

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 763 349**

21 Número de solicitud: 201831154

51 Int. Cl.:

**C07K 14/435** (2006.01)

**C12N 15/12** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

**28.11.2018**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**28.05.2020**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

**27.08.2020**

Fecha de concesión:

**20.12.2021**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**28.12.2021**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (60.0%)  
C/ Serrano, 117  
28006 Madrid (Madrid) ES y  
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ (40.0%)**

72 Inventor/es:

**FIGUERAS HUERTA, Antonio;  
GASSET VEGA, María;  
NOVOA GARCÍA, Beatriz;  
REY CAMPOS, Magalí;  
MALLAVÍA MARÍN, Ricardo;  
MEDINA GALI, Regla María y  
MARTINEZ LOPEZ, Alicia**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

Observaciones:

La lista de secuencias está accesible al público en la página web de la OEPM para su descarga en formato electrónico.

54 Título: **Péptido de miticina y su uso en regeneración celular**

57 Resumen:

Péptido de miticina y su uso en regeneración celular.  
La presente invención se refiere a unos péptidos derivados de la micitina C y sus usos terapéuticos, más concretamente en la regeneración celular y/o tisular.

**ES 2 763 349 B2**

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.  
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

## DESCRIPCIÓN

### Péptido de miticina y su uso en regeneración celular

- 5 La presente invención se refiere a unos péptidos que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2 y sus usos terapéuticos, concretamente en la regeneración celular y/o tisular.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- 10 Los péptidos antimicrobianos (AMP) son efectores inmunes innatos y tienen una amplia gama de acciones contra muchos microorganismos. En invertebrados marinos, que viven en ambientes con una abundancia de microorganismos potencialmente patógenos, los AMP son los elementos principales de la respuesta inmune. Por ejemplo, en Mejillones mediterráneos (*Mytilus galloprovincialis*), se han descrito varios  
15 tipos de AMP, entre ellos la miticina C.

La miticina C (Myt-C) es un péptido antimicrobiano rico en cisteínas aislado de hemocitos del mejillón *Mytilus galloprovincialis* cuya actividad antibacteriana y quimiotáctica ha sido probada *in vitro* (Martinez-Lopez *et al.*, Mar Drugs. 11(7): 2328-  
20 46 (2013)). También se ha demostrado su efecto antiviral no solo frente a virus de moluscos, como es el caso del herpesvirus de la ostra OsHV-1, sino también frente a herpes simplex de humanos (HSV-1 y HSV-2) (Novoa B., *et al.*, J Virol. 90(17):7692-702 (2016)) y frente a rhabdovirus patógenos de peces (Balseiro P. *et al.*, PLoS One. 6(8):e23140 (2011)).

25 Durante la vida de cualquier ser animal, se producen inevitablemente heridas, y pueden ser consecuencia de una amplia diversidad de sucesos, tales como el contacto con objetos afilados o calientes, o aparecer en ciertos trastornos clínicos, tales como la diabetes. Otro ejemplo clínico importante es el desarrollo de úlceras de decúbito, es  
30 decir, lesiones provocadas por una presión no mitigada sobre cualquier parte del cuerpo, en especial de porciones sobre áreas óseas o cartilaginosas. Aunque son completamente tratables si se descubren en una fase temprana, las úlceras de decúbito, sin atención médica, como cualquier otra herida, pueden llegar a ser mortales. En el caso de un estado de salud general reducida, el cierre (cicatrización)  
35 de las heridas puede retrasarse, y puede provocar otros problemas, tales como

infecciones, inflamación, necrosis de tejidos, y el cierre ineficaz de una herida vuelve a ser, de nuevo, potencialmente mortal.

5 Las heridas se producen generalmente en la piel. La piel es un órgano vital que cumple múltiples funciones, tales como funciones sensitivas, funciones protectoras frente a agresiones externas, así como funciones inmunológicas, metabólicas o termorreguladoras. Estos papeles son posibles debido a la compleja estructura que asocia diversos tejidos. La piel consiste en tres capas diferenciadas superpuestas: la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es un epitelio de revestimiento, que  
10 constituye la estructura externa de la piel y proporciona su función de protección. Esta función es proporcionada por la cohesión de las células epiteliales y por la producción de una proteína filamentosa y resistente, la queratina.

En general, la cicatrización de heridas se describe como consistente en tres fases,  
15 concretamente, la fase inflamatoria, la fase proliferativa, y la fase de maduración (denominadas fase inflamatoria aguda, síntesis de matriz extracelular y de colágeno, y remodelación). La secuencia del proceso de cicatrización se inicia durante una fase inflamatoria aguda con el depósito de tejido provisional. A esto le sigue una reepitalización, la síntesis y depósito de colágeno, la proliferación de fibroblastos, y  
20 una neovascularización, todo lo cual define en última instancia la fase de remodelación.

La fase inflamatoria se caracteriza por una hemostasis e inflamación. El colágeno expuesto durante la formación de la herida activa la cascada de la coagulación (tanto  
25 la vía intrínseca como la extrínseca), iniciando la fase inflamatoria. Las plaquetas, la primera célula de respuesta, liberan múltiples quimioquinas que ayudan a estabilizar a la herida mediante la formación del coágulo. Estos mediadores actúan para controlar el sangrado y limitar el alcance de la lesión. La segunda célula de respuesta que migra hacia la herida, los neutrófilos, son responsables de la captación de residuos, la  
30 opsonización mediada por el complemento de bacterias, y la destrucción de bacterias mediante mecanismos de estallido oxidativo (es decir, formación de superóxido y peróxido de hidrógeno). Los macrófagos son fundamentales para la cicatrización de las heridas. Numerosas enzimas y citoquinas son segregadas por los macrófagos, lo cual marca la transición al proceso de reconstrucción del tejido, es decir, la fase  
35 proliferativa.

Durante la fase proliferativa, la epitelización, la angiogénesis, la formación de tejido de granulación y el depósito de colágeno son las etapas principales en la cicatrización de heridas. La epitelización aparece en una fase temprana de la reparación de heridas. La angiogénesis, estimulada, por ejemplo, por TNF-alfa, se advierte por la migración  
5 de células endoteliales y la formación de capilares. Los nuevos capilares transportan nutrientes hacia la herida y ayudan a mantener el lecho del tejido de granulación. La parte final de la fase proliferativa es la formación de tejido granulación. Los fibroblastos se diferencian y producen sustancia basal y después colágeno. La sustancia basal se deposita en el lecho de la herida; después, el colágeno se deposita a medida que la  
10 herida se somete a la fase final de reparación. Muchas citoquinas diferentes, que incluyen PDGF, el factor del crecimiento de tipo insulínico (IGF) y EGF, están implicadas en la fase proliferativa de la reparación de heridas. Durante la fase de maduración, la herida sufre una contracción que da como resultado, en último término, que se aprecie una cantidad menor de tejido cicatricial.

15 A partir de lo anterior, resulta obvio que la cicatrización adecuada de una herida implica una interacción compleja de células y sustancias, tales como citoquinas, que actúan en concierto. Basándose en la investigación básica, se han propuesto muchos fármacos, sustancias y procedimientos de tratamiento para estimular la cicatrización  
20 de heridas.

Muchas de estas sustancias proporcionan al paciente alivio parcial de heridas, necesitan largo tiempo de curación y no consiguen mostrar la respuesta óptima al tratamiento. Por ejemplo, la patente EP0575484 divulga una composición farmacéutica  
25 para la regeneración y la reparación de tejidos de mamífero, que incluye PDGF y dexametasona.

Por tanto, se hace necesario proporcionar nuevas sustancias y composiciones con un alto poder en la regeneración celular, dando lugar a una cicatrización y reparando el  
30 daño tisular de manera efectiva.

## **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN**

Los inventores de la presente invención han observado que la miticina-C  
35 (QSVACRSYYCSKFCGSAGCSLYGCYLLHPGKICYCLHCSR, SEQ ID NO: 1) se

expresa en respuesta a heridas o daños en los tejidos, potenciando así la regeneración celular y la reparación del tejido tras el daño. El papel de la miticina-C en la regeneración celular se demostró mediante un ensayo *in vitro* utilizando células de queratinocitos humanos (línea HaCat), y mediante un ensayo *in vivo* empleando larvas de pez cebra (*Danio rerio*). En ambos casos se vió que la herida cicatrizaba más rápido en presencia de miticina-C que, en su ausencia, promoviendo así la cicatrización y reparando el daño tisular (ver Ejemplo 1, Figuras 1 y 2).

A continuación, los inventores diseñaron una librería de péptidos pequeños cortos solapantes a partir de la secuencia de aminoácidos de la miticina-C (ver Tabla 1), con la finalidad de identificar aquella secuencia mínima necesaria para que la miticina-C pueda ejercer su papel en la regeneración celular y/o tisular. Así, mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*, los inventores observaron que algunos péptidos denominados P1 a P4 eran capaces de reparar la herida o daño generado. Estos péptidos presentan la secuencia consenso SYYCSK (SEQ ID NO: 2), siendo ésta por tanto la secuencia de aminoácidos responsable de llevar a cabo las mejores tasas de regeneración a las 48 horas. Particularmente si se añaden los aminoácidos F y C en el extremo carboxilo terminal, presentan una mejora en la cicatrización total de la herida a las 72 h, SYYCSKFC (SEQ ID NO: 3), como se puede ver en la Figura 3 con los péptidos denominados P2b, P3 y P4.

Así, en un aspecto, la presente invención se refiere a un péptido que comprende al menos un 80% de identidad con la secuencia SYYCSK (SEQ ID NO: 2), que presenta preferiblemente un tamaño de entre 6 a 99 aminoácidos, y que no es la miticina-C con secuencia SEQ ID NO: 1, preferiblemente el péptido comprende al menos un 80% de identidad con la secuencia SYYCSKFC (SEQ ID NO: 3), que presenta preferiblemente un tamaño de entre 6 a 99 aminoácidos, y que no es la miticina-C con secuencia SEQ ID NO: 1. De aquí en adelante, este péptido será denominado "péptido de la invención".

El término "péptido", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula formada por la unión, en un orden definido, de alfa-aminoácidos mediante un enlace peptídico. Se entenderá que los términos "enlace peptídico", "péptido", "polipéptido" y proteína son conocidos por los expertos en la materia. De aquí en adelante, "péptido" y "polipéptido" se utilizarán indistintamente.

El péptido de la invención puede obtenerse por técnicas ampliamente conocidas en el estado de la técnica, tales como síntesis química, recombinación genética, expresión del polinucleótido que codifica el polipéptido de la invención, etc. Todas estas técnicas son práctica de rutina para el experto en la materia.

5

Adicionalmente, los extremos carboxilo y amino terminal del péptido de la invención pueden estar protegidos contra la proteólisis. Por ejemplo, el extremo amino terminal puede estar en forma de grupo acetilo (Ac) y/o el extremo carboxilo terminal puede estar en forma de grupo amida (Am). También cabe la posibilidad de llevar a cabo modificaciones internas de los péptidos para que sean resistentes a la proteólisis. Ejemplos de estas modificaciones internas incluyen, sin limitar a, modificaciones en las que al menos un puente peptídico  $-CONH-$  se modifica y se reemplaza por un enlace reducido ( $CH_2NH$ ), un enlace retroinverso ( $NHCO$ ), un enlace oximetileno ( $CH_2-O$ ), un enlace tiometileno ( $CH_2-S$ ), un enlace cetometileno ( $CO-CH_2$ ), un enlace hidroxietileno ( $CHOH-CH_2$ ), un enlace (N-N), un enlace E-alceno o un enlace  $-CH=CH-$ . Los péptidos también pueden estabilizarse por cruzamiento intramolecular, por ejemplo, mediante la modificación al menos de dos residuos de aminoácidos con cadenas laterales de oleofina, preferiblemente, cadenas alqueno  $C_3-C_8$ , preferiblemente, cadenas pentel-2-il, seguidas de un entrecruzamiento de las cadenas tal como se describe en la tecnología denominada "staple" (Walensky et al., 2004, Science 205: 1466-1470). Todos estos péptidos modificados de forma química para resistir a la proteólisis, también están contemplados dentro de la presente invención.

Modificaciones adicionales al péptido de la invención comprenden la unión covalente a una molécula de polietilenglicol (PEG) por su extremo carboxilo terminal o a un residuo de lisina, con la finalidad de disminuir su eliminación urinaria y la dosis terapéutica, y de incrementar la vida media del péptido en el plasma sanguíneo. La vida media del péptido también puede incrementarse mediante la inclusión del péptido en un material polimérico biodegradable y biocompatible para formar microesferas que son empleadas como un sistema de administración de fármacos. Polímeros y copolímeros incluyen, sin limitar a, poli (D, L-láctido-co-glicólico) o PLGA. Las técnicas y procedimientos de cómo fabricar microesferas o nanocápsulas lipídicas para su empleo en la administración de fármacos son ampliamente conocidas por el experto en la materia.

35

El péptido de la invención comprende al menos un 80% de identidad con la secuencia SEQ ID NO: 2, preferiblemente al menos un 80% de identidad con la secuencia SEQ ID NO: 3. En la presente invención, se entiende por "identidad" o "identidad de secuencia" al grado de similitud entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos  
5 obtenido mediante el alineamiento de las dos secuencias. Dependiendo del número de residuos comunes entre las secuencias alineadas, se obtendrá un grado de identidad expresado en tanto por ciento. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse por métodos convencionales, por ejemplo, mediante algoritmos estándar de alineamiento de secuencias conocidos en el estado de la  
10 técnica, como por ejemplo BLAST. Los programas BLAST, por ejemplo, BLASTN, BLASTX, and TBLASTX, BLASTP and TBLASTN, son de dominio público en la página web de *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI). En una realización particular, el péptido de la invención comprende una identidad de, al menos, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99% con la secuencia  
15 SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 3. En otra realización todavía más particular, el péptido de la invención comprende una identidad de secuencia del 100% con la secuencia SEQ ID NO: 2 o de la SEQ ID NO: 3. Como entiende el experto en la materia, todos los péptidos que presentan una identidad de, al menos, un 80% con la secuencia SEQ ID NO: 2 o de la SEQ ID NO: 3, y que presentan la misma función que el péptido SEQ  
20 ID NO: 2 o de la SEQ ID NO: 3, es decir, tienen capacidad de potenciar la regeneración tisular y la reparación del daño tisular, son variantes funcionalmente equivalentes del péptido de la invención. Ensayos para identificar péptidos funcionalmente equivalentes al péptido de la invención se pueden encontrar en el Ejemplo de la presente descripción.

25

Así, en una realización particular, el péptido de la invención se refiere a un péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2, preferiblemente la SEQ ID NO: 3, que puede presentar un tamaño de entre 6 a 99 aminoácidos, y que no es miticina-C con la secuencia SEQ ID NO: 1.

30

Otra característica del péptido de la invención es que presenta un tamaño de entre 6 y 99 aminoácidos, preferiblemente entre 6 y 50, más preferiblemente entre 6 y 40. En una realización más particular, presenta un tamaño de entre 6 y 25 aminoácidos, y en otra realización todavía más particular, de entre 6 y 20 aminoácidos o de entre 6 y 15  
35 aminoácidos. En otra realización aún más particular, el péptido de la invención

presenta un tamaño de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos.

En otra realización particular, el péptido de la invención se refiere a un péptido que comprende la secuencia QSVACRSYYCSK (SEQ ID NO: 4), VACRSYYCSKFC (SEQ ID NO: 5), CRSYYCSKFCGS (SEQ ID NO: 6) o SYYCSKFCGSAG (SEQ ID NO: 7).  
5 En otra realización todavía más particular, el péptido de la invención se refiere a un péptido que consiste en la secuencia SYYCSK (SEQ ID NO: 2), SYYCSKFC (SEQ ID NO: 3), QSVACRSYYCSK (SEQ ID NO: 4), VACRSYYCSKFC (SEQ ID NO: 5), CRSYYCSKFCGS (SEQ ID NO: 6) o SYYCSKFCGSAG (SEQ ID NO: 7). Más  
10 preferiblemente el péptido consiste en la secuencia VACRSYYCSKFC (SEQ ID NO: 5), CRSYYCSKFCGS (SEQ ID NO: 6) o SYYCSKFCGSAG (SEQ ID NO: 7). Como se ha comentado anteriormente, los péptidos de la invención pueden estar protegidos contra la proteólisis, particularmente el péptido de la invención se refiere a un péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID  
15 NO: 11 o SEQ ID NO: 12.

El péptido de la invención puede estar unido a otras secuencias de aminoácidos para dar lugar a una proteína de fusión. Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención se refiere a una proteína de fusión que comprende el péptido de la invención, de aquí  
20 en adelante, "proteína de fusión de la invención".

El término "proteína de fusión", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena polipeptídica diseñada artificialmente que comprende dos o más secuencias de aminoácidos de diferentes orígenes, naturales y/o artificiales. La  
25 proteína de fusión, por definición, nunca se encuentra en la naturaleza como tal.

La proteína de fusión de la invención se puede obtener mediante cualquier técnica adecuada que permita obtener péptidos en una sola cadena de polinucleótido. Dichas técnicas incluyen técnicas recombinantes, donde se introduce una construcción génica  
30 que codifica la proteína de fusión en un vector adecuado para la expresión en un sistema de expresión adecuado, y técnicas de ligación de proteínas que involucran la formación de un enlace peptídico entre dos polipéptidos, como la ligación química nativa o ligación de proteínas expresadas.

35 La proteína de fusión de la invención puede comprender adicionalmente un dominio

peptídico señal N-terminal, que permite el procesamiento, por ejemplo, secreción extracelular, en una célula hospedadora adecuada. Preferiblemente, el dominio peptídico señal N-terminal comprende una proteasa, por ejemplo, un sitio de escisión por peptidasa señal, y por tanto puede retirarse después de o durante la expresión para obtener la proteína madura.

Adicionalmente, la proteína de fusión puede comprender un dominio de reconocimiento/purificación, por ejemplo, un dominio de marca Estrep y/o un dominio poli-His, que pueden estar localizados en el extremo N-terminal o en el extremo C-terminal. Asimismo, la proteína de fusión de la invención puede comprender adicionalmente un elemento flexible C-terminal, que tiene una longitud de, por ejemplo, 1-50, preferiblemente 10-30 aminoácidos que pueden incluir y/o conectarse a un dominio de reconocimiento/purificación como se describe en este documento.

El péptido de la invención puede ir unido a otras secuencias de aminoácidos a través de un espaciador (linker), el cual, puede ser flexible.

Tanto el péptido como la proteína de la invención pueden estar contenidos en una nanopartícula para su mejor administración, conservación, etc. Así, en otro aspecto, la presente invención se refiere a una nanopartícula que comprende el péptido o la proteína de fusión de la invención.

El término "nanopartícula", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier material que tenga dimensiones en el rango de entre 1 y 1.000 nm. En algunas realizaciones, las nanopartículas tienen dimensiones en el rango de 2-200 nm, preferiblemente en el rango de 2-150 nm, e incluso más preferiblemente en el rango de 2-100 nm. Las nanopartículas pueden contribuir a preservar la integridad del péptido o de la proteína de fusión en los fluidos biológicos hasta que alcance el órgano objetivo. Por último, las nanopartículas también pueden modificarse para dirigir la nanopartícula a un órgano de interés, mediante la adición de ligandos sin comprometer la capacidad de las nanopartículas para entregar sus cargas útiles de péptidos. Se contempla que esto permitirá el suministro a células, tejidos y órganos específicos. La especificidad de direccionamiento de los sistemas de administración basados en ligandos se basa en la distribución de los receptores de ligandos en diferentes tipos de células. El ligando de direccionamiento puede estar asociado de forma no covalente o

covalente con una nanopartícula, y puede conjugarse con las nanopartículas mediante una variedad de métodos.

5 Las nanopartículas adecuadas que pueden usarse en el contexto de la presente invención incluyen materiales a nanoescala como una nanopartícula basada en lípidos, una nanopartícula superparamagnética, una nanohélice, un nanocristal semiconductor, un punto cuántico, una nanopartícula basada en polímero, una nanopartícula basada en silicona, una nanopartícula a base de sílice, una nanopartícula a base de metal, un fullereno y un nanotubo.

10

Como entiende el experto en la materia, el péptido de la invención o la proteína de la invención también puede estar contenido dentro de una partícula. Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a una partícula similar a virus que comprende el péptido o la proteína de fusión.

15

El término "partícula similar a un virus", también denominado "VLP", se refiere a partículas no infecciosas que se parecen a los virus que no contienen ningún material genético viral. Las VLP son el resultado de la expresión de proteínas estructurales virales, como las proteínas de la cápside y su autoensamblaje.

20

En una realización particular, la VLP puede comprender, o alternativamente consistir en, proteínas estructurales de Parvovirus, Rotavirus; proteínas estructurales del virus de Norwalk; proteínas estructurales del alfavirus; proteínas estructurales del virus de la fiebre aftosa; proteínas estructurales del virus del sarampión, proteínas estructurales del virus Sindbis, proteínas estructurales de las proteínas estructurales del retrovirus del virus de la Hepatitis B (por ejemplo, un HBcAg); proteínas estructurales del virus del mosaico del tabaco; proteínas estructurales del virus FlockHouse; proteínas estructurales del virus del papiloma humano; proteínas estructurales del virus del polioma; proteínas estructurales de bacteriófagos, proteínas estructurales de fagos de ARN.

25  
30

En una realización particular, el péptido o la proteína de fusión de la invención se acopla o se une a la cápside de la partícula similar a virus. La unión del péptido o proteína de fusión a la cápside puede ser por un enlace covalente o no covalente.

35

El péptido de la invención puede obtenerse por técnicas ampliamente conocidas en el estado de la técnica, como la expresión en una célula del polinucleótido que codifica el polipéptido de la invención, o la proteína de la invención, y su posterior aislamiento. Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un polinucleótido, de aquí en adelante "polinucleótido de la invención", que codifica el péptido de la invención o la

5 proteína de fusión de la invención.

Los términos "polinucleótido", "ácido nucleico" y "molécula de ácido nucleico" se usan indistintamente para referirse a formas poliméricas de nucleótidos de cualquier

10 longitud. Los polinucleótidos pueden contener desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos y/o sus análogos. Los nucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional y pueden realizar cualquier función, conocida o desconocida. El término "polinucleótido" incluye, por ejemplo, moléculas monocatenarias, bicatenarias y de triple hélice, un gen o fragmento de gen, exones, intrones, ARNm, ARNt, ARNr, ribozimas, ADNc,

15 polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácido nucleico y cebadores. Además de una molécula de ácido nucleico nativa, una molécula de ácido nucleico de la presente invención también puede comprender moléculas de ácido nucleico modificadas. Como se usa en este documento, ARNm se

20 refiere a un ARN que puede traducirse en una célula.

En una realización preferida, el polinucleótido de la invención es un ARNm. El ARNm puede sintetizarse químicamente, puede obtenerse mediante transcripción in vitro o puede sintetizarse in vivo en la célula diana. Las secuencias de nucleótidos que

25 forman el ácido nucleico que codifica el conjugado o la proteína de fusión de la invención están en el mismo marco de lectura correcto para la expresión de los mismos.

El polinucleótido que codifica el péptido o la proteína de fusión de la invención puede

30 tener diversas modificaciones efectuadas en la región codificante en la medida que no cambien la secuencia de aminoácidos, del péptido o de la proteína de fusión, debido a la degeneración de los codones, o tomando en consideración los codones preferidos por el organismo en el que se van a expresar y pueden introducirse diversas modificaciones o alteraciones incluso en regiones distintas de la región codificante, en

35 tanto que no tengan influencia sobre la expresión del gen.

Como entiende el experto en la materia, el polinucleótido que codifica el péptido de la invención o la proteína de fusión de la invención, pueden estar incluidos dentro de una construcción génica o dentro de un vector de expresión. En general, un vector de expresión comprende, además del polinucleótido que codifica el péptido de la invención o la proteína de fusión de la invención, un promotor que dirige su transcripción (por ejemplo, pT7, plac, ptrc, ptac, pBAD, ret, etc.), al que está operativamente enlazado, y otras secuencias necesarias o apropiadas que controlan y regulan dicha transcripción y, en su caso, la traducción del producto de interés, por ejemplo, señales de inicio y terminación de transcripción (tlt2, etc.), señal de poliadenilación, origen de replicación, secuencias de unión a ribosomas (RBS), secuencias codificantes de reguladores transcripcionales, potenciadores (enhancers), silenciadores transcripcionales (silencers), represores, etc. Ejemplos de vectores de expresión apropiados pueden seleccionarse de acuerdo con las condiciones y necesidades de cada caso concreto entre plásmidos de expresión, vectores virales (ADN o ARN), cósmidos, cromosomas artificiales, etc. que pueden contener, además, marcadores utilizables para seleccionar las células transfectadas o transformadas con el gen o genes de interés. La elección del vector dependerá de la célula huésped y del tipo de uso que se quiera realizar. Por ejemplo, dicho vector puede ser un vector viral (adenovirus, virus asociados a los adenovirus así como retrovirus y, en particular, lentivirus) o no viral (pcDNA3, pHCMV/Zeo, pCR3.1, pEFI/His, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Zeo2, pTRACER-HCMV, pUB6/V5-His, pVAXI, pZeoSV2, pCI, pSVL and pKSV-10, pBPV-1, pML2d y pTDTI). Dichos vectores pueden ser administrados directamente al sujeto por métodos convencionales. Alternativamente, dichos vectores pueden ser utilizados para transformar, transfectar o infectar células, por ejemplo, células de mamíferos, *ex vivo*, y, posteriormente implantarlas en el cuerpo animal para obtener el efecto terapéutico deseado. Para su administración al sujeto receptor dichas células se formularán en un medio adecuado que no afecte adversamente a la viabilidad de dichas células. La obtención de dicho vector puede realizarse por métodos convencionales conocidos por los técnicos en la materia al igual que para la transformación de microorganismos y células eucariotas se pueden utilizar diferentes métodos ampliamente conocidos.

En otro aspecto, la invención se refiere a una construcción génica, de aquí en adelante “construcción génica de la invención”, que comprende el polinucleótido de la invención.

Preferiblemente, la construcción génica de la invención comprende el polinucleótido de la invención operativamente unido a secuencias reguladoras de la expresión del polinucleótido de la invención. En principio, cualquier promotor puede ser utilizado en  
5 las construcciones génicas de la presente invención, siempre que dicho promotor sea compatible con las células en las que se desea expresar el polinucleótido.

Un promotor, o región promotora, es una secuencia de nucleótidos que controla la transcripción de un gen determinado (secuencias nucleotídicas). En la presente  
10 invención se refiere a una secuencia de nucleótidos que controla la transcripción del polinucleótido de la invención. Las secuencias promotoras pueden ser unidireccionales o bidireccionales. Un promotor unidireccional es aquel que controla la transcripción de un gen o de más genes que se sitúan en tándem con el primero. “En tándem” se refiere a que el extremo 3’ del primer gen va seguido, bien consecutivamente o  
15 separados por una determinada secuencia nucleotídica, por el extremo 5’ del segundo gen. Un promotor bidireccional se refiere a la región promotora que controla la transcripción en dos direcciones opuestas, es decir, que un promotor bidireccional dirige la transcripción de dos genes situados de manera divergente, es decir en sentido opuesto, estando el extremo 5’ de ambas secuencias nucleotídicas más  
20 cercano entre sí que el extremo 3’. En la presente invención se utilizan los términos “promotor” y “región promotora” indistintamente. Además, los promotores en la presente invención pueden ser constitutivos o inducibles. El término “inducible”, tal y como se emplea en la presente descripción, se refiere a la posibilidad de que el promotor tenga un elemento de control que permita activar o desactivar (reprimir) la  
25 transcripción del gen que regula, en presencia de un factor externo al promotor.

Adicionalmente, la construcción génica de la invención puede contener marcadores o etiquetas que permiten el aislamiento del péptido de la invención una vez que es sintetizado en la célula.  
30

Por otro lado, el polinucleótido o la construcción génica de la invención pueden estar formando parte de un vector. Así, en otro aspecto, la invención se relaciona con un vector, de aquí en adelante “vector de la invención”, que comprende el polinucleótido o la construcción génica de la invención.  
35

El término "vector", como se usa en el presente documento, se refiere a una secuencia de ácido nucleico que comprende las secuencias necesarias de modo que después de transcribir y traducir dichas secuencias en una célula se genera un polipéptido codificado por el ácido nucleico de la invención. Dicha secuencia está operativamente vinculada a segmentos adicionales que proporcionan su replicación autónoma en una célula huésped de interés. Preferiblemente, el vector es un vector de expresión, que se define como un vector que, además de las regiones de la replicación autónoma en una célula huésped, contiene regiones operativamente unidas al ácido nucleico de la invención y que son capaces de mejorar la expresión de los productos del ácido nucleico según la invención. Los vectores de la invención se pueden obtener por medio de técnicas ampliamente conocidas en el estado de la técnica.

El experto en la materia apreciará que no existe limitación en cuanto al tipo de vector que puede ser utilizado, ya que dicho vector puede ser un vector de clonaje adecuado para la propagación o un vector de expresión. Así, vectores adecuados de acuerdo a la presente invención incluyen, sin limitar a, (i) vectores de expresión en procariontes tales como pUC18, pUC19, Bluescript y sus derivados, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColEI, pCRI, RP4, fagos y vectores "shuttle" tales como pSA3 and pAT28, (ii) vectores de expresión en levaduras tales como vectores del tipo de plásmidos de 2 micras, plásmidos de integración, vectores YEP, plásmidos centroméricos y similares, (iii) vectores de expresión en células de insectos tales como los vectores de la serie pAC y de la serie pVL, (iv) vectores de expresión en plantas tales como vectores de la serie pIBI, pEarleyGate, pAVA, pCAMBIA, pGSA, pGWB, pMDC, pMY, pORE y similares y (v) vectores de expresión en células eucariotas superiores bien basados en vectores virales, entre los que se incluyen, sin limitar a, adenovirus, virus asociados a los adenovirus así como retrovirus y lentivirus, así como vectores no virales entre los que se incluyen, sin limitar a, pSilencer 4.1-CMV (Ambion), pcDNA3, pcDNA3.1/hygphHCMV/Zeo, pCR3.1, pEFVHis, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Zeo2, pTRACER HCMV, pUB6N5-His, pVAXI, pZeoSV2, pCI, pSVL and pKSV-10, pBPV-1, pML2d y pTDI.

El vector de la invención puede ser utilizado para transformar, transfectar o infectar células susceptibles de ser transformadas, transfectadas o infectadas por dicho vector.

Dichas células pueden ser procariontes o eucariotas. A modo de ejemplo, el vector

donde se introduce dicha secuencia de ADN puede ser un plásmido o un vector que, cuando se introduce en una célula hospedadora, se integra en el genoma de dicha célula y se replica junto con el cromosoma/s en el/los que se ha integrado. La obtención de dicho vector puede realizarse por métodos convencionales conocidos por los técnicos en la materia.

Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a una célula, de aquí en adelante "célula de la invención", que comprende un péptido, una proteína de fusión, un polinucleótido, una construcción génica o un vector según la presente invención, para lo cual dicha célula ha podido ser transformada, transfectada o infectada con la construcción o el vector proporcionados por esta invención. Células transformadas, transfectadas o infectadas pueden ser obtenidas por métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia, que incluyen, sin limitarse a, electroporación, fusión de protoplastos, coprecipitación con fosfato de calcio ( $\text{CaPO}_4$ ) y precipitación con cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ).

En una realización particular, dicha célula hospedadora es una célula animal, preferentemente una célula de mamífero y más preferentemente una célula humana, transfectada o infectada con un vector apropiado.

Células huésped adecuadas para la expresión del polipéptido de la invención incluyen, sin limitar a, células de mamíferos, células de plantas, células de insectos, células de hongos y células bacterianas. Células de mamíferos adecuadas para en la presente invención incluyen líneas celulares epiteliales (porcinas, humanas, etc.), líneas celulares de osteosarcoma (humanas, etc.), líneas celulares de neuroblastoma (humanas, etc.), carcinomas epiteliales (humanos, etc.), células gliales (murinas, humanas, etc.), líneas celulares hepáticas (de mono, etc.), células CHO (ChineseHamsterOvary), células COS, células BHK, células HeLa, 911, AT1080, A549, 293 o PER.C6, células ECCs humana 5 NTERA-2, células D3 de la línea de mESCs, células troncales embrionarias humanas tales como HS293 y BGV01, SHEF1, SHEF2 y HS181, células NIH3T3, 293T, REH Y MCF-7 y células hMSCs (human mesenchymalstemcells), y células GliNS2 (células madre de glioma).

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición, preferiblemente una composición farmacéutica o cosmética, que comprende una cantidad

terapéuticamente o cosméticamente eficaz del péptido, proteína de fusión, nanopartícula, partícula similar a virus, polinucleótido, construcción génica, vector o célula de la invención, y opcionalmente un excipiente o vehículo farmacéuticamente o cosméticamente aceptable.

5

El péptido, la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector y la célula de la invención se han definido previamente.

10

Como se usa en la presente invención, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a una formulación que se ha adaptado para administrar una dosis predeterminada de uno o varios agentes terapéuticos útiles a una célula, un grupo de células, un órgano, un tejido o un animal en el que existe daño o herida y requiere regeneración tisular y/o celular.

15

Como se usa en la presente invención, la expresión "composición cosmética" se refiere a una formulación que se ha adaptado para administrar una dosis predeterminada de uno o varios agentes cosméticos útiles a una célula, un grupo de células, un órgano, un tejido o un animal en el que existe daño estético o herida y requiere regeneración tisular y/o celular.

20

La expresión "cantidad terapéuticamente o cosméticamente eficaz", como se usa en este documento, se entiende como una cantidad capaz de proporcionar un efecto terapéutico o cosmético, y que puede ser determinada por el experto en la materia por los medios comúnmente utilizados. La cantidad de péptido, proteína de fusión, nanopartícula, partícula similar a un virus, polinucleótido, construcción génica, vector o célula de la invención que puede incluirse en las composiciones farmacéuticas o cosméticas según la invención variará dependiendo del sujeto y del modo particular de la administración.

30

La dosis adecuada del principio o principios activos dentro de la composición farmacéutica o cosmética dependerá del tipo de daño tisular a tratar, la gravedad y el curso de la enfermedad o daño, si la composición se administra con fines cosméticos, preventivos o terapéuticos, terapia previa, historia clínica del paciente y la respuesta al péptido o polipéptido, y la discreción del médico tratante. La cantidad de péptido,

35

proteína de fusión, nanopartícula, partícula similar a un virus, polinucleótido, construcción génica, vector o célula de la invención se administra adecuadamente al paciente o sujeto en un momento o durante una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y la gravedad de la enfermedad o daño, un nivel de dosis apropiado  
5 generalmente será de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg / kg; más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg / kg, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 2,5 mg / kg, aún más preferiblemente de aproximadamente 1 mg / kg, que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. Los compuestos pueden administrarse en un régimen de 1 a varias  
10 veces por día o por dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete días, preferiblemente una vez cada dos días. La composición farmacéutica o cosmética se puede administrar durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28 o más días, preferiblemente durante 14 días. La composición farmacéutica o cosmética se puede administrar preferiblemente una vez cada dos días durante 14 días.

15

Las composiciones farmacéuticas de la invención también contienen uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales. Por "excipiente farmacéuticamente aceptable" se entiende una sustancia terapéuticamente inactiva que se utiliza para incorporar el ingrediente activo y que es aceptable para el paciente  
20 desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y para el químico farmacéutico que lo fabrica desde un punto físico/químico con respecto a la composición, formulación, estabilidad, aceptación del paciente y biodisponibilidad. El excipiente o vehículo también incluye cualquier sustancia que sirva para mejorar el suministro y la eficacia del principio activo dentro de la composición farmacéutica. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de la lista que comprende: agua,  
25 solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. Los vehículos farmacéuticamente  
30 aceptables pueden comprender además cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que mejoran la vida útil o la eficacia de la proteína de fusión o de las composiciones que forman parte de las composiciones farmacéuticas. Ejemplos de vehículos adecuados son bien conocidos en la literatura. Ejemplos de vehículos sin limitación son una serie  
35 de sacáridos tales como lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol y

maltitol; una serie de almidones como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz y almidón de patata; una serie de celulosa tal como celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa sódica e hidroxipropilmetil celulosa; y una serie de relleno como la gelatina y la polivinilpirrolidona. En algunos casos, se puede agregar un  
5 desintegrante como polivinilpirrolidona reticulada, agar, ácido algínico o alginato de sodio.

La composición cosmética además puede comprender adyuvantes, excipientes y otros aditivos habituales en el campo cosmético y dermatológico, tales como por ejemplo y  
10 sin sentido limitativo, estabilizantes, conservantes, antioxidantes, disolventes, perfumes, agentes quelantes, absorbentes de olor, filtros químicos o minerales, pigmentos minerales, solventes orgánicos, siliconas, espesantes, suavizantes, emulsionantes, agentes antiespumantes, hidratantes, fragancias, tensioactivos, polímeros aniónicos, catiónicos, no iónicos o anfóteros o sus mezclas, agentes  
15 secuestrantes, propulsores, agentes acidificantes o basificantes, tintes, colorantes, pigmentos o nanopigmentos, o cualquier otro ingrediente normalmente usado en productos y composiciones cosméticas.

La composición de la invención puede comprender, además, cualquier sustancia que  
20 pueda administrarse a una herida, lesión de tejido o sitio de inflamación. Por ejemplo, la composición divulgada puede comprender además una o más clases de antibióticos (por ejemplo aminoglucósidos, cefalosporinas, cloramfenicol, clindamicina, eritromicinas, fluoroquinolonas, macrolidos, azolidos, metronidazol, penicilinas, tetraciclinas, trimetoprima-sulfametoxazol, vancomicina), esteroides (por ejemplo  
25 andranos (por ejemplo testosterona), colestanos (por ejemplo colesterol), ácidos colicos (por ejemplo ácido colico), corticosteroides (por ejemplo dexametasona), estraenos (por ejemplo estradiol), pregnanos (por ejemplo progesterona), analgesicos narcoticos y no narcoticos (por ejemplo morfina, codema, heroma, hidromorfona, levorfanol, meperidina, metadona, oxicodona, propoxifeno, fentanilo, metadona,  
30 naloxona, buprenorfina, butorfanol, nalbufina, pentazocina), quimioterapia (por ejemplo farmacos anticancengenos tales como, pero sin limitarse a, altretamina, asparaginasa, bleomicina, busulfano, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dietilestilbesterol, etinilestradiol, etoposido, floxuridina, fludarabina, fluorouracilo, flutamida, goserelina, hidroxurea, idarubicina,  
35 ifosfamida, leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona,

megestrol, melfalan, mercaptopurina, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, paclitaxel, pentostatina, pipobroman, plicamicina, prednisona, procarbazona, estreptozocina, tamoxifeno, teniposido, vinblastina, vincristina), agentes antiinflamatorios (por ejemplo alclofenaco; alclometasona dipropionato; algestona acetona; alfa amilasa; amcinafal; amcinafida; amfenaco sodico; clorhidrato de amiprilosa; anakinra; aniolaco; anitrazafeno; apazona; balsalazida disodica; bendazaco; benoxaprofeno; clorhidrato de bencidamina; bromelamas; broperamol; budesonida; carprofeno; cicloprofeno; cintazona; cliprofeno; propionato de clobetasol; butirato de clobetasona; clopiraco; propionato de cloticasona; acetato de cormetasona; cortodoxona; decanoato; deflazacort; delatestrilo; depo-testosterona; desonida; desoximetasona; dipropionato de dexametasona; diclofenaco potasico; diclofenaco sodico; diacetato de diflorasona; diflumidona sodica; diflunisal; difluprednato; diftalona; dimetilsulfoxido; drocinonida; endrisona; enlimomab; enolicam sodico; epirizol; etodolaco; etofenamato; felbinaco; fenamol; fenbufeno; fenclofenaco; fencloraco; fendosal; fenpipalona; fentiazaco; flazalona; fluazacort; ácido flufenamico; flumizol; acetato de flunisolido; flunixin; flunixin meglumina; fluocortibutilo; acetato de fluorometolona; flucuzona; flurbiprofeno; fluretofeno; propionato de fluticasona; furaprofeno; furobufeno; halcinonida; propionato de halobetasol; acetato de halopredona; ibufenaco; ibuprofeno; ibuprofeno aluminio; ibuprofeno piconol; ilonidap; indometacina; indometacina sodica; indoprofeno; indoxol; intrazol; acetato de isoflupredona; isoxepaco; isoxicam; ketoprofeno; clorhidrato de lofemizol; lomoxicam; etabonato de loteprednol; meclofenamato sodico; ácido meclofenamico; dibutirato de meclorisona; ácido mefenamico; mesalamina; meseclazona; mesterolona; metandrostenolona; metenolona; acetato de metenolona; suleptanato de metilprednisolona; momiflumato; nabumetona; nandrolona; naproxeno; naproxeno sodico; naproxol; nimazona; olsalazina sodica; orgotema; orpanoxina; oxandrolona; oxaprozina; oxifenbutazona; oximetolona; clorhidrato de paranilina; polisulfato de pentosano sodico; glicerato de fenbutazona sodico; pifenidona; piroxicam; cinamato de piroxicam; piroxicam olamina; pirprofeno; prednazato; prifelona; acido prodolico; provuazona; proxazol; citrato de proxazol; rimexolona; romazarit; salcolex; salnacedina; salsalato; cloruro de sanguinario; seclazona; sermetacina; estanozolol; sudoxicam; sulindaco; suprofen; talmetacina; talniflumato; talosalato; tebufelona; tenidap; tenidap sodico; tenoxicam; tesicam; tesimida; testosterona; combinaciones de testosterona; tetrídamina; tiopinaco; tixocortol pivalato; tolmetina; tolmetina sodica; triclonida; triflumidato; zidometacina; zomepiraco sodico), o agentes antihistamínicos

(por ejemplo etanolaminas (como difenhidramina carbinoxamina), etilendiamina (como tripelenamina pirilamina), alquilamina (como clorfeniramina, dexclorfeniramina, bromfeniramina, triprolidina), otras antihistaminas como astemizol, loratadina, fexofenadina, brofeniramina, clemastina, acetaminofeno, pseudoefedrina, triprolidina).

5

Las composiciones farmacéuticas o cosméticas de la invención pueden administrarse por cualquier tipo de vía adecuada, tal como por vía oral, nasal, ocular, tópica, intradérmica, intracraneal o intravenosa. La vía de administración preferida de dichas composiciones farmacéuticas es la vía oral, nasal, ocular, tópica, intracraneal o

10

"Vía oral" se entiende como la composición farmacéutica incorporada en el organismo después de la deglución.

15

Se entiende por "vía nasal" la administración de la composición farmacéutica insuflada por la nariz.

"Vía ocular" se entiende como la administración tópica de la composición farmacéutica por instilación directamente en el ojo.

20

La "vía tópica" se entiende como la aplicación en el exterior del cuerpo, como, por ejemplo, la piel, el cuero cabelludo y las uñas; y también la aplicación a mucosas tales como, sin limitación, mucosa bucal, nasal o rectal.

"Vía intradérmica" se entiende como la administración de la composición farmacéutica mediante la inyección en la dermis.

25

"Vía intracraneal" se entiende como la administración de la composición farmacéutica dentro del cráneo.

30

"Vía intravenosa" se entiende como la administración de la composición farmacéutica mediante la inyección en el flujo sanguíneo.

Preferiblemente, la composición cosmética de la presente invención, puede presentarse, por ejemplo y sin sentido limitativo, en forma de una disolución acuosa, hidroalcohólica u oleosa, una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, o

35

múltiple, de un gel acuoso u oleoso, de un producto anhidro líquido, de una dispersión de aceite en una fase acuosa con la ayuda de esferoides (como por ejemplo nanoesferas, nanocápsulas y vesículas lipídicas), emulsiones de silicona en agua, microemulsiones, pastas, leches, bálsamos, espumas, lociones, cremas, jabones, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, linimentos, sueros, serums, films de polisacáridos, ungüentos, ungüentos grasos, mousses, pomadas, geles, geles crema, geles de espuma, emulsión-geles y soluciones.

En la presente invención también se contemplan materiales que comprenden las composiciones divulgadas en el presente documento (por ejemplo, péptidos, proteínas de fusión, ácidos nucleicos, vectores, células, polinucleótidos, etc.). Por ejemplo, se divulgan materiales usados para tratar heridas, en los que los materiales están recubiertos con el péptido, proteína de fusión, nanopartícula, la partícula similar a un virus, polinucleótido, vector, célula o composición de la invención. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de materiales usados para tratar heridas incluyen vendajes, cinta quirúrgica, suturas, grapas o injertos (por ejemplo, injertos de piel).

Por ejemplo, el material (vendaje, cinta quirúrgica, sutura, grapa, injerto) puede remojarse en el péptido divulgado a una concentración adecuada. El material puede secarse entonces y sellarse en un recipiente estéril. El péptido también puede incorporarse en un sistema de hidrogel reticulable, tal como el poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) o poliuretano, que puede entonces diseñarse como materiales para tratar heridas (por ejemplo, vendaje, cinta quirúrgica, sutura, grapa, injerto). Por tanto, se divulgan materiales compuestos de hidrogel-péptido.

También se divulgan implantes médicos recubiertos con el péptido de la invención antes de su implantación en un sujeto. Por ejemplo, un problema común en tales cirugías de implante es la formación de una cápsula de contracción alrededor del implante a partir de la formación de tejido cicatricial que conduce a un endurecimiento indebido, contracción y finalmente deformación del tejido de interés. El uso de los presentes polipéptidos en o sobre el implante puede reducir o evitar esta deformación. Ejemplos no limitativos de implantes médicos incluyen: prótesis de extremidades, implantes de mama, implantes de pene, implantes testiculares, ojos artificiales, implantes faciales, articulaciones artificiales, prótesis de válvulas cardíacas, prótesis vasculares, prótesis dentales, prótesis faciales, válvula de disco inclinado, válvula de

bola enjaulada, prótesis de oído, prótesis de nariz, marcapasos, implantes cocleares y sustitutos de la piel (por ejemplo, heteroinjerto porcino/piel de cerdo, BIOBRANE, queratinocitos cultivados).

5 El péptido según la invención se recubre sobre un implante médico o material de tratamiento de heridas. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un material o implante que comprende el péptido, la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector, la célula o la composición descritos en la presente invención.

10

Otro aspecto de la presente invención se refiere al péptido, a la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector, la célula, la composición, el material o el implante de la presente invención para su uso como medicamento. Alternativamente, este aspecto de la invención se refiere al uso del péptido, a la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector, la célula, la composición, el material o el implante para la fabricación de un medicamento.

15

La presente invención además proporciona un método de promoción de la cicatrización de heridas tras la lesión tisular en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una o más de las composiciones de la presente invención (por ejemplo, péptidos, polinucleótidos o vectores) en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además se divulga un método de tratamiento de un sujeto con lesión tisular, que comprende administrar al sujeto una o más de las composiciones divulgadas en el presente documento (por ejemplo, péptidos, polinucleótidos o vectores) en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20

25

“Promover,” “promoción” y “que promueve” se refieren a un aumento en una actividad, respuesta, estado, enfermedad u otro parámetro biológico. Esto puede incluir pero no se limita al inicio de la actividad, respuesta, estado o enfermedad. Esto puede incluir también, por ejemplo, un aumento del 10% en la actividad, respuesta, estado o enfermedad en comparación con el nivel nativo o de control. Por tanto, el aumento puede ser del 10, el 20, el 30, el 40, el 50, el 60, el 70, el 80, el 90, el 100%, o cualquier cantidad de aumento entre medias en comparación con los niveles nativos o de control.

30

35

Por “tratar” o “tratamiento” se entiende un método de reducción de los efectos de una enfermedad o estado. Tratamiento puede referirse también a un método de reducción de la causa subyacente de la enfermedad o estado en sí, más que solo los síntomas.

5 El tratamiento puede ser cualquier reducción de los niveles nativos y puede ser pero no se limita a la supresión completa de la enfermedad, estado o los síntomas de la enfermedad o estado. Por ejemplo, un método divulgado para promover la cicatrización de heridas se considera un tratamiento si hay una reducción del 10% en uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto con la enfermedad en  
10 comparación con niveles nativos en el mismo sujeto o sujetos de control. Por tanto, la reducción puede ser del 10, el 20, el 30, el 40, el 50, el 60, el 70, el 80, el 90, el 100%, o cualquier cantidad de reducción entre medias en comparación con niveles nativos o de control.

15 Tal como se usa en el presente documento, “sujeto” incluye, pero no se limita a, animales o plantas. El sujeto puede ser un vertebrado, más específicamente un mamífero (por ejemplo, un humano, caballo, cerdo, conejo, perro, oveja, cabra, primate no humano, vaca, gato, cobaya o roedor), un pez, un pájaro o un reptil o un anfibio. El sujeto puede ser un invertebrado, más específicamente un artrópodo (por  
20 ejemplo, insectos y crustáceos). El término no indica una edad o sexo particular. Por tanto, se pretende que se cubran sujetos adultos y recién nacidos, así como fetos, tanto machos como hembras.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a la proteína de fusión, la  
25 nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector, la célula, la composición, el material o el implante de la presente invención para su uso en la regeneración celular y/o tisular, en particular para su uso en el tratamiento de una herida, preferiblemente la herida es seleccionada del grupo que consiste en una herida de la piel, una úlcera de decúbito y/o una herida externa o  
30 interna.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso cosmético a la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción  
35 génica, el vector, la célula, la composición, el material o el implante de la presente invención como agente cicatrizante y/o reparador de la piel, preferiblemente, el uso

sería en tratamientos dermocosméticos como agente cicatrizante y reparador de la piel o en composiciones dermocosméticas de aplicación tópica.

Otro aspecto de la invención se refiere a un péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2, para su uso en la regeneración celular, en particular para su uso en el tratamiento de una herida, preferiblemente la herida es seleccionada del grupo que consiste en una herida de la piel, una úlcera de decúbito y/o una herida externa o interna. Más preferiblemente el péptido comprende la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7. En una realización más preferida el péptido consiste en la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7, más preferible el péptido consiste en la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.

En la presente invención, el término “regeneración” se refiere al proceso por el que se recupera la estructura y la función de órganos o partes del cuerpo dañados. El proceso de regeneración puede ocurrir en múltiples estados, niveles de la organización biológica y la habilidad de los diferentes organismos para regenerar partes faltantes es altamente variable. La regeneración puede darse a nivel celular (regeneración celular), de tejido (regeneración tisular), de órgano, estructura e incluso del cuerpo entero. Los ejemplos no limitantes de heridas son:

- una herida de quemadura, que es la lesión que resulta de la exposición al calor, electricidad, radiación (por ejemplo, quemaduras solares y cirugía con láser), o productos químicos cáusticos,

- úlceras,

- heridas en la diabetes mellitus, que generalmente son lesiones en los pies debido al entumecimiento provocado por daños en nervios (neuropatía diabética) y un menor flujo sanguíneo hacia las piernas y los pies. La lesión más grave es una úlcera en el pie. Las úlceras diabéticas en pies tienen un riesgo muy alto de ser infectadas, y a veces no se pueden curar. Las úlceras en pies que no se han curado son una causa frecuente de amputación en personas con diabetes,

35

- heridas de decúbito, es decir, lesiones provocadas por una presión no mitigada sobre cualquier parte del cuerpo, en especial de porciones sobre áreas óseas o cartilaginosas,

5 - heridas debidas a una fuerza externa que daña al tejido,

- heridas en la piel debido al envejecimiento o al entorno. Esto incluye, por ejemplo, grietas, piel seca, aspereza de la piel y similares.

10 Las heridas pueden ser una herida interna, una herida oral, una herida cutánea, una herida externa, una úlcera y/o una úlcera de decúbito, daño al ojo, una herida en el ojo, por ejemplo, conjuntiva. Otras afecciones que pueden tratarse con los péptidos según la divulgación incluyen úlceras orales, lesiones aftosas orales, glosodinia, lengua ardiente, psoriasis, eccema y pérdida de pelo.

15

Estos tipos de daños y lesiones cutáneos son conocidos por los expertos en la materia. Una herida interna es una herida presente en el cuerpo, por ejemplo, debido a una incisión quirúrgica. Una herida oral es una herida presente en la cavidad oral. Una herida cutánea es una herida presente en la piel. Una herida externa debe entenderse  
20 como una herida que es visible y accesible desde fuera del cuerpo. Una úlcera es una lesión en la superficie de la piel o una superficie mucosa. Una úlcera de decúbito es una herida o úlcera provocada por presión prolongada en la piel y tejidos cuando se está en una posición durante un periodo de tiempo largo, tal como tumbado en cama. Las áreas óseas del cuerpo son los sitios más frecuentemente afectados, que se  
25 vuelven isquémicos bajo presión sostenida y constante. El envejecimiento de la piel es el cambio en la apariencia de la piel debido al tiempo o exposición al ambiente o el estado de salud de un individuo. La celulitis es la definición usada en cosmética en relación con una apariencia flácida u ondulada de la piel (piel de naranja en holandés).

30 En una realización particular de la invención, el péptido de la invención se usa para el tratamiento de una herida cutánea. Las heridas cutáneas pueden ser heridas en la epidermis o la dermis de la piel. Hay varios tipos de heridas en las que la piel o el tejido pueden necesitar reparación: abrasiones, laceraciones, incisiones, perforaciones y avulsiones y quemaduras. El uso de un péptido de acuerdo con la invención puede  
35 mejorar el estado de salud general de la piel. En otra realización particular de la

invención, el método se usa para el tratamiento de una herida oral. Las heridas orales son heridas en cualquier parte de la cavidad oral en la que la mucosa oral está dañada. En otra realización particular de la invención, el péptido de la invención se usa para el tratamiento de una herida interna. Las heridas internas son heridas en las que se dañan capas celulares de origen endodérmico o mesodérmico. Son ejemplo heridas en arterias o venas, peritoneo o pericardio.

Dentro de la presente invención, también se contempla el uso terapéutico o cosmético de todas aquellas realizaciones que, directa o indirectamente, comprenden el péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2, para el tratamiento de una herida cutánea tal como se ha definido previamente en la presente descripción. Ejemplos de dichas realizaciones se refieren a la proteína de fusión, la nanopartícula, la partícula similar a un virus, el polinucleótido, la construcción génica, el vector, la célula, la composición, el material o el implante que comprende el péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2. Todos estos términos también han sido definidos previamente en la presente descripción.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## 25 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

- Figura 1 (A y B) Efecto del péptido entero de la miticina C en la cicatrización de la herida en células HaCat.
- 30 Figura 2. (A) Aspecto de la cola de larvas de pez cebra con la cola intacta. (B) Pez después de seccionar un trozo de cola. (C) Evolución en el tiempo de la regeneración tisular de la cola. (D) Comparación de la regeneración tisular en peces tratados y no tratados con miticina después de 4 días.
- 35 Figura 3. Evolución de la cicatrización de la herida en células HaCat tratadas con los

péptidos de la miticina-C.

Figura 4. Efecto del péptido completo de la miticina en la proliferación de células de queratinocitos humanos (HaCat).

5

Figura 5. Efecto de los péptidos en la viabilidad celular de células HaCat.

Figura 6. Comparación de la regeneración en peces tratados y no tratados con los péptidos de miticina-C después de 4 días.

10

## **EJEMPLOS**

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

15

### **Ejemplo 1: Péptidos y su síntesis**

La cadena madura de la miticina-C (Myt-C), compuesta por 40 aminoácidos con la secuencia QSVACRSYYCSKFCGSAGCSLYGCYLLHPGKICYCLHCSR (SEQ ID NO: 1) se tomó como modelo para la síntesis de 14 dodecapéptidos con un desplazamiento de secuencia de dos residuos de amino ácidos y amidados en el carboxilo terminal y acetilados en el amino. La cadena completa y los péptidos así diseñados fueron sintetizados y purificados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en el servicio de Proteómica del Centro Nacional de Biotecnología del CSIC con una pureza >95%. Sus secuencias fueron verificadas mediante espectrometría de masas.

25

Las posibles trazas de de ácido trifluoroacético (TFA) del proceso de síntesis, se eliminaron con tres ciclos de congelación-liofilización usando como disolvente HCl 10 mM. El contenido del vial (3 mg de cada péptido) fue disuelto en 1 mL de medio de cultivo acuoso DMEM sin suero suplementado con gentamicina y un cóctel de inhibidores de proteasas comercial (Protease Inhibitor Tablets, Thermo Scientific, Ref. 88265) quedando una concentración final de la solución madre de 3 mg/mL (676,8 µM) que se conservó a -80°C antes de su uso.

30

Nombre	Secuencia	P. M.
Myt C	QSVACRSYYCSKFCGSAGCSLYGCYLLHPGKICYCLHCSR (SEQ ID NO: 1)	4432.21
P1	QSVACRSYYCSK-am (SEQ ID NO: 8)	1393.60
P2a	Ac-VACRSYYCSKFC-am (SEQ ID NO: 9)	1470.75
P2b	VACRSYYCSKFC-am (SEQ ID NO: 10)	1428.71
P3	Ac-CRSYYCSKFCGS-am (SEQ ID NO: 11)	1444.67
P4	Ac-SYYCSKFCGSAG-am (SEQ ID NO: 12)	1313.47
P5	Ac-YCSKFCGSAGCS-am (SEQ ID NO: 13)	1253.43
P6	Ac-SKFCGSAGCSLY-am (SEQ ID NO: 14)	1263.45
P7	Ac-FCGSAGCSLYGC-am (SEQ ID NO: 15)	1208.39
P8	Ac-GSAGCSLYGCYL-am (SEQ ID NO: 16)	1234.41
P9	Ac-AGCSLYGCYLLH-am (SEQ ID NO: 17)	1340.58
P10	Ac-CSLYGCYLLHPG-am (SEQ ID NO: 18)	1366.61
P11	Ac-LYGCYLLHPGKI-am (SEQ ID NO: 19)	1417.72
P12	Ac-GCYLLHPGKICY-am (SEQ ID NO: 20)	1407.71
P13	Ac-YLLHPGKICYCL-am (SEQ ID NO: 21)	1463.82
P14	Ac-LHPGKICYCLHC-am (SEQ ID NO: 22)	1427.77
P15	Ac-PGKICYCLHCSR (SEQ ID NO: 23)	1421.72

Tabla 1: Péptidos sintéticos diseñados a partir de la secuencia de la miticina-C con su peso molecular (P.M.).

## 5 Ejemplo 2: Determinación de la citotoxicidad de la Miticina C *in vitro*.

La determinación de la citotoxicidad *in vitro* de la cadena madura de miticina C (SEQ ID NO: 1) y de sus fragmentos (Tabla 1) se evaluó en la línea HaCat de queratinocitos

humanos, mediante el ensayo de MTT en el intervalo de concentración 0-40  $\mu$ M (Figuras 4 y 5). Tal como se observa en las Figuras 4 y 5, el tratamiento con los péptidos no afectó a la viabilidad de las células HaCat.

5 **Ejemplo 3: Determinación de la actividad de reparación de heridas de la Miticina C *in vitro*.**

La determinación de la actividad de reparación de heridas *in vitro*, se llevó a cabo empleando monocapas de la línea HaCat de queratinocitos humanos-.

10

Se realizó una “herida” que se fotografió a distintos tiempos para determinar el grado de cierre de la misma, en presencia y en ausencia de péptidos de miticina C. En primer lugar, se confirmó la capacidad del péptido de la miticina C (SEQ ID NO: 1) de estimular la cicatrización de una herida en queratinocitos *in vitro* (Figura 1). Las células  
15 tratadas con una concentración de 5  $\mu$ M mostraron una cicatrización de la herida más rápida que las células control. A las 48 h el cierre de la herida era significativamente mayor en las células tratadas y a 72 h la herida estaba totalmente reparada a diferencia de las células control.

20

Este ensayo se volvió a repetir con los péptidos solapantes basados en la cadena madura de la miticina C de la tabla 1. Tal como se observa en la Figura 3, los péptidos P1, P2a, P2b, P3 y P4 inducían una proliferación celular. Cuando a las células se les originó una herida, se observó una cicatrización significativamente mayor en aquellas que habían sido tratadas con los péptidos P1, P2a, P2b, P3 y P4. A las 48 h del  
25 tratamiento se observa, tal como se muestra en la Figura 3, que los péptidos P1, P2a, P2b, P3 y P4, a diferencia del control, presentan menor porcentaje de apertura de la herida y, por tanto, presentan una mayor cicatrización de la herida y reparación del daño. A las 72 horas, los péptidos P2b, P3 y P4 habían conseguido cerrar completamente la herida (Figura 3). Los péptidos P6, P7 y P9 debido a problemas en  
30 el proceso de síntesis presentaron una escasa solubilidad, y no se tuvieron en cuenta en los ensayos.

35

**Ejemplo 4: Determinación de la actividad de reparación de heridas de la Miticina C *in vivo*.**

Una vez realizados los experimentos en la línea HaCat de queratinocitos humanos, se diseñó un ensayo *in vivo* empleando larvas de pez cebra (*Danio rerio*). Se emplearon larvas de 3 días post-fertilización y se les realizó un corte de la cola. Posteriormente, se estudió la regeneración tisular en larvas tratadas con los péptidos de la Tabla 1 de la miticina C y en las larvas no tratadas con miticina C, mediante fotografías bajo la lupa y análisis de imagen usando el programa imageJ. En las Figuras 2 y 6 se muestran los resultados que muestran una regeneración tisular significativamente mayor de la cola en aquellas larvas tratadas con el péptido completo de la miticina C y con los péptidos P2a, P2b, P3 y P4 solapantes del péptido maduro de la miticina C. Se evaluó la presencia de neutrófilos en la zona de la herida empleando para esto la línea de peces transgénicos Tg(Mpx:GFP)i114, que tienen los neutrófilos marcados con GFP. De esta forma se determinó la capacidad de la miticina C en la resolución de la inflamación asociada a la herida.

**REIVINDICACIONES**

1. Un péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2 caracterizado porque comprende la secuencia seleccionada de la lista que consiste en SEQ ID NO: 4,  
5 SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7, y que no es miticina-C con secuencia SEQ ID NO: 1.
2. El péptido según la reivindicación 1, donde el péptido presenta un tamaño de entre  
10 6 y 40 aminoácidos.
3. Un péptido que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.
4. El péptido según la reivindicación 3, que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 5,  
15 SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7
5. Una proteína de fusión que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 4.
- 20 6. Una nanopartícula que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la proteína de fusión según la reivindicación 5.
7. Una partícula similar a un virus que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la proteína de fusión según la reivindicación 5.  
25
8. Un polinucleótido que codifica el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la proteína de fusión según la reivindicación 5.
9. Una construcción génica que comprende el polinucleótido según la reivindicación 8.  
30
10. Un vector que comprende el polinucleótido según la reivindicación 8 o la construcción génica según la reivindicación 9.
11. Una célula que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a  
35 4, la proteína de fusión según reivindicación 5, el polinucleótido según

reivindicación 8, la construcción génica según reivindicación 9, o el vector según la reivindicación 10.

- 5 12. Una composición que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, la proteína de fusión según reivindicación 5, la nanopartícula según reivindicación 6, la partícula similar a un virus según reivindicación 7, el polinucleótido según reivindicación 8, la construcción génica según reivindicación 9, el vector según la reivindicación 10, o la célula según reivindicación 11.
- 10 13. La composición según la reivindicación 12, en donde la composición es una composición farmacéutica o composición cosmética.
14. La composición según la reivindicación 13, que comprende, además, un excipiente o vehículo farmacéuticamente o cosméticamente aceptable.
- 15 15. Material que comprende el péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, la proteína de fusión según reivindicación 5, la nanopartícula según reivindicación 6, la partícula similar a un virus según reivindicación 7, el polinucleótido según reivindicación 8, la construcción génica según reivindicación 9, el vector según la reivindicación 10, la célula según reivindicación 11 o la composición según cualquier de las reivindicaciones 12 a 14.
- 20 16. Una proteína de fusión según reivindicación 5, una nanopartícula según reivindicación 6, una partícula similar a un virus según reivindicación 7, un polinucleótido según reivindicación 8, una construcción génica según reivindicación 9, un vector según la reivindicación 10, una célula según reivindicación 11, una composición según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 o un material según la reivindicación 15, para su uso como medicamento.
- 25 17. Una proteína de fusión según reivindicación 5, una nanopartícula según reivindicación 6, una partícula similar a un virus según reivindicación 7, un polinucleótido según reivindicación 8, una construcción génica según reivindicación 9, un vector según la reivindicación 10, una célula según reivindicación 11, una composición según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 o un material según la reivindicación 15, para su uso en el tratamiento de heridas.
- 30 35

18. Una proteína de fusión según reivindicación 5, una nanopartícula según reivindicación 6, una partícula similar a un virus según reivindicación 7, un polinucleótido según reivindicación 8, una construcción génica según reivindicación 9, un vector según la reivindicación 10, una célula según reivindicación 11, una composición según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 o un material según la reivindicación 15, para su uso según la reivindicación 17 en donde la herida es seleccionada del grupo que consiste en una herida de la piel, una úlcera de decúbito y/o una herida externa o interna.
19. Uso cosmético de una proteína de fusión según reivindicación 5, una nanopartícula según reivindicación 6, una partícula similar a un virus según reivindicación 7, un polinucleótido según reivindicación 8, una construcción génica según reivindicación 9, un vector según la reivindicación 10, una célula según reivindicación 11, una composición según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 o un material según la reivindicación 15, como agente cicatrizante y/o reparador de la piel.
20. Péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2, para su uso en el tratamiento de una herida.
21. Péptido para su uso según la reivindicación 20, en donde la herida es seleccionada del grupo que consiste en una herida de la piel, una úlcera de decúbito y/o una herida externa o interna.
22. Péptido para su uso según la reivindicación 21, que comprende la secuencia SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.
23. Péptido para su uso según reivindicación 22, que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 7.
24. Uso cosmético del péptido que comprende la secuencia SEQ ID NO: 2 como agente cicatrizante y/o reparador de la piel.
25. Uso según la reivindicación 24, donde el péptido comprende la secuencia SEQ ID

NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7.

26. Uso según reivindicación 25, donde el péptido consiste en la secuencia SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO:

5 7

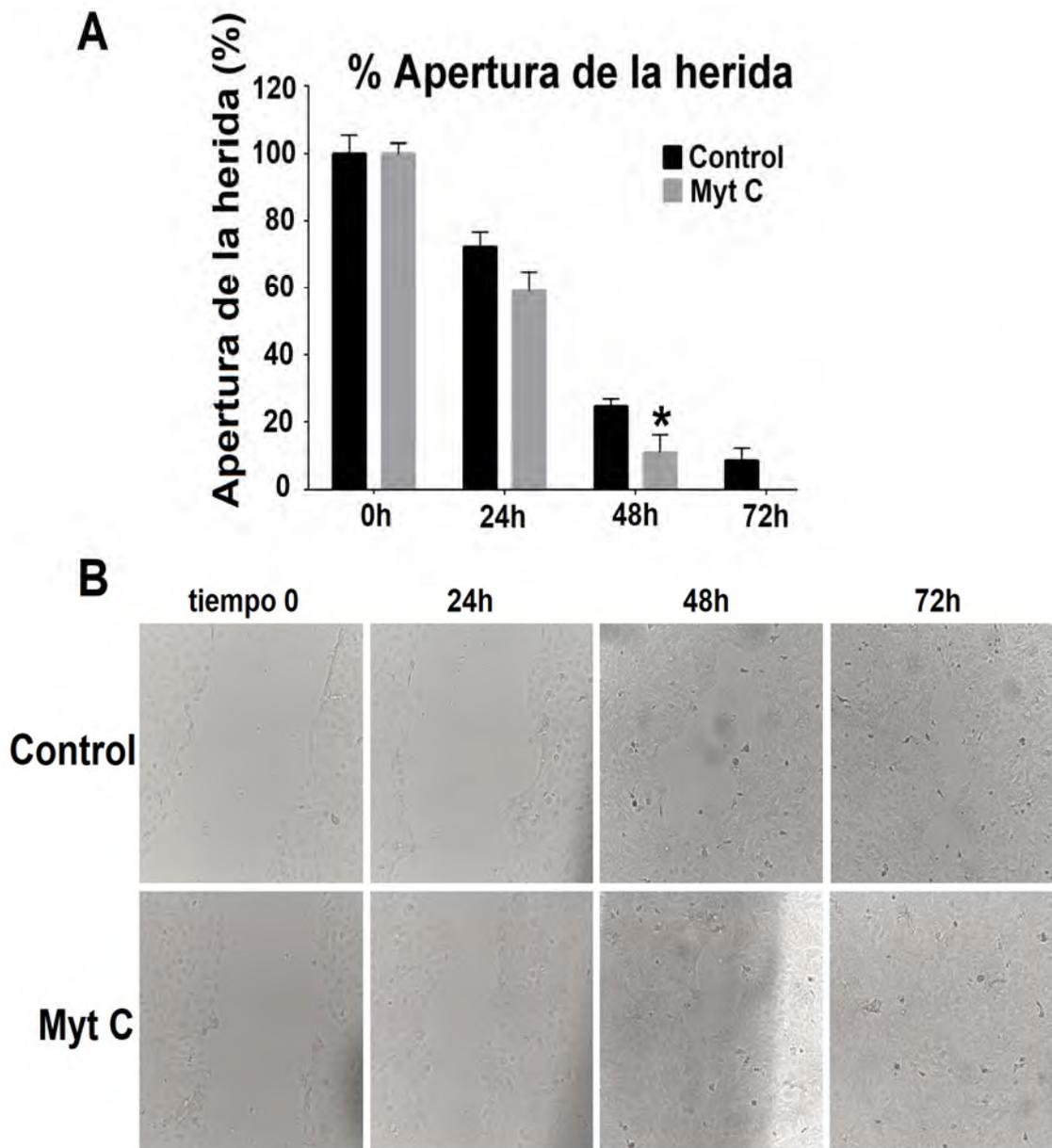


Fig. 1

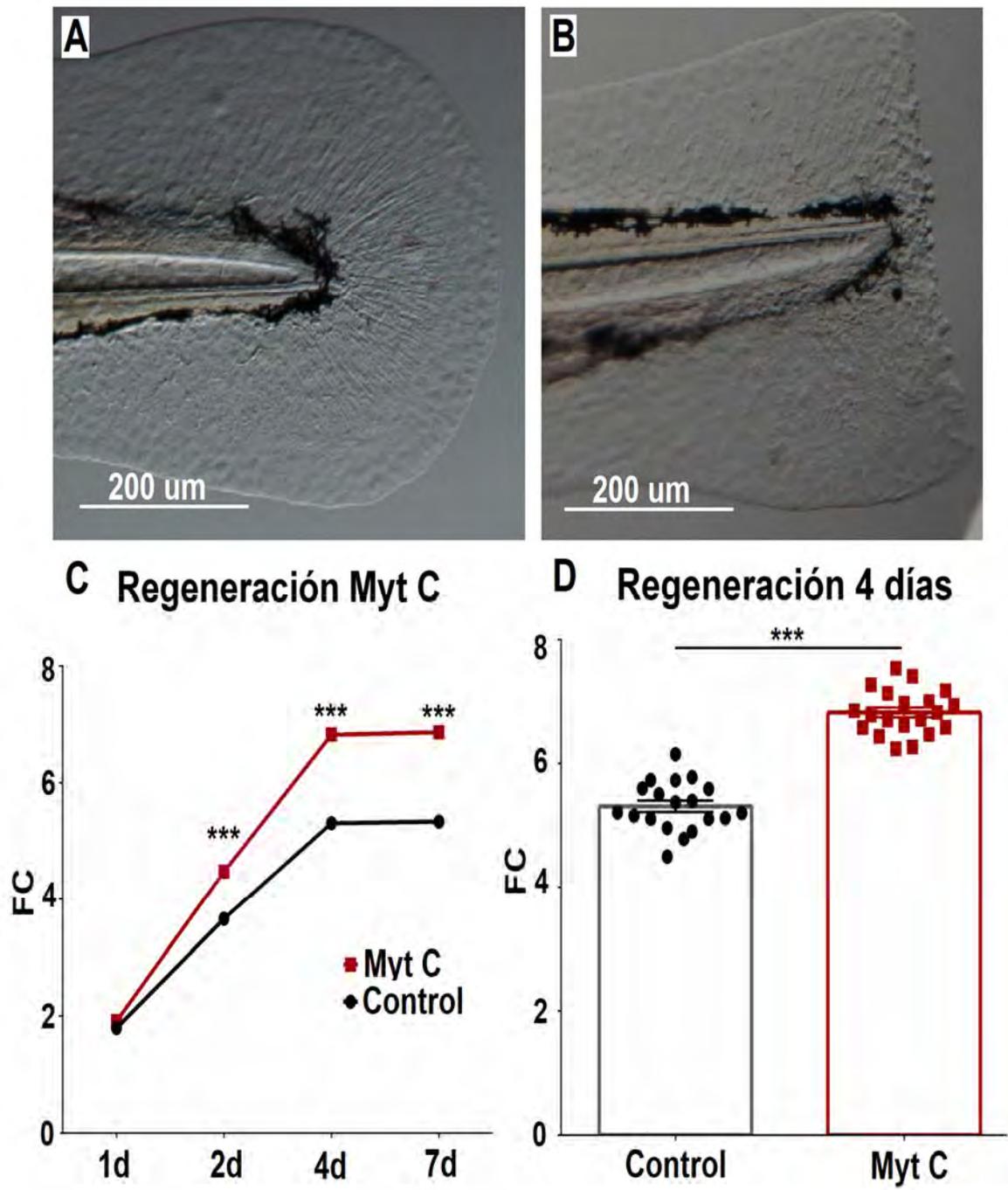


Fig. 2

### Cicatrización de la herida en HaCat

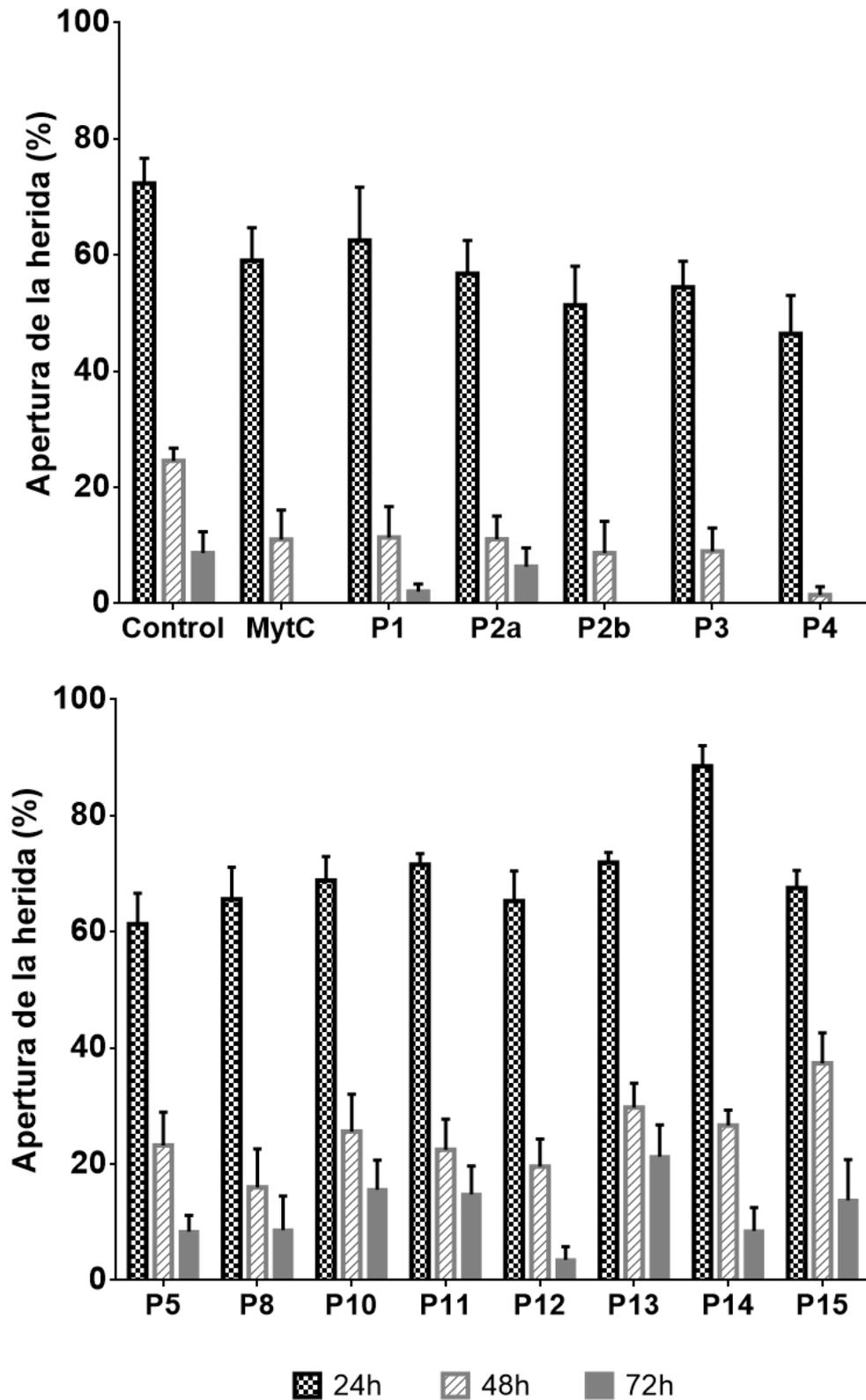


Fig. 3

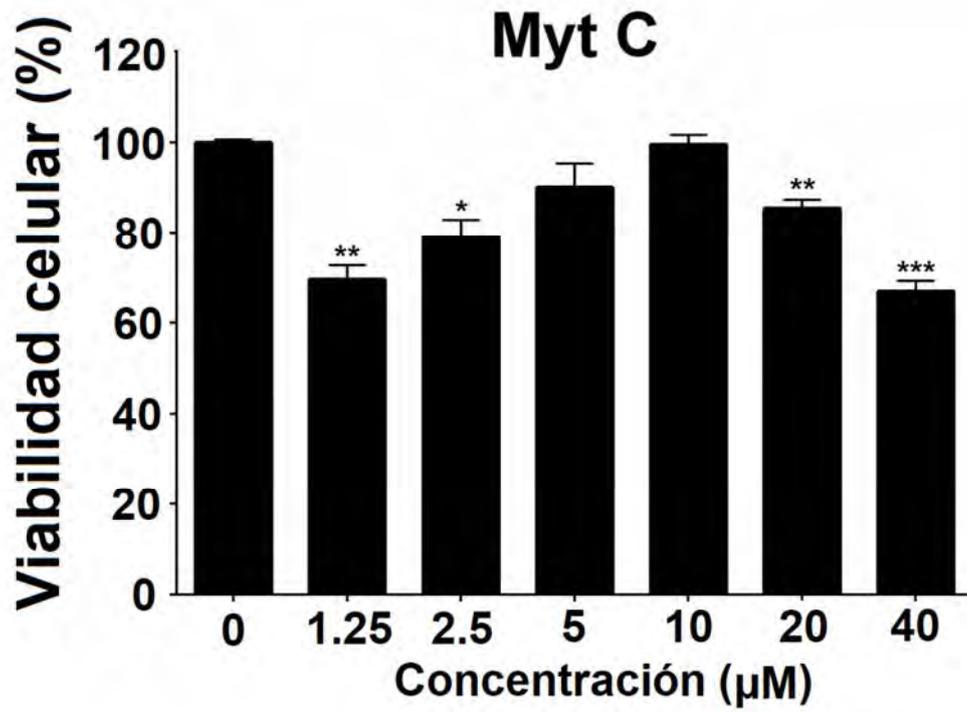


Fig. 4

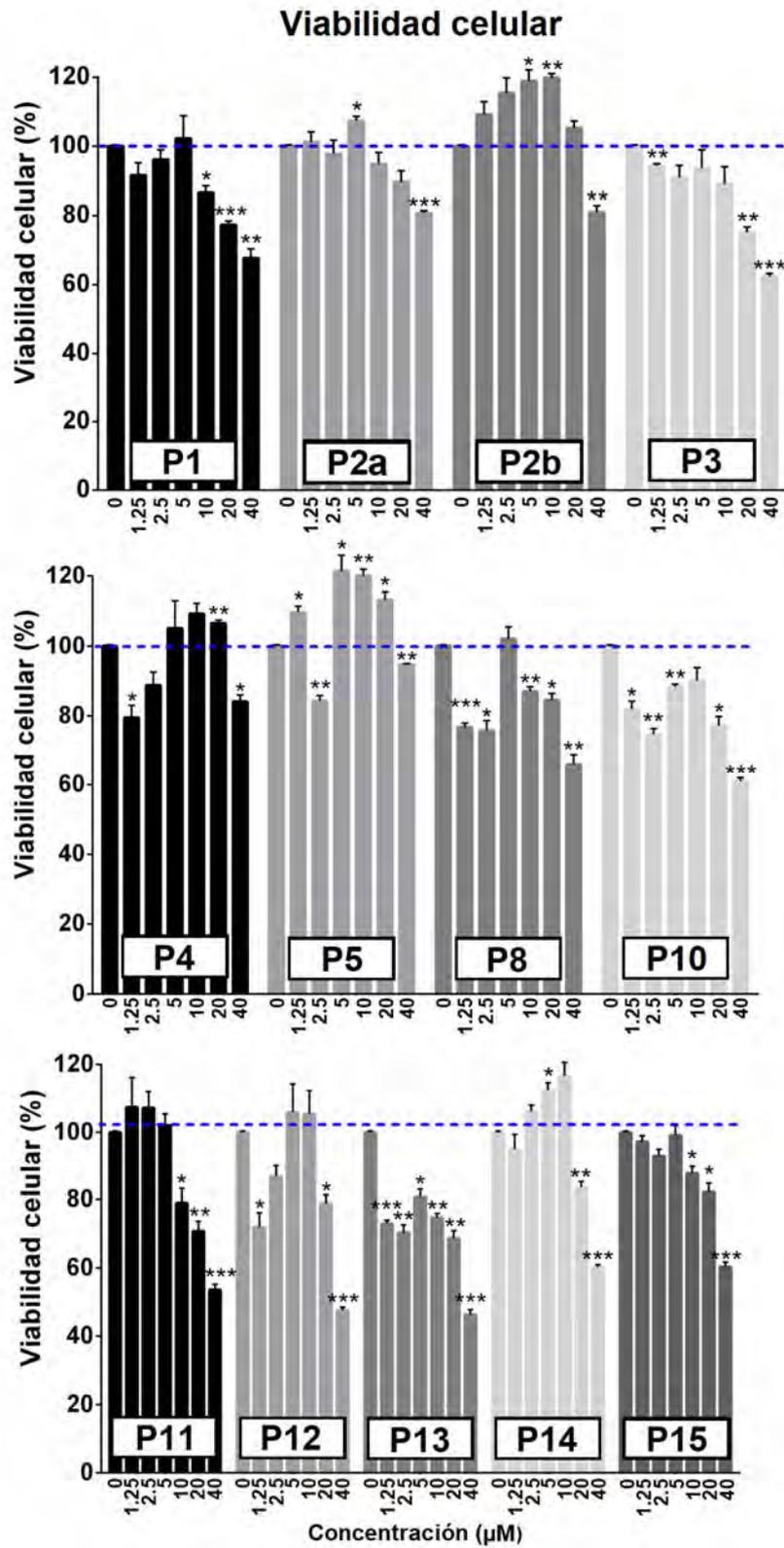


Fig. 5

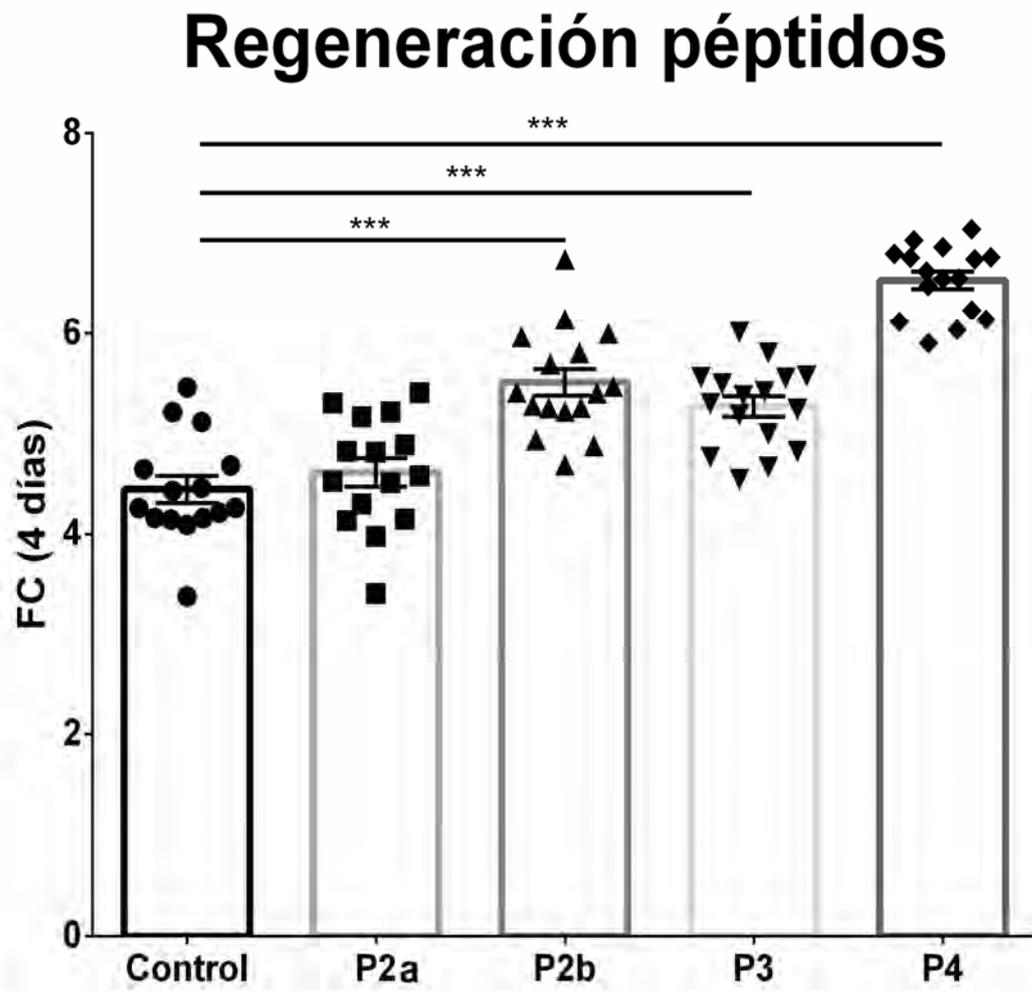


Fig. 6