

REIVINDICACIONES

1. Un método para detectar transtiretina (TTR) mal plegada en una muestra biológica, comprendiendo el método:

- (a) poner en contacto una muestra biológica con un anticuerpo de captura 9D5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 75, CDR-H2 de SEQ ID NO: 76 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 77, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 78, CDR-L2 de SEQ ID NO: 79 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 80, y se une específicamente a un epítipo dentro de los residuos 89-97 de TTR, y un anticuerpo reportero que se une específicamente a un epítipo diferente de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada formando un complejo sándwich; y
- (b) detectar el anticuerpo reportero que forma un complejo sándwich en la etapa (a), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada;

en donde dicho anticuerpo reportero se selecciona del grupo que consiste en:

- un anticuerpo 18C5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 5, CDR-H2 de SEQ ID NO: 7 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 9, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 11, CDR-L2 de SEQ ID NO: 13 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 15,
- un anticuerpo 8C3,
- un anticuerpo 7G7,

- un anticuerpo AD7F6 que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 59,
 - un anticuerpo RT24 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 60, CDR-H2 de SEQ ID NO: 61 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 62, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 63, CDR-L2 de SEQ ID NO: 64 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 65,
 - un anticuerpo NI-301.35G11 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 66, CDR-H2 de SEQ ID NO: 67 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 68, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 69, CDR-L2 de SEQ ID NO: 70 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 71,
 - un anticuerpo MFD101,
 - un anticuerpo MDF102,
 - un anticuerpo MFD103,
 - un anticuerpo MFD105,
 - un anticuerpo MFD107,
 - un anticuerpo MFD108,
 - un anticuerpo MFD109,
 - un anticuerpo MFD111,
 - un anticuerpo MFD114, y
 - una versión quimérica o una versión humanizada de los mismos o un anticuerpo anti-TTR policlonal.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la muestra biológica es de un paciente con ATTR hereditaria.
3. El método de la reivindicación 2, en donde la muestra biológica es de un paciente con ATTR hereditaria que presenta una mutación seleccionada del grupo que consiste en V30M, Y114C, G47R, S50I, T49S, F33V, A45T, E89K, E89Q, y V122I.

4. El método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo reportero es un anticuerpo anti-TTR policlonal.
5. El método de las reivindicaciones 1-4, en donde el anticuerpo reportero es un anticuerpo que se une dentro de los residuos 101-109, 118-122, 115-124, 53-63, 54-61, 36-49, 49-61, 109-121, 30-66, 70-127, 80-127, 90-127, 100-127, 110-127, o 115-127 de TTR.
6. El método de cualquier reivindicación precedente, en donde la TTR mal plegada incluye una sustitución E89K o una sustitución E89Q.
7. El método de las reivindicaciones 1-6, en donde la muestra biológica es una primera alícuota de una muestra recolectada y el método comprende además repetir la etapa (a) y (b) en una segunda alícuota de la muestra recolectada que además comprende un anticuerpo de ensayo 14G8 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 39, CDR-H2 de SEQ ID NO: 40 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 41, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 42, CDR-L2 de SEQ ID NO: 43 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 44, o una forma quimérica o humanizada del mismo, y que compete con el anticuerpo de captura por la unión a TTR, en donde la detección de una cantidad reducida de anticuerpo reportero que está formando un complejo sándwich al repetir las etapas provee una indicación de la capacidad del anticuerpo de ensayo de unirse a TTR mal plegada.
8. El método de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo de captura es un anticuerpo 9D5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 75, CDR-H2 de SEQ ID NO: 76 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 77, y las CDRs de

cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 78, CDR-L2 de SEQ ID NO: 79 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 80, y el anticuerpo reportero es un anticuerpo anti TTR policlonal.

9. Un método para determinar una proporción del nivel de transtiretina (TTR) mal plegada multimérica total en relación con el nivel de TTR mal plegada total en una muestra biológica; comprendiendo el método:

- (a)** dividir una muestra biológica en dos porciones;
- (b)** detectar la TTR mal plegada total en una primera porción de la muestra biológica mediante
 - (i)** poner en contacto la primera porción de la muestra biológica con un anticuerpo de captura que se une específicamente a un epítipo dentro de los residuos 89-97 de TTR y un anticuerpo reportero que se une específicamente a un epítipo diferente de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada formando un complejo sándwich; y
 - (ii)** detectar el anticuerpo reportero que forma un complejo sándwich en la etapa (b)(i), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada.
- (c)** detectar la TTR mal plegada multimérica total en una segunda porción de la muestra biológica mediante
 - (i)** poner en contacto la segunda porción de la muestra biológica con un anticuerpo de captura que se une específicamente a un epítipo dentro de los residuos 89-97 de TTR y un anticuerpo reportero que se une

específicamente dentro de los residuos 89-97 de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada multimérica en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada multimérica formando un complejo sándwich; y

(ii) detectar el anticuerpo reportero que forma un complejo sándwich en la etapa (c)(i), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada multimérica;

(d) calcular una proporción del nivel de TTR mal plegada multimérica total de (c) en relación con el nivel de TTR mal plegada total de (b).

10. Un método para detectar transtiretina (TTR) mal plegada en una muestra biológica, comprendiendo el método:

(a) poner en contacto una muestra biológica con un anticuerpo de captura 18C5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 5, CDR-H2 de SEQ ID NO: 7 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 9, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 11, CDR-L2 de SEQ ID NO: 13 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 15, y se une específicamente a un epítipo dentro de los residuos 101-109 de TTR y un anticuerpo reportero que se une específicamente a un epítipo diferente de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada formando un complejo sándwich; y

(b) detectar el anticuerpo reportero que se une a la TTR mal plegada en la etapa (a), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada.

en donde el anticuerpo reportero se selecciona del grupo que consiste en:

- un anticuerpo 9D5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID N0: 75, CDR-H2 de SEQ ID N0: 76 y CDR-H3 de SEQ ID N0: 77, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID N0: 78, CDR-L2 de SEQ ID N0: 79 y CDR-L3 de SEQ ID N0: 80,
- un anticuerpo 14G8 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID N0:39, CDR-H2 de SEQ ID N0: 40 y CDR-H3 de SEQ ID N0: 41, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID N0: 42, CDR-L2 de SEQ ID N0: 43 y CDR-L3 de SEQ ID N0: 44,
- un anticuerpo 5A1 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID N0: 46, CDR-H2 de SEQ ID N0: 47 y CDR-H3 de SEQ ID N0: 48, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID N0: 49, CDR-L2 de SEQ ID N0: 50 y CDR-L3 de SEQ ID N0: 51,
- un anticuerpo 6C1 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID N0: 52, CDR-H2 de SEQ ID N0: 53 y CDR-H3 de SEQ ID N0: 54, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID N0: 55, CDR-L2 de SEQ ID N0: 56 y CDR-L3 de SEQ ID N0: 57,
- un anticuerpo 8C3,
- un anticuerpo 7G7,
- un anticuerpo AD7F6 que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID N0: 58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID N0: 59,
- un anticuerpo RT24 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID N0: 60, CDR-H2 de SEQ ID N0: 61 y CDR-H3 de SEQ ID N0: 62, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID N0: 63, CDR-L2 de SEQ ID N0: 64 y CDR-L3 de SEQ ID N0: 65,

- un anticuerpo NI-301.35G11 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 66, CDR-H2 de SEQ ID NO: 67 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 68, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 69, CDR-L2 de SEQ ID NO: 70 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 71,
 - un anticuerpo MFD101,
 - un anticuerpo MDF102,
 - un anticuerpo MFD103,
 - un anticuerpo MFD105,
 - un anticuerpo MFD107,
 - un anticuerpo MFD108,
 - un anticuerpo MFD109,
 - un anticuerpo MFD111,
 - un anticuerpo MFD114, y
- una versión quimérica o una versión humanizada de los mismos.
- 11.** El método de la reivindicación 10, en donde la muestra biológica es de un paciente con ATTR hereditaria.
- 12.** El método de la reivindicación 11, en donde la muestra biológica es de un paciente con ATTR hereditaria que presenta una mutación seleccionada del grupo que consiste en V30M, Y114C, y S50I.
- 13.** El método de la reivindicación 10 en donde el anticuerpo reportero es un anticuerpo anti-TTR policlonal.
- 14.** El método de una cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en donde el anticuerpo reportero es un anticuerpo que se une dentro de los residuos 89-97, 118-122, 115-124, 53-63, 54-61, 36-49, 49-61, 109-121, 30-66, 70-

127, 80-127, 90-127, 100-127, 110-127, o 115-127 de TTR.

15. Un método para determinar una proporción del nivel de transtiretina (TTR) mal plegada multimérica total en relación con el nivel de TTR mal plegada total en una muestra biológica; comprendiendo el método:

- (a)** dividir una muestra biológica en dos porciones;
- (b)** detectar la TTR mal plegada total en una primera porción de la muestra biológica mediante
 - (i)** poner en contacto la primera porción de la muestra biológica con un anticuerpo de captura que se une específicamente a un epítotope dentro de los residuos 101-109 de TTR y un anticuerpo reportero que se une específicamente a un epítotope diferente de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada formando un complejo sándwich; y
 - (ii)** detectar el anticuerpo reportero unido a la TTR mal plegada en la etapa (i), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada;
- (c)** detectar la TTR mal plegada multimérica total en una segunda porción de la muestra biológica mediante
 - (i)** poner en contacto la segunda porción de la muestra biológica con un anticuerpo de captura que se une específicamente a un epítotope dentro de los residuos 101-109 y un anticuerpo reportero que se une específicamente a un epítotope dentro de los

residuos 101-109 de TTR; en donde si está presente TTR mal plegada multimérica en la muestra, el anticuerpo de captura y el anticuerpo reportero se unen a la TTR mal plegada multimérica formando un complejo sándwich; y

- (ii) detectar el anticuerpo reportero unido a la TTR mal plegada multimérica en la etapa (a), si hubiere, para indicar la presencia o ausencia de la TTR mal plegada multimérica;
- (d) calcular una proporción del nivel de TTR mal plegada multimérica total de (c) en relación con el nivel de TTR mal plegada total de (b).

16. Un kit que comprende un anticuerpo de captura 9D5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 75, CDR-H2 de SEQ ID NO: 76 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 77, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 78, CDR-L2 de SEQ ID NO: 79 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 80, y un anticuerpo anti-TTR policlonal.
17. Un kit que comprende un anticuerpo de captura 18C5 que comprende las CDRs de cadena pesada CDR-H1 de SEQ ID NO: 5, CDR-H2 de SEQ ID NO: 7 y CDR-H3 de SEQ ID NO: 9, y las CDRs de cadena ligera CDR-L1 de SEQ ID NO: 11, CDR-L2 de SEQ ID NO: 13 y CDR-L3 de SEQ ID NO: 15, y un anticuerpo anti-TTR policlonal.