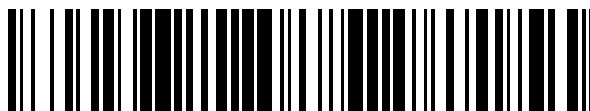


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



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

21 Número de solicitud: 200901903

51 Int. Cl.:

**A61L 27/22** (2006.01)

**C07K 14/78** (2006.01)

**A61K 38/39** (2006.01)

**C08L 89/00** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **24.09.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**14.09.2012**

71 Solicitante/s:  
**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
JORDI GIRONA, 31  
08034 BARCELONA, ES y  
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

72 Inventor/es:  
**APARICIO BADENAS, CONRADO JOSE;  
PLANELL ESTANY, JOSEP ANTON;  
SALVAGNI, EMILIANO;  
WERNER, MICHAEL;  
GIL MUR, FRANCISCO JAVIE;  
RODRÍGUEZ CABELLO, JOSÉ CARLOS;  
ALONSO RODRIGO, MATILDE;  
ARIAS VALLEJO, FRANCISCO JAVIE;  
GIROTTI, ALESSANDRA y  
RIBEIRO, ARTUR**

74 Agente/Representante:  
**Arias Sanz, Juan**

54 Título: **NUEVOS POLIMEROS PROTEICOS RECOMBINANTES Y METODO DE BIOACTIVACION DE SUPERFICIES CON DICHS POLIMEROS**

57 Resumen:

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

ES 2 387 115 A1

DESCRIPCION

**NUEVOS POLÍMEROS PROTEICOS RECOMBINANTES Y MÉTODO DE BIOACTIVACIÓN DE SUPERFICIES CON DICHS POLÍMEROS**

**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

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

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

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

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

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

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

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

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

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

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

La solicitud de patente WO 2007/146228 A2 describe copolímeros basados en elastina que pueden utilizarse, entre otras aplicaciones, para el recubrimiento de implantes. Los copolímeros descritos son copolímeros en bloque conteniendo uno de los bloques el pentapéptido VGVPG (SEQ ID NO: 8) opcionalmente modificado.

5 La solicitud también describe la posibilidad de (a) incluir en el copolímero enlaces degradables entre los distintos bloques y (b) incluir secuencias peptídicas que promuevan la proliferación y/o migración de células endoteliales tales como las secuencias RGD, SIKVAV (SEQ ID NO: 9), CNP, e YIGSRG (SEQ ID NO: 10).

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

10

15

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

20

### **RESUMEN DE LA INVENCION**

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

25

- i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y  $X^1$  es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,
  - ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que  $X^2$  es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y
  - iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:
    - iiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico, y
- 30

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

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

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

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

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

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

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

## 20 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

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

## **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

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

- 5 i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X<sup>1</sup> es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,
- ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que X<sup>2</sup> es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y
- iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:
  - 10 iiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico, y
  - iiib. dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular,

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

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

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

- i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y X<sup>1</sup> es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,
- 25 ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que X<sup>2</sup> es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y
- iiia. uno o más dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico;

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

- i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y  $X^1$  es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina,
- ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que  $X^2$  es cualquier aminoácido seleccionado de arginina, lisina, tirosina, ornitina, serina, treonina, y
- iiib. uno o más dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular,

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La biomineralización se ha asociado, en general, a las proteínas ácidas en conformación de hoja plegada  $\beta$  (aspartatos, glutamatos, serinas fosforiladas...) y a las proteínas tales como la osteopontina, la sialoproteína ósea, la osteocalcina, la  
 30 estaterina y la fosforina que contienen dominios altamente ácidos.

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



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

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

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

- pSpSpSpSpSpS (SEQ ID NO: 17) Fosvitina
- 20 DpSpSDpSpS (SEQ ID NO: 18) Fosfoforina
- pSpSpSEE (SEQ ID NO: 19) Fosfoproteína de la matriz de la dentina
- pSMpSpSpSEE (SEQ ID NO: 20) Proteína de unión de la riboflavina
- pSpSGpSpSEE (SEQ ID NO: 21) Osteopontina
- pSIpSpSpSEE (SEQ ID NO: 22)  $\alpha$ S1Caseína
- 25 pSLpSpSpSEE (SEQ ID NO: 23)  $\beta$ -Caseína
- DpSpSEpS (SEQ ID NO: 24) Proteína Matriz-Gla
- DpSpSEE (SEQ ID NO: 25) Estaterina

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

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

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

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

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

Muchas de las proteínas de la matriz contienen secuencias de aminoácidos que se conoce que se unen a los dominios extracelulares de los receptores de adhesión unidos a la membrana, por ejemplo RGD o la secuencia DGEA (SEQ ID NO: 5) que es específica para la integrina  $\alpha 2\beta 1$  de las células de tipo osteoblasto. La más eficaz y estudiada de dichas secuencias es la RGD que se conoce que interactúa con más de un receptor de adhesión celular, tales como doce de los veinticuatro receptores conocidos de la integrina. Por ello, esta secuencia presenta bioactividad general para prácticamente todas las células que se encuentran formando tejidos en los organismos, junto a otras más específicas que promueven la adhesión de sólo uno o unos pocos tipos celulares. Esta secuencia se encuentra presente, por ejemplo, en el anillo RGD de la fibronectina humana cuya secuencia es AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).

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

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

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

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

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

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

#### Obtención de los polímeros proteicos

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

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

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

#### Funcionalización de las superficies

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

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

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

- 5 a) fijar moléculas de anclaje sobre la superficie activada químicamente del material de implante, presentando dichas moléculas de anclaje grupos funcionales que pueden unirse mediante enlace covalente con polímeros proteicos
- b) inmovilizar el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos mediante  
10 dichos grupos funcionales sobre el material de implante.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **EJEMPLOS**

### **EJEMPLO 1**

**Obtención del polímero proteico**

**MESLLP {[ (VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub> ]<sub>2</sub> DDDEEKFLRRIGRFG [(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub> ]<sub>2</sub> }<sub>4</sub>-  
{ [(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub> ]<sub>2</sub> AVTGRGDSPASS [(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub> ]<sub>2</sub> }<sub>4</sub> V [SEQ ID  
NO: 37]**

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

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

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

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

Una vez sintetizado el gen completo, se subclonó en el vector de expresión pET-25b(+) (Novagen) modificado previamente para aceptar genes generados tras la digestión con la enzima de restricción *EarI*. Este plásmido de expresión recombinante que contiene el gen sintético completo se transformó en la cepa de  
20 expresión BLR(DE3) de *E.coli* (Novagen), siguiendo el protocolo de transformación que usa el reactivo TSS (10% PEG 8000, 5% DMSO, 50 mM MgCl<sub>2</sub> en medio LB pH 6,5).

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

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

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

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

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

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

## EJEMPLO 2

### 30 Obtención del polímero proteico

MESLLP{[(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>DDDEEKFLRRIGRFG[(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>}<sub>3</sub>V [SEQ ID NO: 39]

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



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

EJEMPLO 3

Obtención del polímero proteico

- 5 MESLLP{[(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>  
AVTGRGDSPASS[(VPGIG)<sub>2</sub>VPGKG(VPGIG)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>}\_6V [SEQ ID NO: 41]

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

10 EJEMPLO 4

Funcionalización de superficies de titanio con polímeros proteicos

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

20 La superficie se limpió por plasma y se erosionó con solución piraña (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para obtener un alto grado de hidroxilación de los óxidos que cubren el metal de manera natural. Esto produce un aumento significativo de la capacidad de la superficie para mojarse. El ángulo de contacto con el agua de las superficies así tratadas (Ti erosionado) es significativamente inferior al de las superficies limpiadas  
 25 mediante ultrasonidos (Ti limpio) como consecuencia del alto grado de hidroxilación de la superficie de titanio después del grabado con solución piraña.

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

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

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

El análisis mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X de las superficies tratadas mostró un aumento significativo de N y C en dichas superficies lo que constituye una clara indicación de que éstas han quedado recubiertas por polímeros proteicos. Además se detectó una reducción significativa de Ti y O que indica que la capa de polímero proteico es lo suficientemente gruesa como para impedir la detección de la mayoría de la señal proveniente del TiO<sub>2</sub> en la superficie metálica. También se detectó una disminución del Cl y Si de la capa de silano después de la adherencia de los polímeros a las muestras.

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

## 25 EJEMPLO 5

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

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

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

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

- 5 Los análisis de estabilidad termoquímica se realizaron por inmersión de las diferentes muestras en tampón fosfatos (PBS) a 37°C hasta un máximo de 72 horas, y analizando la intensidad de fluorescencia del marcador CBQCA a diferentes tiempos. Se compararon las muestras silanizadas y recubiertas con polímeros con muestras no silanizadas en las que los polímeros se han fisisorbido sobre la superficie de titanio. Aunque ambas tienden a perder moléculas de polímero con el tiempo, aquellas silanizadas alcanzan un punto de estabilidad manteniendo un número significativo de moléculas sobre la superficie después de 3 días sometidas a condiciones experimentales; mientras que las moléculas fisisorbidas son eliminadas casi por completo de la superficie de titanio.
- 10

15

**Reivindicaciones**

1. Un polímero proteico o una mezcla de polímeros proteicos cuyos polímeros comprenden:
  - 5 i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y  $X^1$  es isoleucina,
  - ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que  $X^2$  es lisina, y
  - iii. uno o más dominios que se seleccionan entre:
    - 10 iiiia. dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico que comprenden la secuencia de aminoácidos DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16).
    - iiiib. dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular que comprenden la secuencia de aminoácidos RGD.
- 15 con la condición que el polímero proteico o la mezcla de polímeros proteicos comprenden tanto el dominio (iiiia) como el dominio (iiiib).
2. Polímero proteico según la reivindicación 1 en el que los dominios (iiiia) y (iiiib) están presentes simultáneamente en dicho polímero proteico.
3. Mezcla de al menos dos tipos de polímeros proteicos según la reivindicación 1 en la que al menos uno de los polímeros proteicos (P1) comprende:
  - 20 i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$  [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y  $X^1$  es isoleucina,
  - ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^2G)$  (SEQ ID NO: 12) en la que  $X^2$  es lisina, y
  - 25 iiiia. uno o más dominios que promueve(n) la nucleación/crecimiento y/o adhesión de fosfatos de calcio de interés biológico que comprenden la secuencia de aminoácidos DDDEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO: 16);y al menos otro de los polímeros proteicos (P2) comprende:
  - i. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos  $(VPGX^1G)_n$
  - 30 [(SEQ ID NO: 11)<sub>n</sub>] en la que n es un entero entre 1 y 50 y  $X^1$  es isoleucina,

- ii. uno o más dominios con la secuencia de aminoácidos (VPGX<sup>2</sup>G) (SEQ ID NO: 12) en la que X<sup>2</sup> es lisina, y
- iiib. uno o más dominios que promueve(n) la adhesión celular a través de péptidos de las proteínas de la matriz extracelular que comprenden la secuencia de aminoácidos RGD.
- 5
4. Mezcla según la reivindicación 3 en la que únicamente hay un polímero proteico (P1) y un polímero proteico (P2).
5. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en los que n es un entero entre 2 y 15.
- 10
6. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en los que el polímero proteico comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas entre los que comprenden la secuencia [(VPGX<sup>1</sup>G)<sub>a</sub> VPGX<sup>2</sup>G (VPGX<sup>1</sup>G)<sub>b</sub>]<sub>c</sub> [(SEQ ID NO: 11)<sub>a</sub> (SEQ ID NO:12) (SEQ ID NO: 11)<sub>b</sub>]<sub>c</sub> en la que a, b y c son enteros entre 1 y 30 estando el número total de aminoácidos de dicha secuencia comprendido entre 2 y 500.
- 15
7. Polímero proteico o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en los que el dominio (iiib) que promueve la adhesión celular comprende la secuencia de aminoácidos AVTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 30).
8. Polímero proteico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6 ó 7 de SEQ ID NO: 37 o mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7 donde la secuencia de aminoácidos del polímero proteico (P1) es SEQ ID NO: 39 y la secuencia de aminoácidos del polímero proteico (P2) es SEQ ID NO: 41.
- 20
9. Mezcla de polímeros proteicos según cualquiera de las reivindicaciones 1, 3, 5, 6 y 7 donde las secuencias de aminoácidos de dichos polímeros proteicos son SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 41.
- 25
10. Un procedimiento para la bioactivación de materiales para implantes óseos seleccionados entre el grupo que comprende metales, aleaciones metálicas, materiales cerámicos y combinaciones de los mismos, que comprende las etapas de:
- 30
- a) fijar moléculas de anclaje sobre la superficie activada químicamente del material de implante, presentando dichas moléculas de anclaje grupos funcionales que pueden unirse mediante enlace covalente con polímeros proteicos

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

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

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

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

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

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

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

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

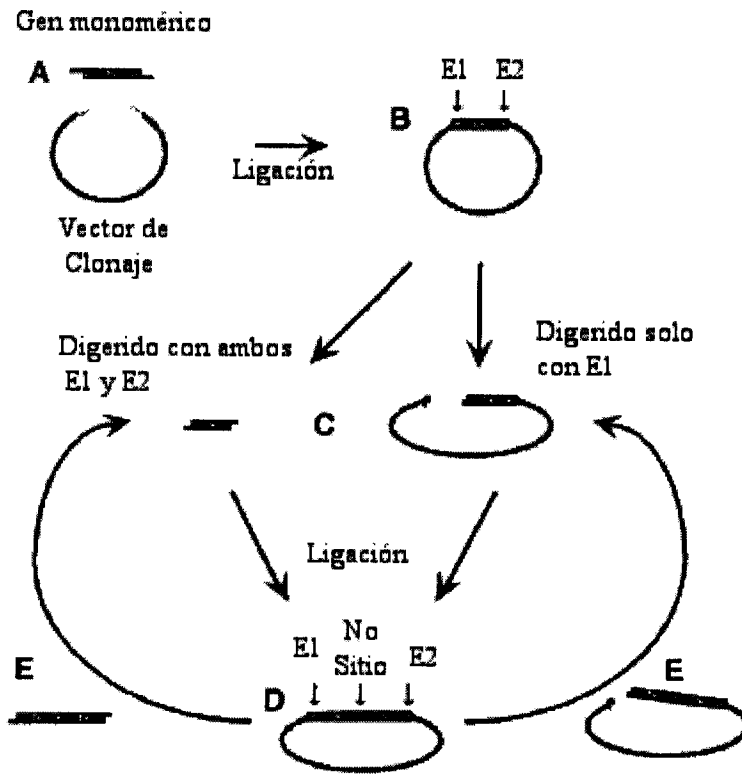


FIGURA 1





# ES 2 387 115 A1

<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

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

<400> 4

Arg Gly Glu Ser  
1

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

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

<400> 5

Asp Gly Glu Ala  
1

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

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

<400> 6

Glu Gly Glu Ala  
1

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

<220>  
<223> Secuencia tipo elastina

<400> 7

Val Pro Gly Ile Gly  
1 5

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

<220>

## ES 2 387 115 A1

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

<400> 8

Val Gly Val Pro Gly  
1 5

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 9

Ser Ile Lys Val Ala Val  
1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 10

Tyr Ile Gly Ser Arg Gly  
1 5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /note = "Xaa es cualquier aminoácido a excepción de la L-prolina"

<400> 11

Val Pro Gly Xaa Gly  
1 5

## ES 2 387 115 A1

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

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

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

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

<400> 12  
  
Val Pro Gly Xaa Gly  
1 5

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

<220>  
<223> Dominio N15 de la estateterina

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(3)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 13  
  
Asp Ser Ser Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly  
1 5 10 15

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

## ES 2 387 115 A1

<220>

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

<400> 14

Gly Arg Gly Asp Ser

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 15

Pro Asp Gly Glu Ala

1 5

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominio peptídico SNa15 de la estaterina

<400> 16

Asp Asp Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly

1 5 10 15

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia parcial de aminoácidos de la fosvitina

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(6)

<223> PHOSPHORYLATION

<400> 17

Ser Ser Ser Ser Ser Ser

1 5

<210> 18

# ES 2 387 115 A1

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(3)  
<223> PHOSPHORYLATION

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(6)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 18

Asp Ser Ser Asp Ser Ser  
1 5

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(3)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 19

Ser Ser Ser Glu Glu  
1 5

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> PHOSPHORYLATION

# ES 2 387 115 A1

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(5)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 20

Ser Met Ser Ser Ser Glu Glu  
1 5

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(2)  
<223> PHOSPHORYLATION

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(5)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 21

Ser Ser Gly Ser Ser Glu Glu  
1 5

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> PHOSPHORYLATION

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(5)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 22

Ser Ile Ser Ser Ser Glu Glu  
1 5

# ES 2 387 115 A1

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> PHOSPHORYLATION

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(5)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 23

Ser Leu Ser Ser Ser Glu Glu  
1 5

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

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

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(3)  
<223> PHOSPHORYLATION

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 24

Asp Ser Ser Glu Ser  
1 5

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

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

## ES 2 387 115 A1

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(3)  
<223> PHOSPHORYLATION

<400> 25

Asp Ser Ser Glu Glu  
1 5

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

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

<400> 26

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

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

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

<400> 27

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

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

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

<400> 28

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

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





## ES 2 387 115 A1

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

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

<400> 33

Lys Arg Ser Arg  
1

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

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

<400> 34

Phe His Arg Arg Ile Lys Ala  
1 5

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

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

<400> 35

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

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

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

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

<220>

# ES 2 387 115 A1

```

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

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

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

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

<400> 36

```

```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1                               5

```

```

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

```

```

<220>
<223> Polímero proteico

```

```

<400> 37

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

# ES 2 387 115 A1

100	105	110
Pro Gly Ile Gly Val 115	Pro Gly Ile Gly Val 120	Pro Gly Ile Gly Val Pro 125
Gly Ile Gly Val Pro 130	Gly Lys Gly Val Pro 135	Gly Ile Gly Val Pro Gly 140
Ile Gly Val Pro Gly 145	Ile Gly Val Pro Gly 150	Ile Gly Val Pro Gly Lys 160
Gly Val Pro Gly Ile 165	Gly Val Pro Gly Ile 170	Gly Asp Asp Asp Glu Glu 175
Lys Phe Leu Arg Arg 180	Ile Gly Arg Phe Gly 185	Ile Gly Val Pro Gly 190
Pro Gly Ile Gly Val 195	Pro Gly Lys Gly Val 200	Pro Gly Ile Gly Val Pro 205
Gly Ile Gly Val Pro 210	Gly Ile Gly Val Pro 215	Gly Ile Gly Val Pro Gly 220
Lys Gly Val Pro Gly 225	Ile Gly Val Pro Gly 230	Ile Gly Val Pro Gly Ile 240
Gly Val Pro Gly Ile 245	Gly Val Pro Gly Lys 250	Gly Val Pro Gly Ile Gly 255
Val Pro Gly Ile Gly 260	Gly Ile Gly Val Pro 265	Gly Ile Gly Val Pro Gly 270
Pro Gly Lys Gly Val 275	Pro Gly Ile Gly Val 280	Pro Gly Ile Gly Asp Asp 285
Asp Glu Glu Lys Phe 290	Leu Arg Arg Ile Gly 295	Phe Gly Val Pro Gly 300
Ile Gly Val Pro Gly 305	Ile Gly Val Pro Gly 310	Lys Gly Val Pro Gly Ile 320
Gly Val Pro Gly Ile 325	Gly Val Pro Gly Ile 330	Gly Val Pro Gly Ile Gly 335
Val Pro Gly Lys Gly 340	Val Pro Gly Ile Gly 345	Val Pro Gly Ile Gly Val 350

# ES 2 387 115 A1

340	345	350
Pro Gly Ile Gly Val 355	Pro Gly Ile Gly Val 360	Pro Gly Lys Gly Val Pro 365
Gly Ile Gly Val Pro 370	Gly Ile Gly Val Pro 375	Gly Ile Gly Val Pro Gly 380
Ile Gly Val Pro Gly 385	Lys Gly Val Pro Gly 390	Ile Gly Val Pro Gly Ile 395 400
Gly Asp Asp Asp 405	Glu Glu Lys Phe Leu 410	Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly 415
Val Pro Gly Ile Gly Val 420	Pro Gly Ile Gly Val 425	Pro Gly Lys Gly Val 430
Pro Gly Ile Gly Val 435	Pro Gly Ile Gly Val 440	Pro Gly Ile Gly Val Pro 445
Gly Ile Gly Val Pro 450	Gly Lys Gly Val Pro 455	Gly Ile Gly Val Pro Gly 460
Ile Gly Val Pro Gly 465	Ile Gly Val Pro Gly 470 475	Ile Gly Val Pro Gly Lys 480
Gly Val Pro Gly Ile 485	Gly Val Pro Gly Ile 490	Gly Val Pro Gly Ile Gly 495
Val Pro Gly Ile Gly Val 500	Pro Gly Lys Gly Val 505	Pro Gly Ile Gly Val 510
Pro Gly Ile Gly Ala Val 515	Thr Gly Arg Gly Asp 520 525	Ser Pro Ala Ser Ser
Val Pro Gly Ile Gly Val 530	Pro Gly Ile Gly Val 535 540	Pro Gly Lys Gly Val
Pro Gly Ile Gly Val 545	Pro Gly Ile Gly Val 550 555	Pro Gly Ile Gly Val Pro 560
Gly Ile Gly Val Pro 565	Gly Lys Gly Val Pro 570	Gly Ile Gly Val Pro Gly 575
Ile Gly Val Pro Gly 580	Ile Gly Val Pro Gly 585	Ile Gly Val Pro Gly Lys

ES 2 387 115 A1

	580		585		590
Gly Val	Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	
	595		600		605
Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val
610		615		620	
Pro Gly Ile Gly Ala	Val Thr Gly Arg Gly	Asp Ser Pro Ala Ser	Ser Pro Ala Ser	Ser Ser	
625	630	635		640	
Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val
	645		650		655
Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro
	660		665		670
Gly Ile Gly Val Pro	Gly Lys Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Val Pro Gly	
	675		680		685
Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Lys
690		695		700	
Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly
705		710		715	720
Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val
	725		730		735
Pro Gly Ile Gly Ala	Val Thr Gly Arg Gly	Asp Ser Pro Ala Ser	Ser Pro Ala Ser	Ser Ser	
	740		745		750
Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Lys Gly	Val
	755		760		765
Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro
	770		775		780
Gly Ile Gly Val Pro	Gly Lys Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Val Pro Gly	
785	790		795		800
Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Lys
	805		810		815
Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly

# ES 2 387 115 A1

820	825	830
Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val 835 840 845		
Pro Gly Ile Gly Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser 850 855 860		
Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val 865 870 875 880		
Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro 885 890 895		
Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly 900 905 910		
Ile Gly Val 915		

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

<220>  
 <223> Gen sintético

<400>	38		
		atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa	60
		ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc	120
		ggtgttccgg gcaaggggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcgggtga tgacgatgag	180
		gaaaagttcc tgcgtcgcac cggccgtttt ggggtcccgg gcatcgggtgt tccgggcatt	240
		ggtgtgcctg gcaaaggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcatcgggtgt tccaggcatt	300
		ggtgtgccgg gcatcgggtgt tccgggcaaa ggtgtgccag gcatcgggtgt tccgggcatt	360
		ggtgtaccgg gcatcgggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcaaaggtgt tccgggcatt	420
		ggtgtgccgg gcatcgggtgt gccaggcatt ggtgtgccgg gcatcgggtgt tccgggcaag	480
		ggtgtgccgg gcattggtgt gccaggcatc ggtgatgacg atgaggaaaa gttcctgcgt	540
		cgcacggcc gttttggggt cccgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gcctggcaaa	600
		ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccag gcattggtgt gccgggcatc	660
		ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc ggtgttccgg gcattggtgt accgggcatc	720

# ES 2 387 115 A1

gggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc	780
gggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt	840
gggtgtgccag gcatcgggtga tgacgatgag gaaaagttcc tgcgtcgcac cggccgtttt	900
gggggtcccgg gcatcgggtgt tccgggcatt ggtgtgctg gcaaagggtgt tccgggcatt	960
gggtgtgccgg gcatcgggtgt tccaggcatt ggtgtgccgg gcatcgggtgt tccgggcaaa	1020
gggtgtgccag gcatcgggtgt tccgggcatt ggtgtaccgg gcatcgggtgt tccgggcatt	1080
gggtgtgccgg gcaaagggtgt tccgggcatt ggtgtgccgg gcatcgggtgt gccaggcatt	1140
gggtgtgccgg gcatcgggtgt tccgggcaag ggtgtgccgg gcattggtgt gccaggcatc	1200
gggtgatgacg atgaggaaaa gttcctgcgt cgcacggcc gttttggggc cccgggcatc	1260
gggtgttccgg gcattggtgt gcctggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc	1320
gggtgttccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaaagggtgt gccaggcatc	1380
gggtgttccgg gcattggtgt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa	1440
gggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc	1500
gggtgttccgg gcaagggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcgggtgc agtaaccggt	1560
cgtggggatt ctctgcgtc cagcgtccc ggcacgggtg ttccgggcat tgggtgtgccg	1620
ggcaaagggtg ttccgggcat tgggtgtgccg ggcacgggtg tgccaggcat tgggtgtgccg	1680
ggcacgggtg ttccgggcaa aggtgtgcca ggcacgggtg tgccgggcat tgggtgtaccg	1740
ggcacgggtg ttccgggcat tgggtgtgccg ggcaaagggtg ttccgggcat tgggtgtgccg	1800
ggcacgggtg tgccaggcat tgggtgtgccg ggcacgggtg ttccgggcaa ggggtgtgccg	1860
ggcattggtg tgccaggcat cgggtgcagta accggtcgtg gggattctcc tgcgtccagc	1920
gtcccgggca tcggtgttcc gggcattggt gtgccgggca aagggtgttcc gggcattggt	1980
gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt gtgccgggca tcggtgttcc gggcaaagggt	2040
gtgccaggca tcggtgtgcc gggcattggt gtaccgggca tcggtgttcc gggcattggt	2100
gtgccgggca aagggtgttcc gggcattggt gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt	2160
gtgccgggca tcggtgttcc gggcaagggt gtgccgggca ttgggtgtgcc aggcacgggt	2220
gcagtaaccg gtcgtgggga ttctcctgcg tccagcgtcc cgggcatcgg tgttccgggc	2280
attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc	2340
attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc aaagggtgtgc caggcatcgg tgtgccgggc	2400
attggtgtac cgggcatcgg tgttccgggc attggtgtgc cgggcaaagg tgttccgggc	2460
attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc	2520



# ES 2 387 115 A1

```

aagggtgtgc cgggcattgg tgtgccaggc atcgggtgcag taaccggtcg tggggattct      2580
cctgcgtcca gcgtcccggg catcgggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtggt      2640
ccgggcattg gtgtgccggg catcgggtgtg ccaggcattg gtgtgccggg catcgggtgtt      2700
ccggggcaaag gtgtgccagg catcgggtgtg ccgggcattg gtgtatga                    2748

```

```

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

```

```

<220>
<223> Polímero proteico

```

```

<400> 39

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

# ES 2 387 115 A1

165	170	175
Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly Ile Gly Val 180		
Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro 195	200	205
Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly 210	215	220
Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile 225	230	235
Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly 245	250	255
Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val 260	265	270
Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Asp Asp 275	280	285
Asp Glu Glu Lys Phe Leu Arg Arg Ile Gly Arg Phe Gly Val Pro Gly 290	295	300
Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile 305	310	315
Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly 325	330	335
Val Pro Gly Lys Gly Val Pro Gly Ile Gly Val Pro Gly Ile Gly Val 340	345	350

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

<220>  
 <223> Gen sintético

<400> 40  
 atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa 60  
 ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc 120

# ES 2 387 115 A1

```

gggtgttccgg gcaaggggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcgggtga tgacgatgag      180
gaaaagttcc  tgcgtcgcac  cggccgtttt  ggggtcccgg  gcatcgggtgt  tccgggcatt      240
ggtgtgcctg  gcaaaggtgt  tccgggcatt  ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  tccaggcatt      300
ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  tccgggcaaa  ggtgtgccag  gcatcgggtgt  tccgggcatt      360
ggtgtaccgg  gcatcgggtgt  tccgggcatt  ggtgtgccgg  gcaaaggtgt  tccgggcatt      420
ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  gccaggcatt  ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  tccgggcaag      480
ggtgtgccgg  gcattggtgt  gccaggcatc  ggtgatgacg  atgaggaaaa  gttcctgcgt      540
cgcatcggcc  gttttggggg  cccgggcac  ggtgttccgg  gcattggtgt  gcctggcaaa      600
ggtgttccgg  gcattggtgt  gccgggcac  ggtgttccag  gcattggtgt  gccgggcac      660
ggtgttccgg  gcaaaggtgt  gccaggcatc  ggtgttccgg  gcattggtgt  accgggcac      720
ggtgttccgg  gcattggtgt  gccgggcaaa  ggtgttccgg  gcattggtgt  gccgggcac      780
ggtgtgccag  gcattggtgt  gccgggcac  ggtgttccgg  gcaaggggtgt  gccgggcatt      840
ggtgtgccag  gcatcgggtga  tgacgatgag  gaaaagttcc  tgcgtcgcac  cggccgtttt      900
gggggtcccgg  gcatcgggtgt  tccgggcatt  ggtgtgcctg  gcaaaggtgt  tccgggcatt      960
ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  tccaggcatt  ggtgtgccgg  gcatcgggtgt  tccgggcaaa     1020
ggtgtgccag  gcatcgggtgt  tccgggcatt  ggtgtatga                                     1059

```

```

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

```

```

<220>
<223> Polímero proteico

```

```

<400> 41

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```



# ES 2 387 115 A1

305	310	315	320
Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Lys Gly Val Pro Gly	Ile Gly
	325	330	335
Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly
	340	345	350
Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val
	355	360	365
Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Lys Gly Val	Pro
	370	375	380
Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Ala Val	Thr Gly Arg Gly Asp	Ser
	385	390	395
Pro Ala Ser Ser Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro
	405	410	415
Gly Lys Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly
	420	425	430
Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Lys Gly Val Pro Gly	Ile
	435	440	445
Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly Ile	Gly
	450	455	460
Val Pro Gly Lys Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val Pro Gly Ile Gly	Val
	465	470	475
Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Lys Gly Val	Pro
	485	490	495
Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Ala Val	Thr Gly Arg Gly Asp	Ser
	500	505	510
Pro Ala Ser Ser Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro Gly Ile Gly Val	Pro
	515	520	525
Gly Lys Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly
	530	535	540
Ile Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro Gly	Lys Gly Val Pro Gly	Ile

# ES 2 387 115 A1

545	550	555	560
Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly
	565	570	575
Val Pro Gly	Lys Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val
	580	585	590
Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro	Gly Lys Gly Val Pro
	595	600	605
Gly Ile Gly	Val Pro Gly	Ile Gly Ala Val Thr	Gly Arg Gly Asp Ser
	610	615	620
Pro Ala Ser	Ser Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro
	625	630	635
Gly Lys Gly	Val Pro Gly	Ile Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val Pro
	645	650	655
Ile Gly Val	Pro Gly Ile	Gly Val Pro Gly	Lys Gly Val Pro
	660	665	670
Gly Val Pro	Gly Ile Gly Val		
	675		

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

<220>  
 <223> Gen sintético

<400>	42	atggaatccc tgctgccggt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa	60
		ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc	120
		ggtgttccgg gcaaggggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcggtgc agtaaccggt	180
		cgtggggatt ctctgcgtc cagcgtcccg ggcacgggtg ttccgggcat tgggtgtgccg	240
		ggcaaaggtg ttccgggcat tgggtgtgccg ggcacgggtg tgccaggcat tgggtgtgccg	300
		ggcatcggtg ttccgggcaa aggtgtgcca ggcacgggtg tgccgggcat tgggtgtaccg	360
		ggcatcggtg ttccgggcat tgggtgtgccg ggcaaaggtg ttccgggcat tgggtgtgccg	420
		ggcatcggtg tgccaggcat tgggtgtgccg ggcacgggtg ttccgggcaa gggtgtgccg	480

# ES 2 387 115 A1

ggcattggtg tgccaggcat cgggtgcagta accggtcgtg gggattctcc tgcgtccagc	540
gtcccgggca tcggtgttcc gggcattggt gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt	600
gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt gtgccgggca tcggtgttcc gggcaaaggt	660
gtgccaggca tcggtgtgcc gggcattggt gtaccgggca tcggtgttcc gggcattggt	720
gtgccgggca aaggtgttcc gggcattggt gtgccgggca tcggtgtgcc aggcattggt	780
gtgccgggca tcggtgttcc gggcaaaggt gtgccgggca ttggtgtgcc aggcacggt	840
gcagtaaccg gtcgtgggga ttctcctgcg tccagcgtcc cgggcatcgg tgttccgggc	900
attggtgtgc cgggcaaaggt tgttccgggc attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc	960
attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc aaaggtgtgc caggcatcgg tgtgccgggc	1020
attggtgtac cgggcatcgg tgttccgggc attggtgtgc cgggcaaaggt tgttccgggc	1080
attggtgtgc cgggcatcgg tgtgccaggc attggtgtgc cgggcatcgg tgttccgggc	1140
aaggtgtgtgc cgggcattgg tgtgccaggc atcgggtgcag taaccggtcg tggggattct	1200
cctgctcca gcgtcccggg catcgggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtgtt	1260
ccgggcattg gtgtgccggg catcgggtgtg ccaggcattg gtgtgccggg catcgggtgtt	1320
ccgggcaaag gtgtgccagg catcgggtgtg ccgggcattg gtgtaccggg catcgggtgtt	1380
ccgggcattg gtgtgccggg caaaggtgtt ccgggcattg gtgtgccggg catcgggtgtg	1440
ccaggcattg gtgtgccggg catcgggtgtt ccgggcaaag gtgtgccggg cattggtgtg	1500
ccaggcatcg gtgcagtaac cggtcgtggg gattctcctg cgtccagcgt cccgggcatc	1560
ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc	1620
ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc ggtgttccgg gcaaaggtgt gccaggcatc	1680
ggtgtgccgg gcattggtgt accgggcatc ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcaaa	1740
ggtgttccgg gcattggtgt gccgggcatc ggtgtgccag gcattggtgt gccgggcatc	1800
ggtgttccgg gcaaggtgt gccgggcatt ggtgtgccag gcatcgggtc agtaaccggt	1860
cgtggggatt ctctgcgtc cagcgtcccg ggcacgggtg ttccgggcat tgggtgtgccg	1920
ggcaaaggtg ttccgggcat tgggtgtgccg ggcacgggtg tgccaggcat tgggtgtgccg	1980
ggcatcgggtg ttccgggcaa aggtgtgccg ggcacgggtg tgccgggcat tgggtgtatga	2040



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②<sup>1</sup> N.º solicitud: 200901903

②<sup>2</sup> Fecha de presentación de la solicitud: 24.09.2009

③<sup>2</sup> Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤<sup>1</sup> Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

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

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
24.08.2012

Examinador  
M. Novoa Sanjurjo

Página  
1/6





OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 200901903

22 Fecha de presentación de la solicitud: 24.09.2009

32 Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

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

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe  
24.08.2012

Examinador  
M. Novoa Sanjurjo

Página  
2/6

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61L27/22** (2006.01)

**C07K14/78** (2006.01)

**A61K38/39** (2006.01)

**C08L89/00** (2006.01)

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

A61L, C07K, A61K, C08L

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.08.2012

**Declaración**

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

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

**Base de la Opinión.-**

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

**Consideraciones:**

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

**1. Documentos considerados.-**

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

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

El documento D01, describe la obtención del polímero de SEQ ID nº 39, obtenido en el ejemplo 2 de la presente solicitud. Los documentos D02 y D03, describen el polímero de SEQ ID nº 41, obtenido en el ejemplo 3 de la solicitud.

El documento D04, describe la obtención de péptidos híbridos que contienen simultáneamente un dominio de adhesión a minerales que contienen fosfato cálcico, concretamente el fragmento N15 de estaterina y un fragmento de adhesión celular que contiene la secuencia RGD de osteopontina o PDGEA de colágeno tipo I.

El documento D05, describe el recubrimiento de materiales metálicos que se utilizan como implantes, con capas de polímeros. Para activar la superficie metálica se utilizan silanos y entre ellos el 3-cloropropiltrióxido de silano.

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración****NOVEDAD****Reivindicaciones 1-9**

Los polímeros de la invención obtenidos en los ejemplos 2 y 3 son conocidos en el estado de la técnica y han sido descritos en los documentos D01- D03. El que en las reivindicaciones se presenten como una simple mezcla, no supone una novedad sobre lo previamente conocido. Las reivindicaciones 1, 3-9 en la medida en que afectan a dichos polímeros, no son nuevas e incumplen por tanto los requisitos del Art. 6 de la Ley de Patentes 11/1986.

No se ha encontrado en el estado de la técnica el polímero obtenido en el ejemplo 1, de SEQ ID nº 37, que incluye, además de los bloques derivados de elastina, simultáneamente la SEQ ID nº 16, dominio de adhesión a minerales que contienen fosfato cálcico y la SEQ ID nº 30 que promueve la adhesión celular; por tanto, la reivindicación 2 (en la medida en que afecta al polímero obtenido en el ejemplo 1), es nueva y cumple los requisitos del Art. 6 de la Ley de Patentes 11/1986.

**Reivindicaciones 10-17**

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

**ACTIVIDAD INVENTIVA****Reivindicaciones 1-9**

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

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

#### Reivindicaciones 10-17

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