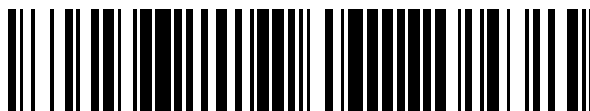


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 948 647**

51 Int. Cl.:

C07K 14/71 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.05.2018** **PCT/US2018/030816**
87 Fecha y número de publicación internacional: **08.11.2018** **WO18204594**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.05.2018** **E 18794202 (4)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2023** **EP 3628049**

54 Título: **Proteínas de fusión del receptor TGF-beta tipo II y usos de las mismas**

30 Prioridad:

04.05.2017 US 201762501229 P
24.05.2017 US 201762510422 P
30.10.2017 US 201762578674 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.09.2023

73 Titular/es:

ACCELERON PHARMA INC. (100.0%)
128 Sidney Street
Cambridge, MA 02139, US

72 Inventor/es:

KUMAR, RAVINDRA y
SAKO, DIANNE S.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 948 647 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

Proteínas de fusión del receptor TGF-beta tipo II y usos de las mismas

5 **Antecedentes**

Los miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β) son citocinas pleiotrópicas que intervienen en funciones celulares esenciales como la proliferación, la diferenciación, la apoptosis, la motilidad, la producción de matriz extracelular, la remodelación de tejidos, la angiogénesis, la respuesta inmunitaria, la adhesión celular, y también desempeñan un papel clave en la fisiopatología de estados patológicos tan diferentes como las afecciones inflamatorias crónicas y el cáncer. Los miembros de la superfamilia de TGF β se han clasificado en grandes grupos familiares, que incluyen los TGF β , la proteína morfogenética ósea (BMP), las proteínas osteogénicas (OP), los factores de crecimiento y diferenciación (GDF), las inhibinas/activinas, las sustancias inhibidoras mullerianas (MIS) y los factores neurotróficos derivados gliales (GDNF).

Los miembros de la superfamilia de TGF β transmiten sus señales a través de la membrana plasmática induciendo la formación de complejos heteroméricos de receptores específicos de serina/treonina cinasa de tipo I y II, que a su vez activan un subconjunto particular de proteínas SMAD (algunas inhibidoras y otras excitadoras). Los compuestos de la molécula SMAD transmiten las señales al núcleo, donde dirigen las respuestas transcripcionales en concierto con otras proteínas.

La señalización disfuncional de la superfamilia de TGF β se ha relacionado con varios trastornos clínicos, entre los que se incluyen cáncer, fibrosis, enfermedades óseas, nefropatía diabética, así como enfermedades vasculares crónicas como la aterosclerosis.

Por tanto, es un objetivo de la presente divulgación proporcionar composiciones y métodos para modular la señalización de la superfamilia de TGF β .

Sumario

La invención se define por las reivindicaciones. En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un polipéptido de fusión del receptor II del factor de crecimiento transformante- β (T β RII) que comprende: a) un dominio extracelular de una porción de T β RII que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idéntica al SEQ ID NO: 18; b) una porción heteróloga, en donde la porción heteróloga es un dominio Fc de inmunoglobulina, y c) una porción enlazadora que comprende (GGGGS) $_n$, en donde n = 4, 5 o 6; en donde el dominio extracelular de la porción de T β RII está conectado a la porción heteróloga por medio de la porción enlazadora; y en donde el polipéptido de fusión se une al factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β 1) y al factor de crecimiento transformante β 3 (TGF β 3).

De acuerdo con una realización preferida del primer aspecto de la invención, la porción de dominio extracelular de T β RII comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 % o 97 % idéntica al SEQ ID NO: 18.

De acuerdo con otra realización preferida del primer aspecto de la invención, la porción de dominio extracelular de T β RII comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18. De acuerdo con una realización preferida adicional del primer aspecto de la invención, el polipéptido comprende una secuencia líder aminoterminal. De acuerdo con una realización particularmente preferida del primer aspecto de la invención, la secuencia líder aminoterminal comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 23.

De acuerdo con una realización preferida adicional del primer aspecto de la invención, la porción heteróloga comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 % o 97 % idéntica al SEQ ID NO: 20. De acuerdo con otra realización preferida del primer aspecto de la invención, la porción heteróloga comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20. De acuerdo con otra realización preferida más, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6. De acuerdo con una realización preferida adicional del primer aspecto de la invención, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % o un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13, 53 o 56. En otra realización preferida más del primer aspecto de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13, 53 o 56. En una realización preferida adicional del primer aspecto de la invención, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48. En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48. En una realización preferida adicional más del primer aspecto de la invención, el polipéptido se une a TGF β 1 con una K $_D$ inferior a 200 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM, inferior a 50 pM, o inferior a 25 pM, y/o el polipéptido se une a TGF β 3 con una K $_D$ inferior a 75 pM, inferior a 70 pM, inferior a 60 pM, inferior a 50 pM, inferior a 40 pM, inferior a 35 pM, inferior a 25 pM, inferior a 15, inferior a 10 o inferior a 5 pM.

En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI $_{50}$ inferior a 0,1 nM, determinada utilizando un ensayo de gen indicador, y/o el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI $_{50}$ inferior a

0,05 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En una realización particularmente preferida del primer aspecto de la invención, el ensayo de gen indicador es un ensayo de gen indicador CAGA.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una preparación farmacéutica que comprende un polipéptido de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En parte, la presente divulgación se refiere a proteínas de fusión de polipéptidos de T β R β II y al uso de dichas proteínas de fusión como antagonistas selectivos de TGF β 1 o TGF β 3. Como se describe en el presente documento, los polipéptidos que comprenden parte o la totalidad del dominio extracelular (ECD) de T β R β II, con o sin mutaciones adicionales, se unen y/o inhiben TGF β 1 o TGF β 3 con afinidades variables. Concretamente, los polipéptidos de T β R β II que comprenden una porción heteróloga (por ejemplo, un dominio Fc de inmunoglobulina) y un enlazador de al menos 10 aminoácidos de longitud (por ejemplo, un enlazador que tiene la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6) se asocian con propiedades de unión a TGF β 1 y TGF β 3 sorprendentemente superiores en comparación con los polipéptidos de T β R β II que tienen un enlazador más corto. Por tanto, en ciertos casos, la divulgación proporciona polipéptidos de T β R β II para su uso en la inhibición selectiva de trastornos asociados a la superfamilia de TGF β .

En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión del receptor II del factor de crecimiento transformante- β (T β R β II) que comprende: a) un dominio extracelular de una porción de T β R β II; b) una porción heteróloga, y c) una porción enlazadora; en donde el enlazador tiene al menos 10 aminoácidos de longitud; y en donde la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica a: i) una secuencia que comience en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termine en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1 o ii) una secuencia que comience en cualquiera de las posiciones 23 a 60 del SEQ ID NO: 2 y termine en cualquiera de las posiciones 178 a 184 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 95 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 97 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 60 del SEQ ID NO: 2 y termina en cualquiera de las posiciones 178 a 184 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 60 del SEQ ID NO: 2 y termina en cualquiera de las posiciones 178 a 184 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 95 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 60 del SEQ ID NO: 2 y termina en cualquiera de las posiciones 178 a 184 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 97 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 60 del SEQ ID NO: 2 y termina en cualquiera de las posiciones 178 a 184 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica al SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica al SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 95 % idéntica al SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 97 % idéntica al SEQ ID NO: 18. En algunas realizaciones, la porción de dominio extracelular de T β R β II comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 95 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 97 % idéntica a una secuencia que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID NO: 1 y termina en cualquiera de las posiciones 153 a 159 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la porción de dominio extracelular de T β R β II consiste en una secuencia de aminoácidos que comienza en cualquiera de las posiciones 23 a 35 del SEQ ID

[illegible]

comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 56. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 56. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 56. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 15. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 15. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 15. En algunos casos, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 15. En algunos casos, el polipéptido de T β RII no incluye los aminoácidos 185-592 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, el polipéptido de T β RII no incluye los aminoácidos 1-22 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, el polipéptido consiste o consiste esencialmente en: a) una porción de polipéptido de T β RII que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18 y tiene no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; b) una porción enlazadora que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6 y tiene no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; c) una porción heteróloga que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20 y tiene no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23). En algunos casos, el polipéptido consiste o consiste esencialmente en: a) una porción de polipéptido de T β RII que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18 y no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; b) una porción enlazadora que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6 y no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; c) una porción heteróloga que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20 y no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales; y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23). En algunos casos, el polipéptido comprende: a) un dominio extracelular de una porción de T β RII; en donde el dominio extracelular comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia del SEQ ID NO: 18; b) una porción heteróloga, en donde la porción heteróloga comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia del SEQ ID NO: 20; y c) una porción enlazadora que conecta el dominio extracelular y la porción heteróloga; en donde el enlazador comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6. En algunos casos, el polipéptido comprende: a) un dominio extracelular de una porción de T β RII; en donde el dominio extracelular comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18; b) una porción heteróloga, en donde la porción heteróloga comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20; y c) una porción enlazadora que conecta el dominio extracelular y la porción heteróloga; en donde el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48. En algunos casos, el polipéptido no incluye una secuencia líder, o en donde la secuencia líder se ha eliminado. En algunos casos, el polipéptido incluye uno o más restos de aminoácidos modificados seleccionados entre: un aminoácido glicosilado, un aminoácido PEGilado, un aminoácido farnesilado, un aminoácido acetilado, un aminoácido biotinilado, un aminoácido conjugado con un resto lipídico, y un aminoácido conjugado con un agente derivatizante orgánico. En algunos casos, el polipéptido está glicosilado. En algunos casos, el polipéptido tiene un patrón de glicosilación característico de la expresión del polipéptido en células CHO. En algunos casos, el polipéptido se une al TGF β 1 humano con una constante de disociación de equilibrio (KD) inferior a 100 pM. En algunos casos, el polipéptido se une al TGF β 1 humano con una constante de disociación de equilibrio (KD) inferior a 75 pM. En algunos casos, el polipéptido se une al TGF β 3 humano con una constante de disociación de equilibrio (KD) inferior a 60 pM. En algunos casos, el polipéptido se une al TGF β 3 humano con una constante de disociación de equilibrio (KD) inferior a 50 pM. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI50 inferior a 1,0 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI50 inferior a 0,25 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI50 inferior a 0,1 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI50 inferior a 0,05 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI50 inferior a 0,3 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI50 inferior a 0,1 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI50 inferior a 0,05 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI50 inferior a 0,04 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunas realizaciones, el ensayo de gen indicador es un ensayo de gen indicador CAGA.

En algunos casos, la divulgación proporciona un homodímero que comprende dos cualesquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento.

En algunos casos, la divulgación proporciona un polinucleótido aislado que comprende una secuencia codificante para cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento. En algunos casos, la divulgación proporciona un polinucleótido recombinante que comprende una secuencia promotora enlazada operablemente a cualquiera de los polinucleótidos divulgados en el presente documento. En algunos casos, el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 100 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID

NO: 10, 12 o 14.

En algunos casos, la divulgación proporciona una célula transformada con cualquiera de los polinucleótidos divulgados en el presente documento. En algunos casos, la célula es una célula de mamífero. En algunos casos, la célula es una célula CHO o una célula humana.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una preparación farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y el polipéptido de la invención.

Asimismo, en el presente documento se describe un método para modular la respuesta de una célula a un miembro de la superfamilia de TGF β , comprendiendo el método exponer la célula a cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento o a cualquiera de los homodímeros divulgados en el presente documento. En algunos casos, la divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad o afección asociada con un miembro de la superfamilia de TGF β en un paciente que lo necesite, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento o de cualquiera de los homodímeros divulgados en el presente documento. En algunos casos, el miembro de la superfamilia de TGF β es TGF β 1 o TGF β 3. En algunos casos, la enfermedad o afección es un cáncer. En algunos casos, el cáncer se selecciona entre cáncer de estómago, cáncer de intestino, cáncer de piel, cáncer de mama, melanoma, cáncer de huesos y cáncer de tiroides. En algunos casos, la enfermedad o afección es una enfermedad o afección fibrótica o esclerótica. En algunos casos, la enfermedad o afección fibrótica o esclerótica se selecciona entre esclerodermia, lupus eritematoso, fibrosis pulmonar, aterosclerosis, fibrosis hepática, esclerosis sistémica difusa, glomerulonefritis, cicatrización neural, cicatrices dérmicas, fibrosis inducida por radiación, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar idiopática y mielofibrosis. En algunos casos, la enfermedad o afección es mielofibrosis. En algunos casos, la enfermedad o afección se selecciona entre el grupo que consiste en mielofibrosis primaria, mielofibrosis posterior a policitemia vera y mielofibrosis posterior a trombocitemia esencial. En algunos casos, la enfermedad o afección se selecciona entre el grupo que consiste en mielofibrosis de bajo riesgo, de riesgo intermedio-1, de riesgo intermedio-2 o de alto riesgo según el Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica (IPSS) o según el IPSS dinámico (DIPSS). En algunos casos, la enfermedad o afección es una enfermedad cardíaca. En algunos casos, la enfermedad o afección se selecciona entre telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT), síndrome de Marfan, síndrome de Loeys-Dietz, síndrome de aneurisma aórtico torácico familiar, síndrome de tortuosidad arterial, preeclampsia, aterosclerosis, reestenosis y miocardiopatía hipertrófica/insuficiencia cardíaca congestiva. En algunos casos, la enfermedad o afección es hipertensión pulmonar. En algunos casos, la hipertensión pulmonar es hipertensión pulmonar de Clase I, Clase II, Clase III o Clase IV según lo reconocido por la Organización Mundial de la Salud. En algunos casos, la enfermedad o afección es una enfermedad o afección asociada con el riñón. En algunos casos, la enfermedad o afección asociada con el riñón se selecciona entre el grupo que consiste en: enfermedades (o insuficiencia) renales crónicas, enfermedades (o insuficiencia) renales agudas, enfermedades renales primarias, enfermedades renales no diabéticas, glomerulonefritis, nefritis intersticial, enfermedad renal diabética, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, glomerulonefritis de progresión rápida, fibrosis renal, síndrome de Alport, nefritis por IDDM, glomerulonefritis proliferativa mesangial, glomerulonefritis membranoproliferativa, glomerulonefritis semilunar, fibrosis renal intersticial, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, nefropatía membranosa, enfermedad de cambio mínimo, glomerulonefritis progresiva rápida paucinmunitaria, nefropatía por IgA, enfermedad renal poliquística, enfermedad de Dent, nefrocitosis, nefritis de Heymann, poliquistosis renal autosómica dominante (adultos), poliquistosis renal autosómica recesiva (infancia), lesión renal aguda, síndrome nefrótico, isquemia renal, enfermedades o trastornos podocitarios, proteinuria, enfermedades glomerulares, glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis focal y segmentaria, preeclampsia, eclampsia, lesiones renales, enfermedades vasculares por colágeno, proteinuria ortostática benigna (postural), nefropatía por IgM, nefropatía membranosa, sarcoidosis, diabetes mellitus, daño renal debido a fármacos, enfermedad de Fabry, aminoaciduria, síndrome de Fanconi, nefroesclerosis hipertensiva, nefritis intersticial, anemia de células falciformes, hemoglobinuria, mioglobinuria, granulomatosis de Wegener, enfermedad por almacenamiento de glucógeno de tipo 1, nefropatía crónica, insuficiencia renal crónica, tasa de filtración glomerular (TFG) baja, nefroangioesclerosis, nefritis lúpica, glomerulonefritis semilunar paucinmune positiva a ANCA, nefropatía crónica por aloinjerto, nefrotoxicidad, toxicidad renal, necrosis renal, daño renal, lesión glomerular y tubular, disfunción renal, síndrome nefrítico, insuficiencia renal aguda, insuficiencia renal crónica, disfunción tubárica proximal, rechazo agudo de trasplante renal, rechazo crónico del trasplante renal, glomerulonefritis mesangioproliferativa no IgA, glomerulonefritis posinfecciosa, vasculitis con afectación renal de cualquier tipo, cualquier enfermedad renal hereditaria, cualquier nefritis intersticial, fracaso del trasplante renal, cáncer de riñón, nefropatía asociada a otras afecciones (por ejemplo, hipertensión, diabetes y enfermedades autoinmunitarias), enfermedad de Dent, nefrocitosis, nefritis de Heymann, una nefropatía primaria, una glomerulopatía colapsante, una enfermedad por depósitos densos, una glomerulonefritis asociada a crioglobulinemia, una enfermedad de Henoch-Schonlein, una glomerulonefritis posinfecciosa, una endocarditis bacteriana, una poliangiitis microscópica, un síndrome de Churg-Strauss, una glomerulonefritis mediada por anticuerpos anti-GBM, amiloidosis, una enfermedad por deposición de inmunoglobulinas monoclonales, una glomerulonefritis fibrilar, una glomerulopatía inmunotactoide, lesión tubular isquémica, una nefritis túbulo-intersticial inducida por medicamentos, una nefritis túbulo-intersticial tóxica, una nefritis túbulo-intersticial infecciosa, una pielonefritis bacteriana, una nefritis tubulointersticial infecciosa viral que resulta de una infección por poliomavirus o una infección por VIH, una enfermedad túbulo-intersticial inducida por el metabolismo, una enfermedad del tejido conjuntivo mixto, una nefropatía de molde, una nefropatía por cristales que puede ser el resultado de la deposición de cristales de urato u oxalato o inducida por fármacos, un rechazo agudo de aloinjerto túbulo-intersticial celular,

enfermedad infiltrativa tumoral que resulta de un linfoma o de una enfermedad linfoproliferativa postrasplante, una enfermedad obstructiva del riñón, enfermedad vascular, una microangiopatía trombótica, una nefroangioesclerosis, una enfermedad ateroembólica, una enfermedad del tejido conjuntivo mixto, una poliarteritis nodosa, una enfermedad vascular inducida por un inhibidor de la calcineurina, un rechazo agudo de aloinjerto vascular celular, un rechazo agudo de aloinjerto humoral, disminución precoz de la función renal (ERFD), enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), trombosis de la vena renal, necrosis tubular aguda, nefritis intersticial aguda, enfermedad renal crónica establecida, estenosis en la arteria renal, nefropatía isquémica, uremia, nefritis tubulointersticial crónica inducida por fármacos y toxinas, nefropatía por reflujo, cálculos renales, síndrome de Goodpasture, anemia normocítica normocrómica, anemia renal, nefropatía diabética crónica, enfermedad relacionada con IgG4, síndrome de Von Hippel-Lindau, esclerosis tuberosa, nefronoptosis, nefropatía quística medular, carcinoma de células renales, adenocarcinoma, nefroblastoma, linfoma, leucemia, trastorno por hiposialilación, nefropatía crónica por ciclosporinas, lesión por reperfusión renal, displasia renal, azotemia, oclusión arterial bilateral, nefropatía aguda por ácido úrico, hipovolemia, uropatía obstructiva bilateral aguda, nefropatía hipercalcémica, síndrome urémico hemolítico, retención urinaria aguda, nefroesclerosis maligna, glomeruloesclerosis postparto, esclerodermia, enfermedad anti-MBG no Goodpasture, poliarteritis nodosa microscópica, granulomatosis alérgica, nefritis aguda por radiación, glomerulonefritis posestreptocócica, macroglobulinemia de Waldenström, nefropatía por analgésicos, fístula arteriovenosa, injerto arteriovenoso, diálisis, riñón ectópico, riñón esponjoso medular, osteodistrofia renal, riñón solitario, hidronefrosis, microalbuminuria, uremia, hematuria, hiperlipidemia, hipoalbuminemia, lipiduria, acidosis, hiperpotasemia y edema. En algunos casos, la enfermedad o afección asociada al riñón es una nefropatía crónica.

Breve descripción de los dibujos

La **figura 1** muestra la secuencia de aminoácidos del precursor nativo de la isoforma B (corta) del receptor de tipo II de TGF β humano (hT β RII) (NP_003233.4). El subrayado sólido indica el dominio extracelular maduro (ECD) (restos 23-159), y el subrayado doble indica la valina que se sustituye en la isoforma A (larga). El subrayado punteado indica la secuencia líder (restos 1-22).

La **figura 2** muestra la secuencia de aminoácidos del precursor nativo de la isoforma A (larga) de T β RII humano (NP_001020018.1). El subrayado sólido indica el ECD maduro (restos 23-184), y el subrayado doble indica la sustitución de isoleucina generada por el corte y empalme. El subrayado punteado indica la secuencia líder (restos 1-22).

La **figura 3** muestra una comparación de las secuencias enlazadoras de cinco construcciones de T β RII diferentes. Las **figuras 4A y 4B** muestran en forma de tabla la afinidad de unión entre TGF β 1 y TGF β 3 y una de varias construcciones diferentes de proteína de fusión de T β RII-Fc.

Las **figuras 5A y 5C** representan gráficamente los resultados de ensayos de genes indicadores que prueban la afinidad de TGF β 1 por una de varias construcciones diferentes de proteína de fusión de T β RII-Fc. Las **figuras 5B y 5D** representan gráficamente los resultados de ensayos de genes indicadores que prueban la afinidad de TGF β 3 por una de varias construcciones diferentes de proteína de fusión de T β RII-Fc. Las **figuras 5E y 5F** proporcionan los datos de la CI₅₀ de estos mismos experimentos en forma de tabla.

Descripción detallada

1. Aspectos generales

Las proteínas descritas en el presente documento son las formas humanas, a menos que se especifique otra cosa. Las referencias del NCBI para las proteínas son las siguientes: T β RII humano, isoforma A (hT β RII_{larga}), NP_001020018.1 y T β RII humano, isoforma B (hT β RII_{corta}), (NP_003233.4). Las secuencias de las proteínas T β RII nativas de ser humano se exponen en las figuras 1 y 2. En algunos casos, las proteínas T β RII proceden de animales no humanos, como ratón, rata, vaca o mono.

La superfamilia de TGF β contiene diversos factores de crecimiento que comparten elementos de secuencia y motivos estructurales comunes. Se sabe que estas proteínas ejercen efectos biológicos en una gran variedad de tipos celulares, tanto en vertebrados como en invertebrados. Los miembros de la superfamilia desempeñan importantes funciones durante el desarrollo embrionario en la formación de patrones y la especificación de tejidos y pueden influir en diversos procesos de diferenciación, incluida la adipogénesis, la miogénesis, la condrogénesis, la cardiogénesis, la hematopoyesis, la neurogénesis y la diferenciación de células epiteliales. Mediante la manipulación de la actividad de un miembro de la familia de TGF β , a menudo es posible provocar cambios fisiológicos significativos en un organismo. Por ejemplo, las razas bovinas Piamontesa y Azul Belga son portadoras de una mutación de pérdida de función en el gen GDF8 (también llamado miostatina) que provoca un marcado aumento de la masa muscular. Grobet *et al.*, Nat Genet. 1997, 17(1):71-4. De forma similar, en seres humanos, los alelos inactivos de GDF8 se asocian a un aumento de la masa muscular y, según se ha informado, una fuerza excepcional. Schuelke *et al.*, N Engl J Med 2004, 350:2682-8.

Las señales de TGF β están mediadas por complejos heteroméricos de receptores de serina/treonina cinasa de tipo I (por ejemplo, T β RI) y de tipo II (por ejemplo, T β RII), que fosforilan y activan las proteínas SMAD posteriores tras la estimulación con el ligando (Massagué, 2000, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1: 169-178). Estos receptores de tipo I y II son proteínas transmembrana, formados por un dominio extracelular de unión a ligandos con una región rica en cisteína,

un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático con especificidad prevista de serina/treonina. Los receptores de tipo I son esenciales para la señalización; y los receptores de tipo II son necesarios para la unión de ligandos y para la expresión de los receptores de tipo I. Los receptores de tipo I y II forman un complejo estable tras la unión del ligando, lo que da lugar a la fosforilación de los receptores de tipo I por los de tipo II. El TGF β tiene tres isoformas en mamíferos, TGF β 1, TGF β 2 y TGF β 3, cada uno con funciones distintas *in vivo*. La unión de los TGF β a T β RII es un paso crucial para iniciar la activación de la vía de señalización de TGF β , lo que conduce a la fosforilación de SMAD2 y a la translocación del complejo SMAD2/SMAD4 activado al núcleo para modular la expresión génica.

Por tanto, en ciertos casos, la divulgación proporciona polipéptidos de T β RII como antagonistas de TGF β 1 o TGF β 3 para su uso en el tratamiento de diversos trastornos asociados con TGF β 1 o TGF β 3. Sin desear quedar ligados a ningún mecanismo de acción en particular, se espera que dichos polipéptidos actúen uniéndose a TGF β 1 o TGF β 3 e inhibiendo la capacidad de estos ligandos para formar complejos de señalización ternarios.

La divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden polipéptidos de T β RII y una porción heteróloga (por ejemplo, una porción de Fc). En casos particulares, la porción de T β RII y la porción heteróloga se fusionan mediante un enlazador. Como se describe con mayor detalle a continuación, la divulgación demuestra que las proteínas de fusión de T β RII-Fc que comprendían enlazadores de ciertas longitudes (por ejemplo, un enlazador que tiene 21 aminoácidos) fueron sorprendentemente capaces de unirse a TGF β -1 y TGF β -3 con mayor afinidad que las proteínas de fusión de T β RII-Fc que tienen un enlazador de solo cuatro aminoácidos.

Los términos y expresiones utilizados en la presente memoria descriptiva tienen generalmente su significado habitual en la técnica, dentro del contexto de la presente divulgación y en el contexto específico en el que se utiliza cada término o expresión. Determinados términos y expresiones se analizan a continuación, o en otra parte en la memoria descriptiva, para proporcionar orientación adicional para el experto a la hora de describir las composiciones y los métodos descritos en el presente documento y cómo producirlos y usarlos. El alcance o significado de cualquier uso de un término o expresión será evidente a partir del contexto específico en que se utilice.

"Homólogo", en todas sus formas gramaticales y variantes ortográficas, se refiere a la relación entre dos proteínas que poseen un "origen evolutivo común", incluidas proteínas de superfamilias de la misma especie de organismos, así como proteínas homólogas de diferentes especies de organismos. Dichas proteínas (y los ácidos nucleicos que las codifican) tienen homología de secuencia, como refleja su similitud de secuencia, ya sea en términos de porcentaje de identidad o por la presencia de restos o motivos específicos y posiciones conservadas.

La expresión "similitud de secuencia", en todas sus formas gramaticales, se refiere al grado de identidad o correspondencia entre secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos que pueden o no compartir un origen evolutivo común. Sin embargo, en el uso común y en la presente solicitud, el término "homólogo", cuando se modifica con un adverbio tal como "altamente", puede referirse a la similitud de secuencias y puede o no referirse a un origen evolutivo común.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia" o "tanto por ciento (%) idéntico", con respecto a una secuencia polipeptídica (o nucleotídica) de referencia, se define como el porcentaje de restos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) en una secuencia candidata que son idénticos a los restos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) en la secuencia polipeptídica (nucleotídica) de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, en caso necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin tomar en consideración ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. El alineamiento con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de varias maneras que se encuentran dentro de las capacidades de la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles de manera pública, tales como los programas BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros necesarios para alinear secuencias, incluido cualquier algoritmo necesario para lograr una alineación máxima a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se estén comparando. A efectos del presente documento, sin embargo, los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos (o ácidos nucleicos) se generan usando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2 fue programado por Genentech, Inc. y el código fuente, junto con las documentación para usuarios, se han depositado en la Oficina de Derechos de Autor de los Estados Unidos (U.S. Copyright Office), Washington D.C., 20559, donde está registrada con el n.º de registro de derechos de autor de los Estados Unidos TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible al público a través de Genentech, Inc., South San Francisco, Calif., o puede compilarse a partir de su código fuente. El programa ALIGN-2 debe compilarse para su uso en un sistema operativo UNIX, incluido UNIX V4.0D digital. Todos los parámetros de comparación de secuencia se establecen por el programa ALIGN-2 y no varían.

"Agonizar", en todas sus formas gramaticales, se refiere al proceso de activar una proteína y/o gen (por ejemplo, activando o amplificando la expresión génica de esa proteína o induciendo a una proteína inactiva para que entre en estado activo) o de aumentar la actividad de una proteína y/o gen.

"Antagonizar", en todas sus formas gramaticales, se refiere al proceso de inhibir una proteína y/o gen (por ejemplo, inhibiendo o disminuyendo la expresión génica de esa proteína o induciendo a una proteína activa para que entre en

un estado inactivo) o de disminuir la actividad de una proteína y/o gen.

El término "aproximadamente", como se usa en relación con un valor numérico en toda la memoria descriptiva y las reivindicaciones, denota un intervalo de precisión, familiar y aceptable para un experto en la materia.

Los intervalos numéricos divulgados en el presente documento incluyen los números que definen los intervalos.

Los términos "un" y "uno/a" incluyen referentes plurales a menos que el contexto en el que se utiliza el término dicte claramente lo contrario. Los términos "un" (o "uno/a"), así como las expresiones "uno o más", y "al menos uno" pueden usarse indistintamente en el presente documento. Además, cuando se utiliza en el presente documento, "y/o" debe interpretarse como la divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados, con o sin el otro. Por tanto, la expresión "y/o", tal como se utiliza en una expresión tal como "A y/o B" del presente documento pretende incluir "A y B", "A o B", "A" (solo) y "B" (solo). Asimismo, la expresión "y/o" tal como se utiliza en una expresión tal como "A, B y/o C" pretende abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

En toda la presente memoria descriptiva, se entenderá que el término "comprender", o variaciones tales como "comprende" o "comprendiendo" implican la inclusión de un número entero indicado o grupos de números enteros, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros. Como se usa en el presente documento, el término "comprende" también abarca el uso de las expresiones más restrictivas "consiste en" y "consiste esencialmente en".

La expresión "consiste esencialmente en" se limita a los materiales o etapas especificados y a aquellos que no afectan materialmente a las características básicas y novedosas del caso o los casos divulgados en el presente documento.

La expresión "afinidad apreciable", tal como se utiliza en el presente documento, significa una unión con una constante de disociación (K_D) inferior a 50 nM.

Los términos "polipéptido", "oligopéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a cadenas de aminoácidos de cualquier longitud. La cadena puede ser lineal o ramificada, puede comprender aminoácidos modificados y/o puede estar interrumpida por moléculas distintas de aminoácidos. Los términos también abarcan una cadena de aminoácidos que se ha modificado de manera natural o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de marcaje. En la definición también se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (lo que incluye, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la materia. Se entiende que los polipéptidos pueden presentarse como cadenas simples o cadenas asociadas.

2. Polipéptidos de TβRII

Las proteínas de TβRII naturales son proteínas transmembrana, con una porción de la proteína situada fuera de la célula (la porción extracelular) y una porción de la proteína situada dentro de la célula (la porción intracelular). Los casos de la presente divulgación abarcan polipéptidos de TβRII variantes que comprenden mutaciones dentro del dominio extracelular y/o porciones truncadas del dominio extracelular de TβRII. Como se ha descrito anteriormente, el TβRII humano se produce de forma natural en al menos dos isoformas, A (larga) y B (corta), generadas por corte y empalme alternativo en el dominio extracelular (ECD) (figuras 1 y 2 y las SEQ ID NO: 1 y 2). El SEQ ID NO: 27, que corresponde a los restos 23-159 del SEQ ID NO: 1, representa el dominio extracelular de longitud completa del dominio extracelular de la isoforma corta de TβRII. El SEQ ID NO: 18, que corresponde a los restos 23-184 del SEQ ID NO: 2, representa el dominio extracelular de longitud completa del dominio extracelular de la isoforma larga de TβRII. A menos que se indique otra cosa, la numeración de las posiciones de aminoácidos con respecto a las variantes basadas en las isoformas corta y larga de TβRII se refiere a la posición correspondiente en los precursores nativos, el SEQ ID NO: 1 y el SEQ ID NO: 2, respectivamente.

En ciertos casos, la divulgación proporciona polipéptidos de TβRII variantes. Un polipéptido de TβRII de la divulgación puede unirse a, e inhibir la función de, un miembro de la superfamilia de TGFβ, tal como, pero sin limitación, TGFβ1 o TGFβ3. Los polipéptidos de TβRII pueden incluir un polipéptido que consiste en, o comprende, una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica y opcionalmente, al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a un dominio ECD truncado de un polipéptido de TβRII de origen natural, cuyo extremo carboxílico se encuentra en cualquiera de los aminoácidos 153-159 del SEQ ID NO: 1. Los polipéptidos de TβRII pueden incluir un polipéptido que consiste en, o comprende, una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica y opcionalmente, al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a un dominio ECD truncado de un polipéptido de TβRII de origen natural, cuyo extremo carboxílico se encuentra en cualquiera de los aminoácidos 178-184 del SEQ ID NO: 2. En casos particulares, los polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica y opcionalmente, al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18. Opcionalmente, un polipéptido de TβRII no incluye más de 5 aminoácidos consecutivos, o más de 10, 20, 30, 40, 50, 52, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o 200 o más aminoácidos

consecutivos de una secuencia que consiste en los aminoácidos 160-567 del SEQ ID NO: 1 o de una secuencia que consiste en los aminoácidos 185-592 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 160-567 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 1-22 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 1-22 y 160-567 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 185-592 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 1-22 del SEQ ID NO: 2. En algunos casos, el polipéptido de TβRII no incluye los aminoácidos 1-22 y 185-592 del SEQ ID NO: 2. El polipéptido de TβRII sin procesar puede incluir o excluir cualquier secuencia de señal, así como cualquier secuencia aminoterminal respecto de la secuencia señal. Como se explica en el presente documento, el extremo aminoterminal del polipéptido de TβRII maduro (procesado) puede encontrarse en cualquiera de los aminoácidos 23-35 del SEQ ID NO: 1 o 23-60 del SEQ ID NO: 2. Entre los ejemplos de polipéptidos de TβRII maduros se incluyen, pero sin limitación, los aminoácidos 23-159 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 27), los aminoácidos 29-159 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 28), los aminoácidos 35-159 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 29), los aminoácidos 23-153 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 30), los aminoácidos 29-153 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 31), los aminoácidos 35-153 del SEQ ID NO: 1 (expuestos en el SEQ ID NO: 32), los aminoácidos 23-184 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 18), los aminoácidos 29-184 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 33), los aminoácidos 60-184 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 29), los aminoácidos 23-178 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 34), los aminoácidos 29-178 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 35) y los aminoácidos 60-178 del SEQ ID NO: 2 (expuestos en el SEQ ID NO: 32). Un experto en la materia entenderá que las variantes correspondientes basadas en la isoforma larga de TβRII incluirán secuencias de nucleótidos que codifican la inserción de 25 aminoácidos, junto con una sustitución conservadora Val-Ile en la posición flanqueante carboxiloterminal a la inserción. Por consiguiente, los polipéptidos de TβRII pueden incluir porciones extracelulares aisladas de polipéptidos de TβRII, que incluyen tanto la isoforma larga como la corta, variantes de los mismos (incluidas las variantes que comprenden, por ejemplo, no más de 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 o 35 sustituciones de aminoácidos en la secuencia correspondiente a los aminoácidos 23-159 del SEQ ID NO: 1 o a los aminoácidos 23-184 del SEQ ID NO: 2), fragmentos de los mismos y proteínas de fusión que comprendan cualquiera de las anteriores, pero en cada caso preferiblemente cualquiera de los polipéptidos de TβRII anteriores conservará una afinidad sustancial por al menos uno de, o ambos de, TGFβ1 o TGFβ3. Generalmente, se diseñará un polipéptido de TβRII que sea soluble en soluciones acuosas a temperaturas, niveles de pH y osmolaridad biológicamente relevantes.

En algunos casos, los polipéptidos de TβRII variantes de la divulgación comprenden una o más mutaciones en el dominio extracelular que confieren un perfil de unión a ligando alterado. Un polipéptido de TβRII puede incluir una, dos, cinco o más alteraciones en la secuencia de aminoácidos en relación con la porción correspondiente de un polipéptido de TβRII de origen natural. En algunos casos, la mutación da lugar a una sustitución, inserción o eliminación en la posición correspondiente a la posición 70 del SEQ ID NO: 1. En algunos casos, la mutación da lugar a una sustitución, inserción o eliminación en la posición correspondiente a la posición 110 del SEQ ID NO: 1. Algunos ejemplos incluyen, pero sin limitación, una sustitución de N a D o una sustitución de D a K en las posiciones correspondientes a las posiciones 70 y 110, respectivamente, del SEQ ID NO: 1. Algunos ejemplos de dichos polipéptidos de TβRII variantes incluyen, pero sin limitación, las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 36-39. Un polipéptido de TβRII puede comprender un polipéptido o una porción del mismo que está codificado por una cualquiera de las SEQ ID NO: 10, 12, 14 o 16, o variantes silenciosas de los mismos o ácidos nucleicos que hibridan con el complemento de las mismas en condiciones de hibridación rigurosas. En casos particulares, un polipéptido de TβRII puede comprender un polipéptido o porción del mismo que está codificado por una cualquiera de SEQ ID NO: 12, o variantes silenciosas del mismo o ácidos nucleicos que hibridan con el complemento del mismo en condiciones de hibridación rigurosas.

En algunos casos, los polipéptidos de TβRII variantes de la divulgación comprenden además una inserción de 36 aminoácidos (SEQ ID NO: 41) entre el par de restos de glutamato (posiciones 151 y 152 del SEQ ID NO: 1, o posiciones 176 y 177 del SEQ ID NO: 2) situados cerca del extremo carboxiloterminal del ECD de TβRII humano, como ocurre naturalmente en la isoforma C de TβRII humano (Konrad *et al.*, BMC Genomics 8:318, 2007).

La divulgación demuestra además que los polipéptidos de TβRII pueden modificarse para antagonizar selectivamente los ligandos de TβRII. El resto N70 representa un posible sitio de glicosilación. En algunos casos, los polipéptidos de TβRII están aglicosilados. En algunos casos, los polipéptidos de TβRII están aglicosilados o presentan una glicosilación reducida en la posición Asn157. En algunos casos, los polipéptidos de TβRII están aglicosilados o presentan una glicosilación reducida en la posición Asn73.

En ciertos casos, un polipéptido de TβRII se une a TGFβ1, y el polipéptido de TβRII no muestra una unión sustancial a TGFβ3. En ciertos casos, un polipéptido de TβRII se une a TGFβ3, y el polipéptido de TβRII no muestra una unión sustancial a TGFβ1. La unión puede evaluarse utilizando proteínas purificadas en solución o en un sistema de resonancia de plasmones superficiales, tal como un sistema Biacore™.

En ciertos casos, un polipéptido de TβRII inhibe la señalización celular de TGFβ1, y el polipéptido de TβRII tiene un efecto inhibidor intermedio o limitado sobre la señalización de TGFβ3. En ciertos casos, un polipéptido de TβRII inhibe la señalización celular de TGFβ3, y el polipéptido de TβRII tiene un efecto inhibidor intermedio o limitado sobre la señalización de TGFβ1. El efecto inhibidor sobre la señalización celular puede analizarse mediante métodos conocidos

en la técnica.

En conjunto, una porción activa de un polipéptido de T β RIL puede comprender las secuencias de aminoácidos 23-153, 23-154, 23-155, 23-156, 23-157 o 23-158 del SEQ ID NO: 1, así como variantes de estas secuencias que comienzan en cualquiera de los aminoácidos 24-35 del SEQ ID NO: 1. De forma similar, una porción activa de un polipéptido de T β RIL puede comprender las secuencias de aminoácidos 23-178, 23-179, 23-180, 23-181, 23-182 o 23-183 del SEQ ID NO: 2, así como variantes de estas secuencias que comienzan en cualquiera de los aminoácidos 24-60 del SEQ ID NO: 2. Los polipéptidos de T β RIL ilustrativos comprenden las secuencias de aminoácidos 29-159, 35-159, 23-153, 29-153 y 35-153 del SEQ ID NO: 1 o las secuencias de aminoácidos 29-184, 60-184, 23-178, 29-178 y 60-178 del SEQ ID NO: 2. También se contemplan variantes dentro de estos intervalos, especialmente las que tienen al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad respecto de la porción correspondiente del SEQ ID NO: 1 o el SEQ ID NO: 2. Puede seleccionarse un polipéptido de T β RIL que no incluya la secuencia formada por los aminoácidos 160-567 del SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 185-592 del SEQ ID NO: 2. En casos particulares, los polipéptidos de T β RIL comprenden una secuencia de aminoácidos al menos un 80 % idéntica y opcionalmente, al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18.

Como se ha descrito anteriormente, la divulgación proporciona polipéptidos de T β RIL que comparten un grado especificado de identidad o similitud de secuencia con un polipéptido de T β RIL de origen natural. Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos, las secuencias se alinean con el fin de realizar una comparación óptima (por ejemplo, se pueden introducir huecos en una o ambas de una primera y una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico para la alineación óptima y las secuencias no homólogas se pueden descartar para fines comparativos). A continuación, se comparan los restos de aminoácidos en las posiciones de aminoácidos correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo resto de aminoácido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, las moléculas son idénticas en esa posición (tal como se usa en el presente documento, "identidad" de aminoácidos es equivalente a "homología" de aminoácidos). El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta el número de huecos y la longitud de cada hueco, que es necesario introducir para un alineamiento óptimo de las dos secuencias.

La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad y similitud entre dos secuencias puede realizarse mediante un algoritmo matemático (Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, Nueva York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, Nueva York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Parte 1, Griffin, A. M., y Griffin, H. G., eds., Humana Press, Nueva Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, Von Heinje, G., Academic Press, 1987; y Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M Stockton Press, Nueva York, 1991).

En un caso, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch (J Mol. Biol. (48):444-453 (1970)) que se ha incorporado en el programa GAP en el paquete de programa informático GCG (disponible en <http://www.gcg.com>). En un caso específico, los siguientes parámetros se utilizan en el programa GAP: una matriz Blosum 62 o una matriz PAM250 y una ponderación por hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y una ponderación por longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En otro caso más, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina con el programa GAP del paquete del programa informático GCG (Devereux, J., *et al.*, Nucleic Acids Res. 12(1):387 (1984)) (disponible en <http://www.gcg.com>). Los parámetros ilustrativos incluyen el uso de una matriz NWSgapdna.CMP y una ponderación por hueco de 40, 50, 60, 70 u 80 y una ponderación por longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. A menos que se especifique otra cosa, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determinará mediante el programa GAP utilizando una matriz Blosum 62, una ponderación por hueco de 10 y una ponderación por longitud de 3 y si dicho algoritmo no puede calcular el porcentaje de identidad deseado, debe seleccionarse una alternativa adecuada divulgada en el presente documento.

En otro caso, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de E. Myers y W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989)) que se ha incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de ponderación de restos PAM120, una penalización por longitud de hueco de 12 y una penalización por hueco de 4.

Otro ejemplo para determinar el mejor alineamiento global entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse utilizando el programa informático FASTDB basado en el algoritmo de Brutlag *et al.* (Comp. App. Biosci., 6:237-245 (1990)). En un alineamiento de secuencias, las secuencias de consulta y objetivo son ambas secuencias de aminoácidos. El resultado de dicho alineamiento global de secuencias se presenta en términos de porcentaje de identidad. En un caso, la identidad de la secuencia de aminoácidos se realiza utilizando el programa informático FASTDB basado en el algoritmo de Brutlag *et al.* (Comp. App. Biosci., 6:237-245 (1990)). En un caso específico, los parámetros empleados para calcular el porcentaje de identidad y similitud de un alineamiento de aminoácidos comprenden: Matriz = PAM 150, k-tuplo = 2, Penalización por emparejamiento erróneo = 1, Penalización por unión = 20, Longitud del grupo de aleatorización = 0, Puntuación límite = 1, Penalización por hueco = 5 y Penalización de tamaño de hueco = 0,05.

Los polipéptidos de T β RIL pueden incluir además cualquiera de varias secuencias líder en el extremo aminoterminal.

Dicha secuencia permitiría expresar los péptidos y dirigirlos a la vía de secreción en un sistema eucariota. Véase, por ejemplo, Ernst *et al.*, Patente de los Estados Unidos n.º 5.082.783 (1992). Como alternativa, puede utilizarse una secuencia señal de T β RII para efectuar su extrusión de la célula. Las posibles secuencias líder incluyen líderes nativos, activador del plasminógeno tisular (TPA) y melitina de abeja (SEQ ID NO: 22-24), respectivamente. Algunos ejemplos de proteínas de fusión de T β RII-Fc que incorporan una secuencia líder de TPA incluyen las SEQ ID NO: 11, 13, 15 y 17. El procesamiento de los péptidos de señal puede variar en función de la secuencia líder elegida, el tipo celular utilizado y las condiciones de cultivo, entre otras variables y por tanto, los sitios de inicio aminoterminal reales de los polipéptidos de T β RII maduros pueden estar desplazados por 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos, ya sea en dirección aminoterminal o carboxiloterminal. Algunos ejemplos de proteínas de fusión de T β RII-Fc incluyen las SEQ ID NO: 11, 13, 15 y 17. Un experto en la materia entenderá que las variantes correspondientes basadas en la isoforma larga de T β RII incluirán la inserción de 25 aminoácidos, junto con una sustitución conservadora Val-Ile en la posición flanqueante carboxiloterminal a la inserción.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos T β RII divulgados en el presente documento son al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51, pero carecen de uno o más aminoácidos aminoterminal en comparación con las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51. En algunos casos, el polipéptido de T β RII carece del aminoácido correspondiente al primer aminoácido (treonina) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51. En algunos casos, el polipéptido de T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero y segundo (treonina e isoleucina, respectivamente) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51. En algunos casos, el polipéptido T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo y tercero (treonina, isoleucina y prolina, respectivamente) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51. En algunos casos, el polipéptido T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo, tercero y cuarto (treonina, isoleucina, prolina, prolina, respectivamente) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos T β RII divulgados en el presente documento son al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18 o 51, pero carecen del aminoácido correspondiente al primer aminoácido (treonina) del SEQ ID NO: 18 o 51. En algunos casos, el polipéptido T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero y segundo (treonina e isoleucina, respectivamente) del SEQ ID NO: 18 o 51. En algunos casos, el polipéptido T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo y tercero (treonina, isoleucina y prolina, respectivamente) del SEQ ID NO: 18 o 51. En algunos casos, el polipéptido T β RII carece de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo, tercero y cuarto (treonina, isoleucina, prolina, prolina, respectivamente) del SEQ ID NO: 18 o 51.

En algunos casos, la divulgación proporciona una composición que comprende una mezcla de polipéptidos de T β RII, en donde cada uno de los polipéptidos de T β RII de la composición comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51; pero en donde al menos una porción de los polipéptidos de T β RII (por ejemplo, al menos un 1 %, 3 %, 4 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %) en la composición incluyen los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo, tercero y cuarto (treonina, isoleucina, prolina y prolina, respectivamente) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51; y en donde al menos una porción de los polipéptidos de T β RII (por ejemplo, al menos un 1 %, 3 %, 4 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %) en la composición carecen de uno o más de los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos primero, segundo, tercero y cuarto (treonina, isoleucina, prolina y prolina, respectivamente) de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18, 27, 30, 34, 36, 37, 38, 39, 48, 49 o 51. En algunos casos, la divulgación proporciona una composición que comprende una mezcla de polipéptidos de T β RII, en donde los polipéptidos de T β RII son al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 18 o 51, pero en donde al menos un 30 % a un 80 % de los polipéptidos de T β RII en la composición carecen del aminoácido correspondiente al primer aminoácido (treonina) del SEQ ID NO: 18 o 51.

En ciertos casos, la presente divulgación contempla mutaciones específicas de los polipéptidos de T β RII, a fin de alterar la glicosilación del polipéptido. Dichas mutaciones pueden seleccionarse para introducir o eliminar uno o más sitios de glicosilación, como los sitios de O-glicosilación o N-glicosilación. Los sitios de reconocimiento de glicosilación ligados a la asparagina comprenden generalmente una secuencia de tripéptido, asparagina-X-treonina (o asparagina-X-serina) (donde "X" es cualquier aminoácido) que es reconocido específicamente por las enzimas de glicosilación celulares adecuadas. La alteración también puede realizarse mediante la adición de o la sustitución por, uno o más restos de serina o treonina en la secuencia del polipéptido T β RII de tipo silvestre (para los sitios de O-glicosilación). Diversas sustituciones o eliminaciones de aminoácidos en una o ambas de las posiciones de aminoácidos primera o tercera de un sitio de reconocimiento de glicosilación (y/o la eliminación del aminoácido en la segunda posición) da como resultado la ausencia de glicosilación en la secuencia de tripéptido modificada. Otro medio para aumentar el número de restos de carbohidratos en un polipéptido de T β RII es mediante acoplamiento químico o enzimático de glicósidos al polipéptido de T β RII. En función del modo de acoplamiento utilizado, los azúcares pueden unirse a (a)

arginina e histidina; (b) grupos carboxilo libres; (c) grupos sulfhidrilo libres, tales como los de la cisteína; (d) grupos hidroxilo libres, tales como los de la serina, treonina o hidroxiprolina; (e) restos aromáticos, tales como los de la fenilalanina, tirosina o triptófano; o (f) el grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en el documento WO 87/05330 publicado el 11 de septiembre de 1987 y en Aplin y Wriston (1981) CRC Crit. Rev. Biochem., págs. 259-306. La eliminación de uno o más restos de carbohidratos presentes en un polipéptido de T β RII puede realizarse química y/o enzimáticamente. La desglicosilación química puede implicar, por ejemplo, exposición del polipéptido de T β RII al compuesto de ácido trifluorometanosulfónico, o a un compuesto equivalente. Este tratamiento provoca la escisión de la mayoría o de todos los azúcares excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), dejando intacta la secuencia de aminoácidos. La desglicosilación química se describe con más detalle en Hakimuddin *et al.* (1987) Arch. Biochem. Biophys. 259:52 y por Edge *et al.* (1981) Anal. Biochem. 118:131. La escisión enzimática de restos de hidratos de carbono en polipéptidos de T β RII se puede lograr mediante el uso de diversas endo y exoglicosidasas como se describe por Thotakura *et al.* (1987) Meth. Enzymol. 138:350. La secuencia de un polipéptido de T β RII puede ajustarse, según sea adecuado, en función del tipo de sistema de expresión utilizado, ya que las células de mamíferos, levaduras, insectos y plantas pueden introducir diferentes patrones de glicosilación que pueden verse afectados por la secuencia de aminoácidos del péptido. En general, los polipéptidos de T β RII para uso en seres humanos se expresarán en una línea celular de mamífero que proporcione la glicosilación adecuada, como las líneas celulares HEK293 o CHO, aunque se espera que también sean útiles otras líneas celulares de expresión en mamíferos, líneas celulares de levadura con enzimas de glicosilación modificadas y células de insectos.

La presente divulgación contempla además un método para generar mutantes, en particular conjuntos de mutantes combinatorios de un polipéptido de T β RII, así como mutantes de truncamiento; los grupos de mutantes combinatorios son especialmente útiles para identificar secuencias variantes funcionales. El objetivo del cribado de dichas bibliotecas combinatorias puede ser generar, por ejemplo, variantes del polipéptido de T β RII que pueden actuar como agonistas o antagonistas, o como alternativa, que poseen actividades novedosas en conjunto. A continuación se describen diversos ensayos de cribado que pueden utilizarse para evaluar las variantes. Por ejemplo, una variante de polipéptido de T β RII puede examinarse para determinar su capacidad de unirse a un ligando de T β RII, impedir la unión de un ligando T β RII a un polipéptido de T β RII o interferir con la señalización causada por un ligando de T β RII. La actividad de un polipéptido de T β RII o sus variantes también puede probarse en un ensayo celular o *in vivo*, particularmente cualquiera de los ensayos descritos en los ejemplos.

Pueden generarse variantes obtenidas por medios combinatorios que tienen una potencia selectiva o generalmente aumentada en relación con un polipéptido de T β RII que comprende un dominio extracelular de un polipéptido de T β RII de origen natural. Asimismo, la mutagénesis puede dar lugar a variantes que tienen semividas en suero drásticamente diferentes a las del polipéptido de T β RII de tipo silvestre correspondiente. Por ejemplo, la proteína alterada puede hacerse más estable o menos estable a la degradación proteolítica o a otros procesos que dan como resultado la destrucción o de otro modo la eliminación o inactivación de, un polipéptido de T β RII nativo. Dichas variantes y los genes que las codifican, pueden utilizarse para alterar las concentraciones de polipéptido de T β RII modulando la semivida de los polipéptidos de T β RII. Por ejemplo, una semivida corta puede dar lugar a efectos biológicos más transitorios y permitir un control más estricto de las concentraciones del polipéptido de T β RII recombinante en el paciente. En una proteína de fusión con Fc, las mutaciones pueden realizarse en el enlazador (si existe) y/o en la porción Fc para alterar la semivida de la proteína.

Puede producirse una biblioteca combinatoria a partir de una biblioteca degenerada de genes que codifican una biblioteca de polipéptidos que incluyen en cada caso al menos una porción de posibles secuencias polipeptídicas de T β RII. Por ejemplo, puede ligarse enzimáticamente una mezcla de oligonucleótidos sintéticos a secuencias génicas de modo que el conjunto degenerado de secuencias de nucleótidos de los posibles polipéptidos de T β RII pueda expresarse como polipéptidos individuales, o como alternativa, como un conjunto de proteínas de fusión más grandes (por ejemplo, para la presentación en fagos).

Hay muchas formas de generar la biblioteca de posibles variantes del polipéptido de T β RII a partir de una secuencia oligonucleotídica degenerada. La síntesis química de una secuencia génica degenerada puede realizarse en un sintetizador automatizado de ADN, y los genes sintéticos entonces se ligan en un vector adecuado para su expresión. La síntesis de los oligonucleótidos degenerados es bien conocida en la técnica (véase, por ejemplo, Narang, SA (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura *et al.*, (1981) Recombinant DNA, Proc. 3rd Cleveland Sympos. Macromolecules, ed. AG Walton, Ámsterdam: Elsevier págs. 273-289; Itakura *et al.*, (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura *et al.*, (1984) Science 198:1056; Ike *et al.*, (1983) Nucleic Acid Res. 11:477). Dichas técnicas se han empleado en la evolución dirigida de otras proteínas (véase, por ejemplo, Scott *et al.*, (1990) Science 249:386-390; Roberts *et al.*, (1992) PNAS USA 89:2429-2433; Devlin *et al.*, (1990) Science 249: 404-406; Cwirla *et al.*, (1990) PNAS USA 87: 6378-6382; así como las patentes de los Estados Unidos n.º: 5.223.409, 5.198.346 y 5.096.815).

Como alternativa, pueden utilizarse otras formas de mutagénesis para generar una biblioteca combinatoria. Por ejemplo, las variantes del polipéptido de T β RII pueden generarse y aislarse de una biblioteca mediante cribado usando, por ejemplo, mutagénesis de barrido de alanina y similares (Ruf *et al.*, (1994) Biochemistry 33:1565-1572; Wang *et al.*, (1994) J. Biol. Chem. 269:3095-3099; Balint *et al.*, (1993) Gene 137:109-118; Grodberg *et al.*, (1993) Eur. J. Biochem. 218:597-601; Nagashima *et al.*, (1993) J. Biol. Chem. 268:2888-2892; Lowman *et al.*, (1991) Biochemistry 30:10832-10838; y Cunningham *et al.*, (1989) Science 244:1081-1085), por mutagénesis de barrido del enlazador (Gustin *et al.*,

(1993) *Virology* 193:653-660; Brown *et al.*, (1992) *Mol. Cell Biol.* 12:2644-2652; McKnight *et al.*, (1982) *Science* 232:316; mediante mutagénesis de saturación (Meyers *et al.*, (1986) *Science* 232:613); mediante mutagénesis por PCR (Leung *et al.*, (1989) *Method Cell Mol Biol* 1:11-19); o por mutagénesis aleatoria, incluyendo mutagénesis química, etc. (Miller *et al.*, (1992) *A Short Course in Bacterial Genetics*, CSHL Press, Cold Spring Harbor, Nueva York; y Greener *et al.*, (1994) *Strategies in Mol Biol* 7:32-34). La mutagénesis por barrido con enlazador, particularmente en un entorno de combinación, es un método atractivo para identificar formas truncadas (bioactivas) de los polipéptidos de T β RII.

En la técnica se conoce una amplia gama de técnicas para cribar productos génicos de bibliotecas combinatorias preparadas mediante mutaciones puntuales y truncamientos y, por esa cuestión, para cribar colecciones de ADNc en busca de productos génicos que tengan una determinada propiedad. Dichas técnicas serán generalmente adaptables para el cribado rápido de las bibliotecas de genes generadas mediante la mutagénesis combinatoria de polipéptidos de T β RII. Las técnicas más ampliamente usadas para cribar grandes genotecas normalmente comprenden clonar la genoteca en vectores de expresión replicables, transformar las células adecuadas con la colección resultante de vectores y expresar los genes combinatorios en condiciones en las que la detección de una actividad deseada facilita el aislamiento relativamente fácil del vector que codifica el gen cuyo producto se detectó. Los ensayos preferidos incluyen ensayos de unión de ligando de T β RII y ensayos de señalización celular mediada por ligando.

En ciertos casos, los polipéptidos de T β RII de la divulgación pueden comprender además modificaciones postraduccionales además de cualquiera de las presentes de manera natural en los polipéptidos de T β RII. Dichas modificaciones incluyen, pero sin limitación, acetilación, carboxilación, glucosilación, fosforilación, lipidación, pegilación (polietilenglicol) y acilación. Como resultado, los polipéptidos de T β RII modificados pueden contener elementos que no son aminoácido, tales como polietilenglicol, lípidos, monosacáridos o polisacáridos, y fosfatos. Los efectos de tales elementos no aminoacídicos sobre la funcionalidad de un polipéptido de T β RII pueden ensayarse como se describe en el presente documento para otras variantes del polipéptido de T β RII. Cuando se produce un polipéptido de T β RII en las células mediante la escisión de una forma naciente del polipéptido de T β RII, el procesamiento postraducciona también puede ser importante para el correcto plegamiento y/o función de la proteína. Diferentes células (tales como CHO, HeLa, MDCK, 293, WI38, NIH-3T3 o HEK-293) tienen una maquinaria celular específica y mecanismos característicos para dichas actividades postraduccionales y pueden elegirse para garantizar la modificación y el procesamiento correctos de los polipéptidos de T β RII.

3. Enlazadores

La divulgación proporciona proteínas de fusión de T β RII, y en estos casos, la porción de T β RII está conectada a la porción heteróloga (por ejemplo, la porción de Fc) mediante un enlazador. En algunos casos, los enlazadores son enlazadores ricos en glicina y serina. Otros aminoácidos casi neutros, tales como, pero sin limitación, Thr, Asn, Pro y Ala, también pueden usarse en la secuencia enlazadora. En algunos casos, el enlazador comprende varias permutaciones de secuencias de aminoácidos que contienen Gly y Ser. En algunos casos, el enlazador tiene una longitud de más de 10 aminoácidos. En casos adicionales, los enlazadores tienen una longitud de al menos 12, 15, 20, 21, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos. En algunos casos, el enlazador tiene menos de 40, 35, 30, 25, 22 o 20 aminoácidos. En algunos casos, el enlazador tiene una longitud de 10-50, 10-40, 10-30, 10-25, 10-21, 10-15, 10, 15-25, 17-22, 20 o 21 aminoácidos. En casos preferidos, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GlyGlyGlyGlySer (GGGGS) (SEQ ID NO: 19), o repeticiones de la misma (GGGGS) $_n$, donde $n \geq 2$. En casos específicos, $n \geq 3$, o $n = 3-10$. La solicitud enseña el sorprendente descubrimiento de que las proteínas que comprenden una porción de T β RII y una porción heteróloga fusionadas mediante un enlazador (GGGGS) $_4$ se asociaron con una mayor afinidad por TGF β 1 y TGF β 3 en comparación con una proteína de fusión de T β RII donde $n < 4$. Por tanto, en casos preferidos, $n \geq 4$ o $n = 4-10$. La solicitud también enseña que las proteínas que comprenden enlazadores (GGGGS) $_n$ en los que $n > 4$, tenían propiedades inhibitoras similares a las proteínas que tenían el enlazador (GGGGS) $_4$. Por tanto, en algunos casos, n no es mayor que 4 en un enlazador (GGGGS) $_n$. En algunos casos, $n = 4-10$, 4-9, 4-8, 4-7, 4-6, 4-5, 5-8, 5-7 o 5-6. En algunos casos, $n = 3, 4, 5, 6$ o 7. En casos particulares, $n = 4$. En algunos casos, un enlazador que comprende una secuencia (GGGGS) $_n$ también comprende una treonina aminoterminal. En algunos casos, el enlazador es uno cualquiera de los siguientes:

GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 21)
 TGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 4)
 TGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 5)
 TGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 6)
 TGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 25)
 TGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 26) o
 TGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 40).

En algunos casos, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de TGGGPKSCDK (SEQ ID NO: 7). En algunos casos, el enlazador es una cualquiera de las SEQ ID NO: 21, 4-7, 25-26 o 40 que carece de la treonina aminoterminal. En algunos casos, el enlazador no comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 26 o 40.

4. Porciones heterólogas

En ciertos casos, las variantes funcionales o las formas modificadas de los polipéptidos de T β RII incluyen proteínas de fusión que tienen al menos una porción de los polipéptidos de T β RII y una o más porciones heterólogas. Algunos ejemplos bien conocidos de dichas porciones heterólogas incluyen, pero sin limitación, polihistidina, Glu-Glu, glutatión S transferasa (GST), tioredoxina, proteína A, proteína G, una región constante de cadena pesada de inmunoglobulina (Fc), proteína de unión a maltosa (MBP) o seroalbúmina humana. Puede seleccionarse una porción heteróloga para conferir una propiedad deseada. Por ejemplo, algunas porciones heterólogas son particularmente útiles para el aislamiento de las proteínas de fusión mediante cromatografía de afinidad. Para la purificación por afinidad, se utilizan matrices adecuadas para la cromatografía de afinidad, como las resinas conjugadas con glutatión, amilasa y níquel o cobalto. Muchas de estas matrices están disponibles en forma de "kit", como el sistema de purificación Pharmacia GST y el sistema QIAexpress™ (Qiagen) útil con compañeros de fusión de (HIS₆). Como otro ejemplo, puede seleccionarse una porción heteróloga a fin de facilitar la detección de los polipéptidos de T β RII. Algunos ejemplos de dichos dominios de detección incluyen diversas proteínas fluorescentes (por ejemplo, GFP), así como "marcadores epitópicos", que habitualmente son secuencias peptídicas cortas para las que hay un anticuerpo específico disponible. Entre los marcadores epitópicos más conocidos para los que existen anticuerpos monoclonales específicos incluyen FLAG, hemaglutinina del virus de la gripe (HA) y marcadores c-myc. En algunos casos, las porciones heterólogas tienen un sitio de escisión por proteasas, tal como para factor Xa o trombina, que permite que la proteasa pertinente digiera parcialmente las proteínas de fusión y libere de ese modo las proteínas recombinantes de las mismas. A continuación, pueden aislarse las proteínas liberadas de la porción heteróloga mediante separación cromatográfica posterior. En algunos casos preferidos, el polipéptido de T β RII se fusiona con un dominio que estabiliza el polipéptido de T β RII *in vivo* (un dominio "estabilizador"). Por "estabilización" se entiende cualquier cosa que aumente la semivida en suero, independientemente de si esto se debe a una disminución de la destrucción, una disminución del aclaramiento renal o a otro efecto farmacocinético. Se sabe que las fusiones con la porción Fc de una inmunoglobulina confieren propiedades farmacocinéticas deseables a una gran variedad de proteínas. Asimismo, las fusiones con seroalbúmina humana pueden conferir propiedades deseables. Otros tipos de porciones heterólogas que pueden seleccionarse incluyen dominios de multimerización (por ejemplo, de dimerización, tetramerización) y dominios funcionales.

Como ejemplos específicos, la presente divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden variantes de polipéptidos de T β RII fusionados a una secuencia de dominio Fc de SEQ ID NO: 20. Opcionalmente, el dominio Fc tiene una o más mutaciones en restos como Asp-265, Lys-322 y Asn-434 (numerados de acuerdo con la IgG de longitud completa correspondiente). En determinados casos, el dominio Fc mutante que tiene una o más de estas mutaciones (por ejemplo, la mutación Asp-265) tiene una capacidad reducida de unión al receptor Fc γ en relación con un dominio Fc de tipo silvestre. En otros casos, el dominio Fc mutante que tiene una o más de estas mutaciones (por ejemplo, la mutación Asn-434) tiene una capacidad de unión aumentada al receptor Fc relacionado con MHC de clase I (FcRN) en relación con un dominio Fc de tipo silvestre.

Se entiende que diferentes elementos de las proteínas de fusión se pueden disponer de cualquier manera que esté en consonancia con la funcionalidad deseada. Por ejemplo, un polipéptido de T β RII puede colocarse en posición carboxilterminal respecto de un dominio heterólogo, o, como alternativa, puede colocarse un dominio heterólogo en posición carboxilterminal respecto de un polipéptido de T β RII. El dominio de polipéptido de T β RII y el dominio heterólogo no están necesariamente adyacentes en una proteína de fusión y pueden incluirse dominios o secuencias de aminoácidos adicionales en posición carboxilterminal o aminoterminal en cualquiera de los dos dominios o entre los dominios.

Como se usa en el presente documento, se entiende que la expresión "dominio Fc de inmunoglobulina" o simplemente "Fc" significa la porción carboxilterminal de una región constante de cadena de inmunoglobulina, preferiblemente una región constante de cadena pesada de inmunoglobulina o una parte de la misma. Por ejemplo, una región Fc de inmunoglobulina puede comprender 1) un dominio CH1, un dominio CH2 y un dominio CH3, 2) un dominio CH1 y un dominio CH2, 3) un dominio CH1 y un dominio CH3, 4) un dominio CH2 y un dominio CH3 o 5) una combinación de dos o más dominios y una región de bisagra de inmunoglobulina. En un ejemplo preferido, la región Fc de inmunoglobulina comprende al menos una región bisagra de inmunoglobulina, un dominio CH2 y un dominio CH3, y preferiblemente carece del dominio CH1. En algunos casos, la región Fc de inmunoglobulina es una región Fc de inmunoglobulina humana.

En un caso, la clase de inmunoglobulina de la que se obtiene la región constante de cadena pesada es IgG (Igy) (subclases γ 1, 2, 3 o 4). Pueden utilizarse otras clases de inmunoglobulina, IgA (Iga), IgD (Ig δ), IgE (Ige) e IgM (Igm). La elección de las regiones constantes de cadena pesada de inmunoglobulina apropiadas se analiza en detalle en las patentes de Estados Unidos n.º 5.541.087 y 5.726.044. La elección de las secuencias de la región constante de cadena pesada de inmunoglobulina particulares para determinadas clases y subclases de inmunoglobulina para conseguir un resultado particular se considera dentro del nivel de habilidad en la técnica. La porción de la construcción de ADN que codifica la región Fc de inmunoglobulina comprende preferiblemente al menos una parte de un dominio bisagra y preferiblemente al menos una parte de un dominio CH₃ de Fc gamma o los dominios homólogos en cualquiera de IgA, IgD, IgE o IgM.

Además, se contempla que la sustitución o eliminación de aminoácidos en las regiones constantes de cadena pesada de inmunoglobulina pueden ser útiles en la práctica de los métodos y composiciones divulgados en el presente

documento. Un ejemplo sería introducir sustituciones de aminoácidos en la región CH2 superior para crear una variante de Fc con afinidad reducida por los receptores de Fc (Cole *et al.* (1997) J. Immunol. 159:3613).

En algunos casos, la divulgación proporciona proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 11, 13, 15 y 17, o fragmentos biológicamente activos de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 11, 13 y 15, o fragmentos biológicamente activos de las mismas.

En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 50, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 51, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 52, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 53, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 54, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 55, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, las proteínas de fusión con polipéptidos de TβRII comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 56, o un fragmento biológicamente activo de las mismas. En algunos casos, la proteína de fusión con polipéptidos de TβRII comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 o un fragmento biológicamente activo de la misma.

En algunos casos, las proteínas de fusión descritas en el presente documento tienen afinidad de unión mejorada por TGFβ1 y TGFβ3. En algunos casos, una proteína de fusión que comprende un enlazador de al menos 10 aminoácidos de longitud (por ejemplo, una proteína de fusión que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 11, 13, 15 y 50-56), tiene afinidad de unión mejorada por TGFβ1 y TGFβ3, en comparación con una proteína de fusión de referencia (por ejemplo, una proteína de fusión que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la proteína de fusión se une a TGFβ1 con una K_D inferior a 200 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM, inferior a 50 pM o inferior a 25 pM. En algunas realizaciones, la proteína de fusión se une a TGFβ3 con una K_D inferior a 75 pM, inferior a 70 pM, inferior a 60 pM, inferior a 50 pM, inferior a 40 pM, inferior a 35 pM, inferior a 25 pM, inferior a 15, inferior a 10 o inferior a 5 pM.

En algunas realizaciones, cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento inhiben a TGFβ1 y/o TGFβ3 en un ensayo medible. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGFβ1 con una CI₅₀ inferior a 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,08, 0,09, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03 o 0,02 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunos casos, el polipéptido inhibe el TGFβ3 con una CI₅₀ inferior a 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03 o 0,02 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador. En algunas realizaciones, el ensayo de gen indicador es un ensayo de gen indicador CAGA. En algunos casos, el ensayo de CAGA se basa en una línea celular de carcinoma de pulmón humano transfectada con un plásmido indicador pGL3(CAGA)12 (Dennler *et al.*, 1998, EMBO 17: 3091-3100), así como un plásmido indicador de Renilla (pRLCMV) para controlar la eficacia de la transfección. El motivo CAGA está presente en los promotores de genes que responden a TGFβ (por ejemplo, PAI-1), por lo que este vector es de uso general para factores que señalizan a través de SMAD2 y SMAD3. Véase, por ejemplo, el ejemplo 2.

5. Polipéptidos de fusión

En algunos casos, la divulgación proporciona polipéptidos de fusión que contienen TβRII. Los polipéptidos de fusión pueden prepararse según cualquiera de los métodos descritos en el presente documento o conocidos en la técnica.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos de fusión divulgados en el presente documento comprende los siguientes componentes: a) cualquiera de los polipéptidos de TβRII divulgados en el presente documento ("A"), b) cualquiera de los enlazadores divulgados en el presente documento ("B"), c) cualquiera de las porciones heterólogas divulgadas en el presente documento ("C"), y opcionalmente un enlazador ("X"). En dichos casos, el polipéptido de

fusión puede disponerse de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): A-B-C o C-B-A. En dichos casos, el polipéptido de fusión puede disponerse de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-A-B-C o X-C-B-A. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende cada uno de A, B y C (y, opcionalmente, una secuencia líder como la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 23), y comprende no más de 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que pueden incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación).

En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-A-B-C y el polipéptido de fusión comprende 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos entre X y A. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-C-B-A, y el polipéptido de fusión comprende 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos entre X y C. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-A-B-C, y el polipéptido de fusión comprende una alanina entre X y A. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-C-B-A, y el polipéptido de fusión comprende una alanina entre X y C. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-A-B-C, y el polipéptido de fusión comprende una glicina y una alanina entre X y A. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-C-B-A, y el polipéptido de fusión comprende una glicina y una alanina entre X y C. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-A-B-C, y el polipéptido de fusión comprende una treonina entre X y A. En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23) posicionada de la siguiente manera (de aminoterminal a carboxiloterminal): X-C-B-A, y el polipéptido de fusión comprende una treonina entre X y C.

En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias de aminoácidos del polipéptido de T β R β II divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 18), en donde la porción del polipéptido de T β R β II del polipéptido de fusión comprende no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación). En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias enlazadoras divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 6), en donde la porción enlazadora del polipéptido de fusión comprende no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación). En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias de la porción heteróloga divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 20), en donde la porción heteróloga del polipéptido de fusión comprende no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación). En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende cualquiera de las secuencias de aminoácidos del polipéptido de T β R β II divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 18), en donde la porción de polipéptido de T β R β II del polipéptido de fusión comprende no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación). En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende cualquiera de las secuencias enlazadoras divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 6), en donde la porción enlazadora del polipéptido de fusión comprende no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación). En algunos casos, el polipéptido de fusión comprende cualquiera de las secuencias de porción heteróloga divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 20), en donde la porción heteróloga del polipéptido de fusión comprende no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación).

En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión, en donde el polipéptido de fusión consiste o consiste esencialmente en (y no necesariamente en el siguiente orden): a) una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias de aminoácidos del polipéptido de T β R β II divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 18), en donde la porción del polipéptido de T β R β II del polipéptido de fusión comprende no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); b) una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias enlazadoras divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 6), en donde la porción enlazadora del polipéptido de fusión comprende no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); y c) una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias de la porción heteróloga divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 20), en donde la porción heteróloga del polipéptido de fusión comprende no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23). En algunos casos,

la divulgación proporciona un polipéptido de fusión, en donde el polipéptido de fusión consiste o consiste esencialmente en (y no necesariamente en el siguiente orden): a) cualquiera de las secuencias de aminoácidos del polipéptido de TβRII divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 18), en donde la porción del polipéptido de TβRII del polipéptido de fusión comprende no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); b) cualquiera de las secuencias enlazadoras divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 6), en donde la porción enlazadora del polipéptido de fusión comprende no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); y c) cualquiera de las secuencias de porción heteróloga divulgadas en el presente documento (por ejemplo, el SEQ ID NO: 20), en donde la porción heteróloga del polipéptido de fusión comprende no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23).

En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión que consiste o consiste esencialmente en (y no necesariamente en el siguiente orden): a) una porción de polipéptido de TβRII que consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18 y no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación); b) una porción enlazadora que consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6 y no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación); y c) una porción heteróloga que consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20 y no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación); y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23). En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión que consiste o consiste esencialmente en (y no necesariamente en el siguiente orden): a) una porción de polipéptido de TβRII que consiste en la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18 y no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación); b) una porción enlazadora que consiste en la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6 y no más de 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir otras modificaciones postraduccionales, tales como PEGilación); y c) una porción heteróloga que consiste en la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20 y no más de 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, o 1 aminoácidos adicionales (pero que puede incluir modificaciones postraduccionales adicionales, tales como PEGilación); y d) opcionalmente una secuencia líder (por ejemplo, el SEQ ID NO: 23).

En algunos casos, la proteína de fusión no comprende una secuencia líder. En algunos casos, la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48.

TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFVRFSTCDNQK
SCMSNCSITSICEKPQEVCAVVRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETF
FMCSCSSDECNDNIIFSEYNTSNPDTGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 48).

En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión de TβRII en donde el polipéptido no comprende un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo. En algunos casos, el polipéptido no se une con afinidad apreciable a una citocina que no sea un ligando de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (por ejemplo, TGFβ1, TGFβ2 y/o TGFβ3). En algunos casos, el polipéptido no se une con afinidad apreciable a una citocina distinta de TGFβ1 y/o TGFβ3. En algunos casos, el polipéptido no se une con afinidad apreciable a CD4, CD8, CD25, CTLA-4, IL-10, receptor de TGFβ, PD-1, PD-L1, PD-L2, RANK, RANKL, HER2/neu, EGFR1, CD20, VEGF, TNF-α, TNFR2, FoxP3, CD80, CD86, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, GITR, 4-1BB, OX-40, TLR1-10, ErbB-1, HER1, ErbB-3/HER3, ErbB-4/HER4, IGFR, IGFBP, IGF-1R, PDGFR, FGFR, VEGFR, HGFR, receptor de TRK, receptor de efrina, receptores de AXL, receptores de LTK, receptores de TIE, angiopoyetina 1,2, receptor de ROR, receptor de DDR, receptor de RET, receptor de KLG, receptor de RYK, receptor MuSK, ILβR, IlαR, TNTRSF, receptor de TRAIL, ARTC1, alfa-actinina-4, Bcr-abl, B-RAF, caspasas, beta-catenina, fibronectina, GPNMB, PIB-L, LDLR, HLA-A2, MLA-A11, HSP70, KIAA205, MART2, MUM-1, 2, 3, PAP, neo-PAP, NFYC, OGT, OS-9, proteína de fusión pml-RARalfa, PRDX5, PTPRK, KRAS2, NRAS, HRAS, RBAF600, SIRT2, SNRPD1, proteína de fusión SYT-SSX1 o -SSX2, triosafosfato isomerasa, BAGE, BAGE-1, BAGE-2, 3, 4, 5, GAGE-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, GnT-V, HERV-K MEL, KK-LC, KM-HN-1, LAGE, LAGE-1, CAMEL, MAGE-1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-AS, MAGE-A6, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-3, MAGE-B1, MAGE-B2, MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-C1, MAGE-C2, mucina 1 (MUC1), MART-1/Melan-A (MLANA), gp100, gp100/Pme117 (S1LV), tirosinasa (TYR), TRP-1, HAGE, NA-88, NY-ESO-1, NY-ESO-

1/LAGE-2, SAGE, Sp17. SSX-1, 2, 3, 4, TRP2-1NT2, antígeno carcinoembrionario (CEA), Kallikfeína 4, mammaglobina-A, OA1, antígeno específico de próstata (PSA), antígeno de membrana específico de próstata, TRP-1/, 75. TRP-2, AIM-2. BING-4, CPSF, ciclina D1, Ep-CAM, EpbA3, FGF-5, gp250, iCE), AFP, M-CSF, mdm-2, MUC1, p53 (TP53), PBF, FRAME, PSMA, RAGE-1. RNF43, RU2AS, SOX10, STEAP1, survivina (BIRC5), hTERT, telomerasa, WT1, SYCP1, BRDT, SPANX, XAGE, ADAM2, PAGE-5, LIP1, CTAGE-1, CSAGE, MMA1, CAGE, BORIS, HOM-TES-85, AF15q14, HCA66I, LDHC, MORC, SGY-1, SPO11, TPX1, NY-SAR-35, FTHL17, NXF2, TDRD1, TEX 15, FATE, TPTE, receptor de estrógenos (ER), receptor de andrógenos (AR), CD40, CD30, CD20, CD19, CD33, CD4, CD25, CD3, CA 72-4, CA 15-3, CA 27-29, CA 125, CA 19-9, gonadotropina coriónica humana beta, 1-2 microglobulina, antígeno del carcinoma epidermoide, enoJasa neuronal específica, proteína de choque térmico gp96, GM2, sargramostim, CTLA-4, 707-AP, ART-4, CAP-1, CLCA2, Cyp-B, HST-2, proteínas del VPH, proteínas del VEB, proteínas de los virus de la hepatitis B o C y/o proteínas del VIH.

En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión de T β RII en donde el polipéptido no comprende un dominio de unión a ligando adicional además del dominio de T β RII. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia lineal de aminoácidos que comprende un dominio de T β RII y una porción heteróloga (por ejemplo, una porción Fc), pero la secuencia lineal de aminoácidos no comprende ningún dominio adicional de unión al ligando. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia lineal de aminoácidos que comprende un dominio de T β RII y una porción Fc, pero la secuencia lineal de aminoácidos no comprende ningún dominio adicional de unión al ligando. En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión de T β RII en donde el polipéptido no comprende múltiples dominios de unión a ligando en una única secuencia lineal de aminoácidos. En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión de T β RII en donde el polipéptido no comprende más de una secuencia enlazadora continua en una única secuencia lineal de aminoácidos. En algunos casos, el polipéptido no comprende múltiples enlazadores continuos de glicina y/o serina (por ejemplo, un enlazador que comprende (GGGGS)_n, en donde n = $\geq$ 4) en una única secuencia lineal de aminoácidos. En algunos casos, la divulgación proporciona un polipéptido de fusión de T β RII en donde la porción heteróloga es un dominio Fc, y en donde solo un enlazador continuo está unido covalentemente al dominio Fc. En algunos casos, el único enlazador continuo comprende o consiste en un enlazador (GGGGS)_n, en donde n = $\geq$ 4.

6. Ácidos nucleicos y métodos de fabricación

En ciertos casos, la presente divulgación pone a disposición formas aisladas y/o purificadas de las proteínas de fusión de polipéptidos de T β RII, que se aíslan de, o de otro modo están sustancialmente libres de (por ejemplo, al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % libres de), otras proteínas y/u otras especies de polipéptidos de T β RII. Los polipéptidos de T β RII se producirán generalmente por expresión a partir de ácidos nucleicos recombinantes.

En ciertos casos, la divulgación incluye ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de T β RII solubles que comprenden la secuencia codificante para una porción extracelular de una proteína T β RII. En casos adicionales, la presente divulgación también se refiere a una célula hospedadora que comprende dichos ácidos nucleicos. La célula hospedadora puede ser cualquier célula procariota o eucariota. Por ejemplo, un polipéptido de la presente divulgación puede expresarse en células bacterianas como *E. coli*, células de insecto (por ejemplo, usando un sistema de expresión de baculovirus), levadura o células de mamífero. Otras células hospedadoras adecuadas son conocidas por los expertos en la materia. Por consiguiente, algunos casos de la presente divulgación se refieren además a métodos de producción de los polipéptidos de T β RII.

En ciertos casos, la divulgación proporciona ácidos nucleicos aislados y/o recombinantes que codifican cualquiera de los polipéptidos de T β RII, incluidos fragmentos, variantes funcionales y proteínas de fusión divulgadas en el presente documento. Las SEQ ID NO: 10, 12 y 14 codifican variantes de dominio extracelular de T β RII fusionadas a un dominio Fc de IgG. Los presentes ácidos nucleicos pueden ser monocatenarios o bicatenarios. Dichos ácidos nucleicos pueden ser moléculas de ADN o ARN. Pueden utilizarse estos ácidos nucleicos, por ejemplo, en métodos para producir polipéptidos de T β RII o como agentes terapéuticos directos (por ejemplo, en una estrategia de antisentido, de iARN o de terapia génica).

En ciertos casos, se entiende además que los presentes ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de T β RII incluyen ácidos nucleicos que son variantes de las SEQ ID NO: 10, 12 y 14. Las secuencias de nucleótidos variantes incluyen secuencias que difieren por una o más sustituciones, adiciones o eliminaciones de nucleótidos, tales como variantes alélicas.

En ciertos casos, la divulgación proporciona secuencias de ácido nucleico aisladas o recombinantes que son al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idénticas a las SEQ ID NO: 10, 12 y 14. En casos particulares, la divulgación proporciona secuencias de ácido nucleico aisladas o recombinantes que son al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idénticas al SEQ ID NO: 12, o fragmentos de las mismas. Un experto en la materia apreciará que las secuencias de ácido nucleico complementarias a las SEQ ID NO: 10, 12 y 14 y variantes de las SEQ ID NO: 10, 12 y 14 también entran dentro del ámbito de la presente divulgación. En casos adicionales, las secuencias de ácido nucleico de la divulgación pueden estar aisladas, ser recombinantes y/o estar fusionadas con una secuencia de nucleótidos heteróloga, o en una biblioteca de ADN.

En otros casos, los ácidos nucleicos de la divulgación también incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones muy rigurosas con las secuencias de nucleótidos designadas en las SEQ ID NO: 10, 12 y 14, secuencias complementarias de las SEQ ID NO: 10, 12 y 14, o fragmentos de las mismas. Como se ha analizado anteriormente, un experto en la materia entenderá fácilmente que pueden variarse las condiciones de rigurosidad apropiadas que promueven la hibridación del ADN. Por ejemplo, podría realizarse la hibridación en cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) 6,0 x a aproximadamente 45 °C, seguido por un lavado de SSC 2,0 x a 50 °C. Por ejemplo, la concentración salina en la etapa de lavado puede seleccionarse de una baja rigurosidad de aproximadamente SSC 2,0 x a 50 °C hasta una alta rigurosidad de aproximadamente SSC 0,2 x a 50 °C. Además, la temperatura en la etapa de lavado puede aumentarse de condiciones de baja rigurosidad a temperatura ambiente, aproximadamente 22 °C, hasta condiciones de alta rigurosidad a aproximadamente 65 °C. Tanto la temperatura como la salinidad pueden variarse, o la temperatura o la concentración salina pueden mantenerse constantes mientras se cambia la otra variable. En algunos casos, la divulgación proporciona ácidos nucleicos que hibridan en condiciones de baja rigurosidad de SSC 6 x a temperatura ambiente seguido por un lavado a SSC 2 x a temperatura ambiente.

También se encuentran dentro del alcance de la divulgación ácidos nucleicos aislados que difieren de los ácidos nucleicos expuestos en las SEQ ID NO: 10, 12 y 14 debido a la degeneración del código genético. Por ejemplo, varios aminoácidos están designados por más de un triplete. Los codones que especifican el mismo aminoácido, o sinónimo (por ejemplo, CAU y CAC son sinónimos para histidina) pueden provocar mutaciones "silenciosas" que no afectan a la secuencia de aminoácidos de la proteína. Sin embargo, se espera que existan polimorfismos de secuencia de ADN que den lugar a cambios en las secuencias de aminoácidos de las presentes proteínas entre células de mamífero. Un experto en la materia apreciará que estas variaciones en uno o más nucleótidos (hasta aproximadamente un 3-5 % de los nucleótidos) de los ácidos nucleicos que codifican una proteína particular puedan existir entre individuos de una especie dada debido a variación alélica natural. Todas y cada una de estas variaciones de nucleótidos y polimorfismos resultantes de aminoácido están dentro del alcance de la presente divulgación.

Un experto en la materia apreciará que las variantes correspondientes basadas en la isoforma larga de T β R11 incluirán secuencias de nucleótidos que codifican la inserción de 25 aminoácidos, junto con una sustitución conservadora Val-Ile en la posición flanqueante carboxilterminal a la inserción. También se apreciará que las variantes correspondientes basadas en las isoformas larga (A) o corta (B) de T β R11 incluirán secuencias de nucleótidos variantes que comprenden una inserción de 108 nucleótidos, que codifica una inserción de 36 aminoácidos (SEQ ID NO: 41), en el mismo lugar descrito para la isoforma C de T β R11 de origen natural.

En ciertos casos, los ácidos nucleicos recombinantes de la divulgación pueden estar unidos operablemente a una o más secuencias nucleotídicas reguladoras en una construcción de expresión. Las secuencias de nucleótidos reguladoras generalmente serán apropiadas para una célula hospedadora usada para la expresión. Se conocen numerosos tipos de vectores de expresión apropiados y secuencias reguladoras adecuadas en la técnica para diversas células hospedadoras. Normalmente, dichas una o más secuencias de nucleótidos reguladoras pueden incluir, pero sin limitación, secuencias promotoras, secuencias líder o señal, sitios de unión a ribosomas, secuencias de inicio y terminación de la transcripción, secuencias de inicio y terminación de la traducción y secuencias potenciadoras o activadoras. La divulgación contempla promotores constitutivos o inducibles como se conocen en la técnica. Los promotores pueden ser promotores de origen natural o promotores híbridos que combinan elementos de más de un promotor. Una construcción de expresión puede estar presente en una célula en un episoma, tal como un plásmido, o la construcción de expresión puede insertarse en un cromosoma. En un caso preferido, el vector de expresión contiene un gen marcador de selección para permitir la selección de células hospedadoras transformadas. Los genes marcadores de selección son bien conocidos en la técnica y variarán en función de la célula hospedadora usada.

En ciertos casos divulgados en el presente documento, el presente ácido nucleico se proporciona en un vector de expresión que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de T β R11 y unido operablemente a al menos una secuencia reguladora. Las secuencias reguladoras están reconocidas en la técnica y se seleccionan para dirigir la expresión del polipéptido de T β R11. Por consiguiente, la expresión "secuencia reguladora" incluye promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión. Las secuencias reguladoras ilustrativas se describen en Goeddel; "Gene Expression Technology: Methods in Enzymology", Academic Press, San Diego, CA (1990). Por ejemplo, en estos vectores puede usarse cualquiera de una gran variedad de secuencias de control de la expresión que controlan la expresión de una secuencia de ADN cuando se une operablemente a la misma para expresar secuencias de ADN que codifican un polipéptido de T β R11. Dichas secuencias de control de la expresión útiles, incluyen, por ejemplo, los promotores tempranos y tardíos de SV40, el promotor tet, el promotor temprano inmediato de adenovirus o citomegalovirus, promotores de RSV, el sistema lac, el sistema trp, el sistema TAC o TRC, el promotor T7 cuya expresión está dirigida por la ARN polimerasa T7, las regiones operadoras y promotoras principales del fago lambda, las regiones de control de la proteína de la cubierta fd, el promotor de la 3-fosfoglicerato cinasa u otras enzimas glucolíticas, los promotores de la fosfatasa ácida, por ejemplo, Pho5, los promotores de los factores de apareamiento α de la levadura, el promotor poliedro del sistema de baculovirus y otras secuencias conocidas para controlar la expresión de genes de células procariotas o eucariotas o sus virus, y diversas combinaciones de las mismas. Debe entenderse que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula hospedadora a transformar y/o el tipo de proteína deseada a expresar. Además, el número de copias del vector, la capacidad de controlar ese número de copias y la expresión de otra proteína cualquiera codificada por el vector, tal como marcadores antibióticos, también deben considerarse.

Un ácido nucleico recombinante incluido en la divulgación puede producirse ligando el gen clonado, o una porción del mismo, en un vector adecuado para su expresión en células procariotas, células eucariotas (levadura, aviares, de insecto o de mamífero) o ambas. Los vehículos de expresión para la producción de un polipéptido recombinante de TβRII incluyen plásmidos y otros vectores. Por ejemplo, los vectores adecuados incluyen plásmidos de los tipos: plásmidos derivados de pBR322, plásmidos derivados de pEMBL, plásmidos derivados de pEX, plásmidos derivados de pBTac y plásmidos derivados de pUC para la expresión en células procariotas, tales como *E. coli*.

Algunos vectores de expresión de mamífero contienen tanto secuencias procariotas para facilitar la propagación del vector en bacterias como una o más unidades de transcripción eucariotas que se expresan en células eucariotas. Los vectores derivados de pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo y pHyg son ejemplos de vectores de expresión de mamífero adecuados para la transfección de células eucariotas. Algunos de estos vectores se modifican con secuencias de plásmidos bacterianos, tales como pBR322, para facilitar la replicación y la selección por resistencia a fármacos tanto en células procariotas como en células eucariotas. Como alternativa, pueden usarse derivados de virus tales como el virus del papiloma bovino (BPV-1) o el virus de Epstein-Barr (pHEBo, derivado de pREP y p205) para la expresión transitoria de proteínas en células eucariotas. Algunos ejemplos de otros sistemas de expresión víricos (incluidos los retrovíricos) se pueden encontrar a continuación en la descripción de los sistemas de administración de terapia génica. Los diversos métodos empleados en la preparación de los plásmidos y la transformación de los organismos hospedadores son bien conocidos en la técnica. Para otros sistemas de expresión adecuados tanto para células procariotas como para células eucariotas, así como procedimientos recombinantes generales, véase "Molecular Cloning A Laboratory Manual", 3.^a ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001). En algunos casos, puede ser deseable expresar los polipéptidos recombinantes mediante el uso de un sistema de expresión de baculovirus. Algunos ejemplos de dichos sistemas de expresión de baculovirus incluyen vectores derivados de pVL (tales como pVL1392, pVL1393 y pVL941), vectores derivados de pAcUW (tales como pAcUW1) y vectores derivados de pBlueBac (tales como el pBlueBac III que contiene β-gal).

En ciertos casos, se diseñará un vector para la producción de los presentes polipéptidos de TβRII en células CHO, tal como un vector Pcmv-Script (Stratagene, La Jolla, Calif.), vectores pcDN4 (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) y vectores pCI-neo (Promega, Madison, Wisc.). En un caso preferido, se diseñará un vector para la producción de los presentes polipéptidos de TβRII en células HEK-293. Como será evidente, las presentes construcciones génicas pueden utilizarse para provocar la expresión de los presentes polipéptidos de TβRII en células propagadas en cultivo, por ejemplo, para producir proteínas, incluidas proteínas de fusión o proteínas variantes, para su purificación.

La presente divulgación también se refiere a una célula hospedadora transfectada con un gen recombinante que incluye una secuencia codificante (por ejemplo, las SEQ ID NO: 10, 12 o 14) para uno o más de los presentes polipéptidos de TβRII. La célula hospedadora puede ser cualquier célula procariota o eucariota. Por ejemplo, un polipéptido de TβRII divulgado en el presente documento puede expresarse en células bacterianas como *E. coli*, células de insecto (por ejemplo, usando un sistema de expresión de baculovirus), levadura o células de mamífero. Otras células hospedadoras adecuadas son conocidas por los expertos en la materia.

Por consiguiente, la presente divulgación se refiere además a métodos de producción de los presentes polipéptidos de TβRII. Por ejemplo, puede cultivarse una célula hospedadora transfectada con un vector de expresión que codifica un polipéptido de TβRII en condiciones adecuadas para permitir que se produzca la expresión del polipéptido de TβRII. El polipéptido de TβRII puede secretarse y aislarse a partir de una mezcla de células y medio que contiene el polipéptido de TβRII. Como alternativa, el polipéptido de TβRII puede mantenerse en el citoplasma o en una fracción de membrana y se recolectan las células, se lisan y se aíslan las proteínas. Un cultivo celular incluye células hospedadoras y medios. Los medios adecuados para el cultivo celular son bien conocidos en la técnica. Los presentes polipéptidos de TβRII pueden aislarse del medio de cultivo celular, de las células hospedadoras o de ambos, empleando técnicas conocidas en la especialidad para purificar proteínas, entre las que se incluyen cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de filtración en gel, ultrafiltración, electroforesis, purificación por inmutofinidad con anticuerpos específicos para epítopos particulares de los polipéptidos de TβRII y purificación por afinidad con un agente que se une a un dominio fusionado al polipéptido de TβRII (por ejemplo, puede utilizarse una columna de proteína A para purificar una fusión de TβRII-Fc). En un caso preferido, el polipéptido de TβRII es una proteína de fusión que contiene un dominio que facilita su purificación. A modo de ejemplo, la purificación puede lograrse mediante una serie de etapas de cromatografía en columna, lo que incluye, por ejemplo, tres o más de los siguientes, en cualquier orden: cromatografía de proteína A, cromatografía de Q-Sepharose, cromatografía de fenilsefarsosa, cromatografía de exclusión por tamaño molecular y cromatografía de intercambio catiónico. La purificación podría completarse mediante filtración de virus e intercambio de tampón.

En otro caso, un gen de fusión que codifica una secuencia líder de purificación, tal como una secuencia de sitio de escisión de poli-(His)/enterocinasa en el extremo aminoterminal de la porción deseada del polipéptido de TβRII recombinante, puede permitir la purificación de la proteína de fusión expresada mediante cromatografía de afinidad utilizando una resina metálica de Ni²⁺. La secuencia líder de purificación puede eliminarse posteriormente mediante tratamiento con enterocinasa para obtener el polipéptido de TβRII purificado (por ejemplo, véase Hochuli *et al.*, (1987) J. Chromatography 411:177; y Janknecht *et al.*, PNAS USA 88:8972).

Las técnicas para generar genes de fusión son bien conocidas. Esencialmente, la unión de diversos fragmentos de ADN que codifican las diferentes secuencias polipeptídicas se realiza de acuerdo con técnicas convencionales, empleando extremos con finales romos o finales escalonados para el ligamiento, digestión con enzimas de restricción para proporcionar extremos adecuados, relleno de extremos cohesivos según sea adecuado, tratamiento con fosfatasa alcalina para evitar unión indeseable y ligamiento enzimático. En otro caso, el gen de fusión puede sintetizarse por técnicas convencionales, lo que incluye sintetizadores automatizados de ADN. Como alternativa, puede realizarse amplificación por PCR de fragmentos génicos usando cebadores de anclaje que dan lugar a salientes complementarios entre dos fragmentos génicos consecutivos que posteriormente pueden hibridarse para generar una secuencia génica quimérica (véase, por ejemplo, *Current Protocols in Molecular Biology*, eds. Ausubel *et al.*, John Wiley & Sons: 1992).

7. Alteraciones en las proteínas de fusión con Fc

La solicitud divulga además proteínas de fusión de T β RII-Fc con regiones Fc modificadas por ingeniería genética o variantes. Dichos anticuerpos y proteínas de fusión de Fc pueden ser útiles, por ejemplo, en la modulación de las funciones efectoras, tales como, citotoxicidad dependiente de antígeno (ADCC) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Adicionalmente, las modificaciones pueden mejorar la estabilidad de los anticuerpos y de las proteínas de fusión de Fc. Las variantes de la secuencia de aminoácidos de los anticuerpos y las proteínas de fusión de Fc se preparan introduciendo los cambios de nucleótidos adecuados en el ADN, o mediante síntesis de péptidos. Dichas variantes incluyen, por ejemplo, eliminaciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de, restos dentro de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos y las proteínas de fusión de Fc divulgadas en el presente documento. Se realiza cualquier combinación de eliminación, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre que ésta posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos postraduccionales de los anticuerpos y las proteínas de fusión de Fc, tales como cambiar el número o la posición de los sitios de glicosilación.

Los anticuerpos y las proteínas de fusión de Fc con función efectora reducida pueden producirse introduciendo cambios en la secuencia de aminoácidos, lo que incluye, pero sin limitación, la mutación Ala-Ala descrita por Bluestone *et al.* (véanse los documentos WO 94/28027 y WO 98/47531; véase también Xu *et al.* 2000 *Cell Immunol* 200; 16-26). Por tanto, en ciertos casos, Las proteínas de fusión de Fc de la divulgación con mutaciones dentro de la región constante, incluida la mutación Ala-Ala, pueden utilizarse para reducir o suprimir la función efectora. Según estos ejemplos, los anticuerpos y las proteínas de fusión de Fc pueden comprender una mutación a una alanina en la posición 234 o una mutación a una alanina en la posición 235, o una combinación de las mismas. En un caso, el anticuerpo o la proteína de fusión de Fc comprende una estructura IgG4, en donde la mutación Ala-Ala describiría una mutación de fenilalanina a alanina en la posición 234 y/o una mutación de leucina a alanina en la posición 235. En otro caso, el anticuerpo o la proteína de fusión de Fc comprende una estructura IgG1, en donde la mutación Ala-Ala describiría una mutación de leucina a alanina en la posición 234 y/o una mutación de leucina a alanina en la posición 235. El anticuerpo o la proteína de fusión de Fc pueden portar, como alternativa o adicionalmente, otras mutaciones, incluida la mutación puntual K322A en el dominio CH2 (Hezareh *et al.* 2001 *J Virol.* 75: 12161-8).

En casos particulares, el anticuerpo o la proteína de fusión de Fc pueden modificarse para potenciar o inhibir la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). La actividad de CDC modulada puede lograrse introduciendo una o más sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos en una región Fc (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º 6.194.551). Como alternativa o adicionalmente, pueden introducirse uno o más restos de cisteína en la región Fc, permitiendo de este modo la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de este modo puede tener una capacidad de internalización mejorada o reducida y/o una eliminación celular mediada por complemento aumentada o disminuida. Véase Caron *et al.*, *J. Exp Med.* 176: 1191-1195 (1992) y Shopes, B. J. *Immunol.* 148:2918-2922 (1992), documento WO99/51642, Duncan y Winter *Nature* 322: 738-40 (1988); Patente de los Estados Unidos n.º 5.648.260; Patente de los Estados Unidos n.º 5.624.821; y documento WO94/29351.

8. Ensayos de cribado

En ciertos casos, la presente divulgación se refiere al uso de polipéptidos de T β RII (por ejemplo, polipéptidos de T β RII solubles) para identificar compuestos (agentes) que son agonistas o antagonistas de TGF β 1, TGF β 3 y la vía de señalización de T β RII. Los compuestos identificados mediante este cribado pueden probarse para evaluar su capacidad de modular la actividad de señalización de TGF β 1 y TGF β 3 *in vitro*. Opcionalmente, estos compuestos pueden seguir probándose en modelos animales para evaluar su capacidad de modular el crecimiento tisular *in vivo*.

Existen numerosas estrategias para cribar agentes terapéuticos que modulen el crecimiento tisular dirigiéndose a los polipéptidos de TGF β 1, TGF β 3 y T β RII. En ciertos casos, se puede llevar a cabo un cribado de alto rendimiento de compuestos para identificar agentes que perturben la señalización celular mediada por TGF β 1, TGF β 3 o T β RII. En ciertos casos, el ensayo se lleva a cabo para cribar e identificar compuestos que inhiben o reducen específicamente la unión de un polipéptido de T β RII a TGF β 1 o TGF β 3. Como alternativa, el ensayo puede utilizarse para identificar compuestos que potencian la unión de un polipéptido de T β RII a TGF β 1 o TGF β 3. En un caso adicional, los compuestos pueden identificarse por su capacidad de interactuar con un polipéptido de TGF β 1, TGF β 3 o T β RII.

5 Será suficiente varios formatos de ensayo y, a la luz de la presente divulgación, aquellos que no se describen expresamente en este documento serán, sin embargo, comprendidos por un experto en la materia. Como se describe en el presente documento, los compuestos de ensayo (agentes) pueden crearse mediante cualquier método químico combinatorio. Como alternativa, los presentes compuestos pueden ser biomoléculas naturales sintetizadas *in vivo* o *in vitro*. Se pueden producir compuestos (agentes) para probar su capacidad de actuar como moduladores del crecimiento tisular, por ejemplo, por bacterias, levaduras, plantas u otros organismos (por ejemplo, productos naturales), producirse químicamente (por ejemplo, moléculas pequeñas, incluidos los peptidomiméticos), o producirse de forma recombinante. Los compuestos de ensayo contemplados en el presente documento incluyen moléculas orgánicas no peptídicas, péptidos, polipéptidos, peptidomiméticos, azúcares, hormonas y moléculas de ácido nucleico. En un caso específico, el agente de ensayo es una molécula orgánica pequeña que tiene una masa molecular inferior a aproximadamente 2.000 Dalton.

15 Los compuestos de ensayo descritos en el presente documento pueden suministrarse como entidades únicas e individuales, o suministrarse en bibliotecas de mayor complejidad, como las preparadas mediante química combinatoria. Estas bibliotecas pueden comprender, por ejemplo, alcoholes, haluros de alquilo, aminas, amidas, ésteres, aldehídos, éteres y otras clases de compuestos orgánicos. La presentación de los compuestos de ensayo al sistema de ensayo puede ser en forma aislada o como mezclas de compuestos, especialmente en las etapas iniciales de cribado. Opcionalmente, los compuestos pueden derivatizarse opcionalmente con otros compuestos y tener grupos derivatizantes que faciliten el aislamiento de los compuestos. Algunos ejemplos no limitantes de grupos derivatizantes incluyen biotina, fluoresceína, digoxigenina, proteína fluorescente verde, isótopos, polihistidina, perlas magnéticas, glutatión S transferasa (GST), reticulantes fotoactivables o cualquier combinación de los mismos.

25 En muchos programas de cribado de fármacos que prueban bibliotecas de compuestos y extractos naturales, los ensayos de alto rendimiento son deseables para maximizar el número de compuestos estudiados en un periodo de tiempo determinado. Los ensayos realizados en sistemas sin células, como los que pueden obtenerse con proteínas purificadas o semipurificadas, normalmente se prefieren como cribados "primarios", ya que pueden generarse para permitir un rápido desarrollo y una detección relativamente fácil de una alteración en una diana molecular que está mediada por un compuesto de ensayo. Además, los efectos de la toxicidad celular o la biodisponibilidad del compuesto de ensayo pueden ignorarse generalmente en el sistema *in vitro*, centrándose el ensayo principalmente en el efecto del fármaco sobre la diana molecular, como puede manifestarse en una alteración de la afinidad de unión entre un polipéptido de T β RII y TGF β 1 o TGF β 3.

35 Simplemente a modo ilustrativo, en un ensayo de cribado ilustrativo descrito en el presente documento, el compuesto de interés se pone en contacto con un polipéptido de T β RII aislado y purificado que normalmente es capaz de unirse a TGF β 1 o TGF β 3. A la mezcla del compuesto y el polipéptido de T β RII se le añade entonces una composición que contiene un ligando de T β RII. La detección y cuantificación de complejos de T β RII/TGF β 1 o T β RII/TGF β 3 proporciona un medio para determinar la eficacia del compuesto en la inhibición (o potenciación) de la formación de complejos entre el polipéptido de T β RII y TGF β 1 o TGF β 3. La eficacia del compuesto puede evaluarse generando curvas de dosis-respuesta a partir de los datos obtenidos utilizando diversas concentraciones del compuesto de ensayo. Además, también puede realizarse un ensayo de control para proporcionar una referencia para la comparación. Por ejemplo, en un ensayo de control, se añade TGF β 1 o TGF β 3 purificado o aislado a una composición que contiene el polipéptido de T β RII, y se cuantifica la formación del complejo T β RII/TGF β 1 o T β RII/TGF β 3 en ausencia del compuesto de ensayo. Se entenderá que, en general, el orden en que se mezclan los reactivos puede variar y pueden mezclarse simultáneamente. Además, en lugar de proteínas purificadas, pueden utilizarse extractos y lisados celulares para obtener un sistema de ensayo sin células adecuado.

50 La formación de complejos entre el polipéptido de T β RII y TGF β 1 o TGF β 3 puede detectarse mediante diversas técnicas. Por ejemplo, la modulación de la formación de complejos puede cuantificarse utilizando, por ejemplo, proteínas marcadas de manera detectable, tales como los polipéptidos de T β RII o TGF β 1 o TGF β 3 radiomarcados (por ejemplo, ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C o ^3H), marcados fluorescentemente (por ejemplo, FITC) o marcados enzimáticamente, por inmunoensayo, o por detección cromatográfica.

55 En el presente documento también se describe el uso de ensayos de polarización de fluorescencia y ensayos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) en la medición, directa o indirectamente, del grado de interacción entre un polipéptido de T β RII y su proteína de unión. Además, son compatibles con muchos ejemplos descritos en el presente documento otros modos de detección, tales como los basados en guías de ondas ópticas (publicación PCT WO 96/26432 y la Patente de los Estados Unidos n.º 5.677.196), resonancia de plasmones superficiales, sensores de carga superficial y sensores de fuerza superficial.

60 Además, en el presente documento también se describe el uso de un ensayo de trampa de interacción, también conocido como "ensayo de dos híbridos" para identificar agentes que interrumpan o potencien la interacción entre un polipéptido de T β RII y su proteína de unión. Véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos n.º 5.283.317; Zervos *et al.* (1993) Cell 72:223-232; Madura *et al.* (1993) J Biol Chem 268:12046-12054; Bartel *et al.* (1993) Biotechniques 14:920-924; e Iwabuchi *et al.* (1993) Oncogene 8:1693-1696). En el presente documento se describe además el uso de sistemas híbridos inversos para identificar compuestos (por ejemplo, moléculas pequeñas o péptidos) que disocian

las interacciones entre un polipéptido de T β RII y su proteína de unión. Véase, por ejemplo, Vidal y Legrain, (1999) Nucleic Acids Res 27:919-29; Vidal y Legrain, (1999) Trends Biotechnol 17:374-81; y Patentes de los Estados Unidos n.º 5.525.490; 5.955.280; y 5.965.368.

En ciertos casos, los presentes compuestos se identifican por su capacidad de interaccionar con un polipéptido de T β RII o TGF β 1 o TGF β 3 descrito en el presente documento. La interacción entre el compuesto y el polipéptido de T β RII o TGF β 1 o TGF β 3 puede ser covalente o no covalente. Por ejemplo, dicha interacción puede identificarse a nivel proteínico mediante métodos bioquímicos *in vitro*, incluida la fotorreticulación, la unión de ligandos radiomarcados y la cromatografía de afinidad (Jakoby WB *et al.*, 1974, Methods in Enzymology 46: 1). En determinados casos, los compuestos pueden cribarse en un ensayo basado en el mecanismo, tal como un ensayo para detectar compuestos que se unen a un polipéptido de TGF β 1 o TGF β 3 o T β RII. Esto puede incluir un evento de unión en fase sólida o en fase fluida. Como alternativa, el gen que codifica un polipéptido de TGF β 1 o TGF β 3 o T β RII puede transfectarse con un sistema indicador (por ejemplo, β -galactosidasa, luciferasa o proteína fluorescente verde) en una célula y se somete a cribado frente a la biblioteca, preferentemente mediante un cribado de alto rendimiento o con miembros individuales de la biblioteca. Pueden utilizarse otros ensayos de unión basados en mecanismos, por ejemplo, ensayos de unión que detectan cambios en la energía libre. Los ensayos de unión pueden realizarse con la diana fijada a un pocillo, perla o chip o capturada por un anticuerpo inmovilizado o resolverse mediante electroforesis capilar. Los compuestos unidos pueden detectarse normalmente utilizando colorimetría o fluorescencia, o resonancia de plasmones superficiales.

Asimismo, en el presente documento se describen métodos y agentes para modular (estimular o inhibir) la señalización celular mediada por TGF β 1 o TGF β 3. Por consiguiente, cualquier compuesto identificado puede analizarse en células o tejidos completos, *in vitro* o *in vivo*, para confirmar su capacidad de modular la señalización de TGF β 1 o TGF β 3. Para este fin pueden utilizarse diversos métodos conocidos en la técnica.

9. Usos terapéuticos ilustrativos

Como se usa en el presente documento, un agente terapéutico que "previene" un trastorno o afección se refiere a un compuesto que, en una muestra estadística, reduce la aparición del trastorno o afección en la muestra tratada en relación con la muestra de control sin tratar, o retrasa o reduce la gravedad de uno o más síntomas del trastorno o afección en relación con la muestra de control sin tratar.

Los términos "tratamiento", "que trata", "alivio" y similares se utilizan en el presente documento para referirse en general a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado, y también pueden utilizarse para referirse a mejorar, aliviar y/o disminuir la gravedad de uno o más síntomas de una afección tratada. El efecto puede ser profiláctico en términos de retraso total o parcial de la aparición o reaparición de una enfermedad, afección o síntomas de la misma, y/o puede ser terapéutico en términos de una cura parcial o completa para una enfermedad o afección y/o efecto adverso que se puede atribuir a la enfermedad o afección. "Tratamiento", como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad o afección de un mamífero, particularmente un ser humano, e incluye: (a) prevenir la aparición de la enfermedad o afección en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad o afección, pero aún no se ha diagnosticado que la padece; (b) prevenir la enfermedad o afección (por ejemplo, detener su desarrollo); o (c) aliviar la enfermedad o afección (por ejemplo, causar la reversión de la enfermedad o afección, proporcionando una mejora en uno o más síntomas).

Los términos "paciente", "sujeto" o "individuo" se usan de manera indistinta en el presente documento y se refieren a un ser humano o a un animal no humano. Estos términos incluyen mamíferos, tales como seres humanos, primates no humanos, animales de laboratorio, animales de granja (incluyendo bovinos, porcinos, camellos, etc.), animales de compañía (por ejemplo, caninos, felinos, otros animales domésticos, etc.) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). El paciente, sujeto o individuo puede ser un ser humano.

También se describen en el presente documento métodos para tratar o prevenir una enfermedad o afección asociada con un miembro de la superfamilia de TGF β administrando a un sujeto una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII, incluyendo una proteína de fusión de T β RII-Fc de las anteriores, lo que en lo sucesivo se denomina colectivamente "agentes terapéuticos". En algunos casos, la enfermedad o afección está asociada a una desregulación de la señalización de TGF β 1 o TGF β 3. En el presente documento también se describen métodos y composiciones para tratar determinados trastornos vasculares o cardiovasculares. Además, en el presente documento también se describen métodos y composiciones para tratar o prevenir el cáncer. Además, en el presente documento también se describen métodos y composiciones para tratar o prevenir trastornos y afecciones fibróticas.

Concretamente, los agentes terapéuticos polipeptídicos de la presente divulgación son útiles para tratar o prevenir enfermedades vasculares o cardiovasculares crónicas. Algunos ejemplos de este tipo de trastornos incluyen, pero sin limitación, cardiopatías (incluida la miocardiopatía, infarto de miocardio, angina de pecho y valvulopatías cardíacas); nefropatías (incluida la inflamación glomerular crónica, la insuficiencia renal diabética y la inflamación renal relacionada con el lupus); trastornos asociados con la aterosclerosis u otros tipos de arterioesclerosis (incluido el ictus, hemorragia cerebral, hemorragia subaracnoidea, angina de pecho y arterioesclerosis renal); trastornos trombóticos (incluidas la trombosis cerebral y la necrosis intestinal trombótica); complicaciones de la diabetes (incluida la retinopatía diabética,

cataratas, nefropatía diabética, neuropatología diabética, gangrena relacionada con la diabetes e infección crónica relacionada con la diabetes); trastornos inflamatorios vasculares (lupus eritematoso sistémico, reumatismo articular, inflamación arterial articular, inflamación arterial de células grandes, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu, síndrome de Churg-Strauss y púrpura de Henoch-Schoenlein); vasculopatías diabéticas; y trastornos cardíacos como las cardiopatías congénitas, miocardiopatía (por ejemplo, miocardiopatía dilatada, hipertrófica o restrictiva) e insuficiencia cardíaca congestiva. Los trastornos ilustrativos incluyen además, pero sin limitación, telangiectasia hemorrágica hereditaria (THH), síndrome de Marfan, síndrome de Loeys-Dietz, síndrome de aneurisma aórtico torácico familiar, síndrome de tortuosidad arterial, preeclampsia y reestenosis.

El polipéptido de T β RII puede administrarse al sujeto solo, o en combinación con uno o más agentes o modalidades terapéuticas, por ejemplo, agentes terapéuticos, que son útiles para tratar trastornos y/o afecciones cardiovasculares asociados al TGF β . En ciertos casos, el segundo agente o modalidad terapéutica se selecciona entre uno o más de: angioplastia, betabloqueantes, antihipertensivos, cardiotónicos, antitrombóticos, vasodilatadores, antagonistas de hormonas, antagonistas de la endotelina, bloqueantes de los canales de calcio, inhibidores de fosfodiesterasa, antagonistas de la angiotensina tipo 2 y/o bloqueantes/inhibidores de citocinas.

Concretamente, los agentes terapéuticos polipeptídicos de la presente divulgación son útiles para tratar o prevenir un cáncer (tumor). Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen, la afección fisiológica en mamíferos que normalmente se caracteriza por el crecimiento o la proliferación celular no regulada. Algunos ejemplos de cáncer o trastornos neoplásicos, incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Entre los ejemplos más particulares de dichos cánceres se incluyen cáncer epidermoide, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer de estómago, cáncer de intestino, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer gástrico, melanoma y diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello, incluido el cáncer epidermoide de cabeza y cuello. Otros ejemplos de trastornos neoplásicos y afecciones relacionadas incluyen carcinomas esofágicos, tecomas, arrenoblastomas, hiperplasia de endometrio, endometriosis, fibrosarcomas, coriocarcinoma, carcinoma nasofaríngeo, carcinomas de laringe, hepatoblastoma, sarcoma de Kaposi, carcinomas de piel, hemangioma, hemangioma cavernoso, hemangioblastoma, retinoblastoma, astrocitoma, glioblastoma, Schwannoma, oligodendroglioma, meduloblastoma, neuroblastomas, rhabdomyosarcoma, sarcoma osteogénico, leiomyosarcomas, carcinomas de las vías urinarias, tumor de Wilm, carcinoma de células renales, carcinoma de próstata, proliferación vascular anormal asociada a las facomatosis y síndrome de Meigs. Un cáncer que es particularmente susceptible al tratamiento con los agentes terapéuticos descritos en el presente documento puede caracterizarse por una o más de las siguientes características: el cáncer tiene niveles elevados de T β RII detectables en el tumor o en el suero, niveles de expresión o actividad biológica elevada de TGF β 1 o TGF β 3, es metastásico o corre el riesgo de convertirse en metastásico, o cualquier combinación de los mismos.

En algunos casos de estos métodos, pueden administrarse uno o más agentes terapéuticos polipeptídicos, juntos (simultáneamente) o en diferentes momentos (secuencialmente). Además, los agentes terapéuticos polipeptídicos pueden administrarse con otro tipo de compuestos para tratar el cáncer o para inhibir la angiogénesis.

En ciertos casos, los presentes métodos de la divulgación pueden usarse solos. Como alternativa, los presentes métodos pueden utilizarse en combinación con otras estrategias antineoplásicas convencionales dirigidas al tratamiento o la prevención de trastornos proliferativos (por ejemplo, tumores). Por ejemplo, dichos métodos pueden utilizarse en la prevención profiláctica del cáncer, la prevención de la recurrencia del cáncer y las metástasis tras la cirugía y como adyuvante de otros tratamientos antineoplásicos convencionales. La presente divulgación reconoce que la eficacia de los tratamientos antineoplásicos convencionales (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, fototerapia, inmunoterapia y cirugía) puede mejorarse mediante el uso de uno de los presentes agentes terapéuticos polipeptídicos.

Una amplia gama de compuestos convencionales han demostrado tener actividades antineoplásicas o anticancerígenas. Estos compuestos se han utilizado como agentes farmacéuticos en quimioterapia para reducir tumores sólidos, prevenir las metástasis y el crecimiento ulterior, o disminuir el número de células malignas en las neoplasias leucémicas o de médula ósea. Aunque la quimioterapia ha sido eficaz en el tratamiento de diversos tipos de neoplasias malignas, muchos compuestos antineoplásicos inducen efectos secundarios indeseables. Se ha demostrado que cuando se combinan dos o más tratamientos diferentes, los tratamientos pueden actuar de forma sinérgica y permitir la reducción de la dosis de cada uno de los tratamientos, reduciendo así los efectos secundarios perjudiciales ejercidos por cada compuesto a dosis más elevadas. En otros casos, las neoplasias refractarias a un tratamiento pueden responder a una terapia combinada de dos o más tratamientos diferentes.

Cuando un agente terapéutico divulgado en el presente documento se administra en combinación con otro agente antineoplásico convencional, de forma concomitante o secuencial, dicho agente terapéutico puede potenciar el efecto terapéutico del agente antineoplásico o vencer la resistencia celular a dicho agente antineoplásico. Esto permite disminuir la dosis de un agente antineoplásico, reduciendo así los efectos secundarios indeseables, o restaura la eficacia de un agente antineoplásico en células resistentes.

De acuerdo con la presente divulgación, los agentes terapéuticos polipeptídicos descritos en el presente documento pueden utilizarse en combinación con otras composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades. Por ejemplo, un tumor puede tratarse convencionalmente con cirugía, radiación o quimioterapia combinada con el polipéptido de TβRII, y entonces el polipéptido de TβRII puede administrarse posteriormente al paciente para prolongar la latencia de las micrometástasis y estabilizar cualquier tumor primario residual.

También se describen en el presente documento otros agentes terapéuticos útiles para la terapia tumoral combinados con un polipéptido de TβRII, incluidas otras terapias contra el cáncer: por ejemplo, cirugía, agentes citotóxicos, tratamientos radiológicos que impliquen irradiación o administración de sustancias radiactivas, agentes quimioterapéuticos, agentes antihormonales, agentes inhibidores del crecimiento, composiciones antineoplásicas y tratamiento con agentes anticancerígenos enumerados en el presente documento y conocidos en la técnica, o combinaciones de los mismos.

La expresión "agente citotóxico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia que inhibe o evita la función de las células y/o produce la destrucción de las células. El término pretende incluir isótopos radiactivos (por ejemplo, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² e isótopos radioactivos de Lu), agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, metotrexato, adriamicina, alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, etopósido), doxorubicina, melfalán, mitomicina C, clorambucilo, daunorubicina u otros agentes intercalantes, enzimas y fragmentos de las mismas, tales como enzimas nucleolíticas, antibióticos y toxinas tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluidos fragmentos y/o variantes de los mismos, y los diversos agentes antitumorales o anticancerígenos divulgados a continuación. Se describen más adelante otros agentes citotóxicos. Un agente tumoricida provoca la destrucción de células tumorales.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Algunos ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y CYTOXAN®, ciclofosfamida; alquilsulfonatos, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carbocuna, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas, incluida la altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (especialmente bulatcina y bulatcinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluido el análogo sintético de topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos, adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (en particular, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clorafazina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma II y calicheamicina omega II (véase, por ejemplo, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); dinemicina, incluida la dinemicina A; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina relacionados con cromoproteína, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYCIN®, doxorubicina (incluida la morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxiluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestanol, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tal como ácido folínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidracida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclortrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, por ejemplo, TAXOL® paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ sin Cremophor, formulación de nanopartículas de paclitaxel diseñadas por ingeniería con albúmina (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), y TAXOTERE® doxetaxel (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); oxaliplatino; leucovorina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO);

retinoides, tales como ácido retinoico; capecitabina (XELODA®); sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura de una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de tratamiento con oxiplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovorina.

También se incluyen en esta definición los agentes antihormonales que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de las hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer y, con frecuencia, se presentan en forma de tratamiento sistémico o de todo el cuerpo. Pueden ser, en sí, hormonas. Algunos ejemplos incluyen antiestrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), lo que incluye, por ejemplo, tamoxifeno (incluido NOLVADEX® tamoxifeno), EVISTA® raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LYI 17018, onapristona y FARESTON® toremifeno; anti-progesteronas; reguladores negativos del receptor de estrógenos (ERD); agentes que funcionan suprimiendo o anulando los ovarios, por ejemplo, agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) como el acetato de leuprolida LUPRON® y ELIGARD®, acetato de goserelina, acetato de buserelina y triptelina; otros antiandrógenos, tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida; e inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® acetato de megestrol, AROMASIN® exemestano, formestano, fadrozol, RIVISOR® vorozol, FEMARA® letrozol y ARIMIDEX® anastrozol. Además, dicha definición de agentes quimioterapéuticos incluye los bifosfonatos como el clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), DIDROCAL® etidronato, NE-58095, ZOMETA® ácido zoledrónico/zoledronato, FOSAMAX® alendronato, AREDIA® pamidronato, SKELID® tiludronato, o ACTONEL® risedronato; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina; oligonucleótidos antisentido, particularmente, los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras y receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR); vacunas, tales como la vacuna THERATOPE® y vacunas de terapia génica, por ejemplo, la vacuna ALLOVECTIN®, la vacuna LEUVECTIN® y la vacuna VAXID®; LURTOTECAN® Inhibidor de la topoisomerasa 1; ABARELIX® rmRH; ditosilato de lapatinib (un inhibidor de molécula pequeña de tirosina cinasa dual de ErbB-2 y EGFR, también conocido como GW572016); y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Un "agente inhibidor del crecimiento", cuando se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto o composición que inhibe el crecimiento de una célula, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Por tanto, el agente inhibidor del crecimiento puede ser uno que reduzca significativamente el porcentaje de células en fase S. Los ejemplos de agentes inhibidores del crecimiento incluyen agentes que bloquean la progresión del ciclo celular (en un punto distinto de la fase S), tales como agentes que inducen la detención en G1 y la detención en la fase M. Los bloqueadores de la fase M clásicos incluyen los agentes de la vinca (vincristina y vinblastina), taxanos e inhibidores de topoisomerasa II, tales como doxorubicina, epirubicina, daunorrubicina, etopósido y bleomicina. Aquellos agentes que detienen la fase G1 también se pasan a la detención de la fase S, por ejemplo, agentes alquilantes de ADN, tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluorouracilo y araC. Puede encontrarse información adicional en *The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn e Israel, eds., Capítulo 1, titulado "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" por Murakami *et al.* (WB Saunders: Philadelphia, 1995), especialmente la página 13. Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son fármacos anticáncer ambos derivados del tejo. El docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer), derivado del tejo europeo, es un análogo semisintético del paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb). El paclitaxel y el docetaxel promueven el ensamblaje de microtúbulos a partir de dímeros de tubulina y estabilizan los microtúbulos impidiendo su despolimerización, lo que da como resultado la inhibición de la mitosis en las células.

En otros casos más, los polipéptidos de TβRII pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de la fibrosis. Como se usa en el presente documento, el término "fibrosis" se refiere a la formación o el desarrollo anómalo de tejido conjuntivo fibroso en exceso por las células en un órgano o tejido. Aunque los procesos relacionados con la fibrosis pueden tener lugar como parte de la formación o reparación de tejido normal, la desregulación de estos procesos puede llevar a una composición celular alterada y a una deposición de tejido conjuntivo en exceso que progresivamente deteriora la función del tejido o del órgano. La formación de tejido fibroso puede ser el resultado de un proceso reparador o reactivo. Los trastornos o afecciones fibróticas incluyen, pero sin limitación, trastornos fibroproliferativos asociados a enfermedades vasculares, tal como una enfermedad cardíaca, enfermedad cerebral y vasculopatía periférica, así como tejidos y sistemas de órganos, incluido el corazón, piel, riñón, peritoneo, intestino e hígado (según lo divulgado en, por ejemplo, Wynn, 2004, *Nat Rev* 4:583-594).

Algunos ejemplos de trastornos que pueden tratarse son, pero sin limitación, fibrosis renal, incluidas las nefropatías asociadas a lesiones/fibrosis, por ejemplo, nefropatías crónicas asociadas a la diabetes (por ejemplo, nefropatía diabética), lupus, esclerodermia, nefritis glomerular, esclerosis glomerular segmentaria focal y nefropatía por IgA; fibrosis intestinal, por ejemplo, esclerodermia y fibrosis intestinal inducida por radiación; fibrosis hepática, por ejemplo, cirrosis, fibrosis hepática inducida por alcohol, lesión del conducto biliar, cirrosis biliar primaria, infección o fibrosis hepática inducida por virus, fibrosis hepática congénita y hepatitis autoinmunitaria; y otras afecciones fibróticas, tales como fibrosis quística, fibrosis endomiocárdica, fibrosis del mediastino, sarcoidosis, esclerodermia, lesión/fibrosis de la médula espinal, mielofibrosis, reestenosis vascular, aterosclerosis, , fibrosis por inyección (que puede tener lugar como una complicación de las inyecciones intramusculares, especialmente en niños), fibrosis endomiocárdica, fibrosis retroperitoneal y fibrosis sistémica nefrogénica.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "trastorno fibrótico", "afección fibrótica", y "enfermedad fibrótica", se usan indistintamente para referirse a un trastorno, afección o enfermedad caracterizada por fibrosis. Algunos ejemplos de trastornos fibróticos incluyen, pero sin limitación, lupus, trastornos escleróticos (por ejemplo, esclerodermia, aterosclerosis y esclerosis sistémica, lo que incluye, por ejemplo, esclerosis sistémica difusa y esclerosis sistémica progresiva), fibrosis vascular, fibrosis pancreática, fibrosis hepática (por ejemplo, cirrosis), fibrosis renal, fibrosis musculoesquelética, fibrosis cardíaca (por ejemplo, fibrosis de endomiocardio, miocardiopatía idiopática), fibrosis de la piel (por ejemplo, esclerodermia, cicatrices cutáneas postraumáticas y operatorias, queloides y formación de queloides cutáneos), fibrosis ocular (por ejemplo, glaucoma, esclerosis de los ojos, fibrosis de la conjuntiva y de la córnea y pterigión), mielofibrosis, enfermedad crónica de injerto contra hospedador, enfermedad de Peyronie, estenosis uretral postcistoscopia, fibrosis retroperitoneal idiopática y farmacológicamente inducida, fibrosis del mediastino, fibrosis proliferativa, fibrosis neoplásica, enfermedad de Dupuytren, estenosis, cicatrización neural, cicatrices dérmicas, fibrosis pulmonar idiopática y fibrosis inducida por radiación.

En algunos casos, puede utilizarse cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento (por ejemplo, un polipéptido que tenga la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13 y 50-56), solo o en combinación con una o más terapias de apoyo o agentes activos, para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de una enfermedad pulmonar intersticial (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática). En algunos casos, la enfermedad pulmonar intersticial es fibrosis pulmonar. En algunos casos, la enfermedad pulmonar intersticial está causada por una de las siguientes causas: silicosis, asbestosis, beriliosis, neumonitis por hipersensibilidad, consumo de fármacos (por ejemplo, antibióticos, fármacos quimioterapéuticos, antiarrítmicos, estatinas), esclerosis sistémica, polimiositis, dermatomiositis, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, una infección (por ejemplo, neumonía atípica, neumonía por *Pneumocystis*, tuberculosis, *Chlamydia trachomatis* y/o virus respiratorio sincitial), carcinomatosis linfagítica, tabaquismo o trastornos del desarrollo. En algunos casos, la enfermedad pulmonar intersticial es idiopática (por ejemplo, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de Hamman-Rich y/o síndrome anti sintetasa). En casos particulares, la enfermedad pulmonar intersticial es fibrosis pulmonar idiopática. En algunos casos, el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática se administra en combinación con un agente terapéutico adicional. En algunos casos, el agente terapéutico adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: pirfenidona, N-acetilcisteína, prednisona, azatioprina, nintedanib, derivados de los mismos y combinaciones de los mismos.

En algunos casos, puede utilizarse cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento (por ejemplo, un polipéptido que tenga la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13 y 50-56), solo o en combinación con una o más terapias de apoyo o agentes activos, para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de una enfermedad o afección asociada con el riñón. Como se usa en el presente documento, "enfermedad o afección asociada con el riñón" puede referirse a cualquier enfermedad, trastorno o afección que afecta a los riñones o al sistema renal. Algunos ejemplos de enfermedades o afecciones asociadas con el riñón son, pero sin limitación, enfermedades (o insuficiencia) renales crónicas, enfermedades (o insuficiencia) renales agudas, enfermedades renales primarias, enfermedades renales no diabéticas, glomerulonefritis, nefritis intersticial, enfermedad renal diabética, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, glomerulonefritis de progresión rápida, fibrosis renal, síndrome de Alport, nefritis por IDDM, glomerulonefritis proliferativa mesangial, glomerulonefritis membranoproliferativa, glomerulonefritis semilunar, fibrosis renal intersticial, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, nefropatía membranosa, enfermedad de cambio mínimo, glomerulonefritis progresiva rápida paucinunitaria, nefropatía por IgA, enfermedad renal poliquística, enfermedad de Dent, nefrocitosis, nefritis de Heymann, poliquistosis renal autosómica dominante (adultos), poliquistosis renal autosómica recesiva (infancia), lesión renal aguda, síndrome nefrótico, isquemia renal, enfermedades o trastornos podocitarios, proteinuria, enfermedades glomerulares, glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis focal y segmentaria, preeclampsia, eclampsia, lesiones renales, enfermedades vasculares por colágeno, proteinuria ortostática benigna (postural), nefropatía por IgM, nefropatía membranosa, sarcoidosis, diabetes mellitus, daño renal debido a fármacos, enfermedad de Fabry, aminoaciduria, síndrome de Fanconi, nefroesclerosis hipertensiva, nefritis intersticial, anemia de células falciformes, hemoglobinuria, mioglobinuria, granulomatosis de Wegener, enfermedad por almacenamiento de glucógeno de tipo 1, nefropatía crónica, insuficiencia renal crónica, tasa de filtración glomerular (TFG) baja, nefroangioesclerosis, nefritis lúpica, glomerulonefritis semilunar paucinmune positiva a ANCA, nefropatía crónica por aloinjerto, nefrotoxicidad, toxicidad renal, necrosis renal, daño renal, lesión glomerular y tubular, disfunción renal, síndrome nefrótico, insuficiencia renal aguda, insuficiencia renal crónica, disfunción tubárica proximal, rechazo agudo de trasplante renal, rechazo crónico del trasplante renal, glomerulonefritis mesangioproliferativa no IgA, glomerulonefritis posinfecciosa, vasculitis con afectación renal de cualquier tipo, cualquier enfermedad renal hereditaria, cualquier nefritis intersticial, fracaso del trasplante renal, cáncer de riñón, nefropatía asociada a otras afecciones (por ejemplo, hipertensión, diabetes y enfermedades autoinmunitarias), enfermedad de Dent, nefrocitosis, nefritis de Heymann, una nefropatía primaria, una glomerulopatía colapsante, una enfermedad por depósitos densos, una glomerulonefritis asociada a crioglobulinemia, una enfermedad de Henoch-Schonlein, una glomerulonefritis posinfecciosa, una endocarditis bacteriana, una poliangiitis microscópica, un síndrome de Churg-Strauss, una glomerulonefritis mediada por anticuerpos anti-GBM, amiloidosis, una enfermedad por deposición de inmunoglobulinas monoclonales, una glomerulonefritis fibrilar, una glomerulopatía inmunotactoide, lesión tubular isquémica, una nefritis tubulointersticial inducida por medicación, una nefritis túbulo-intersticial tóxica, una nefritis túbulo-intersticial infecciosa, una pielonefritis bacteriana, una nefritis tubulointersticial infecciosa viral que resulta de una infección por poliovirus o una infección por VIH, una enfermedad túbulo-intersticial inducida por el metabolismo, una enfermedad del tejido conjuntivo mixto,

una nefropatía de molde, una nefropatía por cristales que puede ser el resultado de la deposición de cristales de urato u oxalato o inducida por fármacos, un rechazo agudo de aloinjerto túbulo-intersticial celular, enfermedad infiltrativa tumoral que resulta de un linfoma o de una enfermedad linfoproliferativa postrasplante, una enfermedad obstructiva del riñón, enfermedad vascular, una microangiopatía trombótica, una nefroangioesclerosis, una enfermedad ateroembólica, una enfermedad del tejido conjuntivo mixto, una poliarteritis nodosa, una enfermedad vascular inducida por un inhibidor de la calcineurina, un rechazo agudo de aloinjerto vascular celular, un rechazo agudo de aloinjerto humoral, disminución precoz de la función renal (ERFD), enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), trombosis de la vena renal, necrosis tubular aguda, nefritis intersticial aguda, enfermedad renal crónica establecida, estenosis en la arteria renal, nefropatía isquémica, uremia, nefritis tubulointersticial crónica inducida por fármacos y toxinas, nefropatía por reflujo, cálculos renales, síndrome de Goodpasture, anemia normocítica normocrómica, anemia renal, nefropatía diabética crónica, enfermedad relacionada con IgG4, síndrome de Von Hippel-Lindau, esclerosis tuberosa, nefronoptosis, nefropatía quística medular, carcinoma de células renales, adenocarcinoma, nefroblastoma, linfoma, leucemia, trastorno por hiposialilación, nefropatía crónica por ciclosporinas, lesión por reperfusión renal, displasia renal, azotemia, oclusión arterial bilateral, nefropatía aguda por ácido úrico, hipovolemia, uropatía obstructiva bilateral aguda, nefropatía hipercalemica, síndrome urémico hemolítico, retención urinaria aguda, nefroesclerosis maligna, glomeruloesclerosis postparto, esclerodermia, enfermedad anti-MBG no Goodpasture, poliarteritis nodosa microscópica, granulomatosis alérgica, nefritis aguda por radiación, glomerulonefritis posestreptocócica, macroglobulinemia de Waldenström, nefropatía por analgésicos, fístula arteriovenosa, injerto arteriovenoso, diálisis, riñón ectópico, riñón esponjoso medular, osteodistrofia renal, riñón solitario, hidronefrosis, microalbuminuria, uremia, hematuria, hiperlipidemia, hipoalbuminemia, lipiduria, acidosis, hiperpotasemia y edema.

En algunos casos, puede utilizarse cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento (por ejemplo, un polipéptido que tenga la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13 y 50-56), solo o en combinación con una o más terapias de apoyo o agentes activos, para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de la enfermedad renal crónica (por ejemplo, daños en los tejidos, inflamación y/o fibrosis). La nefropatía crónica (CKD), también conocida como enfermedad renal crónica, es una pérdida progresiva de la función renal a lo largo de un periodo de meses o años. Los síntomas del empeoramiento de la función renal pueden incluir malestar general y disminución del apetito. Con frecuencia, la enfermedad renal crónica se diagnostica como resultado del cribado de personas con riesgo conocido de padecer problemas renales, como los que padecen hipertensión o diabetes y los que tienen un pariente cercano con CKD. Esta enfermedad también puede identificarse cuando da lugar a una de sus complicaciones reconocidas, tales como enfermedad cardiovascular, anemia o pericarditis. Las directrices profesionales más recientes clasifican la gravedad de la CKD en cinco estadios, el estadio 1 es el más leve y suele causar pocos síntomas, mientras que el estadio 5 es una enfermedad grave con escasas expectativas de vida si no se trata. La CKD en estadio 5 suele denominarse nefropatía terminal, enfermedad renal terminal, o insuficiencia renal terminal y es en gran medida sinónimo del anticuado término insuficiencia renal crónica; y suele significar que el paciente requiere terapia renal sustitutiva, que puede implicar una forma de diálisis, pero lo ideal es un trasplante de riñón. La CKD carece inicialmente de síntomas específicos y, por lo general, solo se detecta por un aumento de la creatinina sérica o de las proteínas en la orina. A medida que disminuye la función renal, pueden manifestarse diversos síntomas, como se describe a continuación. La presión arterial puede aumentar debido a la sobrecarga de líquidos y a la producción de hormonas vasoactivas creadas por el riñón a través del sistema renina-angiotensina, aumentar el riesgo de desarrollar hipertensión y/o sufrir insuficiencia cardíaca congestiva. Puede acumularse urea, que conduce a la azotemia y, en última instancia, a la uremia (síntomas que van desde el letargo hasta la pericarditis y la encefalopatía). Debido a su elevada circulación sistémica, la urea se excreta en el sudor ecrino en concentraciones elevadas y se cristaliza en la piel al evaporarse el sudor ("escarcha urémica"). El potasio puede acumularse en la sangre (hiperpotasemia con una serie de síntomas que incluyen malestar y arritmias cardíacas potencialmente mortales). La hiperpotasemia no suele desarrollarse hasta que la tasa de filtración glomerular desciende a menos de 20-25 ml/min/1,73 m², momento en el que los riñones disminuyen su capacidad para excretar potasio. La hiperpotasemia en la CKD puede verse exacerbada por la acidemia (que provoca un desplazamiento extracelular del potasio) y por la falta de insulina. La síntesis de eritropoyetina puede disminuir, lo que provoca anemia. Pueden aparecer síntomas de sobrecarga de volumen de líquidos, que van desde el edema leve al edema pulmonar potencialmente mortal. La hiperfosfatemia, debida a la reducción de la excreción de fosfato, puede producirse generalmente tras la disminución de la filtración glomerular. La hiperfosfatemia se asocia a un mayor riesgo cardiovascular, siendo un estímulo directo para la calcificación vascular. Puede manifestarse hipocalcemia, que generalmente está causada por la estimulación del factor de crecimiento de fibroblastos-23. Los osteocitos son responsables del aumento de la producción de FGF23, que es un potente inhibidor de la enzima 1-alfa-hidroxilasa (responsable de la conversión del 25-hidroxicolecalciferol en 1,25 dihidroxivitamina D3). Posteriormente, esto progresa a hiperparatiroidismo secundario, osteodistrofia renal y calcificación vascular que deteriora aún más la función cardíaca. Puede producirse acidosis metabólica (debido a la acumulación de sulfatos, fosfatos, ácido úrico, etc.) y provocar una alteración de la actividad enzimática por exceso de ácido que actúa sobre las enzimas; y también el aumento de la excitabilidad de las membranas cardíacas y neuronales por el fomento de la hiperpotasemia debida al exceso de ácido (acidemia). La acidosis también se debe a la disminución de la capacidad de generar suficiente amoníaco a partir de las células del túbulo proximal. La anemia ferropénica, cuya prevalencia aumenta a medida que disminuye la función renal, es especialmente frecuente en las personas que requieren hemodiálisis. Su causa es multifactorial, pero incluye un aumento de la inflamación, reducción de la eritropoyetina, e hiperuricemia que conduce a la supresión de la médula ósea. Las personas con CKD padecen aterosclerosis acelerada y tienen más probabilidades de desarrollar enfermedades cardiovasculares que la población general. Los pacientes aquejados de

CKD y enfermedad cardiovascular suelen tener un pronóstico significativamente peor que los que solo padecen esta última. En algunos casos, la enfermedad renal crónica es un trastorno óseo mineral de la enfermedad renal crónica, un amplio síndrome esquelético interrelacionado, trastornos cardiovasculares y minerometabólicos derivados de la enfermedad renal. La CKD-MBD engloba diversas patologías esqueléticas a menudo denominadas osteodistrofia renal (ROD), que es una instancia preferida para el tratamiento con cualquiera de los polipéptidos divulgados en el presente documento, o combinaciones con una o más terapias de apoyo o agentes activos. En función de la contribución relativa de los distintos factores patógenos, la ROD se manifiesta como diversos patrones patológicos de remodelación ósea (Hruska *et al.*, 2008, Chronic kidney disease mineral bone disorder (CKD-MBD); en Rosen *et al.* (ed) Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, 7.^a ed. American Society for Bone and Mineral Research, Washington D.C., págs. 343-349). En un extremo del espectro se encuentra la ROD con osteodistrofia urémica y bajo recambio óseo, caracterizado por un bajo número de sitios de remodelación activos, profunda supresión de la formación ósea, y baja resorción ósea. En el otro extremo se encuentra la ROD con hiperparatiroidismo, recambio óseo elevado y osteítis fibrosa.

En ciertos casos, puede utilizarse cualquiera de los polipéptidos (por ejemplo, un polipéptido que tenga la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13 y 50-56) divulgados en el presente documento, solo o en combinación con una o más terapias de apoyo o agentes activos, para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de la mielofibrosis (por ejemplo, mielofibrosis primaria, mielofibrosis posterior a policitemia vera y mielofibrosis posterior a trombocitemia esencial). Concretamente, pueden utilizarse antagonistas de ActRIIB, solos o en combinación con una o más terapias de apoyo o agentes activos, para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de una o más complicaciones de la mielofibrosis, lo que incluye, por ejemplo, hematopoyesis ineficaz, anemia, inflamación, fibrosis (por ejemplo, fibrosis de la médula ósea, fibrosis del bazo y fibrosis del hígado), pancitopenia, trombocitopenia, hematopoyesis extramedular (por ejemplo, hematopoyesis extramedular esplénica, hematopoyesis extramedular hepática, hematopoyesis extramedular pulmonar y hematopoyesis extramedular linfática), hepatomegalia, esplenomegalia, osteoesclerosis, osteomielofibrosis, poiquilocitosis, fatiga, pérdida de peso, sudores nocturnos, fiebre, prurito, dolor óseo, saciedad precoz, dolor o molestias abdominales, artralgias, mialgias, parestesias, caquexia, infarto esplénico y hemorragia.

Como se usa en el presente documento, la inhibición de la respuesta fibrótica de una célula, incluye, pero sin limitación, la inhibición de la respuesta fibrótica de una o más células en el hígado (o en el tejido hepático); una o más células en el riñón (o en el tejido renal); una o más células en el tejido muscular; una o más células en el corazón (o en el tejido cardíaco); una o más células en el páncreas; una o más células en la piel; una o más células en el hueso, una o más células en el sistema vascular, una o más células madre o una o más células en el ojo.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos de T β RII de la divulgación puede utilizarse para tratar una enfermedad o trastorno autoinmunitario. En algunos casos, la enfermedad o trastorno autoinmunitario se selecciona entre el grupo que consiste en: espondiloartropatías; espondilitis anquilosante, artritis, artritis psoriásica/espondilitis, artritis enteropática, artritis reactiva, síndrome de Reiter, espondiloartropatía indiferenciada; artritis reactiva, reumatismo, síndrome inflamatorio intestinal, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, espondilitis alquilosante, artrosis, artritis gotosa, alergia, esclerosis múltiple, diabetes autoinmunitaria, uveítis autoinmunitaria y síndrome nefrótico.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos de T β RII de la divulgación puede utilizarse para tratar un trastorno metabólico. En algunos casos, el trastorno metabólico es obesidad o diabetes (por ejemplo, diabetes de tipo I o de tipo II), esteatosis hepática, neuropatía diabética, neuropatía periférica, retinopatía diabética, úlceras diabéticas, ulceraciones por retinopatía, macrovasculopatía diabética.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos de T β RII de la divulgación puede utilizarse para tratar una enfermedad infecciosa o tras un trasplante de órganos o tejidos.

En algunos casos, cualquiera de los polipéptidos de T β RII de la divulgación puede utilizarse para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el trastorno obstructivo crónico de las vías respiratorias, la fibrosis pulmonar idiopática y/o el asma. En parte, la divulgación también se refiere a métodos de tratamiento de la hipertensión pulmonar (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar) que comprenden la administración a un paciente que lo necesita de una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII (por ejemplo, un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 13 y 50-56). En algunos casos, la divulgación contempla métodos para tratar una o más complicaciones de la hipertensión pulmonar (por ejemplo, proliferación de músculo liso y/o células endoteliales en la arteria pulmonar, angiogénesis en la arteria pulmonar, disnea, dolor torácico, remodelación vascular pulmonar, hipertrofia ventricular derecha y fibrosis pulmonar) que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII. En algunos casos, la divulgación contempla métodos de prevención de una o más complicaciones de la hipertensión pulmonar que comprenden administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII. En algunos casos, la divulgación contempla métodos para reducir la tasa de progresión de la hipertensión pulmonar que comprenden administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII. En algunos casos, la divulgación contempla métodos para reducir la tasa de progresión de una o más complicaciones de la hipertensión pulmonar que comprenden administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de T β RII. En algunos casos, la divulgación contempla métodos

para reducir la gravedad de la hipertensión pulmonar que comprenden administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de TβRII. En algunos casos, la divulgación contempla métodos para reducir la gravedad de una o más complicaciones de la hipertensión pulmonar que comprenden administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un polipéptido de TβRII. Opcionalmente, los métodos divulgados en el presente documento para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de la hipertensión pulmonar, en particular para tratar, prevenir o reducir la tasa de progresión y/o la gravedad de una o más complicaciones de la hipertensión pulmonar, pueden comprender además administrar al paciente una o más terapias de apoyo o agentes activos adicionales para tratar la hipertensión pulmonar.

La presente divulgación contempla el uso de polipéptidos de TβRII en combinación con una o más modalidades terapéuticas. Por tanto, además del uso de los polipéptidos de TβRII, se puede administrar al sujeto una o más terapias "convencionales" para el tratamiento de trastornos fibróticos. Por ejemplo, los polipéptidos de TβRII pueden administrarse en combinación con (es decir, junto con) citotoxinas, agentes inmunosupresores, agentes radiotóxicos y/o anticuerpos terapéuticos. Las coterapias particulares contempladas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, esteroides (por ejemplo, corticosteroides, tales como prednisona), agentes inmunosupresores y/o antiinflamatorios (por ejemplo, interferón gamma, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, penicilamina, ciclosporina, colchicina, globulina antitumoral, micofenolato mofetilo e hidroxicloroquina), fármacos citotóxicos, bloqueadores de los canales de calcio (por ejemplo, nifedipina), inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), ácido para-aminobenzoico (PABA), dimetilsulfóxido, inhibidores del factor de crecimiento transformante beta (TGFβ), inhibidores de interleucina-5 (IL-5) e inhibidores de pan caspasa.

Otros agentes antifibróticos que pueden utilizarse en combinación con los polipéptidos de TβRII son, pero sin limitación, lectinas (tal como se describe en, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º: 7.026.283), así como los agentes antifibróticos descritos por Wynn et al (2007, J Clin Invest 117 524-529). Por ejemplo, los agentes antifibróticos y las terapias adicionales incluyen, pero sin limitación, diversos fármacos antiinflamatorios/inmunosupresores/ citotóxicos (que incluyen colchicina, azatioprina, ciclofosfamida, prednisona, talidomida, pentoxifilina y teofilina), modificadores de la señalización del TGFβ (incluida la relaxina, SMAD7, HGF y BMP7, así como TGFβ1, TβRI, TβRII, EGR-I, e inhibidores de CTGF), antagonistas de citocinas y de receptores de citocinas (inhibidores de IL-1 β, IL-5, IL-6, IL-13, IL-21, IL-4R, IL-13Rα1, GM-CSF, TNF-α, oncostatina M, WISP-I y PDGF), citocinas y quimiocinas (IFN-γ, IFN-α/β, IL-12, IL-10, HGF, CXCL10 y CXCL11), antagonistas de quimiocinas (inhibidores de CXCL1, CXCL2, CXCL12, CCL2, CCL3, CCL6, CCL17 y CCL18), antagonistas del receptor de quimiocinas (inhibidores de CCR2, CCR3, CCR5, CCR7, CXCR2 y CXCR4), antagonistas de TLR (inhibidores de TLR3, TLR4 y TLR9), antagonistas de la angiogénesis (anticuerpos específicos contra el VEGF y terapia de sustitución de la adenosina desaminasa), fármacos antihipertensivos (beta bloqueantes e inhibidores de ANG II, ECA y aldosterona), sustancias vasoactivas (antagonistas del receptor ET-1 y bosetán), inhibidores de enzimas que sintetizan y procesan colágeno (inhibidores de prolil hidroxilasa), antagonistas de linfocitos B (rituximab), antagonistas de integrina/moléculas de adhesión (moléculas que bloquean las integrinas α1β1 y αvβ6, así como inhibidores de la cinasa ligada a la integrina, y anticuerpos específicos para ICAM-I y VCAM-I), fármacos proapoptóticos dirigidos a los miofibroblastos, inhibidores de MMP (inhibidores de MMP2, MMP9 y MMP12) e inhibidores de TIMP (anticuerpos específicos para TIMP-1).

El polipéptido de TβRII y el agente coterapéutico o la coterapia pueden administrarse en la misma formulación o por separado. En el caso de la administración separada, el polipéptido de TβRII puede administrarse antes, después o de manera concurrente con el agente coterapéutico o la coterapia. Un agente puede preceder o seguir la administración del otro agente en intervalos que varían de minutos a semanas. En casos en los que se apliquen por separado dos o más tipos diferentes de agentes terapéuticos a un sujeto, uno generalmente se aseguraría de que no pasara un periodo de tiempo significativo entre el momento de cada administración, de manera que estos diferentes tipos de agentes aún sean capaces de ejercer un efecto ventajosamente combinado sobre los tejidos o células diana.

10. Composiciones farmacéuticas

Los agentes terapéuticos descritos en el presente documento (por ejemplo, polipéptidos de fusión de TβRII) pueden formularse en composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la presente divulgación se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables. Por lo general, dichas formulaciones estarán sustancialmente libres de pirógenos, de conformidad con la mayoría de los requisitos de registro sanitario.

En ciertos casos, el método terapéutico de la divulgación incluye administrar la composición sistémicamente, o localmente como un implante o dispositivo. Cuando se administra, la composición terapéutica para uso en la presente divulgación está en una forma fisiológicamente aceptable y libre de pirógenos. En los métodos divulgados en el presente documento, pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente con los presentes compuestos (por ejemplo, polipéptidos de TβRII), agentes terapéuticamente útiles distintos de los antagonistas de la señalización de TβRII, que pueden incluirse opcionalmente en la composición como se ha descrito anteriormente.

Normalmente, los agentes terapéuticos proteicos divulgados en el presente documento se administrarán por vía parenteral, y en particular por vía intravenosa o subcutánea. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para

administración parenteral pueden comprender uno o más polipéptidos de TβRII en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes. Entre los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la divulgación se incluyen el agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Las composiciones y formulaciones pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dosificador que puede contener una o más formas de dosificación unitarias que contienen el principio activo. El envase puede comprender, por ejemplo, papel metalizado o de plástico, tal como un envase de tipo blíster. El envase o dispositivo dosificador puede estar acompañado de instrucciones para la administración.

Además, la composición puede encapsularse o inyectarse en una forma para su administración a un sitio tisular diana. En ciertos casos, las composiciones descritas en el presente documento pueden incluir una matriz capaz de administrar uno o más compuestos terapéuticos (por ejemplo, polipéptidos de TβRII) a un sitio tisular diana, proporcionando una estructura para el tejido en desarrollo y óptimamente capaz de ser reabsorbido en el cuerpo. Por ejemplo, la matriz puede proporcionar una liberación lenta de los polipéptidos de TβRII. Dichas matrices pueden estar formadas por materiales actualmente en uso para otras aplicaciones médicas implantadas.

La elección del material de la matriz se basa en la biocompatibilidad, la biodegradabilidad, las propiedades mecánicas, la apariencia estética y las propiedades de la interfaz. La aplicación particular de las composiciones en cuestión definirá la formulación adecuada. Las posibles matrices para las composiciones pueden ser sulfato de calcio biodegradable y químicamente definido, fosfato tricálcico, hidroxiapatita, ácido poliláctico y polianhídridos. Otros materiales potenciales son biodegradables y biológicamente bien definidos, como el hueso o el colágeno dérmico. Otras matrices se componen de proteínas puras o de componentes de la matriz extracelular. Otras matrices potenciales son las no biodegradables y las químicamente definidas, como la hidroxiapatita sinterizada, biovidrio, aluminatos u otras cerámicas. Las matrices pueden estar compuestas por combinaciones de cualquiera de los tipos de material mencionados, como el ácido poliláctico y la hidroxiapatita o el colágeno y el fosfato tricálcico. La composición de la biocerámica puede modificarse, como en el calcio-aluminato-fosfato y procesarse para alterar el tamaño de los poros, el tamaño de las partículas, la forma de las partículas y la biodegradabilidad.

En ciertos casos, los métodos descritos en el presente documento pueden administrarse por vía oral, por ejemplo, en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (usando una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábica o de tragacanto), polvos, gránulos o en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite o en forma de un elixir o jarabe o en forma de pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica) y/o en forma de colutorios y similares, en donde cada uno contiene una cantidad predeterminada de un agente como principio activo. Un agente también puede administrarse en embolada, electuario o pasta.

En las formas farmacéuticas sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), uno o más compuestos terapéuticos descritos en el presente documento pueden mezclarse con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábica; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcillas de bentonita; (9) lubricantes, como el talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) colorantes. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alta masa molecular y similares.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes habitualmente usados en la técnica, tales como agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceite de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y

ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

- 5 Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

- 10 Las composiciones descritas en el presente documento también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede asegurarse por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol de ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede conseguirse por la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como el monoestearato de aluminio y gelatina.

- 20 Se entiende que la pauta posológica se determinará por el médico a cargo del tratamiento teniendo en cuenta diversos factores que modifican la acción de los presentes compuestos descritos en el presente documento (por ejemplo, polipéptidos de fusión de T β RII). Entre los diversos factores figuran, pero sin limitación, la edad del paciente, el sexo y la dieta, la gravedad de la enfermedad, el momento de la administración y otros factores clínicos. Opcionalmente, la dosis puede variar en función del tipo de matriz utilizada en la reconstitución y los tipos de compuestos en la composición. La adición de otros factores de crecimiento conocidos a la composición final, también puede afectar a la dosis. El progreso puede controlarse mediante la evaluación periódica del crecimiento y/o la reparación ósea, por ejemplo, radiografías (que incluyen DEXA), determinaciones histomorfométricas y marcaje con tetraciclina.

- 25 En ciertos casos, la presente divulgación también describe la terapia génica para la producción *in vivo* de polipéptidos de fusión de T β RII. Dicha terapia lograría su efecto terapéutico mediante la introducción de las secuencias polinucleotídicas de T β RII en células o tejidos que padezcan los trastornos enumerados anteriormente. La administración de secuencias de polinucleótidos de T β RII puede lograrse utilizando un vector de expresión recombinante, como un virus quimérico o un sistema de dispersión coloidal. Para la administración terapéutica de secuencias de polinucleótidos de T β RII se prefiere el uso de liposomas dirigidos.

- 30 Entre los diversos vectores víricos que pueden utilizarse para la terapia génica, tal como se enseña en el presente documento, se incluyen los adenovirus, virus del herpes, vaccinia, o, preferentemente, un virus de ARN, tal como un retrovirus. Preferentemente, el vector retroviral es un derivado de un retrovirus murino o aviar. Algunos ejemplos de vectores retrovíricos en los que se puede insertar un único gen extraño son, pero sin limitación: virus de la leucemia murina de Moloney (MoMuLV), virus del sarcoma murino de Harvey (HaMuSV), virus del tumor mamario murino (MuMTV) y virus del sarcoma de Rous (RSV). Otros vectores retrovíricos pueden incorporar múltiples genes. Todos estos vectores pueden transferir o incorporar un gen para un marcador de selección, de modo que puedan identificarse y generarse células transducidas. Los vectores retrovíricos pueden hacerse específicos de una diana acoplándoles, por ejemplo, un azúcar, un glicolípido o una proteína. La orientación preferida se consigue utilizando un anticuerpo. Los expertos en la materia reconocerán que pueden insertarse secuencias polinucleotídicas específicas en el genoma retroviral o unirse a una envoltura vírica para permitir la administración específica de la diana del vector retroviral que contiene el polinucleótido de T β RII. En un caso preferido, el vector se dirige al hueso o al cartílago.

- 45 Como alternativa, las células de cultivo tisular pueden transfectarse directamente con plásmidos que codifican los genes estructurales retrovíricos gag, pol y env, mediante transfección convencional con fosfato cálcico. A continuación, estas células se transfectan con el vector plasmídico que contiene los genes de interés. Las células resultantes liberan el vector retroviral en el medio de cultivo.

- 50 Otro sistema de administración dirigido para polinucleótidos de T β RII es un sistema de dispersión coloidal. Los sistemas de dispersión coloidal incluyen complejos de macromoléculas, nanocápsulas, microesferas, y sistemas basados en lípidos, incluidas las emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas y liposomas. El sistema coloidal preferido es un liposoma. Los liposomas son vesículas artificiales de membrana útiles como vehículos de administración *in vitro* e *in vivo*. Se pueden encapsular ARN, ADN y viriones intactos dentro del interior acuoso y administrarse a las células en una forma biológicamente (véase, por ejemplo, Fraley, *et al.*, Trends Biochem. Sci., 6:77, 1981). Se conocen en la técnica métodos para la transferencia eficiente de genes utilizando un vehículo liposomal, véase, por ejemplo, Mannino, *et al.*, Biotechniques, 6:682, 1988. La composición del liposoma suele ser una combinación de fosfolípidos, normalmente en combinación con esteroides, especialmente colesterol. También pueden utilizarse otros fosfolípidos u otros lípidos. Las características físicas de los liposomas dependen del pH, la fuerza iónica y la presencia de cationes divalentes.

- 65 Algunos ejemplos de lípidos útiles en la producción de liposomas son los compuestos de fosfatidilo, tal como fosfatidilglicerol, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingolípidos, cerebrósidos y gangliósidos. Algunos fosfolípidos ilustrativos son la fosfatidilcolina de huevo, la dipalmitoilfosfatidilcolina y la diestearoilfosfatidilcolina. La orientación de los liposomas también es posible basándose en, por ejemplo, la

organoespecificidad, la especificidad celular y la especificidad de orgánulos y es conocida en la técnica.

En el presente documento también se describen formulaciones que pueden variarse para incluir ácidos y bases para ajustar el pH; y agentes tamponadores para mantener el pH dentro de un estrecho intervalo.

EJEMPLIFICACIÓN

La presente divulgación ahora descrita de manera general, se entenderá más completamente por referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen únicamente a efectos ilustrativos de determinados casos de la presente divulgación.

Ejemplo 1. Generación de variantes de proteínas de fusión de receptores

Variantes de ECD de T β RII

Se generaron proteínas de fusión de T β RII que comprendían una porción extracelular soluble de T β RII humana y una porción Fc humana. Para cada proteína de fusión, se fusionó una secuencia de aminoácidos de T β RII con la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18 a una porción Fc de IgG con la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20 por medio de uno de varios enlazadores diferentes. Cada una de las proteínas de fusión también incluía una secuencia líder de TPA que tenía la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 23 (a continuación).

Activador del plasminógeno tisular (TPA): MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSP (SEQ ID NO: 23)

En la figura 3 se proporciona un resumen ilustrativo de varias de las construcciones diseñadas. A continuación se proporciona una tabla que detalla las secuencias de las diferentes construcciones analizadas en la sección de ejemplificación:

Nombre de la construcción	Secuencia de aminoácidos de la construcción	Secuencia enlazadora
hT β RII-hFc	SEQ ID NO: 9	TGGG (SEQ ID NO: 3)
hT β RII (G4S)2-hFc	SEQ ID NO: 15	TGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 4)
hT β RII (G4S)3-hFc	SEQ ID NO: 11	TGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 5)
hT β RII (G4S)4-hFc	SEQ ID NO: 13	TGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 6)
hT β RII bisagra extendida-hFc	SEQ ID NO: 17	TGGGPKSCDK (SEQ ID NO: 7)
hT β RII (G4S)5-hFc	SEQ ID NO: 44	TGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 25)
hT β RII (G4S)6-hFc	SEQ ID NO: 45	TGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 26)

A continuación se proporcionan las secuencias de aminoácidos de los componentes de las construcciones y de cada una de las construcciones, junto con la secuencia de ácido nucleico utilizada para expresar estas construcciones.

Porción de T β RII: Secuencia de aminoácidos

```

1      TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
51     PQLCKFCDVR FSTCDNQKSC MSNCSITSIC EKPQEVCAV WRKNDENITL
101    ETVCHDPKLP YHDFILEDAA SPKCIMKEKK KPGETFFMCS CSSDECNDNI
151    IFSEEYNTSN PD (SEQ ID NO: 18)

```

Porción Fc: Secuencia de aminoácidos

```

1      THTCPPCPAP ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE
51     VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK
101    VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF
151    YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRRWQQGNV
201    FSCSVMEAL HNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 20)

```

hTβRII-hFc: Secuencia de ácido nucleico

```

1   ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
51  AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCACGATCCC ACCGCACGTT CAGAAGTCGG
101 ATGTGGAAAT GGAGGCCCGAG AAAGATGAAA TCATCTGCCC CAGCTGTAAT
151 AGGACTGCCC ATCCACTGAG ACATATTAAT AACGACATGA TAGTCACTGA
201 CAACAACGGT GCAGTCAAGT TTCCACAACCT GTGTAAATTT TGTGATGTGA
251 GATTTTCCAC CTGTGACAAC CAGAAATCCT GCATGAGCAA CTGCAGCATC
301 ACCTCCATCT GTGAGAAGCC ACAGGAAGTC TGTGTGGCTG TATGGAGAAA
351 GAATGACGAG AACATAACAC TAGAGACAGT TTGCCATGAC CCCAAGCTCC
401 CCTACCATGA CTTTATTCTG GAAGATGCTG CTTCTCCAAA GTGCATTATG
451 AAGGAAAAAA AAAAGCCTGG TGAGACTTTC TTCATGTGTT CCTGTAGCTC
501 TGATGAGTGC AATGACAACA TCATCTTCTC AGAAGAATAT AACACCAGCA
551 ATCCTGACAC CGGTGGTGGA ACTCACACAT GCCCACCCTG CCCAGCACCT
601 GAACTCCTGG GGGGACCGTC AGTCTTCCTC TTCCCCCACC AACCCTAAGGA
651 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACATGCGTG GTGGTGGACG
701 TGAGCCACGA AGACCCTGAG GTCAAGTTCA ACTGGTACGT GGACGGCGTG
751 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCGCGG GAGGAGCAGT ACAACAGCAC
801 GTACCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTCCT GCACCAGGAC TGGCTGAATG
851 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCCAACA AAGCCCTCCC AGCCCCATC
901 GAGAAAACCA TCTCCAAAGC CAAAGGGCAG CCCCAGAAC CACAGGTGTA
951 CACCCTGCCC CCATCCCGGG AGGAGATGAC CAAGAACCAG GTCAGCCTGA
1001 CCTGCCTGGT CAAAGGCTTC TATCCCAGCG ACATCGCCGT GGAGTGGGAG
1051 AGCAATGGGC AGCCGGAGAA CAACTACAAG ACCACGCCTC CCGTGCTGGA
1101 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTATAGCAA GCTCACCCTG GACAAGAGCA
1151 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA TGAGGCTCTG
1201 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCGG GTAAATGA (SEQ
ID NO: 8)

```

hTβRII-hFc: Secuencia de aminoácidos

```

1   MDAMKRGLCC VLLLCGAVFV SPGATIPPHV QKSDVEMEAQ KDEIICPSCN
51  RTAHPLRHIN NDMIVTDNNG AVKFPQLCKF CDVRFSTCDN QKSCMSNCSI
101 TSICEKPQEV CVAVWRKNDE NITLETVCHD PKLPYHDFIL EDAASPKCIM
151 KEKKKPGETF FMCSCSSDEC NDNIIFSEY NTSNPDTGGG THTCPPCPAP
201 ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV
251 EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI
301 EKTISKAKGQ PREPQVYTL PPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
351 SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRRWQGNV FSCSVMHEAL
401 HNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 9)

```

hTβRII (G4S)3-hFc: Secuencia de ácido nucleico

```

1   ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
51  AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCACGATCCC ACCGCACGTT CAGAAGTCGG
101 ATGTGGAAAT GGAGGCCCGAG AAAGATGAAA TCATCTGCCC CAGCTGTAAT
151 AGGACTGCCC ATCCACTGAG ACATATTAAT AACGACATGA TAGTCACTGA
201 CAACAACGGT GCAGTCAAGT TTCCACAACCT GTGTAAATTT TGTGATGTGA

```

```

251  GATTTTCCAC CTGTGACAAC CAGAAATCCT GCATGAGCAA CTGCAGCATC
301  ACCTCCATCT GTGAGAAGCC ACAGGAAGTC TGTGTGGCTG TATGGAGAAA
351  GAATGACGAG AACATAACAC TAGAGACAGT TTGCCATGAC CCCAAGCTCC
401  CCTACCATGA CTTTATTCTG GAAGATGCTG CTTCTCCAAA GTGCATTATG
451  AAGGAAAAAA AAAAGCCTGG TGAGACTTTC TTCATGTGTT CCTGTAGCTC
501  TGATGAGTGC AATGACAACA TCATCTTCTC AGAAGAATAT AACACCAGCA
551  ATCCTGACAC CGGTGGTGGA GGAAGTGGTG GAGGTGGTTC TGGAGGTGGT
601  GGAAGTACTC ACACATGCCC ACCGTGCCCC GCACCTGAAC TCCTGGGGGG
651  ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCAAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT
701  CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC
751  CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGC GTGAGG TGCATAATGC
801  CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA CAGCACGTAC CGTGTGGTCA
851  GCGTCCTCAC CGTCCTGCAC CAGGACTGGC TGAATGGCAA GGAGTACAAG
901  TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC
951  CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT
1001 CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA
1051 GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC
1101 GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT GCTGGACTCC GACGGCTCCT
1151 TCTTCCTCTA TAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG
1201 AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC
1251 GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA ATGA (SEQ ID NO: 10)

```

hTβRII (G4S)3-hFc: Secuencia de aminoácidos

```

1  MDAMKRGLCC VLLLCGAVFV SPGATIPPHV QKSDVEMEAQ KDEIICPSCN
51  RTAHPLRHIN NDMIVTDNNG AVKFPQLCKF CDVRFSTCDN QKSCMSNCSI
101 TSICEKPQEV CVAVWRKNDE NITLETVCHD PKLPYHDFIL EDAASPKCIM
151 KEKKKPGETF FMCSCSDEC NDNIIFSEY NTSNPDTGGG GSGGGSGGG
201 GSTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
251 PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
301 CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK
351 GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLD S DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
401 NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de ácido nucleico

```

1   ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
51  AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCACGATCCC ACCGCACGTT CAGAAAGTCGG
101 ATGTGGAAAT GGAGGCCCAG AAAGATGAAA TCATCTGCCC CAGCTGTAAT
151 AGGACTGCCC ATCCACTGAG ACATATTAAT AACGACATGA TAGTCACTGA
201 CAACAACGGT GCAGTCAAGT TTCCACAACCT GTGTAAATTT TGTGATGTGA
251 GATTTTCCAC CTGTGACAAC CAGAAATCCT GCATGAGCAA CTGCAGCATC
301 ACCTCCATCT GTGAGAAGCC ACAGGAAGTC TGTGTGGCTG TATGGAGAAA
351 GAATGACGAG AACATAACAC TAGAGACAGT TTGCCATGAC CCCAAGCTCC
401 CCTACCATGA CTTTATTCTG GAAGATGCTG CTTCTCCAAA GTGCATTATG
451 AAGGAAAAAA AAAAGCCTGG TGAGACTTTC TTCATGTGTT CCTGTAGCTC
501 TGATGAGTGC AATGACAACA TCATCTTCTC AGAAGAATAT AACACCAGCA
551 ATCCTGACAC CGGTGGTGGA GGTCTTGAG GTGGAGGAAG TGGTGGAGGT
601 GGTTCTGGAG GTGGTGGAAG TACTCACACA TGCCCACCGT GCCCAGCACC
651 TGAACCTCCTG GGGGGACCGT CAGTCTTCCT CTTCCCCCCA AAACCCAAGG
701 ACACCCTCAT GATCTCCCGG ACCCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC
751 GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT
801 GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA
851 CGTACCGTGT GGTGAGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA CTGGCTGAAT
901 GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCCAT
951 CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAGGGCA GCCCCGAGAA CCACAGGTGT
1001 ACACCCTGCC CCCATCCCGG GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTGAGCCTG
1051 ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA
1101 GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT CCCGTGCTGG
1151 ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTATAGCA AGCTCACCGT GGACAAGAGC
1201 AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT
1251 GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG GGTAATGA

```

(SEQ ID NO: 12)

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos

5

```

1   MDAMKRG LCC VLLLCGAVFV SPGATIPPHV QKSDVEMEAQ KDEIICPSCN
51  RTAHLPL RHIN NDMIVTDNNG AVKFPQLCKF CDVRFSTCDN QKSCMSNCSI
101 TSICEKPQ EV CVAVWRKNDE NITLETVCHD PKLPYHDFIL EDAASPKCIM
151 KEKKKPGE TF FMCSSSDEC NDNIIFSEY NTSNPDTGGG GSGGGGSGGG
201 GSGGGGST HT CPPCPAPELL GPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
251 VSHEDPEV KF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
301 GKEYKCKV SN KALPAPIEKT ISKAKQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL
351 TCLVKGFY PS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS
401 RWQQGNVF SC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK (SEQ ID NO: 13)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder

```

1   GATIPPHVQK SDVEMEAQKD EIICPSCNRT AHPLRHINND MIVTDNNGAV
51  KFPQLCKFCD VRFSTCDNQK SCMSNCSITS ICEKPQEV CV AVWRKNDENI
101 TLETVCHDPK LPYHDFILED AASPKCIMKE KKKPGETFFM CSCSSDECND
151 NIIFSEYNT SNPDTGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSTHTCP PCPAPELLGG
201 PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
251 KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
301 KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
351 ENNYKTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
401 QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 50)

```

10

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina antes de la porción hTβRII

```

1   ATIPPHVQKS DVEMEAQKDE IICPSCNRTA HPLRHINNDM IVTDNNGAVK
51  FPQLCKFCDV RFSTCDNQKS CMSNCSITSI CEKPQEVCSVA VWRKNDENIT
101 LETVCHDPKL PYHDFILED AASPKCIMKEK KKPGETFFMC SCSSDECNDN
151 IIFSEYNTS NPDTGGGGSG GGGSGGGSG GGGSTHTCPP CPAPELLGGP
201 SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK
251 TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK
301 AKGQPREPQV YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
351 NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ
401 KSLSLSPGK (SEQ ID NO: 52)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina y alanina antes de la porción hTβRII

5

```

1   TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
51  PQLCKFCDV RSTCDNQKSC MSNCSITSIC EKPQEVCSVA VWRKNDENITL
101 ETVCHDPKLP YHDFILEDAA SPKCIMKEKK KKPGETFFMCS CSSDECNDNI
151 IFSEYNTSN PDTGGGGSGG GSGGGGGSG GGGSTHTCPPC PAPELLGGPS
201 VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGEVHNAKT
251 KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA
301 KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN
351 NYKTTPPVL DSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK
401 SLSLSPGK (SEQ ID NO: 51)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina, alanina y treonina antes de la porción hTβRII

10

```

1   IPPHVQKSDV EMEAQKDEII CPSCNRTAHP LRHINNDMIV TDNNGAVKFP
51  QLCKFCDVRF STCDNQKSCM SNCSITSICE KPQEVCSVA VWRKNDENITL
101 TVCHDPKLPY HDFILEDAA SPKCIMKEKK KKPGETFFMCS SCSSDECNDNI
151 FSEYNTSNP DTGGGGSGGG GSGGGGGSG GGGSTHTCPPC PAPELLGGPSV
201 FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKT
251 PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
301 GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
351 YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS
401 LSLSPGK (SEQ ID NO: 53)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina, alanina, treonina e isoleucina antes de la porción hTβRII

15

```

1   PPHVQKSDVE MEAQKDEIIC PSCNRTAHPL RHINNDMIVT DNNGAVKFPQ
51  LCKFCDVRF STCDNQKSCMS NCSITSICEK PQEVCSVA VWRKNDENITL
101 VCHDPKLPYH DFILEDAASP KCIMKEKKK GETFFMCS SCSSDECNDNI
151 SEEYNTSNP DTGGGGSGGG GSGGGGGSG GGGSTHTCPPC PAPELLGGPSV
201 LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKT
251 REEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
301 QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
351 KTTTPPVLDS GSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS
401 SLSPGK (SEQ ID NO: 54)

```

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina, alanina, treonina, isoleucina y prolina antes de la porción hTβRII

1	PHVQKSDVEM	EAQKDEIICP	SCNRTAHPLR	HINNDMIVTD	NGGAVKFPQL
51	CKFCDVRFST	CDNQKSCMSN	CSITSICEKP	QEVAVVWRK	NDENITLETV
101	CHDPKLPYHD	FILEDAASPK	CIMKEKKKPG	ETFFMCSCSS	DECNDNIIFS
151	EEYNTSNPDT	GGGSGGGGS	GGGSGGGGS	THTCPPCPAP	ELGGPSVFL
201	FPPKPKDTLM	ISRTPEVTCV	VVDVSHEDPE	VKFNWYVDGV	EVHNAKTKPR
251	EEQYNSTYRV	VSVLTVLHQD	WLNKEYKCK	VSNKALPAPI	EKTISKAKGQ
301	PREPQVYTL	PSREEMTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK
351	TTPVLDSGD	SFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCSVMHEAL	HNHYTQKSLS
401	LSPGK (SEQ ID NO: 55)				

hTβRII (G4S)4-hFc: Secuencia de aminoácidos sin secuencia líder y sin glicina, alanina, treonina, isoleucina, prolina y prolina antes de la porción hTβRII

5

1	HVQKSDVEME	AQKDEIICPS	CNRTAHPLRH	INNDMIVTDN	NGAVKFPQLC
51	KFCDVRFSTC	DNQKSCMSNC	SITSICEKPQ	EVCVAVWRKN	DENITLETVC
101	HDPKLPYHDF	ILEDAAAPKC	IMKEKKKPGE	TFFMCSCSSD	ECNDNIIFSE
151	EYNTSNPDTG	GGSGGGGSG	GGSGGGGST	HTCPPCPAPE	LLGGPSVFLF
201	PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	VHNAKTKPRE
251	EQYNSTYRVV	SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP
301	REPQVYTLPP	SREEMTKNQV	SLTCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT
351	TPPVLDSGDS	FFLYSKLTV	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKSLSL
401	SPGK (SEQ ID NO: 56)				

hTβRII (G4S)2-hFc: Secuencia de ácido nucleico

10

1	ATGGATGCAA	TGAAGAGAGG	GCTCTGCTGT	GTGCTGCTGC	TGTGTGGAGC
51	AGTCTTCGTT	TCGCCCCGGC	CCACGATCCC	ACCGCACGTT	CAGAAAGTCGG
101	ATGTGGAAAT	GGAGGCCAG	AAAGATGAAA	TCATCTGCCC	CAGCTGTAAT
151	AGGACTGCCC	ATCCACTGAG	ACATATTAAT	AACGACATGA	TAGTCACTGA
201	CAACAACGGT	GCAGTCAAGT	TTCCACAAC	GTGTAAATTT	TGTGATGTGA
251	GATTTTCCAC	CTGTGACAAC	CAGAAATCCT	GCATGAGCAA	CTGCAGCATC
301	ACCTCCATCT	GTGAGAAGCC	ACAGGAAGTC	TGTGTGGCTG	TATGGAGAAA
351	GAATGACGAG	AACATAACAC	TAGAGACAGT	TTGCCATGAC	CCCAAGCTCC
401	CCTACCATGA	CTTTATTCTG	GAAGATGCTG	CTTCTCCAAA	GTGCATTATG
451	AAGGAAAAAA	AAAAGCCTGG	TGAGACTTTC	TTCATGTGTT	CCTGTAGCTC
501	TGATGAGTGC	AATGACAACA	TCATCTTCTC	AGAAGAATAT	AACACCAGCA
551	ATCCTGACAC	CGGTGGAGGT	GGTTCTGGAG	GTGGTGGAAG	TACTCACACA
601	TGCCACCGT	GCCCAGCACC	TGAACCTCTG	GGGGGACCGT	CAGTCTTCCT
651	CTTCCCCCCA	AAACCCAAGG	ACACCCTCAT	GATCTCCCGG	ACCCCTGAGG
701	TCACATGCGT	GGTGGTGGAC	GTGAGCCACG	AAGACCCTGA	GGTCAAGTTC
751	AACTGGTACG	TGGACGGCGT	GGAGGTGCAT	AATGCCAAGA	CAAAGCCGCG
801	GGAGGAGCAG	TACAACAGCA	CGTACCGTGT	GGTCAGCGTC	CTCACCCTCC
851	TGCACCAGGA	CTGGCTGAAT	GGCAAGGAGT	ACAAGTGCAA	GGTCTCCAAC
901	AAAGCCCTCC	CAGCCCCCAT	CGAGAAAACC	ATCTCCAAAG	CCAAAGGGCA
951	GCCCCGAGAA	CCACAGGTGT	ACACCCTGCC	CCCATCCCGG	GAGGAGATGA
1001	CCAAGAACCA	GGTCAGCCTG	ACCTGCCTGG	TCAAAGGCTT	CTATCCCAGC
1051	GACATCGCCG	TGGAGTGGGA	GAGCAATGGG	CAGCCGGAGA	ACAACCTACAA
1101	GACCACGCCT	CCCGTGCTGG	ACTCCGACGG	CTCCTTCTTC	CTCTATAGCA
1151	AGCTCACCGT	GGACAAGAGC	AGGTGGCAGC	AGGGGAACGT	CTTCTCATGC
1201	TCCGTGATGC	ATGAGGCTCT	GCACAACCAC	TACACGCAGA	AGAGCCTCTC
1251	CCTGTCTCCG GTAAATGA (SEQ ID NO: 14)				

hTβRII (G4S)2-hFc: Secuencia de aminoácidos

1	MDAMKRGLCC	VLLLCGAVFV	SPGATIPPHV	QKSDVEMEAQ	KDEIICPSCN
51	RTAHPLRHIN	NDMIVTDNNG	AVKFPQLCKF	CDVRFSTCDN	QKSCMSNCSI
101	TSICEKPQEV	CVAVWRKNDE	NITLETVCHD	PKLPYHDFIL	EDAASPKCIM
151	KEKKKPGETF	FMCSCSSDEC	NDNIIFSEY	NTSNPDTGGG	GSGGGGSTHT
201	CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF
251	NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN
301	KALPAPIEKT	ISKAKGQPRE	PQVYTLPPSR	EEMTKNQVSL	TCLVKGFYPS
351	DIAVEWESNG	QPENNYKTP	PVLDSGDSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC
401	SVMHEALHNH	YTQKSLSLSP	GK (SEQ ID NO: 15)		

hTβRII bisagra extendida-hFc: Secuencia de ácido nucleico

1	ATGGATGCAA	TGAAGAGAGG	GCTCTGCTGT	GTGCTGCTGC	TGTGTGGAGC
51	AGTCTTCGTT	TCGCCCCGGC	CCACGATCCC	ACCGCACGTT	CAGAAAGTCGG
101	ATGTGGAAAT	GGAGGCCAG	AAAGATGAAA	TCATCTGCCC	CAGCTGTAAT
151	AGGACTGCCC	ATCCACTGAG	ACATATTAAT	AACGACATGA	TAGTCACTGA
201	CAACAACGGT	GCAGTCAAGT	TTCCACAAC	GTGTAAATTT	TGTGATGTGA
251	GATTTTCCAC	CTGTGACAAC	CAGAAATCCT	GCATGAGCAA	CTGCAGCATC
301	ACCTCCATCT	GTGAGAAGCC	ACAGGAAGTC	TGTGTGGCTG	TATGGAGAAA
351	GAATGACGAG	AACATAACAC	TAGAGACAGT	TTGCCATGAC	CCCAAGCTCC
401	CCTACCATGA	CTTTATTCTG	GAAGATGCTG	CTTCTCCAAA	GTGCATTATG
451	AAGGAAAAAA	AAAAGCCTGG	TGAGACTTTC	TTTATGTGTT	CCTGTAGCTC
501	TGATGAGTGC	AATGACAACA	TCATCTTCTC	AGAAGAATAT	AACACCAGCA
551	ATCCTGACAC	CGGTGGTGGA	CCCAAATCTT	GTGACAAAAC	TCACACATGC
601	CCACCGTGCC	CAGCACCTGA	ACTCCTGGGG	GGACCGTCAG	TCTTCCTCTT
651	CCCCCAAAA	CCCAAGGACA	CCCTCATGAT	CTCCCGGACC	CCTGAGGTCA
701	CATGCGTGGT	GGTGGACGTG	AGCCACGAAG	ACCCTGAGGT	CAAGTTCAAC
751	TGGTACGTGG	ACGGCGTGGA	GGTGCATAAT	GCCAAGACAA	AGCCGCGGGA
801	GGAGCAGTAC	AACAGCACGT	ACCGTGTGGT	CAGCGTCCTC	ACCGTCCTGC
851	ACCAGGACTG	GCTGAATGGC	AAGGAGTACA	AGTGCAAGGT	CTCCAACAAA
901	GCCCTCCAG	CCCCATCGA	GAAAACCATC	TCCAAAGCCA	AAGGGCAGCC
951	CCGAGAACCA	CAGGTGTACA	CCCTGCCCCC	ATCCCGGGAG	GAGATGACCA
1001	AGAACCAGGT	CAGCCTGACC	TGCCTGGTCA	AAGGCTTCTA	TCCAGCGAC
1051	ATCGCCGTGG	AGTGGGAGAG	CAATGGGCAG	CCGGAGAACA	ACTACAAGAC
1101	CACGCCTCCC	GTGCTGGACT	CCGACGGCTC	CTTCTTCCTC	TATAGCAAGC
1151	TCACCGTGGA	CAAGAGCAGG	TGGCAGCAGG	GGAACGTCTT	CTCATGCTCC
1201	GTGATGCATG	AGGCTCTGCA	CAACCACTAC	ACGCAGAAGA	GCCTCTCCCT
1251	GTCCCCGGGT	AAATGA (SEQ ID NO: 16)			

hTβRII bisagra extendida-hFc: Secuencia de aminoácidos

1	MDAMKRGLCC	VLLLCGAVFV	SPGATIPPHV	QKSDVEMEAQ	KDEIICPSCN
51	RTAHPLRHIN	NDMIVTDNNG	AVKFPQLCKF	CDVRFSTCDN	QKSCMSNCSI
101	TSICEKPQEV	CVAVWRKNDE	NITLETVCHD	PKLPYHDFIL	EDAASPKCIM
151	KEKKKPGETF	FMCSCSSDEC	NDNIIFSEY	NTSNPDTGGG	PKSCDKHTTC
201	PPCPAPELLG	GPSVFLFPPK	KPKDTLMISRT	PEVTCVVVDV	SHEDPEVKFN
251	WYVDGVEVHN	AKTKPREEQY	NSTYRVVSVL	TVLHQDWLNG	KEYKCKVSNK
301	ALPAPIEKT	SKAKGQPREP	QVYTLPPSRE	EMTKNQVSLT	CLVKGFYPSD
351	IAVEWESNGQ	PENNYKTPP	VLDSDGSFFL	YSKLTVDKSR	WQQGNVFSCS
401	VMHEALHNHY	TQKSLSLSPG	K (SEQ ID NO: 17)		

hTβRII (G4S)5-hFc: Secuencia de aminoácidos

1	MDAMKRGLCC	VLLLCGAVFV	SPGATIPPHV	QKSDVEMEAQ	KDEIICPSCN
51	RTAHPLRHIN	NDMIVTDNNG	AVKFPQLCKF	CDVRFSTCDN	QKSCMSNCSI
101	TSICEKPQEV	CVAVWRKNDE	NITLETVCHD	PKLPYHDFIL	EDAASPKCIM
151	KEKKKPGETF	FMCSCSSDEC	NDNIIFSEY	NTSNPDTGGG	GSGGGGSGGG
201	GSGGGGSGGG	GSTHTCPPCP	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT
251	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	RVVSVLTVLH
301	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK
351	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL
401	TVDKSRWQQG	NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSLSPGK	(SEQ ID NO: 44)

hTβRII (G4S)6-hFc: Secuencia de aminoácidos

1	MDAMKRGLCC	VLLLCGAVFV	SPGATIPPHV	QKSDVEMEAQ	KDEIICPSCN
51	RTAHPLRHIN	NDMIVTDNNG	AVKFPQLCKF	CDVRFSTCDN	QKSCMSNCSI
101	TSICEKPQEV	CVAVWRKNDE	NITLETVCHD	PKLPYHDFIL	EDAASPKCIM
151	KEKKKPGETF	FMCSCSSDEC	NDNIIFSEY	NTSNPDTGGG	GSGGGGSGGG
201	GSGGGGSGGG	GSGGGGSTHT	CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR
251	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV
301	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN	KALPAPIEKT	ISKAKGQPRE	PQVYTLPPSR
351	EEMTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTP	PVLDSGDSFF
401	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNH	YTQKSLSLSP	GK (SEQ ID NO: 45)

5

hTβRII (G4S)5-hFc: Secuencia de nucleótidos

1	ATGGATGCAA	TGAAGAGAGG	GCTCTGCTGT	GTGCTGCTGC	TGTGTGGAGC
51	AGTCTTCGTT	TCGCCCCGCG	CCACGATCCC	ACCGCACGTT	CAGAAAGTCGG
101	ATGTGGAAAT	GGAGGCCAG	AAAGATGAAA	TCATCTGCCC	CAGCTGTAAT
151	AGGACTGCCC	ATCCACTGAG	ACATATTAAT	AACGACATGA	TAGTCACTGA
201	CAACAACGGT	GCAGTCAAGT	TTCCACAAC	GTGTAAATTT	TGTGATGTGA
251	GATTTTCCAC	CTGTGACAAC	CAGAAATCCT	GCATGAGCAA	CTGCAGCATC
301	ACCTCCATCT	GTGAGAAGCC	ACAGGAAGTC	TGTGTGGCTG	TATGGAGAAA
351	GAATGACGAG	AACATAACAC	TAGAGACAGT	TTGCCATGAC	CCCAAGCTCC
401	CCTACCATGA	CTTTATTCTG	GAAGATGCTG	CTTCTCCAAA	GTGCATTATG
451	AAGGAAAAAA	AAAAGCCTGG	TGAGACTTTC	TTCATGTGTT	CCTGTAGCTC
501	TGATGAGTGC	AATGACAACA	TCATCTTCTC	AGAAGAATAT	AACACCAGCA
551	ATCCTGACAC	CGGTGGAGGA	GGTTCTGGTG	GTGGAGGTTC	TGGAGGTGGA
601	GGAAGTGGTG	GAGGTGGTTC	TGGAGGTGGT	GGAAGTACTC	ACACATGCCC
651	ACCGTGCCCA	GCACCTGAAC	TCCTGGGGGG	ACCGTCAGTC	TTCTCTTCC
701	CCCCAAAACC	CAAGGACACC	CTCATGATCT	CCCGGACCCC	TGAGGTCACA
751	TGCGTGGTGG	TGGACGTGAG	CCACGAAGAC	CCTGAGGTCA	AGTTCAACTG
801	GTACGTGGAC	GGCGTGGAGG	TGCATAATGC	CAAGACAAAG	CCGCGGGAGG
851	AGCAGTACAA	CAGCACGTAC	CGTGTGGTCA	GCGTCCTCAC	CGTCTGCAC
901	CAGGACTGGC	TGAATGGCAA	GGAGTACAAG	TGCAAGGTCT	CCAACAAAGC
951	CCTCCCAGCC	CCCATCGAGA	AAACCATCTC	CAAAGCCAAA	GGGCAGCCCC
1001	GAGAACCACA	GGTGTACACC	CTGCCCCCAT	CCCGGGAGGA	GATGACCAAG
1051	AACCAGGTCA	GCCTGACCTG	CCTGGTCAAA	GGCTTCTATC	CCAGCGACAT
1101	CGCCGTGGAG	TGGGAGAGCA	ATGGGCAGCC	GGAGAACAAC	TACAAGACCA
1151	CGCCTCCCGT	GCTGGACTCC	GACGGCTCCT	TCTTCCTCTA	TAGCAAGCTC
1201	ACCGTGGACA	AGAGCAGGTG	GCAGCAGGGG	AACGTCTTCT	CATGCTCCGT
1251	GATGCATGAG	GCTCTGCACA	ACCACTACAC	GCAGAAGAGC	CTCTCCCTGT
1301	CTCCGGGTAA	ATGA	(SEQ ID NO: 46)		

10

hTβRII (G4S)6-hFc: Secuencia de nucleótidos

```

1   ATGGATGCAA TGAAGAGAGG GCTCTGCTGT GTGCTGCTGC TGTGTGGAGC
51  AGTCTTCGTT TCGCCCGGCG CCACGATCCC ACCGCACGTT CAGAAGTCGG
101 ATGTGGAAAT GGAGGCCAG AAAGATGAAA TCATCTGCCC CAGCTGTAAT
151 AGGACTGCCC ATCCACTGAG ACATATTAAT AACGACATGA TAGTCACTGA
201 CAACAACGGT GCAGTCAAGT TTCCACAAC TGTGTAATTT TGTGATGTGA
251 GATTTTCCAC CTGTGACAAC CAGAAATCCT GCATGAGCAA CTGCAGCATC
301 ACCTCCATCT GTGAGAAGCC ACAGGAAGTC TGTGTGGCTG TATGGAGAAA
351 GAATGACGAG AACATAACAC TAGAGACAGT TTGCCATGAC CCCAAGCTCC
401 CCTACCATGA CTTTATTCTG GAAGATGCTG CTTCTCCAAA GTGCATTATG
451 AAGGAAAAAA AAAAGCCTGG TGAGACTTTC TTCATGTGTT CCTGTAGCTC
501 TGATGAGTGC AATGACAACA TCATCTTCTC AGAAGAATAT AACACCAGCA
551 ATCCTGACAC CGGTGGAGGT GGAAGTGGTG GAGGAGGTTT TGGTGGTGGA
601 GGTTCTGGAG GTGGAGGAAG TGGTGGAGGT GGTTCTGGAG GTGGTGGGAAG
651 TACTCACACA TGCCCACCGT GCCCAGCACC TGAACCTCTG GGGGGACCGT
701 CAGTCTTCCT CTTCCCCCCA AAACCCAAGG ACACCCTCAT GATCTCCCGG
751 ACCCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC GTGAGCCACG AAGACCCTGA
801 GGTC AAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT GGAGGTGCAT AATGCCAAGA
851 CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA CGTACCGTGT GGT CAGCGTC
901 CTCACCGTCC TGCACCAGGA CTGGCTGAAT GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA
951 GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAG
1001 CCAAAGGGCA GCCCCGAGAA CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG
1051 GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTCAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT
1101 CTATCCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA
1151 ACAACTACAA GACCACGCCT CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC
1201 CTCTATAGCA AGCTCACCGT GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT
1251 CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA
1301 AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG GTTAAATGA (SEQ ID NO: 47)

```

Las diferentes construcciones se expresaron con éxito en células CHO y se purificaron hasta un alto grado de pureza, según se determinó mediante cromatografía analítica de exclusión por tamaño molecular y SDS-PAGE. Las proteínas hTβRII (G4S)2-hFc, hTβRII (G4S)3-hFc, hTβRII (G4S)4-hFc, hTβRII (G4S)5-hFc y hTβRII (G4S)6-hFc mostraron una estabilidad similar, determinada por análisis SDS-PAGE, cuando se mantuvieron en PBS durante 13 días a 37 °C. Las proteínas hTβRII (G4S)2-hFc, hTβRII (G4S)3-hFc y hTβRII (G4S)4-hFc también se mantuvieron en suero de rata, ratón o humano y mostraron una estabilidad similar.

10 **Variantes de ECD de TβRII**

Además de los dominios TβRII incluidos en las proteínas de fusión descritas anteriormente (por ejemplo, el SEQ ID NO: 18), la divulgación también contempla proteínas de fusión que comprenden dominios TβRII alternativos. Por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender la secuencia hTβRII_{corta}(23-159) de tipo silvestre que se muestra a continuación (SEQ ID NO: 27) o cualquiera de los otros polipéptidos de TβRII que se describen a continuación:

```

1   TIPPHVQKSV NNDMIVTDNN GAVKFPQLCK FCDVRFSTCD NQKSCMSNCS
51  ITSICEKPQE VCVAVWRKND ENITLETVCH DPKLPYHDFI LEDAASPKCI
101 MKEKKKPGET FFMCS CSSDE CNDNIIFSEE YNTSNPD (SEQ ID NO:
27)

```

20 (1) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(23-159/D110K) mostrada a continuación (SEQ ID NO: 36), en la que está subrayado el resto sustituido.

```

1   TIPPHVQKSV NNDMIVTDNN GAVKFPQLCK FCDVRFSTCD NQKSCMSNCS
51  ITSICEKPQE VCVAVWRKND ENITLETVCH DPKLPYHKFI LEDAASPKCI
101 MKEKKKPGET FFMCS CSSDE CNDNIIFSEE YNTSNPD (SEQ ID NO:
36)

```

(2) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(29-159) truncada en el extremo aminoterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 28).

1 QKSVNNDMIV TDNNGAVKFP QLCKFCDVRF STCDNQKSCM SNCSITSICE
 51 KPQEVCAVAV RKNDENITLE TVCHDPKLPY HDFILEDAA SPKCIMKEKKK
 5 101 PGETFFMCSC SSDECNDNII FSEEYNTSNP D (SEQ ID NO: 28)

(3) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(35-159) truncada en el extremo aminoterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 29).

1 DMIIVTDNNGA VKFPQLCKFC DVRFSTCDNQ KSCMSNCSIT SICEKPQEVCA
 51 VAVWRKNDEN ITLETVCHDP KLPYHDFI DAASPKCIMK EKKKPGETFF
 10 101 MCSCSSDECN DNIIFSEEYN TSNPD (SEQ ID NO: 29)

(4) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(23-153) truncada en el extremo carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 30).

1 TIPPHVQKSV NNDMIIVTDNN GAVKFPQLCK FCDVRFSTCD NQKSCMSNCS
 51 ITSICEKPQE VCAVWRKND ENITLETVCH DPKLPYHDFI LEDAASPKCI
 15 101 MKEKKKPGET FFMCS CSSDE CNDNIIFSEE Y (SEQ ID NO: 30)

(5) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(23-153/N70D) truncada en el extremo carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 38), en la que está subrayado el resto sustituido.

1 TIPPHVQKSV NNDMIIVTDNN GAVKFPQLCK FCDVRFSTCD NQKSCMSDCS
 51 ITSICEKPQE VCAVWRKND ENITLETVCH DPKLPYHDFI LEDAASPKCI
 20 101 MKEKKKPGET FFMCS CSSDE CNDNIIFSEE Y (SEQ ID NO: 38)

Los solicitantes también prevén cinco variantes correspondientes (SEQ ID NO: 37, 33, 34, 39) basadas en la secuencia de hTβRII_{larga}(23-184) de tipo silvestre mostrada anteriormente y a continuación (SEQ ID NO: 49), en la que la inserción de 25 aminoácidos está subrayada. Obsérvese que el corte y empalme da lugar a una sustitución de aminoácidos conservativa (Val→Ile) en la posición carboxiloterminal flanqueante a la inserción.

1 TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
 51 PQLCKFCDVR FSTCDNQKSC MSNCSITSIC EKPQEVCAV WRKNDENITL
 101 ETVCHDPKLP YHDFILEDAA SPKCIMKEKK KPGETFFMCS CSSDECNDNI
 151 IFSEEYNTSN PD (SEQ ID NO: 49)

30 (1) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(23-184/D135K) mostrada a continuación (SEQ ID NO: 37), en la que está doble subrayado el resto sustituido.

1 TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
 51 PQLCKFCDVR FSTCDNQKSC MSNCSITSIC EKPQEVCAV WRKNDENITL
 101 ETVCHDPKLP YHKFILEDAA SPKCIMKEKK KPGETFFMCS CSSDECNDNI
 151 IFSEEYNTSN PD (SEQ ID NO: 37)

35 (2) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(29-184) truncada en el extremo aminoterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 33).

1 QKSDVEMEAQ KDEIICPSCN RTAHPLRHIN NDMIVTDNNG AVKFPQLCKF
 51 CDVRFSTCDN QKSCMSNCSI TSICEKPQEV CVAVWRKNDE NITLETVCHD
 101 PKLPYHDFIL EDAASPKCIM KEKKKPGETF FMCSCSSDEC NDNIIFSEY
 151 NTSNPD (SEQ ID NO: 33)

(3) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(60-184) truncada en el extremo aminoterminal mostrada a continuación (igual al SEQ ID NO: 29).

1 DMIIVTDNNGA VKFPQLCKFC DVRFSTCDNQ KSCMSNCSIT SICEKPQEV
 51 VAVWRKNDE NITLETVCHDP KLPYHDFILE DAASPKCIMK EKKKPGETFF
 101 MCSCSSDECN DNIIFSEEYN TSNPD (same as SEQ ID NO: 29)

(4) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(23-178) truncada en el extremo carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 34).

1 TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
 51 PQLCKFCDVR FSTCDNQKSC MSNCSITSIC EKPQEV CVAV WRKNDE NITL
 101 ETVCHDPKLP YHDFILEDAAS PKCIMKEKK KPGETFFMCS CSSDECNDNI
 151 IFSEY (SEQ ID NO: 34)

(5) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(23-178/N95D) truncada en el extremo carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 39), en la que está doble subrayado el resto sustituido.

1 TIPPHVQKSD VEMEAQKDEI ICPSCNRTAH PLRHINNDMI VTDNNGAVKF
 51 PQLCKFCDVR FSTCDNQKSC MSDCSITSIC EKPQEV CVAV WRKNDE NITL
 101 ETVCHDPKLP YHDFILEDAAS PKCIMKEKK KPGETFFMCS CSSDECNDNI
 151 IFSEY (SEQ ID NO: 39)

Otras variantes de ECD de TβRII son:

(A) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(35-153) o hTβRII_{larga}(60-178) truncada en los extremos aminoterminal y carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 32).

1 DMIIVTDNNGA VKFPQLCKFC DVRFSTCDNQ KSCMSNCSIT SICEKPQEV
 51 VAVWRKNDE NITLETVCHDP KLPYHDFILE DAASPKCIMK EKKKPGETFF
 101 MCSCSSDECN DNIIFSEY (SEQ ID NO: 32)

(B) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{corta}(29-153) truncada en los extremos aminoterminal y carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 31).

1 QKSVNNDMIV TDNNGAVKFP QLCKFCDVRF STCDNQKSCM SNCSITSICE
 51 KPQEV CVAV WRKNDE NITL TVCHDPKLPY HDFILEDAAS PKCIMKEKKK
 101 PGETFFMCS SSDECNDNII FSEY (SEQ ID NO: 31)

(C) La secuencia de aminoácidos de hTβRII_{larga}(29-178) truncada en los extremos aminoterminal y carboxiloterminal mostrada a continuación (SEQ ID NO: 35).

1 QKSDVEMEAQ KDEIICPSCN RTAHPLRHIN NDMIVTDNNG AVKFPQLCKF

51 CDVRFSTCDN QKSCMSNCSI TSICEKPQEV CVAVWRKND NITLETVCHD
 101 PKLPYHDFIL EDAASPKCIM KEKKKPGETF FMCS CSSDEC NDNIIFSEY
 (SEQ ID NO: 35)

Cualquiera de las variantes anteriores (SEQ ID NO: 36, 28, 29, 30, 38, 37, 33, 34, 39, 32, 31 y 35) podrían incorporar una inserción de 36 aminoácidos (SEQ ID NO: 41) entre el par de restos de glutamato (posiciones 151 y 152 del SEQ ID NO: 1, o las posiciones 176 y 177 del SEQ ID NO: 2) situados cerca del extremo carboxiloterminal del ECD de hT β RII, como ocurre naturalmente en la isoforma C de hT β RII (Konrad *et al.*, BMC Genomics 8:318, 2007).

GRCKIRHIGS NNRLQRSTCQ NTGWESAHVM KTPGFR (SEQ ID NO: 41)

- 10 A modo de ejemplo, los restos de glutamato emparejados que flanquean el sitio de inserción opcional se indican a continuación (subrayados) para la variante hT β RII_{corta}(29-159) (SEQ ID NO: 28).

1 QKSVNNDMIV TDNNGAVKFP QLCKFCDVRF STCDNQKSCM SNCSITSICE
 51 KPQEV CVAW RKNDENITL TVCHDPKLPY HFILEDAAS PKCIMKEKKK
 101 PGETFFMCSC SSDECNDNII FSEYNTSNP D (SEQ ID NO: 28)

15 Variantes de dominio Fc

- Aunque las construcciones descritas anteriormente se generaron con un dominio Fc que tenía la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, la divulgación contempla proteínas de fusión de hT β RII-hFc que comprenden dominios Fc alternativos, entre los que se incluyen un dominio Fc de IgG2 humana (SEQ ID NO: 42, a continuación) o Fc de IgG1 humana de longitud completa (hG1Fc) (SEQ ID NO: 43, a continuación). Opcionalmente, un polipéptido no relacionado con un dominio Fc podría unirse en lugar del dominio Fc.

1 VECPPCPAPP VAGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVQ
 51 FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLTVVHQDWL NGKEYKCKVS
 101 NKGLPAPIEK TISKTKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP
 151 SDIAVEWESN GPENNYKTT PPMLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS
 201 CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 42)

1 GGPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV
 51 DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL
 101 NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQVS
 151 LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GPENNYKTT PPVLDSGDSF FLYSKLTVDK
 201 SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO: 43)

25

Variantes de la secuencia líder

- Aunque las construcciones generadas descritas anteriormente incluían la secuencia líder de TPA, pueden utilizarse secuencias líder alternativas, tal como la secuencia líder nativa (SEQ ID NO: 22, a continuación) o las secuencias líderes de melitina de abeja melífera (SEQ ID NO: 24, a continuación).

Nativa: MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIAS (SEQ ID NO: 22)

Melitina de la abeja melífera (HBML): MKFLVNVALVEMWYISYIYA (SEQ ID NO: 24)

35

Ejemplo 2. Inhibición diferencial del ligando mediante variantes de la proteína de fusión del receptor en ensayos celulares

- Las afinidades de TGF β 1, TGF β 2 y TGF β 3 por las proteínas hT β RII (G4S)2-hFc; hT β RII (G4S)3-hFc; hT β RII (G4S)4-hFc; hT β RII-hFc; y hT β RII bisagra extendida-hFc se evaluaron *in vitro* con un instrumento Biacore™, y los resultados

40

se resumen en las figuras 4A y 4B. Cada una de las proteínas de fusión era capaz de unirse a TGFβ1 y TGFβ3 con alta afinidad, pero las construcciones con longitudes de enlazador mayores o iguales a (G4S)₄ fueron sorprendentemente capaces de unirse tanto a TGFβ1 como a TGFβ3 con mayor afinidad que las construcciones con longitudes de enlazador menores que (G4S)₄. La unión entre TGFβ2 y cualquiera de las construcciones fue escasa o transitoria. La desglicosilación de las construcciones no modificó la unión.

Se utilizó un ensayo de gen indicador en células A549 para determinar la capacidad de las variantes de hTβRII-hFc para inhibir la actividad de TGFβ1, TGFβ2 y TGFβ3. Este ensayo se basa en una línea celular de carcinoma de pulmón humano transfectada con un plásmido indicador pGL3(CAGA)₁₂ (Dennler *et al.*, 1998, EMBO 17: 3091-3100), así como un plásmido indicador de Renilla (pRLCMV) para controlar la eficacia de la transfección. El motivo CAGA está presente en los promotores de genes que responden a TGFβ (por ejemplo, PAI-1), por lo que este vector es de uso general para factores que señalizan a través de SMAD2 y SMAD3.

El primer día del ensayo, las células A549 (ATCC®: CCL-185™) se distribuyeron en placas de 48 pocillos. En el segundo día, se preincubó una solución que contenía pGL3(CAGA)₁₂, pRLCMV, X-tremeGENE 9 (Roche Applied Science) y OptiMEM (Invitrogen), después se añadieron al medio esencial mínimo de Eagle (EMEM, ATCC®) suplementado con BSA al 0,1 %, que se aplicó a las células en placas para incubarlas durante una noche a 37 °C, CO₂ al 5 %. El tercer día, se retiró el medio y las células se incubaron durante una noche a 37 °C, CO₂ al 5 % con una mezcla de ligandos e inhibidores preparados como se describe a continuación.

Se realizaron diluciones seriadas de los artículos de ensayo en una placa de 48 pocillos en tampón de ensayo (EMEM + BSA al 0,1 %). Se añadió un volumen igual de tampón de ensayo que contenía el ligando de ensayo para obtener una concentración final de ligando igual a la CE50 determinada previamente. Se obtuvieron TGFβ1, TGFβ2 y TGFβ3 humanos de PeproTech. Las soluciones de ensayo se incubaron a 37 °C durante 30 minutos, a continuación, se añadió una porción de la mezcla a todos los pocillos. Tras la incubación con las soluciones de ensayo durante una noche, las células se enjuagaron con solución salina tamponada con fosfato, después se lisaron con tampón de lisis pasiva (Promega E1941) y se almacenaron durante una noche a -70 °C. El cuarto y último día, las placas se calentaron a temperatura ambiente con agitación suave. Los lisados celulares se transfirieron por duplicado a una placa de quimioluminiscencia (96 pocillos) y se analizaron en un luminómetro con reactivos de un sistema Dual-Luciferase Reporter Assay (Promega E1980) para determinar la actividad normalizada de la luciferasa.

Como se ilustra en las figuras 5A-5F, las proteínas hTβRII (G4S)₂-hFc; hTβRII (G4S)₃-hFc; hTβRII (G4S)₄-hFc; hTβRII (G4S)₅-hFc; hTβRII (G4S)₆-hFc; hTβRII-hFc; y hTβRII bisagra extendida-hFc fueron todas capaces de inhibir tanto el TGFβ1 como el TGFβ3. Curiosamente, aunque había una correlación entre la mejora de la inhibición de TGFβ1 y TGFβ3 y la longitud del enlazador para las construcciones HTβRII (G4S)₂-hFc; HTβRII (G4S)₃-hFc y HTβRII (G4S)₄-hFc (figura 5E), esta tendencia de mejora parecía haberse estabilizado para las construcciones HTβRII (G4S)₅-hFc y HTβRII (G4S)₆-hFc (figura 5F).

Habiéndose descrito las realizaciones específicas de la materia objeto, la memoria descriptiva anterior es ilustrativa y no restrictiva. Resultarán evidentes para los expertos en la materia diversas variaciones tras la revisión de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas. El alcance completo de la presente divulgación se determinará por referencia a las reivindicaciones y a la memoria descriptiva.

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de fusión del receptor II del factor de crecimiento transformante- β (T β RII) que comprende:
 - 5 a) un dominio extracelular de una porción de T β RII que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % idéntica al SEQ ID NO: 18;
 - b) una porción heteróloga, en donde la porción heteróloga es un dominio Fc de inmunoglobulina, y
 - 10 c) una porción enlazadora que comprende (GGGS)_n, en donde n = 4, 5 o 6; en donde el dominio extracelular de la porción de T β RII está conectado a la porción heteróloga por medio de la porción enlazadora; y en donde el polipéptido de fusión se une al factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β 1) y al factor de crecimiento transformante β 3 (TGF β 3).
2. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde la porción de dominio extracelular de T β RII comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 % o 97 % idéntica al SEQ ID NO: 18.
3. El polipéptido de la reivindicación 1, en donde la porción de dominio extracelular de T β RII comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 18.
- 20 4. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el polipéptido comprende una secuencia líder aminoterminal.
5. El polipéptido de la reivindicación 4, en donde la secuencia líder aminoterminal comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 23.
- 25 6. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la porción heteróloga comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 % o 97 % idéntica al SEQ ID NO: 20.
7. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la porción heteróloga comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 20.
- 30 8. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 6.
9. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 % o un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13, 53 o 56.
10. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13, 53 o 56.
- 40 11. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48.
- 45 12. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48.
13. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el polipéptido se une a TGF β 1 con una K_D inferior a 200 pM, inferior a 150 pM, inferior a 100 pM, inferior a 75 pM, inferior a 50 pM, o inferior a 25 pM, y/o en donde el polipéptido se une a TGF β 3 con una K_D inferior a 75 pM, inferior a 70 pM, inferior a 60 pM, inferior a 50 pM, inferior a 40 pM, inferior a 35 pM, inferior a 25 pM, inferior a 15, inferior a 10 o inferior a 5 pM.
- 50 14. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde el polipéptido inhibe el TGF β 1 con una CI₅₀ inferior a 0,1 nM, determinada utilizando un ensayo de gen indicador, y/o en donde el polipéptido inhibe el TGF β 3 con una CI₅₀ inferior a 0,05 nM, determinada mediante un ensayo de gen indicador.
- 55 15. El polipéptido de la reivindicación 14, en donde el ensayo de gen indicador es un ensayo de gen indicador CAGA.
16. Una preparación farmacéutica que comprende el polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-15 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 60

```

1  mgrgllrglw plhivlwtri astippvhvk synndmivtd nngavkfpql
51  ckfcdvrfst cdngkscmsn csitsicekp gevcvavwrk ndenitletv
101 chdpklpyhd filedaaspk cimkekkkpg etffmcscss decndniifs
151 eeyntsnpdl llvifqvtgi slpplgvai sviiifycyr vnrqqklsst
201 wetgktrklm efsehcaiil eddrsdisst canninhnte llpieldtlv
251 gkgrfaevyk akkqntseq fetvavkifp yeeyaswkte kdifsdinlk
301 henilqflta eerktelgkq ywlitafhak gnlqeyltrh viswedlrkl
351 gsslargiah lhsdhtpcgr pkmpivhrdl kssnilvknd ltccldcfdgl
401 slrldptlsv ddlansgqvg tarymapevl esrmnlenve sfkqtdvysm
451 alvlwemtsr cnavgevkdy eppfgskvre hpcvesmkdn vlrdgrpei
501 psfwlnhqgi qmvcetltec wdhdpearlt agcvaerfse lehldrlsgr
551 scseekiped gslnttk (SEQ ID NO: 1)

```

FIGURA 1


```

1  mgrgllrglw plhivlwtri astipphvgk sdvemeaqkd eiicpscnrt
51  ahplrhinnd mivtdnngav kfpqlckfcd vrfstcdnqk scmsncsits
101 icekpqevcv avwrkndeni tletvchdpk lpyhdfiled aaspkcimke
151 kkkpgetffm cscssdecnd niifseeynt snpdlllvif qvtgisllpp
201 lgvaisviii fycyrvnrrq klsstwetgk trklmefseh caileddrs
251 disstcanni nhntellpie ldtlvkggrf aevyakalkq ntseqfetva
301 vkifpyeeya swktekdifs dinlkhenil qfltaeerkt elgkqywlit
351 afhakgnlqe yltrhviswe dirklgssla rgiahllhsdh tpcgrpkmpi
401 vhrdlkssni lvkndltccl cdfglslrld ptlsvddlan sgqvgtarym
451 apevlesrmn lenvesfkqt dvysmalvlw emtsrcnavg evkdyepffg
501 skvrehpcve smkdnvlrdr grpeipsfwl nhggigmvce tltecwdhdp
551 earltaqcva erfselehld rlsgrscsee kipedgslnt tk

```

(SEQ ID NO: 2)

FIGURA 2

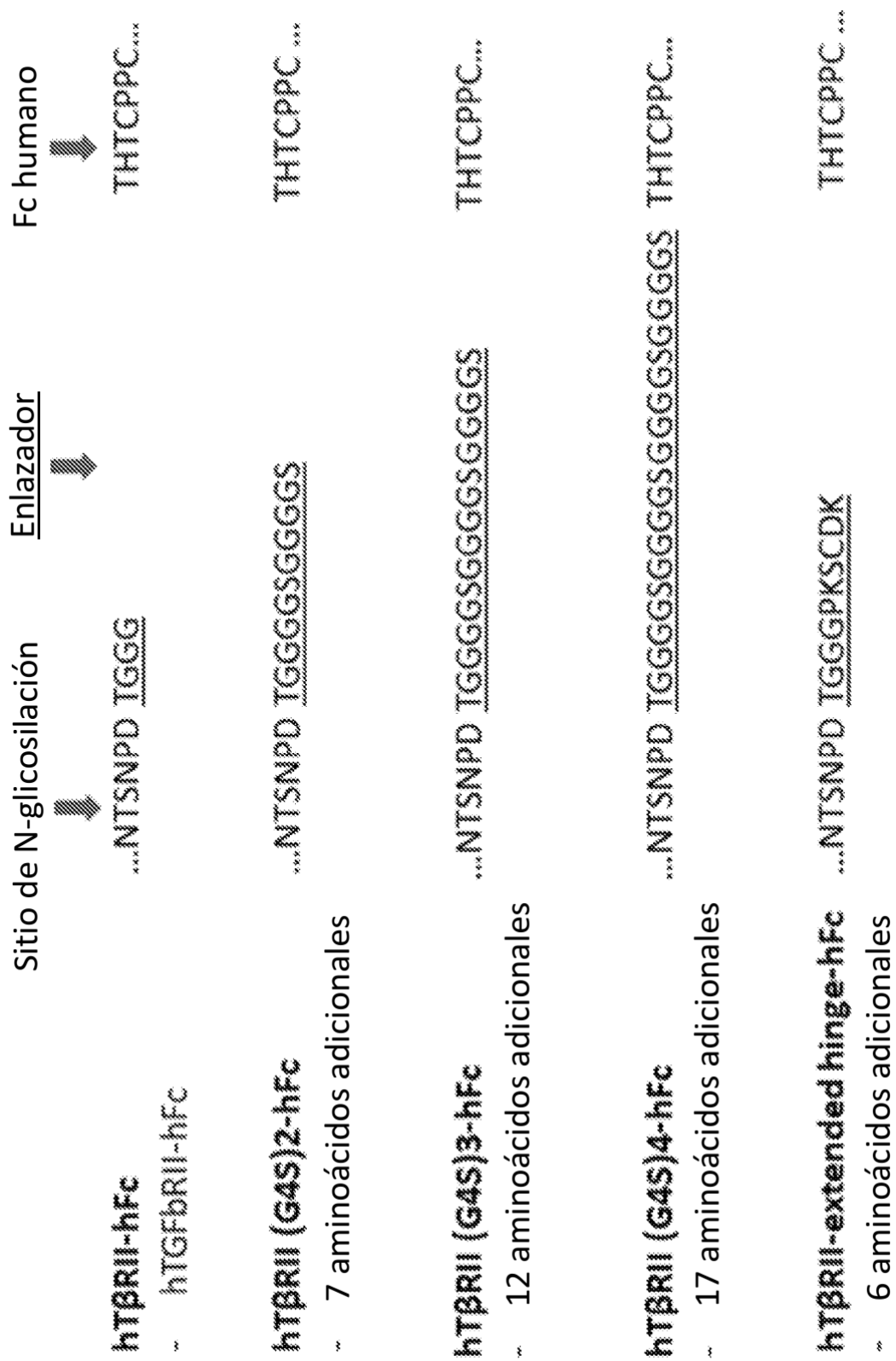


Figura 3

	Proteína de fusión	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
TGFβ1	hTβRII-hFc	$2,01 \times 10^6$	$4,16 \times 10^{-4}$	207,0
	hTβRII (G4S)2-hFc	$2,91 \times 10^6$	$4,83 \times 10^{-4}$	165,8
	hTβRII (G4S)3-hFc	$3,89 \times 10^6$	$5,10 \times 10^{-4}$	92,4
	hTβRII (G4S)4-hFc	$6,69 \times 10^6$	$4,57 \times 10^{-4}$	68,4
	hTβRII bisagra extendida-hFc	$2,38 \times 10^6$	$4,64 \times 10^{-4}$	195,5
TGFβ3	hTβRII-hFc	$1,99 \times 10^7$	$1,57 \times 10^{-3}$	79,1
	hTβRII (G4S)2-hFc	$1,74 \times 10^7$	$1,81 \times 10^{-3}$	104,1
	hTβRII (G4S)3-hFc	$2,09 \times 10^7$	$8,32 \times 10^{-4}$	39,9
	hTβRII (G4S)4-hFc	$8,80 \times 10^6$	$2,76 \times 10^{-4}$	31,4
	hTβRII bisagra extendida-hFc	$1,51 \times 10^7$	$1,39 \times 10^{-3}$	92,1

Figura 4A

	TGFβ1		
Receptor	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
hTβRII (G4S)5-hFc	$7,36 \times 10^7$	$6,48 \times 10^{-4}$	8,8
hTβRII (G4S)6-hFc	$1,66 \times 10^8$	$6,32 \times 10^{-4}$	3,8

	TGFβ3		
Receptor	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
hTβRII (G4S)5-hFc	$1,47 \times 10^8$	$4,35 \times 10^{-4}$	2,96
hTβRII (G4S)6-hFc	$5,99 \times 10^7$	$2,75 \times 10^{-4}$	4,60

Figura 4B

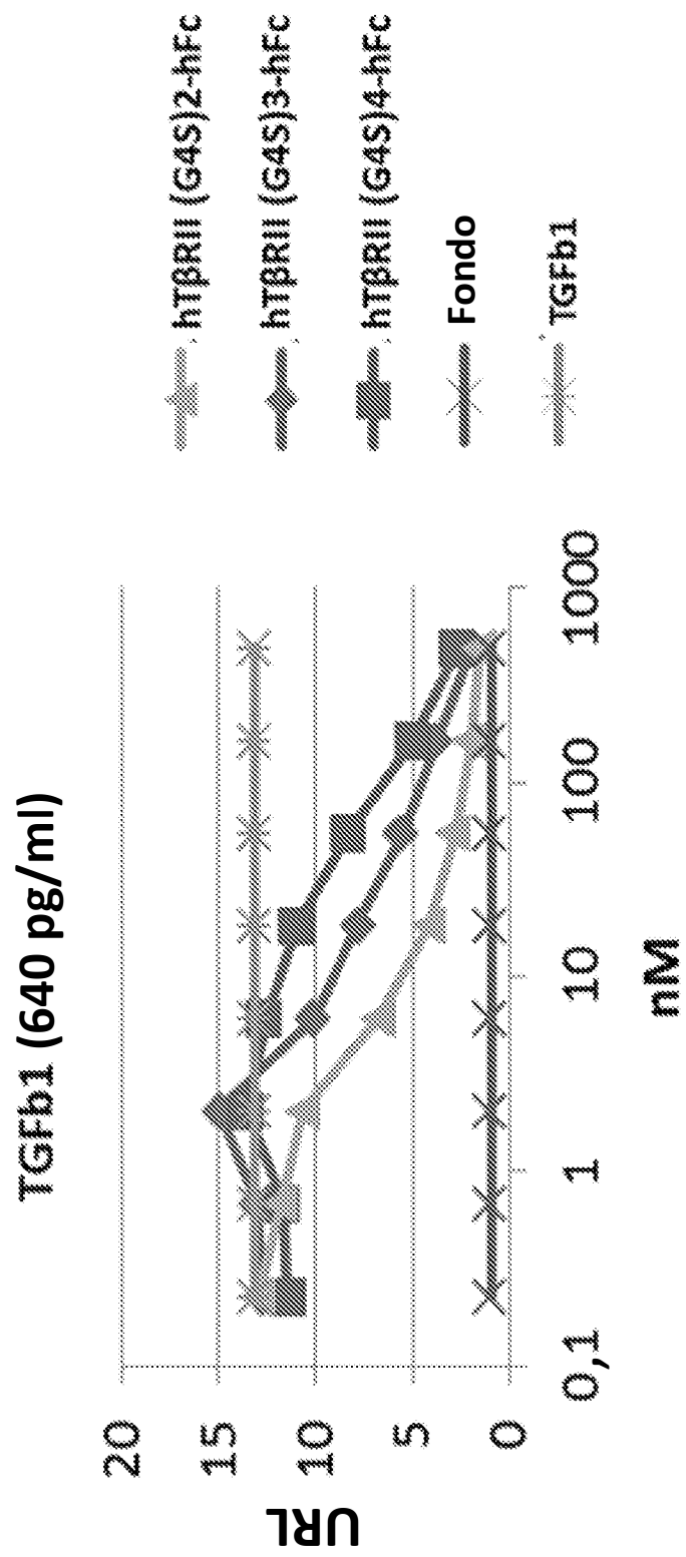


Figura 5A

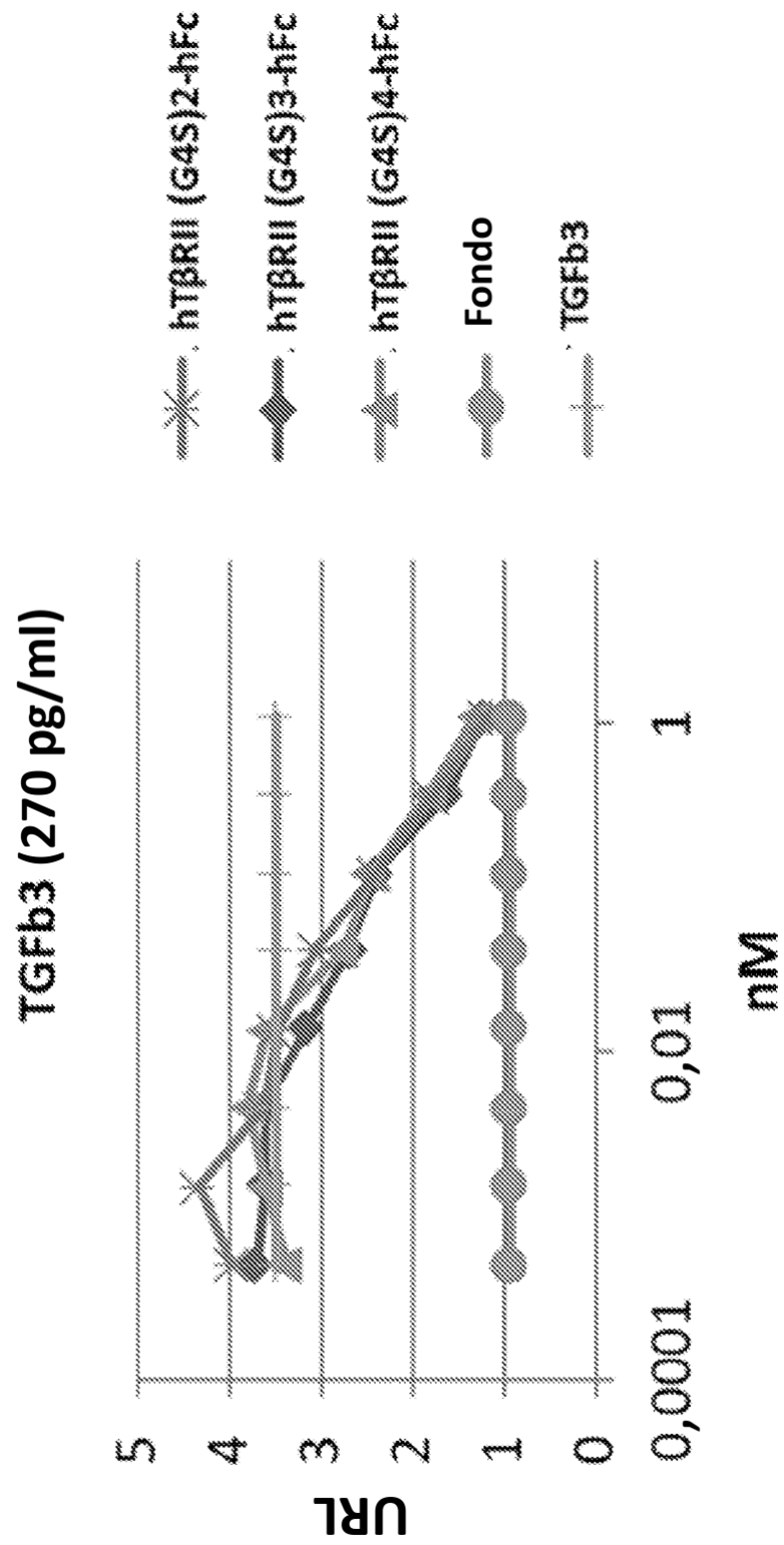


Figura 5B

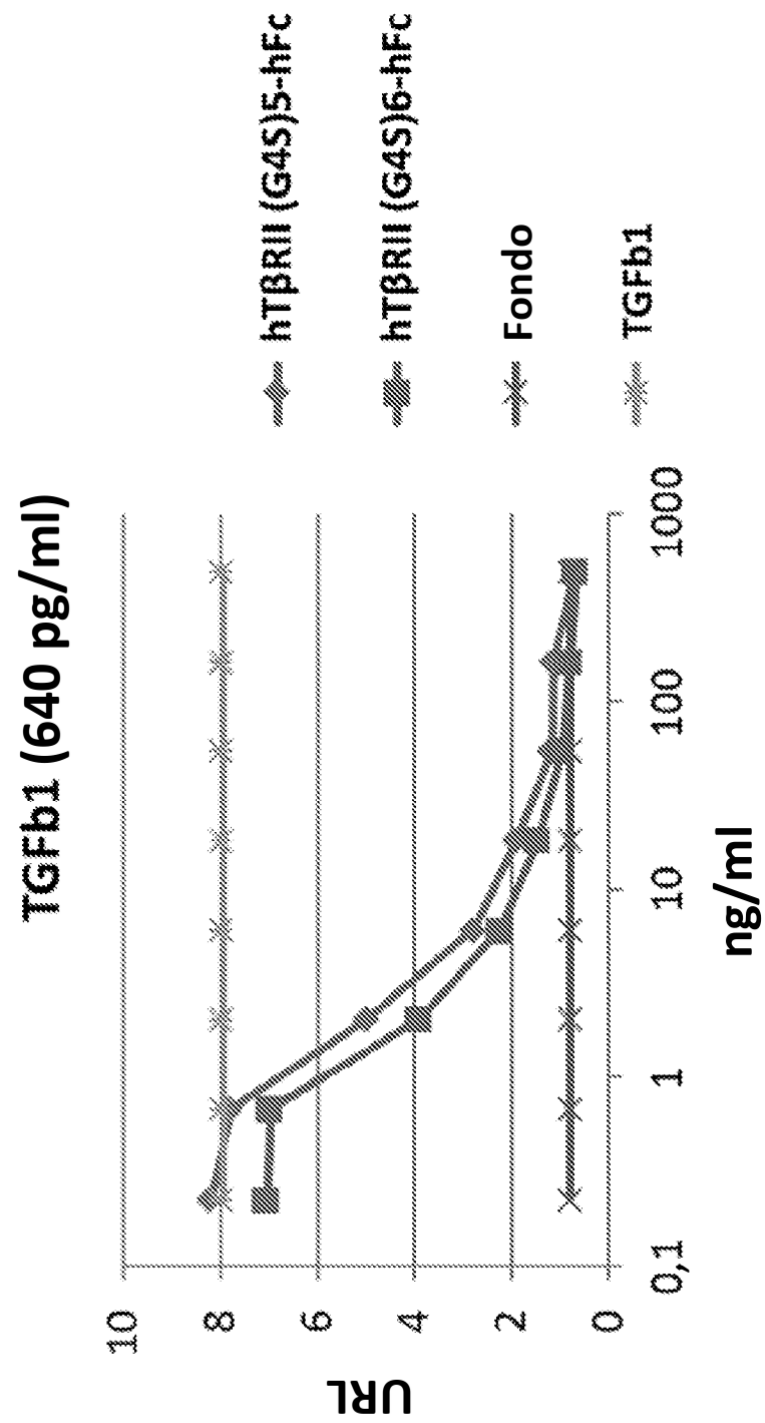


Figura 5C

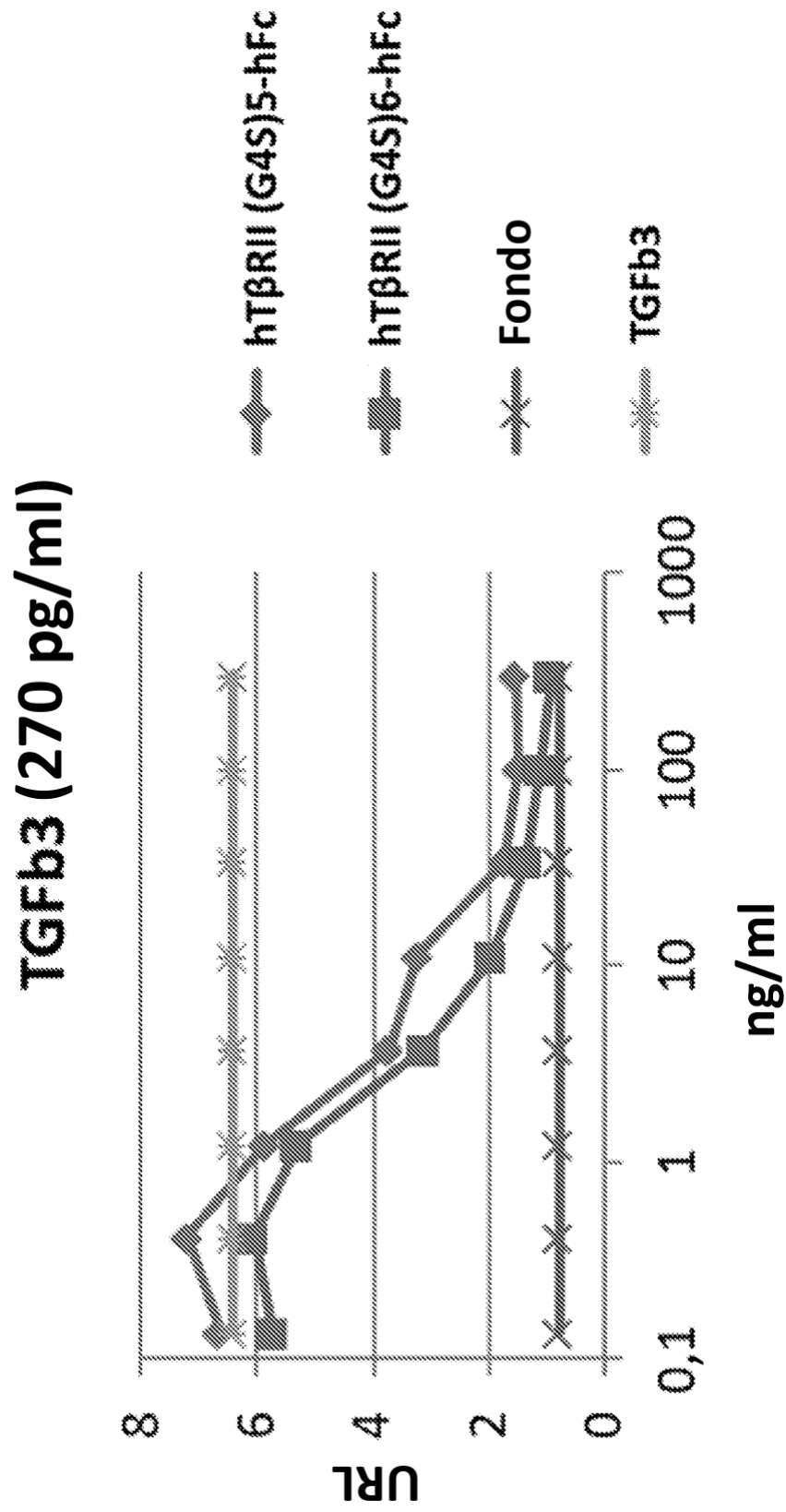


Figura 5D

	Cl ₅₀ (nM)		
	TGFβ1	TGFβ3	Relación TGFβ1/TGFβ3
hTβRII-hFc	7,69	0,18	42
hTβRII (G4S)2-hFc	1,12	0,13	8,61
hTβRII (G4S)3-hFc	0,22	0,17	1,29
hTβRII (G4S)4-hFc	0,07	0,03	2,3
hTβRII bisagra extendida-hFc	5,67	0,11	52

Figura 5E

Construcción	TGFβ1–CI50 (nM)	TGFβ3–CI50 (nM)	Relación TGFβ1/ TGFβ3
hTβRII (G4S)5-hFc	0,03	0,04	0,75
hTβRII (G4S)6-hFc	0,02	0,04	0,5

Figura 5F