

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 799 098**

21 Número de solicitud: 201930524

51 Int. Cl.:

C12N 15/115 (2010.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

10.06.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.12.2020

Fecha de concesión:

01.12.2021

45 Fecha de publicación de la concesión:

10.12.2021

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID (50.0%)
Av. Gregorio Peces Barba, 1
28919 Leganés (Madrid) ES;
CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGÉTICAS,
MEDIOAMBIENTALES Y TECNOLÓGICAS, O.A.,
M.P. (20.0%);
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO
RAMÓN Y CAJAL (15.0%);
APTUS BIOTECH, S.L. (10.0%) y
FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ (5.0%)**

72 Inventor/es:

**CARRETERO TRILLO, Mart;
DE ARRIBA PÉREZ, María del Carmen;
DEL RÍO NECHAEVSKY, Marcela Andrea;
FERNÁNDEZ GÓMEZ-CHACÓN, Gerónimo;
GONZÁLEZ MUÑOZ, Víctor Manuel;
CARRIÓN MARCHANTE, Rebeca y
MARTÍN PALMA, Elena**

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: **APTÁMEROS AGONISTAS DEL RECEPTOR FPR2 Y USOS DE LOS MISMOS**

57 Resumen:

Aptámeros agonistas del receptor FPR2 y usos de los mismos.

La presente invención se relaciona con aptámeros agonistas del receptor FPR2 y usos de los mismos. La presente invención se relaciona con un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activar dicho receptor FPR2, que comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.

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).

ES 2 799 098 B2

DESCRIPCIÓN

Aptámeros agonistas del receptor FPR2 y usos de los mismos

5 La presente invención se refiere a aptámeros agonistas del receptor FPR2 y usos de los mismos en la profilaxis y/o el tratamiento de una enfermedad, condición o patología caracterizada por una disminución o inhibición de la expresión del receptor FPR2, y/o una disminución o bloqueo en la activación del receptor FPR2 y/o una ausencia/baja cantidad del ligando natural del receptor FPR2.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs, G protein-coupled receptors) constituyen la familia más grande de receptores unidos a membrana del genoma humano. Aunque reconocen una gran variedad de ligandos, como péptidos, pequeñas moléculas orgánicas, iones de calcio e incluso fotones, presentan una estructura relacionada que incluye 7 dominios transmembrana. Los GPCRs modulan una amplia variedad de procesos fisiológicos y se han descrito numerosas mutaciones en los genes que codifican estos receptores asociados a enfermedades. Por tanto, constituyen las principales dianas terapéuticas de los fármacos que existen en la actualidad (aproximadamente el 35%).

Los GPCRs tipo rodopsina (GPCRA) es el grupo más estudiado desde el punto de vista estructural y funcional, y está dividido en 19 subfamilias. Representan aproximadamente el 80% de todos los GPCRs. Dentro de esta familia se encuentran los FPRs (Formyl Peptide Receptors). Los péptidos N-formilados producidos por bacterias Gram negativas fueron los primeros ligandos identificados para los FPRs FPR1 y FPR2 (FPRL1). En la actualidad se conocen múltiples agonistas y antagonistas para estos receptores, presentando así una gran variedad de funciones en distintos sistemas. En concreto, FPR2 se expresa en una gran diversidad de células, incluyendo astrocitos, células epiteliales, hepatocitos, células endoteliales, neuroblastoma y leucocitos, por lo que está involucrado en distintos procesos fisiológicos y patológicos, como la respuesta inflamatoria, cicatrización, angiogénesis y cáncer. Entre los agonistas conocidos de FPR2 se encuentra el péptido antimicrobiano LL37, cuyo uso terapéutico se encuentra protegido por la patente US20100210539A1

para posibles aplicaciones en cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades fibróticas, enfermedades inflamatorias, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades infecciosas, enfermedades de pulmón, corazón, vasculares y metabólicas. También la patente EP1358888A1 describe el uso de LL37/hCAP18 como inductor de angiogénesis y la patente US7452864B2 el uso de LL37 y péptidos derivados de este para su uso en cicatrización. Se han llevado a cabo varios estudios para probar los beneficios del péptido LL37 in el tratamiento crónico de heridas de varias etiologías. Sin embargo, los péptidos en general, y el LL37 en particular, presentan serias desventajas en relación con su baja actividad y disponibilidad en la zona donde se encuentra la herida, por lo que se requiere el uso de aplicaciones repetitivas de los péptidos y altas dosis de los mismos que pueden dar lugar a toxicidad y efecto secundarios no deseables.

Por lo tanto, a la vista de los inconvenientes arriba citados, existe en el estado de la técnica la necesidad de proporcionar nuevas moléculas capaces de interactuar con, y unirse específicamente a, los receptores acoplados a proteínas G de tipo rodopsina y activar la cascada de reacciones asociada a los mismos, útiles en el tratamiento de diferentes patologías asociadas con defectos en dichos receptores, específicamente, en el tratamiento de la cicatrización de heridas.

20

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Los autores de la presente invención han desarrollado aptámeros de ácido nucleico que actúan como moléculas agonistas de receptores GPCR de tipo rodopsina (GPCRA), en particular, del receptor FPR2 (del inglés "*Formyl peptide receptor 2*").

Los aptámeros de la presente invención se obtuvieron mediante el método SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment), tras lo cual se procedió a analizar la afinidad, la localización celular y la actividad de cada uno de ellos (ver Ejemplo de la presente descripción, Figuras 3 y 5 a 8). Así, se observó que los aptámeros eran capaces de inhibir la producción de AMPc medida por forskolina, y de activar la migración de la línea de queratinocitos humana HaCaT expresando de forma estable el receptor FPR2. Adicionalmente, también se llevó a cabo un experimento *in vivo* con uno de los aptámeros de la invención (en concreto el aptámero ApFP4.5b) donde se pudo observar la acción procicatrizante, induciendo

35

una mejora en el proceso de re-epitelización (ver Figura 9).

Estos aptámeros, gracias a su estructura tridimensional, son capaces de reconocer con alta afinidad y especificidad los receptores, unirse a ellos de forma específica, y
5 activar la cascada de reacciones asociada a los mismos. Por lo tanto, los aptámeros proporcionados por la presente invención constituyen herramientas con un gran valor diagnóstico y terapéutico. Además, al ser moléculas de ácido nucleico de cadena sencilla, presentan una serie de propiedades y características que les diferencian de otros agonistas como moléculas pequeñas y anticuerpos. Entre ellas destacan que no
10 son inmunogénicos, presentan reducida citotoxicidad y son fácilmente eliminados, lo que convierte a los aptámeros de la presente invención en una herramienta terapéutica de gran relevancia para todas aquellas enfermedades caracterizadas porque el receptor FPR2 está total/parcialmente inhibido o inactivado, o en aquellas enfermedades en las que no hay disponibilidad de los ligandos endógenos del receptor
15 o existe disponibilidad de ligando endógeno, pero un aporte extra de ligando exógeno puede resultar beneficioso. Ventajas adicionales son los reducidos costes de producción y el hecho de que al ser sintetizados químicamente no presentan diferencias entre lotes.

20 Así, en base a estos aptámeros, los inventores han desarrollado una serie de aspectos inventivos que serán descritos en detalle a continuación.

Aptámero de la invención

25 En un aspecto, la presente invención se relaciona con un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activarlo, de aquí en adelante “aptámero de la invención”, que comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con una secuencia nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y
30 SEQ ID NO: 3.

El término “aptámero”, en el contexto de la presente invención, se refiere a cadenas de ácido nucleico monocatenarios que adoptan una estructura terciaria específica que les permite unirse a dianas moleculares con alta especificidad y afinidad, comparable a la
35 de los anticuerpos monoclonales, a través de interacciones distintas a las de

emparejamiento de bases de Watson-Crick clásicas, como interacciones electrostáticas e iónicas.

El término "ácido nucleico", en el contexto de la presente invención, se refiere a cualquier tipo de ácido nucleico, como ADN y ARN, y a variantes de los mismos, tales como el ácido peptidonucleico (APN, o en inglés "*peptide nucleic acid*" o PNA), el ácido nucleico bloqueado (ANB, o en inglés "*locked nucleic acid*" o LNA), así como combinaciones de los mismos, modificaciones de los mismos, que incluyen nucleótidos modificados, etc. Los términos "ácido nucleico" y "oligonucleótido" y "polinucleótido" se emplean indistintamente en el contexto de la presente invención. Los ácidos nucleicos pueden purificarse a partir de fuentes naturales, producirse usando sistemas de expresión recombinantes y, opcionalmente, purificados, sintetizados químicamente, etc. Cuando sea apropiado, por ejemplo, en el caso de moléculas sintetizadas químicamente, los ácidos nucleicos pueden comprender análogos de nucleósidos tales como análogos que tienen bases modificadas químicamente o azúcares, modificaciones del esqueleto, etc. Una secuencia de ácido nucleico se representa en la dirección 5' - 3' a menos que se indique lo contrario.

En la presente invención, el término "FPR2" se refiere al receptor celular FPR2, de sus siglas en inglés *Formyl peptide receptor 2*, localizado en la superficie celular de una gran variedad de tipos celulares, como neutrófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas inmaduras, células B, células T, células epiteliales, astrocitos, hepatocitos y células endoteliales, así como en células de distintas especies animales. Otros nombres para referirse a este receptor incluyen, sin limitarse a, ALXR, FMLP-R-II, FMLPX, FPR2A, FPRH1, FPRH2, FPRL1, HM63 y LXA4R.

En humanos, el receptor FPR2 comprende 351 aminoácidos y está codificado por el gen *FPR2* (NCBI Reference Sequence: NC_000019.10, ACCESSION NC_000019 Region: 51752026..51770526, (SEQ ID NO: 4)) dentro de un marco de lectura abierto sin intrones. El gen forma un *cluster* con los genes *FPR1* y *FPR3* en el cromosoma 19q.13.3. La transcripción del gen FPR2 da lugar a dos transcritos:

- NCBI, NM_001005738.2 (SEQ ID NO: 5), cuya traducción da lugar al receptor FPR2 que comprende la secuencia SEQ ID NO: 6 (NCBI, NP_001005738.1), y
- NCBI, NM_001462.3 (SEQ ID NO: 7), cuya traducción da lugar al receptor FPR2 que comprende la secuencia SEQ ID NO: 8 (NCBI, NP_001453.1).

En una realización particular, el receptor FPR2 es un receptor de ratón, de rata, de conejo, de cerdo, de gato, de perro, de caballo o de primate no-humano. En otra realización particular del aptámero de la invención, el receptor FPR2 es el receptor humano FPR2.

Tal como se ha explicado anteriormente, el aptámero de la invención tiene capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2, es decir, es capaz de reconocerlo de forma específica y unirse a él para activarlo tal como haría el ligando natural de dicho receptor.

En la presente invención se entiende por “unión específica” o “unión específica al receptor FPR2”, a la asociación física no covalente entre dos moléculas, el aptámero de la invención y el receptor FPR2. La unión entre el aptámero de la invención y el receptor FPR2 se considera específica si la fuerza de la unión entre ambos es al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, al menos 75 veces o al menos 100 veces superior a la fuerza de la unión entre el aptámero de la invención y una molécula irrelevante. La unión entre el aptámero de la invención y el receptor FPR2 también se considera específica si la constante de equilibrio de disociación K_d es 10^{-3} M o menor, 10^{-4} M o menor, 10^{-5} M o menor, 10^{-6} M o menor, 10^{-7} M o menor, 10^{-8} M o menor, 10^{-9} M o menor, 10^{-10} M o menor, 10^{-11} M o menor, o 10^{-12} M o menor bajo las condiciones empleadas, por ejemplo, en condiciones fisiológicas, condiciones de cultivo de una célula o condiciones que permiten la supervivencia celular.

La capacidad del aptámero de la invención de unirse específicamente al receptor FPR2 puede ser determinada mediante una variedad de ensayos que están disponibles en la técnica. Preferiblemente, la capacidad de unión específica al receptor FPR2 del aptámero de la invención se determina mediante ensayos de unión *in vitro*, tales como el ensayo de oligonucleótido ligado a enzimas (en inglés “*Enzyme-Linked OligoNucleotide Assay*”, ELONA), el ensayo por absorción por aptámero ligado a enzimas (en inglés “*Enzyme-Linked Aptamer Sorbent Assay*”, ELASA), precipitación y PCR cuantitativa (qPCR), o por técnicas de fluorescencia tales como aptahistoquímica, aptacitoquímica, microscopía de fluorescencia o citometría de flujo. Asimismo, tanto la capacidad de unión específica al receptor FPR2 como la afinidad del aptámero por el

receptor FPR2 puede determinarse por técnicas ampliamente conocidas por el experto en la materia, tales como el ensayo de cambio de movilidad en gel (en inglés “*gel mobility shift assay*”), resonancia de plasmón superficial (en inglés “*surface plasmon resonance*”, SPR), electroforesis capilar cinética y el ensayo de unión de fluorescencia.

5 Brevemente, el ensayo de unión de fluorescencia consiste en la incubación de bolas magnéticas recubiertas del receptor FPR2 con diferentes concentraciones (por ejemplo, de 0 a 100 nM) del aptámero de la invención marcado (por ejemplo, con carboxifluoresceína, FAM), y la posterior elución y detección de los aptámeros unidos, las constantes de disociación (Kd) se calculan por análisis de ajuste no lineal.

10

Tal como se ha explicado anteriormente al comienzo de la esta descripción, el aptámero de la invención es agonista del receptor FPR2, es decir, el aptámero de la invención actúa como activador de dicho receptor. En la presente invención se entiende por “activación del receptor FPR2” a la presencia de, o al aumento de, la
15 señal mediada por el receptor FPR2 con respecto a su estado inactivado. Se considera que la actividad de un receptor está aumentada por un activador o agonista cuando su actividad o la señal mediada por el receptor es mayor que la actividad o señal mediada por el ligando natural del receptor. El aumento de la actividad puede ser al menos un 1%, al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos
20 un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90% o al menos un 100% mayor que la actividad del receptor cuando se une a su ligando natural. Los ligandos naturales del receptor FPR2 son ampliamente conocidos del estado de la técnica. Entre los ligandos naturales de FPR2 se encuentran péptidos N-formilados y otros péptidos/proteínas bacterianos no
25 endógenos no formilados, como son las proteínas gp41 y gp120 del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1), el péptido Hp2-20 de *Helicobacter pylori*, la proteína de fase aguda amiloide A sérico (SAA), la secuencia peptídica 106-126 de la proteína PrP, la variante de 42 aminoácidos del péptido amiloide A β (A β 42), Humanina, Anexina A1 y péptidos derivados de esta proteína (Ac2-26 y Ac9-25), el
30 péptido antimicrobiano LL37, péptidos derivados de uPAR (uPAR D2D388-274 y uPAR84-95), FAM3D, CCL23 y un fragmento N-terminal derivado de esta (SHAAGtide), el neuropéptido intestinal vasoactivo VIP, Lipoxina A4 (LXA4), R esolvina D1 y oxLDL. La capacidad de un aptámero de la invención para activar el
35 receptor FPR2 puede ser determinada mediante una gran variedad de ensayos disponibles en el estado de la técnica. Preferiblemente, la capacidad del aptámero de

la invención de activar a FPR2 se determina mediante ensayos *in vitro* con células que expresan FPR2 recombinantes y un gen reportero cuya expresión está asociada a la activación de dichos receptores recombinantes. El experto en la materia reconocerá que existen múltiples variantes de este método, dependiendo de la célula y el gen recombinante empleados. Un ejemplo de este ensayo está recogido en los Ejemplos de la presente invención (sección “Materiales y Métodos”). Otras técnicas disponibles incluyen la determinación de los niveles de citoquinas inflamatorias, como, por ejemplo, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IL-20, IL-31, IL-32, TNF, GM-CSF, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL20, CXCL1, CXCL4, CXCL8 y CXCL10 entre otras, liberadas por distintos tipos celulares que expresan el receptor FPR2 .

El aptámero de la invención con capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activar dicho receptor. FPR2 comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con una secuencia nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y 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 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 nucleótidos/aminoácidos puede determinarse por métodos convencionales, por ejemplo, mediante algoritmos estándar de alineamiento de secuencias conocidos en el estado de la técnica, como por ejemplo BLAST [Altschul S.F. *et al.* Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990 Oct 5; 215(3):403-10]. 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).

El experto en la materia entiende que las mutaciones en la secuencia de nucleótidos de los genes que dan lugar a sustituciones conservativas de aminoácidos en posiciones no críticas para la funcionalidad de la proteína, son mutaciones evolutivamente neutras que no afectan a su estructura global ni a su funcionalidad, dando lugar a variantes funcionalmente equivalentes a la secuencia de nucleótidos

original. Dichas variantes caen dentro del ámbito de la presente invención. Así, todas aquellas secuencias de nucleótidos que presenten al menos un 70% de identidad con las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3 y que además presenten la misma función que dichas secuencias, es decir, que tienen capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activar dicho receptor FPR2, son variantes funcionalmente equivalentes que también están contempladas dentro del ámbito de protección de la presente invención.

En la presente invención se entiende por “variante funcionalmente equivalente” se refiere a aptámeros con secuencias sustancialmente similares a las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3 que mantienen su capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2. Una variante funcionalmente equivalente del aptámero de la invención puede ser una secuencia de ácido nucleico derivado de la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3 que comprende la adición, sustitución o modificación de uno o más nucleótidos. A modo ilustrativo, variantes funcionalmente equivalentes del aptámero de la invención incluyen secuencias que comprenden la adición de 1 nucleótido, 2 nucleótidos, 3 nucleótidos, 4 nucleótidos, 5 nucleótidos, 10 nucleótidos, 15 nucleótidos, 20 nucleótidos, 25 nucleótidos, 30 nucleótidos, 35 nucleótidos, 40 nucleótidos, 45 nucleótidos, 50 nucleótidos, 60 nucleótidos, 70 nucleótidos, 80 nucleótidos, 90 nucleótidos, 100 nucleótidos, 150 nucleótidos, 200 nucleótidos, al menos 500 nucleótidos, al menos 1000 nucleótidos o más en el extremo 5' de la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y/o que comprenden la adición de 1 nucleótido, 2 nucleótidos, 3 nucleótidos, 4 nucleótidos, 5 nucleótidos, 10 nucleótidos, 15 nucleótidos, 20 nucleótidos, 25 nucleótidos, 30 nucleótidos, 35 nucleótidos, 40 nucleótidos, 45 nucleótidos, 50 nucleótidos, 60 nucleótidos, 70 nucleótidos, 80 nucleótidos, 90 nucleótidos, 100 nucleótidos, 150 nucleótidos, 200 nucleótidos, al menos 500 nucleótidos, al menos 1000 nucleótidos o más en el extremo 3' de la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y que mantienen una capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2 de al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91 %, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o al menos el 100% de su capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2.

35

La presente invención también incluye aptámeros que comprenden secuencias de nucleótidos con una identidad de secuencia de al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91 %, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, o al menos el 99% con las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y que mantienen una capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2 de al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91 %, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o al menos el 100% de su capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2.

Así en una realización particular de la invención, el aptámero comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una identidad de secuencia de, al menos, un 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. En una realización más particular, el aptámero comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una identidad de secuencia del 100% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. En otra realización todavía más particular, el aptámero de la invención consiste en la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.

Los aptámeros de la presente invención son aptámeros de ácido nucleico, que pueden ser de ADN o ARN. En una realización particular, el aptámero de la invención es un aptámero de ADN. No obstante, en la presente invención también se contempla que el aptámero pueda estar formado por variantes y análogos de ácidos nucleicos y combinaciones de los mismos. Ejemplos de variantes y análogos de ácidos nucleicos y combinaciones de los mismos, que incluyen, sin limitación, esqueletos de ácido nucleico modificado, enlaces de sustitución, nucleótidos modificados, y análogos de ribosa o desoxirribosa, nucleótidos modificados, etc. con una capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2 de al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91 %, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o al menos el 100% de la capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2 del aptámero que comprende la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID

NO: 3. Ejemplos no limitativos de variantes y análogos de ácidos nucleicos incluyen, sin limitación, APN, ANB Y ATN.

5 El término “variante de un ácido nucleico” o “análogo de un ácido nucleico”, en el contexto de la presente invención, se refiere a variantes y análogos de ácidos nucleicos que incluyen, sin limitación, esqueletos de ácido nucleico modificado, enlaces de sustitución, nucleótidos modificados, y análogos de ribosa o desoxirribosa. Por ejemplo, variantes de ácidos nucleicos según la presente invención pueden comprender estructuras con esqueletos sintéticos análogos del esqueleto típico
10 fosfodiéster. Estos incluyen, sin limitación, fosforotioato, fosforoditioato, metilfosfonato, fosforamidato, fosfotriéster de alquilo, sulfamato, 3'-tioacetal, metileno (metilimino), 3'-N-carbamato, carbamato de morfolino y ácidos nucleicos peptídicos (PNA), enlaces metilfosfonato o alternando metilfosfonato y fosfodiéster y bencilfosfonato.

15 Las variantes de un ácido nucleico también pueden contener uno o más enlaces “de sustitución”, como se entiende generalmente en la técnica. Algunos de estos enlaces de sustitución son apolares y contribuyen a la proporcionar al aptámero de una capacidad de difundirse a través de las membranas. Estos enlaces “de sustitución” se definen aquí como enlaces alternativos convencionales tales como fosforotioato o
20 fosforamidato, y se sintetizan como se describe en la literatura comúnmente disponible. Grupos de unión alternativos incluyen, de manera no limitativa, realizaciones en las que un resto de fórmula $P(O)S$, (“lioalo”) , $P(S)S$ (“dilioalo”), $P(O)NR' P(O)R'$, $P(O)OR'$, CO , o $CONR'$ en donde R' es H (o una sal) o un grupo alquilo de 1-12 átomos de C y $R6$ es un grupo alquilo de 1-9 átomos de C, que se
25 unen a los nucleótidos adyacentes a través de -S-o de -O-. La presente invención también contempla el uso de enlaces de sustitución que incluyen enlaces internucleotídicos no basados en fósforo tales como 3'-tioformacetal, (-S-CH₂-O-), formacetal (-O-CH₂-O-) y enlaces internucleotídicos 3'amina (-NH-CH₂-CH:d). Se pueden utilizar uno o más enlaces de sustitución en los aptámeros de la invención con
30 el fin de facilitar aún más la unión al receptor FPR2, o para aumentar la estabilidad de los aptámeros frente a nucleasas, así como para conferir capacidad de permeación. No todos los enlaces dentro del mismo aptámero tienen que ser idénticos y, por lo tanto, la presente invención contempla aptámeros con todos los enlaces idénticos así como aptámeros con una variación en la composición de sus enlaces.

35

Asimismo, las variantes ácidos nucleicos según la presente invención también pueden contener formas análogas de ribosa o desoxirribosa que son bien conocidas en la técnica, incluyendo sin limitación azúcares sustituidos en 2' tales como 2'-O-metil-
5 ribosa, 2'-fluororibosa o 2'-azido-ribosa, análogos carbocíclicos de azúcares, azúcares α -anoméricos, azúcares epiméricos tales como arabinosa, xilosas o lixoses, azúcares de piranosa, azúcares de furanosa y sedoheptulosas. Los ácidos nucleicos también pueden contener ácido nucleico de treosa (ANT, o en inglés "*threose nucleic acid*" o TNA, también referido como oligonucleótidos alfa-treofuranosilos). En particular, la sustitución en la posición 2' del residuo de furanosa es particularmente importante con
10 respecto a la mejora de la estabilidad nucleasa.

El término "nucleótido", en el contexto de la presente invención, se refiere a los monómeros que conforman los ácidos nucleicos. Los nucleótidos están formados por una pentosa, una base nitrogenada y un grupo fosfato, y están unidos mediante
15 enlaces fosfodiéster. Los nucleótidos que forman parte de ADN y ARN se diferencian en la pentosa, siendo ésta desoxirribosa y ribosa respectivamente. Las bases nitrogenadas, a su vez, se dividen en bases nitrogenadas purínicas, que son la adenina (A) y la guanina (G), y en bases nitrogenadas pirimidínicas, que son la timina (T), la citosina (C) y el uracilo (U). La timina únicamente aparece en el ADN, mientras que el uracilo únicamente en el ARN. La presente invención contempla el uso de
20 nucleótidos modificados en el aptámero de la invención. El término "nucleótido modificado" que en el contexto de la presente invención, se refiere a análogos conocidos de nucleótidos naturales, con propiedades de unión similares o mejoradas. Formas análogas de purinas y pirimidinas son bien conocidas en la técnica, e incluyen,
25 sin limitación, aziridinilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, inosina, N₆-isopenteniladenina, 1-metiladenina, 1-metilpseudouracilo, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, N₆-metiladenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-
30 metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5-metoxiuracilo, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, éster metílico de ácido uracilo-5-oxiacético, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, ácido uracilo-5-oxiacético, y 2,6-diaminopurina. Además de los nucleótidos modificados anteriores, residuos de nucleótidos que carezcan de una purina o una
35 pirimidina también se pueden incluir en la presente invención.

Además de las variantes anteriores, las variantes de ácido nucleico comprendidas en la invención también incluyen APN, ANB Y cadenas 5'-5' o 3'-3'. El término "ácido peptidonucleico" o "APN" o "PNA", en el contexto de la presente invención, se refiere a un oligonucleótido cuyo esqueleto se compone de unidades repetitivas de N-(2-aminoetil)glicina unidas por enlaces peptídicos, en donde las diferentes bases nitrogenadas están unidas a la cadena principal por un enlace de metileno (-CH₂) y un grupo carbonilo (-C=O)). El término "ácido nucleico bloqueado" o "ANB" o "LNA", en el contexto de la presente invención, se refiere a un nucleótido modificado de ARN cuyo resto de ribosa está modificado con un enlace adicional que conecta el oxígeno en 2' con el carbono en 4', bloqueando la ribosa en la conformación 3'-endo. El término "cadena 5'-5'" o "cadena 3'-3'", en el contexto de la presente invención, se refiere a oligonucleótidos en los cuales el nucleótido del extremos 3' o 5', respectivamente, está invertido.

El aptámero de la invención comprende un tamaño variable de nucleótidos. En una realización particular, comprende un tamaño de entre 76 y 200 nucleótidos, preferiblemente entre 76 y 150 nucleótidos, más preferiblemente, entre 76 y 100 nucleótidos, aún más preferiblemente, el aptámero de la invención comprende 76 nucleótidos.

La producción del aptámero de la invención puede llevarse a cabo siguiendo métodos convencionales en la técnica. Ejemplos no limitativos de técnicas de producción de aptámeros incluyen técnicas enzimáticas, tales como la transcripción, sistemas de expresión recombinantes y síntesis química de fase sólida estándar (o de fase de solución), disponibles comercialmente. Cuando sea apropiado, por ejemplo, en el caso de que el aptámero de la invención comprenda variantes de ácidos nucleicos como las descritas anteriormente, análogos de nucleótidos tales como análogos que tienen bases o azúcares modificados químicamente, modificaciones del esqueleto, etc., el aptámero de la invención se producirá mediante síntesis química. Alternativamente, la expresión recombinante será la técnica preferida para la producción de aptámeros cuando estos tengan una longitud de 200 nucleótidos o mayor. Los aptámeros producidos por cualquiera de las técnicas anteriores pueden, opcionalmente, ser purificados por métodos bien conocidos en la técnica.

35

Complejo de la invención

5 Como el experto en la materia podrá apreciar, las características de pequeño tamaño, estabilidad y fácil producción del aptámero de la invención, hacen que éste pueda presentarse unido a una segunda molécula. Esto es particularmente ventajoso cuando la segunda molécula es un grupo funcional. El resultado de la unión del aptámero de la invención y un grupo funcional es un complejo que exhibe la combinación de funciones de ambos, es decir, un complejo con la capacidad de unirse específicamente y activar el receptor FPR2 y con la actividad asociada al grupo funcional.

10

Por tanto, en otro aspecto, la presente invención se refiere a un complejo, en lo sucesivo denominado el "complejo de la invención", que comprende el aptámero de la invención y un grupo funcional.

15 El término "aptámero" ha sido descrito en detalle en el anterior aspecto inventivo (aptámero de la invención) y sus definiciones y particularidades aplican igualmente al complejo de la invención.

20 El término "grupo funcional", en el contexto de la presente invención, se refiere a moléculas aptas para ejercer al menos una función. Dicha función incluye, sin limitación, la capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2, o a otros receptores de GPCRs de tipo rodopsina, tales como los *Formyl Peptide Receptors* o FPRs, y activarlos, la capacidad de ser detectable, tanto directa como indirectamente, la capacidad de inducir muerte celular, etc. Como el experto en la materia entenderá, un grupo funcional puede tener asociadas una o múltiples funciones. Ejemplos no limitativos de grupos funcionales incluyen reactivos detectables y fármacos. Estos grupos funcionales pueden ser actuar como agentes de imagen, fármacos, etc. Por lo tanto, en una realización particular, el grupo funcional es un reactivo detectable, un fármaco o una nanopartícula.

30

El término "reactivo detectable", en el contexto de la presente invención, se refiere a reactivos con capacidad de ser detectables directa o indirectamente. Ejemplos de reactivos detectables indicados para la presente invención incluyen, sin limitación, radionúclidos, fluoróforos, proteínas y haptenos.

35

En una realización preferida, el reactivo detectable es un radionúclido. A este efecto, radionúclidos apropiados tienen utilidad en técnicas de diagnóstico por imagen, como técnicas de radioinmunodiagnóstico y tomografía de emisión de positrones (PET). Ejemplos no limitativos de radionúclidos incluyen isótopos de emisión gamma, tales como ^{99m}Tc , ^{123}I y ^{111}In , que pueden ser empleados en radioscintigrafía usando cámaras gamma o gamma cameras o tomografía por emisión de fotón único computarizada, así como emisores de positrones, tales como ^{18}F , ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{124}I , ^{213}Bi y ^{211}At , que pueden emplearse en PET, o emisores beta, tales como ^{131}I , ^{90}Y , ^{99m}Tc , ^{177}Lu y ^{67}Cu . El experto en la materia apreciará que los radionúclidos también pueden emplearse con fines terapéuticos.

En otra realización preferida, el reactivo detectable es un fluoróforo. El término "fluoróforo", en el contexto de la presente invención, se refiere a un compuesto químico fluorescente que puede emitir luz después de ser excitado por una luz de longitud de onda diferente. Fluoróforos adecuados en la presente invención incluyen, sin limitación, Cy3, Cy2, Cy5, la familia de marcadores fluorescentes Alexa Fluor® (Molecular Probes, Inc.), carboxifluoresceína (FAM) e isotiocianato de fluoresceína (FITC).

En otra realización preferida, el reactivo detectable es una proteína. El término "proteína", en el contexto de la presente invención, se refiere a macromoléculas consistentes en una o más cadenas de aminoácidos. Las proteínas son responsables de llevar a cabo un grupo diverso de funciones celulares basándose en su habilidad de unir otras moléculas de manera específica. Las proteínas se pueden unir a otras proteínas así como a pequeñas moléculas sustrato. Ejemplos no limitativos de proteínas adecuadas para los propósitos de la presente invención incluyen, sin limitación, enzimas, proteínas fluorescentes, proteínas luminiscentes y antígenos.

En una realización aún más preferida, la proteína es una enzima. El término "enzima", en el contexto de la presente invención, se refiere a una proteína que funciona como un catalizador altamente selectivo, acelerando tanto la velocidad como la especificidad de la reacción metabólica para la cuál es específica. Ejemplos no limitativos de enzimas adecuadas para la invención incluyen, sin limitación, la peroxidasa de rábano (en inglés "*horseradish peroxidase*", HRP) y la fosfatasa alcalina. Como el experto en la materia apreciará, las enzimas adecuadas para su uso en la presente invención son

detectables indirectamente gracias a su capacidad de catalizar la modificar un sustrato en un compuesto detectable por colorimetría, quimioluminiscencia o fluorimetría. Ejemplos de sustratos adecuados incluyen, sin limitación, *p*-Nitrofenil fostato (PNPP), ácido 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico] (ABTS), *o*-fenilenediamina (OPD), y
 5 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB).

Las proteínas bioluminiscentes o fotoproteínas son un caso particular de enzimas oxidativas que son capaces de llevar a cabo una reacción química de sus grupos prostéticos específicos, resultando en una emisión de luz sin necesidad de una
 10 excitación previa. Ejemplos no limitativos de proteínas bioluminiscentes incluyen la luciferasa de luciérnaga, la luciferasa de *Renilla* y la acuorina.

En otra realización aún más preferida, la proteína es una proteína fluorescente. El término "proteína fluorescente", en el contexto de la presente invención, se refiere a
 15 una proteína con capacidad emitir luz cuando se excita a una longitud de onda adecuada para su excitación. Ejemplos no limitativos de proteínas fluorescentes que pueden ser utilizadas en el complejo de la invención incluyen, sin limitación, GFP, GFPuv, BFP, CFP, YFP, EBFP2, mCerulean, mCerulean3, mVenus, mTurquoise, T-Sapphire, citrine, amFP486, zFP506, zFP538, drFP, DsRed, mCherry, dTomato,
 20 mTFP1, TagRFP-T, mKO2, mRuby, mKate, mAmetrine, REACh, R-ficoeritrina (R-PE) y Aloficocianina (APC).

En otra realización aún más preferida, la proteína es una proteína luminiscente. El término "proteína luminiscente", en el contexto de la presente invención, se refiere a
 25 una proteína capaz de emitir luz cuando se excita a una longitud de onda adecuada para su excitación.

En otra realización aún más preferida, la proteína es un antígeno. El término "antígeno", en el contexto de la presente invención, se refiere a una molécula que
 30 induce una respuesta inmune en el cuerpo. Por tanto, un antígeno puede ser empleado para generar un anticuerpo que lo reconozca y se una específicamente a él. Ejemplos no limitativos de antígenos incluyen, entre otros, antígenos tumorales, tales como el antígeno carcinoembrionario (CEA), HER2, el antígeno específico de próstata (PSA) y el activador tisular del plasminógeno y sus variantes recombinantes como
 35 Activase®, así como antígenos bacterianos, alérgenos, etc. Como el experto en la

materia apreciará, los antígenos adecuados para su uso en la presente invención son detectables indirectamente gracias a su capacidad de ser reconocidos específicamente por un anticuerpo.

5 En otra realización preferida, el reactivo detectable es un hapteno. El término "hapteno", en el contexto de la presente invención, se refiere a un grupo de compuestos químicos de pequeño tamaño molecular (generalmente, menor de 10,000 Da) que son antigénicos pero incapaces de inducir por sí mismos una reacción inmunitaria específica. El acoplamiento químico de un hapteno a una proteína
10 inmunógena grande, llamada portador, genera un conjugado hapteno-portador inmunógeno que sí es capaz de inducir una reacción inmunitaria específica. Ejemplos no limitativos de vitaminas incluyen biotina (vitamina B7), digoxigenina, dinitrofenol (DNP) y nitro-iodofenol (NIP). En una realización más preferida, la vitamina es biotina. El término "biotina", en el contexto de la presente invención, se refiere a una vitamina
15 estable al calor, soluble en agua y alcohol, también denominada vitamina H y vitamina B7, caracterizada por unirse específicamente a avidina con la afinidad más alta descrita hasta la fecha de $K_d = 10^{15}$ M. Como el experto en la materia apreciará, la biotina es detectable indirectamente gracias a su capacidad de ser reconocida específicamente por la avidina o variantes de la misma como estreptavidina y
20 neutravidina.

En otra realización particular, el grupo funcional es un fármaco. El término "fármaco", en el contexto de la presente invención, se refiere a una sustancia química empleada en el tratamiento, cura o prevención de una enfermedad, condición, o patología
25 caracterizada por una disminución o inhibición de la expresión del receptor FPR2, y/o una disminución en la activación del receptor FPR2. También se refiere a aquella sustancia química empleada en el tratamiento, cura o prevención de una enfermedad, condición, o patología caracterizada por la no disponibilidad de los ligandos endógenos del receptor FPR2 o, aun existiendo disponibilidad de ligando endógeno,
30 un aporte extra de ligando exógeno podría resultar beneficioso. Así, se ha demostrado que estos receptores están involucrados en el desarrollo y progresión del cáncer. Además FPR2 está implicado en el control de los procesos inflamatorios, ejerciendo funciones pro- o anti-inflamatorias dependiendo del contexto celular y de la disponibilidad de ligandos. La inflamación crónica es en muchos casos responsable de
35 la patogénesis de muchas enfermedades humanas, en las que los agonistas del

receptor FPR2 podrían mostrar efectos protectores y reparadores mediante la estimulación de las rutas anti-inflamatorias. Además, FPR2 se expresa en células epiteliales y endoteliales, jugando un papel fundamental en los procesos de reparación de heridas y restauración de la integridad de la función barrera, mediante la activación
5 de procesos de migración y proliferación de células epiteliales y favoreciendo la neo-angiogénesis. Por tanto, las enfermedades o condiciones susceptibles de ser tratadas con los aptámeros de FPR2 son todas aquellas incluidas en las siguientes categorías: cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades metabólicas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades fibróticas,
10 enfermedades infecciosas, enfermedades cardiovasculares y patologías del tejido epitelial.

La presente invención contempla que el fármaco sea un ácido nucleico. Así, en una realización preferida el fármaco es un ácido nucleico. Ácidos nucleicos aptos como
15 fármacos en el contexto del complejo de la invención incluyen ARN antisentido, ADN antisentido y ARN pequeños de interferencia.

La presente invención contempla que el fármaco sea un péptido. Así, en una realización preferida el fármaco es un péptido. El término "péptido", en el contexto de
20 la presente invención, se refiere a una cadena corta de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. El péptido comprenderá al menos 2 aminoácidos, al menos 3 aminoácidos, al menos 4 aminoácidos, al menos 5 aminoácidos, al menos 10 aminoácidos, al menos 15 aminoácidos, al menos 20 aminoácidos, al menos 30 aminoácidos, al menos 40 aminoácidos, al menos 50 aminoácidos, al menos 60
25 aminoácidos, o al menos 70 aminoácidos. Adecuados para los fines de esta invención son, entre otros, péptidos con capacidad de unirse a una diana y de inducir o inhibir la señalización celular. El término "péptido de unión a diana", en el contexto de la presente invención, se refiere a un péptido que comprende una región de unión a la diana. El término "péptido de señalización", en el contexto de la presente invención, se
30 refiere a un péptido con la capacidad de provocar la señalización celular, tales como péptidos agonistas de los receptores de células. Las secuencias de aminoácidos adecuados para la unión de moléculas diana incluyen secuencias de consenso de reconocimiento molecular bien conocido en la técnica.

En otra realización particular, el grupo funcional es una nanopartícula. Tal como se usa en la presente descripción, el término “nanopartícula” se refiere a sistemas coloidales de tipo esférico, cilíndrico, poliédrico, etc., o formas similares, que tienen un tamaño menor o igual que 1 μm , que se encuentran en forma individual o formando estructuras organizadas (dímero, trímeros, etc.), dispersadas en un fluido (solución acuosa). En una realización particular, las nanopartículas adecuadas para poner la invención en práctica tienen un tamaño menor de 1 μm , generalmente comprendido entre 1 y 99 nanometres (nm), típicamente entre 5 y 500 nm, preferiblemente entre alrededor de 10 y 150 nm. En una realización particular, las nanopartículas tienen un diámetro medio de entre 2 y 50nm, preferiblemente, entre 5 y 20 nm. El diámetro de la partícula media es la dimensión de partícula media máximo, entendiendo que las nanopartículas no necesariamente tienen que ser esféricas. Las nanopartículas adecuadas para usarlas en la presente invención incluyen nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas y nanopartículas metálicas.

Las nanopartículas poliméricas están formadas por una matriz polimérica que está anclada al aptámero de la invención. Ejemplos de polímeros biocompatibles que pueden emplearse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitar a, polietilenos, policarbonatos y polianhidridos.

Alternativamente, las nanopartículas que actúan como grupos funcionales pueden ser nanopartículas lipídicas tales como un liposoma o una micela. La formación de micelas y liposomas a partir de, por ejemplo, lípidos que forman vesículas, es ampliamente conocida en el estado de la técnica.

Asimismo, la nanopartícula puede ser una nanopartícula metálica. El término “nanopartícula metálica” se refiere a nanopartículas que comprenden un metal y comprende la propiedad conocida como fenómeno de plasmón de superficie. El plasmón de superficie de un metal puede medirse cualquier técnica espectroscópica del estado de la técnica, tal como espectroscopía de resonancia de plasmón de superficie.

En una realización particular, la nanopartícula es una nanopartícula magnética mesoporosa de sílice.

35

Las nanopartículas pueden funcionalizarse mediante la adición de un recubrimiento a su superficie. Para aplicaciones biológicas, la superficie de recubrimiento debería ser polar para proporcionar una alta solubilidad acuosa y prevenir la agregación de las nanopartículas.

5

El aptámero de la invención puede unirse a la nanopartícula mediante enlaces covalentes, preferiblemente, en la superficie de la nanopartícula.

La unión entre un aptámero de la invención y un grupo funcional para generar el complejo de la invención puede llevarse a cabo mediante técnicas de conjugación ampliamente conocidas por el experto en la materia. El resultado es una unión covalente entre el aptámero de la invención y el grupo funcional. La conjugación puede implicar la unión de aminas primarias de los extremos 3' o 5' del aptámero de la invención al grupo funcional durante la síntesis química del aptámero.

15 Alternativamente, la conjugación puede efectuarse mediante reacciones convencionales de reacción cruzada (en inglés "cross-linking"), que tienen la ventaja de la reactividad química mucho mayor de etiquetas de alquil-amina primarias frente a las aminas de arilo de los propios nucleótidos. Los métodos de conjugación son bien conocidos en la técnica y se basan en el uso de reactivos de reticulación (en inglés

20 "cross-linking reagents"). Los reactivos de reticulación contienen al menos dos grupos reactivos, que se dirigen a grupos tales como aminas primarias, sulfhidrilos, aldehídos, carboxilos, hidroxilos, azidas y así sucesivamente, en la molécula a ser conjugada. Los agentes de reticulación difieren en la especificidad química, la longitud del brazo espaciador, composición brazo espaciador, brazo espaciador de escisión, y la

25 estructura. Por ejemplo, la conjugación de complejos según la invención puede llevarse a cabo directamente o a través de un resto enlazador, a través de uno o más grupos no funcionales en el aptámero y/o el grupo funcional, tales como grupos amina, carboxilo, fenilo, tiol o hidroxilo. Se puede lograr enlaces más selectivos mediante el uso de un enlazador heterobifuncional. Enlazadores convencionales pueden ser

30 utilizados, tales como diisocyanatos, diisotiocyanatos, bis (hidroxisuccinimida) ésteres, carbodiimidas, ésteres de maleimida-hidroxisuccinimida, glutaraldehído y similares, ° hidrazinas e hidrazidas, tales como 4-(4-N-maleimidofenil)hidrazida de ácido butírico (MPBH).

Otra aproximación consiste en el marcaje de los aptámeros durante la síntesis por PCR mediante el empleo de cebadores marcados, por ejemplo, con un fluoróforo. Para ello, existen diversas casas comerciales disponibles para el experto en la materia.

5 Adicionalmente, en la realización particular en la que el grupo funcional sea un radionúclido, la unión entre un aptámero según la invención y el radionúclido puede llevarse a cabo mediante coordinación química, en donde los átomos del aptámero implicados en la unión donan electrones al radionúclido. Las reacciones de
10 coordinación son ampliamente conocidas en la técnica y dependerán del radionúclido y el grupo reactivo implicado en el aptámero.

Usos *in vitro* del aptámero de la invención

15 El aptámero de la invención tiene la capacidad de reconocer el receptor FPR2, unirse específicamente a él, y activar la señalización asociada a dichos receptores, tal como hacen sus ligandos naturales. Esta capacidad del aptámero de la invención puede entonces emplearse para detectar la presencia del receptor mediante la detección de la unión aptámero-receptor.

20 Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención se relaciona con el uso *in vitro* del aptámero de la invención para detectar el receptor FPR2.

Así, la capacidad de un aptámero según la invención de unirse específicamente al receptor FPR2 puede ser explotada para la detección indirecta de dicho receptor. Para
25 este propósito, el experto en la materia reconocerá que es necesaria una posterior detección de dicho aptámero. Las técnicas de detección de aptámeros son ampliamente conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, el empleo de anticuerpos o de sondas específicas frente al aptámero. De esta manera, una vez que el aptámero de la invención está unido al receptor FPR2, se aplicaría un anticuerpo o
30 sonda específica para el aptámero, que a su vez pueden estar marcados con un reactivo detectable, o que pueden ser detectados de manera indirecta mediante un anticuerpo o sonda secundaria. La técnica empleada para detectar el receptor FPR2 dependerá entonces del tipo de reactivo detectable, pudiendo ser técnicas basadas, por ejemplo, en fluorimetría, colorimetría o radiactividad.

35

El término "sonda" o "sonda de hibridación", en el contexto de la presente invención, se refiere a un fragmento de ADN o ARN de longitud variable, generalmente entre 10 y 1.000 bases de longitud, que se utiliza para detectar la presencia de ácidos nucleicos de cadena sencilla (ADN o ARN) que son complementarios a la secuencia en la sonda. La sonda se hibrida al ácido nucleico de cadena sencilla diana, cuya secuencia de bases permite el emparejamiento de bases debido a la complementariedad entre la sonda y el ácido nucleico diana. Para detectar la hibridación de la sonda a su secuencia diana, la sonda está marcada con un reactivo detectable, tales como un radionúclido, un fluoróforo o digoxigenina, entre otros.

5

La detección de la unión del receptor FPR2 con el aptámero de la invención se puede llevar a cabo mediante ensayos de unión *in vitro*, tales como el ensayo de oligonucleótido ligado a enzimas (en inglés "Enzyme-Linked OligoNucleotide Assay", ELONA), el ensayo por absorción por aptámero ligado a enzimas (en inglés "Enzyme-Linked Apfamer Sorbent Assay", ELASA), precipitación y PCR cuantitativa (qPCR), ensayo de cambio de movilidad en gel (en inglés "gel mobility shift assay"), Western Blotting, resonancia de plasmón superficial (en inglés "surface plasman resonance", SPR), electroforesis capilar cinética, el ensayo de unión de fluorescencia, aptahistoquímica, aptacitoquímica, microscopía de fluorescencia o citometría de flujo.

10

En otra realización particular de los usos *in vitro* de la invención, la detección del receptor FPR2 se realiza mediante un método seleccionado del grupo que consiste en ELONA, aptacitoquímica, aptahistoquímica y citometría de flujo.

15

El término "ELONA" o "ensayo de oligonucleótido ligado a enzimas" (en inglés "Enzyme-Linked OligoNucleotide Assay"), en el contexto de la presente invención, se refiere a una técnica análoga al inmunoensayo por absorción ligado a enzimas (en inglés "Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay", ELISA), en donde el anticuerpo que se emplea para detectar la molécula de interés, en este caso el receptor FPR2, se intercambia por un aptámero de detección específico para dicha molécula. El ensayo ELISA está basado en el uso de antígenos o anticuerpo marcados, por ejemplo con enzimas, de manera que los complejos formados entre el antígeno diana y el anticuerpo marcado son complejos enzimáticamente activos. Puesto que uno de los componentes, en este caso el antígeno, está inmovilizado en un soporte, los complejos antígeno:anticuerpo están inmovilizados al soporte y, por tanto, pueden ser

20

detectados mediante la adición de un sustrato específico de la enzima. En el caso de ELONA, el aptámero de detección puede estar unido covalentemente a una enzima, o puede en sí ser detectado por un anticuerpo secundario específico del aptámero que esté conjugado a una enzima. Dicha enzima cataliza la transformación de un sustrato específico para producir una señal visible. Esta técnica se puede modificar para intercambiar la enzima por otro reactivo detectable, como puede ser un fluoróforo. En el presente documento se emplean los términos ELONA y ELASA, o ensayo por absorción por aptámero ligado a enzimas (en inglés "Enzyme-Unked Aptamer Sorbent Assay"), indistintamente. En una realización preferida la detección del receptor FPR2 se realiza mediante ELONA.

De manera análoga, los términos "aptacitoquímica" y "aptahistoquímica", en el contexto de la presente invención, se refieren a técnicas análogas a la inmunocitoquímica e inmunohistoquímica para la detección del receptor FPR2 sobre células y cortes histológicos, respectivamente, en donde el anticuerpo que se emplea para detectar la molécula de interés, en este caso el receptor FPR2, se intercambia por un aptámero específico para dicha molécula. El aptámero de detección puede estar unido covalentemente a una enzima, o puede en sí ser detectado por un anticuerpo secundario específico del aptámero que esté conjugado a una enzima. Dicha enzima cataliza la transformación de un sustrato específico para producir una señal visible. Esta técnica se puede modificar para intercambiar la enzima por otro reactivo detectable, como puede ser un fluoróforo. En una realización preferida la detección del receptor FPR2 se realiza mediante aptacitoquímica. En otra realización preferida la detección del receptor FPR2 se realiza mediante aptahistoquímica.

Alternativamente, el experto en la materia reconocerá que estas técnicas (ELONA, aptacitoquímica, aptahistoquímica) se pueden adaptar para intercambiar el anticuerpo de detección por una sonda específica del aptámero.

El término "citometría de flujo", en el contexto de la presente invención, se refiere a una técnica de análisis celular que implica medir las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. Además de la dispersión de la luz, si previamente a su análisis se coloca a las células en presencia de aptámeros marcados con moléculas fluorescentes, se pueden evaluar que células poseen los antígenos complementarios a los aptámeros

usados. La detección de fluorescencia se realiza con citofluorímetros de flujo (los conocidos como "citómetros" o "FACS" (en inglés "Fluorescence-Activated Cell Sorter"). Esta técnica, al igual que las anteriores, se desarrolló inicialmente para su uso con anticuerpos marcados fluorescentemente pero se puede adaptar fácilmente para su uso con el aptámero de la invención.

Como el experto en la materia apreciará, un complejo que comprende un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente y activar al receptor, donde dicho aptámero comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y un reactivo detectable es particularmente ventajoso para detectar al receptor FPR2, puesto que dicho reactivo detectable posibilita la detección del aptámero comprendido en el complejo cuando está unido al receptor FPR2. La técnica empleada para detectar al receptor FPR2 dependerá del tipo de reactivo detectable, pudiendo ser técnicas basadas, por ejemplo, en fluorimetría, colorimetría o radiactividad.

Así, en otro aspecto, la presente invención se refiere un complejo que comprende (i) un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2, que comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y (ii) un grupo funcional para detectar el receptor FPR2. En una realización particular, el grupo funcional es un reactivo detectable. En otra realización particular de los usos in vitro de la invención, la detección del receptor FPR2 se realiza mediante un método seleccionado del grupo que consiste en ELONA, aptacitoquímica, aptahistoquímica y citometría de flujo. Los términos "aptámero", "FPR2", "complejo", "grupo funcional", "reactivo detectable", "ELONA", "aptacitoquímica", "aptahistoquímica" y "citometría de flujo" han sido descritos en detalle anteriormente y sus definiciones y particularidades se incluyen aquí por referencia.

Dado que las técnicas de ELISA, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica y citometría de flujo son bien conocidas en la técnica, el experto en la materia podrá realizar las adaptaciones necesarias para intercambiar el anticuerpo por el aptámero o complejo según la invención sin necesidad de realizar una experimentación indebida.

Tal y como se ha descrito con anterioridad, el aptámero de la invención como el complejo de la invención presentan la capacidad de unirse específicamente y activar al receptor FPR2. Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención se refiere al uso *in vitro* del aptámero de la invención o del complejo de la invención para activar el receptor FPR2. Tanto el aptámero como el complejo de la invención son activadores del receptor FPR2.

La detección de la unión del receptor FPR2 con el aptámero de la invención también puede llevarse a cabo de manera indirecta mediante la detección de las moléculas producidas como consecuencia de dicha unión receptor-aptámero. Así, como resultado de dicha unión puede observarse un aumento en la producción de quimioquinas y receptores de quimioquinas en monocitos y macrófagos (por ejemplo, sin limitarse a, Gro- α , MDC, MCP-1, MIP-1 α y MIP-1 β), aumento en la producción de VEGF en monocitos y macrófagos, aumento en la movilización de Ca⁺ intracelular de forma sensible a toxina pertúsica, traslocación nuclear de NF- κ B, fosforilación de ERKs, inducción de Bcl-xL e inhibición de la actividad caspasa 3 en neutrófilos, producción de LTB4 en neutrófilos, inducción de la fosforilación y traslocación de p47(phox) y activación de NADPH oxidase en fibroblastos humanos, etc. En queratinocitos humanos, como resultado de la unión del receptor FPR2 con el aptámero de la invención puede observarse, por ejemplo, sin limitarse a, un aumento en la producción de citoquinas y quimioquinas, como IL-6, IFN- β 1, CXCL1, CXCL8/IL8, TNF- α , GM-CSF, IL-10, CXCL10/IP-10, MCP-1, CCL20/MIP3a, etc, inducción de los factores de transcripción Snail y Slug, activación de MMP-2 y MMP-9, activación de las rutas de señalización MAPK y PI3k/Akt y un aumento de la fosforilación de FAK y paxilina.

Métodos *in vitro* de la invención

Tal como se ha explicado previamente, tanto el aptámero de la invención como el complejo de la invención tienen la capacidad de reconocer y unirse específicamente al receptor FPR2, resultando en la activación de dichos receptores.

Por lo tanto, de forma análoga a los usos *in vitro* descritos en párrafos anteriores, la presente invención también se relaciona con un método *in vitro* para la detección del

receptor FPR2 en una muestra biológica aislada de un sujeto, de aquí en adelante “primer método *in vitro* de la invención”, que comprende

- (a) poner en contacto dicha muestra con el aptámero de la invención o el complejo de la invención,
- 5 (b) separar el aptámero o complejo no unido al receptor FPR2, y
- (c) detectar la presencia del aptámero o complejo unido al receptor FPR2 presente en la muestra.

En la presente invención se entiende por “muestra” “muestra biológica” al cultivo
10 celular o al material biológico aislado de un sujeto. La muestra biológica puede contener cualquier material biológico adecuado para detectar el biomarcador deseado y puede comprender células y/o material no celular del sujeto. La muestra se puede aislar de cualquier tejido adecuado o fluido biológico tal como, por ejemplo, sangre, plasma, suero, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR), corazón, cerebro. Las muestras
15 utilizadas para la detección del receptor FPR2 son preferiblemente fluidos biológicos.

Los términos "fluido biológico" y "biofluido" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a fluidos acuosos de origen biológico. El biofluido se puede obtener de cualquier localización (tales como sangre, plasma, suero, orina, bilis,
20 líquido cefalorraquídeo, humor vítreo o acuoso, o cualquier secreción corporal), un exudado (como el líquido obtenido de un absceso o cualquier otro sitio de infección o inflamación), o el líquido obtenido de una articulación (tal como una articulación normal o una articulación afectada por una enfermedad como la artritis reumatoide). Los biofluidos utilizados para la detección del receptor FPR2 son preferiblemente muestras
25 de sangre, plasma, suero o líquido cefalorraquídeo.

El término "sujeto" o "individuo" se refiere a un miembro de una especie de mamífero, e incluye, pero no se limita a animales domésticos, y los primates incluidos los seres humanos; el sujeto es preferiblemente un ser humano, hombre o mujer, de cualquier
30 edad o raza.

Los términos “aptámero” y “receptor FPR2” han sido descritos en detalle anteriormente en la presente descripción, siendo sus definiciones y particularidades aplicables al presente aspecto inventivo.

35

En una primera etapa, el primer método de la invención comprende poner en contacto la muestra biológica aislada del sujeto con el aptámero de la invención o el complejo de la invención.

5 El aptámero o el complejo de la invención se aplica sobre la muestra en un tampón adecuado para permitir la unión del aptámero o del complejo a las moléculas de receptor FPR2 que puedan estar presentes en la muestra. Ejemplos no limitativos de tampones adecuados para permitir la unión del aptámero o complejo de la invención a las moléculas de receptor FPR2 incluyen, sin limitar a, PBS, TBS,
10 tampón fosfato y tampón citrato. Preferiblemente, estos tampones contienen 1mM MgCl₂. La cantidad de aptámero o de complejo de la invención necesaria para detectar las moléculas de receptor FPR2 presentes en la muestra dependerá tanto del tamaño de la muestra como de la cantidad de receptor FPR2 presente en la misma, y se podrá determinar fácilmente por procedimientos de optimización que son habituales en la
15 técnica. De manera orientativa, la concentración de aptámero o del complejo de la invención es de al menos 1 fM, al menos 10 fM, al menos 100 fM, al menos 1 pM, al menos 10 pM, al menos 100 pM, al menos 1 nM, al menos 10 nM, al menos 100 nM, al menos 1 μM, al menos 10 μM, al menos 100 μM o más. Preferiblemente, la concentración de aptámero es de entre 100 fM y 1 μM, más preferiblemente entre 1
20 pM Y 100 nM, aún más preferiblemente entre 100 pM Y 1 nM.

El aptámero o el complejo de la invención se incuba con la muestra a una temperatura adecuada y durante un tiempo suficiente para permitir la unión del aptámero o el complejo a las moléculas de receptor FPR2 que puedan estar presentes en la
25 muestra. La temperatura es, preferiblemente, entre 20°C y 37°C. De manera orientativa, el aptámero se incubará con la muestra durante al menos 5 minutos, al menos 10 minutos, al menos 15 minutos, al menos, 20 minutos, al menos 30 minutos, al menos 60 minutos, al menos 120 minutos o más.

30 Una vez que el aptámero o el complejo de la invención se ha unido a las moléculas de receptor FPR2 que puedan estar presentes en la muestra, en una segunda etapa del primer método de la invención, la muestra se lava para eliminar las moléculas de aptámero o de complejo que no se hayan unido al receptor FPR2.

Tras el lavado, en una tercera etapa se detecta la presencia del aptámero o del complejo de la invención unido al receptor FPR2 presente en la muestra.

Puesto que el aptámero de la invención no es en sí mismo una molécula detectable, la
5 etapa de detección es una etapa de detección indirecta a través de una segunda molécula detectable que se une específicamente al aptámero. La detección del aptámero unido al receptor FPR2 puede llevarse a cabo con prácticamente cualquier anticuerpo o reactivo conocido que se una con alta afinidad al aptámero de la invención. No obstante, es preferible el uso de un anticuerpo específico frente al
10 aptámero, por ejemplo, suero policlonal, sobrenadantes de hibridoma, anticuerpos monoclonales o humanizados y fragmentos de los mismos. Dicho anticuerpo específico del aptámero está convenientemente marcado con un reactivo detectable. El término "reactivo detectable" ha sido descrito en detalle anteriormente y su definición y particularidades se incluyen aquí por referencia. Dicho reactivo se puede
15 detectar por medio de fluorimetría o colorimetría utilizando aparatos adecuados para el tipo de reactivos y el tipo de muestra, que son conocidos para el experto en la materia. A modo de ejemplo, la muestra con el aptámero unido a las moléculas de receptor FPR2 presentes se incubaba con un anticuerpo específico del aptámero está conjugado con una enzima, en condiciones similares a las condiciones de incubación con el
20 aptámero, y los complejos FPR2-aptámero-anticuerpo se detectan con la adición de un sustrato que es convertido por la enzima a un producto detectable, por ejemplo, por medio de fluorimetría en un microscopio de fluorescencia o por colorimetría en un espectrofotómetro. Alternativamente, la detección se puede realizar de manera análoga mediante el empleo de una sonda específica del aptámero marcada
25 convenientemente con un reactivo detectable. El experto en la materia reconocerá que el primer método in vitro de la invención puede llevarse a cabo como parte de técnicas de detección tales como ELONA, ELASA, precipitación y qPCR, ensayo de cambio de movilidad en gel, Western Blotting, resonancia de plasmón superficial, electroforesis capilar cinética, ensayo de unión de fluorescencia, aptahistoquímica, aptacitoquímica,
30 microscopía de fluorescencia o citometría de flujo.

En el caso de que la tercera etapa del primer método de la invención comprenda la detección del complejo de la invención unido al receptor FPR2 presente en la muestra, la detección del complejo según la invención puede llevarse a cabo con prácticamente
35 cualquier anticuerpo o reactivo conocido que se una con alta afinidad al aptámero de

la invención o al grupo funcional. La detección del aptámero de la invención se ha descrito en detalle en párrafos anteriores. De igual manera, en relación con el grupo funcional, la detección también puede llevarse a cabo con prácticamente cualquier anticuerpo o reactivo conocido que se una con alta afinidad a dicho grupo funcional.

5 Por esta razón, es particularmente conveniente que el grupo funcional sea un reactivo detectable.

En una realización particular el grupo funcional es un reactivo detectable seleccionado del grupo formado por radionúclidos, fluoróforos, proteínas y haptenos. Los términos
10 "radionúclido", "fluoróforo", "proteína detectable" y "hapteno" han sido descritos en detalle anteriormente y sus definiciones y particularidades se incluyen aquí por referencia.

Como apreciará el experto en la materia, los reactivos detectables contemplados por
15 la presente invención se pueden dividir entre los reactivos que son directamente detectables por sí mismos, como los radionúclidos o los fluoróforos, y los reactivos que son indirectamente detectables, tales como las proteínas o los haptenos. En una realización particular, el reactivo detectable es un radionúclido y la detección se realiza por detección de la radiación emitida por el radionúclido. Dicha radiación dependerá
20 del tipo de radionúclido, pudiendo ser una emisión de partículas α , partículas β o emisión de tipo γ . A este efecto, son ampliamente conocidas las técnicas de detección adecuadas para los diferentes radionúclidos. A modo de ejemplo, la emisión emitida por ^{123}I puede ser detectada por una cámara gamma.

25 En otra realización particular, el reactivo detectable es un fluoróforo y la detección se realiza por detección de la fluorescencia emitida por el fluoróforo. El empleo de un fluoróforo requiere la excitación previa del mismo con una longitud de onda dentro de su espectro de excitación, lo cual provoca una emisión a una longitud de onda diferente. Las longitudes de onda de excitación y de emisión de los fluoróforos
30 contemplados en la presente invención forman parte del estado de la técnica. La fluorescencia emitida puede detectarse, por ejemplo, por técnicas de fluorimetría empleando un espectrofotómetro de fluorescencia o un microscopio de fluorescencia.

En otra realización particular, el reactivo detectable es una proteína. Ésta se podrá
35 detectar dependiendo del tipo de proteína utilizada. Por ejemplo:

- una enzima requiere la adición de su sustrato específico que será detectable por colorimetría, quimioluminiscencia o fluorimetría;
- una proteína fluorescente, al igual que un fluoróforo, requiere la excitación a una longitud de onda adecuada para ser detectable por fluorimetría
- 5 - un antígeno o un hapteno requiere un anticuerpo u otra molécula que lo reconozca específicamente. Para poder ser detectado, dicho anticuerpo o molécula específica para el antígeno/hapteno necesita estar marcado, por ejemplo, con una enzima, y la detección dependerá del tipo de marcaje.

10 El experto en la materia reconocerá que la tercera etapa del primer método *in vitro* de la invención puede llevarse a cabo como parte de técnicas de detección tales como ELONA, ELASA, precipitación y qPCR, ensayo de cambio de movilidad en gel, Western Blotting, resonancia de plasmón superficial, electroforesis capilar cinética, ensayo de unión de fluorescencia, aptahistoquímica, aptacitoquímica, microscopía de
15 fluorescencia o citometría de flujo. Todas estas técnicas han sido explicadas en párrafos anteriores de la presente descripción, y dichas explicaciones son aplicables al presente aspecto inventivo. En una realización particular, la detección de FPR2 se realiza por medio de fluorescencia.

20 En otro aspecto, la invención se relaciona con un método *in vitro* para activar el receptor FPR2 en una muestra biológica aislada de un sujeto, de aquí en adelante “segundo método *in vitro* de la invención”, que comprende poner en contacto dicha muestra que comprende el receptor FPR2 con el aptámero de la invención o el complejo de la invención, en las condiciones adecuadas para activar el receptor FPR2.

25 Los términos "aptámero", "receptor FPR2", "activación de FPR2", "muestra" y "sujeto" han sido descritos en detalle anteriormente y sus definiciones y particularidades se incluyen aquí por referencia.

30 En una realización particular, el receptor FPR2 de la muestra está comprendido en células vivas.

El término "condiciones adecuadas para activar el receptor FPR2 ", en el contexto de la presente invención, se refiere a las condiciones de incubación que permiten la unión
35 del aptámero o del complejo de la invención al receptor FPR2 y su posterior activación.

Estas condiciones incluyen la composición del tampón en el que se aplica el aptámero o el complejo de la invención sobre la muestra, la cantidad de aptámero o de complejo, el tiempo de incubación y la temperatura de incubación. Ejemplos no limitativos de tampones adecuados para permitir la unión del aptámero de la invención al receptor FPR2 y su posterior activación incluyen, sin limitar a, PBS, TBS, tampón fosfato y tampón citrato. Preferiblemente, estos tampones contienen 1 mM MgCl₂. La cantidad de aptámero o complejo de la invención necesaria para detectar las moléculas de receptor FPR2 presentes en la muestra dependerá tanto del tamaño de la muestra como de la cantidad de moléculas de receptor FPR2 presentes en la misma, y se podrá determinar fácilmente por procedimientos de optimización que son habituales en la técnica. Las concentraciones de aptámero o complejo de la invención han sido descritas previamente en la presente descripción para otros aspectos inventivos. El aptámero se incuba con la muestra a una temperatura adecuada y durante un tiempo suficiente para permitir la unión del aptámero o del complejo de la invención a las moléculas de receptor FPR2 que puedan estar presentes en la muestra. La temperatura es, preferiblemente, entre 20°C y 37°C, más preferiblemente 37°C. De manera orientativa, el aptámero se incubará con la muestra durante al menos 5 minutos, al menos 10 minutos, al menos 15 minutos, al menos, 20 minutos, al menos 30 minutos, al menos 60 minutos, al menos 120 minutos, o más.

20

En una realización particular del segundo método de la invención, el sujeto es un ser humano. En otra realización particular del segundo método de la invención, la muestra biológica es sangre, plasma, suero o líquido cefalorraquídeo. Estos términos han sido definidos en párrafos anteriores de la presente descripción.

25

Composición de la invención

Como entiende el experto en la materia, tanto el aptámero de la invención como el complejo de la invención pueden formar parte de una composición, más en concreto, de una composición farmacéutica si está va a administrarse a un individuo con finalidades terapéuticas.

30

Así, en otro aspecto, la presente invención se relaciona con una composición farmacéutica, de aquí en adelante "composición farmacéutica de la invención", que

comprende el aptámero de la invención y/o el complejo de la invención, junto con un soporte, excipientes y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 Como se ha explicado al comienzo de la presente descripción, el aptámero de la invención es un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activarlo, que comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con la secuencia nucleótidos SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. Si el aptámero de la invención lleva unido un grupo funcional, entonces tenemos el complejo de la invención. Los términos
10 “aptámero”, “receptor FPR2”, “activación”, “identidad de secuencia”, “complejo” y “grupo funcional” han sido definidos previamente, así como las realizaciones particulares de los mismos, las cuales son aplicables al presente aspecto inventivo.

15 La composición de la invención puede comprender más de un aptámero de la invención, en donde los aptámeros comprenden distintas secuencias de nucleótidos entre ellos. Así, en una realización particular, la composición de la invención comprende aptámeros que comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 1, y aptámeros que comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 2. En otra realización particular, la composición de la invención comprende aptámeros que
20 comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 1 y aptámeros que comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 3. En otra realización particular, la composición de la invención comprende aptámeros que comprenden la secuencia SEQ ID NO: 2 y aptámeros que comprenden la secuencia SEQ ID NO: 3. En otra realización particular, la composición de la invención comprende aptámeros que
25 comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 1, aptámeros que comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 2 y aptámeros que comprenden la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO: 3. Dentro de la composición de la invención también se contemplan variantes funcionalmente equivalentes de los aptámeros que comprenden las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, en donde dichas
30 variantes presentan una identidad de secuencia de, al menos el 70%, con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. Los términos identidad de secuencia y variante funcionalmente equivalente han sido definidas para el aptámero de la invención. Como entiende el experto en la materia, estas realizaciones particulares también aplican al complejo de la invención.

35

Tal como se usa en la presente descripción, el término "soporte farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "solvente farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales soportes y vehículos en sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier soporte convencional es incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones de la invención. Los vehículos aceptables, excipientes, o estabilizadores aceptables no son tóxicos para el sujeto a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, butilo o alcohol bencilico; alquil para benos tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol, y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 aminoácidos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos incluyendo la glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contra-iones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

También se pueden incorporar en la composición farmacéutica proporcionada por la presente invención compuestos activos suplementarios. Por lo tanto, en una realización particular, la composición farmacéutica proporcionada por la presente invención puede también comprender más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular que se trata, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no afectan de manera adversa entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proporcionar además un agente quimioterapéutico, una citoquina, un agente analgésico, un agente antiinflamatorio o un agente inmunosupresor. La cantidad eficaz de dichos otros agentes activos depende, entre otras cosas, de la cantidad terapéutica de los aptámeros o de los complejos que están presentes en la

composición farmacéutica, la naturaleza y la gravedad de la patología a tratar, el sujeto, etc.

5 Los aptámeros o el complejo de la invención pueden estar en la composición de la invención en una cantidad terapéuticamente efectiva. El término "una cantidad terapéuticamente efectiva", en el contexto de la presente invención, se refiere a la cantidad del aptámero o complejo de la invención que se requiere para alcanzar una prevención, curación, retraso, reducción de la gravedad de, o mejora de uno o más síntomas apreciables de la patología caracterizada por una disminución de expresión del receptor FPR2 y/o una disminución de aumento de activación del receptor FPR2, y/o una ausencia/baja cantidad del ligando natural del receptor FPR2 (baja cantidad con respecto a la cantidad de ligando natural en condiciones normales de salud).

15 En una forma de realización particular de la composición de la invención, el aptámero de la invención o el complejo de la invención se formulan con vehículos que protegerán dichos productos frente a una eliminación rápida del cuerpo, tales como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica.

25 La composición farmacéutica proporcionada por la presente invención puede ser administrada a un sujeto mediante cualquier ruta de administración adecuada, como por ejemplo, sin limitarse a, vía parenteral, vía oral, vía tópica, vía oftálmica, vía inhalatoria o vía intranasal.

30 El término "parenteral", en el contexto de la presente invención, incluye la administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, o subcutánea. La forma intravenosa de administración parenteral es generalmente preferida.

35 Además, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden administrar de forma adecuada por infusión de pulsos, por ejemplo, con dosis decrecientes del aptámero o del complejo de la invención. Preferiblemente, la dosificación se proporciona mediante inyecciones, más preferiblemente inyecciones

intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica.

5 En otra realización particular, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden adaptar para la administración parenteral con la adición de soluciones estériles, suspensiones o productos liofilizados en la forma de dosificación adecuada. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles o dispersiones o polvos estériles para la preparación de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la 10 administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática CremophorEM (BASF, Parsippany, NJ) o tampón fosfato salino (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y fluida para facilitar la inyectabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse frente a la acción contaminante de 15 microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, un poliol farmacéuticamente aceptable como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el 20 mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, poli 25 alcoholes tales como manitol, sorbitol, y cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede provocarse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y/o gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando la cantidad 30 requerida del compuesto activo (por ejemplo, un aptámero o complejo de la invención) en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes 35 requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la

preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y el secado por congelación que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente filtrada estéril del mismo.

5

En una realización particular, dicha composición farmacéutica se administra a través de vía intravenosa. Excipientes adecuados pueden ser utilizados, tales como agentes de carga, agentes tamponantes o tensioactivos. Las formulaciones mencionadas se prepararán usando métodos estándar tales como los descritos o contemplados en las farmacopeas española y estadounidense y textos de referencia similares.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas, a saber, las composiciones parenterales, en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de dosificación. Forma de unidad de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo (un aptámero o complejo de la invención) calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención están dictadas por y dependen directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a conseguir, y las limitaciones inherentes en la técnica de composición de tal compuesto activo para el tratamiento de sujetos.

Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de la invención pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, pastillas, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina, aromatizante. Agentes tales como menta, aceite de gaulteria o cereza, colorantes y conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Los comprimidos que contienen compuestos de la invención en mezcla con

excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos también pueden fabricarse por métodos conocidos. Los excipientes utilizados pueden ser, por ejemplo, (1) diluyentes inertes tales como carbonato de calcio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; (2) agentes de granulación y desintegración tales como almidón de maíz, almidón de patata o ácido algínico; (3) agentes aglutinantes tales como goma de tragacanto, almidón de maíz, gelatina o acacia, y (4) agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

En algunos casos, las formulaciones para uso oral pueden estar en forma de cápsulas de gelatina dura en las que los compuestos de la invención se mezclan con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín. También pueden estar en forma de cápsulas de gelatina blanda en las que los compuestos de la invención se mezclan con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de la invención pueden estar en una forma adecuada para uso tópico, por ejemplo, como suspensiones oleosas, como soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o líquidos no acuosos, o como emulsiones líquidas de aceite en agua o agua en aceite.

Para la aplicación oftálmica, preferiblemente las soluciones se preparan usando un solución salina fisiológica como vehículo principal. El pH de tales soluciones oftálmicas debe mantenerse preferiblemente entre 4.5 y 8.0 con un sistema de tampón apropiado, prefiriéndose un pH neutro pero no esencial. Las formulaciones también pueden contener conservantes, estabilizantes y tensioactivos farmacéuticamente aceptables convencionales.

Los conservantes preferidos que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, cloruro de benzalconio,

clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico y nitrato fenilmercúrico. Un tensioactivo preferido es, por ejemplo, Tween 80. Asimismo, pueden usarse diversos vehículos preferidos en las preparaciones oftálmicas de la presente invención. Estos vehículos incluyen, pero no se limitan a, alcohol polivinílico, povidona, hidroxipropil metil
5 celulosa, poloxámeros, carboximetil celulosa, hidroxietilcelulosa ciclodextrina y agua purificada.

Se pueden agregar ajustadores de tonicidad según sea necesario o conveniente. Incluyen, pero no se limitan a, sales, particularmente cloruro de sodio, cloruro de
10 potasio, manitol y glicerina, o cualquier otro ajustador de tonicidad aceptable oftálmicamente adecuado.

Se pueden usar varios tampones y medios para ajustar el pH siempre que la preparación resultante sea oftálmicamente aceptable. Por consiguiente, los tampones
15 incluyen tampones de acetato, tampones de citrato, tampones de fosfato y tampones de borato. Se pueden usar ácidos o bases para ajustar el pH de estas formulaciones según sea necesario.

De manera similar, un antioxidante oftálmicamente aceptable para uso en la presente
20 invención incluye, pero no se limita a, metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, acetilcisteína, hidroxianisol butilado y butilato.

Otros componentes excipientes que pueden incluirse en las preparaciones oftálmicas son agentes quelantes. El agente quelante preferido es edodato disódico, aunque
25 también se pueden usar otros agentes quelantes en lugar o junto con él. Los ingredientes se utilizan generalmente en las siguientes cantidades: cantidad de ingrediente (% w / v), ingrediente activo alrededor de 0,001-5 conservante 0-0,10, vehículo 0-40, ajustador de tonicidad 0-10, buffer 0,01-10, ajustador de pH q .s. pH 4.5-7.8, antioxidante según sea necesario, surfactante según sea necesario, agua
30 purificada para hacer el 100%.

Los compuestos activos (aptámero o complejo de la invención) se administrarán típicamente una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 o 4 veces diarias, con dosis diarias totales típicas en el intervalo de 0,0001 a 1,000 mg/kg de peso corporal/día,
35 preferiblemente de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso

corporal/día, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal/día. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular con el fin de contener la cantidad deseada, tal como una cantidad terapéutica mente eficaz del aptámero o complejo de la invención.

5

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden incluir en un recipiente, envase, o dispensador junto con instrucciones para su administración.

10 Usos médicos del aptámero, del complejo o de la composición de la invención

La causa que subyace a muchas enfermedades se debe a la baja actividad o inhibición de un receptor celular, lo que conlleva el bloqueo o la inhibición de la ruta biológica dependiente de la activación de dicho receptor. Por lo tanto, una molécula que actúen como un activador o agonista de un receptor celular, y que sea capaz de incrementar o activar la ruta biológica asociada, puede ser de utilidad en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad.

Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención se relaciona con el aptámero de la invención, un complejo de la invención o la composición de la invención para su uso como medicamento.

En otro aspecto, la presente invención se relaciona con el aptámero de la invención, un complejo de la invención o la composición de la invención, para su uso en la profilaxis/prevenición y/o el tratamiento de una enfermedad, condición o patología caracterizada por una disminución o inhibición de la expresión del receptor FPR2, y/o una disminución o bloqueo en la activación del receptor FPR2, y/o una ausencia/baja cantidad del ligando natural del receptor FPR2 (baja cantidad con respecto a la cantidad de ligando natural en un sujeto condiciones normales de salud).

30

En la presente invención se entiende por "ausencia" cuando el ligando natural del receptor está en unas concentraciones tan bajas que no es posible detectar su presencia. En la presente invención se entiende que un individuo/sujeto presenta "condiciones normales de salud" o está "sano" cuando el individuo no presenta síntoma, signo o indicio de que sufra una enfermedad o esté enfermo.

35

En la presente invención se entiende por "tratamiento" o "terapia", a la intervención clínica en un intento de curar, retrasar, reducir la gravedad de, o mejorar uno o más síntomas de la patología caracterizada por una disminución o inhibición de la expresión del receptor FPR2, y/o una disminución o bloqueo en la activación del receptor FPR2, y/o una ausencia/baja cantidad del ligando natural del receptor FPR2 (baja cantidad con respecto a la cantidad de ligando natural en condiciones normales de salud). En la presente invención se entiende por "profilaxis" o "prevención" o "prevenir", a acción de evitar el desarrollo o progreso de una enfermedad o patología tal como la indicada anteriormente.

En una realización particular, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en cáncer, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad infecciosa, una enfermedad pulmonar, una enfermedad vascular, una enfermedad metabólica, una enfermedad ocular y una enfermedad epitelial.

El término "cáncer", como se usa en el presente documento, se refiere también a tumores, enfermedades proliferativas, tumores malignos y sus metástasis. Ejemplos de enfermedades cancerosas incluyen, sin limitar a, adenocarcinoma, melanoma corioideo, leucemia aguda, neurinoma acústico, carcinoma ampular, carcinoma anal, astrocitoma, carcinoma de células basales, cáncer pancreático, tumor desmoide, cáncer de vejiga, carcinoma bronquial, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), Cáncer de mama, linfoma de Burkitt, cáncer de corpus, síndrome de CUP (carcinoma de origen primario desconocido), cáncer colorrectal, cáncer del intestino delgado, tumores del intestino delgado, cáncer de ovario, carcinoma endometrial, ependimoma, tipos de cáncer epitelial, tumores de Ewing, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de vesícula biliar, carcinomas de vesícula biliar, cáncer de útero, cáncer de cérvix, cérvix, glioblastomas, tumores ginecológicos, tumores de oído, nariz y garganta, neoplasias hematológicas, leucemia de células pilosas, cáncer de uretra, cáncer de piel, cáncer de testículo de la piel, tumores cerebrales (gliomas) , metástasis cerebrales, cáncer de testículo, tumor de hipófisis, carcinoides, sarcoma de Kaposi, cáncer de laringe, tumor de células germinales, cáncer de hueso, carcinoma colorrectal , tumores de cabeza y cuello (tumores del área del oído, nariz y garganta), carcinoma de colon, craneofaringiomas, cáncer oral (cáncer en el área de la boca y en

los labios), cáncer del sistema nervioso central, cáncer de hígado, metástasis hepáticas, leucemia, Tumor de párpado, cáncer de pulmón, cáncer de ganglio linfático (Hodgkin's / Non-Hodgkin's), linfomas, cáncer de estómago, melanoma maligno, neoplasia maligna, tumores malignos del tracto gastrointestinal, carcinoma de mama, 5
 cáncer de recto, meduloblastomas, melanoma, meningiomas, enfermedad de Hodgkin, micosis fungoideides , cáncer nasal, neurinoma, neuroblastoma, cáncer de riñón, carcinomas de células renales, linfomas no hodgkinianos, oligodendroglioma, carcinoma de esófago, carcinomas osteolíticos y carcinomas osteoplásticos, osteosarcomas, carcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, carcinoma de páncreas, 10
 carcinoma pancreático, plasmiocitoma, carcinoma de células escamosas y cuello (SCCHN), cáncer de próstata, cáncer de faringe, carcinoma de recto, retinoblastoma, cáncer de vagina, carcinoma de tiroides, enfermedad de Schneeberger, cáncer de esófago, espinaliomas, linfoma de células T (micosis fungoides), timoma, carcinoma de tubo, tumores oculares, cáncer de uretra, tumores urológicos, carcinoma urotelial, 15
 cáncer de vulva, aparición de verrugas, tumores de tejidos blandos, sarcoma de tejidos blandos, tumor de Wilm, carcinoma cervical y cáncer de lengua.

El aptámero de la invención, el complejo de la invención o la composición de la invención, son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades oculares 20
 que incluyen, entre otras, uveítis, ojo seco, queratitis, enfermedad ocular alérgica, queratitis infecciosa, queratitis herpética, angiogénesis corneal, linfangiogénesis, uveítis, retinitis y coroiditis, como epiteliopatía multifocal placoide pigmentaria aguda, enfermedad de Behcet, cicatrización postoperatoria de la herida corneal, afecciones causadas por láser, afecciones causadas por terapia fotodinámica, degeneración 25
 macular relacionada con la edad (ARMD) húmeda y seca, afecciones que afectan la parte posterior del ojo, como maculopatías y degeneración de la retina, incluida la degeneración macular no exudativa relacionada con la edad, la degeneración macular relacionada con la edad exudativa, la neovascularización coroidea, la retinopatía diabética (proliferativa), la retinopatía de la prematuridad (ROP), la neurorretinopatía 30
 macular aguda; coriorretinopatía serosa central, edema macular cistoide, y edema macular diabética; retinocoroidopatía de aves, uveítis intermedia (pars planitis), coroiditis multifocal, síndrome de múltiples puntos blancos evanescentes (MEWDS), sarcoidosis ocular, escleritis posterior, coroiditis serpigiosa, síndrome de fibrosis subretinal y uveítis, síndrome de Koyanagi y Harada; enfermedades 35
 vasculares/enfermedades exudativas tales como enfermedad oclusiva de la retina

arterial, oclusión de la vena central de la retina, edema macular cistoide, coagulopatía intravascular diseminada, oclusión de la rama venosa de la retina (ORVR), cambios de la hipertensión en el fondo del ojo, síndrome de isquemia ocular, microaneurismas arteriales de la retina, enfermedad de Coat, telangiectasias yuxtafoveales, oclusión de la vena hemi-retiniana, papiloflebitis, oclusión de la arteria central de la retina, oclusión de una rama de la arteria retiniana, enfermedad de la arteria carótida (EAC), angiitis en rama escarchada (en inglés *Frosted branch angiitis*), retinopatía de células falciformes y otras hemoglobinopatías, estrías angioideas, vitreoretinopatía exudativa familiar y enfermedad de Eales; afecciones traumáticas / quirúrgicas tales como oftalmía simpática, enfermedad retiniana uveítica, desprendimiento de retina, traumatismo, afecciones causadas por terapia fotodinámica, fotocoagulación, hipoperfusión durante la cirugía, retinopatía por radiación y retinopatía por trasplante de médula ósea; trastornos proliferativos tales como retinopatía vítrea proliferativa y membranas epiretinales, y retinopatía diabética proliferativa; trastornos infecciosos como histoplasmosis ocular, toxocariasis ocular, síndrome de presunta histoplasmosis ocular (en inglés *presumed ocular histoplasmosis syndrome* o POHS), endoftalmitis, toxoplasmosis, enfermedades de la retina asociadas con la infección por VIH, enfermedad coroidea asociada con la infección por VIH, enfermedad uveítica asociada con infección por VIH, retinitis viral, necrosis retiniana aguda, necrosis retiniana externa progresiva, enfermedades de la retina fúngica, sífilis ocular, tuberculosis ocular, neurorretinitis subaguda unilateral difusa y miasis; trastornos genéticos como retinitis pigmentosa, trastornos sistémicos con distrofias retinianas asociadas, ceguera nocturna congénita estacionaria, distrofias de conos, enfermedad de Stargardt y fundus flavimaculatus, enfermedad de Best, distrofia en patrón del epitelio pigmentado de la retina (en inglés *pattern dystrophy of the retinal pigmented epithelium*), retinosquiasis ligada al cromosoma X, distrofia de Sorsby del fondo del ojo (en inglés *Sorsby's fundus dystrophy*), maculopatía concéntrica benigna, distrofia cristalina de Bietti y pseudoxantoma elástico; desgarros/orificios en la retina, como desprendimiento de retina, orificio macular y desgarro gigante de la retina; Tumores como la enfermedad de la retina asociada con tumores, hipertrofia congénita del epitelio pigmentado de la retina, melanoma uveal posterior, hemangioma coroideo, osteoma coroideo, metástasis coroidea, hamartoma combinado de retina y epitelio pigmentado (en inglés *combined hamartoma of the retina and retinal pigmented epithelium* o CHRPE), retinoblastoma, tumores vasoproliferativos del fondo ocular, astrocitoma retiniano y tumores linfoides intraoculares; y otras enfermedades diversas que afectan

la parte posterior del ojo, como coroidopatía interna punteada, epiteliopatía pigmentaria placoide multifocal posterior aguda, degeneración retiniana miópica y epitelitis pigmentaria retiniana aguda, inflamación corneal posquirúrgica, blefaritis, MGD, glaucoma, oclusión de la rama, la degeneración macular viteliforme de Best, la
5 retinitis pigmentosa, la vitreorretinopatía proliferativa (PVR) y cualquier otra enfermedad degenerativa de los fotorreceptores o del pigmento retiniano epitelial (RPE).

En la presente invención, se entiende por “enfermedad autoinmune” a cualquiera de
10 un grupo de enfermedades o trastornos en los cuales la lesión tisular se asocia con una respuesta inmune humoral y/o celular a los constituyentes del cuerpo o, en un sentido más amplio, una respuesta inmune a uno mismo. La respuesta inmune patológica puede ser sistémica o específica de órgano. Es decir, por ejemplo, y sin limitar a, la respuesta inmune dirigida a uno mismo puede afectar las articulaciones, la
15 piel, la vaina de mielina que protege las neuronas, riñones, hígado, páncreas, tiroides, suprarrenales y ovarios.

Ejemplos de enfermedades autoinmunes de los ojos incluyen, sin limitar a, la neuritis óptica idiopática, la oftalmía simpática, la uveítis anterior y otras formas de uveítis, la
20 degeneración de la retina y la úlcera de Mooren. Ejemplos de enfermedades autoinmunes de la piel incluyen, sin limitar a, pemfigoides ampollar, urticaria crónica (subtipo autoinmune), dermatitis herpetiforme (Morbus Duhring), epidermolisis bullosa adquirida (EBA), angioedema adquirido, herpes gestationes, hipercomplementemico urticarial vasculitis (HUV), y pénfigo. Ejemplos de enfermedades autoinmunes
25 hematológicas incluyen, sin limitar a, la anemia hemolítica autoinmune, la neutropenia autoinmune, el síndrome de Evans, la hemofilia inhibidora, la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) y la anemia perniciosa. Algunos ejemplos de enfermedades autoinmunes del corazón incluyen, sin limitar a, el bloqueo cardíaco congénito, la miocardiopatía dilatativa idiopática, la miocardiopatía periparto, el síndrome de
30 postcardiotomía y el síndrome posinfarto (síndrome de Dressler). Algunos ejemplos de enfermedades autoinmunes del oído, la nariz y la garganta incluyen, sin limitar a, la pérdida auditiva neurosensorial crónica y el morbus Meniere. Ejemplos de enfermedades autoinmunes del colon incluyen, sin limitar a, la enteropatía autoinmune, la colitis ulcerosa, la colitis indeterminada, la enfermedad de Crohn y la
35 enteropatía sensible al gluten. Los ejemplos de trastornos autoinmunes incluyen, sin

limitar a, síndrome poliglandular autoinmune tipo 1, síndrome poliglandular autoinmune tipo 2, diabetes mellitus tipo 1 (IDDM), Hashimoto-tiroiditis, insulina-autoinmune-síndrome (IAS), diabetes insípida idiopática, idiopática hipoparascópica, y enfermedad de Graves-Basedow. Algunos ejemplos de enfermedades autoinmunes del hígado
5 incluyen, sin limitar a, la hepatitis autoinmune (AIH tipo 1, 2 y 3), la cirrosis biliar primaria (CBP) y la colangitis esclerosante primaria. Ejemplo de enfermedades autoinmunes del pulmón incluyen, sin limitar a, el síndrome de Goodpasture. Un ejemplo de una enfermedad autoinmune del estómago incluyen, sin limitar a, la gastritis atrófica crónica (tipo A). Ejemplos de trastornos autoinmunes neurológicos
10 incluyen, sin limitar a, el síndrome de Guillain-Barré, la neuropatía asociada con gammapatía IgM, el síndrome de Lambert-Eaton, el síndrome de Miller-Fisher, la esclerosis múltiple, la neuropatía motora multifocal, la miastenia gravis, el síndrome neurológico paraneoplásico, la encefalitis de Rasmussen y el síndrome del hombre rígido. Los ejemplos de enfermedades autoinmunes del riñón incluyen, sin limitar a, la
15 nefritis anti-TBM, el síndrome de Goodpasture / la nefritis anti-GBM, la nefropatía IgA, la nefritis intersticial y los glomerulonefritis proliferativos de membrana. Otras enfermedades que pueden ser causadas por una reacción autoinmune incluyen, pero no se limitan a, la enfermedad de Behcet, el síndrome de disfunción inmune por fatiga crónica (CFIDS), el síndrome de Cogan I, la endometriosis, el síndrome de HELLP, la
20 enfermedad de Bechterew, la polimialgia reumática, la psoriasis, la sarcoidosis y el vitiligo.

La respuesta inmune patológica puede ser sistémica o específica de órgano. Es decir, por ejemplo, la respuesta inmune dirigida a uno mismo puede afectar las
25 articulaciones, la piel, la vaina de mielina que protege las neuronas, riñones, hígado, páncreas, tiroides, suprarrenales y ovarios.

En una realización particular, la enfermedad es una enfermedad neurodegenerativa. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas que pueden prevenirse y/o ser
30 tratadas con el aptámero de la invención, el complejo de la invención o la composición de la invención incluyen, sin estar limitadas a, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Pick, enfermedad difusa del cuerpo de Lewy, parálisis supranuclear progresiva (síndrome de Steel-Richardson), degeneración multisistémica (síndrome de Shy-Drager), afecciones epilépticas crónicas asociadas con neurodegeneración,
35 enfermedades de las neuronas motoras (esclerosis lateral amiotrófica), esclerosis

múltiple, ataxias degenerativas, degeneración basal cortical, complejo ALS-Parkinson-demenia de Guam, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, sinucleinopatías (incluida la atrofia multisistémica), afasia progresiva primaria, degeneración estriatonigral, enfermedad Machado-José o ataxia espinocerebelosa tipo 3 y olivopontocereferis parálisis pseudobulbar, espinal y spi atrofia muscular nobulbar (enfermedad de Kennedy), esclerosis lateral primaria, paraplejia espástica familiar, enfermedad de Werdnig-Hoffmann, enfermedad de Kugelberg-Welander, enfermedad de Tay-Sach, enfermedad de Sandhoff, enfermedad espástica familiar, enfermedad de la espástica familiar, enfermedad de Wohlfart-Kugelberg-Welander, enfermedad de espasmo parasitaria progresiva Leucoencefalopatía, disautonomía familiar (síndrome de Riley-Day) o enfermedades priónicas (que incluyen, entre otras, la enfermedad de Creutzfeld-Jakob, la enfermedad de Gerstmann-Strussler-Scheinker, la enfermedad de Kuru o el insomnio. Además, el trauma y la lesión progresiva del sistema nervioso pueden ocurrir en varios trastornos psiquiátricos, incluidos, entre otros, formas progresivas y deterioradas del trastorno bipolar o trastorno esquizoafectivo o esquizofrenia, trastornos de control de impulsos, trastorno obsesivo compulsivo (TOC), cambios en la epilepsia del lóbulo temporal y trastornos de la personalidad.

En otra realización particular, la enfermedad es una enfermedad infecciosa. Ejemplos de enfermedades infecciosas que pueden prevenirse y/o ser tratadas con el aptámero de la invención, el complejo de la invención o la composición de la invención incluyen, sin estar limitadas a, el SIDA, la enfermedad hidatídica alveolar (DIA, equinocosis), la amebiasis (infección por *Entamoeba histolytica*), la infección por *Angiostrongylus*, la anisakiasis, el ántrax, la babesiosis (infección de Babesia), la infección por *Balantidium* (balantidiasis), la infección por *Baylisascaris*, esquistosomiasis, infección por *Blastocystis hominis* (blastomicosis), boreliosis, botulismo, diarrea de Brainerd, brucelosis, encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), candidiasis, capilariasis (infección de *Capillaria*), síndrome de fatiga crónica (CFS), enfermedad de Chagas (tramosis americana) (*Virus Varicella-Zoster*), infección por *Chlamydia pneumoniae*, cólera, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), clonorquiasis (infección por *Clonorchis*), larva migrans cutánea (CLM) (infección por anquilostomas), coccidioidomicosis, conjuntivitis, enfermedad de manos, pies y boca (infección por virus Cocksackie), criptococosis, infección por *Cryptosporidium* (criptosporidiosis), mosquito *Culex* (vector del virus del Nilo Occidental), ciclosporiasis (infección por

Cyclospora), cisticercosis (neurocisticercosis), infección por citomegalovirus, dengue, infección por *Dipylidium* (tenia del perro y gato), infección por el virus del Ébola, fiebres entamoeba, e infección (amebiasis), infección por *Entamoeba polecki*, enterobiasis (infección por lombrices intestinales), infección por enterovirus (no polio), infección por el virus de Epstein-Barr, infección por *Escherichia coli*, infección transmitida por los alimentos, fiebre aftosa, dermatitis por hongos, gastroenteritis, enfermedad por estreptococo del grupo A, enfermedad estreptocócica del grupo B, enfermedad de Hansen (lepra), síndrome pulmonar por Hantavirus, infestación por piojos (pediculosis), infección por *Helicobacter pylori*, enfermedad hematológica, infección por el virus de Hendra, hepatitis (VHC, VHB), infección por herpes zoster, herpes zoster, ehrlichiosis humana, infección por el virus de la parainfluenza humana, influenza, isosporiasis (infección por *Isospora*), fiebre de Lassa, leishmaniasis, Kala-azar (infección por Kala-azar, *Leishmania*), piojos (piojos del cuerpo, piojos de la cabeza, piojos púbicos), enfermedad de Lyme, malaria, fiebre hemorrágica de Marburg, sarampión, meningitis, enfermedades transmitidas por mosquitos, infección por *Mycobacterium avium* complex (MAC), Infección por *Naegleria*, infecciones nosocomiales, infección no patógena de amebas intestinales, oncocercosis (ceguera del río), opistorciosis (infección por *Opisthorcis*), infección por parvovirus, plaga, neumonía por *Pneumocystis carinii* (PCP), polio, fiebre Q, rabia, virus sincial respiratorio, fiebre reumática, fiebre del valle del Rift, ceguera del río (oncocercosis), infección por rotavirus, infección por lombrices intestinales, salmonelosis, salmonela enteritidis, sarna, shigelosis, culebrilla, enfermedad del sueño, viruela, infección por estreptococos, infección por tenia (infección por *Taenia*), tétanos, síndrome de shock tóxico, tuberculosis, úlceras (enfermedad de úlcera péptica), fiebre del valle, *Vibrio parahaemolyticus*, infección por *Vibrio vulnificus*, fiebre hemorrágica viral, verrugas, enfermedades infecciosas transmitidas por el agua, infección por el virus del Nilo Occidental (encefalitis del Nilo Occidental), tos ferina y fiebre amarilla.

Tal como se muestra en los ejemplos de la presente descripción, los aptámeros de la invención en un ensayo de cicatrización *in vitro* fueron capaces de activar la migración de la línea de queratinocitos humana HaCaT que expresa de forma estable el receptor FPR2. Asimismo, los aptámeros de la invención también fueron capaces en promover la cicatrización *in vivo* en un modelo animal humanizado en piel. Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención se relaciona con el aptámero de la invención, un complejo de la invención o la composición de la invención, para su uso en el

tratamiento de enfermedades epiteliales o dermatológicas, tal como el tratamiento de una herida.

Así, el aptámero de la invención, el complejo de la invención o la composición de la invención son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades dermatológicas que incluyen, sin limitar a, rosácea, rosácea fulminante, quemaduras solares, psoriasis, sofocos asociados a la menopausia, sofocos y enrojecimiento asociados con sofocos, eritema asociado con sofocos, sofocos resultantes de una orquiectomía, dermatitis atópica, tratamiento del enrojecimiento y la picazón producida por picaduras de insectos, fotoenvejecimiento, dermatitis seborreica, acné, dermatitis alérgica, telangiectasia (dilataciones de pequeños vasos sanguíneos previamente existentes) de la cara, angioectasias, rinofima (hipertrofia de la nariz con dilatación folicular), erupciones cutáneas semejantes a acné (exudación o costras), sensación de ardor o escozor, eritema de la piel, hiperactividad cutánea con dilatación de los vasos sanguíneos de la piel, síndrome de Lyell, síndrome de Stevens-Johnson, picazón local y molestias asociadas con hemorroides, hemorroides, eritema multiforme menor, eritema multiforme mayor, eritema nodoso, hinchazón de los ojos, urticaria, prurito, varices, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis numular, dermatitis exfoliativa generalizada, dermatitis por estasis, liquen simple crónico, dermatitis perioral, pseudofoliculitis, granuloma anular, queratosis actínicas, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, eczema, curación de heridas dermales, cicatrices hipertróficas, cicatrices queloides, melanoma, verrugas virales, fotoenvejecimiento, fotodaño, melasma, hiperpigmentación postinflamatoria, otros trastornos pigmentación, y alopecia (cicatrices y formas no cicatriciales).

En una realización particular, la enfermedad es la epidermolisis bullosa distrófica (del inglés dystrophic epidermolysis bullosa o DEB). Los sujetos que padecen esta enfermedad, aparte de las heridas crónicas en la piel, muestran la aparición de ampollas en la mucosa (principalmente en la orofaringe y el esófago), cicatrización aberrante que conduce a microstomia y estenosis esofágica, laríngea y del vestíbulo nasal. Además, las manifestaciones oftalmológicas de la epidermolisis bullosa distrófica incluyen erosiones o ampollas corneales y cicatrización y lesiones en los párpados.

En el contexto de la presente invención, se entiende por “tratamiento de una herida” a la aceleración del proceso de cicatrización de una herida. Ejemplos no limitativos de heridas son:

- 5 - 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;
- 10 - úlceras de grado 1, 2, 3 y 4 (clasificación en función de su extensión), o úlceras por presión, venosas, arteriales, mixtas, iatrogénicas, diabéticas y neoplásicas/oncológicas (clasificación según su origen); úlceras bucales, úlceras corneales, úlceras genitales, úlceras cutáneas, úlceras pépticas (tales como la úlcera gástrica y la úlcera duodenal, entre otras) (clasificación según su localización).
- 15 - 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,
- 20 - 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,
- 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.

25

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 aptámeros según la divulgación incluyen úlceras orales, lesiones aftosas orales, glosodinia, 30 lengua ardiente, psoriasis, eccema y pérdida de pelo.

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 35 herida cutánea es una herida presente en la piel. Una herida externa debe entenderse

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.

5 Las áreas óseas del cuerpo son los sitios más frecuentemente afectados, que se 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).

10

En una realización particular de la invención, el aptámero, el complejo o la composición 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,

15 laceraciones, incisiones, perforaciones y avulsiones y quemaduras. En otra realización particular de la invención, el aptámero, el complejo o la composición de la invención 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 aptámero, el complejo o la composición de la invención se

20 usa para el tratamiento de una herida interna, en particular una herida de la mucosa 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.

25

En una realización particular, la enfermedad es una enfermedad cardiovascular. Ejemplos de enfermedades cardiovasculares incluyen, sin limitarse a, aneurisma, angina estable, angina inestable, angina de pecho, edema angioneurótico, estenosis de la válvula aórtica, aneurisma aórtico, arritmia, displasia arritmogénica del ventrículo derecho, arteriosclerosis, malformaciones arteriales, fibrilación auricular, fibrilación

30 atrial, brigadillas, adelgazantes, adelgazantes, adelgazar, estropajos, estribaciones arteriales, fibrilación auricular Taponamiento, cardiomegalia, miocardiopatía congestiva, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva, estenosis carotídea, hemorragia cerebral, síndrome de Churg-Strauss, diabetes, anomalía de Ebstein, complejo Eisenmenger, embolismo del colesterol, endocarditis bacteriana,

35 fibromuscular, parásito, pará insuficiencia cardíaca, enfermedad de las válvulas

cardíacas, ataque cardíaco, hematoma epidural, hematoma subdural, enfermedad de Hippel-Lindau, hiperemia, hipertensión, hipertensión pulmonar, hipertrofia cardíaca, hipertrofia ventricular izquierda, hipertrofia ventricular derecha, síndrome del corazón izquierdo hipoplásico, hipotensión, claudicación intermitente, cardiopatía isquémica, 5 síndrome de Klippel-Trenaunay-Weber, síndrome medular lateral, prolapso de la válvula mitral del síndrome QT largo, enfermedad de moyamoya, síndrome del ganglio linfático mucocutáneo, infarto de miocardio, isquemia de miocardio, miocarditis, pericarditis, enfermedades vasculares periféricas, flebitis, poliarteritis nodosa, pulmonar atresia, enfermedad de Raynaud, síndrome de Sneddon, síndrome de la 10 vena cava superior, síndrome X, taquicardia, arteritis de Takayasu, telangiectasia hemorrágica hereditaria, telangiectasia, arteritis temporal, áreas de la parálisis de la parásita, tromboangiitis obliterana, trombosis, trombosetos, trombocitadores vasculitis, vasoespasmo, fibrilación ventricular, síndrome de Williams, enfermedad vascular periférica, venas varicosas y úlceras en las piernas, trombosis venosa profunda, 15 síndrome de Wolff-Parkinson-White.

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 20 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.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25

Figura 1. Generación de una línea de queratinocitos expresando de forma estable el receptor FPR2 A) La línea de queratinocitos HaCaT se transfectó de forma estable utilizando un vector lentiviral que contiene un cassette de expresión para FPR2 humano (transcript variant 1; Origene) fusionado con mGFP. Se comprobó la 30 expresión de FPR2-GFP en la membrana mediante visualización directa utilizando un microscopio invertido con epifluorescencia. B) El péptido WKYMVm (agonista de FPR2) indujo de forma significativa (**p<0,001) respuesta de calcio en los transfectantes HaCaT-FPR2-GFP. Las células se marcaron con Fura-2 en medio con Ca²⁺ y se analizaron las intensidades de fluorescencia a 340 y 380 nm después de 60 35 segundos de estimulación. El gráfico de barras muestra la media ± SD de 4 réplicas

por condición, n=4. Este efecto fue totalmente revertido tras la adición de EGTA al medio.

Figura 2. Obtención de aptámeros para FPR2 utilizando CELL-SELEX. Las células expresando la proteína diana se incuban en presencia de la población de aptámeros (población inicial RND40 en el primer ciclo de SELEX o poblaciones obtenidas tras los distintos ciclos). Los aptámeros unidos se amplifican por PCR, eliminándose la cadena complementaria, y se someten a un nuevo ciclo de selección (selección positiva) o se incuban con las células parentales que no expresan la proteína diana (selección negativa). Se realizan tantos ciclos de SELEX como sea necesario hasta obtener una población enriquecida en aptámeros específicos frente a la molécula diana.

Figura 3. Estudio de la afinidad de los aptámeros frente a FPR2. Los aptámeros se incubaron con las células HaCaT-FPR2-GFP o HaCaT y aquellos que se unen son amplificados por PCR cuantitativa (qPCR). Los aptámeros que se unen con mayor afinidad se recuperan en mayor cantidad y, en consecuencia, se amplifica más mediante PCR, obteniéndose una Ct menor. Los aptámeros ApFP3.5a, ApFP3.8a y ApFP4.5b son los que se unen con mayor afinidad a FPR2.

Figura 4. Estructuras secundarias de los aptámeros frente a FPR2. A) Aptámero ApFP3.5a; B) ApFP3.8a; y C) ApFP4.5b. La predicción de las estructuras secundarias de los aptámeros se realizó mediante análisis bioinformático de sus secuencias utilizando los siguientes programas: mFold (<http://unafold.rna.albany.edu>), RNAfold (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>) y QGRS Mapper (<http://bioinformatics.ramapo.edu/QGRS/analyze.php>).

Figura 5. Colocalización de los aptámeros frente al receptor FPR2 (gris oscuro) y la proteína (gris claro).

Figura 6. Los aptámeros de FPR2 funcionan como agonistas del receptor, inhibiendo la producción de cAMP mediada por forskolina en células 293. A) Las células 293 que expresan de forma estable FPR2-GFP se transfectaron de forma transitoria con construcciones reporteras CRE-luciferasa y Renilla-luciferasa. Transcurridas 24 horas tras la transfección, se añadieron los estímulos indicados durante 4 horas. El gráfico de barras representa la actividad luciferasa normalizada

frente a la actividad Renilla para cada condición, que es proporcional a la cantidad de cAMP producida. Las medias fueron calculadas utilizando tres réplicas biológicas por condición, n=3. Las barras de error representan la desviación estándar, S.D. Se muestra un experimento representativo. La significación estadística (*) se determinó usando la prueba t de Student ($p < 0,05$).

Figura 7. Los aptámeros de FPR2 aumentan la migración de queratinocitos de forma similar al péptido agonista LL37. La actividad procicatrizante de los agonistas de FPR2 fue evaluada en un ensayo de cicatrización in vitro utilizando para ello la línea estable de queratinocitos HaCaT-FPR2-GFP. Los datos representan la media \pm SD de 4-6 campos independientes. La significación estadística (*) se determinó usando la prueba t de Student ($p < 0,05$). Los paneles de la derecha muestran las imágenes de campos representativos en cada condición. Las flechas muestran la dirección de la migración.

Figura 8. Los aptámeros de FPR2 inducen la internalización de CXCR2 y la inhibición de la expresión su mRNA en células THP-1, de forma similar al péptido agonista LL37. A) Los aptámeros de FPR2, al igual que el péptido agonista LL37, son capaces de inducir la internalización del receptor CXCR2 en células THP-1. La visualización del receptor se llevó a cabo por inmunofluorescencia utilizando un anticuerpo específico frente a CXCR2 en células permeabilizadas. B) Los aptámeros frente a FPR2, al igual que el péptido agonista LL37, inhiben de forma significativa ($*p < 0,05$; $**p < 0,005$) la expresión del mRNA de CXCR2.

Figura 9. El aptámero FP4.5bF presenta actividad procicatrizante en un modelo de ratón humanizado en piel

A) Representación esquemática del ensayo de cicatrización en el modelo de ratón humanizado en piel. B) Evaluación histológica de la cicatrización a día 6. Las fotografías muestran secciones representativas de tejidos de piel teñidas con H&E. En los ratones tratados con el aptámero ApFP4.5b se observa una mayor re-epitelización del área de la herida (mayor longitud de la lengua epitelial migratoria) en ratones tratados en comparación con los ratones control. C) Las heridas analizadas para cada tratamiento se representan en función del porcentaje de re-epitelización a día 6 después de la herida. Cada símbolo representa un ratón individual. Se representan las medias del porcentaje de re-epitelización. Las barras de error representan la

desviación estándar. La significación estadística (*) se determinó usando la prueba t de Student ($p < 0,05$).

EJEMPLOS

5

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

10 En la presente invención, se han generado aptámeros específicos mediante la técnica de Cell-SELEX frente al receptor GPCR tipo rodopsina (GPCRA) FPR2, para lo que se han generado líneas celulares que expresan este receptor de forma ectópica.

I. Materiales y Métodos

15 *Librería de aptámeros*

Los inventores utilizaron la librería de aptámeros RND40 para llevar a cabo la selección de aptámeros específicos frente a FPR2, suministrada por IBA GmbH (Goettingen, Alemania). La librería inicial RND40 está teóricamente constituida por 10^{24} oligonucleótidos de ADN de cadena sencilla (ssADN) con secuencia fijas en los
20 extremos, de 18 nucleótidos cada una donde hibridan los cebadores respectivos para su amplificación por PCR, y una región central de 40 bases de secuencia aleatoria. En las selecciones realizadas se han utilizado 10^{13} oligonucleótidos de esta librería.

Células

25 Como diana se utiliza el receptor FPR2 expresado en células HaCaT (HaCaT-FPR2-GFP). La línea de queratinocitos humanos HaCaT, así como la línea 293, fueron crecidas en medio de cultivo DMEM con Glutamax (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD), suplementado con 10% de suero bovino fetal, a 37°C en atmósfera al 5% de CO₂. Para la generación de los transfectantes estables de FPR2 en estas líneas celulares,
30 se realizó transducción lentiviral usando para ello un vector (pLenti-C-mGFP, Origene (Rockville, MD)) que contiene el gen que codifica para FPR2 fusionado a la proteína fluorescente verde GFP bajo el control del promotor CMV.

Selección con células HaCaT-FPR2-GFP/HaCaT

35 Para cada ronda de selección, se sembraron entre 8×10^5 y 10×10^5 células HaCaT-

FPR2-GFP por triplicado en pocillos de placa P6, 24 horas antes del ensayo de selección y se incubaron a 37°C, 5% CO₂. A continuación, se añadió 1 nmol de aptámeros de la librería RND40 (o de la población aislada en la ronda de selección anterior) en 100 µL PBS, previamente desnaturalizados a 95°C durante 10 minutos seguidos de una incubación a 4°C durante 10 minutos, se añadió 300 µL de medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) suplementado con 10% suero bovino fetal, 100 U/mL penicilina, 100 µg/mL estreptomina y 25 µg/mL amfotericina y se aplicaron sobre las células. Tras 1 hora de incubación a 37°C, 5% CO₂, se retiró el medio de cultivo con los aptámeros no unidos, se lavaron las células 2 veces con PBS y se recuperaron en 500 µL de PBS mediante centrifugación a 1500 rpm. Las células se centrifugaron para retirar el sobrenadante y se los aptámeros pegados a las células fueron amplificados por PCR para preparar suficiente cantidad para la siguiente ronda de selección.

La contra-selección sobre células HaCaT de la librería de aptámeros RND40 se realizó en la preparación previa de la población RND40 inicial y cada 3 rondas de selección, con la población aislada de la ronda de selección anterior. Para ello, se sembraron entre 8×10^5 y 10×10^5 células HaCaT por triplicado en pocillos de placa P6, 24 horas antes del ensayo de selección y se incubaron a 37°C, 5% CO₂. A continuación, se añadió 1 nmol de aptámeros de la librería RND40 (o de la población aislada en la ronda de selección anterior) en 100 µL PBS, previamente desnaturalizados a 95°C durante 10 minutos seguidos de una incubación a 4°C durante 10 minutos, se añadió 300 µL de medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) suplementado con 10% suero bovino fetal, 100 U/mL penicilina, 100 µg/mL estreptomina y 25 µg/mL amfotericina y se aplicaron sobre las células. Tras 1 hora de incubación a 37°C, 5% CO₂, se retiró el medio de cultivo con los aptámeros no unidos para ser utilizados en rondas de selección sobre las células HaCaT-FPR2-GFP.

Amplificación de los aptámeros seleccionados

Los aptámeros seleccionados fueron resuspendidos en un volumen de 20 µL de agua destilada y se amplificaron mediante PCR usando los cebadores, que se corresponderán con las secuencias F3 (GCGGATGAAGACTGGTGT (SEQ ID NO: 9)) y R3 (GTTGCTCGTATTTAGGGC (SEQ ID NO: 10)) en las condiciones de 0,8 µM/cebador F3: 0,8 µM/cebador R3: 200 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 10 U Taq polimerasa (Biotools, España) en un volumen final de 200 µL siguiendo el siguiente

programa de amplificación: 2 minutos a 95°C; 15 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 56°C y 30 segundos a 72°C; y finalmente 5 minutos a 72°C.

Caracterización de los aptámeros seleccionados

5 Se identificaron los aptámeros seleccionados después de 3 y 4 rondas de selección mediante clonación de la población de aptámeros en un plásmido con objeto de obtener aptámeros individuales, y posterior secuenciación Sanger.

Las secuencias más representadas se sintetizaron químicamente por IBA GmbH
10 (Goettingen, Alemania) y se estudió la afinidad, la localización subcelular y la actividad de cada uno de los aptámeros.

Las secuencias de nucleótidos de los aptámeros seleccionados son las siguientes:

15 Aptámero ApFP3.5a
GCGGATGAAGACTGGTGTGGGCGGGGTCTTAGGCTGTACGGGGCTGTTTCAGGT
GCTTGCCCTAAATACGAGCAAC (SEQ ID NO: 1)

Aptámero ApFP3.8a
20 GCGGATGAAGACTGGTGTGGGGATCAGGAACTCTGAAATGGCAGTCTATGTTTCA
ATGGCCCTAAATACGAGCAAC (SEQ ID NO: 2)

Aptámero ApFP4.5b
GCGGATGAAGACTGGTGTGGCGCTTCGGGCCTGTCCCTTTATATCCGTAGAT
25 TGAGCCCTAAATACGAGCAAC (SEQ ID NO: 3)

Ensayo de luciferasa para evaluar la producción de cAMP

Las células 293 expresando de forma estable el receptor FPR2-GFP se sembraron en
placas de 96 pocillos en medio completo ($8,8 \times 10^5$ células por placa p96). Al día
30 siguiente, se transfectaron de forma transitoria utilizando Lipofectamina 3000
(Invitrogen, Carlsbad, CA) junto con las construcciones reporteras pCRE-Luc (que
codifica para el elemento de respuesta a cAMP CRE y el gen Luc, que codifica la
luciferasa de luciérnaga), y pSV40-RL (que contiene un promotor SV40 y el gen que
codifica la luciferasa de Renilla). Transcurridas 24 horas tras la transfección, las
35 células se estimularon bien con forskolina (20µM), un activador de la adenilato ciclasa,

bien con el péptido LL37 (5µM)+ forskolina (20µM) o con dos concentraciones del aptámero ApFP4.5b (100µM ó 1µM) + forskolina (20 µM) durante 4 horas. Para la cuantificación de la señal luminiscente se utilizó el kit Dual-Glo® Luciferase Assay System (Promega, Madison. WI), siguiendo las indicaciones de la casa comercial. Las medidas Luc se normalizaron frente a las medidas de Renilla.

Ensayos de migración in vitro

Las células fueron crecidas hasta alcanzar la confluencia en placas de cultivo de 6 pocillos. En ese momento las células fueron deprivadas de suero durante 24 horas. Los aptámeros y el péptido LL37 fueron testados a concentraciones de 100 nM en un ensayo de cicatrización in vitro, donde se añaden tras la eliminación de las células que recubren la mitad de la superficie de cada pocillo. Para evaluar la migración, se tomaron fotografías a distintos tiempos (t = 0 horas – 2 días -4 días - 6 días) tras la generación de la herida. Las fotografías tomadas en los días 4 y 6 después de la herida se superpusieron utilizando el software Adobe Photoshop (Adobe Systems, Berkeley, CA). Las áreas de migración fueron medidas utilizando el software Image J (NIH Image, Bethesda, MD).

Ensayos de internalización de CXCR2

Las células THP-1 crecidas sobre cubreobjetos se trataron con el péptido LL37 (5 µM) y con los aptámeros de FPR2 (5 µM), y se analizó la expresión de CXCR2 mediante inmunofluorescencia tras 5 horas de tratamiento. Las células se lavaron con PBS1x y se fijaron con paraformaldehido al 2% durante 15 minutos. Posteriormente se permeabilizaron las células incubando con saponina al 0,01% durante 30 minutos, y se bloquearon los sitios de unión inespecífica mediante incubación con suero de caballo al 10% y saponina al 0,01% diluidos en PBS1x durante 30 minutos. Las células se incubaron con un anticuerpo policlonal generado frente a CXCR2 humano en conejo (Abcam) durante 1 hora a 4°C. Después de lavar, las células se incubaron con un anticuerpo secundario frente a conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) durante 30 minutos. Después de lavar, las muestras se montaron para su visualización utilizando un microscopio de fluorescencia Axioplan 2 (Zeiss, Jena, Germany).

Inhibición de la expresión del mRNA de CXCR2 por qPCR

El ARN total de las células THP-1 tratadas o no con el péptido LL37 (5µM) o con los

aptámeros específicos de FPR2 (1 μ M) se extrajo utilizando el kit miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). La generación del ADNc se obtuvo utilizando el kit “high capacity reverse transcription system” (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los productos de la reacción RT se utilizaron para su amplificación mediante PCR

5 cuantitativa, utilizando oligonucleótidos específicos, la mezcla Power Sybr Green PCR master mix (Applied Biosystems) y las siguientes condiciones de amplificación: 10 minutos a 95°C, seguido por 40 ciclos de 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C. Los genes de referencia Tata binding protein (TBP) y Ubiquitin C (UBC) se utilizaron para los procedimientos de normalización. Se realizaron reacciones en triplicado

10 simultáneas tanto para los genes diana como para los genes de referencia para cada ADNc molde analizado. El método 2- Δ CT se utilizó para calcular la expresión relativa de cada gen diana (Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001 Dec;25(4):402-8.)

15

Ensayos de cicatrización in vivo

Los experimentos de cicatrización se llevaron a cabo en el modelo de ratón humanizado en piel como se describió previamente (Escamez et al., 2004, J invest Dermatol. 123(6): 1182-91). Para ello se utilizaron ratones inmunodeficientes NMRI nu

20 (Rj;NMRI-Foxn1^{nu/nu}) de 6 a 8 semanas de edad, que fueron trasplantados de forma ortotópica con equivalentes de piel human bioingenierizada consistente en una matriz de fibrina conteniendo fibroblastos como componente dérmico y queratinocitos como parte del componente epidérmico (Del Rio M, et al. 2002. Hum Gene Ther., 13(8):959-68). Trascurridas 10-12 semanas después del trasplante, se realizaron heridas

25 excisionales en la piel humana regenerada utilizando punches de biopsia de 2 mm. La administración de los tratamientos se llevó a cabo mediante el implante de bombas osmóticas (Alzet, Cupertino, CA) por vía subcutánea. La dosis de aptámero ApFP4.5b fue de 10 μ M en todos los ratones. Los tejidos fueron recogidos a los 6 días después de la generación de la herida, se fijaron en formalina y se procesaron para su posterior

30 análisis histológico. Las muestras se seccionaron en su totalidad utilizando un micrótopo y posteriormente se determinó la arquitectura del tejido en 1 de cada 10 secciones mediante la tinción con hematoxilina–eosina, siguiendo para ello procedimientos histológicos estándar. El porcentaje de re-epitelización se determinó mediante microscopía utilizando una retícula para medir la proporción de cada herida

35 que había sido cubierta por neopidermis en relación con la longitud total de la herida.

Así, este porcentaje fue calculado por la fórmula $100x \left[\frac{\text{diámetro de la herida-gap epidérmico}}{\text{diámetro de la herida}} \right]$. El gap epidérmico es la distancia entre las dos lenguas epiteliales. Así, se determinó el centro de la herida en cada muestra, y se compararon los distintos porcentajes de re-epitelización entre las distintas muestras.

5

II. Resultados

Ensayos de unión de los aptámeros a FPR2 expresado en células.

Con objeto de analizar la capacidad de los aptámeros identificados de unirse a la proteína FPR2 expresada en células HaCaT, se añadieron 20 pmoles de cada uno de los aptámeros identificados anteriormente sobre un cultivo de células HaCaT-FPR2-GFP sembradas a 20.000 células/pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos a una densidad de 2×10^4 cel/pocillo, 2 días antes del inicio del ensayo. Después de incubar durante 30 minutos a 37°C, 5% CO₂, las células se lavaron, se recuperaron los aptámeros con 150 mM imidazol disuelto en PBS con 1 mM MgCl₂, y se llevó a cabo qPCR para determinar los valores de Ct. En estos experimentos, un valor de Ct menor indica una mayor cantidad de aptámero unido a las células. Los resultados obtenidos muestran que los aptámeros ApFP3.5a, ApFP3.8a y ApFP4.5b (Figura 3) son los que se unen con mayor afinidad, quedando demostrada su utilidad en la detección de la proteína FPR2. Las secuencias y estructuras secundarias de estos aptámeros se muestran el Figura 4.

20

Localización subcelular mediante aptacitoquímica.

Las células que expresan el receptor FPR2 fusionado a proteína verde fluorescente fueron incubadas en presencia de los aptámeros marcados con AlexaFluor 700 ApFP3.5a, ApFP3.8a y ApFP4.5b en tampón de selección durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, las células se lavaron tres veces con PBS. Finalmente, las células se montaron en portaobjetos de vidrio utilizando un tampón de glicerol que contenía p-fenilendiamina y una dilución 1/750 de Dapi para la tinción nuclear. Los controles se hicieron omitiendo el aptámero. La localización subcelular de los aptámeros fue evaluada por microcopia de fluorescencia. Los resultados muestran que existe una colocalización de los aptámeros con la proteína (Figura 5).

30

Funcionalidad de los aptámeros seleccionados frente a FPR2.

En estos ensayos, se utilizaron distintas aproximaciones. En primer lugar, se realizó un

35

ensayo típico de GPCR (ensayo de la actividad reportera CRE-luciferasa), utilizando un transfectante estable del receptor FPR2 generado en la línea celular 293 mediante transducción lentiviral (Figura 6). Esta línea fue transfectada de forma transitoria con dos construcciones reporteras (CRE-luciferasa y Renilla-luciferasa). El péptido LL37, agonista del receptor FPR2, permite el acoplamiento al receptor de la subunidad Gi lo que resulta en la inhibición de la producción de cAMP mediada por forskolina. Los aptámeros específicos de FPR2 son también capaces de inhibir la producción cAMP mediada por forskolina de forma similar a LL37 (Tabla 1). Estos resultados ponen de manifiesto la capacidad de los aptámeros identificados de activar el receptor FPR2.

10

	Inhibición (%) de la producción de AMPc mediada por forskolina
LL37 (5µM)	46 ± 7,5
Ap.FP3.5aF (1µM)	30,7 ± 7,3
Ap.FP3.8aF (1µM)	38,8 ± 9
Ap.FP4.5bF (1µM)	25,5 ± 2.8

Tabla 1. La tabla indica los porcentajes de inhibición de la producción de cAMP mediada por forskolina. Los valores indican la media ± SEM de los datos obtenidos de 3-6 experimentos independientes.

15 *Utilidad de los aptámeros seleccionados en la cicatrización.*

En un ensayo de cicatrización *in vitro* los tres aptámeros específicos frente a FPR2 son capaces de activar la migración de la línea de queratinocitos humana HaCaT expresando de forma estable FPR2, al igual que el péptido LL37 (Figura 7). Los aptámeros específicos de FPR2 también son capaces de actuar como ligandos funcionales de CXCR2, ya que inducen la internalización del receptor en la línea de monocitos humanos THP-1, así como la inhibición de la expresión del mRNA de CXCR2 en esta línea, de forma similar a lo que ocurre cuando se utiliza como agonista el péptido LL37 (Figura 8). Asimismo, se realizaron ensayos *in vivo* con el aptámero ApFP4.5b, que fue capaz de ejercer acciones procicatrizantes, induciendo una mejora en el proceso de re-epitelización. Los ensayos se llevaron a cabo utilizando para ello un modelo de ratón humanizado en piel, en el que se generaron heridas excisionales. Los tratamientos se administraron por vía subcutánea mediante bombas osmóticas (Figura 9). En la Figura 9 puede observarse cómo en los ratones tratados con el aptámero ApFP4.5b se observa una mayor re-epitelización del área de la herida

20

25

(mayor longitud de la lengua epitelial migratoria) en ratones tratados en comparación con los ratones control, demostrando el efecto del aptámero sobre la cicatrización y demostrando la utilidad del aptámero en el tratamiento de heridas epiteliales.

REIVINDICACIONES

1. Un aptámero de ácido nucleico con capacidad de unirse específicamente al receptor FPR2 y activar dicho receptor FPR2, que comprende una secuencia de nucleótidos con una identidad de secuencia de, al menos, un 70% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.
2. Aptámero según la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos tiene una identidad de secuencia de, al menos, un 80, 90, 95, 96, 97, 98 o 99% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.
3. Aptámero según la reivindicación 1 o 2, en donde la secuencia de nucleótidos tiene una identidad de secuencia del 100% con la secuencia SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.
4. Aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el receptor FPR2 es el receptor humano FPR2.
5. Aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el ácido nucleico es ADN.
6. Un complejo que comprende un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un grupo funcional.
7. Complejo según la reivindicación 6, en donde el grupo funcional es un reactivo detectable, un fármaco o una nanopartícula.
8. Una composición farmacéutica que comprende un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y/o un complejo según la reivindicación 6 o 7, junto con un soporte, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
9. Uso in vitro de un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7, para detectar el receptor FPR2.

10. Uso según la reivindicación 9, en donde la detección del receptor FPR2 se realiza mediante un método seleccionado del grupo que consiste en ELONA, aptacitoquímica, aptahistoquímica y citometría de flujo.

5 11. Uso *in vitro* de un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7, para activar el receptor FPR2.

12. Método *in vitro* para la detección del receptor FPR2 en una muestra biológica aislada de un sujeto que comprende

10 (a) poner en contacto dicha muestra con un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7,
(b) separar el aptámero o complejo no unido al receptor FPR2, y
(c) detectar la presencia del aptámero o complejo unido al receptor FPR2 presente en la muestra.

15

13. Método según la reivindicación 12, en donde la detección se realiza por medio de fluorescencia.

14. Método *in vitro* para activar el receptor FPR2 en una muestra biológica aislada de un sujeto que comprende poner en contacto dicha muestra que comprende el receptor FPR2 con un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7, en condiciones adecuadas para activar el receptor FPR2.

20

25 15. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en donde el sujeto es un ser humano.

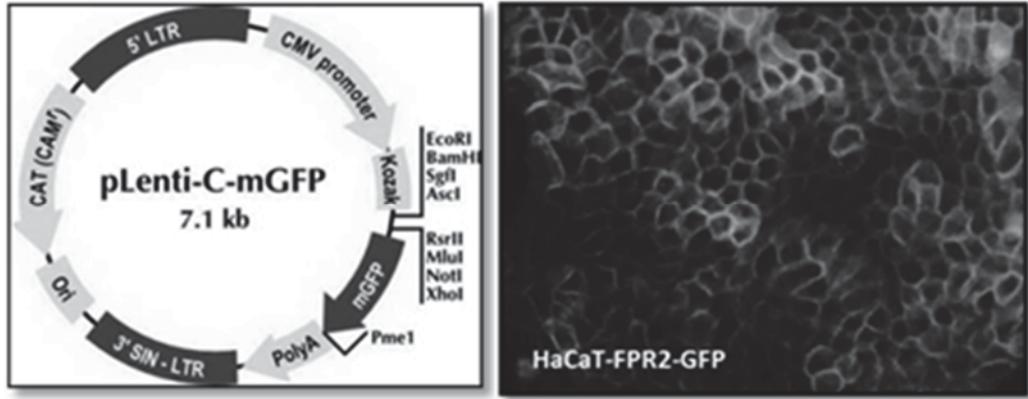
16. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, en donde la muestra biológica aislada es sangre, plasma, suero o líquido cefalorraquídeo.

30

17. Un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7, o una composición farmacéutica según la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento de una herida.

18. Un aptámero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o un complejo según la reivindicación 6 o 7, o una composición farmacéutica según la reivindicación 8, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades caracterizadas por una disminución en la expresión del receptor FPR2, y/o una disminución de la activación del receptor FPR2 y/o una ausencia del ligando natural del receptor FPR2 y/o una baja cantidad del ligando natural del receptor FPR2 con respecto a la cantidad de ligando natural en un sujeto en condiciones normales de salud o sano.
19. Aptámero, complejo o composición para su uso según la reivindicación 18, en donde la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en cáncer, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad infecciosa, una enfermedad ocular y una enfermedad epitelial.
20. Aptámero, complejo o composición para su uso según la reivindicación 19, en donde la enfermedad epitelial es la epidermolisis bullosa distrófica.

A)



B)

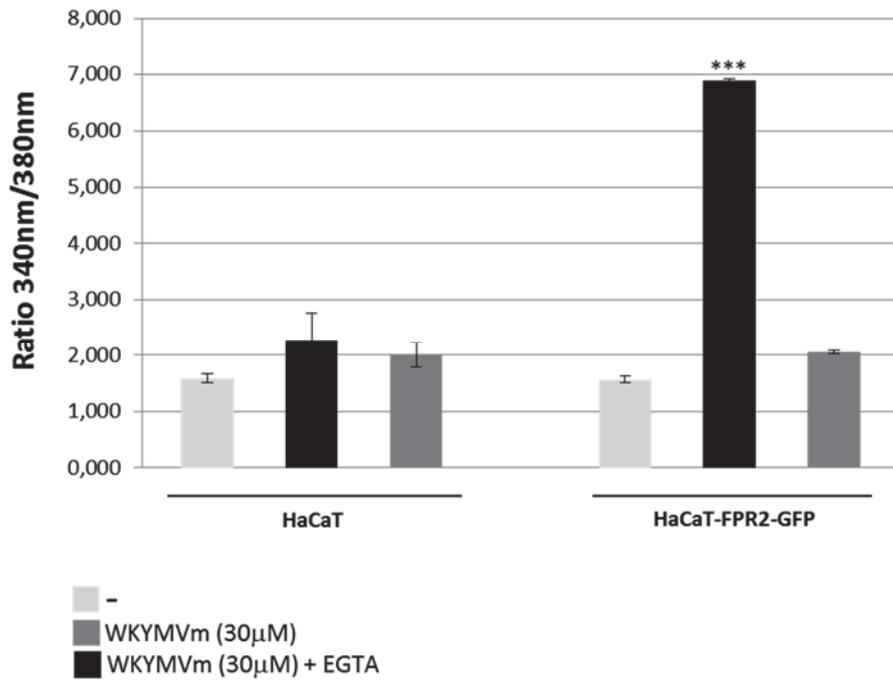


FIG. 1

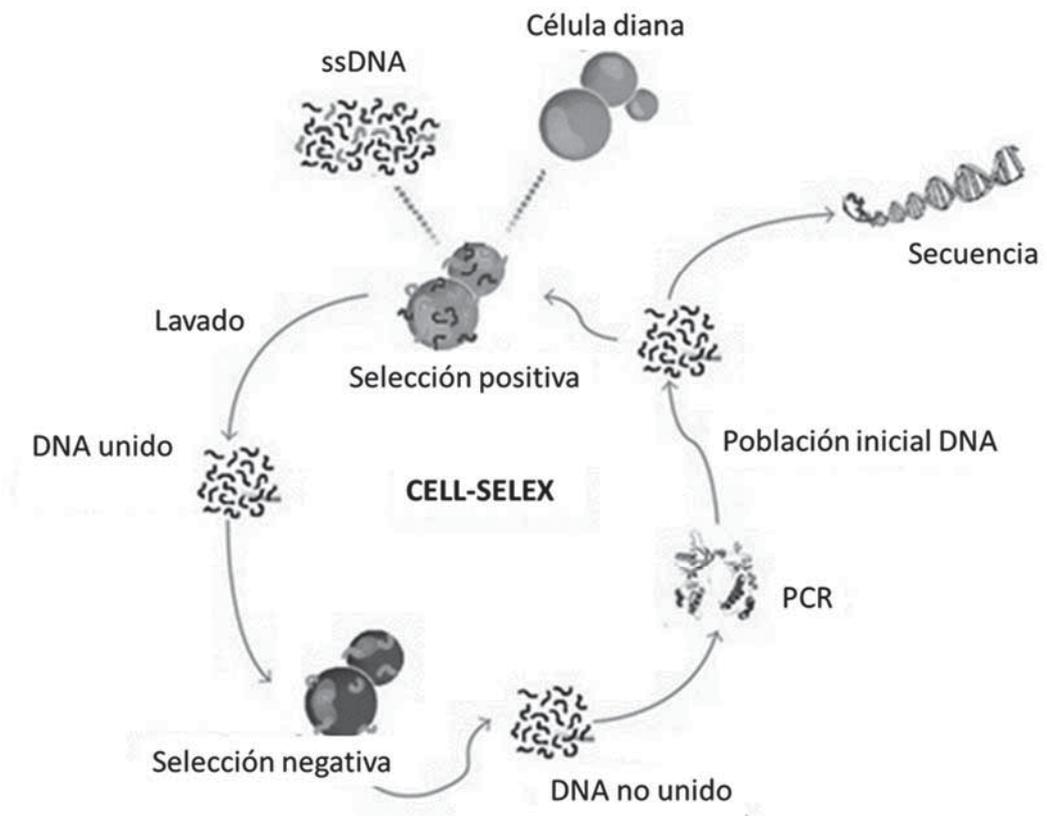


FIG. 2

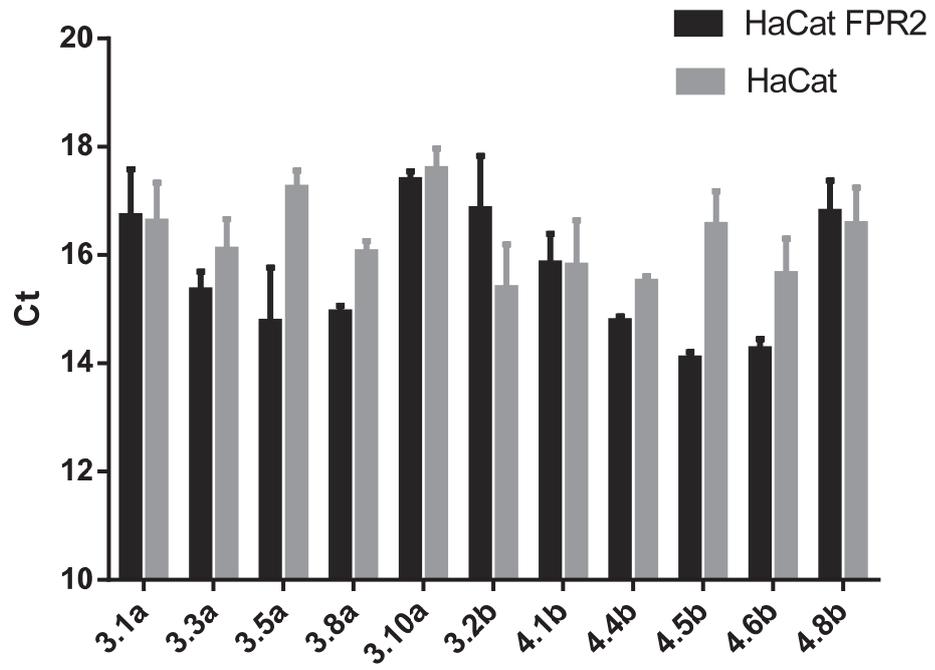
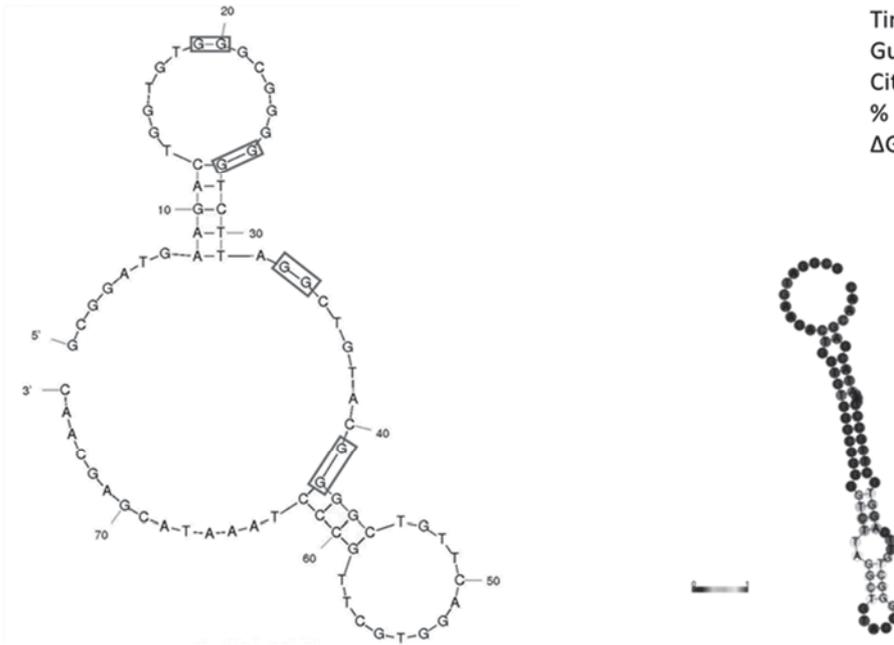


FIG. 3

A)

ApFP3.5a

Nº bases totales: 76
 Adeninas (A): 14
 Timinas (T): 17
 Guaninas (G): 30
 Citosinas (C): 15
 % contenido G-C: 59.2
 ΔG : -4.23

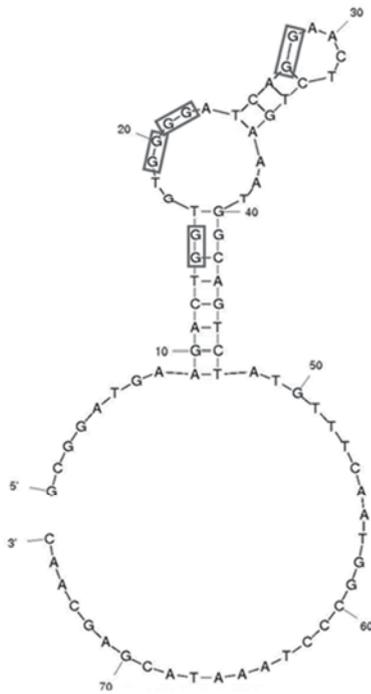


5'-GCGGATGAAGACTGGTGTGGGCGGGGTCTTAGGCTGTACGGGCTGTTCAGGTGCTTGCCTAAATACGAGCAAC-3'
 (SEQ ID NO: 1)

FIG. 4

B)

ApFP3.8a



Nº bases totales: 76
 Adeninas (A): 22
 Timinas (T): 17
 Guaninas (G): 23
 Citosinas (C): 14
 % contenido G-C: 48.7
 ΔG : -3.25

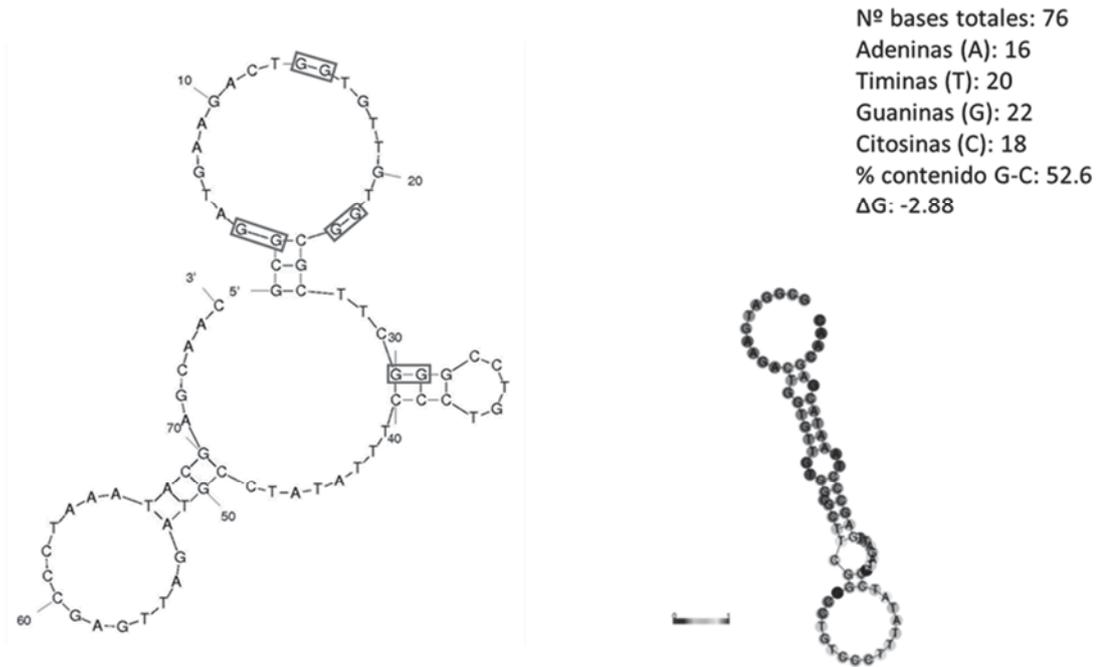


5'-GCGGATGAAGACTGGTGTGGGGATCAGGAACTCTGAAATGGCAGTCTATGTTTCAATGGCCCTAAATACGAGCAAC-3'
 (SEQ ID NO: 2)

FIG. 4 (Continuación)

C)

ApFP4.5b



5'-GCGGATGAAGACTGGTGTGTGGCGCTTCGGGCCTGTCCCTTTATATCCGTAGATTGAGCCCTAAATACGAGCAAC-3'
 (SEQ ID NO: 3)

FIG. 4 (continuación)

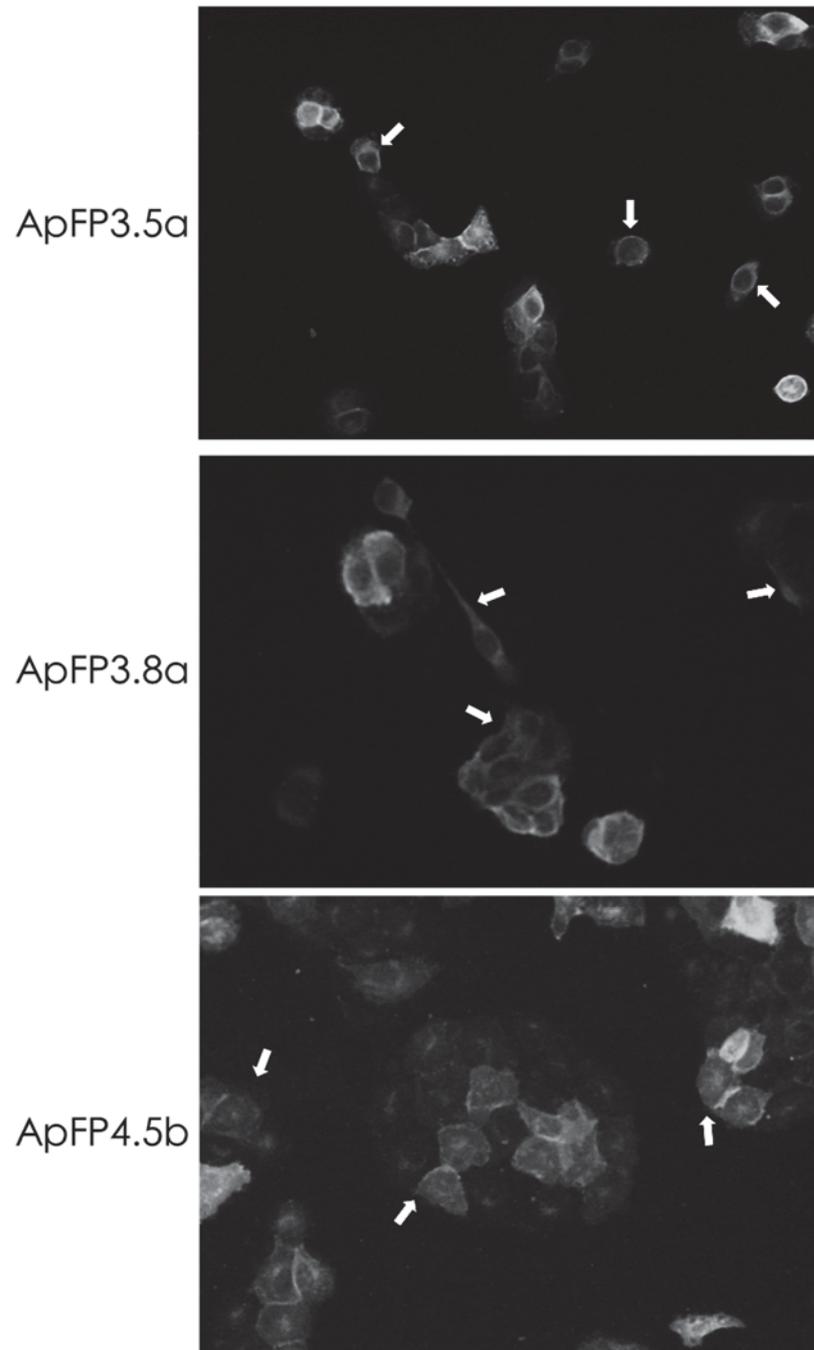


FIG. 5

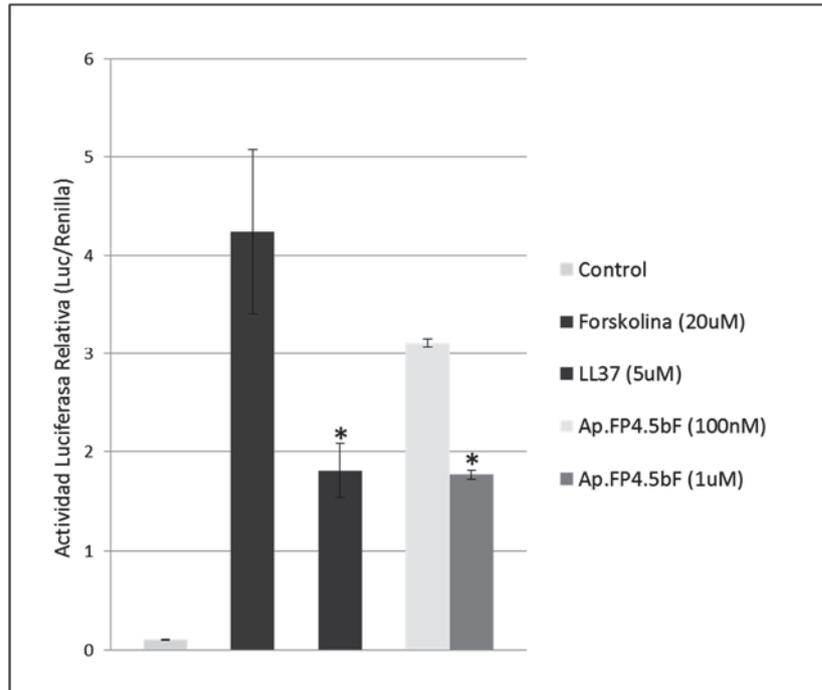
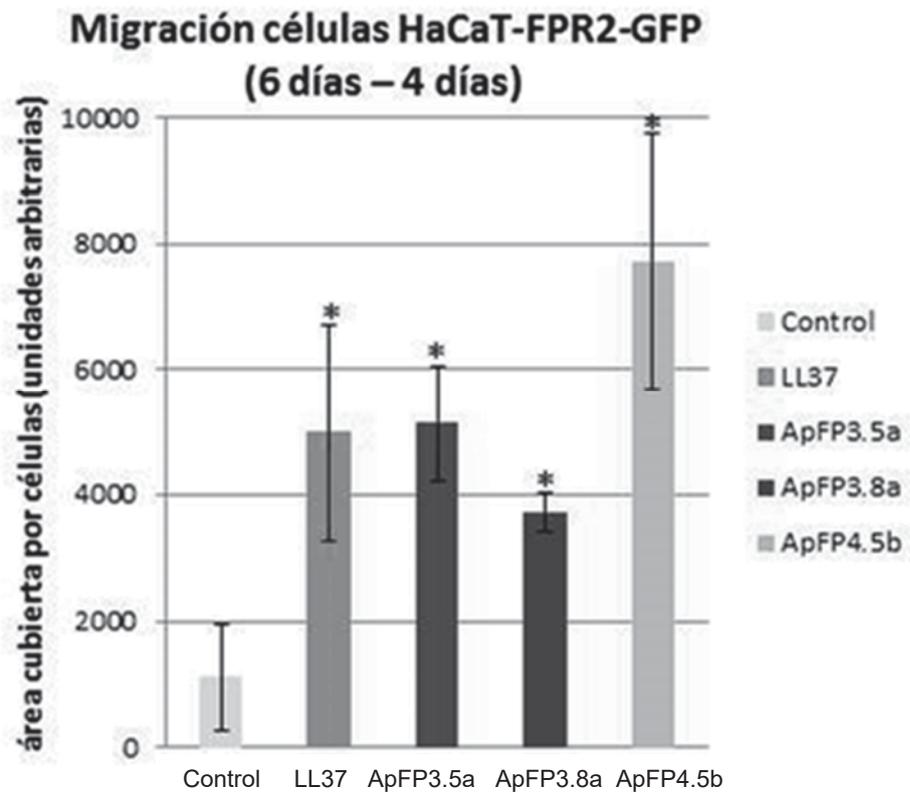


FIG. 6

A)



B)

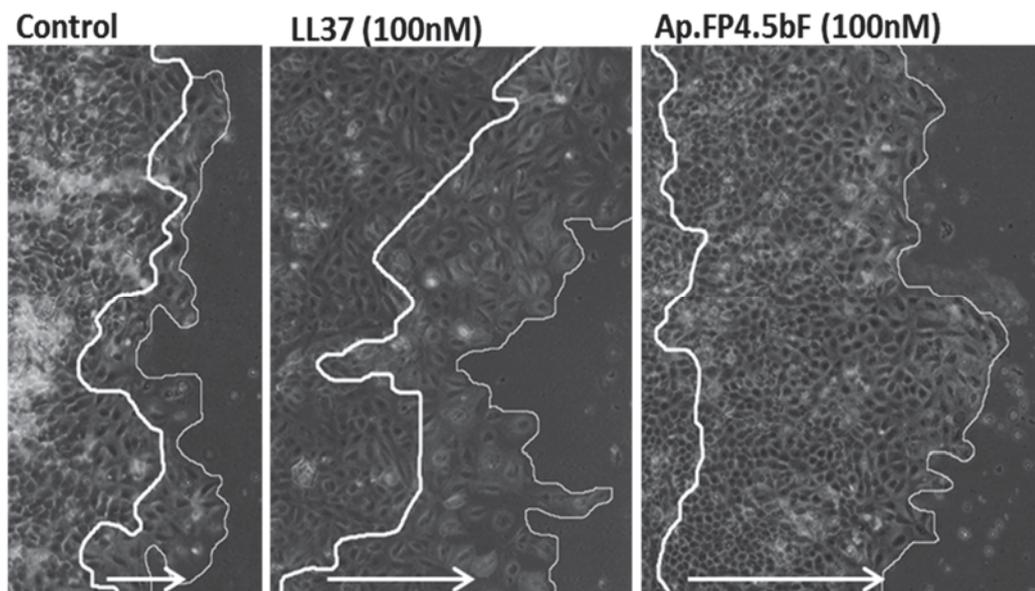
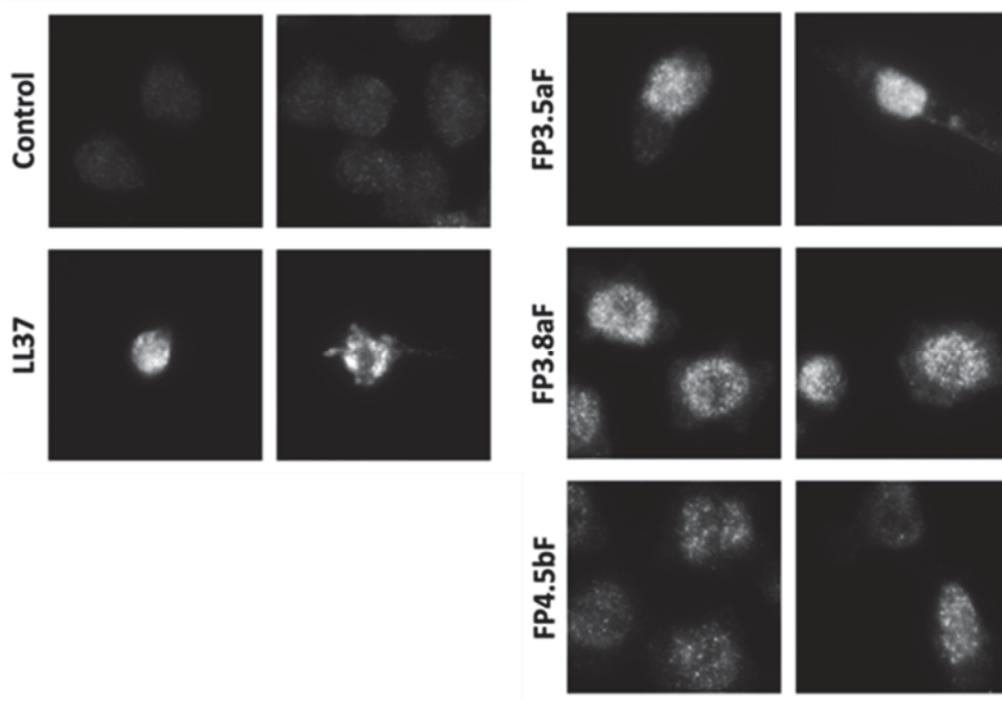


FIG. 7

A)



B)

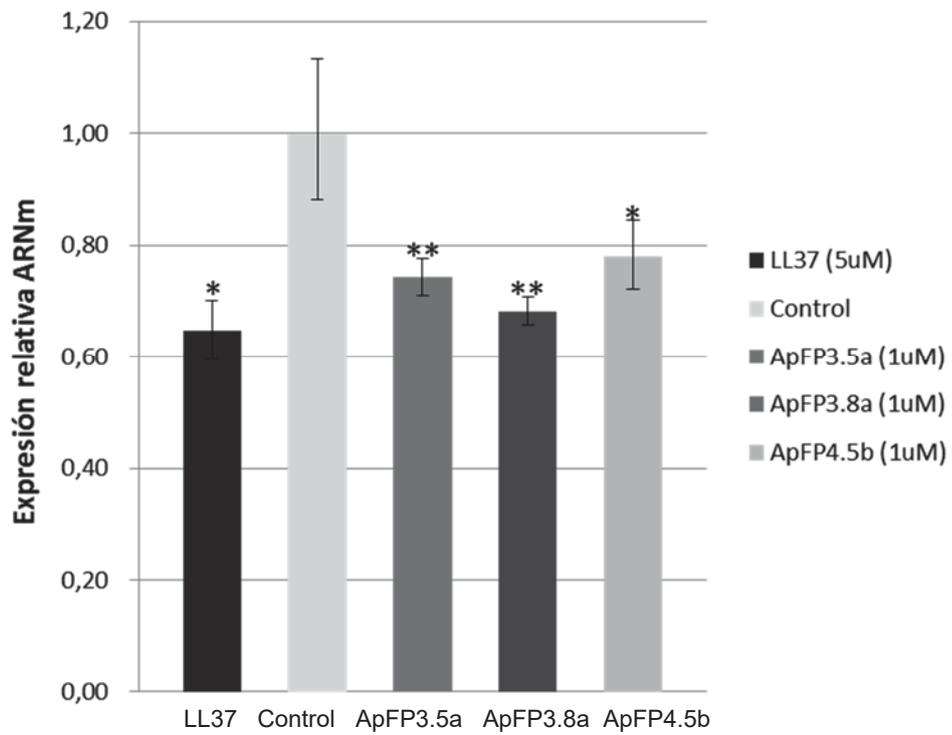


FIG. 8

Ensayo de cicatrización en el modelo de ratón humanizado en piel

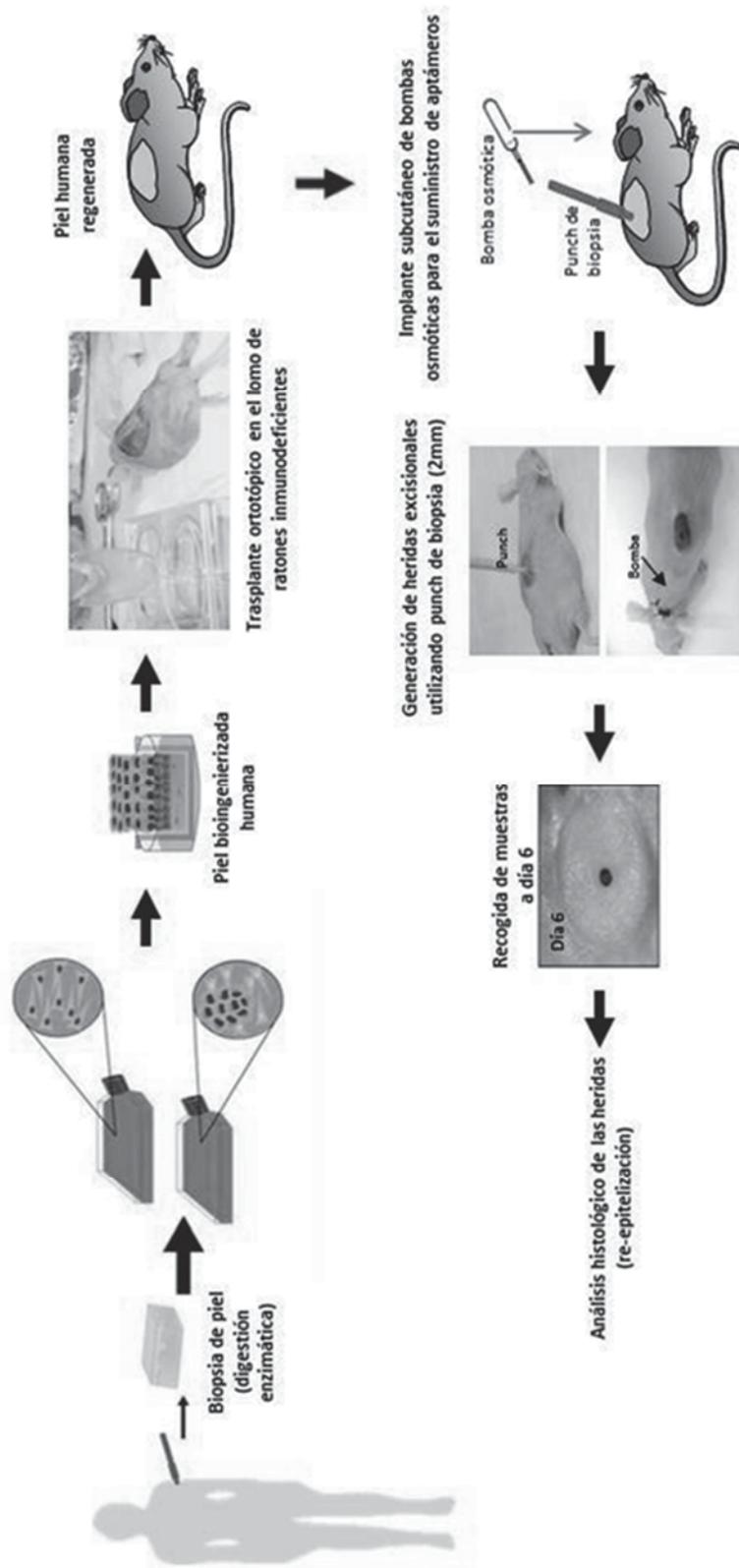


FIG. 9A

Re-epitelización (%): 6 días

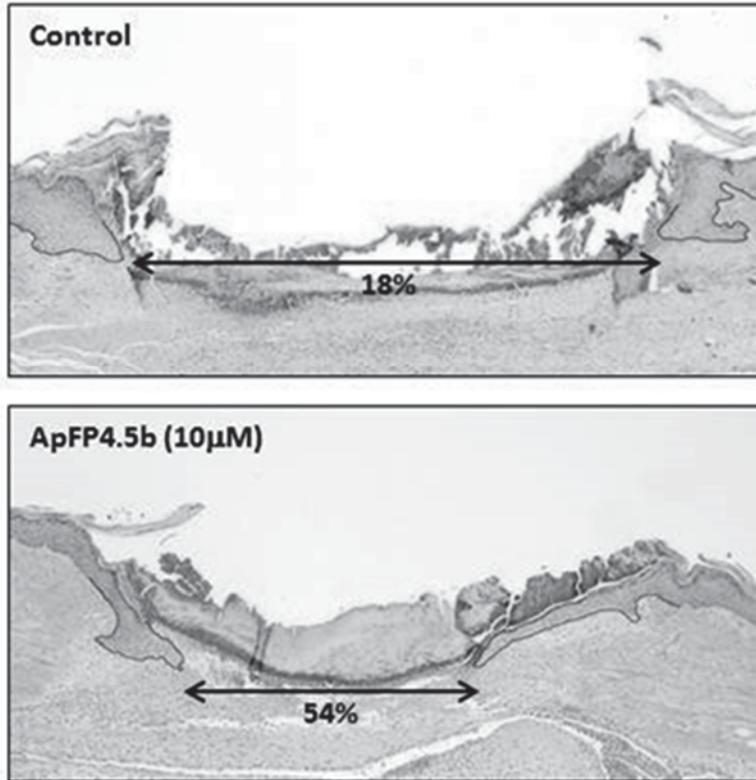


Fig. 9B

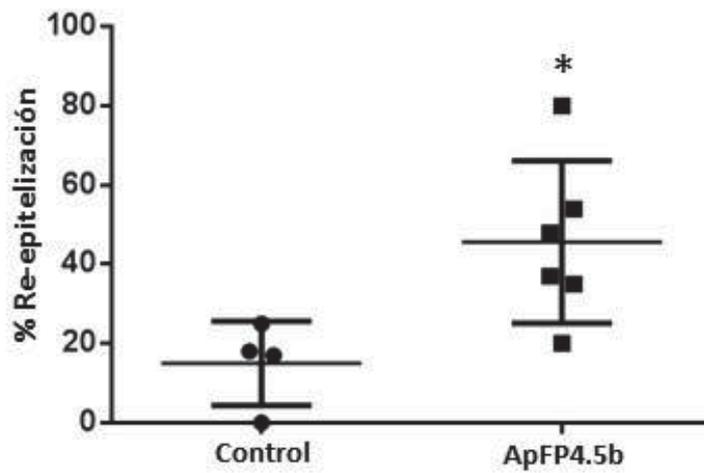


Fig. 9C