

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 695 576**

51 Int. Cl.:

C07K 7/06 (2006.01)

C07K 7/08 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C12N 9/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2011** **PCT/IB2011/055461**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012** **WO12077037**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2011** **E 11805206 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018** **EP 2649090**

54 Título: **Péptidos moduladores del complejo SASPasa-FLG2**

30 Prioridad:

07.12.2010 FR 1060177

23.12.2010 US 201061457090 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.01.2019

73 Titular/es:

L'ORÉAL (100.0%)

14, rue Royale

75008 Paris, FR

72 Inventor/es:

BERNARD, DOMINIQUE y

THOMAS-COLLIGNON, AGNÈS

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 695 576 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 moduladores del complejo SASPasa-FLG2

- 5 [0001] La presente invención se refiere a una nueva diana cosmética o terapéutica con respecto a la piel y/o sus anexos, así como a su uso a modo de marcador biológico de la piel o para el cribado de nuevos ingredientes activos dedicados al cuidado cosmético, terapéutico o dermatológico de la piel y/o sus anexos.
- 10 [0002] Más específicamente, la presente invención se refiere a péptidos aislados, procedentes respectivamente de la filagrina-2, o FLG2, y la SASPasa, capaces de formar un complejo juntos, y a su uso como diana para el cribado de ingredientes cosméticos activos o terapéuticos con respecto a la piel y/o sus anexos.
- 15 [0003] Por "la piel y sus anexos" se entiende toda la piel del cuerpo, el cuero cabelludo, las membranas mucosas y, en particular, los labios, el vello, el cabello y las uñas. Más particularmente, la presente invención se refiere a la piel de la cara, escote, brazos y antebrazos, y piernas, y al cuero cabelludo. Más particularmente, el término "anexo" se refiere al cabello, el vello y las uñas, y más particularmente el cabello y el vello.
- 20 [0004] La epidermis se divide convencionalmente en una capa basal de queratinocitos que constituyen la capa germinal de la epidermis, una capa llamada espinosa pluriestratificada que consiste en células poliédricas dispuestas en la capa germinal, de una a tres capas denominadas granulares que consisten en células planas que contienen inclusiones citoplásmicas distintas, los granos de queratohialina, y finalmente, un conjunto de capas superiores llamadas capas córneas, o estrato córneo, constituidas por queratinocitos en la etapa final de su diferenciación, llamados corneocitos.
- 25 [0005] Los corneocitos son células anucleadas que consisten principalmente en un material fibroso que contiene citoqueratinas, rodeadas por una envoltura córnea. Hay una producción constante de nuevos queratinocitos para compensar la pérdida continua de células epidérmicas en el estrato córneo, de acuerdo con un mecanismo llamado descamación. Todo el proceso que lleva a la formación del estrato córneo y su eliminación es objeto de una
- 30 regulación precisa bajo el control de múltiples factores hormonales o celulares. Un desequilibrio de estos factores, si no se regula rápidamente, resulta finalmente en una disfunción de la proliferación y/o diferenciación de las células a la altura de la capa basal, o de la descamación.
- 35 [0006] Muchos defectos o trastornos de la piel y sus anexos pueden vincularse a dicha alteración.
- [0007] Así, cuando la proliferación y/o la diferenciación de las células de la capa basal de la epidermis se aceleran con respecto a la descamación, el estrato córneo tiende a engrosarse. Esta disfunción puede, en función de su grado de manifestación, estar asociada a diversos defectos estéticos, como signos cutáneos del envejecimiento, un trastorno de la función de barrera de la epidermis o signos de sequedad cutánea o, según el caso, diferentes
- 40 trastornos patológicos, como, por ejemplo, hiperqueratosis, xerosis, ictiosis, psoriasis o hiperqueratosis reactivas.
- [0008] Por el contrario, una disminución de la proliferación y/o diferenciación de las células de la capa basal con respecto a la descamación puede manifestarse en un adelgazamiento de la epidermis y, más particularmente, del estrato córneo. Esta disfunción puede, en función de su grado de manifestación, estar asociada a diversos defectos estéticos, como la falta de cicatrización o la falta de reepitelización, especialmente después de un tratamiento de
- 45 *peeling* o exfoliación de la piel, o, según el caso, a diferentes trastornos patológicos, tales como, por ejemplo, reacciones inmunitarias inducidas generalmente por contacto de la piel con uno o más agentes exógenos.
- [0009] Hay varios desequilibrios en los mecanismos hormonales, celulares o moleculares subyacentes a la
- 50 formación del estrato córneo que pueden estar asociados con estos trastornos.
- [0010] Por ejemplo, FR 2 842 209 describe la expresión de la proteína SASPasa en la epidermis, y su implementación como diana en el tratamiento de trastornos cutáneos. Sin embargo, la detección de la expresión de SASPasa en la epidermis es solo un elemento del conjunto de mecanismos involucrados en la homeostasis
- 55 epidérmica, y muchos aspectos de estos mecanismos aún están por determinar.
- [0011] Toulza et al. Genome Biology 2007, vol. 8, nº 6 también ha identificado la filagrina 2 en un estudio de transcriptoma de queratinocitos granulados.
- 60 [0012] Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de determinar con mayor precisión la naturaleza y el papel de los factores implicados en la homeostasis de la epidermis y, en particular, en la proliferación y/o diferenciación de las células epidérmicas.
- [0013] En particular, existe la necesidad de determinar la naturaleza de los agentes que pueden modular la
- 65 actividad proteolítica de la SASPasa.

[0014] Aún existe la necesidad de identificar y disponer de nuevas dianas cosméticas o terapéuticas con respecto a la piel y/o sus anexos, y en particular que estén implicadas en la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

5 [0015] Sigue existiendo la necesidad de identificar y disponer de nuevas herramientas de detección de compuestos activos capaces de modular la proliferación y/o diferenciación de las células epidérmicas que sean rápidas, precisas, fáciles de implementar y poco costosas.

10 [0016] La presente invención tiene como objetivo satisfacer estas necesidades.

[0017] El presente texto describe un péptido aislado, representado por una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre la SEQ ID NO: 9, la SEQ ID NO: 16, un fragmento de esta, o un homólogo de esta que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% y es capaz de modificar la conformación tridimensional de un complejo formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos procedente de la filagrina-2 con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa.

15 [0018] Por lo tanto, según un primer objeto, la presente invención se refiere a un péptido aislado representado por una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- 20 – SEQ ID NO: 9,
- un fragmento de ésta seleccionado de las secuencias SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, o
- un homólogo de esta que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% y capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa.

25 [0019] De acuerdo con una forma de realización preferida, dicho péptido está codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por una secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 1, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85%.

30 [0020] Inesperadamente, los inventores han demostrado que la filagrina-2, en forma de monómero o dímero, y la SASPasa se unen entre sí por afinidad para formar un complejo proteico. En particular, los inventores han identificado en la filagrina-2 y la SASPasa las secuencias de aminoácidos precisas involucradas en esta unión y la formación del complejo proteico.

35 [0021] Además, los inventores han demostrado que la unión de la filagrina-2 a la SASPasa aumenta la actividad proteolítica de esta última, y que esta actividad se puede modular aún más por péptidos específicos procedentes de la filagrina-2.

40 [0022] Para los fines de la invención, por el término "interacción" se entiende la producción de uno o varios enlaces de afinidad entre dos secuencias de aminoácidos, de modo que se forma un complejo proteico o peptídico capaz de permanecer estable en condiciones fisiológicamente aceptables. En la presente invención, los términos "interacción" y "asociación" se usan indistintamente.

45 [0023] En el sentido de la invención, por "conformación tridimensional" de un complejo se entiende la disposición espacial de las secuencias de aminoácidos que comprenden este complejo, tomadas en conjunto, cuando interactúan entre sí.

[0024] En el sentido de la invención, por "modificación" de la conformación tridimensional de un complejo se entiende una alteración de la disposición espacial de las secuencias de aminoácidos en el complejo o una alteración de la estructura tridimensional de una y/o la otra de estas secuencias.

50 [0025] Estas alteraciones pueden llevar a una modificación de la forma general, también llamada modificación alostérica, del complejo y/o a una modificación del equilibrio termodinámico entre las secuencias de aminoácidos libres y las secuencias de aminoácidos enlazadas entre sí. Estas alteraciones dan como resultado un aumento, una disminución o una estabilización de la actividad biológica del complejo.

[0026] Preferiblemente, estas alteraciones pueden conducir a una disociación de un complejo, es decir, a un desplazamiento del equilibrio termodinámico establecido entre las secuencias libres y las secuencias enlazadas, hacia las secuencias libres.

60 [0027] En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un péptido quimérico que comprende una primera secuencia de aminoácidos fusionada a una segunda secuencia de aminoácidos, en la que la primera secuencia de aminoácidos representa un péptido de la invención.

65 [0028] En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un complejo aislado formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa,

o un homólogo de esa segunda secuencia de aminoácidos que presenta una identidad de secuencia de al menos el 85% con la secuencia SEQ ID NO: 16, en donde dicha primera secuencia de aminoácidos representa un péptido de la invención, especialmente como se define de acuerdo con el primer objeto de la invención.

5 [0029] En el sentido de la invención, los términos "secuencia de aminoácidos procedente de" pretenden indicar la totalidad o parte, es decir, un fragmento o toda la proteína o péptido considerado(a).

[0030] Según otro aspecto más, el presente texto describe un uso de al menos un complejo de la invención para cribar compuestos capaces de regular la proliferación y/o diferenciación de las células de una epidermis.

10 [0031] Según otro aspecto más, el presente texto describe un método para cribar un compuesto capaz de regular la proliferación y/o diferenciación de las células de una epidermis, comprendiendo dicho método al menos las etapas descritas a continuación.

15 [0032] Un método o uso descrito en el presente documento puede implementarse ventajosamente *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*

[0033] En particular, un método o uso descrito se puede implementar *ex vivo* o *in vitro*.

20 [0034] Se puede usar un método de cribado para identificar nuevos compuestos activos capaces de prevenir y/o tratar un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o sus anexos relacionados con una disfunción de la diferenciación y/o la proliferación de las células epidérmicas.

25 [0035] De este modo, otro objeto de la invención es un método de cribado *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto que es un agonista o antagonista de la interacción entre una primera secuencia de aminoácidos y una segunda secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% con la secuencia SEQ ID NO: 16, donde dicha primera secuencia de aminoácidos representa un péptido de acuerdo con la invención, cuyo compuesto también es capaz de regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis, comprendiendo dicho método al menos las etapas de:

30 a) disponer de un complejo según la invención en condiciones propicias para su formación,
b) asociar, antes o después de la etapa a), la(s) primera(s) secuencia(s) de aminoácidos con una entidad, donde la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos forman con dicha entidad un conjunto capaz de emitir una señal después de la exposición a una longitud de onda de excitación, y realizar las etapas
35 a) y b) que conducen a la obtención de dicho complejo,
c) someter dicho complejo a dicha longitud de onda de excitación para obtener una primera señal S1 característica del complejo,
d) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S1,
e) poner en contacto el complejo con un medio que se presume que contiene un compuesto para ser cribado,
40 f) someter el medio obtenido en la etapa e) a la longitud de onda de excitación para obtener una segunda señal S2,
g) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S2, y
h) comparar las señales primera y segunda S1 y S2 para llegar a una conclusión relacionada con una posible modificación de la conformación tridimensional del complejo en presencia del compuesto cribado.

45 [0036] Para los fines de la presente invención, por "prevenir" se entiende reducir el riesgo o la probabilidad de que ocurra un fenómeno dado, es decir, en la presente invención, un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos relacionado con la falta de diferenciación y/o proliferación de las células epidérmicas.

50 [0037] La presente invención permite proporcionar una ventajosamente nueva diana que sea útil en cosmética o en terapéutica con respecto a la piel y/o sus anexos.

[0038] Ventajosamente, los péptidos de la presente invención pueden ser particularmente útiles para la implementación de un método para el cribado de nuevos agentes activos cosméticos o dermatológicos, que sea
55 simple, económico y preciso.

[0039] Ventajosamente, la presente invención puede permitir la identificación de nuevos agentes activos capaces de actuar en una ruta inédita de la regulación de la homeostasis epidérmica y así garantizar un efecto más preciso y una mejor eficacia con respecto a defectos cosméticos o trastornos patológicos de la piel y/o sus anexos.

60 [0040] La presente invención proporciona ventajosamente una nueva herramienta de cribado particularmente eficaz y precisa para la detección de nuevos compuestos activos útiles en cosmética o en terapéutica con respecto a la piel y/o sus anexos.

[0041] Estos compuestos activos pueden ser efectivos en particular frente a defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel y/o sus anexos relacionados con la falta de proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

5 [0042] Ventajosamente, los péptidos de la presente invención también pueden ser útiles como activo cosmético.

Péptidos

10 [0043] Los péptidos descritos pueden proceder, o derivar, de las secuencias de aminoácidos de la SASPasa o la FLG2, y son capaces, en condiciones apropiadas, de modificar la conformación tridimensional de un complejo formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos procedente de la filagrina-2 con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa.

15 [0044] En particular, los péptidos de la invención pueden proceder, o derivar, de las secuencias de aminoácidos de la FLG2, y son capaces, en condiciones apropiadas, de modificar la conformación tridimensional de un complejo formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos procedente de la filagrina-2 con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa.

20 [0045] Dicho complejo puede formarse mediante la interacción de la totalidad o parte de una primera secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa con la totalidad o parte de una segunda secuencia de aminoácidos de la FLG2 o un dímero de esta segunda secuencia.

25 [0046] Las secuencias de aminoácidos de la SASPasa o la FLG2 que son adecuadas para tal complejo pueden, en particular, estar representadas por secuencias elegidas de secuencias representadas por las referencias Q53RT3 y Q5D862 (referencias Uniprot/Swissprot), fragmentos de estas u homólogos de las mismas que tienen una identidad de secuencia de al menos el 85%, y una actividad biológica del mismo tipo.

30 [0047] De acuerdo con una forma de realización, un péptido de la invención puede ser capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa. Una secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa más particularmente considerada según la invención puede ser la secuencia de aminoácidos representada por la secuencia Q53RT3 (referencia de Uniprot/Swissprot), y preferiblemente la secuencia de aminoácidos que se extiende en las posiciones 85 a 343 de esta secuencia. Se supone que la secuencia de aminoácidos que se extiende desde las posiciones 85 a 343 de la secuencia Q53RT3 representa una forma activa de la SASPasa que comprende 259 aminoácidos, para un peso molecular de aproximadamente 28 kDa.

35 [0048] Un péptido de la invención puede proceder de la FLG2. En particular, una filagrina-2 adecuada para la invención puede ser filagrina-2 humana, y más particularmente una secuencia de aminoácidos de filagrina-2 representada por la referencia Q5D862 (Uniprot/Swissprot). Esta secuencia comprende 2391 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 948 kDa.

40 [0049] De acuerdo con una forma de realización preferida, la invención concierne a un péptido aislado, de secuencia de aminoácidos representada por la secuencia SEQ ID NO: 9, un fragmento del mismo seleccionado de las secuencias SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, o un homólogo del mismo que tenga una identidad de secuencia de al menos el 85%. Dicho péptido es capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa.

[0050] La secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 9 es la secuencia de aminoácidos que se extiende desde las posiciones 2 a 95 de la secuencia de referencia Q5D862 de la filagrina-2.

50 [0051] De acuerdo con una forma de realización, un péptido de la invención puede estar compuesto en particular de 3 a 50 aminoácidos, preferiblemente de 6 a 30 aminoácidos, preferiblemente de 8 a 20 aminoácidos, y más preferiblemente de 8 a 16 aminoácidos o incluso de 10 a 16 aminoácidos contiguos procedentes de la secuencia SEQ ID NO: 9.

55 [0052] Aún más preferiblemente, un péptido de la invención puede consistir en particular en 3 a 10 aminoácidos contiguos procedentes de la secuencia SEQ ID NO: 9. Dichos péptidos pueden ser más particularmente adecuados para un uso cosmético, por ejemplo en composiciones cosméticas aplicadas por vía tópica o transdérmica.

60 [0053] Además, un péptido descrito en el presente texto puede estar representado por una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma con una identidad de secuencia de al menos el 85%.

65 [0054] En particular, un péptido de la invención puede estar representado por una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, o un homólogo de la misma con una identidad de secuencia de al menos el 85%.

[0055] Estos péptidos son capaces de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa.

[0056] De acuerdo con otra forma de realización, un péptido descrito en el presente texto puede ser capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de la FLG2. Una secuencia de aminoácidos procedente de la FLG2 más particularmente considerada puede ser la secuencia de aminoácidos representada por la secuencia Q5D862 (referencia de Uniprot/Swissprot), y preferiblemente la secuencia de aminoácidos que se extiende de la posición 2 a 213 de esta secuencia.

[0057] De acuerdo con una forma de realización alternativa, un péptido descrito en el presente texto puede ser capaz de unirse a un dímero de una secuencia de aminoácidos procedente de FLG2.

[0058] De acuerdo con otra forma de realización, un péptido descrito en el presente texto capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de la FLG2 puede proceder de la SASPasa. Una SASPasa o "Skin ASPartic protease" adecuada para la invención puede ser la SASPasa humana, y más particularmente, puede ser una SASPasa de secuencia de aminoácidos representada por la referencia Q53RT3 (Uniprot/Swissprot). Esta secuencia comprende 343 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 37 kDa.

[0059] De acuerdo con una forma de realización alternativa, el presente texto describe un péptido aislado, de secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 16, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de menos el 85%. Preferiblemente, tal péptido puede ser capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de la FLG2.

[0060] La secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 16 es la secuencia de aminoácidos que se extiende desde las posiciones 97 a 173 de la secuencia Q53RT3 de la SASPasa (Uniprot/Swissprot).

[0061] Según una forma de realización, un péptido de la invención capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa puede ser codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por una secuencia elegida de la SEQ ID NO: 1, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85%.

[0062] Preferiblemente, un péptido de la invención capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa puede ser codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tenga una identidad de secuencia de al menos el 85%.

[0063] De acuerdo con una forma de realización, un péptido capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una FLG2 puede ser codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por una secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 8, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tenga una identidad de secuencia de al menos el 85%.

[0064] En un aspecto, el presente texto también describe una secuencia de ácidos nucleicos aislada que codifica un péptido de la invención, un fragmento de la misma, o un homólogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de menos el 85%, y en particular como se ha definido anteriormente.

[0065] Se puede usar una secuencia de ácidos nucleicos para la preparación de cualquier secuencia de aminoácidos de la invención y, más particularmente, para la preparación de un péptido quimérico como se indica a continuación.

[0066] Una secuencia de ácidos nucleicos de acuerdo con el presente texto puede proceder de cualquier origen posible, a saber o bien animal, en particular de mamífero, y aún más particularmente de humano, o bien vegetal, o bien de microorganismos, como virus, fagos, bacterias u hongos, sin prejuzgar si está presente o no de forma natural en dicho organismo.

[0067] Por "homólogo" de una secuencia de aminoácidos o una secuencia de ácidos nucleicos se entiende una secuencia que tiene una identidad de al menos el 85%, en particular al menos el 90%, en particular al menos 98%, y más particularmente al menos 99% con dicha secuencia, y que tiene una actividad biológica del mismo tipo.

[0068] Una homología de secuencia puede identificarse mediante cualquier técnica comúnmente utilizada en la técnica por los expertos en la materia. Por ejemplo, la homología de secuencia se puede determinar utilizando la interfaz informática BLAST disponible en el sitio web del NCBI en <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>, configurada con los parámetros predeterminados.

[0069] Un homólogo de una secuencia de aminoácidos puede diferir de esta secuencia, por ejemplo, en una o más deleción(es) y/o inserción(es) y/o una o más sustitución(es) de un aminoácido. De manera similar, un homólogo

de una secuencia de ácidos nucleicos puede diferir de esta secuencia, por ejemplo, en una o más delección(es) y/o inserción(es) y/o una o más sustitución(es) de una base o un codón. Estos cambios se pueden combinar.

[0070] De acuerdo con una forma de realización alternativa, un homólogo de una secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos puede comprender una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos o codones.

[0071] Una sustitución conservadora es el reemplazo, en una secuencia, de un aminoácido por otro aminoácido con propiedades fisicoquímicas sustancialmente similares, o suficientemente cercanas a las del aminoácido original, de modo que las propiedades y funciones de la proteína o el péptido no se vean afectadas, o no sustancialmente. De manera similar, una sustitución conservadora es la sustitución, en una secuencia de ácidos nucleicos, de un codón por otro codón que codifica un aminoácido idéntico o que tiene propiedades físicoquímicas sustancialmente similares, o suficientemente similares, a las del aminoácido, de modo que las propiedades y funciones de la secuencia de ácidos nucleicos codificada no se vean afectadas, o no sustancialmente.

[0072] Las modificaciones de las secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos presentadas anteriormente pueden denominarse de manera general "mutación". Por lo tanto, los homólogos de la invención también se refieren a los mutantes y variantes de las secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos de la invención.

[0073] De acuerdo con una forma de realización, una secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa puede comprender una o más mutaciones.

[0074] A modo de ejemplo de mutaciones de la SASPasa que pueden considerarse en la presente invención, se puede mencionar la sustitución de uno o más residuos de aminoácidos por residuos de aminoácidos que tienen un índice hidropático similar sin afectar de manera sustancial a las propiedades biológicas de la SASPasa, y en particular su propiedad de interacción con su péptido asociado. El índice hidropático es un índice atribuido a los aminoácidos según su hidrofobicidad y su carga (Kyte & Doolittle, J. Mol. Biol., 1982, 157:105).

[0075] Una secuencia de aminoácidos adecuada para la invención puede comprender una o más modificación(es) post-traduccionales(es).

[0076] Por "modificación(es) postraduccionales(es)" se pretende abarcar todas las modificaciones que una secuencia de aminoácidos puede sufrir como resultado de su síntesis en una célula, tales como, por ejemplo, una o varias fosforilación(es), una o varias glicosilación(es), una o varias citrulinación(es), una o varias lipidación(es), tales como una farnesilación o palmitoilación, un reordenamiento estructural de tipo formación de puentes disulfuro y/o escisión en el interior de la secuencia peptídica.

[0077] Por "actividad biológica de la misma naturaleza" de una secuencia de aminoácidos de la invención se entiende en particular su capacidad para unirse por afinidad con una secuencia de aminoácidos asociada. Por "actividad biológica de la misma naturaleza" de una secuencia de ácidos nucleicos se entiende en particular su capacidad para transcribirse y traducirse en una secuencia de aminoácidos.

[0078] De acuerdo con una forma de realización alternativa, con respecto a la SASPasa, una actividad biológica de la misma naturaleza también puede entenderse como su actividad proteolítica, especialmente con respecto a la corneodesmosina.

[0079] De acuerdo con otra variante de realización de la invención, cuando se usa un mutante inactivador de la SASPasa, por "actividad biológica de la misma naturaleza" se entiende principalmente la propiedad del mutante para unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos de la invención procedente de FLG2.

[0080] Por lo tanto, una secuencia de aminoácidos de la SASPasa conveniente para la invención está necesariamente dotada al menos de la propiedad de interactuar con una secuencia de aminoácidos de la FLG2.

[0081] Con respecto a una secuencia de aminoácidos procedente de FLG2, una actividad biológica de la misma naturaleza puede entenderse, además, como su propiedad para favorecer y/o aumentar la actividad proteolítica de la SASPasa.

[0082] De acuerdo con otra variante de la invención, una actividad biológica de la misma naturaleza puede entenderse además como la actividad biológica de un complejo de la invención con respecto a la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

[0083] En el sentido de la invención; por el término "fragmento" de una secuencia de aminoácidos se entiende cualquier porción procedente de esta secuencia y constituida por 3 a 50 aminoácidos, preferiblemente de 6 a 30 aminoácidos, preferiblemente de 8 a 20 aminoácidos, y preferiblemente incluso de 10 a 16 aminoácidos contiguos, y dotada de una actividad biológica de la misma naturaleza que la expresada por la secuencia de aminoácidos.

[0084] El término "fragmento" con respecto a una secuencia de ácidos nucleicos se refiere a cualquier parte de esta secuencia, que consiste en 9 a 150 bases, preferiblemente 18 a 90 bases, preferiblemente 24 a 60 bases, y más preferiblemente de 30 a 48 bases, y que codifica un fragmento de la secuencia de aminoácidos codificada por dicha secuencia.

[0085] Según una forma de realización, una secuencia de aminoácidos de la invención puede ser una secuencia de aminoácidos natural o sintética, cuando sea apropiado puede obtenerse por síntesis química o biológica, o por extracción a partir de un tejido biológico, como por ejemplo la piel, que expresa de forma natural o después de la transducción una secuencia de aminoácidos, así como las diversas formas postraduccionales de esta.

[0086] Un péptido de la invención también se puede seleccionar de entre peptidomiméticos. Un peptidomimético de la invención puede obtenerse por modificación de una secuencia de aminoácidos de la invención, o por síntesis de un compuesto que imita tal secuencia, tal como un peptido o un péptido β . Las modificaciones consideradas pueden basarse en la introducción de los llamados cambios "no naturales" en la secuencia de aminoácidos, como modificaciones del esqueleto o la integración de aminoácidos no naturales.

[0087] El presente texto también describe un péptido quimérico que comprende una primera secuencia de aminoácidos fusionada o acoplada con una segunda secuencia de aminoácidos, un agente de direccionamiento hidrofílico o hidrofóbico, un precursor de bioconversión, un marcador de afinidad, por ejemplo un marcador fluorescente, un marcador luminiscente, un marcador radioactivo o un marcador colorimétrico.

[0088] De manera no limitativa, se pueden citar como ejemplos de compuestos que pueden acoplarse con una secuencia de aminoácidos de la invención las proteínas fluorescentes tales como la "proteína verde fluorescente", compuestos químicos fluorescentes tales como rodamina, fluoresceína o Texas Red, compuestos fosforescentes, elementos radioactivos, como ^3H , ^{35}S , ^{99}Tc , ^{125}I o ^{125}I , marcadores colorimétricos como los sustratos cromogénicos sensibles a la acción de la galactosidasa, peroxidasa, cloranfenicol acetiltransferasa, luciferasa o fosfatasa alcalina, o incluso marcadores de afinidad, en particular del tipo His-tag, GST, o MBP.

[0089] Dependiendo de la naturaleza de los compuestos capaces de acoplarse con una secuencia de aminoácidos de la invención, el acoplamiento puede llevarse a cabo mediante cualquier proceso químico o proceso de biología molecular conocido por los expertos en la técnica. En este último caso, podemos hablar de péptido o proteína de fusión, o péptido o proteína quimérico/a.

[0090] Por lo tanto, el sujeto de la presente invención es también un péptido quimérico que comprende una primera secuencia de aminoácidos fusionada con una segunda secuencia de aminoácidos, donde la primera secuencia de aminoácidos representa un péptido de la invención como se ha definido anteriormente.

[0091] De acuerdo con una forma de realización, un péptido quimérico de acuerdo con la invención puede comprender, como segunda secuencia de aminoácidos, una secuencia elegida de entre una proteína fluorescente, un marcador de afinidad, un péptido señal, un péptido penetrante, y preferiblemente es un marcador de afinidad.

[0092] De acuerdo con una forma de realización, una primera secuencia de aminoácidos de un péptido quimérico puede ser una secuencia de aminoácidos procedente de una FLG2 o una SASPasa, y más preferiblemente de la SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 16.

[0093] De acuerdo con una forma de realización, una primera secuencia de aminoácidos de un péptido quimérico de la invención es una secuencia de aminoácidos procedente de una FLG2, y más preferiblemente de la secuencia SEQ ID NO: 9.

[0094] Como segunda secuencia de aminoácidos preferida de un péptido quimérico de la invención, se pueden mencionar proteínas fluorescentes, y en particular la GFP (proteína verde fluorescente), ECFP (proteína fluorescente cian mejorada), DsRed2FP (proteína fluorescente DsRed), EGFP (proteína verde fluorescente mejorada), EYFP (proteína fluorescente amarilla mejorada), EBFP (proteína fluorescente azul mejorada).

[0095] Como marcador de afinidad adecuado para la invención, se puede mencionar en particular la glutatión-S-transferasa (GST), la proteína de unión a maltosa (MBP), la tioredoxina (THX), un marcador Myc, un marcador FLAF, un marcador His, un marcador THX-His-tag o THX-His-S-tag.

[0096] Un péptido quimérico de la invención se puede obtener por cualquier proceso de biología molecular conocido por los expertos en la técnica, en particular como se describe por SAMBROOK et al. (Molecular Cloning: A laboratory Manual, Ed. Cold Spring Harbor, 2001).

[0097] Según otro de sus objetos, la invención concierne a un complejo aislado, formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos con una segunda secuencia de aminoácidos que resulta de una SASPasa, o un homólogo de esta que presenta una identidad de secuencia de al menos 85%, donde dicha primera secuencia de aminoácidos representa un péptido procedente de FLG2, y preferiblemente como se ha definido anteriormente.

[0098] De acuerdo con una forma de realización preferida, una segunda secuencia de aminoácidos de un complejo de la invención puede representar un péptido procedente de una SASPasa como se ha definido anteriormente.

5 Cribado

[0099] El presente texto describe el uso de al menos un complejo de la invención para cribar compuestos capaces de regular la proliferación y/o diferenciación de las células de una epidermis.

10 [0100] Según una forma de realización, la invención se refiere a un método para cribar un compuesto capaz de regular la proliferación y/o diferenciación de las células de una epidermis, como se ha definido anteriormente.

[0101] Preferiblemente, tal compuesto puede modular la conformación tridimensional de un complejo formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos procedente de FLG2, o un dímero de dicha secuencia, con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa.

[0102] Más preferiblemente, dicho compuesto puede modular la formación de un complejo formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos procedente de FLG2, o un dímero de dicha secuencia, con una segunda secuencia de aminoácidos de la SASPasa.

20 [0103] Ventajosamente, las secuencias de aminoácidos de FLG2 y SASPasa pueden ser como se ha definido anteriormente.

[0104] De acuerdo con una forma de realización alternativa, un complejo considerado puede ser un complejo de la invención como se ha definido anteriormente.

25 [0105] Un método de la invención puede comprender al menos las etapas de:

- a) disponer de un complejo de la invención en condiciones propicias para su formación,
- 30 b) asociar, antes o después de la etapa a), la(s) primera(s) secuencia(s) de aminoácidos a una entidad, la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos que forman con dicha entidad un conjunto capaz de emitir una señal después de la exposición a una longitud de onda de excitación, y la realización de las etapas a) y b) que conducen a la obtención de dicho complejo,
- c) someter dicho complejo a dicha longitud de onda de excitación para obtener una primera señal S1
- 35 característica del complejo,
- d) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S1,
- e) poner en contacto el complejo con un medio que se presume que contiene un compuesto para ser examinado,
- f) someter el medio obtenido en la etapa e) a la longitud de onda de excitación para obtener una segunda
- 40 señal S2,
- g) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S2, y
- h) comparar las señales primera y segunda S1 y S2 para llegar a una conclusión relacionada con una posible modificación de la conformación tridimensional del complejo en presencia del compuesto cribado.

45 [0106] De acuerdo con una forma de realización, una entidad que es adecuada para la invención puede elegirse de un soporte que sea adecuado para una resonancia de plasmón de superficie, un marcador fluorescente, un anticuerpo o una combinación de anticuerpos primario y secundario, donde dicho anticuerpo o anticuerpo secundario lleva un marcador fluorescente.

50 [0107] Una primera y/o una segunda secuencia de aminoácidos de la invención pueden asociarse a una entidad mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, y adaptado a la naturaleza del soporte al que la primera y/o la segunda de aminoácidos se deben asociar. Naturalmente, se elegirá un método de acoplamiento que afecte las propiedades de unión o afinidad de las secuencias de aminoácidos utilizadas.

55 [0108] De acuerdo con una forma de realización, una asociación entre una primera y/o una segunda secuencia de aminoácidos puede llevarse a cabo por acoplamiento químico, por biología molecular o por interacción(es) específica(s) de alta afinidad.

60 [0109] En particular, una asociación puede llevarse a cabo mediante un acoplamiento químico, en particular mediante funciones químicas reactivas, o mediante un proceso de biología molecular.

[0110] Cuando se realiza una asociación mediante un proceso químico, las funciones químicas que se desea hacer reaccionar pueden estar presentes naturalmente en la primera y/o segunda secuencia de aminoácidos, o pueden introducirse en la primera y/o segunda secuencias de aminoácidos y la entidad antes de la reacción química.

65

[0111] A modo de ejemplo de funciones químicas reactivas que son adecuadas para la invención, se pueden mencionar, por ejemplo, las utilizadas convencionalmente en las llamadas reacciones de "química clic" (*click chemistry*).

[0112] A modo de ejemplo de un método de biología molecular adecuado para la asociación entre una entidad y la primera y/o segunda secuencia de aminoácidos, se pueden citar los empleados tradicionalmente en los procesos de clonación, incluyendo, en particular, la preparación de secuencias de ácido nucleico apropiadas, su ligadura y su introducción en un vector de expresión adecuado, por ejemplo, un plásmido, y la transfección del plásmido en una célula hospedadora capaz de permitir la expresión y la producción de un péptido quimérico de la invención.

[0113] De acuerdo con otra forma de realización, una entidad y la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos pueden estar asociadas entre sí por medio de una o más interacción(es) específica(s) de fuerte(s) afinidad(es).

[0114] De acuerdo con una forma de realización, una entidad que es particularmente adecuada para la invención puede ser un anticuerpo o un conjunto de anticuerpos primario y secundario.

[0115] Un anticuerpo adecuado para la invención puede obtenerse mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, en particular como se describe en "Antibodies : A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990).

[0116] Como tipo de anticuerpo adecuado para la invención, se pueden mencionar los anticuerpos monoclonales o policlonales, así como los fragmentos de inmunoglobulina capaces de unir un antígeno y que pueden producirse mediante cualquier técnica de ingeniería genética conocida por el experto en la materia o por escisión enzimática o química de anticuerpos completos.

[0117] Más particularmente, un anticuerpo que es adecuado para la invención puede elegirse entre un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un diacuerpo, un anticuerpo scFv y un anticuerpo F(ab')₂, un anticuerpo Fab', un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo recombinante.

[0118] De acuerdo con una forma de realización, un anticuerpo adecuado para la invención puede tener una afinidad por una parte de la primera y/o segunda secuencia de aminoácidos contra la que se dirige, o por un marcador de afinidad específico llevado por la primera y/o segunda secuencia de aminoácidos.

[0119] De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos pueden llevar un marcador de afinidad reconocido por un anticuerpo.

[0120] Un marcador de afinidad que es adecuado para la invención se puede elegir en particular de entre los marcadores de afinidad indicados previamente.

[0121] Como ejemplos de anticuerpos que son adecuados para la invención, pueden mencionarse en particular los utilizados en los ejemplos que se exponen a continuación.

[0122] De acuerdo con otra forma de realización, la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos están asociadas, respectivamente, a una primera y una segunda entidad, dichas entidades que comprenden, respectivamente, un grupo fluorescente A y un grupo fluorescente B, donde dichos grupos A y B definen un par aceptor-donante de energía de fluorescencia adecuado para llevar a cabo una transferencia de energía por resonancia de fluorescencia.

[0123] Como ejemplos de pares aceptor-donante que pueden usarse de acuerdo con la presente invención, se pueden mencionar, de manera no limitativa, los pares BFP (proteína fluorescente azul)/GFP (proteína verde fluorescente), CFP (proteína fluorescente cian)/YFP (proteína fluorescente amarilla), CFP/DsRed (proteína fluorescente roja), GFP/DsRed y EuK (criptato de europio)/XL665. Preferiblemente, un par aceptor-donante adecuado para la invención puede ser EuK/XL665.

[0124] De acuerdo con una forma de realización alternativa, la primera y la segunda entidad pueden ser marcadores fluorescentes. Dichos marcadores fluorescentes se pueden elegir de entre moléculas fluorescentes o proteínas fluorescentes que se usan generalmente en el campo. Preferiblemente, los marcadores fluorescentes usados se pueden elegir de entre proteínas fluorescentes fusionadas por biología molecular, especialmente como se ha indicado anteriormente, a la primera y/o segunda secuencia de aminoácidos.

[0125] Según otra variante de realización, las entidades primera y segunda pueden ser anticuerpos que llevan marcadores fluorescentes y pueden ser adecuadas para fijarse, respectivamente, en un primer y un segundo marcador de afinidad llevados, respectivamente, por la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos.

[0126] De acuerdo con una forma de realización, la señal S1 determinada cuantitativa o cualitativamente en la etapa d) del método de acuerdo con la invención puede ser una señal fluorescente obtenida por irradiación en una longitud de onda de excitación del donante de energía de fluorescencia.

5 [0127] La señal S2, determinada cuantitativa o cualitativamente en la etapa g) del método, puede ser una señal fluorescente obtenida por irradiación en una longitud de onda del excitador del donante de energía de fluorescencia.

10 [0128] Las señales de fluorescencia S1 y S2 pueden medirse utilizando cualquier dispositivo adaptado a la invención y conocido por los expertos en la técnica. Como ejemplos de dispositivos que son adecuados para la invención, se puede mencionar un lector de microplacas, un microscopio de fluorescencia, un espectrofluorómetro o un escáner de fluorescencia.

15 [0129] De acuerdo con una forma de realización preferida, un método de la invención se puede llevar a cabo a una alta velocidad de flujo, en microplacas, y las señales de fluorescencia se pueden medir por medio de un lector de microplacas, por ejemplo un lector Pherastar (BMG).

20 [0130] Una señal S2 significativamente mayor que la señal S1 en presencia de un compuesto que se desea cribar puede ser indicativa de un compuesto que favorece el equilibrio y la estabilidad de la conformación tridimensional de un complejo de la invención.

[0131] Preferiblemente, tal compuesto puede favorecer o ser agonista de la interacción de la primera y la segunda secuencia de aminoácidos.

25 [0132] Por otro lado, una señal S2 que es significativamente más pequeña que la señal S1 en presencia de un compuesto que se desea cribar puede ser indicativo de un compuesto que desestabiliza o alterna la conformación tridimensional de un complejo de la invención.

30 [0133] Preferiblemente, tal compuesto puede desestabilizar o ser antagonista de la interacción entre la primera y la segunda secuencia de aminoácidos.

[0134] Un método de acuerdo con la invención permite el cribado del agente modulador para la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

35 [0135] Para los fines de la invención, el término "compuesto modulador" pretende significar cualquier compuesto capaz de, o apto para actuar, directa o indirectamente, sobre un complejo que comprende una asociación de una primera secuencia de aminoácidos procedente de FLG2, o de un dímero de esta secuencia, con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa para modular la conformación tridimensional de esta asociación.

40 [0136] De acuerdo con una forma de realización de la invención, un compuesto seleccionado puede ser un agonista o un antagonista de esta asociación.

45 [0137] De acuerdo con una forma de realización alternativa, un compuesto modulador puede favorecer o ser agonista de esta asociación. Alternativamente, según otra variante de realización, un compuesto modulador puede ser un compuesto desestabilizante o antagonista de esta asociación.

50 [0138] La naturaleza agonista o antagonista de un compuesto modulador con respecto a esta asociación se mantendrá más particularmente según el efecto modulador que se desee ejercer sobre la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

55 [0139] Por lo tanto, dependiendo de la naturaleza del defecto estético o el trastorno patológico de la piel y/o sus anexos que se desee prevenir o tratar, se usará más particularmente un compuesto modulador agonista o antagonista de esta asociación.

[0140] De acuerdo con una forma de realización preferida de la invención, un compuesto cribado puede ser capaz de prevenir y/o tratar un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o sus anexos relacionados con una disfunción de la diferenciación y/o la proliferación de las células de la epidermis.

60 [0141] Según una forma de realización, un método de cribado de la invención puede comprender además al menos una etapa adicional consistente en evaluar la propiedad de un compuesto cribado para modular la diferenciación y/o proliferación de células de una epidermis.

65 [0142] Tal evaluación puede llevarse a cabo *in vitro* o *ex vivo*, especialmente en células epidérmicas en cultivo. Las células pueden ser células de linajes, es decir, transformadas por un virus o de origen tumoral para inmortalizarlas.

[0143] Alternativamente, las células pueden ser células de cultivo primario, es decir, procedentes de un tejido tomado de un organismo vivo, por ejemplo, una epidermis de un ser humano.

5 [0144] Preferiblemente, las células en cultivo pueden ser fibroblastos, o incluso queratinocitos, en particular estratificados. Los cultivos celulares pueden realizarse de acuerdo con cualquier método conocido por los expertos en la técnica.

10 [0145] Asimismo, se puede realizar una evaluación *in vitro* en un modelo de epidermis reconstruida. Tales modelos de epidermis pueden estar disponibles comercialmente, por ejemplo, como el modelo Episkin®.

[0146] La evaluación *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto cribado de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo mediante cualquier protocolo conocido por los expertos en la técnica para comparar el efecto dado de un compuesto de prueba con un valor de control o estándar.

15 [0147] El efecto de un compuesto cribado de acuerdo con la invención, *in vitro* o *ex vivo*, se puede determinar midiendo marcadores biológicos que se sabe que están específicamente asociados a la diferenciación y/o proliferación de las células de una epidermis.

20 [0148] Dichos marcadores pueden elegirse, por ejemplo, de entre la medición del espesor del estrato córneo, de su función de barrera, la medición de la expresión y/o activación de la transglutaminasa I, filagrina, Caspasa 14, SASPasa, corneodesmosina, desmogleína o de la proteína Ki67.

25 [0149] Estos marcadores pueden determinarse, por ejemplo, mediante transferencia Western blot o inmunofluorescencia según cualquier protocolo conocido por los expertos en la técnica.

Usos y composiciones

30 [0150] Un compuesto cribado de acuerdo con la invención, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto puede usarse en cosmética como agente cosmético activo para prevenir y/o tratar un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de las células de una epidermis.

35 [0151] Un compuesto cribado de acuerdo con la invención, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto puede usarse para la preparación de una composición terapéutica destinada a prevenir y/o tratar un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de las células de una epidermis.

40 [0152] Además, el presente texto describe una composición terapéutica que comprende, como ingrediente activo, un compuesto seleccionado de acuerdo con la invención, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto para prevenir y/o tratar un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de células de una epidermis.

45 [0153] La aplicación cosmética o terapéutica de un compuesto cribado de acuerdo con la invención, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto depende de la naturaleza, o incluso del grado o la intensidad de la manifestación de los signos expresados por la piel y/o sus anexos después de una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de las células de una epidermis. Atañe al conocimiento general de la persona experta en la técnica el apreciar esta naturaleza o esta intensidad de manifestación e implementar la aplicación adecuada.

50 [0154] El presente texto describe el uso cosmético de un péptido de la invención o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho péptido como agente cosmético activo para prevenir y/o tratar un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de las células de una epidermis.

55 [0155] Un defecto estético considerado por la invención se puede elegir de entre los signos cutáneos del envejecimiento, un trastorno de la función de barrera de la epidermis, signos de sequedad cutánea, signos cutáneos de hiperseborrea, una alteración del aspecto de la piel, un trastorno descamativo de la piel o del cuero cabelludo, falta de cicatrización y/o de reepitelización.

60 [0156] Un defecto estético considerado por la invención también puede ser una hipersudoración y/o un problema de olor corporal.

65 [0157] Según otra forma de realización, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto también se puede usar en cosmética como un agente activo para favorecer la reepitelización después de un tratamiento de *peeling* cutáneo o exfoliante.

[0158] De acuerdo con otra forma de realización, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto puede usarse en cosmética como agente activo para prevenir y/o tratar la pérdida del cabello y/o favorecer el recrecimiento del cabello, o prevenir el recrecimiento del cabello.

[0159] De acuerdo con una forma de realización, un trastorno patológico puede seleccionarse de entre cáncer, psoriasis, vitíligo, rosácea, dermatitis atópica, dermatitis seborreica y acné.

[0160] De acuerdo con una forma de realización, un uso cosmético del presente texto puede usar preferiblemente un péptido de la invención procedente de la FLG2 y capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos que procede de una SASPasa o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho péptido, en particular como se ha definido anteriormente, como agente cosmético activo para prevenir y/o tratar el envejecimiento de una epidermis y/o para mejorar la función de barrera de una epidermis.

[0161] De acuerdo con una forma de realización, un uso cosmético del presente texto puede implementar preferiblemente un péptido de la invención procedente de la SASPasa y capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una filagrina 2, en particular como se ha definido anteriormente, como agente cosmético activo para prevenir y/o tratar el envejecimiento de una epidermis y/o mejorar la función de barrera de una epidermis.

[0162] De acuerdo con uno de sus aspectos, la invención se refiere a una composición cosmética que comprende en un medio fisiológico aceptable una cantidad eficaz de al menos un péptido de la invención o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho péptido.

[0163] El presente texto describe una composición cosmética o terapéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un péptido de la invención o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica dicho péptido como agente activo para tratar y/o prevenir un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o sus anexos asociado a una disfunción de la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

[0164] Para los fines de la presente invención, el término "cantidad eficaz" significa una cantidad de un agente activo suficiente y necesaria para ejercer un efecto preventivo y/o de tratamiento con respecto a un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o sus anexos.

[0165] Dicha composición puede administrarse por vía oral, parenteral o tópica.

[0166] Tales métodos de implementación son conocidos por los expertos en la técnica.

[0167] De acuerdo con otro de estos aspectos, la presente invención se refiere a una composición que comprende al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un péptido de la invención.

[0168] Dicha composición puede estar dedicada a permitir la expresión de un péptido de la invención en una célula, un tejido biológico o un órgano.

[0169] Dicha composición puede usarse con fines cosméticos, terapéuticos o de diagnóstico.

[0170] Según otro aspecto, el presente texto describe un método de tratamiento cosmético para prevenir y/o tratar un defecto estético en la piel y/o sus anexos asociado a una disfunción de la diferenciación y/o proliferación de las células de la epidermis de un individuo, que comprende al menos una etapa de administración a dicho individuo como ingrediente activo de una cantidad eficaz de al menos un péptido o secuencia de ácidos nucleicos de la invención.

[0171] Dicho método puede llevarse a cabo ventajosamente por vía tópica, oral o parenteral, y en particular por vía tópica u oral.

[0172] La vía parenteral incluye en particular la vía intradérmica y la vía subcutánea.

[0173] En otro aspecto, el presente texto describe el uso de una cantidad eficaz de al menos un péptido de la invención o al menos una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente documento o al menos un compuesto cribado de la invención para la preparación y/o mejora de un modelo celular pluriestratificado, en particular del tipo epidérmico o mucoso, y en particular un modelo de piel reconstruida.

[0174] Ventajosamente, un péptido de acuerdo con la invención o una secuencia de ácidos nucleicos descrita en el presente texto o un compuesto seleccionado de la invención se agregan al medio de cultivo en el que se cultiva el modelo de cultivo pluriestratificado. La etapa de cultivo y el período de incubación del modelo celular llevado a cabo en presencia de una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la invención o de los ácidos nucleicos

descritos en el presente texto o de un compuesto seleccionado de la invención son adaptados naturalmente por los expertos en la técnica dependiendo del modelo celular que se desea obtener y del efecto que se desea obtener.

[0175] En el sentido de la invención, el término "modelo de piel reconstruida" pretende indicar un modelo en el que se asocian varios tipos de células, tales como, en particular, células presentes de manera natural en una piel, tales como, por ejemplo, queratinocitos o fibroblastos, células de Langerhans y melanocitos. Las células de tipo fibroblasto pueden ser irradiadas o no.

[0176] Dichos modelos y su preparación son conocidos por los expertos en la técnica.

[0177] En la siguiente descripción y ejemplos, a menos que se indique lo contrario, los porcentajes son porcentajes en peso y los rangos de valores en la forma "entre ... y ..." incluyen los límites inferior y superior especificados.

[0178] Los ejemplos que se dan a continuación se presentan con fines ilustrativos y no limitativos de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Interacción SASPasa-FLG2 e identificación de los dominios peptídicos involucrados en la interacción

[0179] Se realizó un primer estudio utilizando la técnica del "doble híbrido" usando la proteína SASPasa de 28 kDa completa, en su forma natural (SASPasa_28, Ref. GENBANK gi165163767) y en su forma mutada al nivel del ácido aspártico catalítico (SASPasa_28_{D128A}), así como la forma SASPasa 37kDa (SASPasa_37), en su forma completa (Ref. GENBANK gi189409121), y un fragmento correspondiente al extremo N terminal de 84 aminoácidos de la proteína con respecto a la secuencia de la SASPasa_28 (SASPasa_27_{N84}).

[0180] Las secuencias de la SASPasa se fusionaron a un dominio de unión del ADN, LexA, según la orientación N-LexA-SASPasa-C, para mantener el extremo C terminal de la SASPasa libre, a excepción de la secuencia SASPasa_28_{N84} que se fusiona en el dominio LexA según la orientación N-SASPasa_28_{N84}-LexA-C.

[0181] Las secuencias presa se fusionaron con el dominio activador de la transcripción Gal4.

[0182] La SASPasa_28, de tipo salvaje o mutado, la SASPasa_37 y la SASPasa_28_{N84} no mostraron autoactivación del sistema del doble híbrido. Los cribados realizados con las secuencias de SASPasa_28 o SASPasa_37 permitieron identificar una interacción con la filagrina 2 (FLG2), con una puntuación de confianza muy buena.

[0183] La interacción con la SASPasa se encontró usando como cebo el fragmento de Filagrina 2 identificado como interactuante con las secuencias de la SASPasa_28 y la SASPasa_37, y correspondiente a los aminoácidos 2-213 la secuencia GENBANK: gi: 62122916.

[0184] La secuencia se fusionó con el dominio de unión al ADN, LexA, según la orientación N-Lex A-FLG2₂₋₂₁₃-C.

[0185] Las secuencias presa se fusionaron con el dominio activador de la transcripción Gal4.

[0186] El fragmento N-terminal de Filagrina 2 mostró una ligera autoactivación del sistema del doble híbrido y, por lo tanto, se usó una concentración de 5 mM de 3-aminotriazol para el cribado.

[0187] El cribado confirmó la interacción con la SASPasa.

[0188] Se realizaron experimentos adicionales para reducir e identificar el tamaño de las secuencias responsables de esta interacción entre la SASPasa 28 y la Filagrina 2.

[0189] Estos experimentos permitieron mostrar que un fragmento N-terminal de la SASPasa 28 (aminoácidos 11-86, SEQ ID NO: 16) era suficiente para la interacción con FLG2.

[0190] Con respecto a FLG2, estos experimentos complementarios demostraron que el dominio S100 N-terminal de la filagrina 2 (2-95 aminoácidos, SEQ ID NO: 9) está involucrado en la interacción con la SASPasa.

Ejemplo 2

Modulación de la actividad proteolítica de SASPasa por FLG2

[0191] Una filagrina-2 recombinante (FLG2), constituida por aminoácidos que se extienden desde las posiciones 2 a 213 de la secuencia representada por la referencia Q5D862 (Ref.: Uniprot/Swissprot) fusionada a un marcador

de afinidad Tiorredoxina-His-S Tag (THX-His-S-tag) se preparó en plásmido parental pET32c (Novagen) (FLG2)₂₁₃-Tiorredoxina-His-S.Tag o FLG2-HS).

[0192] Se preparó una SASPasa (SASPasa₂₈) recombinante de 28 kDa constituida por aminoácidos que se extienden desde las posiciones 85 a 343 de la secuencia representada por la referencia Q53RT3 (Ref. Uniprot/Swissprot) como se describe en BERNARD et al. (J. Invest Dermatol., 2005, 125: 278-287).

[0193] La SASPasa₂₈ a 0,025 mg/ml se encuentra en presencia de un sustrato colorimétrico Dabcyl-QIDRIMEK-Edans a 0,01 mM (Production Jerini Peptide Ref. D17 : JPT Peptide Technologies GmbH) en un tampón PBS.

[0194] FLG2-Hs se lleva a cabo a 0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,16, 0,31, 0,63, 1,25, 2,5, 5 o 10 veces la concentración final de SASPasa (0,025 mg/ml).

[0195] La hidrólisis del sustrato colorimétrico por la SASPasa activada conduce a la separación del fluorocromo EDANS y su desactivador (o inactivador) Dabcyl, y a un aumento de la fluorescencia de EDANS.

[0196] La señal fluorescente se mide a λ_{ex} 340 nm/ λ_{em} 490 nm. La fluorescencia se lee cada 10 minutos durante 1 h 30 min a 37 °C con un SPECTRAMAX M5e (Molecular Devices).

[0197] Los resultados obtenidos muestran que la actividad enzimática de la SASPasa aumenta significativamente en presencia de concentraciones crecientes de FLG2-Hs.

[0198] Se sintetizaron péptidos de 8 a 20 aminoácidos a partir de la secuencia de aminoácidos que se extiende desde las posiciones 71 a 90 de FLG2, SEQ ID NO: 9.

[0199] El ensayo enzimático anterior se repitió reemplazando FLG2-Hs por cada uno de los péptidos así preparados.

[0200] Entre los péptidos sometidos al ensayo, se observó que los péptidos representados por las secuencias SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15 estaban dotados de una capacidad particularmente importante para aumentar la actividad catalítica de la SASPasa.

Ejemplo 3

Cribado de agentes moduladores de la interacción entre un péptido procedente de la FLG2 y la SASPasa

[0201] Un método de acuerdo con la invención puede implementar la técnica de fluorescencia homogénea en tiempo resuelto (o HTRF).

[0202] Una secuencia de aminoácidos procedente de la SASPasa (SEQ ID NO: 16) fusionada en su extremo C-terminal con el marcador de afinidad GST (Glutathión S-Transferasa de *Schistosoma japonicum*) se prepara en el vector pGEX-4-T3 (GenBank U13855) (SASPasa)_{SEQ ID NO: 16}-GST).

[0203] Una secuencia de aminoácidos procedente de FLG-2 (SEQ ID NO: 9) fusionada en su extremo N-terminal con el marcador de afinidad Tiorredoxina-His-S se prepara como sigue (FLG-2)_{SEQ ID NO: 9}-His-THX).

[0204] Los plásmidos obtenidos se utilizan para transformar bacterias competentes *E. coli*. Las bacterias transformadas se inducen luego en presencia de IPTG, luego se centrifugan y se lisan por ultrasonido. Los péptidos quiméricos se purifican por afinidad para el marcador HIS o GST en una resina adecuada, y luego se dializan contra un tampón. Los péptidos quiméricos resultantes se cuantifican luego por el método de Bradford.

[0205] Se utilizan anticuerpos que reconocen, respectivamente, los marcadores de afinidad GST o His-S.Tag, y que llevan, respectivamente, un grupo donante de fluorescencia Euk (criptato de europio λ_{ex} 337 nm/ λ_{em} 620 nm) o un grupo receptor de fluorescencia XL1665 (λ_{ex} 570-630 nm/ λ_{em} 665 nm) para controlar la interacción péptido-SASPasa.

[0206] Dichos anticuerpos están disponibles comercialmente, por ejemplo de CISCO con las referencias 61GSTKLB (anticuerpo anti-GST K) o 61HISKLB (anticuerpo anti-6HIS K).

[0207] La interacción SASPasa_{SEQ ID NO: 16}-GST/FLG-2_{SEQ ID NO: 9}-His-THX se observa por transferencia de energía de fluorescencia (FRET) entre los marcadores fluorescentes Euk y XL1665. El donante de fluorescencia Euk se excita a λ_{ex} 337 nm y la emisión de fluorescencia del aceptor de fluorescencia XL1665 se mide a λ_{em} 665 nm.

[0208] La emisión de fluorescencia Euk a λ_{em} 620 nm, que ocurre independientemente de la interacción entre los péptidos, se utiliza para normalizar la señal.

[0209] El método de cribado se lleva a cabo en una placa de 384 pocillos utilizando un autómatas Janus de Perkin Elmer en un tampón de fosfato PBS a pH 7,4.

5 [0210] Un tampón, o una solución de dilución, desprovisto/a del compuesto que se desea cribar se utiliza como control.

[0211] La SASPasa_{SEQ ID NO: 16}-GST y el compuesto ensayado se preincuban, y luego la FLG-2_{SEQ ID NO: 9}-His-THX se añade al medio de incubación.

10 [0212] Los anticuerpos específicos para los marcadores de afinidad se añaden luego al medio de incubación.

[0213] La mezcla se deja incubar antes de la lectura de la fluorescencia (λ_{ex} 337 nm/ λ_{em} 665 nm, y la normalización a λ_{em} 620 nm) mediante un lector PHERASTAR (BMG).

15 [0214] El cálculo del resultado se realiza mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Delta_F} = 100 \times [\text{relación}(100\%) - \text{relación}(\text{fondo})] / \text{relación}(\text{fondo})$$

20 en la que "relación (100%)" representa la relación de fluorescencia $\lambda_{\text{em}}665/\lambda_{\text{em}}620$ de los anticuerpos fluorescentes en presencia de SASPasa_{SEQ ID NO: 8}-GST y FLG-2_{SEQ ID NO: 4}-His-THX, y "relación (fondo)" representa la relación de fluorescencia $\lambda_{\text{em}}665/\lambda_{\text{em}}620$ de los anticuerpos fluorescentes en ausencia de los péptidos.

25 [0215] Delta_F se determina en presencia de "Delta_F Ensayo", o en ausencia de "Delta_F Control", de los compuestos analizados (control en DMSO).

[0216] La "relación final" que representa el porcentaje de inhibición o activación de la interacción de los péptidos se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Relación final} = 100 \times (\text{Delta_F Ensayo} - \text{Delta_F Control}) / (\text{Delta_F control})$$

30 [0217] Una disminución en esta relación final es indicativa de la presencia de compuestos capaces de prevenir o desestabilizar la interacción SASPasa_{SEQ ID NO: 16}-GST/FLG-2_{SEQ ID NO: 9}-His-THX.

35 [0218] Un aumento en esta relación final es indicativo de la presencia de compuestos capaces de estabilizar o favorecer esta interacción.

[0219] El protocolo de cribado de la invención es particularmente ventajoso para identificar compuestos activos capaces de modular de manera positiva o negativa la interacción entre un péptido procedente de la FLG2, y la SASPasa o un péptido procedente de la SASPasa.

40 [0220] Estos compuestos activos seleccionados se pueden utilizar ventajosamente con respecto a trastornos estéticos o patológicos de la piel y/o sus anexos resultantes de un defecto en la proliferación y/o diferenciación de las células de la epidermis.

LISTADO DE SECUENCIAS

45 [0221]

<110> L'OREAL

<120> Péptidos moduladores del complejo SASPasa-FLG2

50 <130> BR94527/HG/ca

<150> FR1060177

<151> 2010-12-07

55 <150> US61457090

<151> 2010-12-23

<160> 16

60 <170> BiSSAP 1.0

5
 <210> 1
 <211> 285
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..285
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"

<400> 1
 accgacctct tgagaagtgt tgtcacccgta attgatgttt tctacaaata caccaagcaa 60
 gatggggagt gtggcacact gagcaagggt gaactaaagg aacttctgga gaaagagctt 120
 catccagttc tgaagaaccc agatgatcca gacacagtgg atgtcatcat gcatatgctg 180
 gatcgagatc atgacagaag attggacttt actgagtttc ttttgatgat attcaagctg 240
 actatggcct gcaacaagggt cctcagcaaa gaatactgca aagct 285

15
 <210> 2
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..60
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"

25
 <400> 2
 ttactgagt ttctttgat gatattcaag ctgactatgg cctgcaacaa ggtcctcagc 60

30
 <210> 3
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..45
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"

40
 <400> 3
 gagtcttt tgatgatatt caagctgact atggcctgca acaag 45

45
 <210> 4
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..45
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"

55
 <400> 4
 ctcatgatat tcaagctgac tatggcctgc aacaaggctc tcagc 45

<210> 5
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> fuente
 <222> 1..39
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"
 5
 <400> 5
 ctcacgatat tcaagctgac tatggcctgc aacaaggctc 39
 <210> 6
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 10
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..48
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"
 15
 <400> 6
 actgagtttc ttttgatgat attcaagctg actatggcct gcaacaag 48
 <210> 7
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 20
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..24
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"
 25
 <400> 7
 actgagtttc ttttgatgat attc 24
 <210> 8
 <211> 231
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 30
 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..231
 <223> /mol_type="ADN" /organism="Homo sapiens"
 35
 <400> 8
 cggcagcatg ccttcgtccc ggaacctttt gatggggcca atgtcgtccc aaacctctgg 60
 ctgcacagct ttgaagtcac caatgacctc aaccattggg accatatcac caagctaagg 120
 ttcttgaaag agtccctcag aggagaggcc ctgggtgtct acaataggct cagtccccag 180
 gaccagggag actatgggac tgtgaaagag gccctcctga aggcctttgg g 231
 <210> 9
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..95
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"
 45
 <400> 9

ES 2 695 576 T3

Thr Asp Leu Leu Arg Ser Val Val Thr Val Ile Asp Val Phe Tyr Lys
 1 5 10 15
 Tyr Thr Lys Gln Asp Gly Glu Cys Gly Thr Leu Ser Lys Gly Glu Leu
 20 25 30
 Lys Glu Leu Leu Glu Lys Glu Leu His Pro Val Leu Lys Asn Pro Asp
 35 40 45
 Asp Pro Asp Thr Val Asp Val Ile Met His Met Leu Asp Arg Asp His
 50 55 60
 Asp Arg Arg Leu Asp Phe Thr Glu Phe Leu Leu Met Ile Phe Lys Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Ala Cys Asn Lys Val Leu Ser Lys Glu Tyr Cys Lys Ala
 85 90 95

<210> 10
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..20
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

<400> 10

Phe Thr Glu Phe Leu Leu Met Ile Phe Lys Leu Thr Met Ala Cys Asn

1 5 10 15
 Lys Val Leu Ser
 20

<210> 11
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..15
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

<400> 11

Glu Phe Leu Leu Met Ile Phe Lys Leu Thr Met Ala Cys Asn Lys
 1 5 10 15

<210> 12
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..15
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

<400> 12

Leu Met Ile Phe Lys Leu Thr Met Ala Cys Asn Lys Val Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 13
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..13
 5 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

 <400> 13

 Leu Met Ile Phe Lys Leu Thr Met Ala Cys Asn Lys Val
 1 5 10
 10 <210> 14
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 15 <220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..16
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

 20 <400> 14

 Thr Glu Phe Leu Leu Met Ile Phe Lys Leu Thr Met Ala Cys Asn Lys
 1 5 10 15
 <210> 15
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> FUENTE
 30 <222> 1..8
 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

 <400> 15

 Thr Glu Phe Leu Leu Met Ile Phe
 35 1 5

 <210> 16
 <211> 77
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..77
 45 <223> /mol_type="proteína" /organism="Homo sapiens"

 <400> 16

 Arg Gln His Ala Phe Val Pro Glu Pro Phe Asp Gly Ala Asn Val Val
 1 5 10 15
 Pro Asn Leu Trp Leu His Ser Phe Glu Val Ile Asn Asp Leu Asn His
 20 25 30
 Trp Asp His Ile Thr Lys Leu Arg Phe Leu Lys Glu Ser Leu Arg Gly
 35 40 45
 Glu Ala Leu Gly Val Tyr Asn Arg Leu Ser Pro Gln Asp Gln Gly Asp
 50 55 60
 Tyr Gly Thr Val Lys Glu Ala Leu Leu Lys Ala Phe Gly
 65 70 75

50

REIVINDICACIONES

1. Péptido aislado, representado por una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre:

- SEQ ID NO.: 9,
- un fragmento de esta elegido de entre las secuencias SEQ ID NO.: 10, SEQ ID NO.: 11, SEC. ID NO.: 12, SEQ ID NO.: 13, SEQ ID NO.: 14 y SEQ ID NO.: 15, o
- un homólogo de esta que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% y es capaz de unirse por afinidad a una secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa.

2. Péptido según la reivindicación 1, donde dicho péptido es codificado por una secuencia de ácidos nucleicos representada por una secuencia seleccionada de entre la SEQ ID NO.: 1, un fragmento de esta o un homólogo de esta que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85%.

3. Péptido quimérico que comprende una primera secuencia de aminoácidos fusionada a una segunda secuencia de aminoácidos, donde la primera secuencia de aminoácidos representa un péptido como se define en la reivindicación 1 o 2.

4. Complejo aislado, formado por la interacción de una primera secuencia de aminoácidos con una segunda secuencia de aminoácidos procedente de una SASPasa, o de un homólogo de esta segunda secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% con la secuencia SEQ ID NO.: 16, donde dicha primera secuencia de aminoácidos representa un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

5. Método para el cribado *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto que es un agonista o antagonista de la interacción entre una primera secuencia de aminoácidos y una segunda secuencia de aminoácidos de una SASPasa o un homólogo de esta segunda secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85% con la secuencia SEQ ID No. 16, donde dicha primera secuencia de aminoácidos representa un péptido como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, este compuesto también es capaz de regular la proliferación y/o diferenciación de las células de una epidermis, donde dicho método comprende al menos las etapas que consisten en:

- a) disponer de un complejo como se define según la reivindicación 4 en condiciones propicias para su formación,
- b) asociar, antes o después de la etapa a), la primera y/o la segunda secuencia(s) de aminoácidos a una entidad,
- donde la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos forman con dicha entidad un conjunto capaz de emitir una señal después de la exposición a una longitud de onda de excitación, y la implementación de las etapas a) y b) conduce a la obtención de dicho complejo,
- c) someter dicho complejo a dicha longitud de onda de excitación para obtener una primera señal S1 característica del complejo,
- d) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S1,
- e) poner en contacto el complejo con un medio que se presume que contiene un compuesto para cribar,
- f) someter el medio obtenido en la etapa e) a la longitud de onda de excitación para obtener una segunda señal S2,
- g) determinar cuantitativa o cualitativamente la señal S2, y
- h) comparar las señales primera y segunda S1 y S2 para llegar a una conclusión relacionada con una posible modificación de la conformación tridimensional del complejo en presencia del compuesto cribado.

6. Método según la reivindicación precedente, en el que dicha entidad se elige de entre un soporte que es adecuado para la resonancia de plasmón de superficie, un marcador fluorescente, un anticuerpo o una combinación de anticuerpos primario y secundario, donde dicho anticuerpo o anticuerpo secundario lleva un marcador fluorescente.

7. Método según la reivindicación 5 o 6, en el que la primera y/o la segunda secuencia de aminoácidos está(n) asociada(s) a dicha entidad mediante acoplamiento químico, por biología molecular o por interacción(es) específica(s) de fuerte afinidad.

8. Método de cribado según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la primera y la segunda secuencia de aminoácidos están asociadas respectivamente con una primera y una segunda entidad, comprendiendo dichas entidades respectivamente un grupo fluorescente A y un grupo fluorescente B, donde dichos grupos A y B definen un par aceptor-donante de energía de fluorescencia adecuado para la implementación de una transferencia de energía por resonancia de fluorescencia.

9. Método según la reivindicación 8, **caracterizado por el hecho de que** dicha señal S1 y/o dicha señal S2 es una señal fluorescente obtenida por irradiación en una longitud de onda de excitación del donante de energía de fluorescencia.

5 10. Composición cosmética que comprende en un medio fisiológico aceptable una cantidad eficaz de al menos un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o de una secuencia de ácidos nucleicos que codifica tal péptido.

10 11. Composición que comprende al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

LISTADO DE SECUENCIASSEQ ID NO: 1 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

accgacctct	tgagaagtgt	tgtcacccgta	attgatgttt	tctacaaata	caccaagcaa	60
gatggggagt	gtggcacact	gagcaagggt	gaactaaagg	aacttctgga	gaaagagctt	120
catccagttc	tgaagaacct	agatgatcca	gacacagtgg	atgtcatcat	gcatatgctg	180
gatcgagatc	atgacagaag	attggacttt	actgagtttc	ttttgatgat	attcaagctg	240
actatggcct	gcaacaagg	cctcagcaaa	gaatactgca	aagct		285

SEQ ID NO: 2 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

tttactgagt	ttcttttgat	gatattcaag	ctgactatgg	cctgcaacaa	ggtcctcagc	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

SEQ ID NO: 3 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

gagtttcttt	tgatgatatt	caagctgact	atggcctgca	acaag		
------------	------------	------------	------------	-------	--	--

SEQ ID NO: 4 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

ctcatgatat	tcaagctgac	tatggcctgc	aacaaggctc	tcagc		45
------------	------------	------------	------------	-------	--	----

SEQ ID NO: 5 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

ctcatgatat	tcaagctgac	tatggcctgc	aacaaggctc			39
------------	------------	------------	------------	--	--	----

SEQ ID NO: 6 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

actgagtttc	ttttgatgat	attcaagctg	actatggcct	gcaacaag		48
------------	------------	------------	------------	----------	--	----

SEQ ID NO: 7 (*Homo sapiens* – ADNc - FLG2)

actgagtttc	ttttgatgat	attc				24
------------	------------	------	--	--	--	----

SEQ ID NO: 8 (*Homo sapiens* – ADNc - SASPasa)

cggcagcatg	ccttcgtccc	ggaacctttt	gatggggcca	atgtcgtccc	aaacctctgg	60
ctgcacagct	ttgaagtcac	caatgacctc	aaccattggg	accatatcac	caagctaagg	120
ttctgaaag	agtcctcag	aggagaggcc	ctgggtgtct	acaataggct	cagtcctccag	180
gaccaggag	actatgggac	tgtgaaagag	gccctcctga	aggcctttgg	g	231

SEQ ID NO: 9 (*Homo sapiens* -- proteína- FLG2)

10 20 30 40 50 60
 TDLLRSVTV IDVFYKYTKQ DGECGTLSKG ELKELLEKEL HPVLKNPDDP DTVDVIMHML
 70 80 90
 DRDHDRRLDF TEFLLMIFKL TMACNKVLSK EYCKA

SEQ ID NO: 10 (*Homo sapiens* --proteína - FLG2)

10 20
 FTEFLLMIFK LTMACNKVLS

SEQ ID NO: 11 (*Homo sapiens* --proteína - FLG2)

10
 EFLLMIFKLT MACNK

SEQ ID NO: 12 (*Homo sapiens* --proteína - FLG2)

10
 LMIFKLTMAC NKVLS

SEQ ID NO: 13 (*Homo sapiens* --proteína -- FLG2)

10
 LMIFKLTMAC NKV

SEQ ID NO: 14 (*Homo sapiens* --proteína -- FLG2)

10
 TEFLLMIFKL TMACNK

SEQ ID NO: 15 (*Homo sapiens* --proteína -- FLG2)

TEFLLMIF

SEQ ID NO: 16 (*Homo sapiens* -- proteína - SASPasa)

10 20 30 40 50 60
 EQHAFVPEPF DGANVVPNLW LHSFEVINDL NHWDHITKLR FLKESLRGEA LGVYNRLSPQ
 70
 DQGDYGTVKE ALLKAFG