(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 387 115**

(21) Número de solicitud: 200901903

(51) Int. CI.:

A61L 27/22 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
C08L 89/00 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN B1

(22) Fecha de presentación:

24.09.2009

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

14.09.2012

Fecha de la concesión:

21.06.2013

(45) Fecha de publicación de la concesión:

03.07.2013

(73) Titular/es:

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA (50.0%)
C/ Jordi Girona, 31
08034 Barcelona (Barcelona) ES y
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (50.0%)

(72) Inventor/es:

APARICIO BADENAS, Conrado Jose;
PLANELL ESTANY, Josep Anton;
SALVAGNI, Emiliano;
WERNER, Michael;
GIL MUR, Francisco Javie;
RODRÍGUEZ CABELLO, José Carlos;
ALONSO RODRIGO, Matilde;
ARIAS VALLEJO, Francisco Javie;
GIROTTI, Alessandra y
RIBEIRO, Artur

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

(54) Título: **NUEVOS POLIMEROS PROTEICOS RECOMBINANTES Y METODO DE BIOACTIVACION DE SUPERFICIES CON DICHOS POLIMEROS**

(57) Resumen:

La presente invención se refiere a polímeros proteicos o mezclas de los mismos que comprenden dominios capaces de promover la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico, y dominios capaces de promover la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular, a procedimientos para activación de materiales para implantes óseos que emplean dichos polímeros proteicos y a los implantes obtenibles mediante dichos procedimientos.

ES 2 387 115 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCION

NUEVOS POLÍMEROS PROTEICOS RECOMBINANTES Y MÉTODO DE BIOACTIVACIÓN DE SUPERFICIES CON DICHOS POLÍMEROS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a nuevos materiales metálicos bioactivados de utilidad como implantes en sistemas para la sustitución, reparación y/o regeneración del tejido óseo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La mayor parte de los implantes utilizados en sistemas para la sustitución, reparación y/o regeneración del tejido óseo están fabricados con materiales afuncionales desde un punto de vista biológico. Así, por ejemplo, los metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos, tales como las aleaciones metálicas de Ti, CoCrMo y acero inoxidable han sido extensamente empleadas en numerosos sistemas como implantes de cadera y rodilla, placas de osteosíntesis, implantes dentales, etc.

Sus apropiadas propiedades mecánicas, y especialmente su resistencia a la corrosión y biocompatibilidad los hacen candidatos idóneos para estas aplicaciones. Sin embargo, la falta de bioactividad específica relacionada con los metales genera diversos inconvenientes. Por una parte, el sistema de defensa del organismo responde con una serie de reacciones complejas a la presencia de un material extraño, como adhesión no específica de proteínas y plaquetas. Por otra parte, son reconocidos como materiales ajenos y son aislados del medio biológico, evitando su más rápida y más estable unión con los tejidos óseos circundantes al provocar reacción a cuerpo extraño al ser implantados.

La interacción del material con células vivas y fluidos biológicos siempre es un aspecto que depende de interacciones inespecíficas que en la mayoría de las ocasiones se resuelven de manera desfavorable retardando e incluso impidiendo la integración de los implantes. Por ello, las estrategias de mejora de estos materiales se han centrado en la modificación de la superficie de los mismos (bioactivación) para mejorar su interacción con el medio biológico.

Una de las técnicas más recientemente estudiadas es la bioactivación o funcionalización de las superficies metálicas enlazando en su superficie moléculas con actividad biológica específica (biopolímeros sintéticos, proteínas, péptidos, polisacáridos, ...).

La solicitud de patente WO 91/05036 A1 describe la funcionalización de superficies metálicas mediante el ligado covalente de péptidos pequeños que promueven la adhesión celular. Los péptidos preferidos son los que tienen hasta 12 aminoácidos y comprenden una de las secuencias RDG, YIGSR (SEQ ID NO: 1) o REDV (SEQ ID NO: 2).

La solicitud de patente WO 92/00047 A1 describe implantes cuya superficie se funcionaliza con una monocapa de moléculas de "linker" (tal que el 1-bromo-16-triclorosilil hexadecano) que se ligan a la estructura y a continuación se contacta con moléculas promotoras de la adhesión (preferiblemente fibronectina) que posibilitan el control del tipo de células que crece sobre la superficie (promoviendo preferiblemente el crecimiento de los fibroblastos y reprimiendo el crecimiento de las células neuronales).

La solicitud de patente WO 2005/027990 A2 describe implantes (p.ej de titanio) que presentan en su superficie moléculas ligadas a su superficie, entre otras posibilidades, mediante enlaces covalentes, por ejemplo mediante el uso de organosilanos. Entre las moléculas que pueden ligarse a las superficies funcionalizadas con los silanos se describen los péptidos que mejoran la adhesión tales como los de secuencias RGD y RGDS (SEQ ID NO: 3) o los peptidomiméticos de la matriz extracelular tales como los de secuencias RGES (SEQ ID NO: 4), DGEA (SEQ ID NO: 5) y EGEA (SEQ ID NO: 6).

El artículo Rodríguez-Cabello, J.C., Reguera, J., Girotti, A., Alonso, M.; Testera, A.M.; "Developing functionality in elastin-like polymers by increasing their molecular complexity: the power of the genetic engineering approach"; Prog. Polym. Sci. 30 (2005), 1119-1145 describe el uso de polímeros proteicos obtenidos mediante ingeniería genética (GEPBPs) en particular los de tipo elastina. Se describen polímeros proteicos que poseen cuatro dominios funcionales básicos: a) un primer dominio que confiere al polímero una respuesta mecánica comparable a la de la matriz extracelular natural y que consiste en una secuencia tipo elastina $(VPGIG)_n$ [(SEQ ID NO: $7)_n$]; b) un segundo dominio que es similar al primero en el que alguna de las isoleucinas (I) se sustituye por lisina (K) para facilitar el anclaje del polímero sobre la superficie funcionalizada; c) un tercer dominio que contiene una secuencia que promueve la adhesión celular como por ejemplo la secuencia del dominio C5 de la fibronectina (REDV) (SEQ ID NO: 2) y d)un cuarto dominio que contiene una secuencia que es un sustrato de las elastasas para favorecer la bioprocesabilidad del polímero por rutas naturales.

La solicitud de patente WO 2007/146228 A2 describe copolímeros basados en elastina que pueden utilizarse, entre otras aplicaciones, para el recubrimiento de implantes. Los copolímeros descritos son copolímeros en bloque conteniendo uno de los bloques el pentapéptido VGVPG (SEQ ID NO: 8) opcionalmente modificado. La solicitud también describe la posibilidad de (a) incluir en el copolímero enlaces degradables entre los distintos bloques y (b) incluir secuencias peptídicas que promuevan la proliferación y/o migración de células endoteliales tales como las secuencias RGD, SIKVAV (SEQ ID NO: 9), CNP, e YIGSRG (SEQ ID NO: 10).

Sería por lo tanto deseable obtener moléculas con actividad biológica específica (biopolímeros sintéticos, proteínas, péptidos, polisacáridos) que permitieran funcionalizar las superficies de los implantes realizados con materiales seleccionados entre el grupo que comprende metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos de modo que los implantes bioactivados presenten una rápida y favorable integración. Sería asimismo deseable un procedimiento que permitiera la funcionalización de los implantes utilizando dichas moléculas con actividad biológica.

Sin embargo, esta tarea es compleja ya que la bioactividad está distribuida en múltiples parámetros y acciones y ninguno de los documentos conocidos en el estado de la técnica describe un material que permita la biofuncionalización de superficies de metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones mediante un procedimiento sencillo que a la vez resuelva los problemas planteados.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se ha descubierto ahora que resulta particularmente ventajoso funcionalizar los implantes mediante el recubrimiento parcial o total de su superficie con un polímero proteico o una mezcla de polímeros proteicos cuyos polímeros comprenden:

i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [(SEQ ID NO: 11)$_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,

ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y

iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:

iiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico, y

iiib. dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular,

con la condición que el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos comprenden tanto el dominio (iiia) como el dominio (iiib).

En otro aspecto de la invención se propone un procedimiento para la funcionalización de los implantes mediante el recubrimiento parcial o total de su superficie con polímeros proteicos o mezclas de los mismos que se realiza mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

a) fijar moléculas de anclaje sobre la superficie activada químicamente del material de implante, presentando dichas moléculas de anclaje grupos funcionales que pueden unirse mediante enlace covalente con polímeros proteicos

b) inmovilizar el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos mediante dichos grupos funcionales sobre el material de implante.

En todavía otro aspecto de la invención se proponen implantes óseos obtenibles mediante el procedimiento anteriormente descrito.

Los implantes funcionalizados mediante la utilización de los polímeros proteicos de la presente invención presentan una buena compatibilidad con el tejido óseo y una buena capacidad de integración.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Representación esquemática de la estrategia para crear multímeros por el método recursivo/reiterativo. El gen monomérico se clona en un vector de clonaje (A) obteniéndose un producto de ligación (B) que posee dos dianas de restricción para dos enzimas de restricción diferentes (E1 y E2). La digestión con un único enzima (E1) genera un plásmido abierto que contiene el monómero clonado con anterioridad, y al digerirse con ambos enzimas (E1 y E2) se obtiene el gen monomérico (C). La ligación del gen monomérico obtenido y el plásmido abierto que contiene también un monómero, resulta en un plásmido con los dos monómeros unidos en ausencia de un sitio de restricción entre ellos (D). Sin embargo, las dianas para los enzimas E1 y E2 se mantienen y permiten repetir el procedimiento sucesivamente para añadir más monómeros a la construcción (E).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Los polímeros proteicos o mezclas de los mismos según la presente invención comprenden:

i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [(SEQ ID NO: 11)$_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,

ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y

iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:

iiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico, y

iiib. dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular,

con la condición que el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos comprenden tanto el dominio (iiia) como el dominio (iiib).

En una realización de la invención se utiliza un polímero proteico que presenta los cuatro dominios anteriormente mencionados (i), (ii) (iiia) y (iiib).

En otra realización de la invención se utiliza una mezcla de varios polímeros proteicos, en particular una mezcla de al menos dos tipos de polímeros proteicos comprendiendo al menos uno de ellos (P1):

i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [(SEQ ID NO: 11)$_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,

ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y

iiia. uno o más dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico;

y comprendiendo al menos otro polímero proteico (P2) de la mezcla:

i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [(SEQ ID NO: 11)$_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,

ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y

iiib. uno o más dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular,

de modo que, aunque cada polímero proteico solamente presenta tres de los dominios mencionados, la mezcla presenta los cuatro dominios.

De este modo, al funcionalizar el implante haciendo uso del polímero proteico o de la mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las dos realizaciones expuestas anteriormente, se obtiene un recubrimiento que posee los cuatro dominios (i), (ii), (iiia) y (iiib) que confieren las ventajas expuestas anteriormente.

En una realización preferida de la invención la mezcla de polímeros proteicos está formada únicamente por un polímero proteico P1 y un polímero proteico P2.

El dominio (i) contribuye a dotar al material de la adecuada biocompatibilidad y una adecuada respuesta mecánica. Las células sienten los esfuerzos existentes en su entorno a través de las deformaciones de la matriz extracelular. Cuando las superficies en las que se adhieren las células no presentan las características dinamicomecánicas presentes en la matriz extracelular, su adhesión, proliferación y, especialmente, diferenciación suelen estar en compromiso. Por eso es necesario que los tratamientos superficiales incluyan materiales que presenten en la superficie de contacto una respuesta dinámica semejante a la de la matriz extracelular.

El dominio (ii) contiene la funcionalidad necesaria para que el polímero forme uniones estables con el sustrato a través del aminoácido X^2.

Por otra parte la combinación del dominio (iiia), que promueve efectos específicos de nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio de interés biológico tales como la hidroxiapatita sobre el implante, con el dominio (iiib), que promueve propiedades específicas de adhesión celular a través de péptidos conocidos de las proteínas de la matriz extracelular, permite que la interacción del material con células vivas y fluidos biológicos se resuelva de manera favorable acelerando y posibilitando la integración de los implantes.

Los dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [(SEQ ID NO: 11)$_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina, confieren al polímero proteico características mecánicas similares a las de la matriz extracelular.

En una realización preferida de la invención X^1 es isoleucina.

En otra realización preferida de la invención n es un entero comprendido entre 2 y 25, más preferiblemente entre 2 y 15. Los dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina permiten obtener el ligado covalente del polímero proteico a la superficie del implante mediante la reacción de los grupos funcionales de las cadenas laterales del aminoácido X^2 con moléculas de anclaje previamente fijadas sobre la superficie activada químicamente del material de implante.

En una realización de la invención X^2 se selecciona entre el grupo que comprende lisina, ornitina y arginina, preferiblemente lisina y ornitina, aún más preferiblemente lisina.

En una realización preferida de la invención el polímero proteico comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas entre los que comprenden la secuencia $[(VPGX^1G)_a\ VPGX^2G\ (VPGX^1G)_b]_c$ [(SEQ ID NO: 11)$_a$ (SEQ ID NO:12) (SEQ ID NO: 11)$_b$]$_c$ en la que a, b y c son enteros entre 1 y 30 estando el número total de aminoácidos de dicha secuencia comprendido entre 2 y 500.

Los dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico contribuyen a la regeneración ósea y/o a la promoción de la diferenciación de osteoblastos. En la presente invención se consideran fosfatos de calcio de interés biológico la brushita, el fosfato cálcico amorfo, el fosfato octacálcico, la apatita y la hidroxiapatita.

La biomineralización se ha asociado, en general, a las proteínas acídicas en conformación de hoja plegada β (aspartatos, glutamatos, serinas fosforiladas...) y a las proteínas tales como la osteopontina, la sialoproteína ósea, la osteocalcina, la estaterina y la fosfoforina que contienen dominios altamente acídicos.

Se han sintetizado los péptidos que contienen el dominio N15, es decir, el dominio N-terminal de 15 aminoácidos de la estaterina DpSpSEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 13) (en el que pS designa a la fosfoserina) y el dominio de unión de la osteopontina a las integrinas (GRGDS) (SEQ ID NO: 14) o (DGEA) (SEQ ID NO: 5) y ambos

péptidos muestran adhesión a las células osteoblásticas. Sin embargo, el péptido N15-PDGEA [N15-(SEQ ID NO: 15)] induce la activación de la vía MAPK (Mitogen-activated protein kinase) monitorizada a través de la fosforilación de ERK 1 y 2. En cambio el dominio peptídico SNa15, que es el dominio N15 de la estaterina en el que se han sustituido todas las fosfoserinas (pS) por ácido aspartico (D) (DDDEEKFLRRIGRFG) (SEQ ID NO: 16) retiene la capacidad de nucleación y afinidad hacia la hidroxiapatita (HA).

La sialoproteina ósea (BSP) es una fosfoproteína aniónica altamente modificada que se expresa de modo casi exclusivo en tejidos conectivos en proceso de mineralización y se ha mostrado como un potente nucleador de hidroxiapatita. Se cree que dos regiones de ácido poliglutámico (poly[E]) localizadas en la mitad amino-terminal de la molécula y que pueden estar trabajando cooperativamente pueden ser responsables de esta actividad. Algunos resultados demuestran que se requiere una secuencia de al menos ocho residuos de ácido glutámico contiguos para la nucleación de la hidroxiapatita por la BSP.

A continuación se muestran algunas secuencias parciales de aminoácidos de proteínas involucradas en la estabilización del fosfato cálcico y/o la regulación de la biomineralización:

pSpSpSpSpSpS (SEQ ID NO: 17)	Fosvitina
DpSpSDpSpS (SEQ ID NO: 18)	Fosfoforina
pSpSpSEE (SEQ ID NO: 19)	Fosfoproteína de la matriz de la dentina
pSMpSpSpSEE (SEQ ID NO: 20)	Proteína de unión de la riboflavina
pSpSGpSpSEE (SEQ ID NO: 21)	Osteopontina
pSIpSpSpSEE (SEQ ID NO: 22)	αS1Caseína
pSLpSpSpSEE (SEQ ID NO: 23)	β-Caseína
DpSpSEpS (SEQ ID NO: 24)	Proteína Matriz-Gla
DpSpSEE (SEQ ID NO: 25)	Estaterina

El motivo DSKSDSSKSESDSS (SEQ ID NO: 26) (en el que un alto porcentaje de serinas se encuentran fosforiladas) que se basa en la fosfoforina humana presenta la capacidad de nuclear el fosfato cálcico y precipitar hidroxiapatita. También han mostrado una absorción preferencial por la apatita los oligopéptidos

APWHLSSQYSRT (SEQ ID NO: 27), STLPIPHEFSRE (SEQ ID NO: 28) y VTKHLNQISQSY (SEQ ID NO: 29).

Otra posibilidad es el uso de péptidos del tipo de los caseinofosfopéptidos derivados de la caseína de la leche. Estos péptidos han mostrado propiedades anticariogénicas cuando se incorporan a la dieta o a pastas de dientes, y por ello su potencial de mineralización en el cuerpo.

En una realización preferida de la invención el dominio (iiia) que promueve la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico se selecciona entre los que comprenden una o más secuencias de aminoácidos, seleccionada(s) entre DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16), APWHLSSQYSRT (SEQ ID NO: 27), STLPIPHEFSRE (SEQ ID NO: 28), VTKHLNQISQSY (SEQ ID NO: 29) y secuencias promotoras de la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico de los caseinofosfopéptidos tales como pSIpSpSpSEE (SEQ ID NO: 22) y pSLpSpSpSEE (SEQ ID NO: 23); preferiblemente DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16), APWHLSSQYSRT (SEQ ID NO: 27), STLPIPHEFSRE (SEQ ID NO: 28), VTKHLNQISQSY (SEQ ID NO: 29); aún más preferiblemente DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16).

Los dominios que promueve(n) la adhesión celular son capaces de constituirse como sitios específicos de adhesión celular. Estos sitios existen en las proteínas naturales de la matriz extracelular y están formadas por pequeñas secuencias peptídicas específicas.

Muchas de las proteínas de la matriz contienen secuencias de aminoácidos que se conoce que se unen a los dominios extracelulares de los receptores de adhesión unidos a la membrana, por ejemplo RGD o la secuencia DGEA (SEQ ID NO: 5) que es específica para la integrina α2β1 de las células de tipo osteoblasto. La más eficaz y estudiada de dichas secuencias es la RGD que se conoce que interactúa con más de un receptor de adhesión celular, tales como doce de los veinticuatro receptores conocidos de la integrina. Por ello, esta secuencia presenta bioactividad general para prácticamente todas las células que se encuentran formando tejidos en los organismos, junto a otras más específicas que promueven la adhesión de sólo uno o unos pocos tipos celulares. Esta secuencia se encuentra presente, por ejemplo, en el anillo RGD de la fibronectina humana cuya secuencia es AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).

También se pueden utilizar otro tipo de secuencias para introducir especificidad hacia algún tipo de célula y, por ello, hacia aplicaciones específicas tales como los implantes óseos.

En aplicaciones óseas, para células de tipo osteoblástico, se puede introducir en la secuencia polimérica el motivo RGD junto con las secuencias sinérgicas PHSRN (SEQ ID NO: 31) (selectiva para la integrina $\alpha 5\beta 1$), GFOGER (SEQ ID NO: 32) (que se dirige específicamente al receptor de integrina $\alpha 2\beta 1$), KRSR (SEQ ID NO: 33) y FHRRIKA (SEQ ID NO: 34) (reconocidas por el receptor de proteoglicano denominado como dominio de unión a la heparina) y GTPGPQGIAGQRGVV (SEQ ID NO: 35) (secuencia específica de adhesión celular para osteoblastos, tipo dominio P-15 del colágeno).

Se ha mostrado que el motivo X-B-B-B-X-B-B-X (SEQ ID NO: 36) (en el que B es un aminoácido básico y X es un residuo no-básico) promueve de modo efectivo la adhesión al receptor de proteoglicano en comparación con las secuencias tales como KRSR (SEQ ID NO: 33). Estas secuencias han mostrado que promueven la diferenciación de osteoblastos y la formación ósea.

En una realización de la invención el dominio (iiib) que promueve la adhesión celular se selecciona entre los que comprenden una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas entre RGD, PHSRN (SEQ ID NO: 31), GFOGER (SEQ ID NO: 32), FHRRIKA (SEQ ID NO: 34), GTPGPQGIAGQRGVV (SEQ ID NO: 35) y X-B-B-B-X-B-B-X (SEQ ID NO: 36) en el que B representa un aminoácido básico y X es un aminoácido no-básico. Más preferiblemente el dominio (iiib) se selecciona entre los que comprenden una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas entre: a) la secuencia RGD, b) las secuencias RGD y PHSRN (SEQ ID NO: 31), c) las secuencias RGD y GFOGER (SEQ ID NO: 32), d) la secuencia FHRRIKA (SEQ ID NO: 34) y e) la secuencia GTPGPQGIAGQRGVV (SEQ ID NO: 35); más preferiblemente los que comprenden a) la secuencia RGD, b) las secuencias RGD y PHSRN (SEQ ID NO: 31) y c) las secuencias RGD y GFOGER (SEQ ID NO: 32); todavía más preferiblemente los que comprenden a) la secuencia RGD y b) las secuencias RGD y PHSRN (SEQ ID NO: 31); aún más preferiblemente los que comprenden la secuencia RGD y todavía más preferiblemente los que comprenden la secuencia AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).

En otra realización de la invención X^1 es isoleucina; X^2 es lisina; el dominio (iiia) que promueve la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de

interés biológico es DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16); y el dominio (iiib) que promueve la adhesión celular es AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).

Obtención de los polímeros proteicos

Los polímeros proteicos según la presente invención pueden obtenerse de forma ventajosa como proteínas recombinantes, mediante técnicas adaptadas de biología molecular y biotecnología, en microorganismos o plantas modificados genéticamente siguiendo métodos en sí mismos conocidos y ampliamente utilizados en la obtención de proteínas recombinantes. Típicamente, y de forma breve, la obtención de estos materiales pasa por las siguientes etapas:

- Diseño del gen sintético que codificará el material final.
- Obtención de ese gen sintético. Esta etapa incluye la utilización de sintetizadores automáticos de DNA junto con técnicas de DNA recombinante.
- Incorporación del gen a un organismo modificándolo genéticamente. El organismo puede ser un microorganismo, planta o sistema celular encargado de la expresión final del material y su elección condicionará la elección del vector de expresión usado, la técnica de clonación y la biotecnología de producción.
- Expresión y purificación del polímero a partir del organismo genéticamente modificado.

Cuando se desea obtener un polímero proteico que comprende uno o más aminoácidos fosforilados puede ser conveniente preparar el polímero con los correspondientes aminoácidos no fosforilados y efectuar la fosforilación posterior del mismo mediante procedimientos conocidos.

Funcionalización de las superficies

Las superficies que se pueden utilizar como material de implante en esta invención incluyen, sin ser limitativas, metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos. En una realización preferida los materiales de las superficies a recubrir se seleccionan entre titanio y sus aleaciones metálicas tales como Ti-6Al-4V o Ni-Ti (con previo tratamiento de oxidación preferencial), aleaciones basadas en Co-Cr o aceros inoxidables; más preferiblemente titanio y sus aleaciones metálicas Ti-6Al-4V o Ni-Ti (con previo tratamiento de oxidación preferencial); aún más preferiblemente titanio.

De modo general la funcionalización de los implantes mediante el recubrimiento parcial o total de su superficie con polímeros proteicos o mezclas de los mismos se

realiza mediante un procedimiento para la bioactivación de materiales para implantes óseos seleccionados entre el grupo que comprende metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

a) fijar moléculas de anclaje sobre la superficie activada químicamente del material de implante, presentando dichas moléculas de anclaje grupos funcionales que pueden unirse mediante enlace covalente con polímeros proteicos

b) inmovilizar el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos mediante dichos grupos funcionales sobre el material de implante.

Aunque existe una amplia variedad de moléculas de anclaje que pueden utilizarse en la etapa a) del procedimiento anteriormente descrito resulta preferido el uso de silanos.

En una realización preferida de la invención las moléculas de anclaje que se fijan sobre la superficie del material de implante son silanos funcionalizados; preferiblemente silanos funcionalizados con grupos electrofílicos, más preferiblemente trialcoxisilanos funcionalizados; más preferiblemente 3-cloropropiltrietoxisilano.

La silanización (funcionalización con organosilanos) es una técnica que prepara la superficie metálica para el posterior enlace de la molécula biológica de interés (biofuncionalización). Los organosilanos son moléculas que pueden enlazarse fuertemente (enlace covalente) con aquellos metales que poseen una capa de óxido superficial, hábil de ser activada físicoquímicamente con este fin.

Los organosilanos poseen a) grupos silanos en un extremo de la molécula, que permiten un enlace covalente con la superficie oxidada del metal (unión Met-O-Si); y b) en el otro extremo, grupos funcionales que permiten continuar las reacciones químicas hasta la unión covalente con las moléculas de interés biológico.

Sin embargo no todos los silanos permiten, una vez enlazados al metal, una reacción directa y/o selectiva con el sitio específico de la molécula biológica, cualquiera que sea su grupo funcional. Así por ejemplo el 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES) no se enlaza directamente con las proteínas naturales, sino que se ha de realizar un paso adicional de previa modificación o activación. Esto complica el proceso de preparación y aumenta el tiempo y el coste de producción del material.

El uso del silano 3-cloropropiltrietoxisilano (CPTES) se ha revelado particularmente ventajoso ya que permite el enlace directo con las moléculas de interés biológico a través de múltiples grupos funcionales (ej. grupos amino, hidroxilo, tioles, ...). Esto reduce la fabricación del metal, previo a la biofuncionalización, a un mínimo número de 2 etapas, con una elevada selectividad y versatilidad de sustratos y moléculas con actividad biológica. Así, se pueden desarrollar productos metálicos para el ámbito de la reparación de los tejidos duros en todas sus vertientes.

A continuación se describe un procedimiento adecuado para la silanización de la superficie del metal en particular cuando se utiliza 3-cloropropiltrietoxisilano como agente de silanización:

Opcionalmente se limpia con ultrasonido en un solvente orgánico y a continuación se generan grupos hidroxilos mediante ataque con soluciones ácidas o básicas, o por limpieza adicional con plasma. En el caso de que la activación de los grupos hidroxilos se ha realizado con soluciones ácidas o básicas, el material atacado se lava con agua, acetona y se seca con aire. Si la superficie se ha activado únicamente por limpieza con plasma, no es necesario realizar esta etapa de lavado post-activación. A continuación, la superficie se silaniza sumergiéndola en un medio básico que contiene 3-cloropropiltrietoxisilano. Después, el metal funcionalizado se lava con pentano, acetona y se seca con aire.

Mediante este procedimiento pueden obtenerse implantes óseos aptos para su uso en aplicaciones médicas siendo dichos implantes funcionalizados un aspecto de la presente invención.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Obtención del polímero proteico

MESLLP $\{[(VPGIG)_2VPGKG(VPGIG)_2]_2$ **DDDEEKFLRRIGRFG** $[(VPGIG)_2VPGKG(VPGIG)_2]_2\}_4$-$\{[(VPGIG)_2VPGKG(VPGIG)_2]_2$ **AVTGRGDSPASS** $[(VPGIG)_2VPGKG(VPGIG)_2]_2\}_4$ V [SEQ ID NO: 37]

El gen sintético de este polímero [SEQ ID NO: 38] se produjo a partir de los fragmentos génicos que codifican para cada uno de los monómeros peptídicos sintetizados químicamente por una empresa especializada.

El clonaje de cada monómero se realizó en el plásmido comercial pDrive mutado para eliminar su sitio de reconocimiento endógeno para la enzima de restricción

*Sap*I. La cepa competente XL-1-Blue de *E.coli* fue transformada con estos plásmidos recombinantes siguiendo las instrucciones del proveedor (Stratagene).

La síntesis del gen completo del polímero se realizó mediante la técnica recursiva/reiterativa (Won, JI et al., Macromolecules 35 (22): 8281-8287 (2002)) sobre los distintos monómeros génicos en sus correspondientes vectores de clonaje pDrive. Mediante esta técnica es posible preparar paso a paso oligómeros desde monómeros, controlando tanto el orden de adición como el número de bloques que se unen en cada etapa de su crecimiento, permitiendo confeccionar polímeros *ad hoc*. Para ello es necesario crear unas secuencias en las extremidades del segmento que codifica el monómero proteico que sean reconocidas por dos endonucleasas diferentes, y cuyos cortes produzcan extremidades complementarias pero no palindrómicas. Este gen monomérico es clonado en un plásmido que sirve de vector de amplificación génica y que proporciona tanto el siguiente vector de clonaje cuando se digiere con un único enzima; como el inserto de la clonación digiriendo con ambos enzimas (Figura 1).

Una vez sintetizado el gen completo, se subclonó en el vector de expresión pET-25b(+) (Novagen) modificado previamente para aceptar genes generados tras la digestión con la enzima de restricción *Ear*I. Este plásmido de expresión recombinante que contiene el gen sintético completo se transformó en la cepa de expresión BLR(DE3) de *E.coli* (Novagen), siguiendo el protocolo de transformación que usa el reactivo TSS (10% PEG 8000, 5% DMSO, 50 mM $MgCl_2$ en medio LB pH 6,5).

La producción del polímero se realizó tras seleccionar las colonias de la cepa BLR(DE3) de *Escherichia coli* transformadas con el plásmido que contenía el gen codificante para el polímero. La selección de las colonias se realizó tras inducir la expresión del polímero al añadir el agente químico IPTG al medio de cultivo. Después de tres horas de incubación a 37ºC y 250 rpm se analizaron por electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) la composición proteica de las diferentes colonias. Aquellas que mostraron una banda más intensa a la altura deseada se escogieron para ser usadas en la producción del polímero.

La colonia seleccionada se creció en medio LB con ampicilina durante toda la noche a 37ºC y 250 rpm en erlenmeyers. Se diluyó el cultivo 1:100 en LB con ampicilina y se creció hasta que la absorbancia a 600 nm fue de 0,6, momento en el cual se añadió el IPTG hasta 1mM. Tras 3 horas de incubación adicional en las mismas

condiciones se retiraron las bacterias y se mantuvieron a 4ºC hasta que se procesaron.

Se lavaron las bacterias cosechadas con tampón salino TBS (Tris-base 20 mM, NaCl 150 mM pH=8) resuspendiéndolas mediante agitación fuerte y/o pipeteo, y se centrifugaron a 5000xg durante 10 minutos a 4ºC. A continuación se decantó el sobrenadante, y se resuspendió el sedimento con 25 mL/L de cultivo con la solución TE (Tris-base 20mM, EDTA 1mM pH=8) mediante agitación fuerte y/o pipeteo. Se mantuvo a 4ºC y se le añadió 10 µg/mL del inhibidor de proteasa PMSF.

Las bacterias se lisaron sonicando con un aparato Sonicator 3000 de Misonix realizando 6 ciclos de 3,5 minutos con pulsos de 2 segundos cada 5 segundos a unos 100 W de potencia. Durante este proceso, la muestra se mantuvo en hielo para evitar la desnaturalización y precipitación por calor de las proteínas. Por último, se centrifugó a 15000xg durante 60 minutos a 4ºC: el sobrenadante constituye la fracción soluble total, y el sedimento, la fracción insoluble total. La fracción soluble total de las bacterias se acidificó hasta un pH=3,5 con ácido clorhídrico diluido en agua manteniendo la muestra en hielo y en agitación. A continuación, el material precipitado (fundamentalmente proteínas ácidas y ADN) se retiró por centrifugación a 15000xg durante 20 minutos a 4ºC.

La purificación del polímero se realizó aprovechando la naturaleza inteligente de los polímeros tipo elastina, y su transición inversa. En este caso la precipitación selectiva se realizó mediante el calentamiento de la muestra a 70ºC durante dos horas. A continuación se separó el precipitado centrifugando a 15000xg durante 20 minutos a 40ºC y se solubilizó el precipitado a 2 mL/L de agua tipo I a 4ºC en agitación durante 12 horas. Se repitió la operación dos veces más. Tras la última solubilización, el polímero disuelto se dializó frente a agua de tipo I a 4ºC, posteriormente se liofilizó y se conservó a -20ºC. Se analizó la masa molecular y la pureza del polímero proteico por SDS-PAGE observándose una banda intensa situada a la altura cercana al valor teórico de la masa molecular (80,7 kDa).

EJEMPLO 2

Obtención del polímero proteico

MESLLP{[(VPGIG)$_2$VPGKG(VPGIG)$_2$]$_2$**DDDEEKFLRRIGRFG**[(VPGIG)$_2$VPGKG(VPGIG)$_2$]$_2$}$_3$V [SEQ ID NO: 39]

El procedimiento de obtención del gen sintético [SEQ ID NO: 40], así como la producción y purificación de este polímero fue similar al descrito anteriormente para el EJEMPLO 1. El polímero proteico obtenido se analizó por SDS-PAGE

observándose una banda intensa situada a la altura cercana al valor teórico de la masa molecular (31,9 kDa).

EJEMPLO 3

Obtención del polímero proteico

MESLLP{[(VPGIG)$_2$VPGKG(VPGIG)$_2$]$_2$
AVTGRGDSPASS[(VPGIG)$_2$VPGKG(VPGIG)$_2$]$_2$}$_6$V [SEQ ID NO: 41]

El procedimiento de obtención del gen sintético [SEQ ID NO: 42], así como la producción y purificación de este polímero fue similar al descrito anteriormente para el EJEMPLO 1.

EJEMPLO 4

Funcionalización de superficies de titanio con polímeros proteicos

Se pulieron las superficies de titanio comercialmente puras (Ti) con papeles abrasivos de carburo de silicio (SiC) y pasta de diamante, y se limpiaron mediante ultrasonidos en agua destilada y ciclohexano (Ti limpio). Después, el metal se funcionalizó mediante la unión covalente de los polímeros proteicos de los ejemplos 1, 2 y 3 en un proceso realizado en tres etapas. Las propiedades físicas y químicas de la superficie se monitorizaron y caracterizaron en cada una de las etapas de la reacción utilizando medidas del ángulo de contacto, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), espectroscopia de infrarojos (IR) y técnicas de fluorescencia.

La superficie se limpió por plasma y se erosionó con solución piraña (H_2SO_4/H_2O_2) para obtener un alto grado de hidroxilación de los óxidos que cubren el metal de manera natural. Esto produce un aumento significativo de la capacidad de la superficie para mojarse. El ángulo de contacto con el agua de las superficies así tratadas (Ti erosionado) es significativamente inferior al de las superficies limpiadas mediante ultrasonidos (Ti limpio) como consecuencia del alto grado de hidroxilación de la superficie de titanio después del grabado con solución piraña.

La silanización se lleva a cabo por contacto con 3-cloropropiltrietoxisilano (CPTES) en un disolvente orgánico (pentano) en medio básico (DIEA-diisopropiletilamina) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante un período de tiempo de 3 horas de modo que el silano se une a la superficie.

Las muestras silanizadas (Ti-CPTES) se recubrieron con una mezcla 1:1:1 de los polímeros proteicos de los ejemplos 1, 2 y 3. El procedimiento utilizado consistió en sumergir las superficies en una solución de los polímeros proteicos de los ejemplos 1, 2 y 3 en disolvente orgánico (DMSO) en un medio básico (DIEA) a temperatura

ambiente durante toda la noche. Como resultado, los polímeros proteicos se unen covalentemente a la superficie de Ti-CPTES.

El análisis mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X de las superficies tratadas mostró un aumento significativo de N y C en dichas superficies lo que constituye una clara indicación de que éstas han quedado recubiertas por polímeros proteicos. Además se detectó una reducción significativa de Ti y O que indica que la capa de polímero proteico es lo suficientemente gruesa como para impedir la detección de la mayoría de la señal proveniente del TiO_2 en la superficie metálica. También se detectó una disminución del Cl y Si de la capa de silano después de la adherencia de los polímeros a las muestras.

Los resultados de la espectroscopia de infrarojos confirmaron estos hallazgos. Las superficies silanizadas y recubiertas con los polímeros mostraron picos de absorción para el silano y una serie de picos de absorción en el rango 1350-1650 cm^{-1} que también se detectan en los espectros de los polímeros aislados y que son atribuibles a una serie de amidas. Se obtuvieron también picos visibles en el rango 2800-3000 cm^{-1}, que corresponden a las partes alifáticas del polímero ($C-H_2$, $C-H_3$) y una amplia banda en el rango de 3200-3750 cm^{-1} que puede ser debida, en su mayor parte, a la presencia de partes orgánicas hidroxilizadas de los aminoácidos acídicos que el polímero contiene en su estructura. La microscopía de fluorescencia permitió la visualización de la distribución de los polímeros proteicos unidos a la superficie y la semicuantificación de la cantidad de polímero proteico unido. El marcador fluorescente utilizado fue 3-(4-carboxibenzoil)quinolina-2-carboxaldehido (CBQCA), que es una molécula no fluorescente que tras su reacción con los grupos amina en presencia de moléculas de cianuro produce fluorescencia verde.

EJEMPLO 5

Estabilidad mecánica y termoquímica de los recubrimientos biofuncionales de las superficies de titanio con polímeros proteicos

Se analizó la capacidad de los recubrimientos de soportar condiciones semejantes a las que se encuentran cuando se almacenan o se utilizan clínicamente, mediante la realización de pruebas de estabilidad mecánica y termoquímica.

Las pruebas de estabilidad mecánica se realizaron sometiendo a ultrasonicación diferentes muestras durante un período de tiempo que llegaba como máximo hasta 210 minutos y analizando la intensidad de la fluorescencia del marcador CBQCA a diferentes tiempos. Antes de realizar cada una de las medidas de fluorescencia, las

muestras se lavaron con agua con cuidado. Este experimento permitió demostrar que las muestras permanecían en la superficie durante todo el tiempo que duraba la prueba, lo que demuestra que la silanización con CPTES produce un enlace covalente estable de los polímeros a la superficie de titanio.

Los análisis de estabilidad termoquímica se realizaron por inmersión de las diferentes muestras en tampón fosfatos (PBS) a 37ºC hasta un máximo de 72 horas, y analizando la intensidad de fluorescencia del marcador CBQCA a diferentes tiempos. Se compararon las muestras silanizadas y recubiertas con polímeros con muestras no silanizadas en las que los polímeros se han fisisorbido sobre la superficie de titanio. Aunque ambas tienden a perder moléculas de polímero con el tiempo, aquellas silanizadas alcanzan un punto de estabilidad manteniendo un número significativo de moléculas sobre la superficie después de 3 días sometidas a condiciones experimentales; mientras que las moléculas fisisorbidas son eliminadas casi por completo de la superficie de titanio.

Reivindicaciones

1. Un polímero proteico o una mezcla de polímeros proteicos cuyos polímeros comprenden:

   i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [$(SEQ\ ID\ NO: 11)_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es isoleucina,

   ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es lisina, y

   iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:

   iiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico que comprenden la secuencia de aminoácidos DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16).

   iiib. dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular que comprenden la secuencia de aminoácidos RGD.

con la condición que el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos comprenden tanto el dominio (iiia) como el dominio (iiib).

2. Polímero proteico según la reivindicación 1 en el que los dominios (iiia) y (iiib) están presentes simultáneamente en dicho polímero proteico.

3. Mezcla de al menos dos tipos de polímeros proteicos según la reivindicación 1 en la que al menos uno de los polímeros proteicos (P1) comprende:

   i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [$(SEQ\ ID\ NO: 11)_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es isoleucina,

   ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^2G)$ (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es lisina, y

   iiia. uno o más dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico que comprenden la secuencia de aminoácidos DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16);

   y al menos otro de los polímeros proteicos (P2) comprende:

   i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos $(VPGX^1G)_n$ [$(SEQ\ ID\ NO: 11)_n$] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X^1 es isoleucina,

ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos (VPGX^{2}G) (SEQ ID NO: 12) en la que X^2 es lisina, y

iiib. uno o más dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular que comprenden la secuencia de aminoácidos RGD.

4. Mezcla según la reivindicación 3 en la que únicamente hay un polímero proteico (P1) y un polímero proteico (P2).

5. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en los que n es un entero entre 2 y 15.

6. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en los que el polímero proteico comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas entre los que comprenden la secuencia $[(VPGX^1G)_a\ VPGX^2G\ (VPGX^1G)_b]_c$ [(SEQ ID NO: 11)$_a$ (SEQ ID NO:12) (SEQ ID NO: 11)$_b$]$_c$ en la que a, b y c son enteros entre 1 y 30 estando el número total de aminoácidos de dicha secuencia comprendido entre 2 y 500.

7. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en los que el dominio (iiib) que promueve la adhesión celular comprende la secuencia de aminoácidos AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).

8. Polímero proteico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6 ó 7 de SEQ ID NO: 37 o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7 donde la secuencia de aminoácidos del polímero proteico (P1) es SEQ ID NO: 39 y la secuencia de aminoácidos del polímero proteico (P2) es SEQ ID NO: 41.

9. Mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1, 3, 5, 6 y 7 donde las secuencias de aminoácidos de dichos polímeros proteicos son SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 41.

10. Un procedimiento para la bioactivación de materiales para implantes óseos seleccionados entre el grupo que comprende metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos, que comprende las etapas de:

a) fijar moléculas de anclaje sobre la superficie activada químicamente del material de implante, presentando dichas moléculas de anclaje grupos funcionales que pueden unirse mediante enlace covalente con polímeros proteicos

b) inmovilizar el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos según las reivindicaciones 1 a 7 mediante dichos grupos funcionales sobre el material de implante.

11. Procedimiento según la reivindicación 10 en el que el material para implante óseo se selecciona entre titanio y sus aleaciones metálicas, aleaciones basadas en Co-Cr o aceros inoxidables.

12. Procedimiento según la reivindicación 11 en el que el material para implante óseo es titanio.

13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12 caracterizado por que las moléculas de anclaje que se fijan sobre la superficie del material de implante son silanos funcionalizados.

14. Procedimiento según la reivindicación 13 caracterizado por que los silanos son trialcoxisilanos funcionalizados.

15. Procedimiento según la reivindicación 14 caracterizado por que el silano es 3-cloropropiltrietoxisilano.

16. Procedimiento según la reivindicación 15 caracterizado por que la mezcla de polímeros proteicos está formada por los polímeros proteicos de SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 41.

17. Implantes óseos obtenibles mediante el procedimiento de las reivindicaciones 10 a 16.

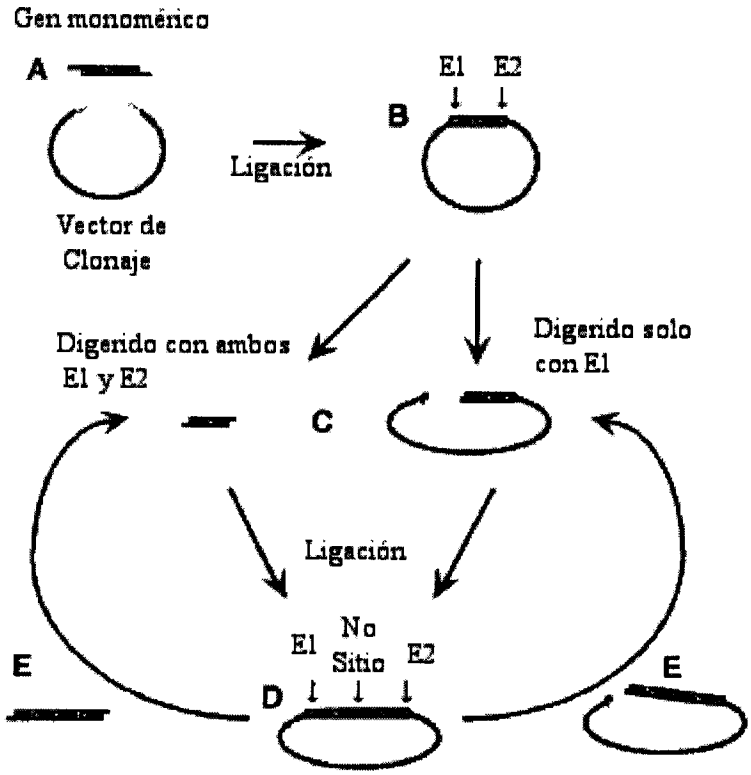
Gen monomérico
A
Vector de Clonaje
Ligación
B
E1
E2
Digerido con ambos E1 y E2
Digerido solo con E1
C
Ligación
E1
No Sitio
E2
D
E
E

FIGURA 1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Universitat Politècnica de Catalunya
Universidad de Valladolid

<120> Nuevos polímeros proteicos recombinantes y método de bioactivación de superficies con dichos polímeros

<130> P4075ES00

<160> 42

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia presente en péptidos pequeños que promueven la adhesión celular

<400> 1

Tyr Ile Gly Ser Arg
1 5

<210> 2
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia del dominio C5 de la fibronectina

<400> 2

Arg Glu Asp Val
1

<210> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptidos que mejoran la adhesión a las superficies funcionalizadas con los silanos

<400> 3

Arg Gly Asp Ser
1

<210> 4
<211> 4

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de peptidomiméticos de la matriz extracelular

<400> 4

Arg Gly Glu Ser
1

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de peptidomiméticos de la matriz extracelular

<400> 5

Asp Gly Glu Ala
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de peptidomiméticos de la matriz extracelular

<400> 6

Glu Gly Glu Ala
1

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia tipo elastina

<400> 7

Val Pro Gly Ile Gly
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Pentapéptido contenido en copolímeros en bloque basados en elastina para el recubrimiento de implantes

<400> 8

Val Gly Val Pro Gly
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica que promueve la proliferación y/o migración de células endoteliales

<400> 9

Ser Ile Lys Val Ala Val
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia peptídica que promueve la proliferación y/o migración de células endoteliales

<400> 10

Tyr Ile Gly Ser Arg Gly
1 5

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos que confiere a un polímero proteico características mecánicas similares a las de la matriz extracelular

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /note = "Xaa es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina"

<400> 11

Val Pro Gly Xaa Gly
1 5

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos del dominio comprendido dentro de un polímero proteico que permite obtener el ligado covalente del polímero proteico a la superficie del implante

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /replace = "Arg"

/replace = "Lys"

/replace = "Tyr"

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /replace = "Orn"

/replace = "Ser"

/replace = "Thr"

<400> 12

Val Pro Gly Xaa Gly
1 5

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Dominio N15 de la estaterina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(3)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 13

Asp Ser Ser Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly
1 5 10 15

<210> 14
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Dominio de unión de la osteopontina a las integrinas

<400> 14

Gly Arg Gly Asp Ser
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia que forma el péptido N15-PDGEA que induce la activación de la vía MAPK

<400> 15

Pro Asp Gly Glu Ala
1 5

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Dominio peptídico SNa15 de la estaterina

<400> 16

Asp Asp Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly
1 5 10 15

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la fosvitina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(6)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 17

Ser Ser Ser Ser Ser Ser
1 5

<210> 18

<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la fosfoforina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(3)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(6)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 18

Asp Ser Ser Asp Ser Ser
1 5

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la fosfoproteína de la matriz de la dentina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(3)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 19

Ser Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la proteína de unión de la riboflavina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(5)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 20

Ser Met Ser Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la osteopontina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(2)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(5)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 21

Ser Ser Gly Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la alfaS1Caseína

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(5)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 22

Ser Ile Ser Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la beta-caseína

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(5)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 23

Ser Leu Ser Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 24
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la proteína Matriz-Gla

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(3)
<223> PHOSPHORYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 24

Asp Ser Ser Glu Ser
1 5

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la estaterina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(3)
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 25

Asp Ser Ser Glu Glu
1 5

<210> 26
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Motivo basado en la fosfoforina humana

<400> 26

Asp Ser Lys Ser Asp Ser Ser Lys Ser Glu Ser Asp Ser Ser
1 5 10

<210> 27
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Oligopéptido que muestra una absorción preferencial por la apatita

<400> 27

Ala Pro Trp His Leu Ser Ser Gln Tyr Ser Arg Thr
1 5 10

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Oligopéptido que muestra una absorción preferencial por la apatita

<400> 28

Ser Thr Leu Pro Ile Pro His Glu Phe Ser Arg Glu
1 5 10

<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Oligopéptido que muestra una absorción preferencial por la apatita

<400> 29

Val Thr Lys His Leu Asn Gln Ile Ser Gln Ser Tyr
1 5 10

<210> 30
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia presente en el anillo RGD de la fibronectina humana

<400> 30

Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
1 5 10

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia selectiva para la integrina alfa-5 beta-1

<400> 31

Pro His Ser Arg Asn
1 5

<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia que se dirige específicamente al receptor de integrina alfa-2 beta-1

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> /replace = "4Hyp"

<400> 32

Gly Phe Xaa Gly Glu Arg
1 5

<210> 33

<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia reconocida por el receptor de proteoglicano denominado como dominio de unión a la heparina

<400> 33

Lys Arg Ser Arg
1

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia reconocida por el receptor de proteoglicano denominado como dominio de unión a la heparina

<400> 34

Phe His Arg Arg Ile Lys Ala
1 5

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia específica de adhesión celular para osteoblastos, tipo dominio P-15 del colágeno

<400> 35

Gly Thr Pro Gly Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Gly Val Val
1 5 10 15

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Motivo que promueve de modo efectivo la adhesión al receptor de proteoglicano

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /note = "Xaa es un aminoácido no básico"

<220>

<221> VARIANT
<222> (2)..(4)
<223> /note = "Xaa es un aminoácido básico"

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /note = "Xaa es un aminoácido no básico"

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(7)
<223> /note = "Xaa es un aminoácido básico"

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /note = "Xaa es un aminoácido no básico"

<400> 36

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 37
<211> 915
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polímero proteico

<400> 37

Met Glu Ser Leu Leu Pro Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
1 5 10 15

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
20 25 30

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
35 40 45

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp Asp Glu Glu Lys Phe Leu
50 55 60

Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile
65 70 75 80

Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
85 90 95

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val

100 105 110

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
115 120 125

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
130 135 140

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys
145 150 155 160

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp Asp Glu Glu
165 170 175

Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
180 185 190

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
195 200 205

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
210 215 220

Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile
225 230 235 240

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly
245 250 255

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
260 265 270

Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp
275 280 285

Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly
290 295 300

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
305 310 315 320

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
325 330 335

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val

340 345 350

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
355 360 365

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
370 375 380

Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile
385 390 395 400

Gly Asp Asp Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly
405 410 415

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
420 425 430

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
435 440 445

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
450 455 460

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys
465 470 475 480

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
485 490 495

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
500 505 510

Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
515 520 525

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
530 535 540

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
545 550 555 560

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
565 570 575

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys

580 585 590

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
595 600 605

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
610 615 620

Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
625 630 635 640

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
645 650 655

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
660 665 670

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
675 680 685

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys
690 695 700

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
705 710 715 720

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
725 730 735

Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
740 745 750

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
755 760 765

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
770 775 780

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
785 790 795 800

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys
805 810 815

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly

820 825 830

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
835 840 845

Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
850 855 860

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
865 870 875 880

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
885 890 895

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
900 905 910

Ile Gly Val
915

<210> 38
<211> 2748
<212> DNA
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Gen sintético

<400> 38
atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 60

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 120

ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtga tgacgatgag 180

gaaaagttcc tgcgtcgcat cggccgtttt ggggtcccgg gcatcggtgt tccgggcatt 240

ggtgtgcctg gcaaaggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccaggcatt 300

ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaaa ggtgtgccag gcatcggtgt tccgggcatt 360

ggtgtaccgg gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcaaaggtgt tccgggcatt 420

ggtgtgccgg gcatcggtgt gccaggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaag 480

ggtgtgccgg gcattggtgt gccaggcatc ggtgatgacg atgaggaaaa gttcctgcgt 540

cgcatcggcc gttttggggt cccgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gcctggcaaa 600

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccag gcattggtgt gccgggcatc 660

ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc ggtgttccgg gcattggtgt accgggcatc 720

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc 780

ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt 840

ggtgtgccag gcatcggtga tgacgatgag gaaaagttcc tgcgtcgcat cggccgtttt 900

ggggtcccgg gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtgcctg gcaaaggtgt tccgggcatt 960

ggtgtgccgg gcatcggtgt tccaggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaaa 1020

ggtgtgccag gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtaccgg gcatcggtgt tccgggcatt 1080

ggtgtgccgg gcaaaggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt gccaggcatt 1140

ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaag ggtgtgccgg gcattggtgt gccaggcatc 1200

ggtgatgacg atgaggaaaa gttcctgcgt cgcatcggcc gttttggggt cccgggcatc 1260

ggtgttccgg gcattggtgt gcctggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc 1320

ggtgttccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc 1380

ggtgttccgg gcattggtgt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 1440

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 1500

ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtgc agtaaccggt 1560

cgtggggatt ctcctgcgtc cagcgtcccg ggcatcggtg ttccgggcat tggtgtgccg 1620

ggcaaaggtg ttccgggcat tggtgtgccg ggcatcggtg tgccaggcat tggtgtgccg 1680

ggcatcggtg ttccgggcaa aggtgtgcca ggcatcggtg tgccgggcat tggtgtaccg 1740

ggcatcggtg ttccgggcat tggtgtgccg ggcaaaggtg ttccgggcat tggtgtgccg 1800

ggcatcggtg tgccaggcat tggtgtgccg ggcatcggtg ttccgggcaa gggtgtgccg 1860

ggcattggtg tgccaggcat cggtgcagta accggtcgtg gggattctcc tgcgtccagc 1920

gtcccgggca tcggtgttcc gggcattggt gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt 1980

gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt gtgccgggca tcggtgttcc gggcaaaggt 2040

gtgccaggca tcggtgtgcc gggcattggt gtaccgggca tcggtgttcc gggcattggt 2100

gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt 2160

gtgccgggca tcggtgttcc gggcaagggt gtgccgggca ttggtgtgcc aggcatcggt 2220

gcagtaaccg gtcgtgggga ttctcctgcg tccagcgtcc cgggcatcgg tgttccgggc 2280

attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc 2340

attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc aaaggtgtgc caggcatcgg tgtgccgggc 2400

attggtgtac cgggcatcgg tgttccgggc attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc 2460

attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc 2520

aagggtgtgc cgggcattgg tgtgccaggc atcggtgcag taaccggtcg tggggattct 2580

cctgcgtcca gcgtcccggg catcggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtgtt 2640

ccgggcattg gtgtgccggg catcggtgtg ccaggcattg gtgtgccggg catcggtgtt 2700

ccgggcaaag gtgtgccagg catcggtgtg ccgggcattg gtgtatga 2748

<210> 39
<211> 352
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polímero proteico

<400> 39

Met Glu Ser Leu Leu Pro Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
1 5 10 15

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
20 25 30

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
35 40 45

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp Asp Glu Glu Lys Phe Leu
50 55 60

Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile
65 70 75 80

Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
85 90 95

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val
100 105 110

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
115 120 125

Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
130 135 140

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys
145 150 155 160

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp Asp Glu Glu

165 170 175

Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
180 185 190

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
195 200 205

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
210 215 220

Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile
225 230 235 240

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly
245 250 255

Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
260 265 270

Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp
275 280 285

Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly
290 295 300

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
305 310 315 320

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
325 330 335

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
340 345 350

<210> 40
<211> 1059
<212> DNA
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Gen sintético

<400> 40
atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 60

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 120

ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtga tgacgatgag 180

gaaaagttcc tgcgtcgcat cggccgtttt ggggtcccgg gcatcggtgt tccgggcatt 240

ggtgtgcctg gcaaaggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccaggcatt 300

ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaaa ggtgtgccag gcatcggtgt tccgggcatt 360

ggtgtaccgg gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcaaaggtgt tccgggcatt 420

ggtgtgccgg gcatcggtgt gccaggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaag 480

ggtgtgccgg gcattggtgt gccaggcatc ggtgatgacg atgaggaaaa gttcctgcgt 540

cgcatcggcc gttttggggt cccgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gcctggcaaa 600

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccag gcattggtgt gccgggcatc 660

ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc ggtgttccgg gcattggtgt accgggcatc 720

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc 780

ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt 840

ggtgtgccag gcatcggtga tgacgatgag gaaaagttcc tgcgtcgcat cggccgtttt 900

ggggtcccgg gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtgcctg gcaaaggtgt tccgggcatt 960

ggtgtgccgg gcatcggtgt tccaggcatt ggtgtgccgg gcatcggtgt tccgggcaaa 1020

ggtgtgccag gcatcggtgt tccgggcatt ggtgtatga 1059

<210> 41
<211> 679
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Polímero proteico

<400> 41

Met Glu Ser Leu Leu Pro Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
1 5 10 15

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
20 25 30

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
35 40 45

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
50 55 60

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro

65 70 75 80

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
85 90 95

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
100 105 110

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
115 120 125

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
130 135 140

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
145 150 155 160

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
165 170 175

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
180 185 190

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
195 200 205

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
210 215 220

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
225 230 235 240

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
245 250 255

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
260 265 270

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
275 280 285

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
290 295 300

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly

305 310 315 320

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
325 330 335

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
340 345 350

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
355 360 365

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
370 375 380

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
385 390 395 400

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
405 410 415

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
420 425 430

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
435 440 445

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
450 455 460

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
465 470 475 480

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
485 490 495

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
500 505 510

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
515 520 525

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
530 535 540

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile

545 550 555 560

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly
565 570 575

Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
580 585 590

Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro
595 600 605

Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser
610 615 620

Pro Ala Ser Ser Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro
625 630 635 640

Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly
645 650 655

Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile
660 665 670

Gly Val Pro Gly Ile Gly Val
675

<210> 42
<211> 2040
<212> DNA
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Gen sintético

<400> 42
atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 60

gtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 120

gtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtgc agtaaccggt 180

gtggggatt ctcctgcgtc cagcgtcccg ggcatcggtg ttccgggcat tggtgtgccg 240

gcaaaggtg ttccgggcat tggtgtgccg ggcatcggtg tgccaggcat tggtgtgccg 300

gcatcggtg ttccgggcaa aggtgtgcca ggcatcggtg tgccgggcat tggtgtaccg 360

gcatcggtg ttccgggcat tggtgtgccg ggcaaaggtg ttccgggcat tggtgtgccg 420

gcatcggtg tgccaggcat tggtgtgccg ggcatcggtg ttccgggcaa gggtgtgccg 480

ggcattggtg tgccaggcat cggtgcagta accggtcgtg gggattctcc tgcgtccagc 540

gtcccgggca tcggtgttcc gggcattggt gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt 600

gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt gtgccgggca tcggtgttcc gggcaaaggt 660

gtgccaggca tcggtgtgcc gggcattggt gtaccgggca tcggtgttcc gggcattggt 720

gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt 780

gtgccgggca tcggtgttcc gggcaagggt gtgccgggca ttggtgtgcc aggcatcggt 840

gcagtaaccg gtcgtgggga ttctcctgcg tccagcgtcc cgggcatcgg tgttccgggc 900

attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc 960

attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc aaaggtgtgc caggcatcgg tgtgccgggc 1020

attggtgtac cgggcatcgg tgttccgggc attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc 1080

attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc 1140

aagggtgtgc cgggcattgg tgtgccaggc atcggtgcag taaccggtcg tggggattct 1200

cctgcgtcca gcgtcccggg catcggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtgtt 1260

ccgggcattg gtgtgccggg catcggtgtg ccaggcattg gtgtgccggg catcggtgtt 1320

ccgggcaaag gtgtgccagg catcggtgtg ccgggcattg gtgtaccggg catcggtgtt 1380

ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg catcggtgtg 1440

ccaggcattg gtgtgccggg catcggtgtt ccgggcaagg gtgtgccggg cattggtgtg 1500

ccaggcatcg gtgcagtaac cggtcgtggg gattctcctg cgtccagcgt cccgggcatc 1560

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc 1620

ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc 1680

ggtgtgccgg gcattggtgt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 1740

ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 1800

ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtgc agtaaccggt 1860

cgtggggatt ctcctgcgtc cagcgtcccg ggcatcggtg ttccgggcat tggtgtgccg 1920

ggcaaaggtg ttccgggcat tggtgtgccg ggcatcggtg tgccaggcat tggtgtgccg 1980

ggcatcggtg ttccgggcaa aggtgtgcca ggcatcggtg tgccgggcat tggtgtatga 2040

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 200901903

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 24.09.2009

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	BARBOSA, J.S. et al. "Multi-layered films containing a biomimetic stimuli-responsive recombinant protein". NANOSCALE RES. LETT. 01.10.2009. Vol. 4, N°. 10, páginas 1247 - 1253; [en línea] publicado el 16.07.2009 [recuperado el 26.11.2010] recuperado de internet < URL: http://www.springerlink.com/content/80j1153284224r80/ fulltext.pdf> <DOI: 10.1007/s11671-009-9388-5>; materiales y métodos.	1, 3-6, 8, 9
Y		10-17
X	MARTIN, L. et al. "3D microstructuring of smart bioactive hydrogels based on recombinant elastin-like polymers". SOFT MATTER. 10.03.2009. Vol. 5, N°. 8, páginas 1591 - 1593; todo el documento, especialmente figura 1.	1, 3-9
Y		10-17
X	RODRIGEZ-CABELLO, J.C. et al. "Nanobitechnological approach to engineered biomaterial design: the example of elastin-like polymers". FUTURE MEDICINE. NANOMEDICINE. 01.10.2006. Vol. 1, N°. 3, páginas 267 - 280; todo el documento.	1, 3-9
Y		10-17

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
24.08.2012	M. Novoa Sanjurjo	1/6

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 200901903

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 24.09.2009

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	GILBERT, M. et al. "Biomimetic peptides that engage specific integrin-dependent signaling pathways and bind to calcium phosphate surfaces". JOURNAL OFBIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH. Part A . 01.10.2003. Vol. 67, N°. 1, páginas 69 - 77; discusión.	1-9
Y	WO 03068289 A1 (RYPÁCEK. F. ET AL.) 21.08.2003, párrafo [0095].	10-17

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
24.08.2012	M. Novoa Sanjurjo	2/6

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61L27/22 (2006.01)
C07K14/78 (2006.01)
A61K38/39 (2006.01)
C08L89/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61L, C07K, A61K, C08L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.08.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	2, 10-17	**SI**
	Reivindicaciones	1, 3-9	**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones		**SI**
	Reivindicaciones	1-17	**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

Consideraciones:
La invención consiste en un polímero o una mezcla de polímeros que contienen: a) los dominios derivados de elastina VPGIG y VPGKG, b) el dominio de adhesión a fosfato DDDEEKFLRRIGRFG y c) el dominio de sdhesión celular RGD. Los polímeros de la invención, se utilizan para recubrir implantes óseos.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	BARBOSA, J.S. et al. "Multi-layered films containing a biomimetic stimuli-responsive recombinant protein". NANOSCALE RES. LETT. 01.10.2009. Vol. 4, N°. 10, páginas 1247 - 1253; [en línea] publicado el 16.07.2009 [recuperado el 26.11.2010] recuperado de internet < URL: http://www.springerlink.com/content/80j1153284224r80/fulltext.pdf> <DOI: 10.1007/s11671-009-9388-5>.	
D02	MARTIN, L. et al. "3D microstructuring of smart bioactive hydrogels based on recombinant elastin-like polymers". SOFT MATTER. 10.03.2009. Vol. 5, N°. 8, páginas 1591 – 1593.	
D03	RODRIGEZ-CABELLO, J.C. et al. "Nanobitechnological approach to engineered biomaterial design: the example of elastin-like polymers". FUTURE MEDICINE. NANOMEDICINE. 01.10.2006. Vol. 1, N°. 3, páginas 267 - 280.	
D04	GILBERT, M. et al. "Biomimetic peptides that engage specific integrin-dependent signaling pathways and bind to calcium phosphate surfaces". JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH. Part A . 01.10.2003. Vol.67, N°. 1, páginas 69 - 77.	
D05	WO 03068289 A1 (RYPÁCEK. F. et al.)	21.08.2003

El documento D01, describe la obtención del polímero de SEQ ID nº 39, obtenido en el ejemplo 2 de la presente solicitud.
Los documentos D02 y D03, describen el polímero de SEQ ID nº 41, obtenido en el ejemplo 3 de la solicitud.
El documento D04, describe la obtención de péptidos híbridos que contienen simultáneamente un dominio de adhesión a minerales que contienen fosfato cálcico, concretamente el fragmento N15 de estaterina y un fragmento de adhesión celular que contiene la secuencia RGD de osteopontina o PDGEA de colágeno tipo I.
El documento D05, describe el recubrimiento de materiales metálicos que se utilizan como implantes, con capas de polímeros. Para activar la superficie metálica se utilizan silanos y entre ellos el 3-cloropropiltrietoxisilano.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

NOVEDAD

Reivindicaciones 1-9

Los polímeros de la invención obtenidos en los ejemplos 2 y 3 son conocidos en el estado de la técnica y han sido descritos en los documentos D01- D03. El que en las reivindicaciones se presenten como una simple mezcla, no supone una novedad sobre lo previamente conocido. Las reivindicaciones 1, 3-9 en la medida en que afectan a dichos polímeros, no son nuevas e incumplen por tanto los requisitos del Art. 6 de la Ley de Patentes 11/1986.
No se ha encontrado en el estado de la técnica el polímero obtenido en el ejemplo 1, de SEQ ID nº 37, que incluye, además de los bloques derivados de elastina, simultáneamente la SEQ ID nº 16, dominio de adhesión a minerales que contienen fosfato cálcico y la SEQ ID nº 30 que promueve la adhesión celular; por tanto, la reivindicación 2 (en la medida en que afecta al polímero obtenido en el ejemplo 1), es nueva y cumple los requisitos del Art. 6 de la Ley de Patentes 11/1986.

Reivindicaciones 10-17

No se ha encontrado descrito en el estado de la técnica, el procedimiento de bioactivación de materiales descrito en las reivindicaciones 10-16 utilizando los polímeros de la invención y silanos como moléculas de anclaje a dichos materiales. Se considera, que dicho procedimiento y los implantes obtenidos por el mismo de la reivindicación 17, cumplen los requisitos de novedad del Art. 6 de la Ley de Patentes 11/1986.

ACTIVIDAD INVENTIVA

Reivindicaciones 1-9

El polímero proteico/mezcla de polímeros de las reivindicaciones 1-9, presenta como característica principal la presencia simultánea de un dominio de adhesión a fosfato cálcico y un dominio de adhesión celular, además de los bloques derivados de elastina.

Los documentos D01-D03 describen los componentes de la mezcla de polímeros de la invención que se caracterizan por incluir en sus secuencias, además de los bloques derivados de elastina, una secuencia de adhesión a fosfato en el caso del documento D01 y una secuencia de adhesión celular en los documentos D02, D03. El documento D04, describe péptidos híbridos que contienen simultáneamente un dominio de adhesión a fosfato cálcico y un dominio de adhesión celular (las dos características principales de los polímeros de la invención) útiles para obtener biomateriales. Del contenido de estos documentos resultaría obvio para el experto en la materia, la obtención de un polímero que contenga simultáneamente el dominio de adhesión a fosfato cálcico del documento D01y el dominio de adhesión celular de los documentos D02, D03, además de los bloques derivados de elastina; por tanto, las reivindicaciones 1-9 carecen de actividad inventiva y no cumplen los requisitos del Art. 8 de la Ley de Patentes 11/1986.

Reivindicaciones 10-17

Los procedimientos de bioactivación de materiales que se utilizan como implantes, son conocidos en el estado de la técnica. El documento D05, describe el recubrimiento de materiales metálicos que se utilizan como implantes, con capas de polímeros. Para activar la superficie metálica se utilizan silanos y entre ellos el 3-cloropropiltrietoxisilano que es el mismo silano utilizado en el procedimiento de la invención. Resultaría obvio para un experto en la materia, aplicar este procedimiento con los polímeros de la invención a un material, para obtener el implante de la reivindicación 17. por tanto, las reivindicaciones 10-17 no cumplen los requisitos de actividad inventiva del Art. 8 de la Ley de Patentes 11/1986.