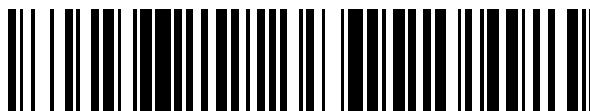


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 730 690**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6883 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2013** **E 13196101 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019** **EP 2740805**

54 Título: **Estratificación y tratamiento de pacientes que padecen púrpura trombocitopénica idiopática**

30 Prioridad:

07.12.2012 EP 12008209

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

12.11.2019

73 Titular/es:

**SUPREMOL GMBH (100.0%)
Am Klopferspitz 19
Martinsried, DE**

72 Inventor/es:

**SONDERMANN, PETER y
TER MEER, DOMINIK**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 730 690 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

Estratificación y tratamiento de pacientes que padecen púrpura trombocitopénica idiopática

5 **Antecedentes**

La púrpura trombocitopénica idiopática (ITP) es el estado de tener un recuento de plaquetas anómalamente bajo (trombocitopenia). Puesto que la mayoría de los episodios de ITP parecen estar relacionados con la producción de anticuerpos contra plaquetas, púrpura trombocitopénica inmunitaria o trombocitopenia inmunitaria son también términos usados para describir este estado. A menudo la ITP es asintomática y puede descubrirse casualmente, pero un recuento de plaquetas muy bajo puede conducir a un riesgo aumentado de hemorragia y púrpura.

La PTI puede diagnosticarse con un hemograma completo (un análisis de sangre común). En algunas situaciones, pueden ser necesarias investigaciones adicionales (tales como una biopsia de médula ósea) para garantizar que el recuento de plaquetas no esté disminuido debido a otros motivos. Puede que no sea necesario tratamiento en casos leves, pero recuentos muy bajos o hemorragia significativa pueden provocar el tratamiento con esteroides, inmunoglobulina intravenosa, inmunoglobulina anti-D o fármacos inmunosupresores más potentes. La PTI refractaria (PTI que no responde al tratamiento convencional) puede requerir una esplenectomía, la extirpación quirúrgica del bazo. Pueden usarse transfusiones de plaquetas en hemorragias graves junto con un recuento muy bajo.

Un individuo que presenta un recuento de plaquetas por debajo de 20.000 por μl es generalmente una indicación para el tratamiento. La primera línea de tratamiento suele consistir en esteroides. La dosis y el modo de administración están determinados por el recuento de plaquetas y si hay hemorragia activa. En emergencias, pueden usarse infusiones de dexametasona o metilprednisolona, mientras que en formas más leves, el tratamiento puede consistir en prednisona oral o prednisolona. Una vez que el recuento de plaquetas ha mejorado, la dosis de esteroide se reduce gradualmente mientras se monitorizan las recaídas. Otra estrategia que es adecuada para pacientes Rh positivos es el tratamiento con inmunoglobulina Rho(D) (Anti-D), que se administra por vía intravenosa. Normalmente, se administra anti-D a mujeres Rh negativas durante el embarazo y después del nacimiento de un bebé Rh positivo para prevenir la sensibilización al factor Rh en el recién nacido. El anti-D se ha demostrado eficaz en algunos pacientes con PTI, pero es costoso, produce una mejora a corto plazo y no se recomienda para pacientes tras esplenectomía.

Otra estrategia de tratamiento implica el uso de agonistas del receptor de trombopoyetina. Son agentes farmacéuticos que tratan la PTI estimulando la producción de plaquetas en lugar de intentar reducir la destrucción de plaquetas. Actualmente dos de estos productos están disponibles en el mercado. Romiplostim (nombre comercial Nplate) es una proteína de fusión Fc-péptido (peptidocuerpo) estimulante de la trombopoyesis que se administra por inyección subcutánea. Los ensayos clínicos han demostrado que romiplostim es eficaz en el tratamiento de PTI crónica, especialmente en pacientes con recaída tras la esplenectomía. Romiplostim fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos para el tratamiento a largo plazo de la PTI crónica en adultos en 2008. Por otra parte, eltrombopag (nombre comercial Promacta en los Estados Unidos, Revolade en la UE) es un agente administrado por vía oral con un efecto similar al de romiplostim. También se ha demostrado que aumenta los recuentos de plaquetas y disminuye la hemorragia de una manera dependiente de la dosis.

Otro fármaco que actualmente se encuentra en investigación clínica, donde muestra resultados muy prometedores, es SM101, un receptor de Fc gamma soluble IIB (sFc γ RIIB), que compite con los Fc γ R expresados en células inmunitarias por complejos inmunitarios patógenos. La interferencia en esta etapa temprana de la reacción inmunitaria impide el desencadenamiento de la cascada que da como resultado la inflamación y destrucción del tejido. Además de la competición por complejos inmunitarios, SM101 interfiere con la formación de células de memoria/plasmáticas que son la causa de la formación de nuevos anticuerpos patógenos. Este modo de acción doble sugiere fuertemente el potencial de SM101 para el tratamiento de diferentes enfermedades autoinmunitarias. Se ha obtenido ampliamente el perfil de SM101 en experimentos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* con el fin de confirmar sus mecanismos de acción en una amplia gama de estudios preclínicos. SM101 también se sometió a prueba en una variedad de modelos de enfermedades animales con un valor predictivo para desenlaces clínicos futuros en pacientes. Hasta la fecha, SM101 se ha sometido a prueba en pacientes con PTI y ha mostrado excelentes datos de seguridad y efectos farmacodinámicos de larga duración. Por supuesto, en tiempos en que la medicina personalizada o adaptada individualmente se vuelve cada vez más importante con el fin de lograr un resultado terapéutico tan bueno como sea posible para pacientes que padecen una enfermedad, siempre es deseable saber y/o entender de antemano y/o a veces durante el tratamiento si un paciente puede o no responder a una terapia. Por consiguiente, es deseable disponer de medios y métodos disponibles que permitan a un profesional sanitario así como a los pacientes entender y/o saber si los pacientes pueden o no responder a una terapia. Con este objetivo en mente, el problema técnico que subyace a la presente invención es la provisión de medios y métodos para predecir un posible efecto terapéutico para la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) y/o estratificar los pacientes con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia de receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

65 **Sumario**

El problema técnico lo solucionaron los presentes inventores porque han observado que el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) de un individuo es un marcador predictivo para una respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). En particular, se encontró sorprendentemente que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto se encuentra que es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), mientras que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto se encuentra que es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) (véase la tabla a continuación).

Fc γ RIIB 232

Genotipo	% de pacientes que responden	% de pacientes que no responden
AA II	80%	0%
GG TT	0%	20%

Se supone que también el genotipo Fc γ RIIB 232 I/T heterocigoto es indicativo de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), es decir todas las realizaciones divulgadas en el presente documento que se refieren al genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto son asimismo válidas para el genotipo Fc γ RIIB 232 I/T heterocigoto.

También se supone que los pacientes que tienen otras enfermedades mediadas por células B aparte de ITP pueden estratificarse/tratarse según la enseñanza de la presente invención. Otras enfermedades mediadas por células B aparte de ITP son preferiblemente enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide y/o lupus eritematoso sistémico (SLE).

Se han identificado siete SNP no sinónimos en FCGR2B humano, pero sólo uno de estos SNP se ha mostrado que aparece a frecuencia notable. Esta transición de T a C no sinónima en el exón 5 (rs1050501) da como resultado la sustitución de una isoleucina por treonina en la posición 232 dentro del dominio transmembrana de Fc γ RIIB (denominada Fc γ RIIBT232). La variante Fc γ RIIBT232 se excluye de las balsas lipídicas, conduciendo a una fosforilación reducida por LYN, reclutamiento de SHIP anómalo y una disminución en la inhibición mediada por Fc γ RIIB tanto de las respuestas de macrófagos como de células B.

Sin embargo, esta correlación de genotipo-fenotipo no proporciona evidencia ni pista alguna que pudiera servir como marcador para predecir una respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP). De hecho, sin querer restringirse a la teoría, la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), en particular la aplicación de SM101, un receptor de Fc gamma IIB soluble (sFc γ RIIB), se cree que compite con Fc γ R expresados en células inmunitarias por complejos inmunitarios patógenos. Como tal, podría no haberse esperado razonablemente que el patrón alélico en la posición 232 dentro del dominio transmembrana de Fc γ RIIB pudiera ser útil como marcador para predecir una respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP).

Por consiguiente, dado el sorprendente hallazgo de los presentes inventores, la presente invención tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas proporciona un método novedoso para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP) detectando la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra del individuo. Se encuentra que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), mientras que se encuentra que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

La presente divulgación también proporciona un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en donde el individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto. El método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo.

En otro aspecto, se proporciona también una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP, en el que dicho individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, y en el que dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo, definiéndose este método en la reivindicación 3.

La presente divulgación proporciona un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

Se proporciona también una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), comprendiendo dicho método detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), definiéndose este método en la reivindicación 4.

En otro aspecto, la presente invención tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas proporciona un método para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

También se proporciona un método para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). Además, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento de un individuo que padece ITP y que tiene el genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto, comprendiendo dicho método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia de ITP alternativa tal como romiplostim, inmunoglobulina intravenosa (IVIG), Revolade y/o los anticuerpos divulgados en el documento EP-B1 1 876 240 a dicho individuo.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una terapia de ITP alternativa tal como romiplostim, inmunoglobulina intravenosa (IVIG), Revolade y/o los anticuerpos divulgados en el documento EP-B1 1 876 240 para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP y que tiene el genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto, comprendiendo dicho método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con romiplostim a dicho individuo.

Se proporciona también en el presente documento un envase farmacéutico que comprende una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). El envase puede comprender (a) instrucciones y/o una impresión que indica que dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) va a usarse para el tratamiento de un individuo (i) que padece ITP y (ii) que se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto; y/o (b) instrucciones y/o una impresión que indica que el individuo que va a tratarse se estratificará mediante un método descrito en la presente invención.

En los métodos descritos en la presente, la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) puede seleccionarse del grupo que consiste en un receptor de Fc gamma IIB soluble tal como se describe en el presente documento.

Descripción detallada de la presente invención

La presente invención tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas se basa en el sorprendente descubrimiento de que un individuo que es homocigoto para el alelo Fc γ RIIB^{T232} tiene una respuesta menos positiva a una terapia con Fc γ RIIB que un individuo que no es homocigoto para el Fc γ RIIB^{T232}. En particular, se descubrió que un individuo que es homocigoto para el alelo Fc γ RIIB^{I232} responde positivamente a una terapia con Fc γ RIIB.

Esto es útil para predecir cómo respondería al tratamiento un individuo aquejado de una enfermedad que requiere terapia con Fc γ RIIB.

Por consiguiente, en un primer aspecto la presente invención se refiere a un método para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), definiéndose este método en la reivindicación 1.

La presente divulgación también se refiere a un método para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), que

comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB)

“Predecir” o “predicción” de una respuesta terapéutica, dentro del significado de la invención, se entenderá que es el acto de determinar un desenlace probable de una terapia con Fc γ RIIB en un individuo o paciente. La predicción de una respuesta se hace preferiblemente con referencia a valores de probabilidad para alcanzar un desenlace deseado o no deseado de la quimioterapia. Los métodos predictivos de la presente invención pueden usarse clínicamente para tomar decisiones de tratamiento eligiendo las modalidades de tratamiento más apropiadas para cualquier paciente particular.

“Terapia con Fc γ RIIB” se entenderá como el tratamiento de un individuo que lo necesita con un receptor Fc γ RIIB soluble, romiplastin (Nplate®), eltrombopag (Promacta®) y/o IVIG (véase Anthony *et al.* (2008), Proc Natl Acad Sci USA. 105(50):19571-19578).

Según la presente divulgación, la preparación del receptor de Fc γ RIIB soluble tiene lugar en células procariotas o eucariotas. También puede tener lugar en células eucariotas. Si tiene lugar en células procariotas (véase el documento EP-B1 1 135 486), se forman cuerpos de inclusión insolubles que contienen la forma de proteína recombinante, facilitando así la purificación por separación de los cuerpos de inclusión de otros componentes celulares antes de que tenga lugar la renaturalización de las proteínas contenidas en los mismos. La renaturalización del receptor Fc γ RIIB soluble según la presente divulgación que está contenido en los cuerpos de inclusión puede tener lugar principalmente según métodos conocidos. La ventaja de la preparación en células procariotas, la producción de cuerpos de inclusión y los receptores Fc γ RIIB solubles recombinantes así obtenidos hacen posible obtener una preparación de FcR muy pura y, en particular, muy homogénea. También debido a la ausencia de glicosilación, el producto obtenido es de gran homogeneidad. Sin embargo, en algunos casos puede desearse la glicosilación.

Una célula huésped está modificada por ingeniería genética con el polinucleótido o el vector que codifica o que porta el receptor Fc γ RIIB soluble. Las células huésped que pueden usarse para los fines de la invención incluyen pero no se limitan a células procariotas tales como bacterias (por ejemplo, *E. coli* y *B. subtilis*), que pueden transformarse con, por ejemplo, ADN de bacteriófago recombinante, ADN de plásmido o vectores de expresión de ADN de cósmido que contienen las moléculas de polinucleótido que codifican para el FcR; células eucariotas sencillas como levadura (por ejemplo, *Saccharomyces* y *Pichia*), que pueden transformarse con, por ejemplo, vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen la molécula de polinucleótido de la invención, es decir, las moléculas de polinucleótido que codifican para el FcR; sistemas de células de insecto como, por ejemplo, células Sf9 de Hi5, que pueden infectarse con, por ejemplo, vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baculovirus) que contienen las moléculas de polinucleótido de la invención; ovocitos de *Xenopus*, que pueden inyectarse con, por ejemplo, plásmidos; sistemas de células vegetales, que pueden infectarse con, por ejemplo, vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor (CaMV) o virus del mosaico del tabaco (TMV)) o transformarse con vectores de expresión de plásmidos recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen una secuencia de nucleótidos de FcR o variante; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BHK, HEK293, VERO, HeLa, MDCK, Wi38, Swiss 3T3 y NIH 3T3), que pueden transformarse con constructos de expresión recombinantes que contienen, por ejemplo, promotores derivados, por ejemplo, del genoma de células de mamífero (por ejemplo, el promotor de metalotioneína) de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío de adenovirus, IE de CMV y el promotor de 7,5 K del virus vaccinia) o de células bacterianas (por ejemplo, se emplea la unión al represor de tet en sistemas de activación de tet y desactivación de tet). También son útiles como células huésped células primarias o secundarias obtenidas directamente de un mamífero y transfectadas con un vector de plásmido o infectadas con un vector viral. Dependiendo de la célula huésped y del vector respectivo utilizado para introducir el polinucleótido de la invención, el polinucleótido puede integrarse, por ejemplo, en el cromosoma o el ADN mitocondrial o puede mantenerse de manera extracromosómica como, por ejemplo, de manera episomal o puede estar comprendido sólo de manera transitoria en las células.

En la secuencia de Fc γ RIIB se encuentran tres posibles sitios de N-glicosilación. Los tres sitios están en la superficie de la molécula y son accesibles. Se ubican en los bucles EIF (N61 y N142) de ambos dominios y en la hebra E (N 135) del dominio C-terminal. Los FcR aislados de células de mamífero están altamente glicosilados. Dado que el FcR está glicosilado *in vivo*, puede ser deseable elegir un sistema de expresión, que proporcione una glicosilación fiel de la proteína. Por consiguiente, se prefiere introducir los polinucleótidos que codifican para el FcR de la presente invención en células eucariotas superiores, en particular en células de mamíferos, por ejemplo células COS, CHO, BHK, HEK293, VERO, HeLa, MDCK, Wi38, Swiss 3T3 o NIH 3T3.

Preferiblemente, el receptor Fc γ RIIB según la divulgación carece del dominio transmembrana y/o el péptido señal y es soluble. También se prevé que el receptor Fc γ RIIB según la divulgación sea de origen humano. En una realización particularmente preferida, dicho receptor Fc γ RIIB es una proteína que está codificada por SEQ ID No. 2 ó 4 (siendo SEQ ID No. 4 la más preferida), y/o una proteína que comprende, contiene o es idéntica a la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID Nos. 1 ó 3 (siendo SEQ ID No. 3 la más preferida).

SEQ ID No. 1

MGTPAAPPKA VLKLEPQWIN VLQEDSVTLT CRGTHSPESD SIQWFHNGNL IPTHTQPSYR
 FKANNDSGE YTCQTGQTSI SDPVHLTVLS EWLVLQTPHL EFQEGETIVL RCHSWKDKPL
 VKVTTFFQNGK SKKFSRSDPN FSIPQANHS SGDYHCTGNI GYTLYSSKPV TITVQAPSSS
 P

5

SEQ ID No. 2

1 atggggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgctgaaac tcgagcccca gtggatcaac
 61 gtgctccagg aggactctgt gactctgaca tgccggggga ctcacagccc tgagagcgac
 121 tccattcagt ggttcacaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg
 181 ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc
 241 agcgaccctg tgcactctgac tgtgctttct gagtggctgg tgctccagac ccctcacctg
 301 gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg
 361 gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccgttc ggatcccaac
 421 ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtggtgatt accactgcac aggaaacata
 481 ggctacacgc tgtactcatc caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca
 541 ccg

10 SEQ ID No. 3

MAPPKAVLKL EPQWINVLQE DSVTLTCRGT HSPESDSIQW FHNGNLIPTH
 TQPSYRFKAN NDSGEYTCQ TGQTSLSDPV HLTVLSEWLV LQTPHLEFQE
 GETIVLRCHS WKDKPLVKVT FFQNGKSKKF SRSDPNFSIP QANHSHSGDY
 HCTGNIGYTL YSSKPVTTITV QAPSSSP

SEQ ID No. 4

15

1 ATGGCACCGC CGAAAGCAGT TCTGAACTG GAACCGCAGT GGATTAACGT TCTGCAGGAA
 61 GATAGCGTTA CCCTGACCTG TCGTGGCACC CATAGCCCGG AAAGCGATAG CATTCACTGG
 121 TTTCACAACG GCAATCTGAT TCCGACCCAT ACCCAGCCGA GCTATCGTTT TAAAGCGAAC
 181 AACAACGATA GCGGCGAATA TACCTGTCAG ACCGGTCAGA CCAGCCTGAG CGATCCGGTT
 241 CATCTGACCG TTCTGAGCGA ATGGCTGGTT CTGCAGACCC CGCATCTGGA ATTTTCAGGAA
 301 GCGGAAACCA TTGTTCTGCG TTGCCACAGC TGGAAAAGATA AACCGCTGGT TAAAGTTACC
 361 TTCTTCCAGA ACGGCAAAAG CAAAAAATTC AGCCGTAGCG ATCCGAATTT TAGCATTCCG
 421 CAGGCGAATC ATAGCCATAG CGGCGATTAT CATTGTACCG GCAACATTGG CTATACCCCTG
 481 TATAGCAGCA AACCAGTGAC CATTACCGTT CAGGCGCCGA GCAGCAGCCC GTAA

Los polipéptidos de receptor Fc γ RIIB pueden ser cualquiera de los descritos en el presente documento pero con no más de diez (por ejemplo, no más de: diez, nueve, ocho, siete, seis, cinco, cuatro, tres, dos o una) sustituciones conservativas. Las sustituciones conservativas se conocen en la técnica e incluyen normalmente la sustitución de, por ejemplo un aminoácido polar por otro aminoácido polar y un aminoácido ácido por otro aminoácido ácido. Por consiguiente, las sustituciones conservativas incluyen preferiblemente sustituciones dentro de los siguientes grupos de aminoácidos: glicina, alanina, valina, prolina, isoleucina y leucina (cadena lateral no polar, alifática); ácido aspártico y ácido glutámico (cadena lateral cargada negativamente); asparagina, glutamina, metionina, cisteína, serina y treonina (cadena lateral polar no cargada); lisina, histidina y arginina; y fenilalanina, triptófano y tirosina (cadena lateral aromática); y lisina, arginina e histidina (cadena lateral cargada positivamente). Se sabe bien en la técnica como determinar el efecto de una sustitución dada, por ejemplo sobre el pKI etc. Todo lo que se requiere de un polipéptido que tiene una o más sustituciones conservativas es que tenga al menos el 50% (por ejemplo, al menos: el 55%; el 60%; el 65%, el 70%; el 75%; el 80%; el 85%; el 90%; el 95%; el 98%; el 99%; el 99,5%; o el 100% o más) de la actividad del receptor de Fc[gamma] inalterado según la invención.

Pueden producirse tanto polipéptidos como péptidos mediante técnicas de ADN recombinante *in vitro* convencionales y transgénesis *in vivo*, usando secuencias de nucleótidos que codifican para los polipéptidos o péptidos apropiados. Pueden usarse métodos bien conocidos por los expertos en la técnica para construir vectores de expresión que contienen secuencias codificantes relevantes y señales de control de la transcripción/traducción apropiadas. Véanse, por ejemplo, las técnicas descritas en Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª ed.) [Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989], y Ausubel, *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology [Green Publishing Associates y Wiley Interscience, N.Y., 1989].

El receptor Fc γ RIIB según la invención puede modificarse químicamente (mejorarse) mediante PEGilación y/o ingeniería genética.

Los enfoques conocidos implican la provisión de sitios de glicosilación adicionales (véanse por ejemplo los documentos WO 91/05867, WO 94/09257 y WO 01/81405). Tales análogos modificados pueden tener al menos una cadena de hidrato de carbono unida a N y/o unida a O adicional. Otros intentos de mejorar la semivida pueden implicar la adición de residuos de polietilenglicol (PEG) de longitud variable a la estructura principal de aminoácido (véanse por ejemplo los documentos WO 00/32772, WO 01/02017, WO 03/029291). Pueden modificarse las moléculas con al menos un oligosacárido unido a N y/o unido a O que se modifica adicionalmente mediante oxidación, sulfatación, fosforilación, PEGilación o una combinación de las mismas (véase el documento WO 2005/025606). Todos estos enfoques pueden emplearse igualmente para prolongar la semivida de las variantes de la presente divulgación y por consiguiente en una realización preferida del receptor de Fc[gamma] según la divulgación la modificación se selecciona del grupo que consiste en oxidación, sulfatación, fosforilación, adición de oligosacáridos o combinaciones de las mismas. Si se desea la adición de oligosacáridos unidos a N o unidos a O adicionales, es posible introducirlos introduciendo sitios de glicosilación adicionales. También se prefiere que la proteína se module por afinidad.

En la práctica de un aspecto de la presente divulgación, puede administrarse una composición farmacéutica que comprende el receptor Fc γ RIIB soluble de la invención a un mamífero mediante cualquier vía que proporcione un nivel de actividad suficiente. Puede administrarse de manera sistémica o local. Tal administración puede ser por vía parenteral, por vía transmucosa, por ejemplo, por vía oral, por vía nasal, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía sublingual, por vía submucosa o por vía transdérmica. Preferiblemente, la administración es parenteral, por ejemplo, por medio de inyección intravenosa o intraperitoneal, y también incluyendo, pero sin limitarse a, administración intraarterial, intramuscular, intradérmica y subcutánea. Si la composición farmacéutica de la presente divulgación se administra por vía local, puede inyectarse directamente en el órgano o tejido que va a tratarse. En casos de tratamiento del sistema nervioso, esta vía de administración incluye, pero no se limita a, las vías de administración intracerebral, intraventricular, intracerebroventricular, intratecal, intracisternal, intraespinal y/o periespinal, que pueden emplear agujas intracraneales e intravertebrales, y catéteres con o sin dispositivos de bomba.

La predicción de una respuesta se hace preferiblemente con referencia a valores de probabilidad para alcanzar un desenlace deseado o no deseado de la terapia. Los métodos predictivos de la presente divulgación pueden usarse clínicamente para tomar decisiones de tratamiento eligiendo las modalidades de tratamiento más apropiadas para cualquier paciente particular. En el contexto de la presente divulgación, una "respuesta positiva" o "respuesta terapéutica positiva" a un medicamento o agente puede definirse como que comprende una reducción de los síntomas relacionados con ITP. Tales síntomas pueden ser uno o más de los siguientes: equimosis fácil o excesiva (púrpura); hemorragia superficial (petequias); hemorragia prolongada por cortes; hemorragia espontánea de las encías o la nariz, sangre en la orina o las heces; menorragia; hemorragia intensa durante cirugía; recuento de plaquetas bajo (tal como por debajo de 20.000 por μ l); hemorragia, hemorragia subaracnoidea o intracerebral; hemorragia del tracto gastrointestinal inferior u otros síntomas conocidos. En el contexto de la presente invención, una "respuesta negativa" a la terapia se define como una falta de respuesta positiva al medicamento o el desarrollo de efectos secundarios adversos.

"Tratar" o "tratamiento" tal como se usa en el presente documento significa reducir, estabilizar o inhibir la progresión de un síntoma de ITP.

Fc γ RIIB

Fc γ RIIB es uno de los receptores para la región Fc de IgG (Fc γ R). Los Fc γ R se expresan en muchas células inmunitarias y son importantes tanto en la promoción como en la regulación de la respuesta inmunitaria e inflamatoria a complejos inmunitarios. La mayoría de los Fc γ R son receptores activantes e incluyen el receptor de alta afinidad Fc γ RI y una familia de receptores de baja afinidad, incluyendo Fc γ RIIA, Fc γ RIIC, Fc γ RIIIA y Fc γ RIIIB en humanos. Fc γ RIIB es el único Fc γ R que tiene función inhibidora.

Fc γ RIIB tiene un papel importante en el control de la inmunidad humoral regulando la activación de células B, la localización de células B en los centros germinales así como la supervivencia de células plasmáticas. Fc γ RIIB regula la activación de células B aumentando el umbral de activación de receptores de células B y suprimiendo la presentación de antígenos mediada por células B a células T. Fc γ RIIB también influye en la presentación de antígenos inhibiendo la internalización dependiente de Fc γ R de antígeno complejo al sistema inmunitario por DC, así como la presentación de antígenos a células tanto CD4+ como CD8+. Fc γ RIIB inhibe adicionalmente la desgranulación de basófilos y mastocitos inducida por IgE, contribuyendo por tanto a respuestas de hipersensibilidad. Fc γ RIIB inhibe también la desgranulación de basófilos y mastocitos inducida por IgE, contribuyendo por tanto a respuestas de hipersensibilidad.

Variación genética de Fc γ RIIB

Las familias de receptores Fc γ RII y Fc γ RIII están codificadas por cinco genes de FCGR (FCGR2A, FCGR2B, FCGR2C, FCGR3A y FCGR3B) ubicados en el locus humano 1q23.3. Se ha encontrado que existe variación

genética en el locus de FcR dentro de diferentes individuos. Se han identificado varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) dentro de las regiones codificantes y de promotor de FCGR2B. Entre uno de ellos, una transición de T a C no sinónima (rs1050501) en el exón 5 del gen da como resultado la sustitución de isoleucina (I) por una treonina (T) en la posición 232 dentro del dominio transmembrana de FcγRIIB (FcγRIIBT232).

Para el fin de la presente divulgación, el genotipo FcγRIIB 232 I/I quiere decir un individuo que es homocigoto para FcγRIIB^{I232}. El genotipo FcγRIIB 232 T/T significa un individuo que es homocigoto para FcγRIIB^{T232}.

La determinación de la respuesta terapéutica al receptor de Fc gamma IIB incluye detectar la presencia del genotipo FcγRIIB 232 I/I homocigoto o un genotipo FcγRIIB 232 T/T homocigoto en el paciente. Si se detecta el genotipo T/T homocigoto, el individuo presentará una respuesta terapéutica negativa a la terapia con receptor de Fc gamma IIB; si se detecta el genotipo I/I homocigoto, el individuo presentará una respuesta terapéutica positiva a la terapia.

El término “genotipo” tal como se usa en el presente documento se refiere a la identidad de los alelos presentes en un individuo o una muestra. En el contexto de la presente invención un genotipo se refiere preferiblemente a la descripción de los alelos presentes en un individuo o una o muestra. El término “genotipado” de una muestra o un individuo para un alelo implica determinar el alelo específico portado por un individuo.

El término “alelo” se usa en el presente documento para referirse a una variante de una secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, los alelos de la secuencia de nucleótidos GHR que codifica para regiones de FCGR2B. El término “232” cuando se usa en el presente documento en el contexto de un genotipo o patrón alélico se refiere a la posición de aminoácido 232 de la secuencia de aminoácidos de FcγRIIB que, por ejemplo, se representa en la figura 2 de Brooks *et al.* (1989), J. Exp. Med. 170: 1369-1385. La secuencia de aminoácidos mostrada en dicha figura 2 es la secuencia de referencia preferida de FcγRIIB a la que se hace referencia en los métodos y usos de la presente divulgación. Por consiguiente, la secuencia de referencia se aplica cuando se determina la posición de aminoácido 232 dentro de una secuencia de aminoácidos de FcγRIIB, es decir, cuando se determina si un aminoácido dentro de un FcγRIIB corresponde a la posición 232 de la secuencia de referencia de FcγRIIB de la invención. Por ejemplo, con el fin de determinar si un residuo de aminoácido en una secuencia de FcγRIIB dada corresponde a una determinada posición en el aminoácido de la figura 2 de Brooks *et al.* (citado anteriormente), el experto puede usar medios y métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, alineaciones, o bien manualmente o bien usando programas informáticos tales como los mencionados adicionalmente a continuación en relación con la definición del término “hibridación” y grados de homología.

Por ejemplo, puede usarse BLAST2.0, que significa Basic Local Alignment Search Tool (herramienta de búsqueda de alineación local básica) (Altschul, Nucl. Acids Res. 25 (1997), 3389-3402; Altschul, J. Mol. Evol. 36 (1993), 290-300; Altschul, J. Mol. Biol. 215 (1990), 403-410), para buscar alineaciones de secuencias locales. Otro ejemplo de un programa capaz de generar alineaciones de secuencias es el programa informático CLUSTALW (Thompson, Nucl. Acids Res. 2 (1994), 4673-4680) o FASTDB (Brutlag Comp. App. Biosci. 6 (1990), 237-245), tal como se conoce en la técnica.

El término “posición” cuando se usa según la presente divulgación significa la posición de un aminoácido dentro de una secuencia de aminoácidos de FcγRIIB. El término “correspondiente” tal como se usa en el presente documento también incluye que una posición no sólo se determine mediante el número de los aminoácidos. Por ejemplo, la posición de una secuencia de aminoácidos dada según la presente divulgación puede variar, por ejemplo, debido a delecciones o inserciones (por ejemplo, debido a isoformas, formas truncadas, etc.) en otra parte en una secuencia de aminoácidos de FcγRIIB. Por tanto, en una “posición correspondiente” según la presente divulgación ha de entenderse que los aminoácidos pueden diferir en el número indicado pero todavía pueden tener aminoácidos vecinos similares.

Sin embargo, es posible que el experto identifique el aminoácido en la posición 232 en la secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos de FcγRIIB y también determine si corresponde a la secuencia de aminoácidos FcγRIIB mostrada en la figura 2 de Brooks *et al.* (citado anteriormente), por ejemplo, alineando las secuencias de aminoácidos tal como se describe en el presente documento.

El experto es consciente de que para determinar el genotipo o patrón alélico de FcγRIIB de un individuo, es ventajoso realizar el análisis al nivel de secuencia de nucleótidos, aunque el análisis podría realizarse también al nivel de aminoácidos, por ejemplo, mediante secuenciación de proteínas, MALDI-TOF, etc. o por medio de un anticuerpo que puede distinguir diferentes aminoácidos, en particular isoleucina de treonina, o viceversa en la posición 232 de FcγRIIB. El experto en la técnica sabe que el aminoácido isoleucina está codificado por los siguientes codones: AUU, AUC o AUA, mientras que el aminoácido treonina está codificado por los siguientes codones: ACU, ACC, ACA o ACG. Por tanto, un cambio de U a C en la segunda posición de cualquiera de los codones que codifican para isoleucina da como resultado el aminoácido treonina. Un cambio en la segunda posición de U a C y un cambio en la tercera posición de U, C o A a G también da como resultado treonina. Por consiguiente, el experto puede determinar fácilmente el codón que codifica para la secuencia de aminoácidos en la posición 232 de la secuencia de nucleótidos que codifica para FcγRIIB por medio de medios y métodos conocidos en la técnica, o

los descritos a modo de ejemplo en el presente documento.

Método de determinación del patrón alélico

Los métodos divulgados en la presente solicitud incluyen detectar la presencia del patrón alélico para el FcγRIIB en un individuo. Esto se realiza *in vitro* obteniendo en primer lugar una muestra del individuo. La muestra puede obtenerse antes de, durante o después del tratamiento. Según la presente invención mediante el término "muestra" está prevista cualquier muestra biológica obtenida de un sujeto, línea celular, cultivo tisular u otra fuente que contenga ADN genómico del individuo. Las muestras biológicas incluyen fluidos corporales (tales como sangre, suero, plasma, orina, saliva, líquido sinovial y líquido espinal) y fuentes de tejido que se encuentra que contienen células B, células T, células dendríticas, macrófagos, neutrófilos y mastocitos.

Se conocen bien en la técnica métodos para obtener biopsias de tejido y fluidos corporales de sujetos.

Por ejemplo, la identificación de la variante alélica puede llevarse a cabo usando un OLA (patente estadounidense n.º 4.998.617; Landegren *et al.*, Science 241: 1077, 1988). El protocolo de OLA usa dos oligonucleótidos, que se diseñan para que sean capaces de hibridarse con secuencias colindantes de una única hebra de una diana. Uno de los oligonucleótidos se une a un marcador de separación, por ejemplo, biotinilado, y el otro está marcado de manera detectable. Si se encuentra la secuencia complementaria precisa en una molécula diana, los oligonucleótidos se hibridarán de manera que sus extremos terminales estarán colindantes, y se creará un sustrato de ligación. La ligación permite entonces que el oligonucleótido marcado se recupere usando avidina, u otro ligando de biotina. Nickerson *et al.*, han descrito un ensayo de detección de ácido nucleico que combina atributos de PCR y OLA (Nickerson *et al.*, PNAS 87: 8923-8927, 1990). En este método, se usa PCR para lograr la amplificación exponencial del ADN diana, que luego se detecta usando OLA. Por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.593.826 da a conocer un OLA que usa un oligonucleótido que tiene un grupo amino en 3' y un oligonucleótido fosforilado en 5' para formar un conjugado que tiene una unión fosforamidato. En otra variación, OLA combinado con PCR permite el tipado de dos alelos en un único pocillo de microtitulación (Tobe *et al.*, Nucleic Acids Res. 24: 3728, 1996). Marcando cada uno de los cebadores específicos de alelo con un hapteno único, por ejemplo, digoxigenina y fluoresceína, cada reacción de OLA puede detectarse usando anticuerpos específicos de hapteno que están marcados con diferentes indicadores enzimáticos, fosfatasa alcalina o peroxidasa del rábano. Este sistema permite la detección de los dos alelos usando un formato de alto rendimiento que conduce a la producción de dos colores diferentes. En otras realizaciones, puede detectarse un SNP usando un nucleótido resistente a exonucleasa especializado (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.656.127). Según el método, se permite que un cebador complementario a la secuencia alélica inmediatamente en 3' con respecto al sitio polimórfico se hibride con la molécula diana obtenida de las células de control de referencia o del sujeto. Si el sitio polimórfico en la molécula diana contiene un nucleótido que es complementario al derivado de nucleótido resistente a exonucleasa particular presente, entonces ese derivado se incorporará en el extremo del cebador hibridado. Tal incorporación hace al cebador resistente a exonucleasa, y de ese modo permite su detección. Puesto que se conoce la identificación del derivado resistente a exonucleasa de la muestra, un hallazgo de que el cebador se ha vuelto resistente a exonucleasas revela que el nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana era complementario al del derivado de nucleótido usado en la reacción. Este método tiene la ventaja de que no requiere la determinación de una gran cantidad de datos de secuencias extrañas. En otra realización, se usa un método basado en disolución para determinar la identidad del nucleótido de un sitio polimórfico (publicación internacional n.º WO 91/02087). Se emplea un cebador que es complementario a las secuencias alélicas inmediatamente en 3' con respecto a un sitio polimórfico. El método determina la identidad del nucleótido de ese sitio usando derivados de didesoxinucleótido marcados, que, si son complementarios al nucleótido del sitio polimórfico quedarán incorporados al extremo terminal del cebador.

En todavía una realización adicional, puede usarse un método conocido como análisis de bits genéticos (GBA™) para determinar el genotipo (publicación internacional n.º WO 92/15712). El método usa mezclas de terminadores marcados y un cebador que es complementario a la secuencia 3' con respecto a un sitio polimórfico. El terminador marcado que se incorpora se determina por tanto mediante, y es complementario a, el nucleótido presente en el sitio polimórfico de la molécula diana que está evaluándose.

Un experto en la técnica es capaz de diseñar cebadores de PCR adecuados para amplificar esta región en vista de la enseñanza de Kyogoku, C. *et al.* Arthritis Rheum. 46, 1242-1254 (2002); Willcocks *et al.* Proc. Natl Acad. Sci. USA. 107(17):7881-5 2010; Kono *et al.* Hum Mol Genet. 1 de octubre de 2005; 14(19):2881-92 (2005); Xu *et al.* Platelets, 2010; 21(6): 479-485; Duan *et al.* Scand J Rheumatol. 2012; Pan *et al.* Lupus. 2008 17(8):733-8.

"Cebador" indica una secuencia de oligonucleótido específica que es complementaria a una secuencia de nucleótidos diana y se usa para hibridarse con la secuencia de nucleótidos diana. Un cebador sirve como punto de inicio para la polimerización de nucleótidos catalizada por o bien ADN polimerasa, o bien ARN polimerasa o bien transcriptasa inversa. Por tanto, el término cebador, tal como se define en el presente documento, pretende abarcar cualquier ácido nucleico que sea capaz de cebar la síntesis de un ácido nucleico naciente en un proceso dependiente de molde. Normalmente, los cebadores son oligonucleótidos de diez a veinte pares de bases de longitud, pero pueden emplearse secuencias más largas.

Los métodos de la divulgación se usarán también en la evaluación y realización de ensayos clínicos de una terapia con FcγRIIB. Los métodos comprenden por consiguiente la identificación de una primera población de individuos que responden positivamente al medicamento y una segunda población de individuos que responden negativamente al medicamento o cuya respuesta positiva a dicho medicamento está disminuida en comparación con dicha primera población de individuos. En una realización, el medicamento puede administrarse al sujeto en un ensayo clínico si la muestra de ADN sugiere que el sujeto tiene un genotipo FcγRIIB 232 I/I homocigoto.

La muestra de ADN obtenida del individuo puede amplificarse en primer lugar. Están disponibles varios procesos dependientes de molde para amplificar las secuencias de marcador presentes en una muestra de molde dada. Uno de los métodos de amplificación mejor conocidos es la reacción en cadena de la polimerasa (denominada PCR) que se describe en detalle en las patentes estadounidenses n.ºs 4.683.195, 4.683.202 y 4.800.159, y en Innis *et al.*, PCR Protocols, Academic Press, Inc. San Diego Calif., 1990.

En resumen, en la PCR, se preparan dos secuencias de cebador que son complementarias a regiones en hebras complementarias opuestas de la secuencia de marcador. Se añade un exceso de desoxinucleótidos trifosfato en una mezcla de reacción junto con una ADN polimerasa, por ejemplo, Taq polimerasa. Si la secuencia de marcador está presente en una muestra, los cebadores se unirán al marcador y la polimerasa provocará que los cebadores se extiendan a lo largo de la secuencia de marcador añadiendo nucleótidos. Al elevar y disminuir la temperatura de la mezcla de reacción, los cebadores extendidos se disociarán del marcador para formar productos de reacción, los cebadores en exceso se unirán al marcador y a los productos de reacción y el proceso se repite.

Puede realizarse un procedimiento de amplificación por PCR con transcriptasa inversa con el fin de cuantificar la cantidad de ARNm amplificado. Se conocen bien métodos de transcripción de manera inversa de ARN en ADNc y se describen en Sambrook *et al.*, en: Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989. Métodos alternativos para la transcripción inversa utilizan ADN polimerasas dependientes de ARN, termoeestables. Estos métodos se describen en el documento WO 90/07641. Se conocen bien en la técnica metodologías de reacción en cadena de la polimerasa. Otro método para la amplificación es la reacción en cadena de la ligasa ("LCR", patentes estadounidenses n.ºs 5.494.810, 5.484.699, EPO n.º 320 308). En LCR, se preparan dos pares de sondas complementarias, y en presencia de la secuencia diana, cada par se unirá a hebras complementarias opuestas de la diana de manera que queden colindantes. En presencia de una ligasa, los dos pares de sondas se unirán para formar una unidad única.

Mediante ciclado de temperatura, como en PCR, las unidades ligadas unidas se disocian de la diana y luego sirven como "secuencias diana" para la ligación de los pares de sondas en exceso. La patente estadounidense n.º 4.883.750 describe un método similar a LCR para unir pares de sondas a una secuencia diana.

Puede usarse Qbeta-Replicase, una ARN polimerasa dirigida por ARN, como aún otro método de amplificación en la presente invención. En este método, se añade una secuencia de ARN replicativa que tiene una región complementaria a la de una diana a una muestra en presencia de una ARN polimerasa. La polimerasa copiará la secuencia replicativa que puede entonces detectarse. También se describen métodos similares en la patente estadounidense n.º 4.786.600, que se refiere a moléculas de ARN recombinantes capaces de servir como molde para la síntesis de moléculas monocatenarias complementarias mediante ARN polimerasa dirigida por ARN. Las moléculas producto así formadas también son capaces de servir como molde para la síntesis de copias adicionales de la molécula de ARN recombinante original.

Un método de amplificación isotérmica, en el que se usan endonucleasas de restricción y ligasas para lograr la amplificación de moléculas diana que contienen nucleótido 5'-[alfa-tio]-trifosfatos en una hebra de un sitio de restricción, también pueden ser útiles en la amplificación de ácidos nucleicos en la presente invención (Walquer *et al.*, (1992), Proc. Nat'l Acad Sci. USA, 89:392-396; patente estadounidense n.º 5.270.184).

La patente estadounidense n.º 5.747.255 describe una amplificación isotérmica usando oligonucleótidos escindibles para la detección de polinucleótidos. En el método descrito en la misma, se proporcionan poblaciones diferenciadas de oligonucleótidos que contienen secuencias complementarias entre sí y que contienen al menos una unión escindible que se escinde siempre que se forme un dúplex perfectamente coincidente que contiene la unión. Cuando un polinucleótido diana entra en contacto con un primer oligonucleótido, se produce escisión y se produce un primer fragmento que puede hibridarse con un segundo oligonucleótido. Tras tal hibridación, el segundo oligonucleótido se escinde liberando un segundo fragmento que, a su vez, puede hibridarse con un primer oligonucleótido de una manera similar a la del polinucleótido diana.

La amplificación por desplazamiento de hebra (SDA) es otro método para llevar a cabo la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos que implica múltiples rondas de desplazamiento de hebra y síntesis, es decir, traducción de mellas (por ejemplo, patentes estadounidenses n.ºs 5.744.311; 5.733.752; 5.733.733; 5.712.124). Un método similar, denominado reacción de reparación de cadena (RCR), implica aparear varias sondas a través de una región seleccionada como diana para la amplificación, seguido por una reacción de reparación en la que sólo dos de las cuatro bases están presentes. Las otras dos bases pueden añadirse como derivados biotinilados para una fácil

detección. Se usa un enfoque similar en SDA. También pueden detectarse secuencias específicas de diana usando una reacción de sonda cíclica (CPR). En CPR, una sonda que tiene secuencias en 3' y 5' de ADN no específico y una secuencia central de ARN específico se hibrida con ADN que está presente en una muestra. Tras la hibridación, la reacción se trata con ARNasa H, y los productos de la sonda se identifican como productos distintivos que se liberan tras la digestión. El molde original se aparea con otra sonda de ciclado y la reacción se repite.

Pueden usarse todavía otros métodos de amplificación descritos en la solicitud británica n.º 2 202 328, y en la solicitud PCT n.º PCT/US89/01025, según la presente divulgación. En la primera solicitud, se usan cebadores "modificados" en una síntesis de tipo PCR, dependiente de molde y enzima. Los cebadores pueden modificarse mediante marcaje con un resto de captura (por ejemplo, biotina) y/o un resto detector (por ejemplo, enzima). En la última solicitud, se añade un exceso de sondas marcadas a una muestra. En presencia de la secuencia diana, la sonda se une y se escinde de manera catalítica. Tras la escisión, la secuencia diana se libera intacta para unirse a la sonda en exceso. La escisión de la sonda marcada señala la presencia de la secuencia diana.

Otros procedimientos de amplificación de ácido nucleico incluyen sistemas de amplificación basados en transcripción (TAS), incluyendo amplificación basada en secuencia de ácido nucleico (NASBA) y 3SR (Kwok *et al.*, (1989) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 86: 1173; y documento WO 88/10315). En NASBA, los ácidos nucleicos pueden prepararse para amplificación mediante extracción con fenol/cloroformo convencional, desnaturalización térmica en una muestra clínica, tratamiento con tampón de lisis y columnas de minicentrifugación para el aislamiento de ADN y ARN o extracción de ARN con cloruro de guanidinio. Estas técnicas de amplificación implican el apareamiento de un cebador que tiene secuencias específicas de diana. Tras la polimerización, los híbridos de ADN/ARN se digieren con RNasa H mientras que las moléculas de ADN bicatenarias se desnaturalizan térmicamente de nuevo. En cualquier caso el ADN monocatenario se hace completamente bicatenario mediante la adición de un segundo cebador específico de diana, seguido por polimerización. Las moléculas de ADN bicatenarias se transcriben entonces de manera múltiple mediante una ARN polimerasa tal como T7 o SP6. En una reacción cíclica isotérmica, los ARN se transcriben de manera inversa en ADN monocatenario, que entonces se convierte en ADN bicatenario, y luego se transcribe una vez más con una ARN polimerasa tal como T7 o SP6. Los productos resultantes, ya estén truncados o completos, indican secuencias específicas de diana.

Davey *et al.*, documento EPO n.º 329 822 dan a conocer un procedimiento de amplificación de ácido nucleico que implica sintetizar cíclicamente ARN monocatenario ("ARNmc"), ADNmc; y ADN bicatenario (ADNbc), que pueden usarse según la presente invención. El ARNmc es un molde para un primer oligonucleótido cebador, que se alarga mediante transcriptasa inversa (ADN polimerasa dependiente de ARN). El ARN se retira entonces del dúplex de ADN:ARN resultante mediante la acción de ribonucleasa H (ARNasa H, una ARNasa específica para ARN en dúplex con o bien ADN o bien ARN). El ADNmc resultante es un molde para un segundo cebador, que también incluye las secuencias de un promotor de ARN polimerasa (ejemplificada por ARN polimerasa de T7) en 5' con respecto a su homología con el molde. Este cebador se extiende entonces mediante una ADN polimerasa (ejemplificada por el fragmento "Klenow" grande de ADN polimerasa I de *E. coli*), dando como resultado una molécula de ADN bicatenario ("ADNbc"), que tiene una secuencia idéntica a la del ARN original entre los cebadores y que tiene adicionalmente, en un extremo, una secuencia de promotor. Esta secuencia de promotor puede usarla la ARN polimerasa apropiada para producir muchas copias de ARN del ADN. Estas copias pueden entonces reintroducirse en el ciclo conduciendo a una amplificación muy rápida. Con la elección apropiada de las enzimas, esta amplificación puede realizarse de manera isotérmica sin la adición de enzimas en cada ciclo. Debido a la naturaleza cíclica de este proceso, la secuencia de partida puede elegirse para que esté en forma de o bien ADN o bien ARN.

La solicitud PCT WO 89/06700 da a conocer un esquema de amplificación de secuencia de ácido nucleico basándose en la hibridación de una secuencia de promotor/cebador con un ADN monocatenario ("ADNmc") diana seguido por transcripción de muchas copias de ARN de la secuencia. Este esquema no es cíclico, es decir, no se producen nuevos moldes a partir de los transcritos de ARN resultantes. Otros métodos de amplificación incluyen "RACE" y "PCR unilateral" (Frohman, En: PCR Protocols. A Guide To Methods And Applications, Academic Press, N.Y., 1990; y O'hara *et al.*, (1989) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 86: 5673-5677).

Los ácidos nucleicos amplificados pueden someterse a ensayo para determinar el genotipo mediante cualquiera de una variedad de métodos, incluyendo pero sin limitarse a sondeo de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO), digestión diferencial por endonucleasas de restricción, detección génica mediada por ligasa (LMGD), electroforesis en gel, ensayo de ligación de oligonucleótidos (OLA), nucleótidos resistentes a exonucleasa y análisis de bits genéticos (GBA). Pueden ser también útiles métodos de análisis adicionales, tales como transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) (Wolf *et al.*, PNAS 85: 8790-94, 1988). También pueden emplearse SSCP (polimorfismo de conformación de hebra sencilla) y DHPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución desnaturalizante). Puede emplearse cualquiera de estos u otros métodos conocidos para determinar la presencia o ausencia de alelos polimórficos. No se pretende que los métodos empleados o las composiciones usadas estén limitados a sólo un polimorfismo y debe interpretarse que abarcan todos los polimorfismos descritos en el presente documento.

La presente divulgación se basa en el sorprendente hallazgo de que la respuesta terapéutica está altamente relacionada con el genotipo de FcγRIIB en el individuo. Se proporciona en el presente documento un método de

tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). El método puede requerir opcionalmente la detección de la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo. Tras haberse determinado que el individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo. Tal como se comenta, se espera que los individuos que tienen el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I tengan una mayor respuesta positiva al tratamiento que los sujetos que no lo tienen. En aspectos preferidos, la dosis administrada a sujetos con el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I será mayor que la dosis administrada a un sujeto que no tiene el genotipo, tal como genotipo Fc γ RIIB 232 T/T o Fc γ RIIB 232 T/I.

En otro aspecto, la presente invención tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas proporciona una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP y caracterizado por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto. La terapia comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con agente de receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo. La terapia puede ir precedida por la detección de la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra, tal como una muestra de ADN de dicho individuo. Tal como se estableció anteriormente, la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). La terapia con receptor de Fc gamma IIB para su uso según la invención se define en las reivindicaciones 3 y 4.

Los términos “sujeto”, “individuo” y “paciente” se usan de manera intercambiable. Incluyen sujetos mamíferos y no mamíferos; “mamífero” para propósitos de tratamiento se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo humanos, animales domésticos y de granja, primates no humanos, y cualquier otro animal que tenga tejido mamario. Un mamífero incluye humano, roedores tales como ratón, rata o conejo, perro, gato, chimpancé, caballo, cerdo, etc., prefiriéndose un humano. Un sujeto también incluye pacientes humanos y veterinarios, prefiriéndose pacientes humanos.

“Tratar” o “tratamiento” tal como se usa en el presente documento significa reducir, estabilizar o inhibir la progresión de un síntoma, tal como el tamaño del cáncer, el número de metástasis u otros síntomas que estén provocados por/asociados con la presencia y/o progresión de un cáncer.

Según la presente divulgación por el término “muestra” está prevista cualquier muestra biológica que contenga ADN obtenido de una línea celular, cultivo celular u otra fuente del sujeto que contenga autoanticuerpos, polinucleótidos o polipéptidos o porciones de los mismos. Las muestras biológicas incluyen fluidos corporales (tales como sangre, suero, plasma, orina, saliva, líquido sinovial y fluido espinal). Se conocen bien en la técnica métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales a partir de sujetos. Generalmente, una muestra biológica que incluye proteínas, en particular antígenos, autoanticuerpos y polinucleótidos se prefiere como fuente. Otras muestras preferidas son sangre completa, suero, plasma o líquido sinovial, siendo las más preferidas plasma o suero.

La presente invención también proporciona un método tal como se define en la reivindicación 2 para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método tal como se define en la reivindicación 2 para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

El término “estratificar” o “estratificación” se refiere a la clasificación de individuos o pacientes en aquellos que es más probable que se beneficien de la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) de los que es menos probable que se beneficien de la terapia. Los métodos de la presente divulgación pueden emplearse por tanto para pacientes con cáncer de ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB). Tal como se mencionó, los pacientes que tienen el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es más probable que se beneficien de la terapia que los que no lo tienen.

Específicamente, un “paciente que puede beneficiarse” de la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) es un paciente en el que la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) tiene una mayor probabilidad de tener un efecto terapéutico. La probabilidad de que (a) el cáncer y/o un paciente con cáncer pueda responder o no favorablemente depende de los síntomas observados en el paciente.

La presente divulgación también proporciona un método de tratamiento de un individuo que padece ITP y que tiene el genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto, comprendiendo dicho método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia de ITP alternativa tal como romiplostim, inmunoglobulina intravenosa (IVIG), Revolade y/o los anticuerpos divulgados en el documento EP-B1 1 876 240 a dicho individuo. El genotipo puede determinarse tal como se describe en el presente documento.

Romiplostim (AMG 531) es una proteína de fusión de Fc compuesta por dominios Fc IgG1 de inmunoglobulina humana, con cada subunidad de cadena sencilla covalentemente unida en el extremo C-terminal a una cadena peptídica que contiene 2 dominios de unión a receptor de trombopoyetina (TPO). Romiplostim puede producirse mediante tecnología de ADN recombinante en *Escherichia coli* y purificarse como un dímero que consiste en 2 subunidades de Fc-péptido-péptido. Puede administrarse en una dosis, por ejemplo, una dosis de entre 1,0-20,0 μ g/kg.

Kit

La divulgación también proporciona ensayos de pronóstico o predictivos para determinar si un individuo presentaría una respuesta terapéutica positiva o negativa a la terapia con Fc γ RIIB. El ensayo puede usarse para propósito de pronóstico o predictivo para tratar profilácticamente de ese modo a un individuo antes del tratamiento. El kit comprende cebadores para detectar el genotipo de receptor de Fc gamma IIB 332 del individuo.

La presente divulgación se refiere además a un envase farmacéutico que comprende una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), y:

(a) instrucciones y/o una impresión que indica que dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) va a usarse para el tratamiento de un individuo (i) que padece ITP y (ii) que se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto; y/o

(b) instrucciones y/o una impresión que indica que el individuo que va a tratarse se estratificará.

Los kits descritos en el presente documento pueden incluir también un programa en forma legible por ordenador para analizar los resultados de los métodos realizados usando los kits para poner en práctica los métodos proporcionados en el presente documento. Los kits pueden comprender también uno o más de los componentes en cualquier número de recipientes, envases, tubos, viales, placas de microtitulación separados y similares, o los componentes pueden combinarse en diversas combinaciones en tales recipientes. Los kits pueden comprender también instrucciones para realizar uno o más métodos descritos en el presente documento y/o una descripción de una o más composiciones o reactivos descritos en el presente documento. Las instrucciones y/o descripciones pueden estar en forma impresa y pueden incluirse en un folleto del kit. Un kit puede incluir también una descripción escrita de una dirección de Internet que proporciona tales instrucciones o descripciones.

Las realizaciones descritas anteriormente en el presente documento, por ejemplo, con los métodos divulgados son igualmente aplicables a los kits y usos, cambiando lo que se tenga que cambiar.

La presente divulgación también se refiere a los siguientes puntos:

1. Un método para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

2. Un método para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).

3. Un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), en el que dicho individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, y en el que dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo.

4. Terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP, en el que dicho individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, y en el que dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo.

5. Un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).
6. Terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), comprendiendo dicho método detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).
7. Un método para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).
8. Un método para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB).
9. El método del punto 1, 2, 3, 5, 7 u 8, en el que la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) es tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble, romiplastin, eltrombopag o IVIG.
10. El método del punto 9, en el que el receptor Fc γ RIIB soluble tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.
11. La terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para el uso del punto 4 ó 6, en el que la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) es tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble, romiplastin, eltrombopag o IVIG.
12. La terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para el uso del punto 11, en el que el receptor Fc γ RIIB soluble tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.

Lista de secuencias

- <110> SuppreMol GmbH
- <120> Estratificación y tratamiento de pacientes de púrpura trombocitopénica idiopática
- <130> SUP14626EP-A
- <150> Documento EP 12 008 209.4
- <151> 07-12-2012
- <160> 4
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 181
- <212> PRT
- <213> artificial
- <220>
- <223> variante de receptor de Fc gamma II B
- <400> 1

ES 2 730 690 T3

Met Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg
20 25 30

Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly
35 40 45

Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn
50 55 60

Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln
85 90 95

Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro
130 135 140

Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile
145 150 155 160

Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala
165 170 175

Pro Ser Ser Ser Pro
180

<210> 2
5 <211> 543
<212> ADN
<213> artificial

<220>
10 <223> variante de receptor de Fc gamma II B
<400> 2

ES 2 730 690 T3

```

atggggacac ctgcagctcc cccaaaggct gtgctgaaac tgcagcccca gtggatcaac      60
gtgctccagg aggactctgt gactctgaca tgccggggga ctcacagccc tgagagcgac      120
tccattcagt gggtccacaa tgggaatctc attcccaccc acacgcagcc cagctacagg      180
ttcaaggcca acaacaatga cagcggggag tacacgtgcc agactggcca gaccagcctc      240
agcgaccctg tgcattctgac tgtgctttct gagtggctgg tgctccagac ccctcacctg      300
gagttccagg agggagaaac catcgtgctg aggtgccaca gctggaagga caagcctctg      360
gtcaagggtca cattcttcca gaatggaaaa tccaagaaat tttcccgttc ggatcccaac      420
ttctccatcc cacaagcaaa ccacagtcac agtgggtgatt accactgcac aggaaacata      480
ggctacacgc tgtactcatc caagcctgtg accatcactg tccaagctcc cagctcttca      540
ccg                                                                           543

```

<210> 3
 <211> 177
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> variante de receptor de Fc gamma II B

```

Met Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn
1           5           10           15

Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser
          20           25           30

Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro
          35           40           45

```

ES 2 730 690 T3

Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser
50 55 60

Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val
65 70 75 80

His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu
85 90 95

Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys
100 105 110

Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys
115 120 125

Lys Phe Ser Arg Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His
130 135 140

Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu
145 150 155 160

Tyr Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser
165 170 175

Pro

<210> 4

<211> 534

5 <212> ADN

<213> artificial

<220>

10 <223> variante de receptor de Fc gamma II B

<400> 4

atggcaccgc cgaaagcagt tctgaaactg gaaccgcagt ggattaacgt tctgcaggaa	60
gatagcggtta ccctgacctg tcgtggcacc catagcccgg aaagcgatag cattcagtgg	120
tttcacaacg gcaatctgat tccgacctat acccagccga gctatcgttt taaagcgaac	180
aacaacgata gcggcgaata tacctgtcag accggtcaga ccagcctgag cgatccgggt	240
catctgaccg ttctgagcga atggctgggt ctgcagacc cgcattctgga atttcaggaa	300
ggcgaaacca ttgttctgcg ttgccacagc tggaagata aaccgctggt taaagttacc	360
ttcttccaga acggcaaaag caaaaaattc agccgtagcg atccgaattt tagcattccg	420
caggcgaatc atagccatag cggcgattat cattgtaccg gcaacattgg ctataccctg	480
tatagcagca aaccggtgac cattaccgtt caggcgccga gcagcagccc gtaa	534

REIVINDICACIONES

1. Método para predecir la respuesta terapéutica a la terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en un individuo que padece púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), que comprende detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto, en el que T es treonina, es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), en el que la terapia con Fc γ RIIB es el tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.
2. Método para estratificar individuos que padecen ITP con respecto a su susceptibilidad al tratamiento con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), que comprende determinar el patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 T/T homocigoto, en el que T es treonina, es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica negativa a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), o en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, en el que I es isoleucina, es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), en el que la terapia con Fc γ RIIB es el tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.
3. Terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP, en el que dicho individuo se caracteriza por el genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, en el que I es Isoleucina, y en el que dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) a dicho individuo, en la que la terapia con Fc γ RIIB es el tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.
4. Terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), para su uso en un método de tratamiento de un individuo que padece ITP con una terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), comprendiendo dicho método detectar la presencia del patrón alélico para el receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB) en una muestra de dicho individuo, en el que la presencia del genotipo Fc γ RIIB 232 I/I homocigoto, en el que I es isoleucina, es indicativa de un individuo que presentará una respuesta terapéutica positiva a dicha terapia con receptor de Fc gamma IIB (Fc γ RIIB), en la que la terapia con Fc γ RIIB es el tratamiento con un receptor Fc γ RIIB soluble que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID No: 1 ó 3.