(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 575 226**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)
A61K 38/03 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.10.2011 E 11775734 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2627346**

(54) Título: **Péptidos permeables celulares inhibidores de la ruta de transducción de la señal JNK para su uso en el tratamiento de la uiveítis**

(30) Prioridad:

25.01.2011 WO PCT/EP2011/000307
14.10.2010 WO PCT/EP2010/006284

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.06.2016

(73) Titular/es:

XIGEN INFLAMMATION LTD. (100.0%)
Arch. Makariou III, 195 Neocleous House
3030 Limassol, CY

(72) Inventor/es:

COMBETTE, JEAN-MARC;
DELOCHE, CATHERINE y
ABADIE, CLAIRE

(74) Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 575 226 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Péptidos permeables celulares inhibidores de la ruta de transducción de la señal JNK para su uso en el tratamiento de la uiveítis.

La presente invención se refiere al campo de la utilización de inhibidores de proteína quinasa y más específicamente al uso de inhibidores de la proteína quinasa, quinasa amino terminal c-Jun, (poli)péptidos inhibidores de JNK, péptidos quiméricos, o de ácidos nucleicos que los codifican, y a composiciones farmacéuticas que los contienen, para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas, como orzuelos, chalazión, conjuntivitis, queratitis, escleritis, episcleritis, endoftalmitis, panoftalmitis, irititis, uveítis, ciclitis, coroiditis, celulitis orbitaria, retinitis y/o miositis del músculo ocular, etc.

La cantidad de enfermedades oftálmicas (oculares), en particular enfermedades oftálmicas (oculares) crónicas y no crónicas representa un desafío considerable para los sistemas sanitarios públicos. Las enfermedades oftálmicas son enfermedades del ojo. La presente invención se centra en enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas. Éstas incluyen, por ejemplo, enfermedades inflamatorias de los párpados, la conjuntiva, la córnea, la esclerótica, el cuerpo vítreo, la úvea, el cuerpo ciliar, la coroides, el hueso orbital, las glándulas lacrimales, el iris, etc. Ejemplos de estas enfermedades inflamatorias son orzuelos, chalazión, conjuntivitis, queratitis, escleritis, episcleritis, endoftalmitis, panoftalmitis, irititis, uveítis, ciclitis, coroiditis, celulitis orbitaria, retinitis y/o miositis del músculo ocular.

Se han identificado quinasas c-Jun NH2-terminales (JNK) como proteína quinasas activadas por estrés que fosforilan c-Jun en dos sitios en su dominio de activación NH2-terminal. La vía de las JNK se activa por determinadas citoquinas, mitógenos, estrés osmótico e irradiación. La fosforilación del componente c-Jun del factor de transcripción de proteína activadora AP-1 resulta en una producción de citoquinas proinflamatorias. Durante la inflamación, la activación temprana del endotelio vascular, que libera importantes factores quimiotácticos como RANTES, IL-8, ICAM y VCAM, conduce a la infiltración y reincorporación de leucocitos. Las células que se infiltran liberan a su vez diferentes grupos de productos proinflamatorios o antiinflamatorios que contribuyen a daños tisulares e inflamación. Muchos de los productos génicos implicados en la respuesta inflamatoria son regulados por el factor de transcripción de proteína activadora (AP-1), y la vía de la quinasa c-Jun NH2-terminal (JNK): COX-2, ciclooxigenasa-2; IFN-g, interferón-gamma; iNOS, óxido nítrico sintasa inducible; TNF-a, factor alfa de necrosis tumoral; MCP-1, proteína-1 cofactor de membrana; MIP-1, proteína-1 intrínseca principal; IL-2, interleucina-2, ... En monocitos estimulados por lipopolisacáridos (LPS) y macrófagos tisulares, el TNF-a se produce a través de la activación de la vía de JNK y se modula mediante su inhibición.

La WO 2009/143865 A1 describe el uso de inhibidores de péptidos JNK con permeabilidad celular para el tratamiento de diversas enfermedades seleccionadas de entre enfermedades autoinmunes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades cancerosas, diabetes, incluyendo diabetes de tipo 1 o tipo 2, enfermedades inflamatorias, alopecia, incluyendo alopecia areata, enfermedades pulmonares, enfermedades neuronales o neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, enfermedades espinales, enfermedades uterinas, enfermedades infecciosas virales y trastornos depresivos.

La WO 2010/113753 A1 describe un agente profiláctico o terapéutico que comprende, como principio activo, un péptido inhibidor de las JNK de menos de 150 aminoácidos de longitud que contiene al menos un D-aminoácido para enfermedades retinales, incluyendo degeneración macular asociada a la edad, edema macular diabético, retinopatía diabética (excluyendo el edema macular diabético), coriorretinopatía exudativa central, estrías angioides, desprendimiento del pigmentario retinal, coroiditis multifocal, maculopatía neovascular (limitada exclusivamente a casos provocados por gran miopía, síndrome del disco inclinado u osteoma coroideo), retinopatía del prematuro, retinitis pigmentaria, enfermedad de Leber, oclusión de las arterias retinianas, oclusión de las venas retinianas, coriorretinopatía serosa central, macroaneurisma retiniano, desprendimiento de retina, vitreorretinopatía proliferativa, enfermedad de Stargardt, esclerosis coroidea, coroideremia, distrofia macular viteliforme, enfermedad de Oguchi, fyundus albipunctatus, retinitis punctata albescens, y atrofia girada de la coroides y de la retina.

Por tanto, los inhibidores de JNK se han utilizado en diversos modelos de inflamación y han demostrado ejercer efectos antiinflamatorios y beneficiosos en enfermedades inflamatorias como la artritis y el asma.

La presente invención proporciona un (poli)péptido quimérico que comprende un (poli)péptido inhibidor de JNK destinado al uso en el tratamiento de la uveítis, comprendiendo o consistiendo el (poli)péptido quimérico en toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11, o en un fragmento o una variante de la misma que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90% con toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica destinada al uso en el

tratamiento de la uveítis que incluye un (poli)péptido quimérico que comprende o consiste en toda la secuencia de D-aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID Nº: 11, o en un fragmento o una variante que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90% con toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11.

Por consiguiente, el objeto de la presente invención es proporcionar terapias alternativas o mejoradas que posibiliten una nueva cura, preferentemente mejorada, de la uveítis.

Este objeto se resuelve mediante el uso de un (poli)péptido inhibidor de JNK de acuerdo con la presente invención, es decir, el uso de un (poli)péptido quimérico que comprende o consiste en toda la secuencia de D-aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID Nº: 11, o en un fragmento o una variante de la misma que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90% con toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11, en el tratamiento de la uveítis.

Tal como se utiliza aquí, el concepto "enfermedad oftálmica inflamatoria crónica o no crónica" se refiere normalmente a enfermedades inflamatorias crónicas o no crónicas del ojo. La enfermedad puede ser por ejemplo extraocular o intraocular. Esto incluye enfermedades de los párpados, la conjuntiva, la córnea, la esclerótica, el cuerpo vítreo, la úvea, el cuerpo ciliar, la coroides, el hueso orbital, las glándulas lacrimales, el iris, etc. En este sentido se incluyen preferentemente: orzuelos, chalazión, conjuntivitis, queratitis, escleritis, episcleritis, endoftalmitis, panoftalmitis, irititis, uveítis, ciclitis, coroiditis, celulitis orbitaria, retinitis, miositis del músculo ocular. La presente invención se refiere en particular al tratamiento de la uveítis, por ejemplo el tratamiento de la uveítis anterior, la uveítis intermedia, la uveítis posterior y la panuveítis. El tratamiento de la uveítis anterior es particularmente preferente.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que algunos (poli)péptidos inhibidores de JNK son particularmente adecuados para el tratamiento de estas enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas en un sujeto.

En el contexto de la presente descripción que comprende la presente invención, un (poli)péptido inhibidor de JNK se puede derivar normalmente de una secuencia IB1 humana o de rata, preferentemente de una secuencia de aminoácidos tal como se define o codifica mediante cualquiera de las secuencias de acuerdo con la SEQ ID Nº: 102 (representa la secuencia de ADNc de IB1 de rata y su secuencia de aminoácidos prevista), la SEQ ID Nº: 103 (representa la secuencia de proteínas IB1 de rata codificada por el límite exón-intrón del donante de empalme génico rIB1), la SEQ ID Nº: 104 (representa la secuencia de proteínas IB1 de *Homo sapiens*), o la SEQ ID Nº: 105 (representa la secuencia de ADNc de IB1 de *Homo sapiens*), de forma especialmente preferente de una secuencia de aminoácidos tal como se define o codifica mediante cualquiera de las secuencias de acuerdo con la SEQ ID Nº: 104 (representa la secuencia de proteínas IB1 de *Homo sapiens*), o la SEQ ID Nº: 105 (representa la secuencia de ADNc de IB1 de Homo sapiens), o de cualquier fragmento o variante de las mismas. Dicho de otro modo, el (poli)péptido inhibidor de JNK comprende un fragmento, variante o variante de dicho fragmento de una secuencia IB1 humana o de rata. Las secuencias IB humanas o de rata se definen o codifican, respectivamente, mediante las secuencias de acuerdo con la SEQ ID Nº: 102, SEQ ID Nº: 103, SEQ ID Nº: 104 o SEQ ID Nº: 105.

Preferentemente, un (poli)péptido inhibidor de JNK de este tipo tal como se describe aquí comprende una longitud total de menos de 150 residuos aminoácidos, preferentemente un intervalo entre 5 y 150 residuos, de forma especialmente preferente entre 10 y 100 residuos, de forma particularmente preferente entre 10 y 75 residuos y de forma totalmente preferente entre 10 y 50 residuos, por ejemplo entre 10 y 30, entre 10 y 20 o entre 10 y 15 residuos aminoácidos.

De forma especialmente preferente, dicho (poli)péptido inhibidor de JNK y los intervalos arriba indicados se pueden seleccionar entre cualquiera de las secuencias arriba mencionadas, de forma todavía más preferente de una secuencia de aminoácidos tal como se define de acuerdo con la SEQ ID Nº: 104 o tal como se codifica mediante la SEQ ID Nº: 105, de forma particularmente preferente en la región entre los nucleótidos 420 y 980 de la SEQ ID Nº: 105 o los aminoácidos 105 y 291 de la SEQ ID Nº: 104, y de forma totalmente preferente en la región entre los nucleótidos 561 y 647 de la SEQ ID Nº: 105 o los aminoácidos 152 y 180 de la SEQ ID Nº: 104.

En particular, un (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí normalmente se une a JNK y/o inhibe la activación de al menos un factor de transcripción activado por JNK, por ejemplo c-Jun o ATF2 (véanse, por ejemplo, las SEQ ID Nº: 15 y 16, respectivamente) o Elk1.

Igualmente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí preferentemente comprende o consiste en al menos una secuencia de aminoácidos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 1 a 4, 13 a 20 y 33 a 100, o un fragmento, derivado o variante de la misma. De forma especialmente preferente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede contener 1, 2, 3, 4 o incluso más copias

de una secuencia de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1 a 4, 13 a 20 y 33 a 100, o un fragmento, derivado o variante de la misma. Si están presentes en más de una copia, estas secuencias de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID Nº: 1 a 4, 13 a 20 y 33 a 100, o variantes, fragmentos o derivados de las mismas tal como se describen aquí pueden estar unidas directamente entre sí sin ninguna secuencia de enlace o a través de una secuencia de enlace que comprende de 1 a 10, preferentemente de 1 a 5 aminoácidos. Los aminoácidos que forman la secuencia de enlace se seleccionan preferentemente entre glicina o prolina como residuos aminoácidos. De forma especialmente preferente, estas secuencias de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1 a 4, 13 a 20 y 33 a 100, o fragmentos, variantes o derivados de las mismas, tal como se dan a conocer aquí, pueden estar separadas entre sí por una bisagra de dos, tres o más residuos prolina.

Los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden estar compuestos por L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos. Preferentemente, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí comprenden al menos 1 o incluso 2, preferiblemente al menos 3, 4 o 5, de forma especialmente preferente al menos 6, 7, 8 o 9, y de forma particularmente preferente al menos 10 o más D-aminoácidos y/o L-aminoácidos, pudiendo estar dispuestos los D-aminoácidos y/o L-aminoácidos en las secuencias inhibidoras de JNK tal como se dan a conocer aquí en forma de bloques, no en forma de bloques o de un modo alternado.

De acuerdo con una realización no reivindicada, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden estar compuestos exclusivamente por L-aminoácidos. En este caso, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos una "secuencia inhibidora de JNK nativa" de acuerdo con la SEQ ID Nº: 1 o 3. En este contexto, la expresión "nativa" o "secuencia(s) inhibidora(s) de JNK nativa(s)" se refiere a secuencias de (poli)péptidos inhibidores de JNK no alteradas de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 1 o 3, tal como se dan a conocer aquí, compuestas totalmente por L-aminoácidos.

Por consiguiente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí consiste en al menos una secuencia de aminoácidos (nativa) NH_2-X_n^b-RPTTLXLXXXXXXXQD- X_n^a-X_n^b-COOH (L-IB genérico (s)) [SEQ ID Nº: 3] y/o el dominio de unión de JNK (JBDs) de IB1 XRPTTLXLXXXXXXXQDS/TX (L-IB (genérico)) [SEQ ID Nº: 19]. En este contexto, cada X representa normalmente un residuo aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo). X_n^a representa normalmente un residuo aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo aminoácido excepto serina o treonina, siendo n (la cantidad de repeticiones de X) igual a 0 o 1. Además, cada X_n^b se puede seleccionar entre cualquier residuo aminoácido, siendo n (la cantidad de repeticiones de X) igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más, con la condición de que, si n (la cantidad de repeticiones de X) es 0 para X_n^a, X_n^b no comprende una serina o treonina en su extremo N-terminal con el fin de evitar una serina o treonina en esta posición. Preferentemente, X_n^b representa una extensión contigua de residuos peptídicos derivados de SEQ ID Nº: 1 o 3. X_n^a y X_n^b pueden representar D-aminoácidos o L-aminoácidos. Adicionalmente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en al menos una secuencia de aminoácidos (nativa) seleccionada entre el grupo que comprende el dominio de unión de JNK de IB1 DTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT (L-IB1) [SEQ ID Nº: 17]. De forma especialmente preferente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede además comprender o consistir en al menos una secuencia de aminoácidos (nativa) NH_2-RPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH (L-IB1(s)) [SEQ ID Nº: 1]. Además, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en al menos una secuencia de aminoácidos (nativa) seleccionada entre el grupo que comprende el dominio de unión de JNK de IB1 L-IB1(s1) (NH_2-TLNLFPQVPRSQD-COOH, SEQ ID Nº: 33); L-IB1(s2) (NH_2-TTLNLF-PQVPRSQ-COOH, SEQ ID Nº: 34); L-IB1(s3) (NH_2-PTTLNLFPQVPRS-COOH, SEQ ID Nº: 35); L-IB1(s4) (NH_2-RPT- TLNLFPQVPR-COOH, SEQ ID Nº: 36); L-IB1(s5) (NH_2-KRPTTLNLFPQVP-COOH, SEQ ID Nº: 37); L-IB1(s6) (NH_2-PKRPTTLNLFPQV-COOH, SEQ ID Nº: 38); L-IB1(s7) (NH_2-RPKRPTTLNLFPQ-COOH, SEQ ID Nº: 39); L-IB1(s8) (NH_2-LNLFPQVPRSQD-COOH, SEQ ID Nº: 40); L-IB1(s9) (NH_2-TLNLFPQVPRSQ-COOH, SEQ ID Nº: 41); L-IB1(s10) (NH_2-TTLNLFPQVPRS-COOH, SEQ ID Nº: 42); L-IB1(s11) (NH_2-PTTLNLFPQVPR-COOH, SEQ ID Nº: 43); L-IB1(s12) (NH_2-RPTTLNLFPQVP-COOH, SEQ ID Nº: 44); L-IB1(s13) (NH_2-KRPTTLNLFPQV-COOH, SEQ ID Nº: 45); L-IB1(s14) (NH_2-PKRPTTLNLFPQ-COOH, SEQ ID Nº: 46); L-IB1(s15) (NH_2-RPKRPTTLNLFP-COOH, SEQ ID Nº: 47); L-IB1(s16) (NH_2-NLFPQVPRSQD-COOH, SEQ ID Nº: 48); L-IB1(s17) (NH_2-LNLFPQVPRSQ-COOH, SEQ ID Nº: 49); L-IB1(s18) (NH_2-TLNLFPQVPRS-COOH, SEQ ID Nº: 50); L-IB1(s19) (NH_2-TTLNLFPQVPR-COOH, SEQ ID Nº: 51); L-IB1(s20) (NH_2-PTTLNLFPQVP-COOH, SEQ ID Nº: 52); L-IB1(s21) (NH_2-RPTTLNLFPQV-COOH, SEQ ID Nº: 53); L-IB1(s22) (NH_2-KRPTTLNLFPQ-COOH, SEQ ID Nº: 54); L-IB1(s23) (NH_2-PKRPTTLNLFP-COOH, SEQ ID Nº: 55); L-IB1(s24) (NH_2-RPKRPTTLNLF-COOH, SEQ ID Nº: 56); L-IB1(s25) (NH_2-LFPQVPRSQD-COOH, SEQ ID Nº: 57); L-IB1(s26) (NH_2-NLFPQVPRSQ-COOH, SEQ ID Nº: 58); L-IB1(s27) (NH_2-LNLFPQVPRS-COOH, SEQ ID Nº: 59); L-IB1(s28) (NH_2-TLNLFPQVPR-COOH, SEQ ID Nº: 60); L-IB1(s29) (NH_2-TTLNLFPQVP-COOH, SEQ ID Nº: 61); L-IB1(s30) (NH_2-PTTLNLFPQV-COOH, SEQ ID Nº: 62); L-IB1(s31) (NH_2-RPTTLNLFPQ-COOH, SEQ ID Nº: 63); L-IB1(s32) (NH_2-KRPTTLNLFP-COOH, SEQ ID Nº: 64); L-IB1(s33) (NH_2-PKRPTTLNLF-COOH, SEQ ID Nº: 65); y L-IB1(s34) (NH_2-RPKRPTTLNL-COOH, SEQ ID Nº: 66).

Adicionalmente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en al menos una secuencia de aminoácidos (nativa) seleccionada entre el grupo que comprende el dominio de unión de JNK (largo) de IB1 PGTGCGD- TYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT (IB1-largo) [SEQ ID Nº: 13], el dominio de unión de JNK (largo) de IB2 IPSPSVEEP- HKHRPTTLRLTTLGAQDS (IB2-largo) [SEQ ID Nº: 14], el dominio de unión de JNK de c-Jun GAYGYSNPKILKQS- MTLNLADPVGNLKPH (c-Jun) [SEQ ID Nº: 15], el dominio de unión de JNK de ATF2 TNEDHLAVHKHKHEMTLKFGPARNDSVIV (ATF2) [SEQ ID Nº: 16] (véanse, por ejemplo, las FIGURAS 1A-1C). En este contexto, una alineación reveló una secuencia de 8 aminoácidos parcialmente conservada (véase, por ejemplo, la FIG. 1A) y una comparación adicional de los JBDs de IB1 e IB2 reveló dos bloques de siete y tres aminoácidos que están altamente conservados entre las dos secuencias.

Los (poli)péptidos inhibidores de JNK de acuerdo con la presente invención tal como se definen más arriba están compuestos en parte o exclusivamente por D-aminoácidos tal como se definen más arriba. De forma especialmente preferente, estos (poli)péptidos inhibidores de JNK compuestos por D-aminoácidos consisten en secuencias D retroinversas no nativas de las secuencias inhibidoras de JNK (nativas) arriba indicadas. La expresión "(poli)péptidos retroinversos" se refiere a un isómero de una secuencia peptídica lineal en los que la dirección de la secuencia está invertida y la quiralidad de cada residuo aminoácido está invertida (véase, por ejemplo, Jameson y col., Nature, 368,744-746 (1994); Brady y col., Nature, 368,692-693 (1994)). La ventaja de combinar D-enantiómeros y síntesis inversa consiste en que las posiciones de los grupos carbonilo y amino en cada enlace amídico se intercambian, mientras que la posición de los grupos de cadena lateral en cada carbono alfa se conserva. A no ser que se indique específicamente otra cosa, se supone que cualquier secuencia o péptido de L-aminoácidos dada utilizada de acuerdo con la presente invención se puede convertir en una secuencia o péptido D retroinverso mediante la síntesis de una inversión de la secuencia o péptido con respecto a la secuencia o péptido de L-aminoácidos nativa correspondiente.

Los (poli)péptidos D retroinversos tal como se utilizan aquí y se definen más arriba tienen diversas propiedades útiles. Por ejemplo, los(poli)péptidos D retroinversos tal como se utilizan aquí entran en las células con la misma eficiencia que las secuencias de L-aminoácidos tal como se utilizan aquí, mientras que las secuencias D retroinversas tal como se utilizan aquí son más estables que las secuencias de L-aminoácidos correspondientes.

Por consiguiente, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos una secuencia D-retroinversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos NH_2-X_n^b-X_n^a-DQXXXXXXXLXLTTPR- X_n^b-COOH (D-IB1 genérico (s)) [SEQ ID Nº: 4] y/o XS/TDQXXXXXXXLXLTTPRX (D-IB (genérico)) [SEQ ID Nº: 20]. Tal como se utilizan en este contexto, X, X_n^a y X_n^b tienen el significado arriba definido (preferentemente representan D-aminoácidos), representando X_n^b preferentemente una extensión contigua de residuos derivados de SEQ ID Nº: 2 o 4. Si n es 0 en X_n^a, X_n^b preferentemente no incluye ninguna serina o treonina en su extremo C-terminal. Adicionalmente, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos una secuencia D retroinversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos que comprende el dominio de unión de JNK (JBDs) de IB1 TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD (D-IB1) [SEQ ID Nº: 18]. De forma especialmente preferente, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos una secuencia D retroinversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPR-COOH (D-IB1(s)) [SEQ ID Nº: 2]. Además, los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos una secuencia D retroinversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos que comprende el dominio de unión de JNK (JBDs) de IB1 D-IB1(s1) (NH_2-QPFLNLTTPRKPR-COOH, SEQ ID Nº: 67); D-IB1(s2) (NH_2-VQPFLNLTTPRKP-COOH, SEQ ID Nº: 68); D-IB1(s3) (NH_2-PVQPFLNLT- TPRK-COOH, SEQ ID Nº: 69); D-IB1(s4) (NH_2-RPVQPFLNLTTPR-COOH, SEQ ID Nº: 70); D-IB1(s5) (NH_2-SRPVQP- FLNLTTP-COOH, SEQ ID Nº: 71); D-IB1(s6) (NH_2-QSRPVQPFLNLTT-COOH, SEQ ID Nº: 72); D-IB1(s7) (NH_2-DQS- RPVQPFLNLT-COOH, SEQ ID Nº: 73); D-IB1(s8) (NH_2-PFLNLTTPRKPR-COOH, SEQ ID Nº: 74); D-IB1(s9) (NH_2-QP-FLNLTTPRKP-COOH, SEQ ID Nº: 75); D-IB1(s10) (NH_2-VQPFLNLTTPRK-COOH, SEQ ID Nº: 76); D-IB1(s11) (NH_2-PVQPFLNLTTPR-COOH, SEQ ID Nº: 77); D-IB1(s12) (NH_2-RPVQPFLNLTTP-COOH, SEQ ID Nº: 78); D-IB1(s13) (NH_2-SRPVQPFLNLTT-COOH, SEQ ID Nº: 79); D-IB1(sl4) (NH_2-QSRPVQPFLNLT-COOH, SEQ ID Nº: 80); D-IB1(s15) (NH_2-DQSRPVQPFLNL-COOH, SEQ ID Nº: 81); D-IB1(s16) (NH_2-FLNLTTPRKPR-COOH, SEQ ID Nº: 82); D-IB1(s17) (NH_2-PFLNLTTPRKP-COOH, SEQ ID Nº: 83); D-IB1(s18) (NH_2-QPFLNLTTPRK-COOH, SEQ ID Nº: 84); D-IB1(s19) (NH_2-VQPFLNLTTPR-COOH, SEQ ID Nº: 85); D-IB1(s20) (NH_2-PVQPFLNLTTP-COOH, SEQ ID Nº: 86); D-IB1(s21) (NH_2-RPVQPFLNLTT-COOH, SEQ ID Nº: 87); D-IB1(s22) (NH_2-SRPVQPFLNLT-COOH, SEQ ID Nº: 88); D-IB1(s23) (NH_2-QSRPVQPFLNL-COOH, SEQ ID Nº: 89); D-IB1(s24) (NH_2-DQSRPVQPFLN-COOH, SEQ ID Nº: 90); D-IB1(s25) (NH_2-DQSRPVQPFL-COOH, SEQ ID Nº: 91); D-IB1(s26) (NH_2-QSRPVQPFLN-COOH, SEQ ID Nº: 92); D-IB1(s27) (NH_2-SRPVQPFLNL-COOH, SEQ ID Nº: 93); D-IB1(s28) (NH_2-RPVQPFLNLT-COOH, SEQ ID Nº: 94); D-IB1(s29) (NH_2-PVQPFLNLTT-COOH, SEQ ID Nº: 95); D-IB1(s30) (NH_2-VQPFLNLTTP-COOH, SEQ ID Nº: 96); D-IB1(s31) (NH_2-QPFLNLTTPR-

COOH, SEQ ID Nº: 97); D-IB1(s32) (NH_2-PFLNLTTPRK-COOH, SEQ ID Nº: 98); D-IB1(s33) (NH_2-FLNLTTPRKP-COOH, SEQ ID Nº: 99); y D-IB1(s34) (NH_2-LNLTTPRKPR-COOH, SEQ ID Nº: 100).

Los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí se muestran en la Tabla 1 (SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100). La tabla muestra el nombre de los (poli)péptidos/secuencias inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí, así como sus números de identificación de secuencia, su longitud y la secuencia de aminoácidos. Además, la Tabla 1 muestra secuencias y sus fórmulas genéricas, por ejemplo para las SEQ ID Nº: 1, 2, 5, 6, 9 y 11 y las SEQ ID Nº: 3, 4, 7, 8, 10 y 12, respectivamente. La Tabla presenta además las secuencias quiméricas SEQ ID Nº: 9-12 y 23-32 (véase más abajo), las secuencias L-IB1 SEQ ID Nº: 33 a 66 y las secuencias D-IB1 SEQ ID Nº: 67 a 100.

Tabla 1

Nombre DE péptido/secue	SEQ ID NO	AA	Secuencia
L-IB1(s)	1	19	RPKRPTTLNLFPQVPRSQD (NH_2-RPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH)
D-IB1(s)	2	19	DQSRPVQPFLNLTTPRKPR (NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPR-COOH)
L-IB (generic) (s)	3	19	NH_2-X_n^b- RPTTLXLXXXXXXXQD-X_n^a--X_n^b-COOH
D-IB (generic) (s)	4	19	NH_2-X_n^b- X_n^a-DQXXXXXXXLXLTTPR-X_n^b-COOH
L-TAT	5	10	GRKKRRQRRR (NH_2-GRKKRRQRRR-COOH)
D-TAT	6	10	RRRQRRKKRG (NH_2-RRRQRRKKRG-COOH)
L-generic-TAT (s)	7	11	NH_2-X_n^b-RKKRRQRRR-X_n^b-COOH
D-generic-TAT (s)	8	11	NH_2-X_n^b-RRRQRRKKR-X_n^b-COOH
L-TAT-IB1(s)	9	31	GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD (NH_2-GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB (generic) (s)	10	29	NH_2-X_n^b-RKKRRQRRR-X_n^b -RPTTLXLXXXXXXXQD-X_n^a-X_n^b-COOH
D-TAT-IB1(s)	11	31	DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG (NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB (generic) (s)	12	29	NH_2-X_n^b-X_n^a-DQXXXXXXXLXLTTPR-X_n^b-RRRQRRKKR-X_n^b-COOH
IB1-long	13	29	PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT (NH_2-PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT-COOH)
IB2-long	14	27	IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTTLGAQDS (NH_2-IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTTLGAQDS-COOH)
c-Jun	15	29	GAYGYSNPKILKQSMTLNLADPVGNLKPH (NH_2-GAYGYSNPKILKQSMTLNLADPVGNLKPH-COOH)
ATF2	16	29	TNEDHLAVHKHKHEMTLKFGPARNDSVIV (NH_2-TNEDHLAVHKHKHEMTLKFGPARNDSVIV-COOH)
L-IB1	17	23	DTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT (NH_2-DTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT-COOH)
D-IB1	18	23	TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD (NH_2-TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD-COOH)
L-IB (generic)	19	19	XRPTTLXLXXXXXXXQDS/TX (NH_2-XRPTTLXLXXXXXXXQDS/TX-COOH)
D-IB (generic)	20	19	XS/TDQXXXXXXXLXLTTPRX (NH_2-XS/TDQXXXXXXXLXLTTPRX-COOH)
L-generic-TAT	21	17	XXXXRKKRRQRRRXXXX (NH_2-XXXXRKKRRQRRRXXXX-COOH)
D-generic-TAT	22	17	XXXXRRRQRRKKRXXXX (NH_2-XXXXRRRQRRKKRXXXX-COOH)
L-TAT-IB1	23	35	GRKKRRQRRRPPDTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT (NH_2-GRKKRRQRRRPPDTYRPKRPTTLNLFPQVPRSQDT-COOH)

Nombre péptido/secuencia	SEQ ID NO	AA	Secuencia Tabla 1 cont.
L-TAT-IB (generic)	24	42	XXXXXXXRKKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXQDS/TX (NH_2-XXXXXXXRKKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXQDS/TX-COOH)
D-TAT-IB1	25	35	TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG (NH_2-TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB (generic)	26	42	XT/SDQXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXX ((NH_2-XT/SDQXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXX -COOH)
L-TAT-IB1(s1)	27	30	RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD (NH_2-RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1(s2)	28	30	GRKKRRQRRRX$_n$^{c}RPKRPTTLNLFPQVPRSQD (NH_2-GRKKRRQRRRX$_n$^{c}RPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1(s3)	29	29	RKKRRQRRRX$_n$^{c}RPKRPTTLNLFPQVPRSQD (NH_2-RKKRRQRRRX$_n$^{c}RPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH)
D-TAT-IB1(s1)	30	30	DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKR (NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKR-COOH)
D-TAT-IB1(s2)	31	30	DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX$_n$^{c}RRRQRRKKRG (NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX$_n$^{c}RRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB1(s3)	32	29	DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX$_n$^{c}RRRQRRKKR (NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX$_n$^{c}RRRQRRKKR-COOH)
L-IB1(s1)	33	13	TLNLFPQVPRSQD (NH_2-TLNLFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s2)	34	13	TTLNLFPQVPRSQ (NH_2-TTLNLFPQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s3)	35	13	PTTLNLFPQVPRS (NH_2-PTTLNLFPQVPRS-COOH)
L-IB1(s4)	36	13	RPTTLNLFPQVPR (NH_2-RPTTLNLFPQVPR-COOH)
L-IB1(s5)	37	13	KRPTTLNLFPQVP (NH_2-KRPTTLNLFPQVP-COOH)
L-IB1(s6)	38	13	PKRPTTLNLFPQV (NH_2-PKRPTTLNLFPQV-COOH)
L-IB1(s7)	39	13	RPKRPTTLNLFPQ (NH_2-RPKRPTTLNLFPQ-COOH)
L-IB1(s8)	40	12	LNLFPQVPRSQD (NH_2-LNLFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s9)	41	12	TLNLFPQVPRSQ (NH_2-TLNLFPQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s10)	42	12	TTLNLFPQVPRS (NH_2-TTLNLFPQVPRS-COOH)
L-IB1(s11)	43	12	PTTLNLFPQVPR (NH_2-PTTLNLFPQVPR-COOH)
L-IB1(s12)	44	12	RPTTLNLFPQVP (NH_2-RPTTLNLFPQVP-COOH)
L-IB1(s13)	45	12	KRPTTLNLFPQV (NH_2-KRPTTLNLFPQV-COOH)

Nombre péptido/secuencia	SEQ ID NO	AA	Secuencia Tabla 1 cont.
L-IB1(s14)	46	12	PKRPTTLNLFPQ (NH_2-PKRPTTLNLFPQ-COOH)
L-IB1(s15)	47	12	RPKRPTTLNLFP (NH_2-RPKRPTTLNLFP-COOH)
L-IB1(s16)	48	11	NLFPQVPRSQD (NH_2-NLFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s17)	49	11	LNLFPQVPRSQ (NH_2-LNLFPQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s18)	50	11	TLNLFPQVPRS (NH_2-TLNLFPQVPRS-COOH)
L-IB1(s19)	51	11	TTLNLFPQVPR (NH_2-TTLNLFPQVPR-COOH)
L-IB1(s20)	52	11	PTTLNLFPQVP (NH_2-PTTLNLFPQVP-COOH)
L-IB1(s21)	53	11	RPTTLNLFPQV (NH_2-RPTTLNLFPQV-COOH)
L-IB1(s22)	54	11	KRPTTLNLFPQ (NH_2-KRPTTLNLFPQ-COOH)
L-IB1(s23)	55	11	PKRPTTLNLFP (NH_2-PKRPTTLNLFP-COOH)
L-IB1(s24)	56	11	RPKRPTTLNLF (NH_2-RPKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s25)	57	10	LFPQVPRSQD (NH_2-LFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s26)	58	10	NLFPQVPRSQ (NH_2-NLFPQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s27)	59	10	LNLFPQVPRS (NH_2-LNLFPQVPRS-COOH)
L-IB1(s28)	60	10	TLNLFPQVPR (NH_2-TLNLFPQVPR-COOH)
L-IB1(s29)	61	10	TTLNLFPQVP (NH_2-TTLNLFPQVP-COOH)
L-IB1(s30)	62	10	PTTLNLFPQV (NH_2-PTTLNLFPQV-COOH)
L-IB1(s31)	63	10	RPTTLNLFPQ (NH_2-RPTTLNLFPQ-COOH)
L-IB1(s32)	64	10	KRPTTLNLFP (NH_2-KRPTTLNLFP-COOH)
L-IB1(s33)	65	10	PKRPTTLNLF (NH_2-PKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s34)	66	10	RPKRPTTLNL (NH_2-RPKRPTTLNL-COOH)
D-IB1(s1)	67	13	QPFLNLTTPRKPR (NH_2-QPFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s2)	68	13	VQPFLNLTTPRKP (NH_2-VQPFLNLTTPRKP-COOH)
D-IB1(s3)	69	13	PVQPFLNLTTPRK (NH_2-PVQPFLNLTTPRK-COOH)

Nombre péptido/secuencia	SEQ ID NO	AA	Secuencia Tabla 1 cont.
D-IB1(s4)	70	13	RPVQPFLNLTTPR (NH_2-RPVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s5)	71	13	SRPVQPFLNLTTP (NH_2-SRPVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s6)	72	13	QSRPVQPFLNLTT (NH_2-QSRPVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s7)	73	13	DQSRPVQPFLNLT (NH_2-DQSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s8)	74	12	PFLNLTTPRKPR (NH_2-PFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s9)	75	12	QPFLNLTTPRKP (NH_2-QPFLNLTTPRKP-COOH)
D-IB1(s10)	76	12	VQPFLNLTTPRK (NH_2-VQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s11)	77	12	PVQPFLNLTTPR (NH_2-PVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s12)	78	12	RPVQPFLNLTTP (NH_2-RPVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s13)	79	12	SRPVQPFLNLTT (NH_2-SRPVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s14)	80	12	QSRPVQPFLNLT (NH_2-QSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s15)	81	12	DQSRPVQPFLNL (NH_2-DQSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1(s16)	82	11	FLNLTTPRKPR (NH_2-FLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s17)	83	11	PFLNLTTPRKP (NH_2-PFLNLTTPRKP-COOH)
D-IB1(s18)	84	11	QPFLNLTTPRK (NH_2-QPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s19)	85	11	VQPFLNLTTPR (NH_2-VQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s20)	86	11	PVQPFLNLTTP (NH_2-PVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s21)	87	11	RPVQPFLNLTT (NH_2-RPVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s22)	88	11	SRPVQPFLNLT (NH_2-SRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB 1 (s23)	89	11	QSRPVQPFLNL (NH_2-QSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1(s24)	90	11	DQSRPVQPFLN (NH_2-DQSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1(s25)	91	10	DQSRPVQPFL (NH_2-DQSRPVQPFL-COOH)
D-IB1(s26)	92	10	QSRPVQPFLN (NH_2-QSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1(s27)	93	10	SRPVQPFLNL (NH_2-SRPVQPFLNL-COOH)

Nombre péptido/secuencia	SEQ ID NO	AA	Secuencia
D-IB1(s28)	94	10	RPVQPFLNLT (NH_2-RPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s29)	95	10	PVQPFLNLTT (NH_2-PVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s30)	96	10	VQPFLNLTTP (NH_2-VQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s31)	97	10	QPFLNLTTPR (NH_2-QPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s32)	98	10	PFLNLTTPRK (NH_2-PFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s33)	99	10	FLNLTTPRKP (NH_2-FLNLTTPRKP-COOH)
D-IB1(s34)	100	10	LNLTTPRKPR (NH_2-LNLTTPRKPR-COOH)

Tabla 1 cont.

Los especialistas en la técnica entenderán que una secuencia aquí indicada que está compuesta exclusivamente por D-aminoácidos está identificada por el "nombre D". Por ejemplo, la SEQ ID Nº: 100 tiene el nombre de secuencia/péptido "D-IB1 (s34)". La secuencia de aminoácidos dada es LNLTTPRKPR. No obstante, todos los aminoácidos son aquí D-aminoácidos.

Los especialistas en la técnica también entenderán que las expresiones "compuesto totalmente por L-aminoácidos"; "compuesto exclusivamente por D-aminoácidos"; "compuesto totalmente por D-aminoácidos" y/o "compuesto exclusivamente por D-aminoácidos" y similares se refieren a secuencias que no han de excluir forzosamente (pero pueden excluir) la presencia de residuos de glicina. La glicina es el único aminoácido que no es quiral. Por ello, las expresiones "compuesto totalmente por L-aminoácidos"; "compuesto exclusivamente por D-aminoácidos"; "compuesto totalmente por D-aminoácidos" y/o "compuesto exclusivamente por D-aminoácidos" tienen el objetivo de aclarar que donde sea posible se utilizan L-aminoácidos o D-aminoácidos, respectivamente. No obstante, si la presencia de una glicina es necesaria o preferible en una posición dada de la secuencia de aminoácidos, puede permanecer en dicha posición. Un buen ejemplo es L-TAT (SEQ ID Nº: 5). Dicha secuencia se considera aquí como compuesta exclusivamente por L-aminoácidos, "aunque" dicha secuencia comprende un residuo de glicina no quiral. Del mismo modo, D-TAT (SEQ ID Nº: 6) se puede considerar aquí como compuesto exclusivamente por D-aminoácidos, "aunque" dicha secuencia comprende un residuo de glicina no quiral.

Preferentemente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en al menos una variante, fragmento y/o derivado de las secuencias de aminoácidos nativas o no nativas arriba definidas de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100. Preferentemente, estas variantes, fragmentos y/o derivados conservan actividad biológica de los (poli)péptidos inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí nativos o no nativos arriba indicados, en particular de secuencias de aminoácidos nativas o no nativas de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, es decir, uniendo JNK y/o inhibiendo la activación de al menos un factor de transcripción activado por JNK, por ejemplo c-Jun, ATF2 o Elk1. La funcionalidad se puede analizar mediante diversos ensayos, por ejemplo ensayos de unión del péptido a su molécula diana o mediante métodos biológicos, por ejemplo espectroscopía, modelización informática, análisis estructural, etc. En particular, un (poli)péptido inhibidor de JNK o variantes, fragmentos y/o derivados del mismo tal como se definen más arriba se pueden analizar mediante análisis de hidrofilia (véase, por ejemplo, Hopp y Woods, 1981. Proc Natl Acad Sci USA 78: 3824-3828), que puede emplearse para identificar las regiones hidrófobas e hidrófilas de los péptidos, ayudando así en el diseño de sustratos para manipulación experimental, como en experimentos de unión, o para síntesis de anticuerpos. También es posible llevar a cabo un análisis estructural para identificar regiones de un (poli)péptido inhibidor de JNK o de variantes, fragmentos y/o derivados del mismo tal como se dan a conocer aquí, que adoptan motivos estructurales específicos (véase, por ejemplo, Chou y Fasman, 1974, Biochem 13: 222-223). La manipulación, la traducción, la predicción de estructura secundaria, los perfiles hidrófilos e hidrófobos, la predicción y representación gráfica de marcos de lectura abiertos y la determinación de homologías de secuencia se pueden llevar a cabo utilizando programas de *software* de ordenador disponibles en la técnica. Otros métodos de análisis estructural incluyen, por ejemplo, cristalografía de rayos X (véase, por ejemplo, Engstrom, 1974. Biochem Exp Biol 11: 7-13), espectroscopía de masas y cromatografía de gases (véase, por ejemplo, METHODS IN PROTEIN SCIENCE, 1997, J. Wiley and Sons, New York, NY) y modelización informática (véase, por ejemplo, Fletterick y Zoller, eds., 1986. Computer Graphics and Molecular Modeling, En: CURRENT COMMUNICATIONS IN MOLECULAR BIOLOGY, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) y también pueden ser empleados.

Por consiguiente, el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en al menos una variante de secuencias de aminoácidos (nativas o no nativas) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100. En el contexto de la presente descripción que comprende la presente invención, una "variante de una secuencia de aminoácidos (nativa o no nativa) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100" consiste preferentemente en una secuencia derivada de cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, comprendiendo la variante alteraciones de aminóacidos de las secuencias de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100. Estas alteraciones comprenden normalmente de 1 a 20, preferentemente de 1 a 10 y de forma especialmente preferente de 1 a 5 sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, presentando la variante una identidad de secuencia con cualquier de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% o incluso al menos aproximadamente un 99%.

Si las variantes de secuencias de aminoácidos (nativas y no nativas) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 tal como se definen más arriba se obtienen mediante sustitución de aminoácidos específicos, dichas sustituciones comprenden preferentemente sustituciones de aminoácidos conservativas. Las sustituciones de aminoácidos conservativas pueden incluir residuos aminoácidos sinónimos con un grupo que tiene propiedades fisicoquímicas suficientemente similares, de modo que una sustitución entre miembros del

grupo conservará la actividad biológica de la molécula (véase, por ejemplo, Grantham, R. (1974), Science *185*, 862-864). Para los especialistas es evidente que también es posible realizar inserciones y/o deleciones de aminoácidos en las secuencias arriba definidas sin alterar su función, en particular si las inserciones y/o deleciones solo implican unos pocos aminoácidos, por ejemplo menos de veinte, preferentemente menos de diez, y no eliminan ni desplazan aminoácidos que son críticos para la actividad funcional. Además, en las variantes dadas a conocer aquí se han de evitar las sustituciones que conducen a treoninas adicionales en posiciones de aminoácidos que son accesibles para una fosforilasa, preferentemente una quinasa, con el fin de evitar la inactivación del (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí o del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí *in vivo* o *in vitro*.

En la Tabla 2 se definen residuos aminoácidos sinónimos preferentes que están clasificados en los mismos grupos y son normalmente intercambiables mediante sustituciones de aminoácidos conservativas.

TABLA 2
Grupos preferentes de residuos aminoácidos sinónimos

Aminoácido	Residuo sinónimo
Ser	Ser, Thr, Gly, Asn
Arg	Arg, Gln, Lys, Glu, His
Leu	Ile, Phe, Tyr, Met, Val, Leu
Pro	Gly, Ala, (Thr), Pro
Thr	Pro, Ser, Ala, Gly, His, Gln, Thr
Ala	Gly, Thr, Pro, Ala
Val	Met, Tyr, Phe, Ile, Leu, Val
Gly	Ala, (Thr), Pro, Ser, Gly
Ile	Met, Tyr, Phe, Val, Leu, Ile
Phe	Trp, Met, Tyr, Ile, Val, Leu, Phe
Tyr	Trp, Met, Phe, Ile, Val, Leu, Tyr
Cys	Ser, Thr, Cys
His	Glu, Lys, Gln, Thr, Arg, His
Gin	Glu, Lys, Asn, His, (Thr), Arg, Gln
Asn	Gln, Asp, Ser, Asn
Lys	Glu, Gln, His, Arg, Lys
Asp	Glu, Asn, Asp
Glu	Asp, Lys, Asn, Gln, His, Arg, Glu
Met	Phe, Ile, Val, Leu, Met
Trp	Trp

Una forma específica de una variante de las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 tal como se dan a conocer aquí es un fragmento de las secuencias de aminoácidos (nativas o no nativas) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1, 1-4, 13-20 y 33-100" tal como se dan a conocer aquí, que normalmente está alterado por al menos una deleción en comparación con las SEQ ID Nº 1-4, 13-20 y 33-100. Preferentemente, un fragmento comprende al menos 4 aminoácidos contiguos de cualquiera de las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, una longitud normalmente suficiente para permitir un reconocimiento específico de un epítopo de cualquiera de dichas secuencias. De forma especialmente preferente, el fragmento comprende de 4 a 18, de 4 a 15, o de forma totalmente preferente de 4 a 10 aminoácidos contiguos de cualquiera de las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, pudiendo ser el límite inferior del intervalo 4, o 5, 6, 7, 8, 9, o 10. En cualquier posición de las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, preferentemente en los extremos N-terminales o C-terminales se pueden producir deleciones de aminoácidos.

Además, un fragmento de las secuencias de aminoácidos (nativas o no nativas) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, tal como se describe más arriba, se puede definir como una secuencia que comparte una identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 tal como se dan a conocer aquí de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, o incluso 99%.

Además, los (poli)péptidos/secuencias inhibidoras de JNK tal como se dan a conocer aquí pueden comprender o consistir en al menos un derivado de secuencias de aminoácidos (nativas o no nativas) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 tal como se definen más arriba. En este contexto, un "derivado de una secuencia de aminoácidos (nativa o no nativa) de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100" es preferentemente una secuencia de aminoácidos derivada de cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100, comprendiendo el derivado al menos un L-aminoácido o D-aminoácido modificado (que forma aminoácido(s) no natural(es)), preferentemente de 1 a 20, de forma especialmente preferente de 1 a 10 y de forma incluso más preferente de 1 a 5 L-aminoácidos o D-aminoácidos. Los derivados de variantes o fragmentos también entran dentro del alcance de la presente invención.

A este respecto, "un aminoácido modificado" puede ser cualquier aminoácido alterado por ejemplo por glicosilación diferente en diversos organismos, por fosforilación o por marcado de aminoácidos específicos. Dicho marcador se selecciona normalmente entre el grupo de marcadores que comprende:

(i) marcadores radiactivos, es decir, fosforilación radiactiva o un marcador radiactivo con azufre, hidrógeno, carbono, nitrógeno, etc.;
(ii) tintes colorantes (por ejemplo digoxigenina, etc.);
(iii) grupos fluorescentes (por ejemplo fluoresceína, etc.);
(iv) grupos quimioluminiscentes;
(v) grupos para inmovilización sobre una fase sólida (por ejemplo His-tag, biotina, *strep-tag* (etiqueta de fusión), *flag-tag*, anticuerpos, antígenos, etc.); y
(vi) una combinación de dos o más marcadores mencionados en los puntos (i) a (v).

En este contexto, cuando se indica que una secuencia de aminoácidos tiene una secuencia "que comparte una identidad de secuencia" de al menos, por ejemplo, un 95% con una secuencia de aminoácidos objetivo de la presente invención, significa que la secuencia de la secuencia de aminoácidos en cuestión es idéntica a la secuencia objetivo excepto porque la secuencia de aminoácidos en cuestión puede incluir hasta cinco alteraciones de aminoácidos por cada 100 aminoácidos de la secuencia de aminoácidos objetivo. Dicho de otro modo, para obtener una secuencia de aminoácidos con una secuencia que presenta al menos una identidad de un 95% con una secuencia de aminoácidos objetivo, hasta un 5% (5 de 100) de los residuos aminoácidos de la secuencia en cuestión pueden ser insertados o sustituidos por otros aminoácidos o pueden ser eliminados.

Para secuencias sin una correspondencia exacta se puede determinar un "% de identidad" de una primera secuencia con respecto a una segunda secuencia. En general, ambas secuencias se pueden comparar y alinear para obtener una correlación máxima entre ellas. Esto puede incluir la inserción de "huecos" en cualquiera de las dos secuencias o en ambas para aumentar el grado de alineación. Después se puede determinar un % de identidad en toda la longitud de cada una de las secuencias comparadas (lo que se denomina alineación global), que es particularmente adecuado para secuencias con una longitud igual o similar, o en longitudes definidas más cortas (lo que se denomina alineación local), que es más adecuado para secuencias con longitudes desiguales.

En la técnica son bien conocidos métodos para comparar la identidad y homología de dos o más secuencias, en particular tal como se utilizan aquí. Por ejemplo, para determinar el % de identidad entre dos polinucleótidos y el % de identidad y el % de homología entre dos secuencias de polipéptidos se pueden utilizar programas disponibles del Wisconsin Sequence Analysis Package, versión 9.1 (Devereux y col., 1984, Nucleic Acids Res. 12, 387-395.), por ejemplo los programas BESTFIT y GAP. El programa BESTFIT utiliza el algoritmo de "homología local" (Smith y Waterman (1981), J. Mol. Biol. *147*, 195-197) y encuentra la mejor región simple de similitud entre dos secuencias. En la técnica también se conocen otros programas para determinar la identidad y/o similitud entre secuencias, por ejemplo la familia de programas BLAST (Altschul y col., 1990, J. Mol. Biol. *215*, 403-410), accesible a través de la página principal de la NCBI en el sitio web ncbi.nlm.nih.gov), y FASTA (Pearson (1990), Methods Enzymol. *183*, 63-98; Pearson y Lipman (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A *85*, 2444-2448.).

Los (poli)péptidos/secuencias inhibidores de JNK tal como se dan a conocer aquí y se definen más arriba se pueden obtener o producir mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo por síntesis química o por métodos de ingeniería genética tal como se describe más abajo. Por ejemplo, un péptido

correspondiente a una parte de una secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí que incluye una región deseada de dicha secuencia inhibidora de JNK, o que media en la actividad deseada *in vitro* o *in vivo*, se puede sintetizar empleando un sintetizador de péptidos.

El (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí y se define más arriba se puede modificar además mediante un (poli)péptido de tráfico, que permite transportar efectivamente el (poli)péptido inhibidor de JNK tal como se da a conocer aquí y se define más arriba al interior de las células. Estos (poli)péptidos inhibidores de JNK modificados se proporcionan y utilizan preferentemente como (poli)péptidos quiméricos.

Por consiguiente, de acuerdo con un segundo aspecto, la presente descripción que comprende la presente invención proporciona el uso de un (poli)péptido quimérico que incluye al menos un primer dominio y al menos un segundo dominio para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas en un sujeto, comprendiendo el primer dominio del péptido quimérico una secuencia de tráfico, mientras que el segundo dominio del (poli)péptido quimérico comprende una secuencia inhibidora de JNK tal como se define más arriba, preferentemente cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-4, 13-20 y 33-100 o un derivado o fragmento de las mismas.

Normalmente, los (poli)péptidos quiméricos utilizados de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención tienen una longitud de al menos 25 residuos aminoácidos, por ejemplo de 25 a 250 residuos, de forma especialmente preferente de 25 a 200 residuos, de forma particularmente preferente de 25 a 150 residuos, de 25 a 100 y de forma totalmente preferente de de 25 a 50 residuos aminoácidos.

Como un primer dominio, el (poli)péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende preferentemente una secuencia de tráfico que se selecciona normalmente entre cualquier secuencia de aminoácidos que dirija un péptido (en el que está presente) a un destino celular deseado. Por tanto, la secuencia de tráfico, tal como se da a conocer aquí, dirige normalmente el péptido a través de la membrana plasmática, por ejemplo desde el exterior de la célula, a través de la membrana plasmática y al interior del citoplasma. Alternativa o adicionalmente, la secuencia de tráfico puede dirigir el péptido a un lugar deseado dentro de la célula, por ejemplo al núcleo, ribosoma, retículo endoplasmático (RE), a un lisosoma o peroxisoma, por ejemplo combinando dos componentes (por ejemplo un componente para la permeabilidad celular y un componente para la localización nuclear), o mediante un solo componente que tiene, por ejemplo, propiedades de transporte a través de membrana celular y transporte dirigido, por ejemplo intranuclear. La secuencia de tráfico puede comprender adicionalmente otro componente que se puede unir a un componente citoplasmático o cualquier otro componente o compartimento celular (por ejemplo retículo endoplasmático, mitocondria, aparato de Golgi, vesículas lisosomales). Por consiguiente, por ejemplo la secuencia de tráfico del primer dominio y la secuencia inhibidora de JNK del segundo dominio pueden estar localizadas en el citoplasma o en cualquier otro compartimento celular. Esto permite determinar la localización del péptido quimérico en la célula después de su absorción.

Preferentemente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) tiene una longitud de 5 a 150 secuencias de aminoácidos, de forma especialmente preferente una longitud de 5 a 100 y de forma totalmente preferente una longitud de 5 a 50, 5 a 30 o incluso 5 a 15 aminoácidos.

De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) puede consistir en una extensión de secuencia de aminoácidos continua en el primer dominio. Alternativamente, la secuencia de tráfico en el primer dominio puede estar dividida en dos o más fragmentos, pareciéndose todos estos fragmentos a la secuencia de tráfico completa y pudiendo estar los mismos separados entre sí por 1 a 10, preferentemente 1 a 5 aminoácidos, con la condición de que la secuencia de tráfico como tal conserve sus propiedades de soporte tal como se da a conocer más arriba. Estos aminoácidos que separan los fragmentos de la secuencia de tráfico se pueden seleccionar, por ejemplo, entre secuencias de aminoácidos que difieren de la secuencia de tráfico. Alternativamente, el primer dominio puede contener una secuencia de tráfico compuesta por más de un componente, cada componente con su propia función para el transporte de la secuencia inhibidora de JNK de carga del segundo dominio, por ejemplo a un compartimento celular específico.

La secuencia de tráfico tal como se define más arriba puede estar compuesta por L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos. Preferentemente, las secuencias de tráfico (incluidas en el primer domino del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) pueden comprender al menos 1 o incluso 2, preferentemente al menos 3, 4 o 5, de forma especialmente preferente al menos 6, 7, 8 o 9 y de forma particularmente preferente al menos 10 o más D-aminoácidos y/o L-aminoácidos, pudiendo estar dispuestos los D-aminoácidos y/o L-aminoácidos en las secuencias de tráfico de JNK en forma de bloques, no en forma de bloques o de un modo alternado.

De acuerdo con una realización no reivindicada, la secuencia de tráfico del (poli)péptido quimérico tal como se da a conocer aquí puede estar compuesta exclusivamente por L-aminoácidos. De este modo, es preferible que la secuencia de tráfico del péptido quimérico no reivindicado tal como se da a conocer aquí comprenda o consista en al menos una secuencia de tráfico "nativa" tal como se define más arriba. En este contexto, el término "nativa" se refiere a secuencias de tráfico no alteradas compuestas totalmente por L-aminoácidos.

De acuerdo con una realización de la presente invención, la secuencia de tráfico del (poli)péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede estar compuesta exclusivamente por D-aminoácidos. De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico del (poli)péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede comprender un péptido retroinverso de las secuencias arriba mostradas.

La secuencia de tráfico del primer dominio del (poli)péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede obtener de fuentes naturales o se puede producir utilizando técnicas de ingeniería genética o síntesis química (véase, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989) Molecular cloning: A laboratory manual. 2ª edición. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Es posible utilizar fuentes para la secuencia de tráfico del primer dominio, incluyendo, por ejemplo, proteínas nativas tales como proteína TAT (descrita, por ejemplo, en las Patentes US Nº 5.804.604 y 5.674.980, estando cada una de estas referencias incorporada aquí por referencia), VP22 (descrita, por ejemplo, en el documento WO 97/05265; Elliott y O'Hare, Cell 88: 223-233 (1997)), proteínas no virales (Jackson y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10691-10695 (1992)), secuencias de tráfico derivadas de Antenapedia (por ejemplo secuencia portadora de antenapedia) o de péptidos básicos, por ejemplo péptidos con una longitud de 5 a 15 aminoácidos, preferentemente 10 a 12 aminoácidos, que comprenden al menos un 80%, de forma especialmente preferente un 85% o incluso un 90% de aminoácidos básicos, por ejemplo arginina, lisina y/o histidina. Además, aquí se dan a conocer variantes, fragmentos y derivados de una de las proteínas nativas utilizadas como secuencias de tráfico. En relación con las variantes, fragmentos y derivados se remite a la definición arriba proporcionada para las secuencias inhibidoras de JNK tal como se dan a conocer aquí. Las variantes fragmentos y derivados se definen correspondientemente tal como se expone más arriba en relación con las secuencias inhibidoras de JNK tal como se dan a conocer aquí. En particular, en el contexto de la secuencia de tráfico, una variante, fragmento o derivado se puede definir como una secuencia que comparte una identidad de secuencia con una de las proteínas nativas utilizadas como secuencias de tráfico tal como se define más arriba de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, o incluso un 99%.

En el (poli)péptido quimérico de acuerdo con la presente invención tal como se define más arriba, la secuencia de tráfico del primer dominio comprende o consiste en una secuencia derivada de la proteína TAT del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)1, en particular algunos de los 86 aminoácidos que componen la proteína TAT o todos ellos.

Para una secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) se pueden utilizar secuencias parciales de la proteína TAT de longitud completa que forman un fragmento funcionalmente efectivo de una proteína TAT, es decir, un péptido TAT que incluye la región que media en la entrada y absorción dentro de las células. Si una secuencia de este tipo es un fragmento funcionalmente efectivo de la proteína TAT se puede determinar utilizando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Franked y col., Proc. Natl. Acad. Sci, USA 86: 7397-7401 (1989)). Por tanto, la secuencia de tráfico en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí se puede derivar de un fragmento o porción funcionalmente efectiva de una secuencia de proteína TAT que comprende menos de 86 aminoácidos y que muestra una absorción al interior de las células, y opcionalmente una absorción al interior del núcleo celular. De forma especialmente preferente, está previsto que las secuencias parciales (fragmentos) de TAT a utilizar como portador para mediar en la penetración del péptido quimérico a través de la membrana celular comprendan la región básica (aminoácidos 48 a 57 o 49 a 57) de la TAT de longitud completa.

Preferentemente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos que contiene los residuos TAT 48-57 o 49 a 57, y de forma especialmente preferente una secuencia TAT genérica NH_2-X_n^b- RKKRRQRRR-X_n^b-COOH (L-genérico-TAT (s)) [SEQ ID Nº: 7] y/o XXXXRKKRRQ RRRXXXX (L-genérico-TAT) [SEQ ID Nº: 21], teniendo X o X_n^b el significado arriba definido. Además, la cantidad de residuos "X_n^b" en la SEQ ID Nº: 8 no está limitada a la cantidad representada y puede variar tal como se describe más arriba. Alternativamente, la secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en un péptido que contiene, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos NH_2-GRKKRRQRRR-COOH (L-TAT) [SEQ ID Nº: 5].

De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí) puede comprender un péptido D retroinverso de las secuencias arriba presentadas, es decir, la secuencia D retroinversa de la secuencia TAT genérica que presenta la secuencia NH_2-X_n^b-RRRQRRKKR-X_n^b-COOH (D-genérico-TAT (s)) [SEQ ID Nº: 8] y/o XXXXRRRQRRKKRXXXX (D-genérico-TAT) [SEQ ID Nº: 22]. También aquí, X_n^b es tal como se define más arriba (representando preferentemente D-aminoácidos). Además, la cantidad de residuos "X_n^b" en la SEQ ID Nº: 8 no está limitada a la cantidad representada y puede variar tal como se describe más arriba. De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico tal como se da a conocer aquí puede comprender la secuencia D retroinverso NH_2-RRRQRRKKRG-COOH (D-TAT) [SEQ ID Nº: 6].

Además, la secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí puede comprender o consistir en variantes de las secuencias de tráfico tal como se definen más arriba. Una "variante de una secuencia de tráfico" consiste preferentemente en una secuencia derivada de una secuencia de tráfico tal como se define más arriba, comprendiendo la variante una modificación, por ejemplo, adición, deleción (interna) (que conduce a fragmentos) y/o sustitución de al menos un aminoácido presente en la secuencia de tráfico tal como se define más arriba. Esta o estas modificaciones comprenden normalmente se 1 a 20, preferentemente de 1 a 10 y de forma especialmente preferente de 1 a 5 sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácidos. Además, la variante preferentemente tiene una identidad de secuencia con la secuencia de tráfico tal como se define más arriba, de forma especialmente preferente con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 o 21-22, de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%,90%, 95%, 98% o incluso un 99%.

Preferentemente, tal modificación de la secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí conduce a una secuencia de tráfico con estabilidad aumentada o reducida. Alternativamente se pueden diseñar variantes de la secuencia de tráfico para modular la localización intracelular del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí. Cuando se añaden de forma exógena, estas variantes tal como se definen más arriba se diseñan normalmente de modo que conservan la capacidad de la secuencia de tráfico para entrar en las células (es decir, la absorción de la variante de la secuencia de tráfico en el interior de la célula es esencialmente similar a la de una secuencia de tráfico de proteína nativa). Por ejemplo, la alteración de la región básica considerada importante para la localización nuclear (véase, por ejemplo, Dang y Lee, J. Biol. Chem. 264: 18019-18023 (1989); Hauber y col., J. Virol. 63: 1181-1187 (1989); y col., J. Virol. 63: 1-8 (1989)) puede resultar en una localización citoplasmática o una localización parcialmente citoplasmática de la secuencia de tráfico y, en consecuencia, de la secuencia inhibidora de JNK como componente del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí. Además de lo arriba indicado también se pueden introducir otras modificaciones en la variante, por ejemplo enlazando por ejemplo colesterol u otras fracciones lipídicas con la secuencia de tráfico para producir una secuencia de tráfico con mayor solubilidad de membrana. Cualquiera de las variantes dadas a conocer más arriba de las secuencias de tráfico incluidas en el primer dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí se puede producir utilizando técnicas normalmente conocidas por los especialistas (véase, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989) Molecular cloning: A laboratory manual. 2ª edición. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Como un segundo dominio, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende normalmente una secuencia inhibidora de JNK seleccionada entre cualquiera de las secuencias inhibidoras de JNK tal como se definen más arriba, incluyendo variantes, fragmentos y/o derivados de estas secuencias inhibidoras de JNK.

Los dos dominios, es decir, los primeros y segundos dominios del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí, pueden estar unidos formando una unidad funcional. En este contexto se puede aplicar cualquier método conocido generalmente en la técnica para unir los primeros y segundos dominios.

Preferentemente, los primeros y segundos dominios del péptido quimérico tal como se utiliza aquí están unidos por un enlace covalente. Un enlace covalente tal como se define aquí puede ser, por ejemplo, un enlace peptídico, que se puede obtener expresando el péptido quimérico tal como se define más arriba como una proteína de fusión. Las proteínas de fusión, tal como se describen aquí, se pueden formar y utilizar de formas análogas a técnicas de ADN recombinante estándar o de formas fácilmente adaptables a éstas, tal como se describe más abajo. No obstante, los dos dominios también pueden estar unidos a través de cadenas laterales o por una fracción de enlace químico.

El primer y/o el segundo dominio del péptido quimérico tal como se da a conocer aquí pueden estar presentes en una o más copias en dicho péptido quimérico. Si los dos dominios están presentes en una sola copia, el primer dominio puede estar unido al extremo N-terminal o al extremo C-terminal del segundo dominio. Si están presentes en múltiples copias, los primeros y segundos dominios pueden estar dispuestos en cualquier orden posible. Por ejemplo, el primer dominio puede estar presente en el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí en una cantidad de múltiples copias, por ejemplo en dos, tres o más copias, que

preferentemente están dispuestas consecutivamente. Entonces, el segundo dominio puede estar presente en una sola copia presente en el extremo N-terminal o C-terminal de la secuencia que comprende el primer dominio. Alternativamente, el segundo dominio puede estar presente en una cantidad de múltiples copias, por ejemplo en dos, tres o más copias, y el primer dominio puede estar presente en una sola copia. De acuerdo con las dos alternativas, los primeros y segundos dominios pueden ocupar cualquier lugar en una disposición consecutiva. A continuación se indican ejemplos de disposiciones: primer dominio - primer dominio - primer dominio - segundo dominio; primer dominio - primer dominio - segundo dominio - primer dominio; primer dominio - segundo dominio - primer dominio - primer dominio; o por ejemplo segundo dominio - primer dominio - primer dominio - primer dominio. Los especialistas entenderán que estos ejemplos solo tienen fines ilustrativos. Por consiguiente, la cantidad de copias y la disposición pueden variar tal como se ha definido inicialmente.

Preferentemente, los primeros y segundos dominios pueden estar unidos directamente entre sí sin ningún enlazante. Alternativamente pueden estar unidos entre sí a través de una secuencia de enlace que comprende de 1 a 10, preferentemente de 1 a 5 aminoácidos. Los aminoácidos que forman la secuencia de enlace se seleccionan preferentemente entre glicina o prolina como residuos aminoácidos. De forma especialmente preferente, los primeros y segundos dominios pueden estar separados entre sí por una bisagra de dos, tres o más residuos de prolina entre los primeros y los segundos dominios.

El péptido quimérico tal como se define más arriba y se da a conocer aquí, que comprende al primer un primer y al menos un segundo dominio, puede estar compuesto por L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos. Dentro del mismo, cada dominio (así como los engarces utilizados) puede estar compuesto por L-aminoácidos, D-aminoácidos o una combinación de ambos (por ejemplo D-TAT y L-IB1(s) o L-TAT y D-IB1(s), etc.). Preferentemente, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí puede comprender al menos 1 o incluso 2, preferiblemente al menos 3, 4 o 5, de forma especialmente preferente al menos 6, 7, 8 o 9, y de forma particularmente preferente al menos 10 o más D-aminoácidos y/o L-aminoácidos, pudiendo estar dispuestos los D-aminoácidos y/o L-aminoácidos en el péptido quimérico tal como se utiliza aquí en forma de bloques, no en forma de bloques o de un modo alternado.

De acuerdo con una realización específica no reivindicada, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en los péptidos quiméricos de L-aminoácidos de acuerdo con el péptido L-TAT-IB genérico NH_2-X_n^b-RKKRRQRRR-X_n^b-RPTTLXLXXXXXXQD-X_n^a-X_n^b-COOH (L-TAT-IB (genérico) (s)) [SEQ ID Nº: 10], teniendo X, X_n^a y X_n^b preferiblemente el significado arriba definido. De este modo es preferible que el péptido quimérico no reivindicado tal como se da a conocer aquí comprenda o consista en el péptido quimérico de L-aminoácidos NH_2-GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD-COOH (L-TAT-IB1 (s)) [SEQ ID Nº: 9]. Alternativa o adicionalmente, el péptido quimérico no reivindicado tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en la secuencia de péptido quimérico de L-aminoácidos GRKKRRQRRR PPDTYRPKRP TTLNLFPQVP RSQDT (L-TAT-IB1) [SEQ ID Nº: 23], o XXXXXXXRKK RRQRRRXXXX XXXXRPTTLX LXXXXXXXQD S/TX (L-TAT-IB genérico) [SEQ ID Nº: 24], teniendo X preferiblemente el significado arriba definido, o el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en la secuencia de péptido quimérico de L-aminoácidos no RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFPQVPRSQD (L-TAT-IB1(s1)) [SEQ ID Nº: 27], GRKKRRQRRRX_n^cRPKRPTTLNLFPQVPRSQD (L-TAT-IB1(s2)) [SEQ ID Nº: 28], o RKKRRQRRRX_n^cRPKRPTTLNLFPQVPRSQD (L-TAT-IB1(s3)) [SEQ ID Nº: 29]. En este contexto, cada X representa normalmente un residuo aminoácido tal como se define más arriba, de forma especialmente preferente X_n^c representa una extensión contigua de residuos peptídicos, seleccionándose cada X independientemente entre sí entre glicina o prolina, por ejemplo una extensión de glicina monotónica o una extensión de prolina monotónica, siendo n (la cantidad de repeticiones de X_n^c) normalmente de 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o incluso más, preferentemente 0-5 o 5-10. X_n^c puede representar D-aminoácidos o L-aminoácidos.

Alternativamente, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en péptidos quiméricos de D-aminoácidos de los péptidos quiméricos de L-aminoácidos dados a conocer más arriba. Péptidos quiméricos D retroinversos de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención son el péptido D-TAT-1B genérico NH_2-X_n^b-X_n^a-DQXXXXXXXLXLTTPR-X_n^b-RRRQRRKKR-X_n^b-COOH (D-TAT-IB (genérico) (s)) [SEQ ID Nº: 12]. Aquí, X, X_n^a y X_n^b tienen preferentemente el significado arriba definido (preferiblemente representa D-aminoácidos). De forma especialmente preferente, el péptido quimérico de acuerdo con la presente invención tal como se define más arriba comprende o consiste en péptidos quiméricos de D-aminoácidos de acuerdo con el péptido TAT-IB1 NH_2-DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH (D-TAT-IB1(s)) [SEQ ID Nº: 11]. Alternativa o adicionalmente, el péptido quimérico tal como se utiliza aquí comprende o consiste en la secuencia de péptido quimérico de D-aminoácidos TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG (D-TAT-IB1) [SEQ ID Nº: 25]. Alternativa o adicionalmente, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí comprende o consiste en la secuencia de péptido quimérico de D-aminoácidos XT/SDQXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXX (D-TAT-IB genérico) [SEQ ID Nº: 26], en la

que X tienen preferentemente el significado arriba definido, o el péptido quimérico tal como se utiliza aquí comprende o consiste en la secuencia de péptido quimérico de D-aminoácidos DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKR (D-TAT-IB1(s1)) [SEQ ID Nº: 30], DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX_n^cRRRQRRKKRG (D-TAT-IB1(s2)) [SEQ ID Nº: 31], o DQSRPVQPFLNLTTPRKPRX_n^cRRRQRRKKR (D-TAT-IB1(s3)) [SEQ ID Nº: 32]. X_n^c puede tener el significado arriba definido.

Los primeros y segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba pueden estar unidos entre sí mediante acoplamiento químico o bioquímico llevado a cabo de cualquier forma adecuada conocida en la técnica, por ejemplo estableciendo un enlace peptídico entre los primeros y los segundos dominios, por ejemplo mediante expresión de los primeros y los segundos dominios como una proteína de fusión, o por ejemplo mediante reticulación de los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba.

Muchos métodos conocidos adecuados para la reticulación química de los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba no son específicos, es decir, no dirigen el punto de acoplamiento a ningún sitio particular en el polipéptido de transporte o macromolécula de carga. Como resultado, el uso de agentes de reticulación no específicos puede atacar sitios funcionales o sitios con actividad estérica de bloques, volviendo las proteínas conjugadas biológicamente inactivas. Por consiguiente, preferentemente se utilizan métodos de reticulación que permiten un acoplamiento más específico de los primeros y los segundos dominios.

En este contexto, un modo de aumentar la especificidad de acoplamiento es un acoplamiento químico directo con un grupo funcional presente una sola vez o pocas veces en el primer dominio o en el segundo dominio a reticular, o en ambos. Por ejemplo, la cisteína, que es el único aminoácido proteínico que contiene un grupo tiol, está presente en muchas proteínas solo unas pocas veces. Además, por ejemplo, si un polipéptido no contiene ningún residuo lisina, un reactivo de reticulación específico para aminas primarias será selectivo para el extremo amino de dicho polipéptido. La utilización con éxito de este método para aumentar la especificidad de acoplamiento requiere que el polipéptido tenga adecuadamente residuos poco frecuentes y reactivos en áreas de la molécula que pueden ser alteradas sin pérdida de la actividad biológica de la molécula. Los residuos de cisteína se pueden sustituir cuando están presentes en partes de una secuencia de polipéptido en las que, en otro caso, su participación en una reacción de reticulación posiblemente interferiría con la actividad biológica. Cuando se sustituye un residuo de cisteína, normalmente es deseable minimizar los cambios resultantes en el plegado del polipéptido. Los cambios en el plegado del péptido se minimizan cuando la sustitución es química y estéricamente similar a la cisteína. Por estas razones, la cisteína se sustituye preferentemente por serina. Tal como se demuestra más abajo en los ejemplos, en una secuencia de aminoácidos de polipéptido se puede introducir un residuo de cisteína con fines de reticulación. Cuando se introduce un residuo de cisteína, es preferible una introducción en el extremo amino o carboxilo o cerca del mismo. Existen métodos convencionales disponibles para estas modificaciones de secuencias de aminoácidos, produciéndose el polipéptido de interés mediante síntesis química o por expresión de ADN recombinante.

El acoplamiento de los primeros y segundos dominios del péptido quimérico tal como se definen más arriba y se dan a conocer aquí también se puede llevar a cabo mediante un agente de acoplamiento o conjugación. Existen diversos reactivos de reticulación intermolecular que pueden emplearse (véase, por ejemplo, Means y Feeney, CHEMICAL MODIFICATION OF PROTEINS, Holden-Day, 1974, pp. 39-43). Entre estos reactivos se encuentran, por ejemplo, 3-(2-piridilditio) N-succinimidil propionato (SPDP) o N,N'-(1,3-fenilen)bismaleimida (ambos presentan una alta especificidad por grupos sulfhidrilo y forman enlaces irreversibles); N,N'-etilen-bis(yodoacetamida) u otro reactivo de este tipo que tenga de 6 a 11 puentes de carbono metileno (que son relativamente específicos en relación con los grupos sulfhidrilo); y 1,5-difluor-2,4-dinitrobenceno (que forma enlaces irreversibles con grupos amino y tirosina). Otros reactivos de reticulación adecuados útiles para este fin incluyen: p,p'-difluoro-m,m'-dinitrodifenilsulfona (que forma reticulaciones irreversibles con grupos amino y fenólicos); adipimidato de dimetilo (que es específico en relación con los grupos amino); fenol-1,4disulfonilcloruro (que reacciona principalmente con grupos amino); hexametilenodiisocianato o diisotiocianato, o azofenil-p-diisocianato (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con varias cadenas laterales diferentes) y disdiazobencidina (que reacciona principalmente con tirosina e histidina).

Los reactivos de reticulación utilizados para reticular los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba pueden ser homobifuncionales, es decir, pueden tener dos grupos funcionales que experimentan la misma reacción. Un reactivo de reticulación homobifuncional preferente es bismaleimidohexano ("BMH"). El BMH contiene dos grupos funcionales de maleimida que reaccionan específicamente con compuestos que contienen sulfhidrilo bajo condiciones suaves (pH 6,5-7,7). Los dos

grupos maleimida están unidos por una cadena hidrocarburo. Por tanto, el BMH es útil para una reticulación irreversible de polipéptidos que contienen residuos cisteína.

Los reactivos de reticulación utilizados para reticular los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba también pueden ser heterobifuncionales. Los agentes de reticulación heterobifuncionales tienen dos grupos funcionales diferentes, por ejemplo un grupo reactivo con amina y un grupo reactivo con tiol, que reticularán dos proteínas que tienen aminas y tioles libres, respectivamente. Ejemplos de agentes de reticulación heterobifuncionales son 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo ("SMCC"), el éster m-maleimidobenzoíl-N-hidroxisuccinimida ("MBS") y 4-(p-maleimidofenil)butirato de succinimida ("SMPB"), una cadena extendida análoga de MBS. El grupo succinimidilo de estos reticulantes reacciona con una amina primaria, y la maleimida reactiva con tiol forma un enlace covalente con el tiol de un residuo cisteína.

Los reactivos de reticulación adecuados para la reticulación de los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se definen más arriba frecuentemente tienen una baja solubilidad en agua. Por tanto, se puede añadir una fracción hidrófila, como un grupo sulfonato, al reactivo de reticulación para aumentar su solubilidad en agua. A este respecto, el Sulfo-MBS y el Sulfo-SMCC son ejemplos de reactivos de reticulación modificados en cuanto a la solubilidad en agua que pueden utilizarse de acuerdo con la presente invención.

Del mismo modo, muchos reactivos de reticulación producen un conjugado que es esencialmente no disociable bajo condiciones celulares. Sin embargo, algunos reactivos de reticulación particularmente adecuados para la reticulación de los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba incluyen un enlace covalente, como disulfuro, que es disociable bajo condiciones celulares. Por ejemplo el reactivo de Traut, ditiobis(succinimidil-propionato) ("DSP") y 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo ("SPDP") son reticulantes disociables bien conocidos. El uso de un reactivo de reticulación disociable permite que la fracción de carga se separe del polipéptido de transporte después de alcanzar el interior de la célula diana. También puede resultar útil un enlace directo disulfuro.

Numerosos reactivos de reticulación, incluyendo los arriba descritos, son comerciales. Los proveedores comerciales facilitan las instrucciones detalladas para su uso. Una referencia general sobre la reticulación de proteínas y la preparación de conjugados es: Wong, CHEMISTRY OF PROTEIN CONJUGATION AND CROSSLINKING, CRC Press (1991).

La reticulación química de los primeros y los segundos dominios del péptido quimérico tal como se define más arriba puede incluir el uso de brazos espaciadores. Los brazos espaciadores proporcionan flexibilidad intramolecular o ajustan distancias intramoleculares entre fracciones conjugadas y, así, pueden ayudar a conservar la actividad biológica. Un brazo espaciador puede ser una fracción de polipéptido que incluye aminoácidos espaciadores, por ejemplo prolina. Alternativamente, un brazo espaciador puede formar parte del reactivo de reticulación, como en "SPDP de cadena larga" (Pierce Chem. Co., Rockford, IL., cat. No. 21651 H).

Además, es posible utilizar variantes, fragmentos o derivados de uno de los péptidos quiméricos dados a conocer más arriba. Con respecto a los fragmentos y variantes se remite en general a la definición dada más arriba de las secuencias inhibidoras de JNK.

En particular, en el contexto de la presente descripción que comprende la presente invención, una "variante de un péptido quimérico" preferentemente es una secuencia derivada de cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, comprendiendo las variantes quiméricas alteraciones de aminoácidos de los péptidos quiméricos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32 tal como se utilizan aquí. Estas alteraciones comprenden normalmente de 1 a 20, preferentemente de 1 a 10 y de forma especialmente preferente de 1 a 5 sustituciones, adiciones y/o deleciones (que conducen a fragmentos) de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, presentando el péptido quimérico alterado tal como se utiliza aquí una identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 9-12 y 23 a 32 de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, o un 95%, 98%, o incluso un 99%. Preferentemente, estas variantes conservan la actividad biológica del primer y el segundo dominio contenidos en el péptido quimérico tal como se utiliza aquí, es decir, la actividad de tráfico del primer dominio tal como se da a conocer aquí y la actividad del segundo dominio para la unión con JNK y/o la inhibición de la activación de al menos un factor de transcripción activado por JNK.

Por consiguiente, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí también comprende fragmentos de los péptidos quiméricos dados a conocer más arriba, en particular de las secuencias de péptidos quiméricos de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32. Así, en el contexto de la presente descripción que comprende la presente invención, un "fragmento del péptido quimérico" preferentemente es una secuencia

derivada de cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, comprendiendo el fragmento al menos 4 aminoácidos contiguos de cualquiera de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32. Este fragmento incluye preferentemente una longitud suficiente para posibilitar un reconocimiento específico de un epítopo de cualquiera de dichas secuencias y transportar la secuencia al interior de las células, el núcleo u otro lugar preferente. De forma especialmente preferente, el fragmento comprende de 4 a 18, de 4 a 15, o de forma particularmente preferente de 4 a 10 aminoácidos contiguos de cualquiera de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32. Los fragmentos del péptido quimérico tal como se utiliza aquí se pueden definir además como una secuencia que comparte una identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 99 a 12 y 23 a 32 de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, o un 95%, 98%, o incluso un 99%.

Por último, el péptido quimérico tal como se da a conocer aquí también comprende derivados de los péptidos quiméricos dados a conocer más arriba, en particular de las secuencias de péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32.

Un uso particularmente preferente de la presente invención es el uso de un (poli)péptido inhibidor de JNK que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID Nº: 11, o que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90%, 92% o incluso un 95% con la SEQ ID Nº: 11, para el tratamiento de la uveítis, por ejemplo para el tratamiento de la uveítis anterior, la uveítis intermedia, la uveítis posterior o la panuveítis. De acuerdo con la presente invención, el (poli)péptido inhibidor de JNK que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID Nº: 11, o que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90%, 92% o incluso un 95% con la SEQ ID Nº: 11 se puede administrar por ejemplo localmente en el ojo o sistémicamente. No obstante, la presente solicitud también describe claramente el uso de otros (poli)péptidos quiméricos inhibidores de JNK, es decir, en los que el (poli)péptido inhibidor de JNK no comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID Nº: 11, para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias, en particular para el tratamiento de la uveítis, por ejemplo para el tratamiento de la uveítis anterior, la uveítis intermedia, la uveítis posterior o la panuveítis.

Además, la presente solicitud también describe claramente el uso de los (poli)péptidos inhibidores de JNK de la presente invención, en particular en los que el (poli)péptido inhibidor de JNK utilizado comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID Nº: 11, o comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 92% o incluso un 95% con la SEQ ID Nº: 11, para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias diferentes de la inflamación de la úvea y/o la retina, por ejemplo para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias no consistentes en uveítis y/o retinitis. Además, se ha de señalar que la presente invención no comprende en particular el tratamiento de la retinopatía (no inflamatoria).

Además, la presente descripción se refiere al uso de secuencias de ácidos nucleicos que codifican secuencias inhibidoras de JNK tal como se definen más arriba, péptidos quiméricos o sus fragmentos, variantes o derivados tal como se definen más arriba, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas y no crónicas en un sujeto tal como se definen aquí. Un ácido nucleico adecuado preferente que codifica de una secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí se elige normalmente entre ácido nucleico IB1 humano (Nº de Acceso GenBank (AF074091), ácido nucleico IB1 de rata (Nº de Acceso GenBank AF 108959), o IB2 humano (Nº de Acceso GenBank AF218778) o de cualquier secuencia de ácidos nucleicos que codifica cualquiera de las secuencias tal como se definen más arriba, es decir, cualquier secuencia de acuerdo con las SEQ ID Nº: 1-26.

Los ácidos nucleicos que codifican las secuencias inhibidoras de JNK tal como se utilizan aquí o péptidos quiméricos tal como se utilizan aquí se pueden obtener por cualquier método conocido en la técnica (por ejemplo amplificación PCR utilizando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3' y 5' de la secuencia y/o mediante clonación a partir de una biblioteca de ADNc o genómica utilizando una secuencia de oligonucleótidos específica para la secuencia de genes dada).

Adicionalmente, aquí también se describen secuencias de ácidos nucleicos que se hibridan bajo condiciones rigurosas con la cadena apropiada que codifica una secuencia inhibidora de JNK (nativa) o péptido quimérico tal como se define más arriba. Preferentemente, estas secuencias de ácidos nucleicos comprenden al menos 6 ácidos nucleicos (contiguos) que tienen una longitud suficiente para posibilitar una hibridación específica. De forma especialmente preferente, estas secuencias de ácidos nucleicos comprenden de 6 a 38, de forma particularmente preferente de 6 a 30, y de forma totalmente preferente de 6 a 20 o de 6 a 10 ácidos nucleicos (contiguos).

Las "condiciones rigurosas" dependen de la secuencia y serán diferentes bajo circunstancias diferentes. En general se pueden seleccionar unas condiciones rigurosas de aproximadamente 5ºC por debajo del punto de

fusión térmico (TM) para la secuencia específica con una fuerza iónica y un pH definidos. El TM es la temperatura (bajo una fuerza iónica y un pH definidos) a la que el 50% de la secuencia diana se hibrida en una sonda perfectamente apareada. Normalmente, las condiciones rigurosas serán aquellas en las que la concentración de sal es al menos aproximadamente 0,02 molar a pH 7 y la temperatura es de al menos aproximadamente 60ºC. Otros factores que pueden influir en la rigurosidad de hibridación (incluyendo, entre otras, la composición de las bases y el tamaño de las cadenas complementarias), son la presencia de disolventes orgánicos y la magnitud del desapareamiento de bases, siendo más importante la combinación de parámetros que la magnitud absoluta de cualquiera de ellos.

Las "condiciones de alta rigurosidad" pueden comprender lo siguiente, por ejemplo Paso 1: unos filtros que contienen ADN se tratan previamente durante un tiempo entre 8 horas y a lo largo de una noche a 65ºC en tampón compuesto por 6xSSC, Tris-HCl 50 mM (pH 7,5), EDTA 1 mM, 0,02% PVP, 0,02% Ficoll, 0,02% BSA, y 500 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Paso 2: los filtros se hibridan durante 48 horas a 65ºC en la mezcla de prehibridación arriba indicada a la que se añaden 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado y $5\text{-}20\cdot10^6$ cpm de sonda marcada con ^{32}P. Paso 3: los filtros se lavan durante 1 hora a 37ºC en una solución que contiene 2xSSC, 0,01% PVP, 0,01% Ficoll, y 0,01% BSA. Después se lleva a cabo otro lavado en 0,1xSSC a 50ºC durante 45 minutos. Paso 4: los filtros se autorradiografían. En la técnica se conocen bien otras condiciones de alta rigurosidad utilizables (véase, por ejemplo, Ausubel y col., (eds.), 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, NY; y Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, a Laboratory Manual, Stockton Press, NY).

Las "condiciones de rigurosidad moderada" pueden incluir lo siguiente: Paso 1: unos filtros que contienen ADN se tratan previamente durante 6 horas a 55ºC en una solución que contiene 6xSSC, 5*solución de Denhardt, 0,5% SDS y 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Paso 2: los filtros de hibridan durante 18-20 horas a 55ºC en la misma solución con $5\text{-}20\cdot10^6$ cpm de sonda marcada con ^{32}P añadida. Paso 3: los filtros se lavan a 37ºC durante 1 hora en una solución que contiene 2xSSC, 0,1% SDS, después se lavan dos veces durante 30 minutos a 60ºC en una solución que contiene 1xSSC y 0,1% SDS. Paso 4: los filtros se transfieren en seco y se exponen para autorradiografía. En la técnica se conocen bien otras condiciones de rigurosidad moderada utilizables (véase, por ejemplo, Ausubel y col., (eds.), 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, NY; y Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, a Laboratory Manual, Stockton Press, NY).

Por último, las "condiciones de baja rigurosidad" pueden incluir: Paso 1: unos filtros que contienen ADN se tratan previamente durante 6 horas a 40ºC en una solución que contiene un 35% de formamida, 5X SSC, Tris-HCl 50 mM (pH 7,5), EDTA 5 mM, 0,1% PVP, 0,1% Ficoll, 1% BSA, y 500 mg/ml ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Paso 2: los filtros se hibridan durante 18-20 horas a 40ºC en la misma solución con la adición de un 0,02% PVP, 0,02% Ficoll, 0,2% BSA, 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón, 10% (peso/volumen) sulfato de dextrano, y $5\text{-}20\cdot10^6$ cpm de sonda marcada con ^{32}P. Paso 3: los filtros se lavan durante 1,5 horas a 55ºC en una solución que contiene 2xSSC, Tris-HCl 25 mM (pH 7,4), EDTA 5 mM y 0,1% SDS. La solución de lavado se sustituye por solución fresca y se incuba durante otras 1,5 horas a 60ºC. Paso 4: los filtros se transfieren en seco y se exponen para autorradiografía. En caso necesario, los filtros se lavan una tercera vez a 65-68ºC y se exponen de nuevo a la película. En la técnica se conocen bien otras condiciones de baja rigurosidad utilizables (por ejemplo, tal como se emplean para hibridaciones de cruce de especies). Véase por ejemplo Ausubel y col., (eds.), 1993, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley and Sons, NY; y Kriegler, 1990, GENE TRANSFER AND EXPRESSION, A LABORATORY MANUAL, Stockton Press, NY.

Las secuencias de ácidos nucleicos tal como se definen más arriba pueden emplearse para expresar péptidos, es decir, una secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí o un péptido quimérico tal como se utiliza aquí para análisis, caracterización o uso terapéutico; como marcadores para tejidos donde se expresan preferentemente (bien de forma constitutiva o bien en una etapa particular de diferenciación o desarrollo de tejidos o en estados de enfermedad) los péptidos correspondientes (tal como se utilizan aquí). Otros usos de estos ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, marcadores de peso molecular en análisis basados en electroforesis de gel de ácidos nucleicos.

De acuerdo con otra realización no reivindicada de la presente descripción, los vectores de expresión pueden emplearse para los objetivos arriba indicados para la expresión recombinante de una o más secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos tal como se definen más arriba. El concepto "vector de expresión" se utiliza aquí para designar ADN o ARN circular o lineal bicaterario o monocatenario. Además, comprende al menos un ácido nucleico tal como se define más arriba que se debe transferir al interior de una célula huésped o al interior de un organismo huésped pluricelular. El vector de expresión tal como se da a conocer aquí comprende preferentemente un ácido nucleico tal como se define más arriba que codifica la secuencia inhibidora de JNK tal como se da a conocer aquí o un fragmento o una variante de la misma. Adicionalmente, un vector de expresión tal como se da a conocer aquí comprende preferentemente elementos apropiados

para soportar la expresión, incluyendo diversos elementos reguladores, como potenciadores/promotores de fuentes virales, bacterianas, vegetales, de mamíferos y otras fuentes eucariotas que conducen la expresión del polinucleótido insertado en células huésped, como elementos límite aislantes, LCR (por ejemplo descritos por Blackwood y Kadonaga (1998), Science *281*, 61-63) o regiones de unión de matriz/supercóntigo (por ejemplo descritas por Li, Harju y Peterson, (1999), Trends Genet. *15*, 403-408). En algunos casos, los elementos reguladores son heterólogos (es decir, no el promotor génico nativo). Alternativamente, las señales de transcripción y traducción necesarias también pueden ser suministradas por el promotor nativo para los genes y/o sus regiones flanqueadoras.

Tal como se utiliza aquí, el término "promotor" se refiere a una región de ADN que actúa controlando la transcripción de una o más secuencias de ácidos nucleicos tal como se definen más arriba, y que se identifica estructuralmente por la presencia de un sitio de unión para la ARN-polimerasa dependiente de ADN y de otras secuencias de ADN, que interacciona regulando la función promotora. Un fragmento promotor de expresión funcional de un promotor es una secuencia promotora acortada o truncada que conserva la actividad como promotor. La actividad promotora se puede medir mediante un ensayo conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Wood, de Wet, Dewji, y DeLuca, (1984), Biochem Biophys. Res. Commun. *124*, 592-596; Seliger y McElroy, (1960), Arch. Biochem. Biophys. *88*, 136-141) o comercialmente disponible de Promega®).

Una "región potenciadora" a utilizar en el vector de expresión tal como se define aquí se refiere normalmente a una región de ADN que actúa incrementando la transcripción de uno o más genes. Más específicamente, el término "potenciador", tal como se utiliza aquí es un elemento regulador de ADN que potencia, aumenta, incrementa o mejora la expresión de un gen independientemente de su localización y orientación con respecto al gen a expresar, y que puede potenciar, aumentar, incrementar o mejorar la expresión de más de un promotor.

Las secuencias promotoras/potenciadoras a utilizar en el vector de expresión tal como se define aquí pueden emplear secuencias reguladoras vegetales, animales, de insecto o fúngicas. Por ejemplo, se pueden emplear elementos promotores/ potenciadores de levaduras y otros hongos (por ejemplo el promotor GAL4, el promotor de la alcohol-deshidrogenasa, el promotor de la fosfoglicerol-quinasa, el promotor de fosfatasa alcalina). Alternativa o adicionalmente pueden incluir regiones de control de transcripción animales, por ejemplo (i) la región de control del gen de insulina activa dentro de las células beta pancreáticas (véase, por ejemplo, Hanahan y col., 1985. Nature 315: 115-122); (ii) la región de control del gen de inmunoglobulina activa dentro de células linfoides (véase, por ejemplo, Grosschedl y col., 1984, Cell 38: 647-658); (iii) la región de control del gen de albúmina activa dentro del hígado (véase, por ejemplo, Pinckert y col., 1987. Genes and Dev 1: 268-276; (iv) la región de control del gen de la proteína básica mielina activa dentro de células oligodendrocíticas cerebrales (véase, por ejemplo, Readhead y col., 1987, Cell 48: 703-712); y (v) la región de control del gen de la hormona liberadora de gonadotropina activa dentro del hipotálamo (véase, por ejemplo, Mason y col., 1986, Science 234: 1372-1378), y similares.

Adicionalmente, el vector de expresión tal como se define aquí puede comprender un marcador de amplificación. Este marcador de amplificación se puede seleccionar entre el grupo consistente, por ejemplo, en adenosina desaminasa (ADA), dihidrofolato reductasa (DHFR), el gen de multirresistencia a los fármacos (MDR), la ornitina descarboxilasa (ODC) y la resistencia al N-(fosfonacetil)-L-aspartato (CAD).

Ejemplos de vectores de expresión o derivados adecuados en el contexto de la presente descripción incluyen en particular, por ejemplo, virus humanos o animales (por ejemplo virus Vaccinia o adenovirus); virus de insectos (por ejemplo baculovirus); vectores de levadura; vectores bacteriófagos (por ejemplo fago lambda); vectores plasmídicos y vectores cósmidos.

La presente solicitud describe adicionalmente una variedad de sistemas de vectores huésped no reivindicados que pueden expresar la o las secuencias de ácidos nucleicos codificadoras de péptidos tal como se definen más arriba. Éstos incluyen, de forma no exclusiva: (i) sistemas celulares de mamíferos infectados por el virus Vaccinia, adenovirus y similares; (ii) sistemas celulares de insectos infectados por baculovirus y similares; (iii) vectores de levadura que contienen levadura; o (iv) bacterias transformadas con bacteriófagos, ADN, ADN plásmido o ADN cósmido. Dependiendo del sistema de vector huésped utilizado se puede emplear cualquiera de diversos elementos de transcripción y traducción adecuados.

Preferentemente se puede seleccionar una cepa de células huésped adecuada para un sistema huésped-vector de este tipo que module la expresión de secuencias de interés insertadas, o que modifique o procese péptidos expresados codificados por las secuencias del modo específico deseado. Además, la expresión de determinados promotores se puede mejorar en presencia de determinados inductores en una cepa huésped seleccionada, facilitando así el control de la expresión de un péptido obtenido por ingeniería genética. Además, diferentes células huésped poseen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento

y la modificación de traducción y postraducción (por ejemplo glicosilación, fosforilación y similares) de péptidos expresados. Por tanto, se pueden elegir líneas celulares o sistemas huésped adecuados para asegurar el logro de la modificación y el procesamiento adecuados del péptido extraño. Por ejemplo, se puede utilizar una expresión de péptido dentro de un sistema bacteriano para producir un péptido de núcleo no glicosilado, mientras que la expresión con células de mamífero asegura una glicosilación "nativa" de un péptido heterólogo.

La presente solicitud describe además el uso no reivindicado de antibióticos dirigidos contra las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos tal como se describen más arriba, para preparar una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen aquí. Además, se describen medios eficientes para la producción de anticuerpos específicos para secuencias inhibidoras de JNK tal como se dan a conocer aquí, o para péptidos quiméricos que contienen una secuencia inhibidora de este tipo, que pueden ser utilizados para este fin.

De acuerdo con la presente descripción, las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos tal como se definen aquí, así como fragmentos, variantes o derivados de los mismos, pueden emplearse como inmunógenos para generar anticuerpos que se unen inmunoespecíficamente a estos componentes peptídicos. Estos anticuerpos incluyen, por ejemplo, fragmentos policlonales, monoclonales, quiméricos, monocatenarios, Fab y una genoteca de expresión de Fab. Específicamente, la presente solicitud describe anticuerpos para péptidos quiméricos o para secuencias inhibidoras de JNK tal como se definen más arriba. Para la producción de estos anticuerpos se pueden utilizar diversos procedimientos conocidos en la técnica.

A modo de ejemplo, diversos animales huésped se pueden inmunizar para la producción de anticuerpos policlonales mediante inyección con cualquier péptido quimérico o secuencia inhibidora de JNK tal como se definen más arriba. De este modo se pueden utilizar diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica, incluyendo, de forma no exclusiva, adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales (por ejemplo, hidróxido de aluminio), sustancias tensioactivas (por ejemplo lisolecitina, polioles pluronic, polianiones, péptidos, emulsiones en aceite, dinitrofenol, etc.), CpG, polímeros, Pluronics, y adyuvantes humanos tales como bacilo de Calmette y Guerin, y Corynebacterium parvum.

Para la preparación de anticuerpos monoclonales dirigidos hacia un péptido quimérico o una secuencia inhibidora de JNK tal como se definen más arriba se puede utilizar cualquier técnica que posibilite la producción de moléculas de anticuerpo mediante un cultivo continuo de línea celular. Estas técnicas incluyen, de forma no exclusiva, la técnica de hibridomas (véase Kohler y Milstein, 1975. Nature 256: 495-497); la técnica de triomas; la técnica de hibridomas de células B humanas (véase Kozbor y col., 1983, Immunol Today 4: 72) y la técnica de hibridomas EBV para producir anticuerpos monoclonales humanos (véase Cole y col., 1985. En: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). En la práctica de la presente invención se pueden utilizar anticuerpos monoclonales humanos, que se pueden producir mediante el uso de hibridomas (véase Cote y col., 1983. Proc Natl Acad Sci USA 80: 2026-2030) o mediante la transformación *in vitro* de células B humanas con el virus de Epstein Barr (véase Cole y col., 1985. En: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy (Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96).

De acuerdo con la presente invención es posible adaptar técnicas para la producción de anticuerpos monocatenarios específicos para las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos (véase, por ejemplo, la Patente US nº 4.946.778) tal como se define aquí. Además, es posible adaptar métodos para la construcción de genotecas de expresión Fab (véase, por ejemplo, Huse y col., 1989. Science 246: 1275-1281) con el fin de posibilitar una identificación rápida y efectiva de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada para estas secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos. Algunos anticuerpos no humanos se pueden "humanizar" mediante técnicas bien conocidas (véase, por ejemplo, la Patente US nº 5.225.539). También es posible producir fragmentos de anticuerpo que contienen los idiotipos para una secuencia inhibidora de JNK y/o péptido quimérico tal como se define aquí mediante técnicas conocidas, incluyendo, por ejemplo, (i) un fragmento $F(ab')_2$ producido por digestión de pepsina de una molécula de anticuerpo; (ii) un fragmento Fab generado por reducción de los puentes disulfuro de un fragmento $F(ab')_2$; (iii) un fragmento Fab generado por el tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor; y (iv) fragmentos Fv.

En una realización no reivindicada de esta descripción, métodos que pueden utilizase para el cribado de anticuerpos y que poseen la especificidad deseada incluyen, pero no de forma exclusiva, el ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) y otras técnicas inmunológicas conocidas. Específicamente, la selección de anticuerpos que son específicos para un epítopo particular de una secuencia inhibidora de JNK y/o péptido quimérico tal como se define aquí (por ejemplo un fragmento de la misma que incluye normalmente una longitud de 5 a 20, preferentemente de 8 a 18 y de forma especialmente preferente de 8 a 11 aminoácidos) se puede facilitar mediante la generación de hibridomas que se unen al fragmento de una secuencia inhibidora de JNK y/o péptido quimérico, tal como se define aquí, que posee un epítopo de este

tipo. Aquí también están previstos estos anticuerpos que son específicos para un epítopo tal como se define más arriba.

Los anticuerpos tal como se definen aquí pueden ser utilizados en métodos conocidos en la técnica relacionados con la localización y/o cuantificación de una secuencia inhibidora de JNK (y/o correspondientemente a un péptido quimérico tal como se define más arriba), por ejemplo para su uso en la medida de niveles del péptido dentro de muestras fisiológicas apropiadas, para su uso en métodos de diagnóstico o para su uso en la formación de imágenes del péptido, y similares.

Las secuencias inhibidoras de JNK, péptidos quiméricos, ácidos nucleicos, vectores, células huésped y/o anticuerpos tal como se definen de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención se pueden formular en una composición farmacéutica que se puede aplicar en la prevención o el tratamiento de cualquiera de las enfermedades tal como se definen aquí, en particular en la prevención o el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen aquí. Normalmente, una composición farmacéutica de este tipo utilizada de acuerdo con la presente divulgación que comprende la presente invención incluye como componente activo, por ejemplo: (i) una o más cualesquiera de las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos tal como se definen más arriba, y/o variantes, fragmentos o derivados de los mismos, en particular secuencias inhibidoras de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o péptidos quiméricos de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o secuencias inhibidoras de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprenden una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas; y/o (ii) ácidos nucleicos que codifican una secuencia inhibidora de JNK y/o péptido quimérico tal como se definen más arriba y/o variantes o fragmentos de los mismos; y/o (iii) células que comprenden una cualquiera o más de las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos, y/o variantes, fragmentos o derivados de los mismos, tal como se definen más arriba; y/o (iv) células transfectadas con un vector y/o ácidos nucleicos que codifican una secuencia inhibidora de JNK y/o péptido quimérico tal como se define más arriba y/o variantes o fragmentos de los mismos.

Preferentemente, tal composición farmacéutica utilizada de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención incluye normalmente una cantidad segura y efectiva de un componente tal como se define más arriba, preferentemente de al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5-8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas con las definiciones arriba proporcionadas, o al menos un ácido nucleico codificador de las mismas, o al menos un vector, célula huésped o anticuerpo tal como se definen más arriba.

La cantidad de una secuencia inhibidora de JNK y un péptido quimérico, respectivamente, en la composición farmacéutica a administrar a un sujeto puede tener conllevar una dosis muy baja (sin estar limitada a ella). Por tanto, la dosis puede ser mucho menor que la de fármacos peptídicos conocidos en la técnica tales como DTS-108 (Florence Meyer-Losic y col., Clin Cancer Res., 2008, 2145-53). Esto tiene varios aspectos positivos, por ejemplo una reducción de las reacciones secundarias potenciales y una reducción de los costes.

Preferentemente, la dosis (por kg de peso corporal) oscila en el intervalo hasta 10 mmol/kg, preferiblemente hasta 1 mmol/kg, de forma más preferente hasta 100 µmol/kg, de forma incluso más preferente hasta 10 µmol/kg, de forma todavía más preferente hasta 1 µmol/kg, de forma particularmente preferente hasta 100 nmol/kg, y de forma totalmente preferente hasta 50 nmol/kg.

Por tanto, el intervalo de dosis puede oscilar preferentemente entre aproximadamente 1 pmol/kg y aproximadamente 1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg y aproximadamente 0,1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg y aproximadamente 0,01 mmol/kg, entre aproximadamente 50 pmol/kg y aproximadamente 1 µmol/kg, entre aproximadamente 100 pmol/kg y aproximadamente 500 nmol/kg, entre aproximadamente 200 pmol/kg y aproximadamente 300 nmol/kg, entre aproximadamente 300 pmol/kg y aproximadamente 100 nmol/kg, entre aproximadamente 500 pmol/kg y aproximadamente 50 nmol/kg, entre aproximadamente 750 pmol/kg y aproximadamente 30 nmol/kg, entre aproximadamente 250 pmol/kg y aproximadamente 5 nmol/kg, entre aproximadamente 1 nmol/kg y aproximadamente 10 nmol/kg, o una combinación de dos cualesquiera de estos valores.

Las dosis de un inhibidor de JNK de acuerdo con la SEQ ID Nº: 30 pueden ser por ejemplo de aproximadamente 10, 50 o 100 µg/kg.

En este contexto, la prescripción de un tratamiento, por ejemplo las decisiones sobre la dosificación, etc. cuando se utiliza la composición farmacéutica arriba descrita, forma parte normalmente de la responsabilidad de los facultativos generales y otros doctores médicos, y normalmente tiene en cuenta la afección a tratar, el estado del paciente individual, el sitio de administración, el método de administración y otros factores conocidos por los facultativos. En REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, edición 16, Osol, A. (ed), 1980 se pueden encontrar ejemplos de las técnicas y protocolos arriba mencionados. Por consiguiente, una "cantidad segura y efectiva" tal como se define más arriba para componentes de las composiciones farmacéuticas tal como se utilizan de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención significa una cantidad de cada uno de estos componentes, o de todos ellos, que es suficiente para inducir significativamente una modificación positiva de una enfermedad oftálmica inflamatoria crónica o no crónica tal como se define aquí. Sin embargo, al mismo tiempo, una "cantidad segura y efectiva" es suficientemente pequeña para evitar efectos secundarios serios, es decir, para posibilitar una relación prudente entre ventaja y riesgo. La determinación de estos límites está normalmente dentro del alcance de un juicio médico sensato. Una "cantidad segura y efectiva" de un componente de este tipo variará en relación con la enfermedad particular a tratar y también con la edad y el estado físico del paciente a tratar, la gravedad de la enfermedad, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concomitante, del vehículo farmacéuticamente aceptable particular utilizado, y de factores similares, dentro del conocimiento y la experiencia del médico. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden utilizar de acuerdo con la invención para humanos y también con fines médicos veterinarios.

La composición farmacéutica tal como se utiliza de acuerdo con la presente invención también puede comprender, además de una de estas sustancias, un vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible), excipiente, tampón o estabilizador u otros materiales bien conocidos por los especialistas en la técnica.

En este contexto, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible)" incluye preferentemente la base líquida o no líquida de la composición. El término "compatible" significa que los constituyentes de la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se pueden mezclar con el componente farmacéuticamente activo tal como se define más arriba y con otro componente de modo que no se produce ninguna interacción que pueda reducir esencialmente la eficacia farmacéutica de la composición bajo condiciones de uso habituales. Evidentemente, los vehículos farmacéuticamente aceptables deben tener una pureza suficientemente alta y una toxicidad suficientemente baja para que sean adecuados para ser administrados a una persona a tratar.

Si la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se suministra en forma líquida, el vehículo farmacéuticamente aceptable incluirá normalmente uno o más vehículos líquidos farmacéuticamente aceptables (compatibles). La composición puede comprender como vehículos líquidos farmacéuticamente aceptables (compatibles), por ejemplo, agua libre de pirógenos; solución salina isotónica o soluciones (acuosas) tamponadas, por ejemplo soluciones tamponadas fosfato, citrato, etc., aceites vegetales tales, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de teobroma; polioles, por ejemplo polipropilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ácido algínico, etc. En particular para la inyección de la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se puede emplear un tampón, preferentemente un tampón acuoso.

Si la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se suministra en forma sólida, el vehículo farmacéuticamente aceptable incluirá normalmente uno o más vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles). La composición puede comprender como vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles), por ejemplo, uno o más materiales de carga o diluyentes sólidos o líquidos, o también se pueden utilizar compuestos de encapsulación, que sean adecuados para ser administrados a una persona. Ejemplos de estos vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles) son azúcares, como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, como almidón de maíz o almidón de patata; celulosa y sus derivados, como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; sebo; lubricantes sólidos, como ácido esteárico, estearato de magnesio; sulfato de calcio, etc.

La naturaleza concreta del vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible) u otro material puede depender de la vía de administración. Por consiguiente, la selección de un vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible) se puede determinar en principio de acuerdo con el modo de administración de la composición farmacéutica tal como se utiliza de acuerdo con la invención. La composición farmacéutica tal como se utiliza de acuerdo con la invención se puede administrar, por ejemplo, de forma sistémica. Las vías de administración incluyen, por ejemplo, vías parenterales (por ejemplo por inyección) tales como las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica o transdérmica, etc.; vías enterales tales como la vía oral, o vías rectales, etc.; vías tópicas tales como la vía nasal o intranasal, etc.; u otras vías tales como vías epidérmicas o administración con parches. Además, es particularmente preferente la administración local sobre/dentro del ojo, por ejemplo la administración intravítrea, la administración subconjuntival y/o la instilación.

En otro aspecto, las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos, las secuencias de ácidos nucleicos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos tal como se definen aquí, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, pueden emplearse en el tratamiento de inflamaciones intraoculares, en particular después de cirugía oftálmica o trauma. Mientras que el interior del ojo normalmente no es muy propenso a las infecciones e inflamaciones (por ejemplo subsiguientes) debido a su estructura autónoma y aislada, las probabilidades de inflamación crecen después de un tratamiento quirúrgico de tejido ocular y/o después de otras lesiones (por ejemplo mecánicas) (trauma). Por consiguiente, los compuestos a utilizar en la presente divulgación que comprende la presente invención se pueden emplear en particular para el tratamiento de inflamaciones intraoculares después de cirugía o trauma oftálmico y en particular para el tratamiento de heridas y bordes de heridas inflamadas. En particular, en el contexto de las inflamaciones intraoculares (pero no exclusivamente), los inventores contemplan en particular la administración subconjuntival y/o una sola administración por infusión intravenosa.

Actualmente, el tratamiento estándar de las inflamaciones oculares es la administración de (cortico)esteroides en forma de gotas o pomadas oftálmicas. La administración de corticosteroides se debería repetir con frecuencia y no carece de efectos secundarios. Por otro lado, en inflamaciones severas a veces es necesaria la administración intravenosa o subconjuntival de corticosteroides. Por consiguiente, la presente descripción que comprende la presente invención también se refiere al uso de las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos, las secuencias de ácidos nucleicos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos tal como se definen aquí, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, en un método de tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas, comprendiendo el método la administración combinada de las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos, las secuencias de ácidos nucleicos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos tal como se definen aquí, junto con esteroides (por ejemplo corticosteroides). La administración combinada incluye la administración paralela y/o la administración consecutiva (primero el inhibidor de JNK aquí descrito y después los (cortico)esteroides o viceversa). Evidentemente, la administración consecutiva y paralela también se pueden combinar, por ejemplo el tratamiento comienza con los inhibidores de JNK aquí descritos y en un momento posterior en el curso del tratamiento se administran paralelamente (cortico)esteroides.

La cantidad adecuada de la composición farmacéutica a utilizar se puede determinar mediante experimentos rutinarios con modelos animales. Estos modelos incluyen, sin que esto implique ninguna limitación, los modelos de conejo, oveja, ratón, rata, perro y primates no humanos. Las formas de dosificación unitaria preferentes para inyección incluyen soluciones estériles de agua, solución salina fisiológica o mezclas de las mismas. El pH de estas soluciones se debería ajustar a un valor de aproximadamente 7,4. Los vehículos adecuados para inyección incluyen hidrogeles, dispositivos para la liberación controlada o retrasada, ácido poliláctico y matrices de colágeno. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la aplicación tópica incluyen aquellos que son adecuados para ser utilizados en lociones, cremas, geles y similares. Si los compuestos se deben administrar vía peroral, las pastillas, cápsulas y similares son la forma de dosificación unitaria preferente. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para la preparación de formas de dosificación unitaria que pueden ser utilizadas para la administración oral son bien conocidos en el estado anterior de la técnica. La selección de los mismos dependerá de consideraciones secundarias tales como sabor, coste y aptitud para almacenamiento, que no son críticas para los objetivos de la presente invención, y puede ser realizada sin dificultad por una persona con experiencia en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas para la administración oral se pueden encontrar en forma de pastillas, cápsulas, en polvo o en forma líquida. Una pastilla puede incluir un vehículo sólido tal como se define más arriba, como gelatina, y opcionalmente un adyuvante. Las composiciones farmacéuticas líquidas para la administración oral pueden incluir en general un vehículo líquido tal como se define más arriba, como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. También pueden incluir solución salina fisiológica, dextrosa u otras soluciones de sacáridos o glicoles, tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol.

Para la inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o en el lugar de la dolencia, el ingrediente activo estará en forma de una solución acuosa parenteral aceptable libre de pirógenos y con un pH, una isotonicidad y una

estabilidad adecuados. Las personas con un conocimiento técnico relevante pueden preparar soluciones adecuadas utilizando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección de Ringer, Inyección de Ringer Lactato. También se pueden incluir conservantes, estabilizadores, tampones, antioxidantes y/u otros aditivos, según se requiera. Independientemente de que se trate de un polipéptido, péptido o molécula de ácido nucleico, u otro compuesto farmacéuticamente útil de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención que deba ser administrado a un individuo, la administración se lleva a cabo en una "cantidad profilácticamente eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" (según sea aplicable), siendo ésta suficiente para beneficiar al individuo. La cantidad exacta administrada y la velocidad y la evolución temporal de la administración, dependerán de la naturaleza y la gravedad de la enfermedad tratada.

La prevención y/o el tratamiento de una enfermedad tal como se define aquí incluyen típicamente la administración de una composición farmacéutica tal como se describe más arriba. El término "modular" incluye la supresión de la expresión de JNK en caso de sobreexpresión de la misma en cualquiera de las enfermedades arriba indicadas. También incluye, de forma no exclusiva, la supresión o fosforilación de c-jun, ATF2 o NFAT4 en cualquiera de las enfermedades arriba indicadas, por ejemplo empleando al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, como un inhibidor competitivo del sitio de unión natural de c-jun, ATF2 y NFAT4 en una célula. El término "modular" también incluye la supresión de complejos heteroméricos y homoméricos de factores de transcripción formados, de forma no exclusiva, por c-jun, ATF2 o NFAT4 y sus compañeros relacionados, por ejemplo el complejo AP-1, que está formado por c-jun, AFT2 y c-fos. Cuando una enfermedad oftálmica inflamatoria crónica o no crónica está asociada a una sobreexpresión de JNK, dichas secuencias inhibidoras de JNK supresoras se pueden introducir en una célula. En algunos casos, "modular" puede incluir el aumento de la expresión de JNK, por ejemplo mediante el uso de un anticuerpo específico de péptido IB que bloquea la unión de un péptido IB con JNK, evitando así la inhibición de JNK mediante el péptido relacionado con IB.

La prevención y/o el tratamiento de un sujeto con la composición farmacéutica tal como se describe más arriba se puede llevar a cabo normalmente administrando (*in vivo*) una cantidad ("terapéuticamente eficaz") de dicha composición farmacéutica a un sujeto, pudiendo ser este sujeto por ejemplo cualquier mamífero, por ejemplo un humano, primate, ratón, rata, perro, gato, vaca, caballo o cerdo. El concepto "terapéuticamente eficaz" significa que la cantidad del componente activo de la composición farmacéutica es suficiente para mejorar la enfermedad oftálmica inflamatoria crónica o no crónica.

Por consiguiente, los péptidos tal como se definen más arriba, por ejemplo al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, pueden ser utilizados para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas.

Los péptidos tal como se definen más arriba y tal como están incluidos en la composición farmacéutica de la invención también pueden estar codificados por ácidos nucleicos. Esto resulta particularmente ventajoso si los péptidos arriba indicados se administran con fines de una terapia génica. En este contexto, la terapia génica se refiere a una terapia llevada a cabo mediante la administración de un ácido nucleico específico tal como se define más arriba a un sujeto, por ejemplo por medio de una composición farmacéutica tal como se define más arriba, comprendiendo el o los ácidos nucleicos exclusivamente L-aminoácidos. En este caso de la presente descripción, el ácido nucleico produce su(s) péptido(s) codificado(s), que sirve(n) para ejercer un efecto terapéutico mediante la modulación de la función de la enfermedad o afección. En la práctica de la presente invención se puede emplear cualquiera de los métodos disponibles en la técnica relacionados con la terapia génica (véase, por ejemplo, Goldspiel y col., 1993. Clin Pharm 12: 488-505).

En una realización no reivindicada, el ácido nucleico tal como se define más arriba y tal como se utiliza para la terapia génica forma parte de un vector de expresión que codifica y expresa uno o más cualesquiera de los péptidos relacionados con IB tal como se definen más arriba dentro de un huésped adecuado, es decir, una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº:

1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas. En una realización no reivindicada, un vector de expresión de este tipo incluye un promotor que está unido operativamente con una o más regiones codificadoras de una secuencia inhibidora de JNK. El promotor puede ser tal como se define más arriba, por ejemplo inducible o constitutivo, y opcionalmente específico de un tejido.

En otra realización no reivindicada, una molécula de ácido nucleico tal como se define más arriba se utiliza para una terapia génica en la que las secuencias codificadoras de la molécula de ácido nucleico (y cualquier otra secuencia deseada de la misma) tal como se definen más arriba están flanqueadas por regiones que promueven la recombinación homóloga en un sitio deseado dentro del genoma, produciendo así la expresión intracromosómica de estos ácidos nucleicos (véase, por ejemplo, Koller y Smithies, 1989. Proc Natl Acad Sci USA 86: 8932-8935).

La administración del ácido nucleico tal como se define más arriba a un paciente para una terapia génica, en particular en el contexto de las enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas y no crónicas tal como se definen más arriba, puede ser directa (es decir, el paciente se expone directamente al ácido nucleico o a un vector que contiene ácido nucleico) o indirecta (es decir, las células se transforman primero con el ácido nucleico *in vitro* y después se trasplantan al paciente). Estos dos métodos se conocen, respectivamente, como terapia génica *in vivo* o *ex vivo*. En una realización específica de la presente invención, un ácido nucleico se administra directamente *in vivo*, donde es expresado para producir el producto codificado. Esto se puede llevar a cabo mediante cualquiera de numerosos métodos conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, la construcción del ácido nucleico como parte de un vector de expresión de ácido nucleico apropiado y la administración del mismo de modo que se vuelve intracelular (por ejemplo, por infección utilizando un vector retroviral defectivo o atenuado u otro vector viral; véase la Patente US Nº 4.980.286); inyectando directamente ADN desnudo; utilizando bombardeo de micropartículas (por ejemplo un "GeneGun"; Biolistic, DuPont); revistiendo los ácidos nucleicos con lípidos; utilizando agentes de transfección/receptores de superficie celular asociados; mediante encapsulación en liposomas, micropartículas o microcápsulas; mediante su administración unido a un péptido conocido por entrar en el núcleo; o mediante su administración unido con un ligando predispuesto para endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu y Wu, 1987. J Biol Chem 262: 4429-4432), que puede ser utilizado para "apuntar" a tipos de células que expresan específicamente los receptores de interés, etc.

Un método adicional para la terapia génica en la práctica de la presente invención implica la transferencia de un ácido nucleico tal como se define más arriba en células en cultivo tisular *in vitro* mediante métodos tales como electroporación, lipofección, transfección mediada por fosfato de calcio, infección viral o similares. En general, el método de transferencia incluye la transferencia concomitante de un marcador seleccionable para las células. Las células se disponen después bajo una presión de selección (por ejemplo resistencia a los antibióticos) para facilitar el aislamiento de las células que han sido absorbidas y que expresan el gen transferido. Después, dichas células son transferidas a un paciente. En una realización específica no reivindicada, antes de la administración *in vivo* de la célula recombinante resultante, el ácido nucleico se introduce en una célula por cualquier método conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, transfección, electroporación, microinyección, infección con un vector viral o bacteriófago que contiene las secuencias de ácidos nucleicos de interés, fusión celular, transferencia genética mediada por cromosomas, transferencia genética mediada por microcélulas, fusión de esferoplastos y métodos similares que aseguran que las funciones de desarrollo y fisiológicas necesarias de las células receptoras no resultan alteradas por la transferencia. Véase, por ejemplo, Loeffler y Behr, 1993. Meth Enzymol 217: 599-618. La técnica elegida debería posibilitar la transferencia estable del ácido nucleico a la célula, de tal modo que la célula puede expresar el ácido nucleico. Preferentemente, el ácido nucleico transferido es heredable y expresable por la descendencia celular.

En realizaciones no reivindicadas de la presente descripción, las células recombinantes resultantes puede ser suministradas a un paciente por diversos métodos conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, inyección de células epiteliales (por ejemplo vía subcutánea), aplicación de células de la piel recombinantes como un injerto de piel sobre el paciente, e inyección intravenosa de células sanguíneas recombinantes (por ejemplo células madre hematopoyéticas o células precursoras). La cantidad total de células previstas para ser utilizadas depende del efecto deseado, el estado del paciente y similares, y puede ser determinada por los especialistas en la técnica. Las células en las que se puede introducir un ácido nucleico con fines de terapia génica incluyen cualquier tipo de célula disponible deseada, y pueden ser xenogénicas, heterogénicas, singénicas o autogénicas. Los tipos de células incluyen, de forma no exclusiva, células diferenciadas tales como células epiteliales, células endoteliales, queratinocitos, fibroblastos, células musculares, hepatocitos y células sanguíneas, o diversas células madre o precursoras, en particular células musculares cardíacas embrionarias, células madre hepáticas (Publicación de Patente Internacional WO 94/08598), células madre neurales (Stemple y Anderson, 1992, Cell 71 : 973-985), células madre hematopoyéticas o células

precursoras, por ejemplo tal como se obtienen de médula ósea, sangre de cordón umbilical, sangre periférica, hígado fetal, y similares. Preferentemente, las células utilizadas para la terapia génica son autólogas para el paciente.

Alternativa y/o adicionalmente, para el tratamiento de enfermedades tal como se mencionan aquí se pueden utilizar terapias de dirección selectiva para suministrar las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y/o los ácidos nucleicos tal como se definen más arriba más específicamente a determinados tipos de célula, mediante el uso de sistemas dirigidos tales como un anticuerpo (una diana) o ligandos específicos de células. Los anticuerpos utilizados para la señalización normalmente son específicos para proteínas de la superficie celular de células asociadas con cualquiera de las enfermedades abajo definidas. A modo de ejemplo, estos anticuerpos se pueden dirigir a anticuerpos de superficie celular tales como, por ejemplo, proteínas de superficie asociadas a células B tales como proteína MHC de clase II DR, CD18 (cadena beta LFA-1), CD45RO, CD40 o Bgp95, o proteínas de superficie celular seleccionadas, por ejemplo, entre CD2, CD2, CD4, CD5, CD7, CD8, CD9, CD10, CD13, CD16, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD30, CD33, CD34, CD38, CD39, CD4, CD43, CD45, CD52, CD56, CD68, CD71, CD138, etc. Los constructos diana se pueden preparar normalmente mediante unión covalente de las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención con un anticuerpo específico para una proteína de superficie celular o por unión con un ligando específico de una célula. Las proteínas se pueden unir por ejemplo a un anticuerpo de este tipo o se pueden fijar al mismo mediante un enlace peptídico o por acoplamiento químico, reticulación etc. La terapia diana se puede llevar a cabo después administrando el constructo diana en una cantidad farmacéuticamente eficiente a un paciente mediante cualquiera de las vías de administración tal como se definen más abajo, por ejemplo vía intraperitoneal, nasal, intravenosa, oral y por parches. Preferentemente, las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos o los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención, unidos a los anticuerpos diana o ligandos específicos de células tal como se definen más arriba, pueden ser liberados *in vitro* o *in vivo*, por ejemplo por hidrólisis del enlace covalente, mediante peptidasas o mediante cualquier otro método adecuado. Alternativamente, si las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos o los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención se unen a un ligando específico de células pequeño, la liberación del ligando puede no ser llevada a cabo. Si están presentes en la superficie celular, los péptidos quiméricos pueden entrar en la célula con la actividad de su secuencia de tráfico. La dirección selectiva puede ser deseable por diversas razones; por ejemplo, si las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención son inaceptablemente tóxicos o si en otro caso requerirían una dosis demasiado alta.

En lugar de administrar las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención directamente, éstos se podrían producir en las células diana mediante expresión desde un gen codificador introducido en las células, por ejemplo desde un vector viral a administrar. El vector viral codifica normalmente las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí de acuerdo con la presente descripción que comprende la presente invención. El vector se podría dirigir a las células específicas a tratar. Además, el vector podría contener elementos reguladores que son activados de forma más o menos selectiva por las células diana después de una regulación definida. Esta técnica representa una variante de la técnica VDEPT (*virus-directed enzyme prodrug therapy* - terapia de profármaco enzimático dirigido a virus), que utiliza proteínas maduras en lugar de sus formas precursoras.

Alternativamente, las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí podrían ser administrados en una forma precursora mediante el uso de un anticuerpo o un virus. Estas secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos se pueden convertir después en la forma activa mediante un agente de activación producido en las células a tratar o dirigido a las mismas. Este tipo de método se conoce a veces como ADEPT (*antibody-directed enzyme prodrug therapy* - terapia de profármaco enzimático dirigido a anticuerpo) o VDEPT (*virus-directed enzyme prodrug therapy* - terapia de profármaco enzimático dirigido a virus); el primer implica la dirección selectiva del agente de activación hacia las células mediante conjugación con un anticuerpo específico de las células, mientras que el último implica la producción del agente de activación, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK o el péptido quimérico, en un vector mediante expresión de ADN codificador en un vector viral (véanse, por ejemplo, los documentos EP-A-415731 y WO 90/07936).

De acuerdo con otra realización no reivindicada, las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos, las secuencias de ácidos nucleicos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos tal como se definen aquí, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 y/o un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, y/o una secuencia inhibidora de JNK de

acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, pueden emplearse en ensayos (*in vitro*) (por ejemplo inmunoensayos) para detectar, pronosticar, diagnosticar o controlar diversas condiciones y afecciones seleccionadas entre enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen más arriba, o para controlar su tratamiento. El inmunoensayo se puede llevar a cabo mediante un método que consiste en poner en contacto una muestra derivada de un paciente con un anticuerpo con una secuencia inhibidora de JNK, un péptido quimérico o una secuencia de ácidos nucleicos tal como se define más arriba, bajo condiciones que permiten que se pueda producir una unión inmunoespecífica, y a continuación detectar o medir la cantidad de cualquier unión inmunoespecífica con el anticuerpo. En una realización específica no reivindicada, un anticuerpo específico para una secuencia inhibidora de JNK, un péptido quimérico o una secuencia de ácidos nucleicos se puede utilizar para analizar una muestra de tejido o suero de un paciente en cuanto a la presencia de JNK o una secuencia inhibidora de JNK; en cuyo caso un nivel aberrante de JNK es indicativo de una situación de enfermedad. Los inmunoensayos que pueden ser utilizados incluyen, de forma no exclusiva, sistemas de ensayo competitivo y no competitivo que utilizan técnicas tales como Western Blot, radioinmunoensayos (RIA), ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA), inmunoensayos "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina por difusión de gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, inmunoensayos fluorescentes, ensayos de fijación de complemento, ensayos inmunorradiométricos e inmunoensayos de proteína A, etc. Alternativamente se pueden llevar a cabo ensayos (*in vitro*) para suministrar las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos, las secuencias de ácidos nucleicos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos, tal como se definen más arriba, a células diana seleccionadas normalmente, por ejemplo, células animales cultivadas, células humanas o microorganismos, y para controlar la respuesta celular mediante métodos biofísicos normalmente conocidos por los especialistas. Las células diana normalmente utilizadas pueden ser células cultivadas (*in vitro*) o células *in vivo*, es decir, células que componen los órganos o tejidos de animales o humanos vivos, o microorganismos hallados en animales o humanos vivos.

La presente solicitud describe adicionalmente el uso de *kits* para fines diagnósticos o terapéuticos, en particular para el tratamiento, la prevención o el control de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen más arriba, incluyendo el *kit* uno o más recipientes que contienen secuencias inhibidoras de JNK, péptidos quiméricos, secuencias de ácidos nucleicos y/o anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos, tal como se definen más arriba, por ejemplo un anticuerpo de secuencia inhibidora anti-JNK para una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100, para un péptido quimérico de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 9 a 12 y 23 a 32, para una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID Nº: 1 a 4 y 13 a 20 y 33-100 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nº: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas dentro de las definiciones arriba proporcionadas, o tal como un anticuerpo de secuencia inhibidora anti-JNK y, opcionalmente, un compañero de unión marcado para el anticuerpo. El marcador así incorporado en el anticuerpo puede incluir, de forma no exclusiva, una fracción quimioluminiscente, enzimática, fluorescente, colorimétrica o radiactiva. En otra realización específica no reivindicada se proporcionan *kits* para uso diagnóstico en el tratamiento, la prevención o el control de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas y no crónicas tal como se definen más arriba, que incluyen uno o más recipientes que contienen ácidos nucleicos que codifican o, alternativamente, que son el complemento de una secuencia inhibidora de JNK y/o un péptido quimérico tal como se define más arriba, y opcionalmente también se proporciona un compañero de unión marcado para estos ácidos nucleicos. En una realización específica alternativa no reivindicada, el *kit* se puede utilizar para los fines arriba indicados como un *kit* que comprende uno o más recipientes, un par de cebadores de oligonucleótido (por ejemplo, cada 6-30 nucleótidos de longitud) que pueden actuar como cebadores de amplificación para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, véase, por ejemplo, Innis y col., 1990. PCR PROTOCOLS, Academic Press, Inc., San Diego, CA), reacción en cadena de la ligasa, reacción de sonda cíclica y similares, u otros métodos conocidos en la técnica utilizados en el contexto con los ácidos nucleicos tal como se definen más arriba. Opcionalmente, el *kit* puede comprender además una cantidad predeterminada de una secuencia inhibidora de JNK purificada tal como se define más arriba, un péptido quimérico tal como se define más arriba, o ácidos nucleicos que codifican los mismos, para utilizarla como un diagnóstico, un patrón o un control en los ensayos con los objetivos indicados.

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos aquí utilizados tienen el mismo significado comúnmente entendido por el experto medio en la materia a la que pertenece esta invención. En caso de conflicto regirá la presente especificación, incluyendo las definiciones.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1 Eficacia clínica de la SEQ ID Nº: 11 en uveítis inducida por LPS:

Las puntuaciones clínicas (expresadas en unidades arbitrarias, A.U.) se evaluaron en el pico de la enfermedad, 24 horas después (A) inyección intravenosa (IV) o (B) inyección intravítrea (IVT) del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11. Se llevó a cabo una comparación con ojos uveíticos no tratados (LPS) y con tratamiento IV/IVT con vehículo (n = 10 ojos por grupo). Las manifestaciones clínicas de la uveítis se redujeron después de (A) inyección IV del (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 (***p < 0,001 frente a LPS; ### p < 0,001 frente a vehículo) y (B) inyección IVT del (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 (***p < 0,001 frente a LPS; ## p < 0,01 frente a vehículo) y dexametasona (***p < 0,05 frente a LPS). No se observó ninguna diferencia estadística (ns) entre la inyección IVT del (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 y la dexametasona utilizada como control positivo.

Figura 2 Inhibición de la vía de JNK mediante SEQ ID Nº: 11 en uveítis inducida por LPS:
Análisis Western-Blot de fosforilación de c-Jun en complejos de RPE/coroides/esclerótica 24 horas después de inyecciones IV o IVT de (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 y vehículo (n = 2 ojos por grupo) en condiciones de uveítis inducida por endotoxina (EIU). La inhibición de la fosforilación de c-Jun mediante el (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 se visualizó en (A) inmunoelectrotransferencia (pista superior: fosfo c-Jun (Ser63); pista inferior: proteína indicadora de β-tubulina; y se confirmó mediante (B) cuantificación densitométrica.

Figura 3 Efectos de la SEQ ID Nº: 11 en la activación de la vía LPS-ERK:
Se llevó a cabo una inmunohistoquímica contra fosfo p44/42 MAPK (Erk1/2) (verde) en secciones hidrológicas oculares de ojos de control uveíticos no tratados y animales sometidos a inyección IV o IVT (vehículo o SEQ ID Nº: 11) (n = 3 ojos analizados por cada estado; punto temporal: 24 h). Los núcleos (en azul) se tiñeron con DAPI. El p-Erk1/2 se expresaba fuertemente en el epitelio del iris después de administración IVT de vehículo (A, a) y SEQ ID Nº: 11 (B, b), sin ninguna diferencia detectable entre ambas. Únicamente se pudo detectar una ligera señal positiva en células gliales de Müller retinales en ojos EIU tratados mediante inyección IV del vehículo (E, e) o de la SEQ ID Nº: 11 (F, f) (véanse las flechas). Barra de escala: 100 µm. c: córnea; ir: iris; st: estroma; ep: epitelio; ONH: cabeza de nervio óptico; INL: capa nuclear interior; ONL: capa nuclear exterior.

Figura 4 Biodistribución ocular del (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 en ojos sanos y uveíticos:
Se llevó a cabo una inmunohistoquímica contra SEQ ID Nº: 11 en secciones histológicas oculares de animales no tratados y animales sometidos a inyección IV o IVT (vehículo o SEQ ID Nº: 11) tanto en condiciones de salud (A-L) como en condiciones inflamatorias inducidas por LPS (M-W) (n = 3 ojos analizados por condición; punto temporal: 24 h). (A-C) La SEQ ID Nº: 11 era indetectable en tejidos oculares 24 horas después de inyección IV en ojos sanos. (D-L) Después de inyección IVT en ojos sanos, se detectó SEQ ID Nº: 11 en epitelio de iris (D-G), epitelio del cuerpo ciliar (E, J), GCL (H), INL (K), IS (I) y RPE (L). En ojos con uveítis, la SEQ ID Nº: 11 se detectó infiltrando células inflamatorias después de inyección IV de SEQ ID Nº: 11 (M-P), pero no después de inyecciones IV o IVT de vehículo (no mostrado) o en ojos con EIU no tratados (V, W). (Q-U) En ojos uveíticos tratados mediante IVT de SEQ ID Nº: 11, la distribución de la SEQ ID Nº: 11 era similar a la de los ojos tratados sanos, pero también se detectó en células inflamatorias residentes migratorias (S-T). Barra de escala: 50 µm. c: córnea; ir: iris; l: cristalino; cb: cuerpo ciliar; st: estroma; ep: epitelio; GCL: capa celular ganglionar; INL: capa nuclear interior; ONL: capa nuclear exterior; RPE: epitelio pigmentario retinal; IS: segmento interior de fotorreceptores; aq. h: humor acuoso.

Figura 5 Reducción de la infiltración celular inflamatoria inducida por LP mediante el (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11:
La infiltración de (A) macrófagos (células ED1 inmunopositivas) y (B) leucocitos polimorfonucleares (PMN) se cuantificó en secciones histológicas (n = 6 secciones por grupo) teñidas mediante inmunohistoquímica (ilustradas en la Figura 6). (A) Las inyecciones intravenosas (IV) (**p < 0,005 frente a LPS) e intravítreas (IVT) (**p < 0,005 frente a LPS; ## p < 0,009 frente a vehículo) del (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 redujeron la cantidad de ED1+. (B) El (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 disminuyó la cantidad de PMN después de administraciones intravenosas (IV) (**p < 0,005 frente a LPS) e intravítreas (IVT) (**p < 0,005 frente a LPS; ## p < 0,009 frente a vehículo). No se observó ninguna diferencia estadística (ns) entre la inyección IVT del (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 y la dexametasona utilizada como control positivo.

Figura 6 Efecto del (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 en la expresión de células ED1+, leucocitos polimorfonucleares y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en uveítis inducida por LPS:
La expresión de antígenos de ED1 e iNOS se analizó mediante inmunoquímica en criosecciones oculares de ratas uveíticas no tratadas o tratadas (IV o IVT, vehículo o SEQ ID Nº: 11 (n = 3 ojos por condición; punto temporal: 24 h). Los núcleos se tiñeron con DAPI. Numerosas células inflamatorias que expresaban ED1 (A, D, G, J) y/o iNOS (B, E, H, K)

infiltraron el segmento anterior (A-I) y el segmento posterior (J-L) de ojos con EIU no tratados. En el iris/cuerpo ciliar se encontró una pequeña cantidad de células ED1+/iNOS+ (células amarillas, paneles c1-2 y f1-2) pero la mayor parte de las células iNOS+ eran células ED, lo que sugiere que principalmente los PMN producían iNOS. Las inyecciones IV (M-U) e IVT (no mostrada) de SEQ ID Nº: 11 redujeron el infiltrado inflamatorio que expresaba ED1 (M, P, S) e iNOS (N, Q, T). En ojos tratados mediante IV (M-U) e IVT (no mostrado) de la SEQ ID Nº: 11 se observó una cantidad reducida de células ED1+ (M, P, S) y células iNOS+ (N, Q, T). Barra de escala: 50 µm. c: córnea; ir: iris; cb: cuerpo ciliar; ret: retina; ON: nervio óptico.

Figura 7 Disminución de la expresión de iNOS inducida por LPS mediante el (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11:
Análisis RT-PCR de niveles de ARNm de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en neurorretinas 24 horas después de inyecciones IV o IVT de la SEQ ID Nº: 11 o vehículo (n = 2 ojos por grupo) en condiciones de EIU. La disminución de ARNm de iNOS se visualizó en (A) gel de agarosa bajo transiluminador ultravioleta (pista superior: producto de amplificación de ADNc iNOS 657 bp; pista inferior: producto de amplificación de ADNc GAPDH 162 bp) y se confirmó mediante (B) cuantificación densitométrica.

Figura 8 Modulación de perfiles de quimioquina/citoquina intraocular inducida por LPS después de administración intravenosa (IV) del (poli)péptido de SEQ ID Nº: 11:
Se llevó a cabo un análisis múltiplex en fluidos oculares recogidos 6 h, 24 h y 48 h después de la inducción de EIU. Se realizó una comparación entre ratas uveíticas de control no sometidas a inyección o ratas tratadas por IV con el (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 (n = 10 ojos analizados por punto temporal y por condición). Los resultados de ratas tratadas por inyección IV de vehículo no se han representado para una mayor claridad. Los valores P de análisis estadísticos están indicados en cada gráfico (p). La inyección iv del (poli)péptido de SEQ ID Nº: 11 disminuyó la producción de quimioquinas (A) y redujo la producción de citoquinas proinflamatorias y Th1 en puntos temporales específicos (B). Los niveles de IFN-γ e IL-10 no se han representado a 48 h porque estaban por debajo de los niveles detectables.

Figura 9 Modulación de perfiles de quimioquina/citoquina intraocular inducida por LPS después de administración intravítrea (IVT) del (poli)péptido de SEQ ID Nº: 11:
Se llevó a cabo un análisis múltiplex en fluidos oculares recogidos 6 h, 24 h y 48 h después de la inducción de EIU. Se realizó una comparación entre ratas tratadas mediante inyección ivt del vehículo y el (poli)péptido de la SEQ ID Nº: 11 (n = 10 ojos analizados por punto temporal y por condición). Los valores P de análisis estadísticos están indicados en cada gráfico (p). No se observó ningún cambio significativo en la expresión de quimioquinas entre inyecciones ivt de vehículo o inyecciones ivt de SEQ ID Nº: 11, excepto una disminución de MCP-1 (A). La inyección ivt del (poli)péptido de SEQ ID Nº: 11 indujo pocos cambios en la expresión de citoquinas: niveles menores de TNF-α, IL-6 e IL-2 a las 6 horas, un nivel menor de IL-2 y un nivel mayor de IL-13 a las 24 horas (B).

Figura 10 Muestra la secuencia de ADNc de IB1 de rata y su secuencia de aminoácido prevista (SEQ ID Nº: 102).

Figura 11 Muestra la secuencia de proteínas IB1 de rata codificada por el límite exón-intrón del donante de empalme génico rIB1 (SEQ ID Nº: 103).

Figura 12 Muestra la secuencia de proteínas IB1 de *Homo sapiens* (SEQ ID Nº: 104).

Figura 13 Muestra la secuencia de ADNc de IB1 de *Homo sapiens* (SEQ ID Nº: 105).

Figura 14 Muestra la puntuación clínica mediante lámpara de hendidura 24 horas después de la inducción de EIU y administración subconjuntival del péptido de la SEQ ID Nº: 11. Media ± SD. **p < 0,01 frente a vehículo.

Figura 15 Muestra la cantidad de células de PMN infiltrados 24 horas después de la inducción de EIU y administración subconjuntival de la SEQ ID Nº: 11 (1,8 µg). Media ± SD.

Figura 16 Muestra el nivel de ARNm iNOS/GAPDH en retinas después de administración subconjuntival de un inhibidor de JNK de acuerdo con la SEQ ID Nº: 11 (1,8 µg). Media ± SD.

Figura 17 Muestra un análisis Western Blot de fosforilación de c-Jun en RPE (epitelio pigmentario retinal) 24 horas después de la administración subconjuntival de 1,8 µg de un inhibidor de JNK de acuerdo con SEQ ID Nº: 11. Los resultados se obtuvieron mediante cuantificación densitométrica.

EJEMPLOS

Ejemplo 1:

Soluciones y productos

En Polypeptide Laboratories (Francia) se produjo un (poli)péptido inhibidor de JNK todo-D-retroinverso de SEQ ID Nº: 11, que se purificó por cromatografía líquida de alta resolución (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC). Este compuesto se analizó en cuanto a su identidad mediante espectrometría de masas y en cuanto a su pureza mediante RP-HPLC (Polypeptide Laboratories, Francia). Una vez liofilizado, el polvo se guardó a 2-8ºC. Un día antes del experimento, el polvo de (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se disolvió bajo condiciones estériles a una concentración de 10 µM en solución salina (NaCl 0,9%, VErsol®, Aguettant) en un vial de vidrio desactivado de National Scientific (NSC) (NSC-C4015-S1) y se guardó a 4ºC hasta su uso.

Para cada experimento, una fracción recién disuelta del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se guardó a -20ºC y su concentración de confirmó mediante análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Como control positivo para la actividad antiinflamatoria sobre EIU.10 se utilizó fosfato sódico de dexametasona 4 mg/ml (Soludecadron; Laboratoire Roussel, París, Francia).

Animales

Se emplearon ratas hembra de 7 semanas de edad con un peso de 175 g (Elevage Janvier, Le Genest Saint Isle, Francia) y manipularon de acuerdo con la Declaración de la ARVO para el uso de animales en investigación oftálmica y visual. Las ratas fueron anestesiadas con inyección intramuscular de ketamina (88 mg/kg) (Virbac, Francia) y Largactil (0,6 mg/kg) (Sanofi-Aventis, Francia) antes de una inyección intravenosa u ocular.

Inyecciones

Para la inyección intravenosa (iv), 100 ml de solución salina (NaCl 0,9%) o del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (20 mg/kg en solución salina) se inyectaron en una vena caudal utilizando una aguja 25G conectada con una jeringuilla de 1 ml (Becton Dickinson, Francia). Para la inyección intravítrea (ivt), 5 ml de solución salina o del (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11 (0,2 mg/inyección en solución salina) se inyectaron en ambos ojos utilizando una aguja desechable 30G (jeringuilla BD-microfine, nm Medical, Asnière, Francia). La dosis iv de 20 µg/kg (es decir, 3,5 µg/rata en ratas con un peso de 175 g) se eligió de acuerdo con estudios que muestran que el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 es activo cono dosis muy bajas en otros modelos. Para las inyecciones intravítreas, los inventores utilizaron la dosis mínima empleada en la administración directa en el oído después de un trauma acústico agudo en pacientes. Esto corresponde a un 5% de la dosis inyectada vía intravenosa. Inmediatamente después del tratamiento intravenoso o intravítreo, se indujo una uveítis inducida por endotoxina (EIU) mediante una inyección simple en la planta de la pata de 100 µl de solución salina estéril libre de pirógenos que contenía 200 µg de LPS (lipopolisacáridos de Salmonella typhimurium, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, Francia). Al final de los experimentos, es decir, 6, 24 o 48 horas después de la provocación con LPS, las ratas fueron anestesiadas mediante inyección intraperitoneal de pentobarbital (30 mg/kg) (Sanofi-Aventis, Francia) antes de extraerles sangre mediante punción intracardíaca. Las ratas fueron sacrificadas con una dosis letal de pentobarbital y ambos ojos fueron enucleados.

Toma de muestras

En primer lugar se tomaron y reunieron humores acuosos y vítreos de cada ojo enucleado. Los fluidos oculares se centrifugaron inmediatamente y las fracciones libres de células se recogieron y congelaron a -20ºC antes de su análisis mediante ensayo Multiplex. Las muestras de sangre se coagularon primero a temperatura ambiente durante 2 horas y después a 4ºC durante la noche. El suero se recogió y se centrifugó y el sobrenadante claro se recogió y se congeló a -20ºC antes del análisis Multiplex.

A los ojos enucleados se les diseccionaron cuidadosamente retinas y complejos de RPE/coroides/esclerótica, que se sometieron a congelación instantánea y se guardaron a -80ºC hasta su utilización para análisis RT-PCR y Western-Blot.

Para la inmunohistoquímica se tomaron globos oculares y se fijaron durante 1 hora a temperatura ambiente en solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía un 4% de paraformaldehído antes de enjuagarlos durante la noche en PBS. El día siguiente, las muestras se incorporaron y congelaron en compuesto de temperatura óptima de corte (OCT) (Tissue-Tek®, Sakura Finetek, Zoeterwoude, Holanda) y se guardaron a -80ºC. Después se realizaron secciones anteroposteriores congeladas de ojos (10 µm de espesor) a nivel del nervio óptico utilizando un criostato (Leica CM 3050S, Rueil-Malmaison, Francia) y se montaron sobre portaobjetos super-frost para análisis inmunohistoquímico.

Diseño experimental

En un primer paso del experimento 70 ratas se distribuyeron aleatoriamente en 14 grupos experimentales con 5 ratas por grupo. A cada grupo se le indujo una uveítis y las ratas fueron sacrificadas 6 horas (4 grupos), 24 horas (6 grupos) y 48 horas (4 grupos) después de una provocación con LPS. Para cada momento analizado (es decir, a las 6 horas, 24 horas y 48 horas), las ratas tratadas mediante inyección intravenosa o intravítrea de vehículo (NaCl 0,9%) o del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se compararon con ratas uveíticas de control no tratadas. A las 24 horas se utilizaron dos grupos adicionales tratados mediante inyección intravenosa de vehículo e inyección intravítrea de dexametasona. La inflamación ocular clínica se registró únicamente a las 24 horas (véase la sección Puntuación de Uveítis Inducida por Endotoxina (EIU)). En cada momento se utilizaron fluidos intraoculares de cada ojo (n = 10 por grupo) y suero de cada animal (n = 5 por grupo) para Ensayo Multiplex de Quimioquina/Citoquina.

También se recogieron retinas y complejos de RPE/coroides/esclerótica a las 24 horas para analizar los niveles de iNOS y ARNm mediante RT-PCR y el estado de fosforilación de c-Jun mediante Western-Blot. Sólo se recogieron tejidos de ojos tratados por inyección iv (intravenosa) de vehículo, inyección iv del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11, inyección ivt (intravítrea) de vehículo e inyección ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (n = 2 ojos por condición tomados de ratas diferentes). Los ojos se seleccionaron de modo que su puntuación clínica de EIU fuera representativa de la media del grupo experimental al que pertenecían, es decir, 3 en el caso de los ojos tratados mediante inyección iv e ivt de vehículo y 2 en el caso de los ojos tratados mediante inyección iv o ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11.

Un segundo grupo de experimentación se diseñó para evaluar el efecto antiinflamatorio del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 a nivel celular y tisular, así como la biodistribución de esta molécula 24 horas después de su administración. Las ratas se distribuyeron de forma aleatoria en 11 grupos experimentales. Seis grupos de ratas con uveítis: ratas uveíticas no tratadas, ratas sometidas a inyección intravenosa de NaCl o el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 y ratas sometidas a inyección intravítrea de vehículo, el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 o dexametasona. Los 5 grupos adicionales sin uveítis eran: ratas sanas no tratadas, ratas tratadas con NaCl iv o el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 IV y ratas sometidas a inyección ivt de NaCl o el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11. En cada grupo se tomaron tres ojos de ratas diferentes y se utilizaron para inmunohistoquímica.

Se ha de señalar que para los análisis clínicos e histológicos se utilizó dexametasona como tratamiento de referencia.

Puntuación de uveítis inducida por endotoxina (EIU)

Los animales fueron examinados con una lámpara de ranura a las 24 horas, el pico clínico de la enfermedad en nuestros experimentos. La intensidad de la inflamación ocular clínica se puntuó en una escala del 0 al 5 para cada ojo tal como se ha descrito anteriormente 10: el grado (0) indica sin inflamación; el grado (1) indica la presencia de una vasodilatación mínima del iris y la conjuntiva, pero sin observación de manchas o células en la cámara anterior (AC); el grado (2) indica la presencia de una vasodilatación moderada del iris y la conjuntiva, pero sin manchas o células evidentes en la AC; el grado (3) indica la presencia de una vasodilatación intensa del iris, manchas y menos de 10 células por campo de lámpara de hendidura en el AC; el grado (4) indica la presencia de signos clínicos más graves que los del grado 3, con más de 10 células en la AC con o sin formación de un hipopión; el grado (5) indica la presencia de una reacción inflamatoria intensa, formación de fibrina en la AC y aislamiento total de la pupila. La evaluación clínica se llevó a cabo de forma enmascarada.

Análisis Western-Blot

Se sometieron a congelación instantánea complejos de RPE/coroides/esclerótica y neurorretinas (2 por grupo experimental) inmediatamente después de la disección y se guardaron a -80ºC hasta su utilización. Los tejidos se homogeneizaron en 500 µl de tampón de lisis (MOPS SDS Running Buffer, Invitrogen, Cergy-Pontoise, Francia) complementado con cóctel inhibidor de proteasa (Roche Diagnostics, Meylan, Francia) (una tableta para 50 ml). Después de añadir LDS Sample Buffer (Invitrogen) y calentar durante 5 minutos a 100ºC, unas cantidades iguales de proteínas se sometieron a electroforesis en un gel NuPAGE 4-12% Bis-Tris (Invitrogen) utilizando MOPS SDS Running Buffer. Las bandas obtenidas se electrotransfirieron después sobre membranas de nitrocelulosa (Schleicher & Schuell II BioScience, Dassel, Alemania).

Se llevaron a cabo análisis Western-blot para analizar el efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en las tres vías de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK). Para analizar la vía JNK se incubaron secuencialmente transferencias con un anticuerpo primario fosfo-c-Jun (Ser63) de conejo (o anticuerpo fosfo-c-Jun (Ser73)) y un anticuerpo secundario unido a IgG HRP anticonejo de acuerdo con las

instrucciones del fabricante (PhosphoPlus c-Jun (Ser63) II y c-Jun (Ser73) antibody kit (9260) comprado en Cell Signaling Technology (Ozyme, St Quentin Yvelines, Francia)). Las bandas se visualizaron utilizando el ECL Western Blotting Detection Reagents Kit (Amersham Biosciences, Orsay, Francia). Después, las transferencias se deshibridaron y se rehibridaron sucesivamente con un anticuerpo primario (D-10) (sc-5274) antitubulina de ratón (dilución 1:400) y un anticuerpo secundario de IgG antirratón de cabra conjugado con HRP (sc-3697) (dilución 1:5000) (ambos adquiridos en Santa Cruz Biotechnology (Tebu-bio, Le Perray en Yvelines Cedex, Francia)). La intensidad de banda relativa para fosfo c-Jun (Ser 63 o Ser73) se calculó en comparación con la correspondiente a la tubulina después de análisis de densitometría (ImageJ software).

Para analizar las vías ERK y p38 MAPK, se incubaron secuencialmente transferencias con un anticuerpo primario de conejo fosfo-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (4370) (o anticuerpo de conejo fosfo-p38 MAPK (Thr180/Tyr182) (9215)) y un anticuerpo secundario de IgG (H+L) anticonejo de cabra conjugado con peroxidasa de rábano (PI-1000 - Vector Laboratories, Clinisciences, Montrouge, Francia) en una dilución 1:5000. Después, las transferencias se deshibridaron y se rehibridaron sucesivamente con un p44/42 MAPK (Erk1/2) (4695) de conejo (o anticuerpo p38 MAP Kinase (9212) de conejo) y el mismo anticuerpo secundario que más arriba. Los anticuerpos primarios se adquirieron en Cell Signaling Technology (Ozyme, St Quentin Yvelines, Francia) y todos los pasos se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante.

Inmunohistoquímica

Para caracterizar el infiltrado celular, las secciones se sometieron a doble tinción con ED1 e iNOS. En pocas palabras, después de una permeabilización con un 0,1% de TritonX-100 en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante 30 minutos, los especímenes se aclararon y saturaron durante 30 minutos con leche desnatada al 5% en PBS. Después se incubaron durante la noche a 4ºC con los dos siguientes anticuerpos primarios: una antimacrosialina CD68 monoclonal de ratón 1:50 (clon ED1), dirigida contra un antígeno citoplásmico en monocitos de rata, macrófagos y células dendríticas (adquiridas en Serotec Ltd. (Oxford, UK)) y un anti-iNOS de conejo policlonal (1/75e; Transduction Laboratories, Lexinton, FY). Después del lavado, las secciones se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con un anticuerpo monoclonal (mAb) secundario antirratón de burro conjugado (rojo) Alexa Fluor 594 y un mAb secundario anticonejo de cabra conjugado (verde) Alexa Fluor 488, cada uno en una dilución 1:250 (Invitrogen, Cergy Pontoise, Francia). Para cada paso, los anticuerpos se diluyeron en leche desnatada al 1% TritonX100. En cada serie de tinciones se incluyeron diferentes controles: controles negativos sin anticuerpos primarios y controles de isotipo mediante incubación con inmunoglobulina (Ig) de suero de ratón o conejo normal en lugar de anticuerpos primarios. Después de teñir los núcleos con DAPI (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, Francia), las secciones se montaron en PBS/glicerol (1/1) y se observaron mediante fotomicroscopía de fluorescencia (FXA, Microphot, Nikon, Melville, USA). Se obtuvieron micrografías digitalizadas utilizando una cámara digital (Spot, BFI Optilas, Evry, Francia). Las células positivas ED1 y las células polimorfonucleares, identificadas por la forma de sus núcleos teñidos con DAPI, se cuantificaron en secciones histológicas. El análisis se llevó a cabo en 3 ojos por grupo experimental, con 2 secciones diferentes por ojo a nivel de la cabeza del nervio óptico. Los resultados se expresaron como la media ± error estándar de la media (SEM).

También se llevó a cabo una inmunotinción del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en ojos sanos y uveíticos para estudiar su biodistribución ocular después de una administración sistémica o local. En pocas palabras, las secciones se permeabilizaron tal como se describe más arriba antes de incubarlas secuencialmente con una IgG de ratón purificada anti-SEQ ID Nº: 11 y una IgG secundaria anticonejo de cabra conjugada (rojo) Alexa 594 (Invitrogen, Cergy Pontoise, Francia) diluida 1:100 y 1:250 en PBS respectivamente. La inmunotinción de ojos no tratados sanos y uveíticos se utilizó como control negativo. Los núcleos se tiñeron con DAPI antes del montaje y la observación.

La inmunotinción de p-Erk1/2 se llevó a cabo para evaluar el efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en la vía ERK después de administración iv o ivt. Las secciones se permeabilizaron tal como se describe más arriba y se incubaron en solución de bloqueo que contenía un 0,1% de Triton X-100 y un 10% de FCS (*fetal calf serum* - suero bovino fetal) en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente. Las secciones se incubaron a lo largo de la noche a 4ºC con anticuerpo primario anti-fosfo-p44/42 MAPK (Erk1/2) de conejo (4370) adquirido en Cell Signaling Technology (Ozyme, St Quentin Yvelines, Francia) y diluido 1:400 en solución de bloqueo. Después de aclararlas tres veces en PBS, las secciones se incubaron con un mAb secundario anticonejo de cabra conjugado (verde) Alexa Fluor 488 (diluido 1:300 en solución de bloqueo) durante 2 horas a temperatura ambiente. Los núcleos se tiñeron con DAPI antes del montaje y observación.

Evaluación de la expresión de iNOS en tejidos oculares utilizando PCR semicuantitativa

Para este análisis se utilizaron dos ojos por grupo. Inmediatamente después de la disección, las retinas extraídas de cada ojo se sometieron a congelación instantánea por separado y se guardaron a -80ºC hasta su uso. Después se extrajo ARN total de tejidos (RNeasy minikit, Qiagen, Courtaboeuf, Francia) de acuerdo

con las instrucciones del fabricante. Se llevó a cabo una transcripción inversa en 1 µg de ARN total en un volumen total de 20 µl utilizando Superscript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, Cergy-Pontoise, Francia) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para amplificar GAPDH y ADNc iNOS, se llevó a cabo una reacción en cadena de polimerasa (PCR) en un volumen total de 25 µl que contenía 2 µl de producto de reacción de primera cadena, 0,4 µM cebador directo y 0,4 µM cebadores inversos, 0,4 µM dNTP Mix, 1,5 mM MgCl2, 1X tampón PCR y 2,5 U de Taq ADN polimerasa (Invitrogen, Cergy Pontoise, Francia). Los cebadores específicos para GAPDH (directo: 5'-ATGCCCCCATGTTTGTGATG-3'; inverso: 5'-AT-GGCATGGACTGTGGTCAT-3') e iNOS (directo: 5'-TTTCTCTTCAAAGTCAAATCCTACCA-3'; inverso: 5'-TGT- GTCTGCAGATGTGCTGAAAC-3') se obtuvieron de Invitrogen. Después de una desnaturalización inicial (3 minutos a 94ºC) se llevaron a cabo de 30 a 32 ciclos de PCR de desnaturalización (30 s, 94ºC), apareamiento (1 min, 58ºC (GAPDH) y 52ºC (iNOS)) y alargamiento (1 a 2 min, 72ºC) en un Crocodile III (Appligene Oncor). El ciclo final se completó mediante 5 minutos de alargamiento a 72ºC. Los fragmentos de PCR (162 bp para GAPDH y 657 bp para iNOS) se analizaron mediante electroforesis en 2,5% gel de agarosa y se visualizaron mediante tinción con bromuro de etidio bajo luz UV. La intensidad de banda relativa para iNOS se calculó en comparación con la de GAPDH después de análisis de densitometría (ImageJ software).

Ensayo multiplex de quimioquina/citoquina

Se sometieron a análisis de perlas multiplex fluidos intraoculares (diluidos para obtener un volumen final de 25 µl) y suero (25 µl de dilución 1:5). Este método utiliza microesferas como soporte sólido para inmunoensayos 12 y permite la titulación de una mayor cantidad de citoquinas con sensibilidad aumentada que lo que ocurre en el caso del ELISA 13. Para cada muestra se cuantificaron simultáneamente diecisiete analitos utilizando el *kit* Cytokine/Chemokine-17plex de rata (Milliplex Map Kit, Millipore, Saint-Quentin-en-Yvelines, Francia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante: quimioquinas MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, RANTES/CCL5, IP-10/CXCL10 (proteína-10 inducible por IFN) y GRO/KC; mediadores proinflamatorios IL-1, IL-18 y TNF-Th1/Th2/Th17 citoquinas IL-2 e IFN- / IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 / IL-17. El ensayo se llevó a cabo en una placa de filtro de 96 pocillos y se generaron curvas estándar para cada citoquina con un Rat Cytokine Standard suministrado en el *kit*. Todos los pasos de incubación se llevaron a cabo bajo agitación orbital media y en la oscuridad para proteger las perlas de la luz. La adquisición y análisis de datos se llevó a cabo con el manager software versión 4.1 (Bioplex; Bio-Rad) con cuatro o cinco parámetros logísticos para curvas estándar. Los umbrales de detección para los tres analitos se estimaron alrededor de 1 a 10 pg/ml.

Análisis estadísticos

Los resultados numéricos se expresaron como la media $\pm$ error estándar de la media (SEM). Los datos se compararon utilizando el Mann-Whitney U-test no paramétrico. $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

El (poli)péptido inhibidor de JNK todo-D-retroinverso de SEQ ID Nº: 11 redujo significativamente la uveítis inducida por endotoxinas (EIU). El (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 redujo significativamente las puntuaciones clínicas de EIU después de una inyección intravenosa (IV) de 20 µg/kg (2,0 $\pm$ 0,1) en comparación con ojos uveíticos no tratados (3,2 $\pm$ 0,1, $p < 0,001$) y vehículo IV (3,2 $\pm$ 0,1, $p < 0,001$) (Figura 1A). De modo similar, las puntuaciones clínicas disminuyeron significativamente después de administración intravítrea de 0,2 µg/inyección del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (2,2 $\pm$ 0,2) en comparación con ojos uveíticos no tratados (3,2 $\pm$ 0,1, $p < 0,001$) y vehículo IVT (3,0 $\pm$ 0,1, $p < 0,01$) (Figura 1B). El efecto de la inyección ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en los signos clínicos de la EIU no era estadísticamente diferente del observado después de ivt de dexametasona (1,8 $\pm$ 0,4), lo que sugería que el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 era tan eficiente como la dexametasona para la reducción de la EIU cuando se administra en este punto temporal (Figura 1B).

Eficacia del (poli)péptido de SEQ ID Nº: 11 resultante de la inhibición de la vía de JNK

Para determinar si el efecto clínico del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 estaba relacionado con su modo de acción, es decir, su capacidad para interferir con la señalización de JNK 6, se analizó el estado de fosforilación de c-Jun en tejidos oculares mediante Western-Blot. La fosforilación de c-Jun en residuos Ser63 (Figura 2A) y Ser73 se redujo en extractos de RPE/coroides 24 horas después de la inyección intravenosa o intravítrea del (poli)péptido inhibidor de JNK de la SEQ ID Nº: 11. En la neuorretina, el fosfo c-Jun solo se pudo detectar débilmente. En RPE/coroides se pudo observar una disminución aproximadamente a una tercera parte de la fosforilación de c-Jun después de administración iv (0,28 $\pm$ 0,01 frente a 0,77 $\pm$ 0,26 en iv de vehículo) o ivt (0,35 $\pm$ 0,08 frente a 0,79 $\pm$ 0,25 en ivt de vehículo) del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (Figura 2B). La capacidad del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 para

bloquear la actividad de quinasas c-jun NH2-terminales (JNK) en los tejidos oculares demostró la actividad intraocular específica del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11.

Para determinar si el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 podría tener algún efecto en las otras vías MAPK se evaluó el estado de fosforilación de Erk1/2 y p38. Mientras que se detectaron Erk1/2 y p38 en complejos de RPE/coroides en niveles similares en todos los grupos, la fosforilación de estos dos MAPK no se pudo detectar mediante análisis western-blot (datos no mostrados). Estos resultados demuestran que la JNK es la vía de MAPK predominantemente activada en RPE/coroides durante EIU. Utilizando análisis histoquímicos, realizados sin ninguna amplificación de señal, hemos descubierto una señal de p-Erk1/2 intensa en células inflamatorias que se infiltran en los segmentos anterior y posterior del ojo en los ojos tratados con LPS de control y solución salina (Figuras 3C, 3D). El efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 administrado vía intravenosa o intravítrea no pudo ser evaluado en esas células, ya que la infiltración prácticamente no existía en los ojos tratados. Sin embargo, en la neurorretina, en la que se pudo detectar p-Erk1/2 localizado en células gliales Müller retinales (RMG) en los ojos de control y tratados con solución salina (Figura 3E), no se observó ningún efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 administrado por cualquiera de las dos vías (Figura 3F). De forma interesante, en el iris se observó una señal de p-Erk1/2 intensa en el epitelio de los ojos sometidos a inyección de control y de solución salina (Figura 3A) sin ningún efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 tratado en la señal de p-Erk1/2 en estas células (Figura 3B), lo que sugiere rotundamente que el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 no parece actuar directamente sobre la fosforilación de p-Erk1/2 durante EIU en nuestro modelo, al menos en células residentes.

Distribución diferencial del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en tejidos oculares después de administraciones iv e ivt

Se llevó a cabo una inmunohistoquímica en secciones histológicas para evaluar la biodistribución del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en tejidos oculares 24 horas después de administración sistémica (iv) o local (ivt) tanto en ojos sanos como en condiciones uveíticas (Figura 4). No se observó ninguna infiltración de células inflamatorias en ojos sanos después de iv o ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 ni después del vehículo. En los ojos de control no tratados y en los ojos tratados con vehículo no se detectó ninguna inmunorreactividad contra el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11, lo que demostraba la especificidad de la señal observada en los ojos tratados con el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11. Mientras que no se observó ninguna señal en ojos normales después de inyección sistémica (iv) (Figura 4 A-C) con la dosis utilizada, el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 estaba distribuido prácticamente en todos los tejidos oculares de ratas normales después de administración ivt (Figura 4 D-L). De forma interesante, una acumulación del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se detectó principalmente en el iris/epitelio del cuerpo ciliar (paneles G y J) y en el epitelio pigmentario retinal (panel L). La penetración del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 también se detectó en el estroma del iris (panel G) y en la retina neural en la capa celular ganglionar (GCL, panel H), la capa nuclear interior (INL, panel K) y el segmento interior (IS, panel I) de células fotorreceptoras (PR). En todos los tipos de células, el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se acumulaba dentro del citoplasma. En el endotelio de la córnea y en la cápsula del cristalino se observó una tinción ocasional.

En condiciones uveíticas, la tinción con (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 no se detectó en tejidos oculares ni en células inflamatorias de infiltración de ojos no tratados (Figura 4, paneles V-W). La iv o ivt de vehículo dio resultados similares a los obtenidos con ojos no tratados. En ojos con EIU tratados mediante inyección de (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11, no se detectó en tejidos oculares, pero ocasionalmente había células inflamatorias de infiltración inmunopositivas en el iris (panel O) y en el humor acuosos (panel P) En ojos uveíticos tratados mediante inyección ivt, el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se hallaba en su mayor parte en tejidos oculares como en los ojos sanos y en células residentes que se movilizan y participan activamente en los procesos inflamatorios de condiciones patológicas tales como células microgliales (paneles S-T).

La administración de (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 produjo una reducción significativa de la infiltración de células en los tejidos oculares

Para caracterizar adicionalmente el efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en la uveítis, las células inflamatorias infiltradas se cuantificaron en tejidos oculares (Figura 5) mediante numeración en secciones histológicas inmunoteñidas con anticuerpos ED1 e iNOS (Figura 6). Veinticuatro horas después de la provocación con LPS, la cantidad de células positivas ED1 había disminuido significativamente en ojos tratados con inyección iv del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (137 $\pm$ 7) (Figura 5A, Figura 6M, P, S) en comparación con los ojos uveíticos (LPS) no tratados (187 $\pm$ 13, $p < 0{,}005$) (Figura 5A, Figura 6A, D, G, J) o los ojos sometidos a inyección de vehículo. Similarmente, la ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 redujo significativamente la infiltración de células positivas ED1 (93 $\pm$ 8) en comparación con

los ojos sometidos a inyección ivt de vehículo (175 ± 15, p < 0,009) y los ojos uveíticos no tratados (p < 0,005) (Figura 5A).El efecto reductor del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en la infiltración de células positivas ED1 (93 ± 8) no difería del inducido por dexametasona (79 ± 15), lo que sugiere que los dos tratamientos tienen una eficacia similar en relación con este parámetro.

La cantidad de células polimorfonucleares (PMN) (Figura 5B) también se redujo significativamente 24 horas después de la administración iv del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (60 ± 6) en comparación con los ojos de control (237 ± 15, p < 0,005), y después de la inyección ivt del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (40 ± 5) en comparación con la inyección ivt del vehículo (152 ± 31, p < 0,009) y ojos uveíticos de control (p < 0,005). De nuevo, el efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en la infiltración de tejido ocular PMN no difería significativamente del de la dexametasona (42 ± 11).

El (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 reduce la expresión de iNOS.

Dado que la iNOS (óxido nítrico sintasa inducible) se ha descrito como un mediador clave en la patogénesis de la uveítis, 14, 15 el efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en su expresión se investigó tanto a nivel de proteína como a nivel de ARNm.

Tal como muestra la Figura 6, la cantidad de células positivas iNOS se redujo en ojos tratados con inyección del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 iv (Figura 6N, Q, T) o ivt en comparación con los ojos de control (paneles B, E, H, K). Entre las células positivas iNOS observadas en ojos de control, una pequeña cantidad eran ED1 + células, mientras que la mayor parte de ellas eran ED1, lo que sugiere que en su mayor parte los PMN producen iNOS (recuadros c. f. i). En ojos de las ratas tratadas con inhibidor de JNK, las únicas células que seguían expresando iNOS eran células positivas ED1 intratisulares localizadas en la raíz del cuerpo ciliar (recuadro r2).

El efecto del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en la expresión de iNOS se confirmó mediante RT-PCR en tejidos oculares (Figura 7). Los niveles de ARNm de iNOS disminuyeron de 1,02 ± 0,21 a 0,40 ± 0,11 después de iv del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 y de 1,18 ± 0,05 a 0,27 ± 0,09 en ojos tratados mediante inyección itv. También se realizaron comparaciones con iv o ivt de vehículo, respectivamente.

Perfiles de quimioquina/citoquina en medios oculares de ojos tratados con el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11

Para evaluar el efecto del tratamiento en la producción de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios se dosificaron quimioquinas y citoquinas mediante análisis multiplex en medios oculares (Figuras 8 y 9) y sueros.

Entre las 17 quimioquinas/citoquinas analizadas, algunas estaban por debajo de niveles detectables tanto en ojos de control como en ojos tratados: IP-10, IL-5, IL-17. Otras no diferían en los ojos tratados frente a los ojos no tratados en ninguno de los puntos temporales analizados: IL-18, IL-4, IL-1ß. En el suero, aunque algunas citoquinas tendían a cambiar después de la administración IV del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 (reducción de MIP-1α e IL-2) o después de ivt (reducción de IL-2), esto no era estadísticamente significativo. Para las otras quimioquinas/citoquinas, su perfil era diferente en fluidos oculares de ojos tratados con administración iv del (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en comparación con la administración ivt. De hecho, cuando el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 se inyectó sistémicamente en el momento de la provocación con LPS, indujo una reducción significativa de MCP-1, MIP-1α y RANTES a las 6 y las 24 horas (Figura 8A). El GRO/KC también se había reducido significativamente a las 6 horas. Las citoquinas Th1 tales como TNF-α, IL-6 e INF-γ se reducían significativamente en diferentes puntos temporales, mientras que la IL-10 tendía a aumentar a las 6 horas en ojos tratados (pero no significativamente), lo que sugería un cambio hacia un perfil Th2 (Figura 8B). No se observó ninguna diferencia estadística entre ojos de ratas sometidas a inyección iv de vehículo y ojos de control uveíticos no tratados.

Cuando se inyectó el (poli)péptido inhibidor de JNK de SEQ ID Nº: 11 en el cuerpo vítreo en el momento de la provocación con LPS, los perfiles de quimioquina/citoquina no son muy diferentes de los de ojos sometidos a inyección de vehículo (Figura 9). Sin embargo, es interesante señalar que la ivt del vehículo tenía un efecto marcado en el perfil de citoquina en comparación con los ojos de control uveíticos no tratados. A las 6 horas se detectó una tendencia a una disminución de MCP-1, TNF-α, IL-6, IL-2, y a las 24 horas se detectó una disminución notable de IL2 y un aumento de IL-13, lo que sugería de nuevo un cambio hacia un perfil Th2.

Ejemplo 2:

Administración subconjuntival de la SEQ ID Nº: 11

En un modelo de Uveítis Inducida por Endotoxina (EIU) en ratas se evaluaron los efectos de la SEQ ID Nº: 11 en la respuesta inflamatoria después de administraciones subconjuntivales (1,8 y 22 µg). Los efectos se evaluaron en primer lugar después de un examen ocular puntuado clínicamente. Las células inflamatorias (PMN) infiltradas en tejidos oculares se cuantificaron, se investigó la expresión de iNOS y se evaluaron los niveles de ARNm y el estado de fosforilación de c-Jun mediante Western Blot (véase más arriba la metodología).

Vía y método de administración

Las ratas se anestesiaron con inyección intramuscular de ketamina (Ketamine Virbac® 88 mg/kg, Virbac, Francia) y clorpromazina (Largactil® 0,6 mg/kg, Sanofi-Aventis, Francia) antes de las inyecciones. Las administraciones se realizaron inmediatamente antes de la inducción de EIU en todos los grupos. Para las inyecciones subconjuntivales se administraron 5 µl de la SEQ ID Nº: 11 y dexametasona en el ojo derecho y solución salina en ambos ojos utilizando una aguja desechable 30G conectada a una jeringuilla microfina BD (NM Medical, Francia).

Toma de muestras

En unos ojos enucleados de 1-3 animales por grupos seleccionados se diseccionaron cuidadosamente neurorretinas y complejos RPE/coroides, que se sometieron a congelación instantánea y se guardaron a -80ºC hasta su utilización para análisis RT-PCR y Western-Blot. Para la histología se tomaron globos oculares de 2-3 animales de grupos seleccionados y se fijaron durante 1 hora a temperatura ambiente en solución salida tamponada con fosfato (PBS) que contenía un 4% de paraformaldehído antes de aclararlos a lo largo de la noche en PBS. El día siguiente, las muestras se incorporaron y congelaron en compuesto de temperatura óptima de corte (OCT) (Tissue-Tek®, Sakura Finetek, Zoeterwoude, Holanda) y se guardaron a -80ºC. Después se realizaron secciones anteroposteriores congeladas de ojos (10 µm de espesor) a nivel del nervio óptico utilizando un criostato (Leica CM 3050S, Rueil-Malmaison, Francia) y se montaron sobre portaobjetos super-frost para análisis histológico.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Xigen S.A.

<120> Uso de inhibidores de péptidos con permeabilidad celular de la vía de transducción de señales de JNK para el tratamiento de enfermedades oftálmicas inflamatorias crónicas o no crónicas.

<130> CX01P033WO2

<150> PCT/EP2010/006284
<151> 14-10-2010

<150> PCT/EP2011/000307
<151> 25-01-2011

<160> 105

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-IB1(s) (véase la Tabla 1)

<400> 1

```
Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1               5                   10                  15

Ser Gln Asp
```

<210> 2

<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-IB1(s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(19)
<223> Todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 2
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg

<210> 3
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-1B (genérico) (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Descripción de secuencia: Descripción de secuencia: fórmula general: NH2-Xnb-RPTTLXLXXXXXXXQD-Xna- Xnb-COOH (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier resido de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que N es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser un aminoácido natural

<220>
<221> VARIANTE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier resido de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (10)..(16)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier resido de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (18)..(18)

<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier resido de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (18)..(18)
<223> Xaa Es Xna tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0 o 1

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (19)..(19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier resido de aminoácido (nativo);

<400> 3
Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Gln Asp Xaa

<210> 4
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-IB (genérico) (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Descripción de secuencia: fórmula general:
NH2-Xnb-Xna-DQXXXXXXXLXLTTPR-Xnb-COOH,

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(19)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (2)..(2)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0 o 1

<220>
<221> VARIANTE

<222> (2)..(2)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (4)..(10)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (19)..(19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<400> 4
Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15

Arg Xaa Xaa

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-TAT (véase la Tabla 1)

<400> 5
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-TAT (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 6
Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
1 5 10

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-genérico-TAT (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Fórmula general: NH2-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-COOH (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (11) .. (11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 7
Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-genérico-TAT (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Fórmula general: NH2-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (11) .. (11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (11) .. (11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 8
Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
1 5 10

<210> 9
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-TAT-IB1 (s) (véase la Tabla 1)

<400> 9
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg
1 5 10 15

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20 25 30

<210> 10
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-TAT (genérico) (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Descripción de secuencia: Fórmula general: NH2-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-RPTTLXLXXXXXXXQD-Xna-Xnb- COOH

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);
<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1)..(1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE

<222> (11) .. (11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (11) .. (11)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> VARIANTE
<222> (18)..(18)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)..(26)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (28)..(28)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0 o 1

<220>
<221> VARIANTE
<222> (29) .. (29)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (29) .. (29)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 10
Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa
20 25

<210> 11
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: Péptido D-TAT-IB1 (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (31)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 11
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
20 25 30

<210> 12
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido: D-TAT (genérico) (s) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> misc_feature
<223> Fórmula general:
NH2-Xnb-Xna-DQXXXXXXXLXLTTPR-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH,

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(19)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (2)..(2)
<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0 o 1

<220>
<221> VARIANTE
<222> (4)..(10)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE

<222> (12)..(12)
<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> VARIANTE
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>
<221> VARIANTE
<222> (29) .. (29)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente seleccionado entre cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (29) .. (29)
<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 12
Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15

Arg Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
20 25

<210> 13
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido IB1-largo (véase la Tabla 1)

<400> 13
Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
20 25

<210> 14
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido IB2-largo (véase la Tabla 1)

<400> 14
Ile Pro Ser Pro Ser Val Glu Glu Pro His Lys His Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

Leu Arg Leu Thr Thr Leu Gly Ala Gln Asp Ser
20 25

<210> 15
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido derivado de c-Jun (véase la Tabla 1)

<400> 15
Gly Ala Tyr Gly Tyr Ser Asn Pro Lys Ile Leu Lys Gln Ser Met Thr
1 5 10 15

Leu Asn Leu Ala Asp Pro Val Gly Asn Leu Lys Pro His
20 25

<210> 16
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido derivado de ATF2 (véase la Tabla 1)

<400> 16
Thr Asn Glu Asp His Leu Ala Val His Lys His Lys His Glu Met Thr
1 5 10 15

Leu Lys Phe Gly Pro Ala Arg Asn Asp Ser Val Ile Val
20 25

<210> 17
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-I81 (véase la Tabla 1)

<400> 17
Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10 15

Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
20

<210> 18
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-IB1 (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(23)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 18

Thr Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15

Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp
20

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (7) .. (7)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (9)..(15)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (18) .. (18)
<223> Xaa se selecciona entre serina o treonina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<400> 19
Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln
1 5 10 15

Asp Xaa Xaa

<210> 20
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (19)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa se selecciona entre serina o treonina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (5) .. (11)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido
<400> 20
Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
1 5 10 15

Pro Arg Xaa

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-genérico-TAT (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(17)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<400> 21
Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-genérico-TAT (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (17)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(17)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<400> 22

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 23
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-TAT-IB1 (véase la Tabla 1)

<400> 23
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Asp Thr Tyr Arg
1 5 10 15

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
20 25 30

Gln Asp Thr
35

<210> 24
<211> 42
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido L-TAT IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)..(40)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (41)..(41)
<223> Xaa se selecciona entre serina o treonina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (42)..(42)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<400> 24
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa Xaa
35 40

<210> 25
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: Péptido D-TAT-IB1 (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(35)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 25
Thr Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15

Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys
20 25 30

Lys Arg Gly
35

<210> 26
<211> 42
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: Péptido D-TAT IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (42)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa se selecciona entre serina o treonina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (3) .. (42)
<223> Xaa se selecciona entre cualquier residuo de aminoácido

<400> 26
Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
1 5 10 15

Pro Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg
20 25 30

Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40

<210> 27
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

<400> 27

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg Pro
1 5 10 15

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20 25 30

<210> 28
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (11) .. (11)
<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (11)..(11)
<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 28
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro
1 5 10 15

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20 25 30

<210> 29
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> VARIANTE
<222> (10) .. (10)
<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (10)..(10)
<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 29
Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro Thr
1 5 10 15

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20 25

<210> 30
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (30)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 30
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
20 25 30

<210> 31
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(30)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (20) .. (20)
<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 31
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
20 25 30

<210> 32
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(29)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)..(20)
<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>
<221> REPETICIÓN

<222> (20) .. (20)
<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, en la que n es 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 32
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
20 25

<210> 33
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s1) (véase la Tabla 1)
<400> 33
Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 34
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<400> 34
Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

<400> 35
Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s4) (véase la Tabla 1)

<400> 36
Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 37
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s5) (véase la Tabla 1)

<400> 37
Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s6) (véase la Tabla 1)

<400> 38
Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 39
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s7) (véase la Tabla 1)

<400> 39
Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s8) (véase la Tabla 1)

<400> 40
Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s9) (véase la Tabla 1)

<400> 41
Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s10) (véase la Tabla 1)

<400> 42

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 43
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s11) (véase la Tabla 1)

<400> 43
Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 44
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s12) (véase la Tabla 1)

<400> 44
Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 45
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s13) (véase la Tabla 1)

<400> 45
Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s14) (véase la Tabla 1)

<400> 46
Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10
<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s15) (véase la Tabla 1)

<400> 47
Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s16) (véase la Tabla 1)

<400> 48
Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s17) (véase la Tabla 1)

<400> 49
Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s18) (véase la Tabla 1)

<400> 50
Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s19) (véase la Tabla 1)

<400> 51
Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s20) (véase la Tabla 1)

<400> 52
Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 53
<211> 11

<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s21) (véase la Tabla 1)

<400> 53
Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s22) (véase la Tabla 1)

<400> 54
Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s23) (véase la Tabla 1)

<400> 55
Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s24) (véase la Tabla 1)
<400> 56
Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s25) (véase la Tabla 1)

<400> 57
Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s26) (véase la Tabla 1)

<400> 58
Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s27) (véase la Tabla 1)

<400> 59
Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s28) (véase la Tabla 1)

<400> 60
Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s29) (véase la Tabla 1)

<400> 61
Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s30) (véase la Tabla 1)

<400> 62
Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s31) (véase la Tabla 1)

<400> 63

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s32) (véase la Tabla 1)

<400> 64
Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s33) (véase la Tabla 1)
<400> 65
Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: L-IB1(s34) (véase la Tabla 1)

<400> 66
Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 67
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 67
Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 68
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 68
Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 69
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 69
Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 70
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s4) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 70
Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

<210> 71
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s5) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 71
Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

<210> 72
<211> 13

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s6) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 72
Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

<210> 73
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s7) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (13)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 73
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

<210> 74
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s8) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 74
Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 75
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s9) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 75

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 76
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s10) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 76
Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 77
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s11) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 77
Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s12) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 78
Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

<210> 79
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s13) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO

<222> (1) .. (12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 79
Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

<210> 80
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s14) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 80
Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s15) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(12)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 81
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s16) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 82
Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s17) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 83
Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 84
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s18) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 84
Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s19) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 85
Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s20) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 86
Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

<210> 87
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s21) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 87
Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s22) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 88
Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s23) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 89
Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s24) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(11)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 90
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s25) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 91
Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu
1 5 10

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s26) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 92
Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s27) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 93
Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s28) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 94
Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s29) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 95
Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s30) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 96
Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

<210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s31) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 97
Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

<210> 98
<211> 10

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s32) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1) .. (10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 98
Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s33) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 99
Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia: D-IB1(s34) (véase la Tabla 1)

<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(10)
<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 100
Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 101
<211> 20
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador específico para GAPDH (avance)

<400> 101
atgcccccat gtttgtgatg 20

<210> 102
<211> 2953
<212> ADN

<213> Rattus norvegicus

<400> 102

```
ccgccccagc tcagtccgaa ccccgcggcg gcggcggcct cctccacacg cctccacctc      60
cgccgccgcc gccgccgccg ccgcctcccg cgccgctctc cgcccggatg gccaggctga     120
gcccgggaat ggcggagcga gagagcggcc tgagcggggg tgccgcgtcc ccaccggccg     180
cttccccatt cctgggactg cacatcgcgt cgcctcccaa tttcaggctc acccatgata     240
tcagcctgga ggagtttgag gatgaagacc tttcggagat cactgatgag tgtggcatca     300
gcctgcagtg caaagacacc ttgtctctcc ggcccccgcg cgccgggcta ctgtctgcgg     360
gtagcagcgg tagcgcgggg agccggctgc aggcggagat gctgcagatg gacctgatcg     420
acgcggcaag tgacactccg ggcgccgagg acgacgaaga ggacgacgac gagctcgctg     480
cccaacggcc aggagtgggg ccttccaaag ccgagtctgg ccaggagccg gcgtctcgca     540
gccagggtca gggccagggc cccggcacag gctgcggaga cacctaccgg cccaagaggc     600
ctaccacgct caaccttttc ccgcaggtgc cgcggtctca ggacacgctg aataataact     660
ctttaggcaa aaagcacagt tggcaggacc gtgtgtctcg atcatcctcc cctctgaaga     720
caggggagca gacgcctcca catgaacata tctgcctgag tgatgagctg ccgccccagg     780
```

gcagtcctgt tcccacccag gatcgtggca cttccaccga cagcccttgt cgccgtactg 840
cagccaccca gatggcacct ccaagtggtc cccctgccac tgcacctggt ggccggggcc 900
actcccatcg agatcggtcc atatcagcag atgtgcggct cgaggcgact gaggagatct 960
acctgacccc agtgcagagg cccccagacc ctgcagaacc cacctccacc ttcttgccac 1020
ccactgagag ccggatgtct gtcagctcgg atcctgaccc tgccgcttac tctgtaactg 1080
cagggcgacc gcacccttcc atcagtgaag aggatgaggg cttcgactgt ctgtcatccc 1140
cagagcaagc tgagccacca ggtggagggt ggcggggaag cctcggggag ccaccaccgc 1200
ctccacgggc ctcactgagc tcggacacca gcgcactgtc ctacgactct gtcaagtaca 1260
cactggtggt ggatgagcat gcccagcttg agttggtgag cctgcggcca tgttttggag 1320
attacagtga cgaaagcgac tctgccactg tctatgacaa ctgtgcctct gcctcctcgc 1380
cctacgagtc agccattggt gaggaatatg aggaggcccc tcaaccccgg cctcccacct 1440
gcctgtcaga ggactccaca ccggatgagc ctgacgtcca cttctctaag aagtttctga 1500
atgtcttcat gagtggccgc tctcgttcct ccagtgccga gtcctttggg ctgttctcct 1560
gtgtcatcaa tggggaggag catgagcaaa cccatcgggc tatattcagg tttgtgcctc 1620
ggcatgaaga tgaacttgag ctggaagtgg acgaccctct gctggtggag ctgcaggcag 1680
aagactattg gtatgaggcc tataacatgc gcactggagc ccgtggtgtc tttcctgcct 1740
actatgccat tgaggtcacc aaggagcctg agcacatggc agcccttgcc aaaaacagcg 1800
actggattga ccagttccgg gtgaagttcc tgggctctgt ccaggttcct tatcacaagg 1860
gcaatgatgt cctctgtgct gctatgcaaa agatcgccac cacccgccgg ctcaccgtgc 1920
actttaaccc gccctccagc tgtgtccttg aaatcagcgt taggggtgtc aagataggtg 1980
tcaaagctga tgaagctcag gaggccaagg gaaataaatg tagccacttt ttccagctaa 2040
aaaacatctc tttctgtggg taccatccaa agaacaacaa gtactttggg tttatcacta 2100
agcaccctgc tgaccaccgg tttgcctgcc atgtctttgt gtctgaagat tccaccaaag 2160
ccctggcaga gtctgtgggg cgtgcatttc agcagttcta caagcaattt gtggaatata 2220
cctgtcctac agaagatatc tacttggagt agcagcaacc cccctctctg cagcccctca 2280
gccccaggcc agtactagga cagctgactg ctgacaggat gttgtactgc cacgagagaa 2340
tgggggagtg agggctgttg gggtcggggg gcaggggttt ggggagaggc agatgcagtt 2400
tattgtaata tatggggtta gattaatcta tggaggacag tacaggctct ctcggggctg 2460
gggaagggca gggctggggt gggggtcagg catctggcca caaaggggtc ccctagggac 2520
agaggcgctg caccatcctg ggcttgtttc atactagagg ccctggcttt ctggctcttg 2580
ggtcctgcct tgacaaagcc cagccacctg gaagtgtcac cttcccttgt ccacctcacc 2640
cagtgccctg agctcatgct gagcccaagc acctccgaag gactttccag taaggaaatg 2700
gcaacatgtg acagtgagac cctgttctca tctgtggggc tccggcagct ccgaccccca 2760
gcctggccag cacgctgacc ctggcaagct tgtgtgttca aagaaggaga gggccacagc 2820
aagccctgcc tgccagggaa ggttccctct cagctggccc cagccaactg gtcactgtct 2880
tgtcacctgg ctactactat taaagtgcca tttcttgtct gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940
aaaaaaactc gag 2953

<210> 103
<211> 714
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 103

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
1 5 10 15

Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
20 25 30

Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
35 40 45

Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
50 55 60

Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
65 70 75 80

Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
85 90 95

Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
100 105 110

Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
115 120 125

Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
130 135 140

Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
145 150 155 160

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
165 170 175

Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
180 185 190

Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
195 200 205

Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
210 215 220

Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
225 230 235 240

Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
245 250 255

Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
260 265 270

Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
275 280 285

Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
290 295 300

Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
305 310 315 320

Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
325 330 335

Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
340 345 350

Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
355 360 365

Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
370 375 380

Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
385 390 395 400

Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
405 410 415

Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
420 425 430

Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
435 440 445

Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
450 455 460

Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe
465 470 475 480

Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
485 490 495

Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu

500 505 510

Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
515 520 525

Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
530 535 540

Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
545 550 555 560

Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
565 570 575

Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
580 585 590

Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
595 600 605

Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
610 615 620

Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
625 630 635 640

Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
645 650 655

Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
660 665 670

Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
675 680 685

Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
690 695 700

Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
705 710

<210> 104
<211> 711
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 104
Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
1 5 10 15

Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
20 25 30

Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
35 40 45

Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
50 55 60

Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
85 90 95

Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
100 105 110

Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
115 120 125

Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
130 135 140

Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
145 150 155 160

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
165 170 175

Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
180 185 190

Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
195 200 205

Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
210 215 220

Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
225 230 235 240

Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
245 250 255

Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
260 265 270

Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
275 280 285

Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
290 295 300

Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
305 310 315 320

Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
325 330 335

Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
340 345 350

Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
355 360 365

Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
370 375 380

Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
385 390 395 400

Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
405 410 415

Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
420 425 430

Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
435 440 445

Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
450 455 460

Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
485 490 495

Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
500 505 510

Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
515 520 525

Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
530 535 540

Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
545 550 555 560

Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
565 570 575

Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys

580 585 590

Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
595 600 605

Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
610 615 620

Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
625 630 635 640

Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
645 650 655

Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
660 665 670

Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
675 680 685

Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
690 695 700

Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
705 710

<210> 105
<211> 2136
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 105
atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga ggggggccg cgtccccgcc cgccgcctcc 60
ccgttcctgg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc 120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gagatcactg atgagtgtgg catcagctta 180
cagtgcaaag acaccctgtc cttacggccc ccgcgcgccg ggctgctctc tgcgggcggc 240
ggcggcgcgg ggagccggtt gcaggccgag atgctgcaga tggacctgat cgacgcgacg 300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggcccgg 360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgtc ccgcggccag 420
ggccagagcc aaggccagag ccagggcccg ggcagcgggg acacgtaccg gcccaagcgg 480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcaggtg ccgcggtctc aggacacact gaataataat 540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatcctc acccctgaag 600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gcccccccag 660
agcggccccg cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccgccgcagc 720
acagccaccc agatggcacc tccgggtggt ccccctgctg ccccgcctgg gggtcggggc 780
cactcgcatc gagaccgaat ccactaccag gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag 840

atctacctga ccccagtgca gaggccccca gacgctgcag agcccacctc cgccttcctg 900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgccgc ctacccctcc 960
acggcagggc ggccgcaccc ctccatcagt gaagaggaag agggcttcga ctgcctgtcg 1020
tccccagagc gggctgagcc cccaggcgga gggtggcggg ggagcctggg ggagccgccg 1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgccc tgtcctatga ctctgtcaag 1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc 1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc 1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg ccccgcggcc ccagcccccct 1320
gcctgcctct ccgaggactc cacgcctgat gaacccgacg tccatttctc caagaaattc 1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgctcccgc tcctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc 1440
tcctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagacccacc gggccatatt caggtttgtg 1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag 1560
gctgaagact actggtacga ggcctacaac atgcgcactg gtgcccgggg tgtctttcct 1620
gcctattacg ccatcgaggt caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggccaaaaac 1680
agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttcctgggct cagtccaggt tccctatcac 1740
aagggcaatg acgtcctctg tgctgctatg caaaagattg ccaccacccg ccggctcacc 1800
gtgcacttta acccgccctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata 1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aaggggaata aatgtagcca ctttttccag 1920
ttaaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaaagaaca acaagtactt tgggttcatc 1980
accaagcacc ccgccgacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc 2040
aaagccctgg cagagtccgt ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag 2100
tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag 2136

REIVINDICACIONES

1. (Poli)péptido quimérico que comprende un (poli)péptido inhibidor de JNK para su uso en el tratamiento de la uveítis, comprendiendo o consistiendo el (poli)péptido quimérico en toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11, o en un fragmento o una variante de la misma que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90% con toda la secuencia de D-aminoácidos de SEQ ID Nº: 11.

2. (Poli)péptido quimérico para su uso según la reivindicación 1, caracterizado porque el (poli)péptido quimérico consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID Nº: 11.

3. (Poli)péptido quimérico para su uso según la reivindicación 1 o 2 en el tratamiento de la uveítis anterior, intermedia o posterior.

4. (Poli)péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el (poli)péptido inhibidor de JNK se une a quinasa c-jun amino terminal (JNK).

5. (Poli)péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el (poli)péptido inhibidor de JNK inhibe la activación de al menos un factor de transcripción dirigido a JNK cuando el (poli)péptido inhibidor de JNK está presente en una célula que expresa JNK, seleccionándose el factor de transcripción dirigido a JNK preferentemente entre el grupo consistente en c-Jun, ATF2 y Elk1, y/o altera un efecto de JNK cuando el péptido está presente en una célula que expresa JNK.

6. Composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la uveítis que incluye un (poli)péptido quimérico que comprende o consiste en toda la secuencia de D-aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID Nº: 11, o en un fragmento o una variante que comparte una identidad de secuencia de al menos un 90% con toda la secuencia de D-aminoácidos de la SEQ ID Nº: 11.

7. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, que adicionalmente contiene un vehículo, excipiente, tampón o estabilizador farmacéuticamente aceptable.

8. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7, caracterizada porque el vehículo es un vehículo líquido, preferentemente una solución salina isotónica o una solución acuosa tamponada.

9. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, estando prevista la composición farmacéutica en el tratamiento de la uveítis anterior, intermedia o posterior.

10. Composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, estando prevista la composición farmacéutica para ser administrada por una vía de administración seleccionada entre el grupo consistente en vías parenterales, incluyendo las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, transdérmica; vías enterales, incluyendo las vías oral, rectal; vías tópicas, incluyendo las vías nasal, intranasal; otras vías, incluyendo vías epidérmicas o administración con parches; y administración local en el ojo, en particular administración intravítrea, administración subconjuntival y/o instilación.

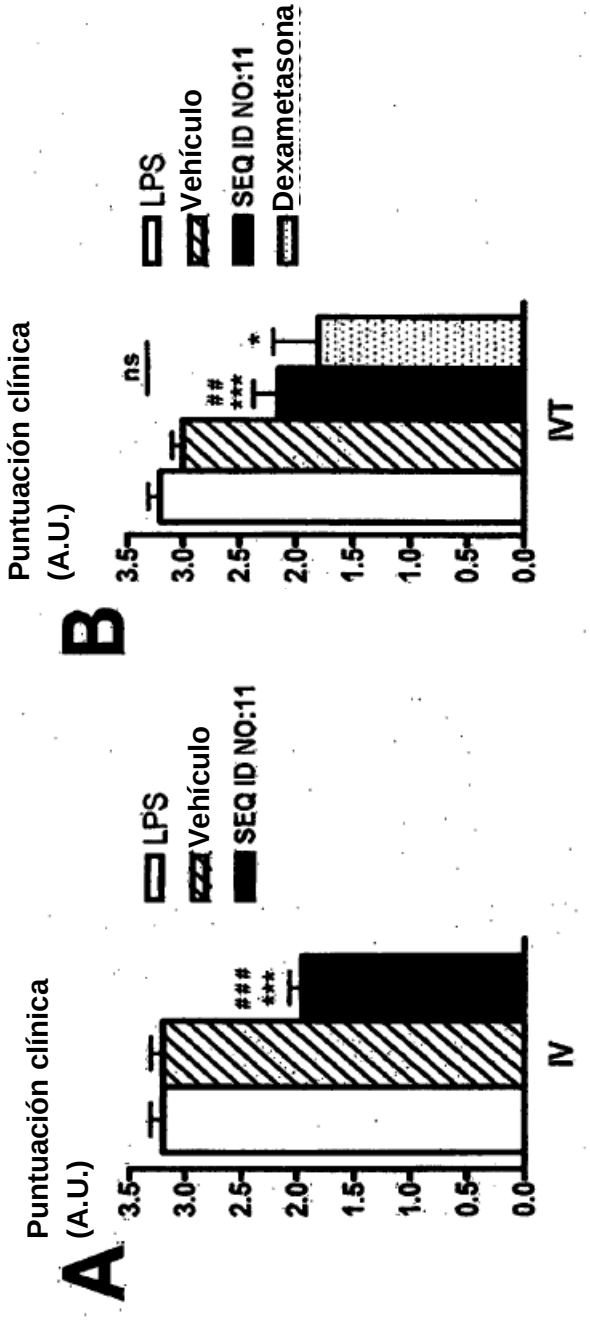
A
Puntuación clínica
(A.U.)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
###
***
IV
LPS
Vehículo
SEQ ID NO:11
B
Puntuación clínica
(A.U.)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ns
##
***
*
IVT
LPS
Vehículo
SEQ ID NO:11
Dexametasona

Fig. 1

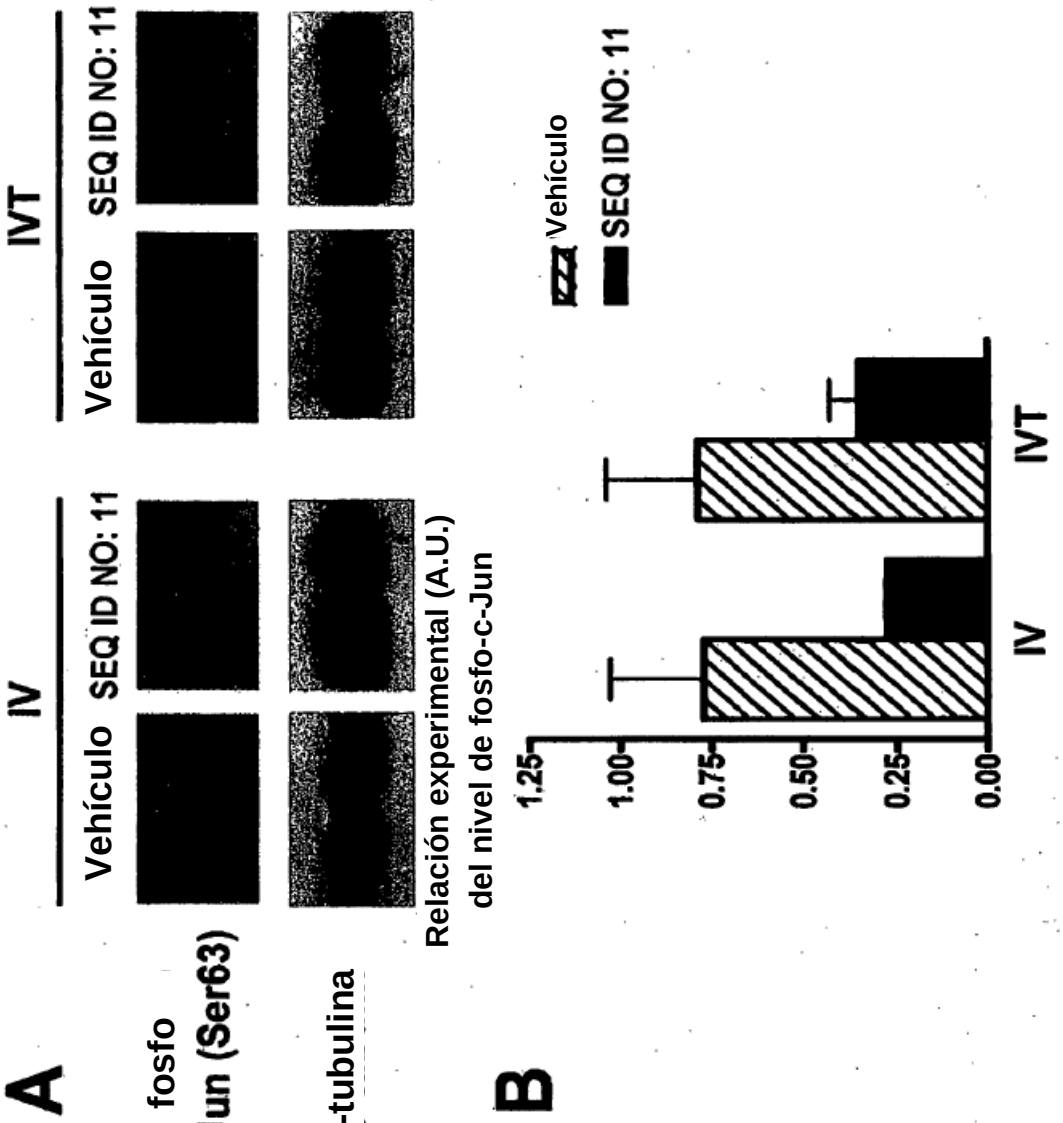
A
IV
IVT
Vehículo
SEQ ID NO: 11
Vehículo
SEQ ID NO: 11
fosfo
c-Jun (Ser63)
β-tubulina
B
Relación experimental (A.U.)
del nivel de fosfo-c-Jun
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
IV
IVT
Vehículo
SEQ ID NO: 11

Fig. 2

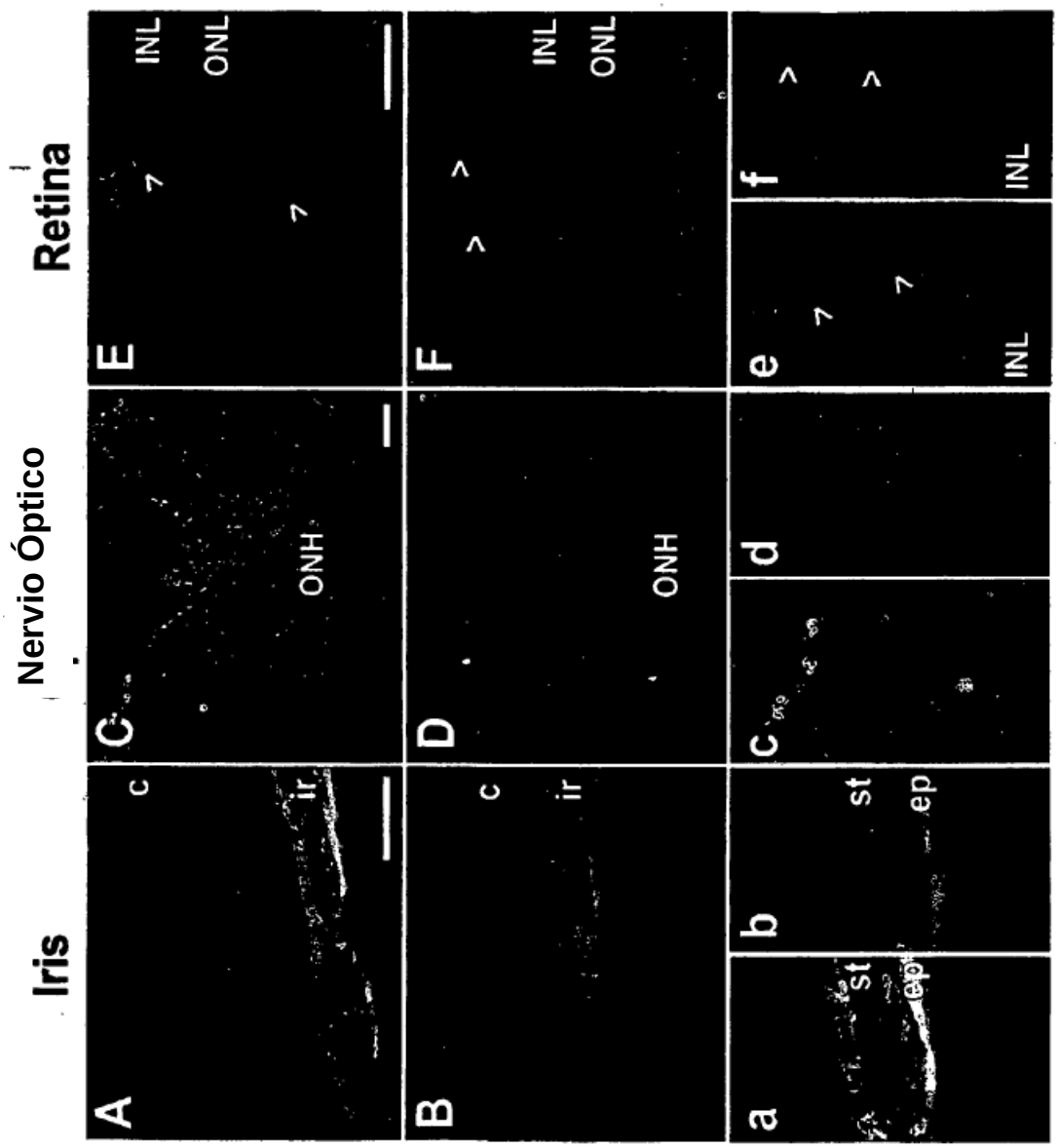
Iris
Nervio Óptico
Retina
A
B
C
D
E
F
a
b
c
d
e
f
c
ir
ONH
INL
ONL
st
ep

Fig. 3

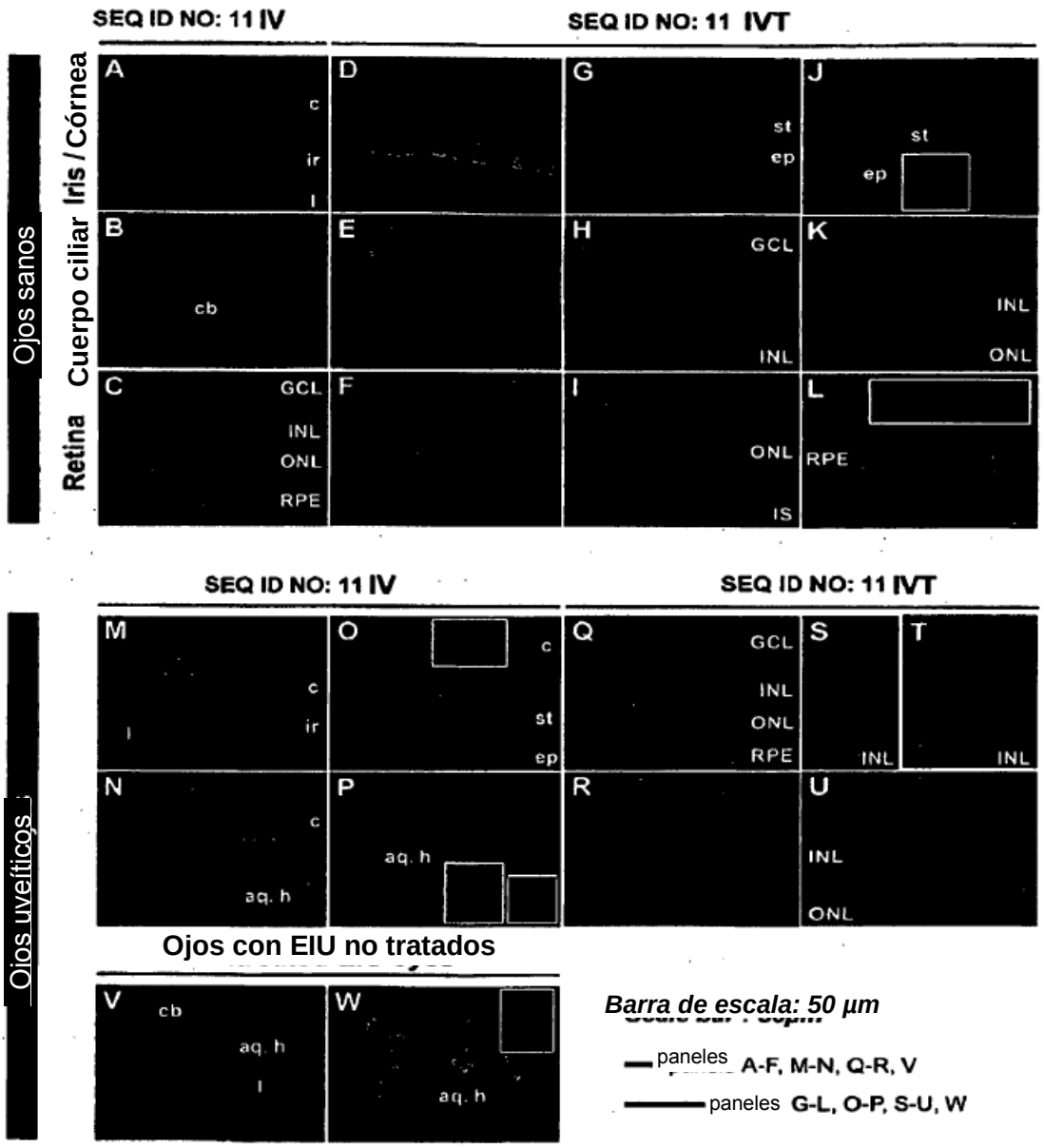
SEQ ID NO: 11 IV
SEQ ID NO: 11 IVT
Ojos sanos
Iris / Córnea
Cuerpo ciliar
Retina
A
c
ir
l
D
G
st
ep
J
st
ep
B
cb
E
H
GCL
INL
K
INL
ONL
C
GCL
INL
ONL
RPE
F
I
ONL
IS
L
RPE
SEQ ID NO: 11 IV
SEQ ID NO: 11 IVT
Ojos uveíticos
M
c
ir
l
O
c
st
ep
Q
GCL
INL
ONL
RPE
S
INL
T
INL
N
c
aq. h
P
aq. h
R
U
INL
ONL
Ojos con EIU no tratados
V
cb
aq. h
l
W
aq. h
Barra de escala: 50 µm
paneles A-F, M-N, Q-R, V
paneles G-L, O-P, S-U, W

Fig. 4

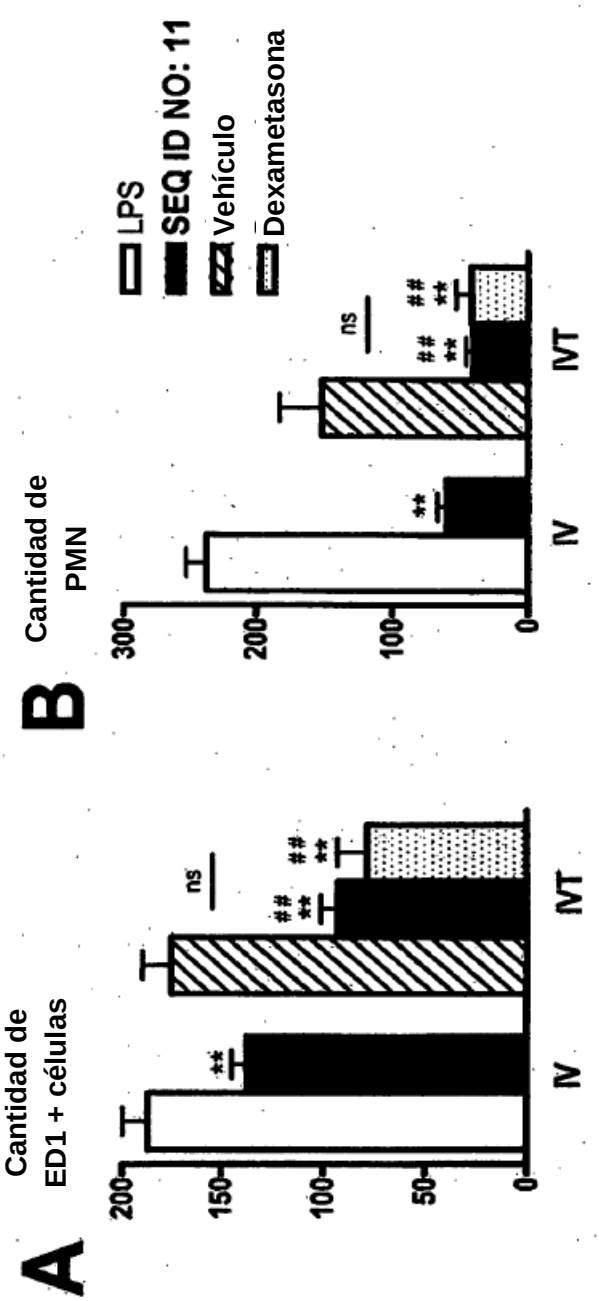
A
Cantidad de
ED1 + células
200
150
100
50
0
**
ns
##
**
**
IV
IVT
B
Cantidad de
PMN
300
200
100
0
**
ns
##
**
**
IV
IVT
LPS
SEQ ID NO: 11
Vehículo
Dexametasona

Fig. 5

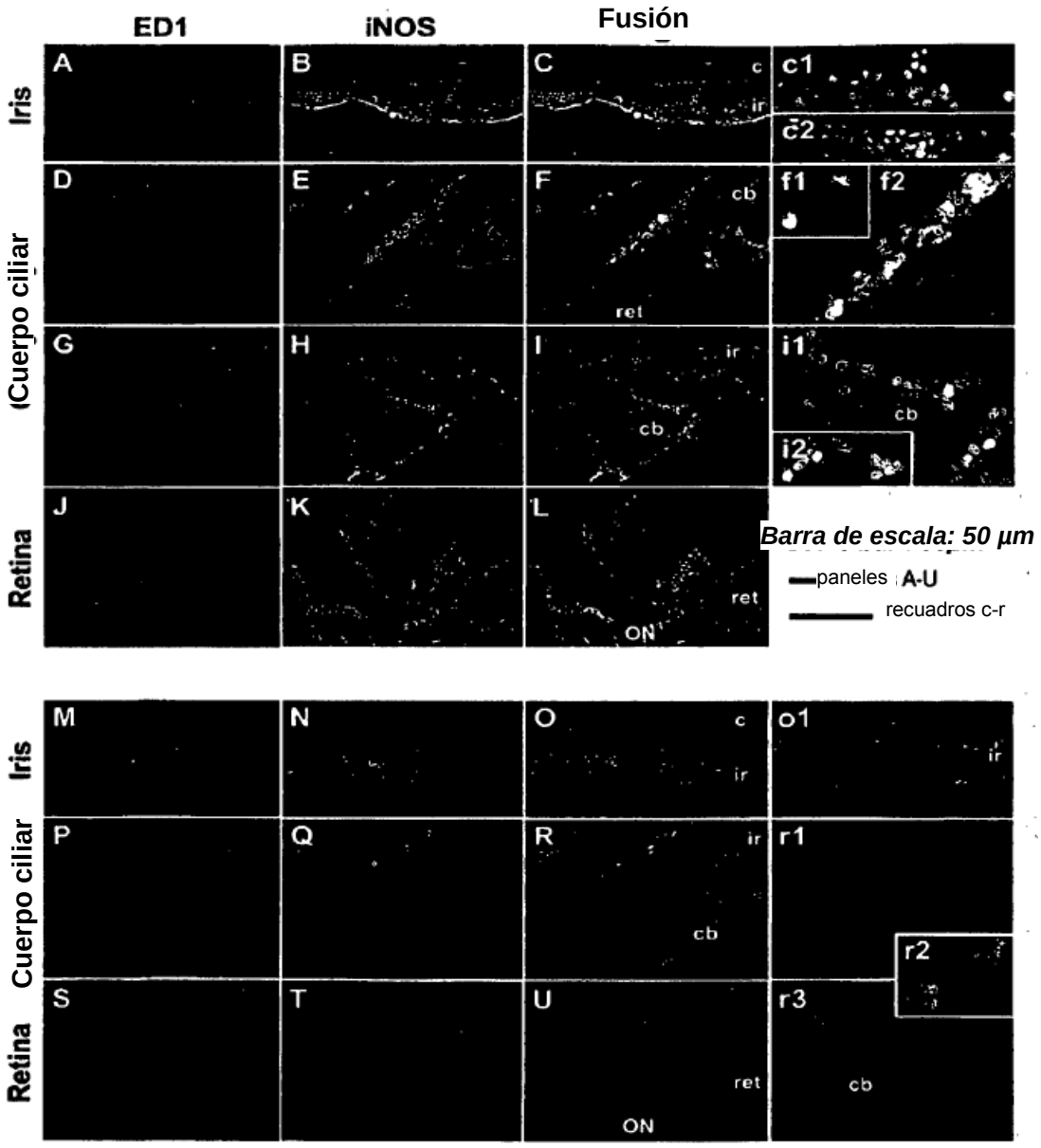
ED1
iNOS
Fusión
Iris
Cuerpo ciliar
Retina
A
B
C
c
ir
c1
c2
D
E
F
cb
ret
f1
f2
G
H
I
ir
cb
i1
cb
i2
J
K
L
ret
ON
Barra de escala: 50 µm
paneles A-U
recuadros c-r
Iris
Cuerpo ciliar
Retina
M
N
O
c
ir
o1
ir
P
Q
R
ir
cb
r1
r2
S
T
U
ret
ON
r3
cb

Fig. 6

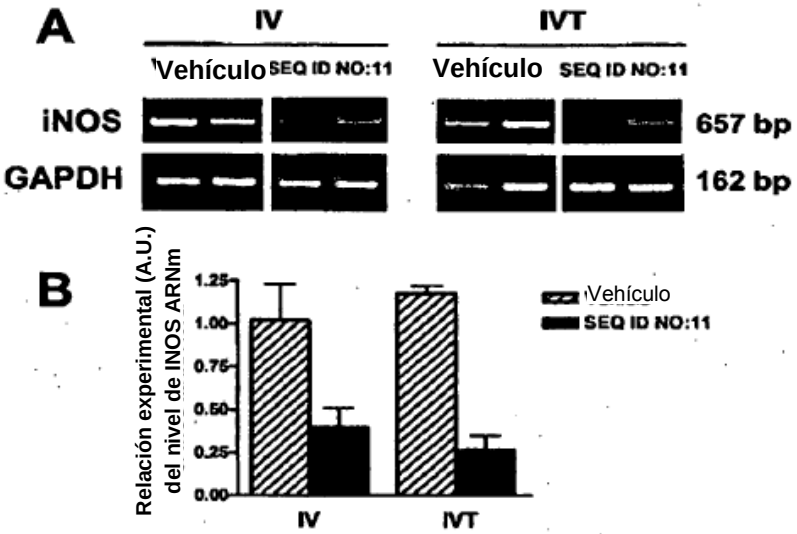
A
IV
IVT
Vehículo
SEQ ID NO:11
Vehículo
SEQ ID NO:11
iNOS
GAPDH
657 bp
162 bp
B
Relación experimental (A.U.) del nivel de INOS ARNm
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
Vehículo
SEQ ID NO:11
IV
IVT

Fig. 7

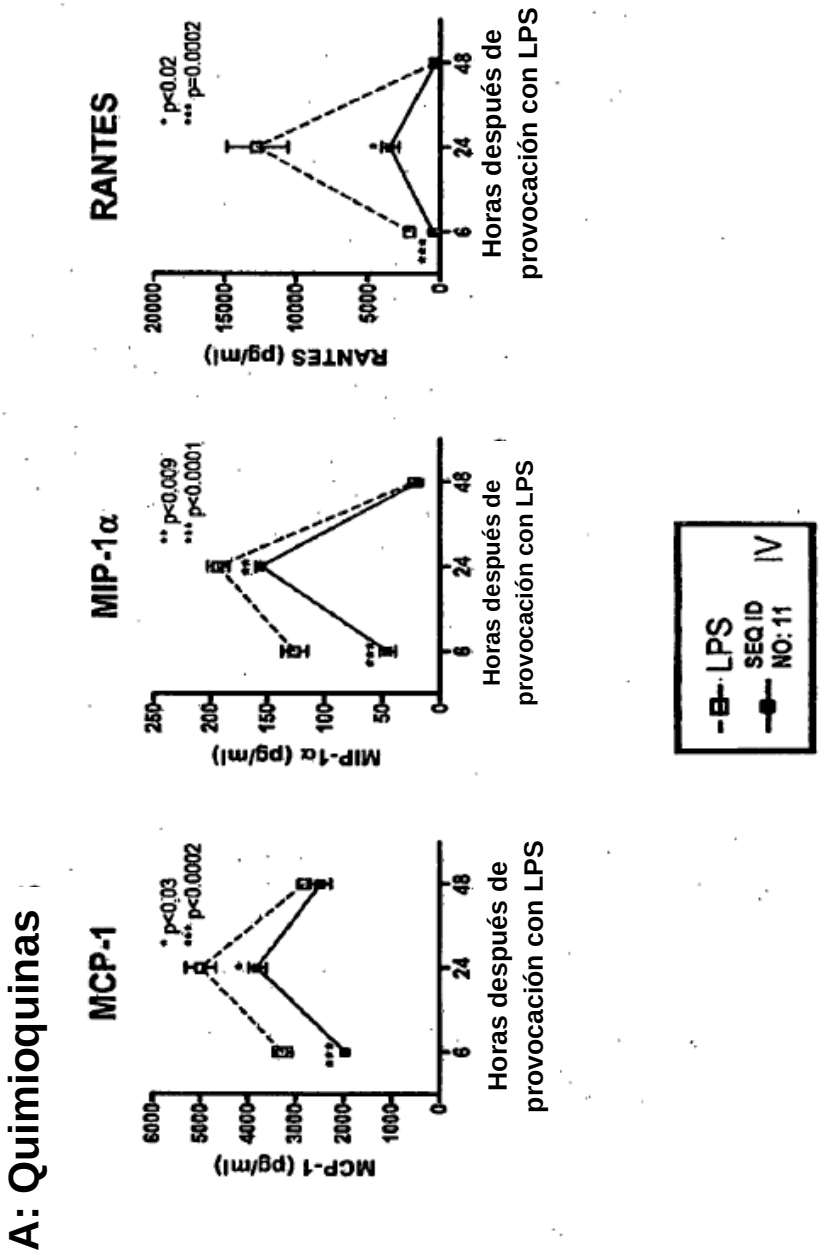
A: Quimioquinas
MCP-1
MCP-1 (pg/ml)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
6
24
48
* p<0.03
*** p<0.0002
Horas después de provocación con LPS
MIP-1α
MIP-1α (pg/ml)
250
200
150
100
50
** p<0.009
*** p<0.0001
RANTES
RANTES (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
* p<0.02
*** p=0.0002
LPS
SEQ ID NO: 11
IV

Fig. 8A

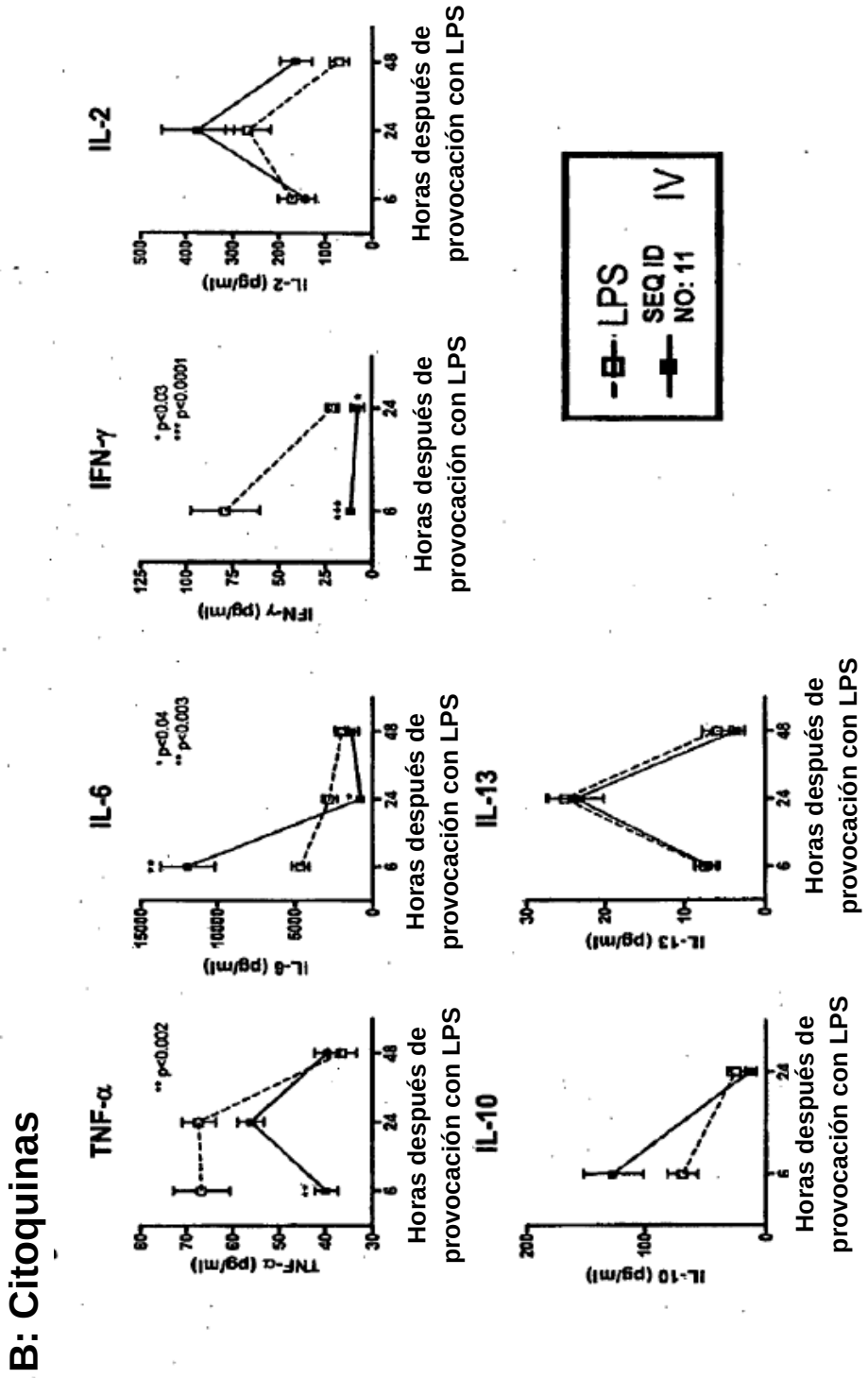
B: Citoquinas
TNF-α
** p<0.002
TNF-α (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IL-6
* p<0.04
** p<0.003
IL-6 (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IFN-γ
* p<0.03
*** p<0.0001
IFN-γ (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IL-2
IL-2 (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IL-10
IL-10 (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IL-13
IL-13 (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
LPS
SEQ ID NO: 11
IV

Fig. 8B

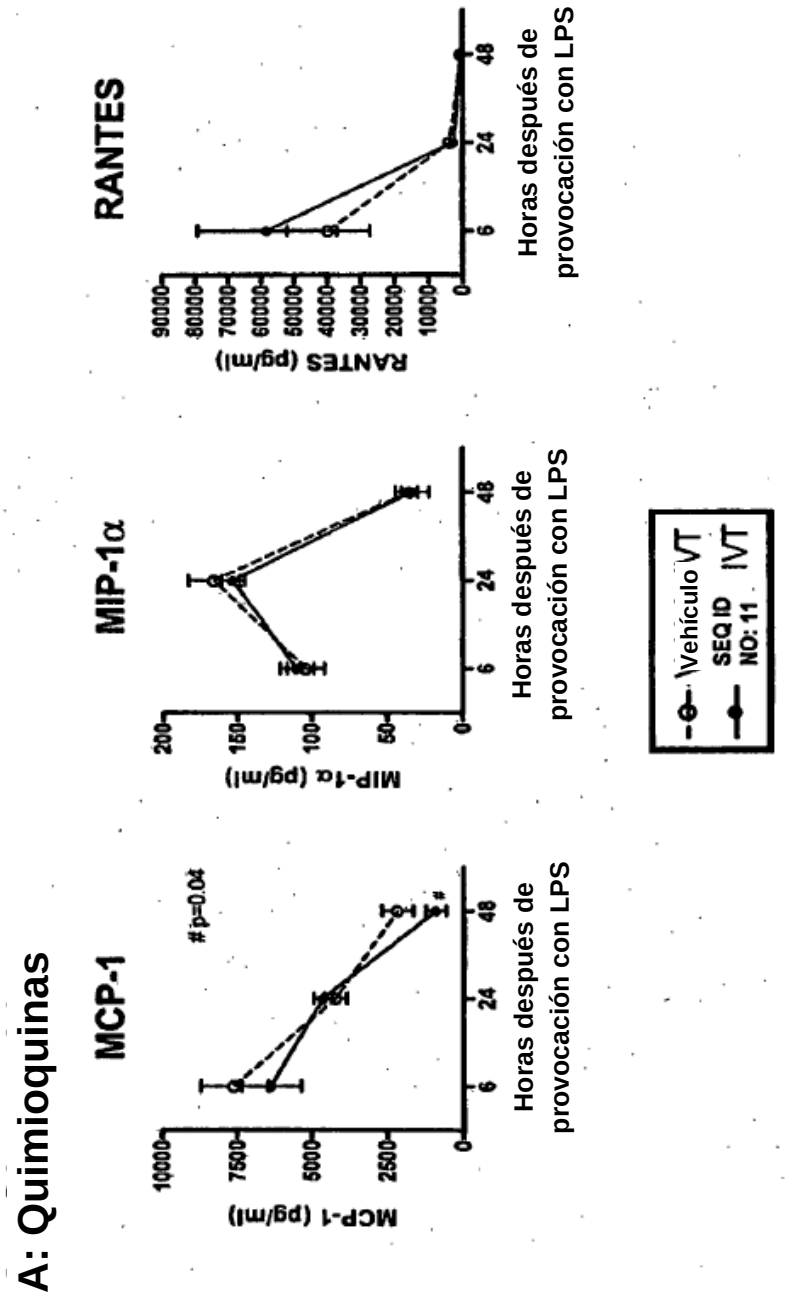
A: Quimioquinas
MCP-1
MCP-1 (pg/ml)
10000
7500
5000
2500
0
p=0.04
6
24
48
Horas después de provocación con LPS
MIP-1α
MIP-1α (pg/ml)
200
150
100
50
0
6
24
48
Horas después de provocación con LPS
RANTES
RANTES (pg/ml)
90000
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
6
24
48
Horas después de provocación con LPS
Vehículo VT
SEQ ID NO: 11 IVT

Fig. 9A

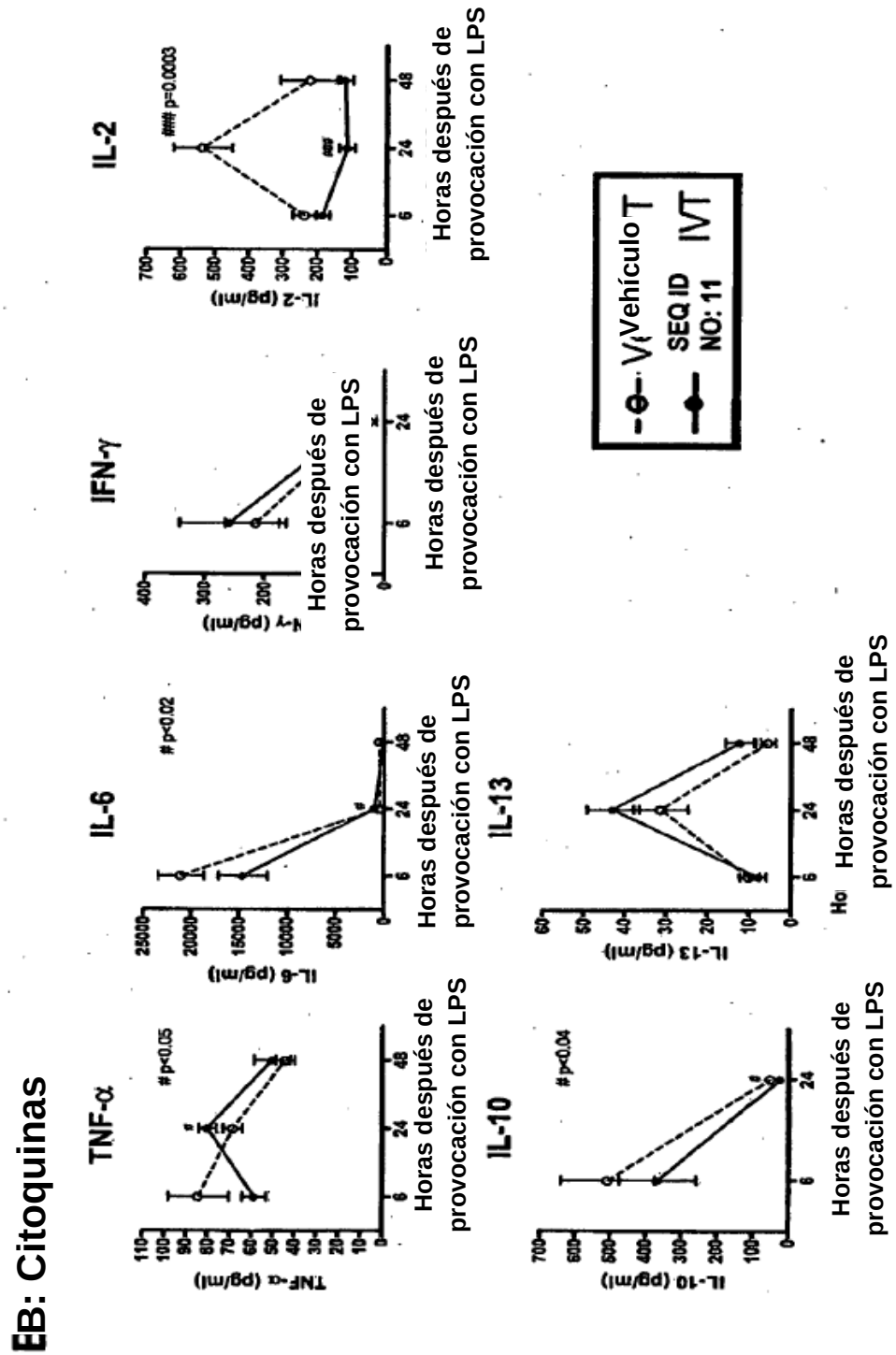
EB: Citoquinas
TNF-α
TNF-α (pg/ml)
# p<0.05
Horas después de provocación con LPS
IL-6
IL-6 (pg/ml)
# p<0.02
Horas después de provocación con LPS
IFN-γ
IFN-γ (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
IL-2
IL-2 (pg/ml)
p=0.0003
Horas después de provocación con LPS
IL-10
IL-10 (pg/ml)
# p<0.04
Horas después de provocación con LPS
IL-13
IL-13 (pg/ml)
Horas después de provocación con LPS
Vehículo
SEQ ID NO: 11
IVT

Fig. 9B

```
ccgccccagc tcagtccgaa ccccgcggcg gcggcggcct cctccacacg cctccacctc     60
cgccgccgcc gccgccgccg ccgcctcccg cgccgctctc cgcccggatg gccaggctga    120
gcccgggaat ggcggagcga gagagcggcc tgagcggggg tgccgcgtcc ccaccggccg    180
cttccccatt cctgggactg cacatcgcgt cgcctcccaa tttcaggctc acccatgata    240
tcagcctgga ggagtttgag gatgaagacc tttcggagat cactgatgag tgtggcatca    300
gcctgcagtg caaagacacc ttgtctctcc ggcccccgcg cgccgggcta ctgtctgcgg    360
gtagcagcgg tagcgcgggg agccggctgc aggcggagat gctgcagatg gacctgatcg    420
acgcggcaag tgacactccg ggcgccgagg acgacgaaga ggacgacgac gagctcgctg    480
cccaacggcc aggagtgggg ccttccaaag ccgagtctgg ccaggagccg gcgtctcgca    540
gccagggtca gggccagggc cccggcacag gctgcggaga cacctaccgg cccaagaggc    600
ctaccacgct caacctttc ccgcaggtgc cgcggtctca ggacacgctg aataataact    660
ctttaggcaa aaagcacagt tggcaggacc gtgtgtctcg atcatcctcc cctctgaaga    720
caggggagca gacgcctcca catgaacata tctgcctgag tgatgagctg ccgccccagg    780
gcagtcctgt tcccacccag gatcgtggca cttccaccga cagcccttgt cgccgtactg    840
cagccaccca gatggcacct ccaagtggtc cccctgccac tgcacctggt ggccggggcc    900
actcccatcg agatcggtcc atatcagcag atgtgcggct cgaggcgact gaggagatct    960
acctgacccc agtgcagagg cccccagacc ctgcagaacc cacctccacc ttcttgccac   1020
ccactgagag ccggatgtct gtcagctcgg atcctgaccc tgccgcttac tctgtaactg   1080
cagggcgacc gcacccttcc atcagtgaag aggatgaggg cttcgactgt ctgtcatccc   1140
cagagcaagc tgagccacca ggtggagggt ggcggggaag cctcggggag ccaccaccgc   1200
ctccacgggc ctcactgagc tcggacacca gcgcactgtc ctacgactct gtcaagtaca   1260
cactggtggt ggatgagcat gcccagcttg agttggtgag cctgcggcca tgttttggag   1320
attacagtga cgaaagcgac tctgccactg tctatgacaa ctgtgcctct gcctcctcgc   1380
cctacgagtc agccattggt gaggaatatg aggaggcccc tcaaccccgg cctcccacct   1440
gcctgtcaga ggactccaca ccggatgagc ctgacgtcca cttctctaag aagtttctga   1500
atgtcttcat gagtggccgc tctcgttcct ccagtgccga gtcctttggg ctgttctcct   1560
gtgtcatcaa tggggaggag catgagcaaa cccatcgggc tatattcagg tttgtgcctc   1620
ggcatgaaga tgaacttgag ctggaagtgg acgaccctct gctggtggag ctgcaggcag   1680
```

Fig. 10

```
aagactattg gtatgaggcc tataacatgc gcactggagc ccgtggtgtc tttcctgcct    1740
actatgccat tgaggtcacc aaggagcctg agcacatggc agcccttgcc aaaaacagcg    1800
actggattga ccagttccgg gtgaagttcc tgggctctgt ccaggttcct tatcacaagg    1860
gcaatgatgt cctctgtgct gctatgcaaa agatcgccac cacccgccgg ctcaccgtgc    1920
actttaaccc gccctccagc tgtgtccttg aaatcagcgt taggggtgtc aagataggtg    1980
tcaaagctga tgaagctcag gaggccaagg gaaataaatg tagccacttt ttccagctaa    2040
aaaacatctc tttctgtggg taccatccaa agaacaacaa gtactttggg tttatcacta    2100
agcaccctgc tgaccaccgg tttgcctgcc atgtctttgt gtctgaagat tccaccaaag    2160
ccctggcaga gtctgtgggg cgtgcatttc agcagttcta caagcaattt gtggaatata    2220
cctgtcctac agaagatatc tacttggagt agcagcaacc cccctctctg cagcccctca    2280
gccccaggcc agtactagga cagctgactg ctgacaggat gttgtactgc cacgagagaa    2340
tgggggagtg agggctgttg gggtcggggg gcaggggttt ggggagaggc agatgcagtt    2400
tattgtaata tatggggtta gattaatcta tggaggacag tacaggctct ctcggggctg    2460
gggaagggca gggctggggt gggggtcagg catctggcca caaaggggtc ccctagggac    2520
agaggcgctg caccatcctg ggcttgtttc atactagagg ccctggcttt ctggctcttg    2580
ggtcctgcct tgacaaagcc cagccacctg gaagtgtcac cttcccttgt ccacctcacc    2640
cagtgccctg agctcatgct gagcccaagc acctccgaag gactttccag taaggaaatg    2700
gcaacatgtg acagtgagac cctgttctca tctgtggggc tccggcagct ccgacccccca    2760
gcctggccag cacgctgacc ctggcaagct tgtgtgttca aagaaggaga gggccacagc    2820
aagccctgcc tgccagggaa ggttccctct cagctggccc cagccaactg gtcactgtct    2880
tgtcacctgg ctactactat taaagtgcca tttcttgtct gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa    2940
aaaaaaactc gag                                                       2953
```

Fig. 10 (cont.)

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
1 5 10 15

Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
20 25 30

Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
35 40 45

Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
50 55 60

Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
65 70 75 80

Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
85 90 95

Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
100 105 110

Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
115 120 125

Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
130 135 140

Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
145 150 155 160

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
165 170 175

Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
180 185 190

Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
195 200 205

Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
210 215 220

Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
225 230 235 240

Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
245 250 255

Fig. 11

Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
260 265 270

Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
275 280 285

Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
290 295 300

Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
305 310 315 320

Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
325 330 335

Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
340 345 350

Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
355 360 365

Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
370 375 380

Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
385 390 395 400

Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
405 410 415

Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
420 425 430

Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
435 440 445

Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
450 455 460

Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe
465 470 475 480

Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
485 490 495

Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu
500 505 510

Fig. 11 (cont.)

Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
515 520 525

Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
530 535 540

Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
545 550 555 560

Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
565 570 575

Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
580 585 590

Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
595 600 605

Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
610 615 620

Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
625 630 635 640

Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
645 650 655

Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
660 665 670

Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
675 680 685

Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
690 695 700

Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
705 710

Fig. 11 (cont.)

Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
1 5 10 15

Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
20 25 30

Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
35 40 45

Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
50 55 60

Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
85 90 95

Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
100 105 110

Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
115 120 125

Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
130 135 140

Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
145 150 155 160

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
165 170 175

Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
180 185 190

Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
195 200 205

Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
210 215 220

Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
225 230 235 240

Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
245 250 255

Fig. 12

Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
260 265 270

Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
275 280 285

Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
290 295 300

Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
305 310 315 320

Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
325 330 335

Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
340 345 350

Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
355 360 365

Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
370 375 380

Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
385 390 395 400

Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
405 410 415

Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
420 425 430

Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
435 440 445

Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
450 455 460

Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
485 490 495

Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
500 505 510

Fig. 12 (cont.)

Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
515 520 525

Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
530 535 540

Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
545 550 555 560

Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
565 570 575

Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys
580 585 590

Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
595 600 605

Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
610 615 620

Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
625 630 635 640

Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
645 650 655

Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
660 665 670

Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
675 680 685

Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
690 695 700

Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
705 710

Fig. 12 (cont.)

```
atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga ggggggccg cgtccccgcc cgccgcctcc     60
ccgttcctgg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc    120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gagatcactg atgagtgtgg catcagctta    180
cagtgcaaag acaccctgtc cttacggccc ccgtgcgccg ggctgctctc tgcgggcggc    240
ggcggcgcgg ggagccggtt gcaggccgag atgctgcaga tggacctgat cgacgcgacg    300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggcccgg    360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgtc ccgcggccag    420
ggccagagcc aaggccagag ccagggcccg ggcagcgggg acacgtaccg gcccaagcgg    480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcaggtg ccgcggtctc aggacacact gaataataat    540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatcctc acccctgaag    600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gcccccccag    660
agcggccccg cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccgccgcagc    720
acagccaccc agatggcacc tccgggtggt ccccctgctg ccccgcctgg gggtcggggc    780
cactcgcatc gagaccgaat ccactaccag gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag    840
atctacctga ccccagtgca gaggccccca gacgctgcag agcccacctc cgccttcctg    900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgccgc ctacccctcc    960
acggcagggc ggccgcaccc ctccatcagt gaagaggaag agggcttcga ctgcctgtcg   1020
tccccagagc gggctgagcc cccaggcgga gggtggcggg ggagcctggg ggagccgccg   1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgccc tgtcctatga ctctgtcaag   1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc   1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc   1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg ccccgcggcc ccagcccccct   1320
gcctgcctct ccgaggactc cacgcctgat gaacccgacg tccatttctc caagaaattc   1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgctcccgc tcctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc   1440
tcctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagacccacc gggccatatt caggtttgtg   1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag   1560
gctgaagact actggtacga ggcctacaac atgcgcactg gtgcccgggg tgtctttcct   1620
gcctattacg ccatcgaggt caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggccaaaaac   1680
agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttcctgggct cagtccaggt tccctatcac   1740
```

Fig. 13

```
aagggcaatg acgtcctctg tgctgctatg caaaagattg ccaccacccg ccggctcacc    1800
gtgcacttta acccgccctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata    1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aaggggaata aatgtagcca ctttttccag    1920
ttaaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaaagaaca acaagtactt tgggttcatc    1980
accaagcacc ccgccgacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc    2040
aaagccctgg cagagtccgt ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag    2100
tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag                              2136
```

Fig. 13 (cont.)

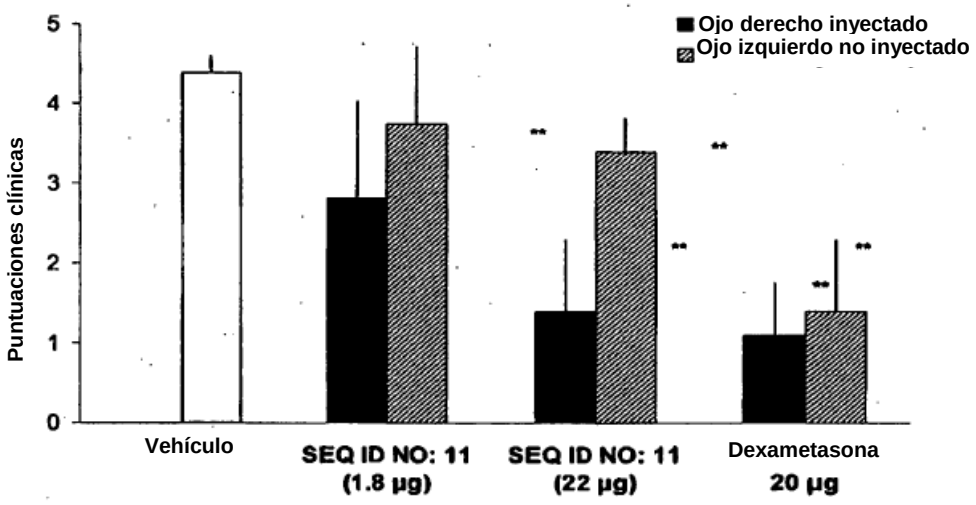
Ojo derecho inyectado
Ojo izquierdo no inyectado
Puntuaciones clínicas
5
4
3
2
1
0
**
**
**
**
**
Vehículo
SEQ ID NO: 11
(1.8 µg)
SEQ ID NO: 11
(22 µg)
Dexametasona
20 µg

Fig. 14

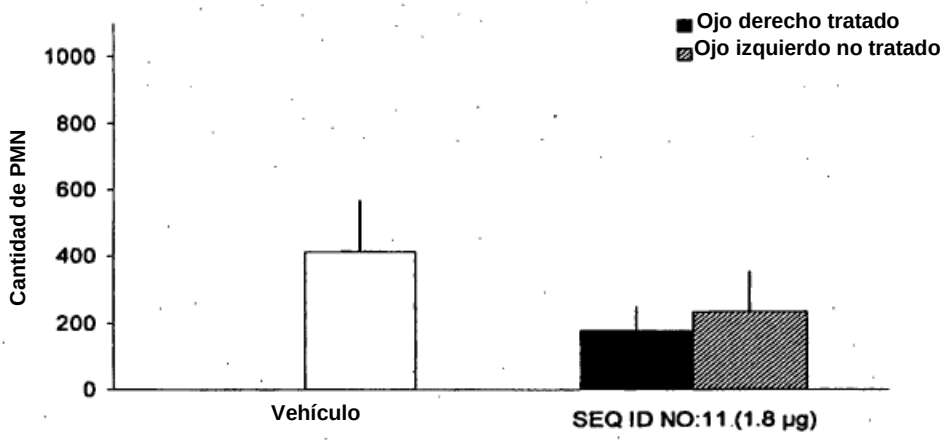
Ojo derecho tratado
Ojo izquierdo no tratado
Cantidad de PMN
1000
800
600
400
200
0
Vehículo
SEQ ID NO:11 (1.8 µg)

Fig. 15

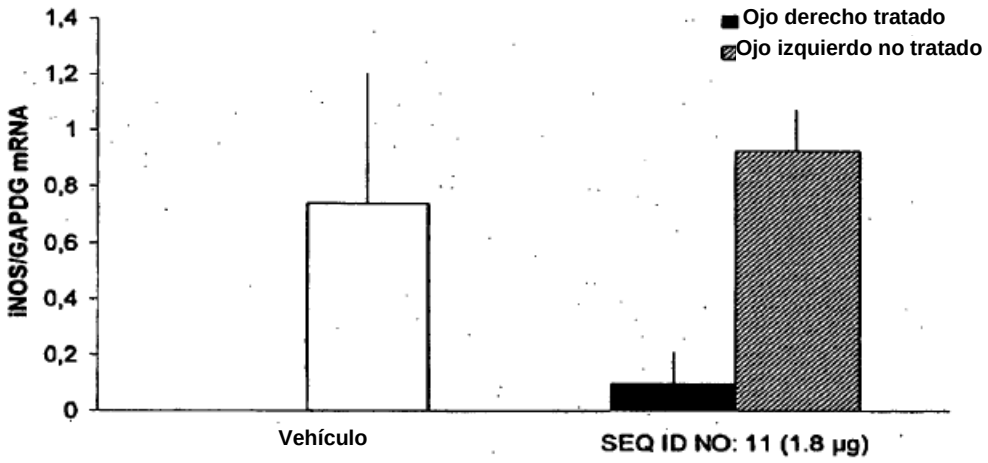
Ojo derecho tratado
Ojo izquierdo no tratado
iNOS/GAPDG mRNA
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Vehículo
SEQ ID NO: 11 (1.8 µg)

Fig. 16

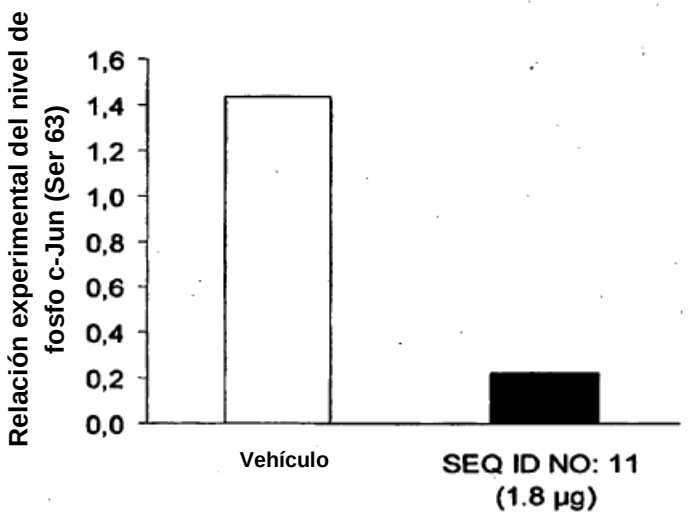
Relación experimental del nivel de fosfo c-Jun (Ser 63)
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
Vehículo
SEQ ID NO: 11 (1.8 µg)

Fig. 17