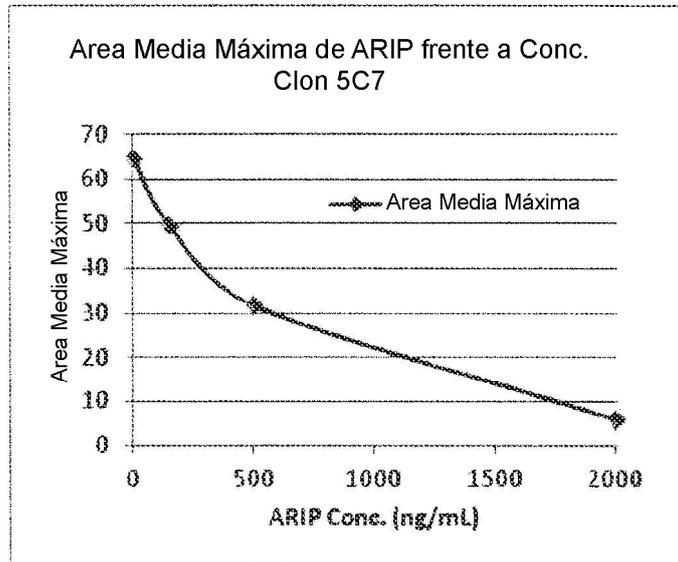


Fig. 10

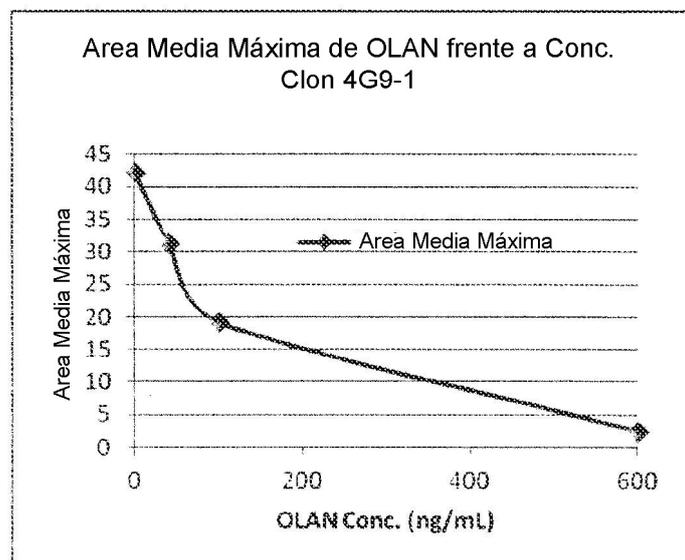


Fig. 11

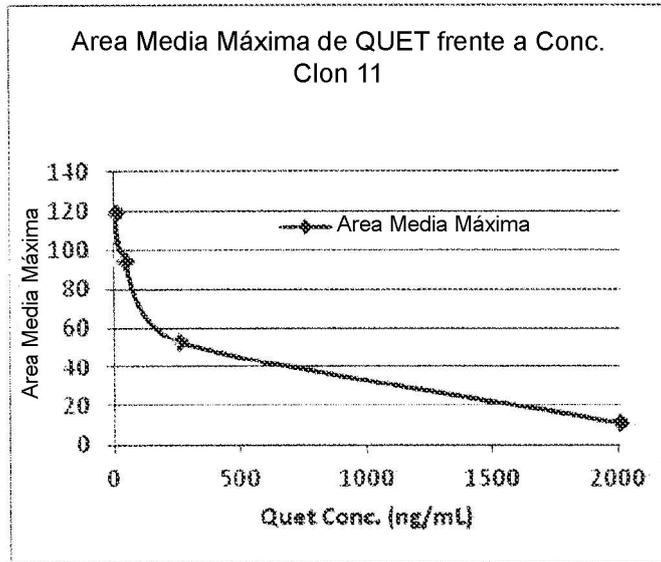


Fig. 12

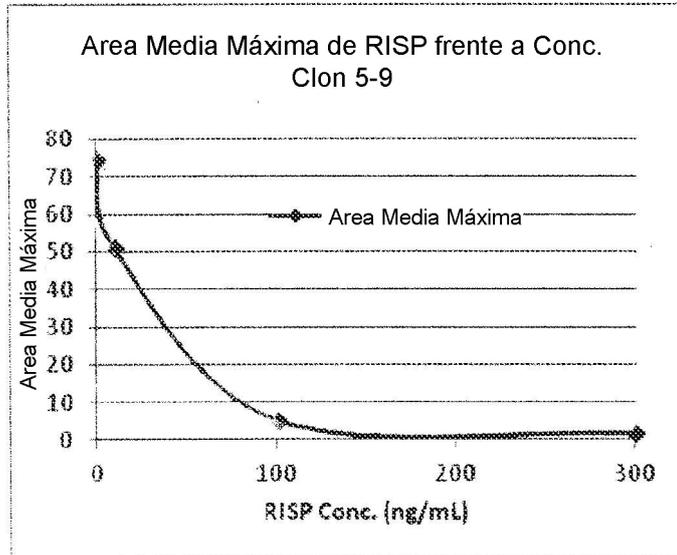


Fig. 13

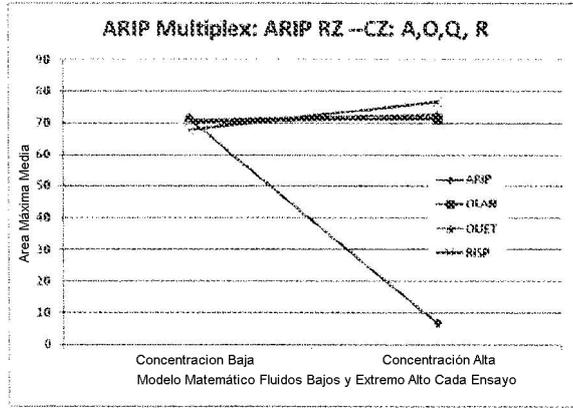


Fig. 14

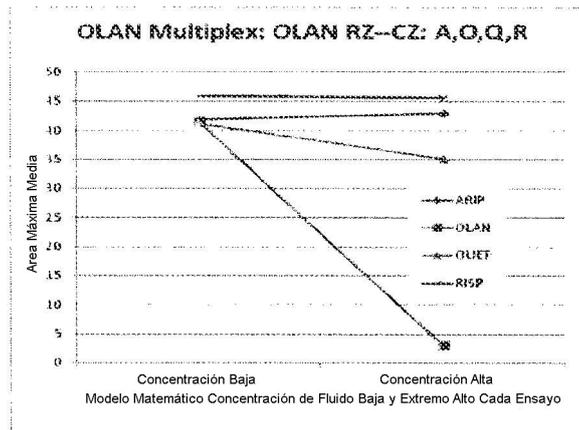


Fig. 15

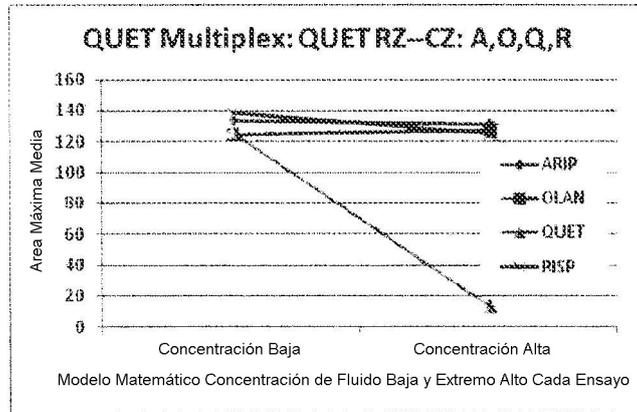


Fig. 16

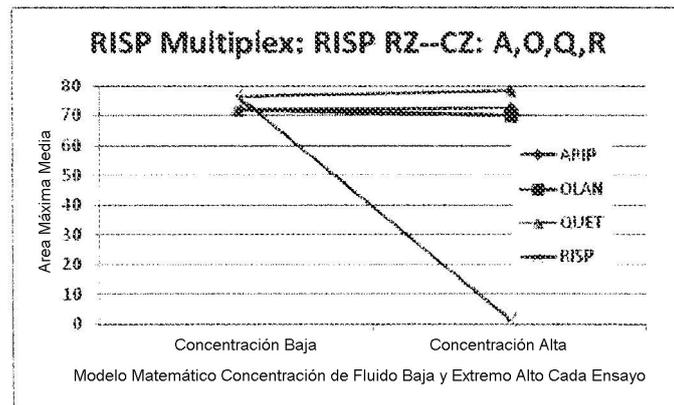


Fig. 17

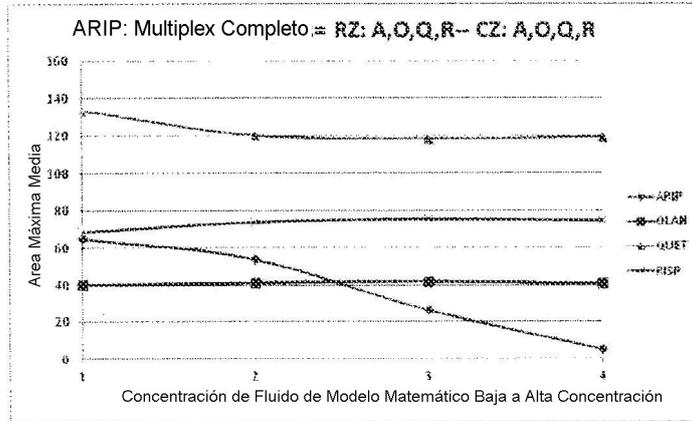


Fig. 18

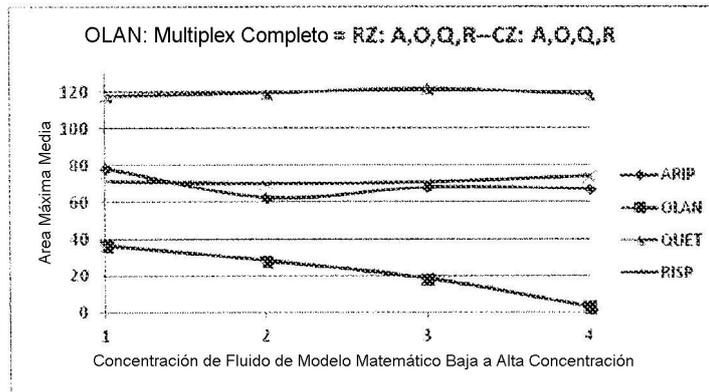


Fig. 19

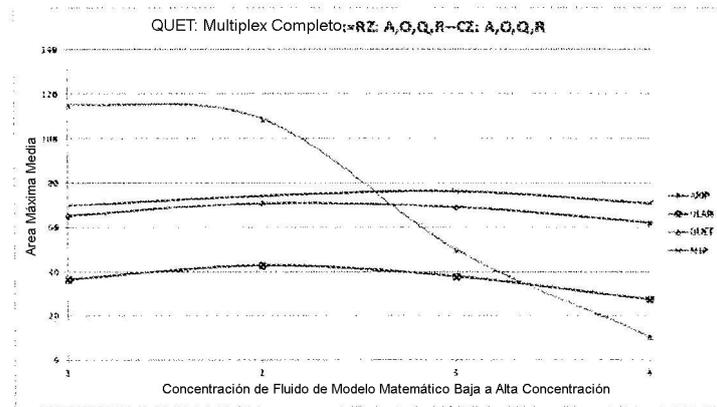


Fig. 20

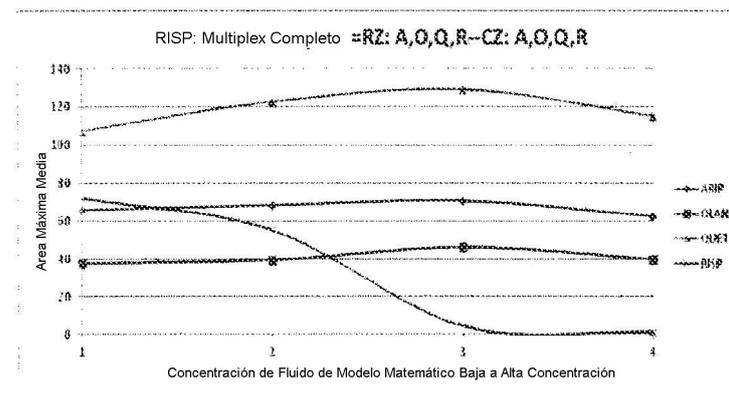


Fig. 21

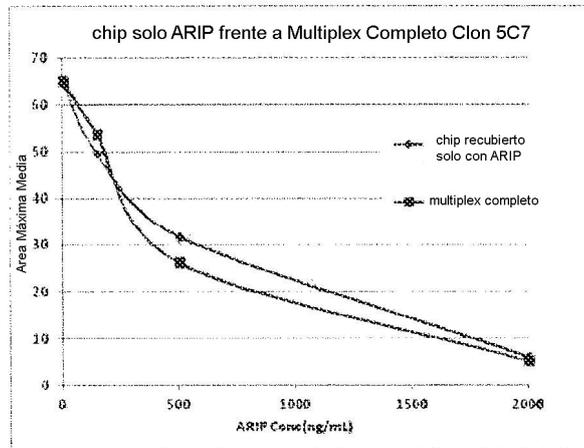


Fig. 22

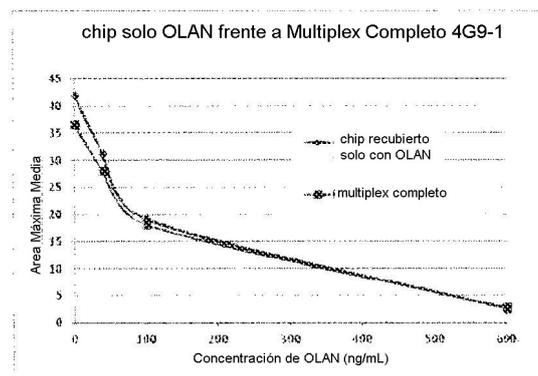


Fig. 23

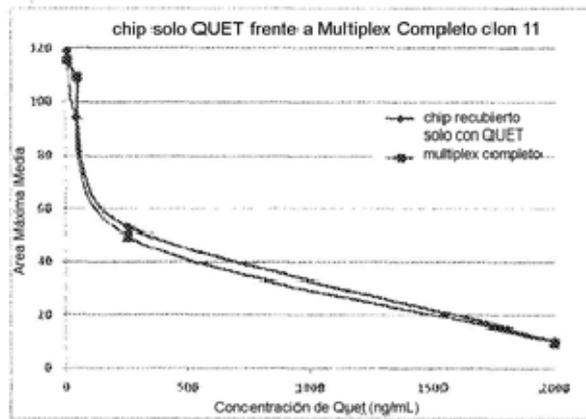


Fig. 24

