

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 835**

51 Int. Cl.:

A01H 4/00	(2006.01)	C12N 15/82	(2006.01)
A01N 63/00	(2006.01)		
C07K 14/575	(2006.01)		
C12N 1/12	(2006.01)		
C12N 5/00	(2006.01)		
A01N 65/08	(2009.01)		
A01N 65/44	(2009.01)		
C07K 14/435	(2006.01)		
A01H 3/04	(2006.01)		
C07K 14/415	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2011 PCT/EP2011/058464**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011 WO11147826**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2011 E 11722787 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2575429**

54 Título: **Procedimiento para aumentar la biomasa vegetal**

30 Prioridad:

25.05.2010 EP 10382143

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

06.02.2019

73 Titular/es:

**BIOMASS BOOSTER, S.L. (100.0%)
Enrique Malo, 10
26144 Galilea - La Rioja, ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ RAMÍREZ, ALFREDO y
ARENAS VIDAL, JORGE CONRADO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 698 835 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

Procedimiento para aumentar la biomasa vegetal

Campo de la invención

5 La presente invención está comprendida dentro del campo de la biotecnología, concretamente, en la producción de biomasa vegetal. Por tanto, la presente invención se refiere al uso de un péptido que comprende un anillo de seis miembros creado por el enlace disulfuro entre dos cisteínas en el aumento de la biomasa vegetal, lo que tiene aplicación en la industria maderera, en la obtención de energía procedente de fuentes renovables y en la agricultura.

Antecedentes de la invención

10 El crecimiento celular, tanto en plantas como en animales, está orquestado por una serie de señales extracelulares conocidas como hormonas o factores de crecimiento (Galinha y col. 2009, *Semin Cell Dev Biol.* 20: 1149-1156), que actúan a través de receptores de membrana específicos (Santner y Estelle 2009, *Nature* 459: 1071-1078; De, I y col. 2009, *Nat Cell Biol* 11: 1166-1173). Estas hormonas pueden ser sintetizadas en el interior de la planta o provenir de organismos externos, como en el caso de los factores producidos por las rizobacterias que favorecen el crecimiento de su planta simbiote (Lugtenberg and Kamilova 2009, *Annu Rev Microbiol* 63:541-556).

15 Se han establecido cinco grupos de factores de crecimiento en plantas: auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico y sus derivados y etileno. Estas sustancias están ampliamente distribuidas y pueden, en efecto, hallarse en todas las plantas superiores. Son específicas en cuanto a su acción, ejercen su actividad a muy bajas concentraciones, y regulan el crecimiento de las células, la división y la diferenciación celular, así como la organogénesis, la senescencia y el estado de latencia. Menos frecuente, aunque no del todo desconocido, es el caso en que se produce una conservación de la estructura de un factor de crecimiento de manera que sea funcional tanto en plantas como en animales. Un ejemplo típico es la glicoproteína conocida como granulina, que tiene representantes desde los hongos hasta los mamíferos, y que desempeña funciones tan variadas como modulación del crecimiento vegetativo en vegetales, o como la regulación del cáncer en animales (Bateman y Bennett 2009, *Bioessays* 31: 1245-1254).

25 Con el fin de regular el desarrollo de las plantas y aumentar la biomasa vegetal, se han realizado numerosos intentos de controlar el crecimiento de las mismas mediante el uso de compuestos químicos, tales como, por ejemplo, el descrito en la solicitud de patente EP0934951A1, o fertilizantes. La solicitud de patente US2010/0016166A1 describe un procedimiento para aumentar el número de semillas y flores de una planta que comprende cultivar una planta en presencia de glutamato. La solicitud de patente internacional WO2010/001184A1 describe una composición que comprende (i) un mineral de calcita natural micronizada; (ii) zeolita micronizada; y (iii) uno o más aditivos para la estimulación del crecimiento vegetal y mejorar el rendimiento de los cultivos. Sin embargo, la fertilización mineral tiene un efecto negativo en la producción agrícola pues las altas concentraciones de fertilizante pueden dañar el suelo y no siempre se obtienen los resultados deseados en cuestión del rendimiento de los cultivos.

35 En los últimos tiempos, y debido a los avances en la manipulación genética, se ha desarrollado una nueva estrategia para el aumento de la biomasa vegetal que consiste en el control de la expresión de determinados genes que controlan el metabolismo celular de la planta. En este sentido, la solicitud de patente estadounidense US2009/0094716A1 describe un procedimiento para aumentar la biomasa vegetal que comprende la manipulación de la expresión del gen *fve* que codifica una proteína (FEV) que presenta 6 copias de un dominio WD40. La inhibición de la expresión de FVE proporciona a la planta una propiedad agronómica mejorada, concretamente, el aumento en el rendimiento de la biomasa producida por la planta respecto a una planta control. Por otro lado, la solicitud de patente internacional WO2007/027866 describe el uso de un ADN recombinante para la expresión de proteínas útiles en el control de la morfología, fisiología y crecimiento de la planta. Dicho ADN recombinante comprende un promotor funcional en plantas unido covalentemente a una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína que presenta, al menos, un dominio de la familia de proteínas Pfam. La solicitud de patente WO2009/003429A2 describe un procedimiento para regular la producción de biomasa en plantas que comprende la modificación de la expresión del gen *cki1* o de ortólogos y homólogos del mismo. La solicitud de patente estadounidense US2010/0037351A1 describe el aumento de la biomasa vegetal, y con ello el rendimiento de la planta bajo estrés hiperosmótico, mediante la sobreexpresión en las plantas del gen que codifica la fosfolipasa D ϵ (PLD ϵ). Sin embargo, los procedimientos que implican la manipulación genética de la planta suelen ser costosos y no cuentan con la aceptación social.

55 La solicitud de patente internacional WO2004/035798 desvela la identificación de genes que están regulados en exceso (*upregulated*) o por defecto (*downregulated*) en plantas transgénicas que sobre-expresan E2Fa/DPa, y su uso para alterar las características de las plantas; en particular, se describe la proteína de la SEQ ID NO: 1848, aunque su eventual uso como factor de crecimiento de plantas no se muestra.

Además, la solicitud de patente internacional WO2010/046221 describe, en general, un procedimiento para producir una planta con un rendimiento aumentado en comparación con la planta tipo salvaje (wild type) correspondiente que comprende aumentar al menos la actividad de un grupo de proteínas, incluyendo las proteínas de la SEQ ID NO:

4659 y 4660, aunque no se desvela la capacidad de dichas proteínas para aumentar la biomasa vegetal.

Por tanto, existe en el estado de la técnica la necesidad de desarrollar procedimientos alternativos a los ya existentes para aumentar la biomasa vegetal y con ello, el rendimiento de los cultivos, que no presenten los inconvenientes anteriormente citados.

- 5 Se ha encontrado ahora que la administración de adrenomedulina a plantas y algas aumenta su biomasa. La adrenomedulina (AM) y el péptido de 20 aminoácidos de la región N terminal de la proadrenomedulina (PAMP) proceden del procesamiento post-traducciona
- 10 fisiológicas similares y muy numerosas. Entre ellas están su efecto vasodilatador, broncodilatador, regulador del crecimiento y de la motilidad celular, modulador de la secreción de otras hormonas y regulador de la absorción intestinal (López, J y Martínez, A. 2002. *Int Rev Cytol* 221: 1-92). En el contexto de las células cancerosas, la AM actúa como un factor de crecimiento, promueve la motilidad celular, reduce la apoptosis e induce la angiogénesis (Martínez y col. 2002, *J Natl Cancer Inst* 94: 1226-1237).

Sumario de la invención

- 15 Los autores de la presente invención han descubierto que, sorprendentemente, la administración de adrenomedulina a las plantas y algas (incluyendo microalgas), en general "organismos fotosintéticos", produce en dichos organismos, un crecimiento de su biomasa, descubriendo de este modo una nueva aplicación para dicha proteína como factor de crecimiento en plantas y algas.

- 20 Como se muestra en el Ejemplo 1, se pusieron callos de zanahoria y tabaco en presencia de concentraciones crecientes de adrenomedulina y se observó que, en comparación con la muestra control, se producía un aumento de crecimiento en los callos siguiendo una respuesta dependiente de la dosis (Figura 1). Además, el Ejemplo 2 muestra que microalgas (*Chlorella*) tratadas con adrenomedulina crecen más rápido que las microalgas no tratadas.

- 25 Por tanto, basándose en estos descubrimientos, la presente invención permite aumentar la biomasa vegetal de una planta, o de un alga, sin necesidad de tener que aplicar hormonas (giberelinas, auxinas, citocininas, etc.) ni productos agroquímicos. Además, puesto que se trata de un factor extrínseco al organismo fotosintético (es decir, no es producida de forma natural por la planta o el alga) no tendría efectos secundarios en la fisiología de la planta (flujo de savia, apertura de estomas, turgencia, relaciones con hongos simbioses, etc.) o del alga y solo influiría en el crecimiento de la planta o del alga, que es el efecto que se ha observado. Adicionalmente, el hecho de que no se produzca de forma natural en las plantas o en las algas, facilita los controles ambientales y de dispersión de material genéticamente modificado.

- 30 Por otro lado, es conocido que la adrenomedulina presenta un motivo característico (o rasgo identificativo) en su secuencia de aminoácidos que está implicado en el reconocimiento del receptor, que consiste en un anillo de 6 aminoácidos creado por el enlace disulfuro entre dos cisteínas [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys]. Por tanto, sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que cualquier proteína que presente dicho motivo en su secuencia de aminoácidos, reconocerá al receptor y desencadenará los procesos que llevan a un aumento de la biomasa de dichos organismos fotosintéticos (por ejemplo, plantas o algas), ejerciendo su papel como factor de crecimiento.

Por tanto, basándose en este nuevo efecto de la adrenomedulina sobre los organismos fotosintéticos (por ejemplo, plantas o algas) y teniendo en cuenta el motivo presente en su secuencia de aminoácidos, se han desarrollado los siguientes aspectos inventivos:

- 40 - Un procedimiento para aumentar la biomasa vegetal en un organismo fotosintético que comprende cultivar dicho organismo fotosintético en presencia de un péptido que comprende:

i. la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3; o

- 45 ii. Una variante funcional del péptido definido en (i), en la que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en la que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos

Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1] en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos,

- 50 en el que dicho péptido está presente en una concentración entre 10⁻⁸ M y 10⁻¹⁶ M.

- Un organismo fotosintético transgénico que comprende una construcción génica para aumentar la biomasa que comprende:

- 55 b. un ácido nucleico que codifica un péptido cuya secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 3; o una variante funcional del mismo, en el que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3

de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en el que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1] en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos, y

5 c. elementos reguladores para regular su expresión en el organismo fotosintético,

en el que el organismo fotosintético es un alga o una planta seleccionada entre especies madereras, leguminosas, gramíneas, árboles frutales, orquídeas de la familia *Orchidaceae*, *Laurus nobilis*, *Lonicera fragrantissima*, *Magnolia stellata*, *Hydrangea macrophylla*, *Laburnum x watereri*, *Kerria japónica*, álamo, sauce, eucalipto, algarrobo, árboles coníferos, acacia, banano, cardo, miscanto, caña común, euforbio, nopal, remolacha, maíz, sorgo dulce, caña de azúcar, patata, pataca, colza, girasol, soja, lechuga, col, espinaca, acelgas, judías verdes, plantas de tomate, sorgo, 10 trigo, centeno, cebada y plantas pertenecientes a los géneros *Aeschynantus*, *Carina*, *Columnnea*, *Anemone*, *Azalea*, *Begonia*, *Calceolaria*, *Camelia*, *Dianthus*, *Freessia*, *Gerbera*, *Hibiscus*, *Hypoestes*, *Kalanchoe*, *Nicotiana*, *Pelargonium*, *Petunia*, *Primula*, *Rannunculus*, *Rhipsalidopsis*, *Rosa*, *Saintpaulia*, *Sinningia-gloxinia*, *Streptocarpus*, *Tigridia*, *Verbena*, *Zinnia*.

15 Estos aspectos inventivos, así como las diferentes realizaciones particulares de los mismos se explicarán en detalle a continuación en la descripción detallada de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una gráfica de barras que muestra el crecimiento relativo de la biomasa vegetal en función de la concentración molar de adrenomedulina presente en el medio. Cada barra representa la media estadística y la 20 desviación típica de 8 repeticiones independientes.

La Figura 2 es una gráfica que muestra el efecto de la adrenomedulina sobre microalgas del género *Chlorella*; las microalgas tratadas con adrenomedulina crecen más rápido que las microalgas no tratadas con adrenomedulina.

Descripción detallada de la invención

Procedimiento de la invención

25 En un aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético (en lo sucesivo en el presente documento, procedimiento de la invención) que comprende cultivar dicho organismo fotosintético en presencia de un péptido (en lo sucesivo en el presente documento, factor de crecimiento de la invención) que comprende:

i. la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3; o

30 ii. Una variante funcional del péptido definido en (i), en la que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en la que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos

35 Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1] en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos,

en el que dicho péptido está presente en una concentración entre 10⁻⁸ M y 10⁻¹⁶ M.

Los aminoácidos Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄ pueden ser iguales o diferentes entre sí. En una realización particular, Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y/o Xaa₄ es un aminoácido distinto de Cys.

40 Como se usa en el presente documento, la expresión “organismo fotosintético” incluye cualquier organismo capaz de realizar la fotosíntesis, es decir, un proceso que convierte el dióxido de carbono en compuestos orgánicos, especialmente azúcares, usando la energía de la luz solar. La fotosíntesis ocurre en plantas, algas, y en muchas especies de bacterias, por ejemplo, cianobacterias, etc., pero no en arqueas. Los organismos fotosintéticos también se denominan fotoautótrofos, ya que pueden producir su propio alimento.

45 El término “planta”, como se usa en el presente documento, incluye cualquier ser vivo que pertenezca al reino *Plantae*, por ejemplo, árboles, flores, hierbas, arbustos, pastos, parras, helechos, musgos, algas verdes, etc. Actualmente, las plantas pueden clasificarse en tres grupos, a saber: (i) plantas terrestres o embriófitos, más formalmente Embriófita o Metafita, que constituye el grupo más familiar de plantas e incluye plantas terrestres no vasculares o briofitas, y plantas vasculares o traqueofitas, que incluyen plantas de semilla o espermatofitos; (ii) 50 plantas verdes – también conocidas como *Viridiplantae*, viridífita o clorobionte; y (iii) Arqueoplástida, Plastida o *Primoplantae*.

Como se usa en el presente documento, el término “alga” incluye un gran y diverso grupo de organismos sencillos, normalmente autótrofos, que abarcan desde formas unicelulares a pluricelulares. En una realización particular, el alga es una microalga, es decir, un alga microscópica, que normalmente se encuentra en agua dulce y sistemas

marinos.

El término “cianobacterias”, habitualmente denominadas algas verdeazuladas, como se usa en el presente documento, aunque se incluyó tradicionalmente como “alga” en libros de texto antiguos, muchas fuentes actuales consideran esto anticuado y ahora se consideran bacterias.

5 En el contexto de la presente invención, “biomasa de un organismo fotosintético” se entiende tanto la cantidad de material biológico o materia orgánica que constituye un organismo fotosintético, como el material biológico o materia orgánica generada en un proceso biológico, espontáneo o no (es decir, provocado). En una realización, la biomasa se usa como fuente de energía, por ejemplo, madera, restos, gas (hidrógeno), combustibles de alcohol, etc.

10 En una realización particular, en la que el organismo fotosintético es una planta vascular, la biomasa de dicha planta incluye la cantidad de material biológico o materia orgánica presente en la planta, es decir, la materia biológica o materia orgánica que constituye tanto la parte aérea de la planta, esto es, el tallo, el tronco, las hojas, las ramas, el fruto, las inflorescencias, etc. (biomasa aérea), como la parte subterránea de la misma, es decir, las raíces, callos, tubérculos, etc. (biomasa subterránea). Con frecuencia, la “biomasa vegetal” se mide como la masa o peso seco (o “peso fresco” según corresponda) de la planta.

15 En la presente invención, la expresión “aumento de la biomasa de un organismo fotosintético” se entiende como el efecto sobre el organismo fotosintético de obtener una tasa de crecimiento mayor de 1, en la que la tasa de crecimiento (TC) se define mediante la fórmula:

$$TC = \text{Peso final/peso inicial}$$

20 Otra forma de medir un aumento en la biomasa vegetal de un organismo se basa en el cálculo de la tasa de crecimiento relativo (TCR) o ganancia de biomasa por unidad de biomasa y tiempo, y se define mediante la fórmula:

$$TCR = (\ln P_2 - \ln P_1) / (t_2 - t_1)$$

en la que P_1 y P_2 son el peso de la planta en los tiempos 2 y 1 ($t_2 - t_1$ respectivamente) [Valladares, F. 2004, *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, páginas 191-227. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S.A., Madrid].

25 Como entenderá el experto en la materia, en el caso de las plantas vasculares, en el estado de la técnica existen otros parámetros que, relacionados directa o indirectamente con la TC, pueden usarse para determinar el crecimiento de la biomasa vegetal de dicha planta. Ejemplos ilustrativos, no limitantes, de dichos parámetros, incluyen:

30 - la relación de área foliar (LAR, siglas del inglés “*leaf area ratio*”) o relación de área foliar con respecto al peso total de la planta. Se expresa en m^2 (hoja) kg^{-1} (planta). El área foliar se puede medir por varios procedimientos. Existen medidores automáticos de área foliar, provistos de una cámara de video, tarjeta de digitalización y programa informático de análisis de imagen que permiten medidas de área (además de otras dimensiones: ancho, longitud, etc.) de numerosas hojas con bastante rapidez. Otro sistema es fotocopiar las hojas o escanearlas y mediante un programa de análisis de imagen estimar la superficie. Otra sencilla alternativa es recortar las siluetas de las hojas fotocopiadas y pesarlas, utilizando un recorte del mismo papel con superficie conocida para calibrar la relación peso/área. Una vez medida la superficie de las hojas, éstas se guardan en sobres de papel, con su identificación, se secan en estufa y se pesan para obtener de este modo el “peso seco”;

35 - el área específica foliar (SLA, siglas del inglés “*specific leaf area*”) o relación de área foliar con respecto al peso de la hoja. Se expresa en m^2 (hoja) kg^{-1} (planta);

40 - la fracción media de hoja (LMF, siglas del inglés “*leaf mean fraction*”) o relación de biomasa de hojas con respecto a la biomasa total de la planta. Se expresa en kg (hoja) kg^{-1} (planta); o

- la tasa de asimilación neta (NAR, siglas del inglés “*net assimilation rate*”) o tasa de aumento en el peso de la planta por unidad de área foliar. Se expresa en kg (planta) m^{-2} (hoja) día^{-1} . La tasa de crecimiento relativo es igual al producto de LAR por NAR.

45 Otros parámetros del análisis del crecimiento incluyen:

- la fracción de masa del tallo (SMF, siglas del inglés “*stem mass fraction*”) o relación de biomasa de tallo con respecto a la biomasa total de la planta. Se expresa en kg (tallo) kg^{-1} (planta);

- la fracción de masa de la raíz (RMF, siglas del inglés “*root mass fraction*”) o relación de biomasa de raíz con respecto a la biomasa total de la planta. Se expresa en kg (raíz) kg^{-1} (planta); y

50 - el contenido de materia seca (DM, siglas del inglés “*dry matter*”) o la relación de peso seco con respecto al peso fresco de la planta. Se expresa en kg (peso seco) kg^{-1} (peso fresco).

El procedimiento de la invención se puede aplicar a cualquier tipo de organismo fotosintético, por ejemplo, una planta, un alga, etc. Por tanto, de acuerdo con la presente invención, cuando se pone en contacto prácticamente cualquier organismo fotosintético con el factor de crecimiento de la invención, se obtiene un aumento en la biomasa de dicho organismo fotosintético.

- 5 Como se ha indicado al principio de la presente descripción, el factor de crecimiento de la invención es un péptido que comprende el motivo [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys]. Sin embargo, en una realización particular, el factor de crecimiento de la invención es un péptido que comprende el motivo [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys], a condición de que dicho péptido no sea el péptido de la SEQ ID NO: 4 ni el péptido de la SEQ ID NO: 6.

- 10 Como entiende el experto en la materia, dicho motivo estará, opcionalmente, flanqueado por otras secuencias de aminoácidos que forman parte del péptido identificado como el factor de crecimiento de la invención.

Por tanto, en una realización particular, dicho péptido (factor de crecimiento de la invención) comprende la secuencia de aminoácidos

X₁-Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys-X₂ en la que:

- 15 - X₁ representa la secuencia de aminoácidos del extremo amino terminal del péptido, y
- X₂ representa la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal del péptido.

- 20 El término "péptido", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula formada por la unión de aminoácidos mediante enlaces peptídicos, e incluye, por simplicidad, tanto péptidos como polipéptidos y proteínas, aunque, en general, se acepta que el término "proteína" se aplica a moléculas biológicas completas con una confirmación estable mientras que el término "péptido" se reserva, en general, para oligómeros de aminoácidos de cadena corta que con frecuencia carecen de una estructura tridimensional estable; asimismo, el término "polipéptido" se suele reservar a cualquier cadena lineal de aminoácidos, independientemente de su longitud (en general), que con frecuencia carece de una conformación definida.

- 25 Aunque la longitud de la secuencia de aminoácidos del extremo amino terminal del péptido (X₁) puede variar dentro de un amplio intervalo, en una realización particular, X₁ presenta una longitud comprendida entre 1 y 250 aminoácidos, o incluso más normalmente entre 1 y 175 aminoácidos, habitualmente entre 1 y 100 aminoácidos, más habitualmente entre 1 y 50 aminoácidos, aún más habitualmente entre 2 y 40 aminoácidos, y todavía aún más habitualmente entre 5 y 35 aminoácidos.

- 30 Análogamente, aunque la longitud de la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal (o C terminal) del péptido (X₂) puede variar dentro de un amplio intervalo, en una realización particular, X₂ presenta una longitud comprendida entre 1 y 250 aminoácidos, o incluso más normalmente entre 1 y 175 aminoácidos, habitualmente entre 1 y 100 aminoácidos, más habitualmente entre 1 y 50 aminoácidos, aún más habitualmente entre 2 y 40 aminoácidos.

- 35 En una realización particular, la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal del péptido (X₂) comprende la secuencia de aminoácidos GRRRR (SEQ ID NO: 7), que, en otra realización todavía más particular, se encuentra a una distancia de entre 10 y 50 aminoácidos de la última Cys de la secuencia Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys, es decir, hay entre 10 y 50 aminoácidos entre el último aminoácido (Cys) de dicha secuencia y el primer aminoácido (G) de la secuencia GRRRR (SEQ ID NO: 7).

En una realización particular, el extremo C terminal de X₂ está amidado.

- 40 Los ejemplos ilustrativos de péptidos que comprenden dicho motivo [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys] incluyen, pero no se limitan a, la adrenomedulina, las proteínas de *Arabidopsis* cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en las secuencias SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6, las proteínas de *Oryza sativa* (arroz) cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 10, y la proteína de *Thalassiosira pseudonana* (diatomea) cuya secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 11.

- 45 Por tanto, en una divulgación particular el factor de crecimiento de la invención se selecciona entre el grupo que consiste en adrenomedulina, los péptidos cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5, la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 9, la SEQ ID NO: 10 y la SEQ ID NO: 11, y combinaciones de los mismos, que se describirán en detalle a continuación.

Adrenomedulina

- 50 La adrenomedulina (AM) es un péptido hipotensor encontrado originalmente en feocromocitoma humano, que consiste en 52 aminoácidos, tiene un puente disulfuro intramolecular [Cys-Cys] y presenta alta homología con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. La proteína precursora, la preadrenomedulina (SEQ ID NO: 2) tiene una longitud de 185 aminoácidos (n.º de acceso de GenBank AAC60642.1) que, tras ser procesada intracelularmente, da lugar a una proteína madura de 52 aminoácidos que será la adrenomedulina. En una realización particular del procedimiento de la invención, la AM es la adrenomedulina humana que viene definida por la SEQ ID NO: 3. Sin querer estar vinculado a ninguna teoría, se piensa que el hecho de que la AM humana tenga

actividad sobre los tejidos vegetales se debe a la existencia de un factor similar en las plantas o en los microorganismos asociados a ellas.

SEQ ID NO: 2 (preproadrenomedulina)

MKLVSV~~ALMY~~ LGSLAFLGAD TARLDVASEF RKKW~~NKWALS~~ RGKRELRMSS
 SYFTGLADV~~K~~ AGFAQTLIRP QDMKGASRSP EDSSPDAARI RVKRYRQSMN
 NEQGLRSFGC RFGTCTVQKL AHQIQFTDX DKDNVAPRSK ISEQGYGRRR
RRSLPEAGPG RTLVS~~SKPQA~~ HGAPAPPSGS APHFL

5 [La secuencia de aminoácidos de la adrenomedulina se muestra subrayada y la del motivo GRRRR se muestra con doble subrayado]

SEQ ID NO: 3 (adrenomedulina humana)

10 YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIQFTDKDKDNVAPRSKISPQGY-NH₂ [El motivo característico de la adrenomedulina (Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys) está en negrita, donde las dos cisteínas que forman el puente disulfuro están subrayadas]

Como entiende el experto en la materia, también se incluye dentro de la presente invención cualquier variante de la SEQ ID NO: 3 con capacidad de aumentar la biomasa de un organismo fotosintético.

15 Como se usa en el presente documento, la expresión “variante de la SEQ ID NO: 3” se refiere a cualquier péptido cuya secuencia de aminoácidos se puede obtener a partir de la SEQ ID NO: 3 mediante cambios conservadores de aminoácidos y comprobando que la variante resultante posee la capacidad de aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, mediante la medida de alguno de los parámetros citados anteriormente. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos se refieren a la capacidad de intercambiar restos que tienen cadenas laterales similares. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas consiste en glicina, alanina, valina, leucina, e isoleucina; un grupo de aminoácidos que tiene cadenas laterales alifático-hidroxilo consiste en serina y treonina; un grupo de aminoácidos que tiene cadenas laterales que contienen un grupo amida consiste en asparragina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tiene cadenas laterales aromáticas consiste en fenilalanina, tirosina y triptófano; un grupo de aminoácidos que tiene cadenas laterales básicas consiste en lisina, arginina, e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre consiste en cisteína y metionina. Los grupos de sustitución conservadora de aminoácidos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, y asparragina-glutamina.

20 Las variantes funcionalmente equivalentes de la adrenomedulina incluyen polipéptidos que son sustancialmente homólogos a la adrenomedulina nativa [SEQ ID NO: 3]. Como se usa en el presente documento, la expresión “sustancialmente homólogos” se refiere a cualquiera de las secuencias de aminoácidos que presentan un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 %, preferentemente al menos el 85 % e incluso más preferentemente al menos el 95 %. El grado de identidad entre dos péptidos se puede determinar usando algoritmos de ordenador y procedimientos que son ampliamente conocidos por los expertos en la materia. La identidad entre dos secuencias de aminoácidos de dos péptidos se determina preferentemente usando el algoritmo BLASTP (*BLAST Manual*, Altschul, S. y col., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, S., y col., *J. Mol. Biol.*, 1990, 215:403-410).

35 Por otro lado, la adrenomedulina presenta un motivo (o rasgo identificativo) característico en su secuencia de aminoácidos que está implicado en el reconocimiento del receptor de la adrenomedulina, que consiste en un anillo de 6 aminoácidos creado por el enlace disulfuro entre dos cisteínas [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys]. Adicionalmente, la adrenomedulina presenta un extremo carboxilo terminal amidado (CONH₂) separado del motivo por aproximadamente 20-40 aminoácidos. Cualquier variante de la adrenomedulina que presente el motivo Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys en su secuencia de aminoácidos, reconocerá al receptor de la adrenomedulina y desencadenará los procedimientos que conducen a un aumento de la biomasa del organismo fotosintético. Por tanto, la presente invención también contempla aquellas variantes de la adrenomedulina con capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético que comprenden dicho anillo de 6 aminoácidos creado por el enlace disulfuro entre dos cisteínas. Adicionalmente, las variantes de la SEQ ID NO: 3 pueden presentar un extremo carboxilo terminal amidado.

45 Finalmente, fragmentos de la adrenomedulina o de las variantes de la misma tal como se han definido anteriormente también están incluidos dentro de la presente invención a condición de que mantengan la capacidad de aumentar la biomasa de un organismo fotosintético. Dicha capacidad puede determinarse mediante los parámetros mencionados en párrafos anteriores.

50

Proteínas de *Arabidopsis*

Otras divulgaciones particulares del factor de crecimiento incluyen las proteínas de *Arabidopsis* descritas en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6.

5 La proteína identificada con la secuencia SEQ ID NO: 4 [MLDTLIGGIVGGIAGAIIGTVDGFARGIGICPDSYQSC**CTR****TD**CEEHKKKLPTNLSRNGGAAAVKAKEN**GRRRR**QKDRE-NH₂] es una proteína de nombre desconocido con el número de acceso de GenBank NP_564910.

10 La proteína identificada con la secuencia SEQ ID NO: 5 [MDPKSCENSSDVKGQTSDSVSKVLIEEEEDVKKPQQGKENDSRMAKDVVSCSSNISAHVHVEEVADNVTAVSCNEAESDISKAKAKEFHTIDLSGVGERICRICHFGSDQSPEASGDDKSVSPELIEIGCKCKNELGLAHFHCAEAWFKLRGNSV**CEICGC**TAKNVTVRLMEDWSGERDNTLD**GRRRR**GRGQSCCIFMVLLTILLHWFFKKISGYQNT-NH₂] es una proteína de la familia dedos de cinc (dedo Anillo de tipo C3HC4) con número de acceso de GenBank NP_180967.

15 La proteína identificada con la SEQ ID NO: 6 [MGDVLFIDDTKSKVRITRERICHEEEEEFFEVPCACSGTVKFAHRN**CIQRWC**NEKGNNTTCEICLQVYKGYTAVLKQSKLIEQEVTVRNV**GRRRR**RSRRLVSIAESDISQCNSVADRGASFCRSLTFTLSVFLMKHTFDVIYGTEEYPFSVFTVLTLLKAIGILLPMFIIIRTISTIQKTLRRRHQYPESEEEEDRLSSDDDDLEEEDEEQQHHLA-NH₂] es una proteína denominada pitchoun 1 (PIT1) con el número de acceso de Genbank NP_567222.

[En todos los casos, el motivo característico del factor de crecimiento de la invención (Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys) está en negrita, las dos cisteínas que forman el puente disulfuro están subrayadas; y la secuencia de aminoácidos del motivo GRRRR tiene doble subrayado y está en negrita]

20 Como entiende el experto en la materia, variantes y fragmentos de dichas proteínas también están incluidas en el contexto de la presente divulgación, a condición de que conserven el motivo característico del factor de crecimiento de la invención y cuando se administren a un organismo fotosintético aumenten su biomasa. El aumento de la biomasa de un organismo fotosintético se puede averiguar mediante alguno de los parámetros citados anteriormente, por ejemplo, mediante un ensayo de aumento de biomasa vegetal como el descrito en el Ejemplo 1, o
25 por medio de un ensayo de aumento de biomasa de alga, tal como el descrito en el Ejemplo 2. El término variante y su significado en el contexto de la presente invención han sido definidos en párrafos anteriores.

Proteínas de *Oryza sativa*

30 Los péptidos que comprenden el motivo [Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys] incluyen, sin limitación, las proteínas de *Oryza sativa* (arroz) cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO: 8, la SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 10.

SEQ ID NO: 8:

MEAAPRDDKPARMNS~~EDDD~~GHRRWGS~~DGGE~~AMPRTTSPVRRCDAGGGGGVADSAWEEEGPTG
EIPARRMERPARHGGVPAKYGRRLDGEDDGVLVPGEVVATSASAQ**ET**RQR**PEAEQWRQRHC**
CR**RG****C**TSGGV**R**GKRRAG**R**GRGGDYDAGGGDGTAGRRADAAAGVAGE**GRRRR**RERRSATVWLG
RSGRGKTEGEVD*

SEQ ID NO: 9 (precursor de proteína cinasa 2 similar a receptor de proteína, supuesto, expresado):

MHAA**CLCSTC**CCSCRPRCAARRPRRARRRRRCSRGRTPCRARRRRRRPSSGR**GRRRR**RSSRTRT
 PRRGARGAAWRRRVGRRGGRRRGAGVAGTLDALDLSLPLCLAALNLSLNSLTGSFSPNVSS
 PLLSLRSIDLSSNNLSGPI PAALPALMPNLEHLNLSNQSFSGEIPASLAKLTKLQSVVLGSN
 LLHGGVPPVIGNISGLRTELESGNPLGGAIPTTLGKLRSLHINVS LAGLESTIPDELSLCA
 NLTVIGLAGNKLTGKLPVALARLTRVREFNVSKNMLSGEVLPDYFTA WTNLEVFQADGNRET
 GEIPTAITMASRLEFLSLATNNLSGAI PPVIGTLANKLLDLAENKLAGAI PRTIGNLTSLE
 TLRLTYTNKLTGRLPDELGDMAALQRLSVSSNMLEGELPAGLARLPRLVGLVAFDNL LSGAIP
 PEFGRNGQLSIVSMANNRFSGELPRGVCASAPRLRWLGLDDNQFSGTVPACYRNLTNLVRLR
 MARNKLAGDVSEI LASHPDLYYLDLSGNSFDGELPEHWAQFKSLSFLHLSGNKIAGAI PASY
 GAMS LQDLDLSSNRLAGEI PPELGS LPLTKLNLRRNALSGRVPATLGNAARMEMLDLSGNAL
 DGGVPVELTKLAEMWYLNLSNNLSGEVPPLLGKMRS LTTLDLSGNPGLCGHDIAGLNSCSS
 NTTTGDGHSGKTRLVLA VTL SVAALLVSMVAVVCAVSRKARRAAVVVEKAETSASGGGGSS
 TAAAVQASIWSKDTTFSFGDILAATEHFNDAYCIGKGSFGTVYRADLGGGRAVAVKRLDASE
 TGDACWGVSERSFENEVRALTRVRHPNIVKLHGFCAMGGMYLVYELAERGLGAVLYGGCG
 GGGCRFDWPARMRAIRGVAHALAYLHHD CSPMIHRDVS VNNVLLDPDYEPVSDFGTARFL

VPGRSTCD SIAGSYGYMAPELAYMRVTTKCDVYSFGVVAMEMLMGKYPGGLISSLQHS PQSL
 SAEGHDGSGGGGGEASASASRRLLLKDVVDQRLDAPAGKLAGQVVFVVALSCVRTSPDA
 RPTMRAVAQELAAARRPILDRPFEMIKIGDLTNSHR*

SEQ ID NO: 10:

MSRRGTRRQRDNGDRGAASSSSPSTSPSHCPAGGWASQIR**CCGAWC**GGRTSVAVMLGDGAP
 VLL**GRRRR**RRPPSSLLMLFF FFFHVQNACMPCSLAC*

5 [En todos los casos, el motivo característico del factor de crecimiento de la invención (Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys) está en negrita, las dos cisteínas que forman el puente disulfuro están subrayadas; y la secuencia de aminoácidos del motivo GRRRR tiene doble subrayado y está en negrita]

Proteína de *Thalassiosira pseudonana* (diatomea)

SEQ ID NO: 11:

MAPALCGDLISTRRSFLALAWTLTLLSFFSFVVAVFLAGRINQQYISMTSGDYAEWYTHEY
 GNDFYDRLLLEEGSGECCRYLEGGEEGGGGEQQREGEDHDRQEGGSNDRNQLDAEFFQSLANA
 NSRSLEFAGVYTTVLGIALSLYGSTVVGFM SLKGEYIPPCFSFRSM SMIEE EGEVGVEDAD
 TGPRNLWGEKIHRGVFLGCLVIFANLLLLCAVIFGELEVHDN YNNYDQ QNNDNIFSYRIEKI
 SSVFAIT**CIVLAC**VYVLF AVIYLS CGGMLDDNDTVQHNTGNWMDHSHSQFELSPRGH**GRRR**
RRGRRDMPDKAEPLVSAVGGGITEIGCATRSDERAYVLDEGCIDETT*

10 [El motivo característico del factor de crecimiento de la invención (Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys) está en negrita, las dos cisteínas que forman el puente disulfuro están subrayadas y la secuencia de aminoácidos del motivo GRRRR tiene doble subrayado y está en negrita]

15 Con el fin de que el factor de crecimiento de la invención tenga el efecto deseado, es decir, aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, es necesario poner en contacto dicho factor de crecimiento con dicho organismo fotosintético. En el estado de la técnica existe una serie de procedimientos que permiten la administración de principio activos (en la presente invención, el factor de crecimiento de la invención) al organismo fotosintético, especialmente plantas. Análogamente, el principio activo se formula de manera adecuada al procedimiento de administración que se ha de usar.

20 Por lo general, para su administración al organismo fotosintético, el factor de crecimiento de la invención formará parte de una composición que puede usarse bien en forma sólida o bien en forma líquida, por ejemplo, en forma de un polvo humectable o de un concentrado emulsionable que incorpora los diluyentes convencionales. Dichas

- composiciones pueden obtenerse de manera tradicional, por ejemplo, mezclando el factor de crecimiento de la invención con un diluyente y opcionalmente con otros ingredientes o constituyentes. En una realización particular, el organismo fotosintético es una planta y la composición que comprende el factor de crecimiento de la invención se puede obtener de manera tradicional, por ejemplo, mezclando el factor de crecimiento de la invención con un diluyente y opcionalmente con otros ingredientes o constituyentes, que son utilizados habitualmente en las composiciones agrícolas y que son conocidas por el experto en la materia, tales como, pero no limitadas a, disolventes, agentes activos o reguladores de pH, fertilizantes, etc. En una realización particular, el factor de crecimiento de la invención se administra como aditivo para complementar la solución nutritiva que alimenta a la planta en un cultivo hidropónico o, en otra realización particular, se administra al agua de riego de dicha planta.
- 5 La concentración del factor de crecimiento de la invención en la composición puede variar dentro de un amplio intervalo, normalmente desde al menos 10^{-8} hasta 10^{-16} M, aún más habitualmente desde al menos 10^{-8} a 10^{-10} M. Son características técnicas adicionales de dicha composición, por ejemplo, los vehículos agrícolamente aceptables que pueden usarse, los componentes adicionales que puede incorporar, su forma de presentación, su procedimiento de obtención, etc.
- 10 En el sentido utilizado en la presente descripción, la expresión “vehículo agrícolamente aceptable” incluye cualquier sustancia o combinación de sustancias que puede ser utilizada en el sector agrícola, e incluye cualquier material líquido o sólido agrícolamente aceptable que pueda añadirse y/o mezclarse con el factor de crecimiento de la invención con el fin de convertirlo en una forma de aplicación más sencilla o mejorada, o bien con una intensidad de activación aplicable o deseable.
- 15 La composición descrita en el presente documento puede contener, si se desea, además, otros ingredientes o constituyentes utilizados habitualmente en las composiciones agrícolas, tales como, pero no limitados a, disolventes, agentes activos o reguladores de pH, fertilizantes, etc., a condición de que todos ellos permitan o no perjudiquen ni comprometan la capacidad del factor de crecimiento de la invención de aumentar la biomasa vegetal de una planta. Dichos ingredientes o constituyentes utilizados habitualmente en las composiciones agrícolas son, en general, conocidos por los expertos en la materia.
- 20 La composición proporcionada por la presente invención puede obtenerse por procedimientos convencionales basados, generalmente, en la mezcla de los distintos componentes de la composición en las cantidades apropiadas.
- Como se ha indicado anteriormente, el procedimiento de la invención puede usarse sobre cualquier organismo fotosintético. En una realización particular, el procedimiento de la invención se aplicará en aquellos organismos fotosintéticos en los que un aumento de la biomasa sea especialmente deseado, tales como plantas o algas que pueden ser utilizadas industrialmente en cualquier tipo de industria. Por tanto, en una realización particular, el organismo fotosintético es una planta, por ejemplo, una planta para su uso en la producción de energía, por ejemplo, energías renovables, para la alimentación humana o animal, una especie maderera, una planta ornamental, etc.
- 25 Ejemplos de plantas cuya biomasa se usa en la producción de combustibles o energías renovables incluyen, pero no se limitan a,
- (i) plantas para su uso en la producción de energía eléctrica: obtenida principalmente a partir de cultivos energéticos leñosos, de crecimiento rápido, tales como el chopo, el sauce, el eucalipto, la robinia, las coníferas, la acacia, el plátano, etc., y plantas herbáceas, tales como el cardo, el miscanto, la caña común, los euforbios, los nopales, etc.; y
- 30 (ii) plantas para su uso en la producción de biocombustibles: producción de bioalcoholes obtenidos a partir de remolacha, maíz, sorgo dulce, caña de azúcar, patata, pataca, etc., y bioaceites obtenidos a partir de colza, girasol, soja, etc.
- Como entenderá el experto en la materia, también es posible usar biomasa vegetal en la obtención de energía térmica y producir gases combustibles. Sin embargo, debido a las características de estos procedimientos (la energía térmica consiste en aplicar sistemas de combustión directa para obtener calor, y la producción de gases combustibles consiste en la descomposición de la biomasa en un digestor para obtener un gas), la biomasa utilizada en la producción de dicha energía puede proceder de cualquier planta.
- 35 Los ejemplos de plantas madereras incluyen, pero no se limitan a, el pino, el eucalipto, el alcornoque, el cedro, el roble, la encina, etc.
- 50 Los ejemplos ilustrativos, no limitantes, de plantas ornamentales de interés incluyen plantas pertenecientes a los géneros *Aeschynantus*; *Canna*; *Columnea*; *Anemone*; *Azalea*; *Begonia*; *Calceolaria*; *Camelia*; *Dianthus*; *Freessia*; *Gerbera*; *Hibiscus*; *Hypoestes*; *Kalanchoe*; *Nicotiana*; *Pelargonium*; *Petunia*; *Prímula*; *Rannunculus*; *Rhipsalidopsis*; *Rosa*; *Saintpaulia*; *Sinningia-gloxinia*; *Streptocarpus*; *Tigridia*; *Verbena*; o *Zinnia*. Otras plantas ornamentales incluyen las orquídeas (familia *Orchidaceae*) y los arbustos ornamentales, entre los que se incluyen el laurel (*Laurus nobilis*), la madreSelva (*Lonicera fragrantissima*), la magnolia estrellada (*Magnolia stellata*), hortensia (*Hydrangea macrophylla*), Laburno (*Laburnum x watereri*), kerria o rosa japonesa (*Kerria japonica*), etc.;
- 55 Los ejemplos ilustrativos, no limitantes, de plantas utilizadas en la alimentación humana o animal, incluyen los

- árboles frutales, que incluyen, pero no se limitan a, el cerezo, el ciruelo, el melocotonero, el albaricoquero, el olivo, el mango, el peral, el manzano, el níspero, el membrillero, el naranjo, el limonero, la higuera, el mango, los papayos, el castaño, el roble, la encina, la carrasca, el avellano, el almendro, el nogal, etc.; plantas forrajeras, que incluyen, pero no se limitan a, las leguminosas (por ejemplo, los tréboles, alfalfas, clitorias, arachis, leucaena, campanillas, etc.), las gramíneas (por ejemplo, los rye grass, festucas, dactylis glomeratas, navajitas, rodex, buffeles, andropogones, brachiarias, el pasto de bermudas que son considerados pastos de pastoreo y el pasto de elefante, merkeron, caña de azúcar, hierbas de Taiwan y maíz que son gramíneas de corte, etc.), los cereales (por ejemplo, sorgos, trigos, centeno, cebada, etc.); plantas para el consumo humano (lechugas, coles, espinacas, acelgas, judías verdes, plantas de tomate, etc.), etc.
- 5
- 10 En otra realización particular, el organismo fotosintético es un alga, por ejemplo, una microalga tal como una microalga de los géneros *Chlorella*, *Botryococcus*, *Nannochloropsis*, *Haematococcus*, *Neochloris* o *Tetraselmis*; además, ejemplos ilustrativos, no limitantes, de algas de interés en el contexto de la presente invención incluyen, Aonori (*Enteromorpha intestinalis*) (algunas especies del alga verde Monostroma) (Japón), Arame (*Eisenia bicyclis*), Badderlocks, jap. Sarumen (*Alaria esculenta*), Carola (*Callophyllis variegata*) (América del Sur), Carrageen moss
- 15 (*Mastocarpus stellatus*), *Chlorella*, *Laminaria saccharina*, *Durvillea antarctica*, *Palmaria palmata*, *Euchema cottonii*, *Caulerpa lentillifera*, Gulaman, Gulaman-Dagat (*Agardhiella tenera*), Hijiki o Hiziki (*Sargassum fusiforme*), Hondawara (*Sargassum enerve*), *Chondrus crispus*, *Porphyra laciniata*/*Porphyra umbilicalis*, *Ulva lactuca*, *Sargassum echinocarpum*, *Saccharina japonica*, Miru (*Codium* sp.), Mozuku (*Cladosiphon okamuranus*), Nori (algunas especies del alga roja *Porphyra*), Oarweed (*Laminaria digitata*), Ogonori (varias especies de la alga roja *Gracilaria*), *Fucus vesiculosus*, Seatron (*Nereocystis luetkeana*), Slack (*Porphyra purpurea*, syn. *Porphyra laciniata*), *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, Thongweed (*Himanthalia elongata*), Tsunomato (several species of the red alga *Chondrus*), Wakame (*Undaria pinnatifida*), etc.
- 20

Construcción génica de la invención

- 25 Otra posibilidad contemplada por la presente invención para conseguir que el factor de crecimiento de la invención aumente la biomasa de un organismo fotosintético consiste en insertar en el genoma de dicho organismo fotosintético la secuencia de nucleótidos que codifica dicho factor de crecimiento de forma que cuando dicha secuencia de nucleótidos se exprese tenga en el organismo fotosintético el efecto deseado.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a una construcción génica, en lo sucesivo en el presente documento, construcción génica de la invención, que comprende

- 30 a. un ácido nucleico que codifica un péptido cuya secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 3; o una variante funcional del mismo, en el que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en el que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos
- 35 Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1]
en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos, y

(b) elementos reguladores para regular su expresión en un organismo fotosintético.

- 40 En una realización particular, dichos elementos reguladores son adecuados para regular la expresión de la secuencia del ácido nucleico que codifica dicho péptido en un alga; dichos elementos son conocidos para el experto en la materia.

En otra realización particular, dichos elementos reguladores son adecuados para regular la expresión de la secuencia del ácido nucleico que codifica dicho péptido en una planta; dichos elementos son conocidos para el experto en la materia.

- 45 En una realización particular, los elementos reguladores para la expresión de la secuencia de ácido nucleico que codifica dicho péptido son heterólogos con respecto a dicha secuencia de ácido nucleico, es decir, en caso de que dicha secuencia de ácido nucleico codifique una proteína de *Arabidopsis* (e.g., SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6), dicha secuencia de ácido nucleico se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores de su expresión en una planta distintos a los elementos reguladores que, de forma natural, regulan la expresión de dichas proteínas de *Arabidopsis* en dicha planta, o en el caso de que dicha secuencia de ácido nucleico codifique una proteína de *Oryza sativa* (por ejemplo, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10), dicha secuencia de ácido nucleico se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores para regular su expresión en una planta, distintos de los elementos reguladores que regular de manera natural la expresión de dichas proteínas de *Oryza sativa* en dicha planta; o en el caso de que dicha secuencia de ácido nucleico codifique una proteína de *Thalassiosira pseudonana* (por ejemplo, SEQ ID NO: 11), dicha secuencia de ácido nucleico se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores para regular su expresión en un alga distintos a los elementos reguladores que, de forma natural, regulan la expresión de dicha proteína de *Thalassiosira pseudonana* en dicha alga.
- 50
- 55

Los aminoácidos Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄ pueden ser iguales o diferentes entre sí. En una realización particular,

Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y/o Xaa₄ es un aminoácido distinto de Cys.

Por tanto, en una divulgación particular, dicha construcción génica de la invención comprende

(a) un ácido nucleico que codifica un péptido que comprende

(i) la secuencia de aminoácidos

5 Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO: 1] en la que

- Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄ representan independientemente un aminoácido, y

(ii) los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos mostrada en (i) forman un puente disulfuro entre ellos, y

(b) elementos reguladores para su expresión en un organismo fotosintético,

10 a condición de que, cuando dicha secuencia de ácido nucleico (a) codifica una proteína seleccionada entre el grupo que consiste en las proteínas cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6, dicha secuencia de ácido nucleico (a) se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores de su expresión en una planta distintos a los elementos reguladores que, de forma natural, regulan la expresión de dichas proteínas en *Arabidopsis* sp.;

15 a condición de que, cuando dicha secuencia de ácido nucleico (a) codifica un péptido seleccionado entre el grupo que consiste en las proteínas cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10, dicha secuencia de ácido nucleico (a) se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores para regular su expresión en una planta distintos a los elementos reguladores que, de forma natural, regulan la expresión de dichas proteínas en *Oryza sativa*; y

20 a condición de que, cuando dicha secuencia de ácido nucleico (a) codifica un péptido seleccionado entre el grupo que consiste en las proteínas cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en SEQ ID NO: 11, dicha secuencia de ácido nucleico (a) se encuentra bajo el control de unos elementos reguladores para regular su expresión en un alga distintos a los elementos reguladores que, de forma natural, regulan la expresión de dichas proteínas en *Thalassiosira pseudonana* (diatomea).

25 En una realización particular de la construcción génica de la invención, dicho péptido comprende la secuencia de aminoácidos

X₁-Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys-X₂

en la que:

- X₁ representa la secuencia de aminoácidos del extremo amino terminal del péptido, y

30 - X₂ representa la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal del péptido.

Aunque la longitud de la secuencia de aminoácidos del extremo amino terminal del péptido (X₁) puede variar dentro de un amplio intervalo, en una realización particular, X₁ tiene una longitud comprendida entre 1 y 250 aminoácidos, o incluso más normalmente entre 1 y 175 aminoácidos, habitualmente entre 1 y 100 aminoácidos, más habitualmente entre 1 y 50 aminoácidos, aún más habitualmente entre 2 y 40 aminoácidos, y todavía aún más habitualmente entre 5 y 35 aminoácidos.

35 Análogamente, aunque la longitud de la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal del péptido (X₂) puede variar dentro de un amplio intervalo, en una realización particular, X₂ presenta una longitud comprendida entre 1 y 250 aminoácidos, o incluso más normalmente entre 1 y 175 aminoácidos, habitualmente entre 1 y 100 aminoácidos, más habitualmente entre 1 y 50 aminoácidos, aún más habitualmente entre 2 y 40 aminoácidos.

40 En una realización particular, la secuencia de aminoácidos del extremo C terminal del péptido X₂ comprende la secuencia GRRRR (SEQ ID NO: 7) que, en otra realización todavía más particular, se encuentra a una distancia de entre 10 y 50 aminoácidos de la última Cys de la secuencia Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys.

En una realización particular, el extremo carboxilo terminal de X₂ está amidado.

45 En otra divulgación particular, dicho péptido se selecciona entre el grupo que consiste en la adrenomedulina y las proteínas cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en las secuencias SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11, así como sus variantes y fragmentos funcionalmente equivalentes.

50 La construcción génica de la invención puede obtenerse mediante el uso de técnicas ampliamente conocidas en el estado de la técnica [Sambrook y col., 2001. "*Molecular cloning: a Laboratory Manual*", 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y., Vol.1-3]. Dicha construcción génica de la invención incorpora, operativamente unidos a la misma, elementos reguladores para su expresión en un organismo fotosintético. Como se usa en la presente descripción, la expresión "operativamente unido" significa que el ácido nucleico que codifica el factor de crecimiento de la invención [es decir, el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys] se

expresa en el marco de lectura correcto bajo el control de los elementos reguladores de control o las secuencias reguladoras de expresión. Los elementos reguladores de control son secuencias que controlan y regulan la transcripción y, en su caso, la traducción de la proteína, e incluyen secuencias promotoras, secuencias codificantes para reguladores transcripcionales, secuencias de unión a ribosomas (RBS) y/o secuencias terminadoras de transcripción.

La construcción génica de la invención puede insertarse en el genoma de un organismo fotosintético, por ejemplo, una célula o tejido vegetal, o un alga, por cualquier procedimiento apropiado para obtener organismos fotosintéticos transformados. Dichos procedimientos pueden implicar, por ejemplo, el uso de liposomas, electroporación, difusión, bombardeo de partículas, microinyección, cañones génicos ("gene gun"), compuestos químicos que aumentan la captación de ADN libre, por ejemplo, coprecipitación con fosfato cálcico, vectores víricos, etc.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un vector que comprende la construcción génica de la invención.

En una realización particular, dicho vector es un vector adecuado para la transformación de algas; dichos vectores son conocidos por el experto en la materia, por ejemplo, el documento WO2009149470 desvela procedimientos y composiciones para transformar células de algas mediante un vector que comprende un promotor Vcp que regula la expresión y un gen de resistencia a antibióticos en una célula de alga.

En otra realización particular, dicho vector es un vector adecuado para la transformación en plantas; dichos vectores son también conocidos por el experto en la materia. En una realización más particular, vectores apropiados para la transformación de plantas incluyen aquellos derivados del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*, tales como los descritos en el documento EP 120516. Además, de los vectores de transformación derivados de los plásmidos Ti o Ri de *Agrobacterium*, se pueden utilizar procedimientos alternativos para insertar la construcción génica en células y tejidos vegetales, tales como, por ejemplo, pero no limitados a, mediante el protocolo de infiltración a vacío.

Por otro lado, tanto el ácido nucleico que codifica un péptido que cuya secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3; o una variante funcional del mismo, en la que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en la que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos

Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO: 1]

en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄ representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos, [en lo sucesivo en el presente documento, ácido nucleico (a)] y la construcción génica de la invención también puede incorporarse en un vector que incluya un replicón procariota, es decir, una secuencia de ADN capaz de dirigir la replicación autónoma y mantener la molécula de ADN recombinante extracromosómicamente cuando se introduce en una célula hospedadora procariota, tal como una bacteria. Dichos replicones son conocidos en la técnica. Los vectores que incluyen un replicón procariota incluyen, además, generalmente, sitios de restricción para la inserción de la construcción génica. Estos vectores se conocen del estado de la técnica, tal como se describe, por ejemplo, en la patente US 6.268.552.

Análogamente, los vectores también pueden incluir marcadores para comprobar la presencia de ADN heterólogo en los organismos fotosintéticos, por ejemplo, células y/o tejidos vegetales, o algas, que han sido transformados. Los marcadores genéticos que permiten la selección de ADN heterólogo en dichos organismos fotosintéticos, por ejemplo, células vegetales, incluyen los genes que confieren resistencia a antibióticos, por ejemplo, ampicilina, tetraciclina, kanamicina, higromicina, gentamicina, etc. El gen de la neomicina fosfotransferasa tiene la ventaja de que se expresa tanto en células eucariotas como procariotas. El marcador permite la selección de organismos fotosintéticos transformados, por ejemplo, las plantas transformadas satisfactoriamente que crecen en un medio que contiene el antibiótico correspondiente porque llevan el gen de resistencia apropiado.

La introducción de dicho ácido nucleico (a) así como la introducción de dicha construcción génica para transformar un organismo fotosintético, por ejemplo una célula o tejido vegetal, o un alga, y generar un organismo fotosintético, por ejemplo, una planta transgénica o un alga transgénica, puede realizarse, como se ha mencionado anteriormente, mediante cualquier medio conocido en el estado de la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, la transferencia de ADN mediada por *A. tumefaciens*, preferentemente con un vector T-DNA desarmado, electroporación, transferencia directa de ADN, bombardeo de partículas, etc. (para una revisión sobre estos temas, véase, por ejemplo, Marta Izquierdo Rojo en "Ingeniería Genética y Transferencia Génica", 1999, Ediciones Pirámide, S.A, Madrid).

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una célula hospedadora que comprende dicho ácido nucleico (a), una construcción génica de acuerdo con la invención o un vector tal como se ha descrito anteriormente. Las células hospedadoras adecuadas para contener una construcción génica de acuerdo con la invención o un vector tal como se ha descrito anteriormente incluyen, pero no se limitan a, células procariotas, levaduras o células eucariotas, tales como, por ejemplo, células de insecto. Como entenderá el experto en la materia, dependiendo de la célula hospedadora que se vaya a transformar, la construcción génica de la invención o el vector que la contiene puede contener secuencias de control de la expresión que pueden ser funcionales en células y organismos procariotas, por ejemplo, bacterias, etc., o funcionales en eucariotas, por ejemplo, células de insecto, células de mamífero, etc.

En otro aspecto, la invención se refiere a una célula vegetal o de alga transgénica que comprende, integrado en su genoma, dicho ácido nucleico (a) o dicha construcción génica de la invención. Las técnicas para cultivar las células y tejidos vegetales, o algas, transformados y regenerar las plantas o algas transgénicas son bien conocidas en el estado de la técnica, al igual que las condiciones de cultivo y crecimiento de dichas plantas o algas (véase, por ejemplo, Marta Izquierdo (1999) citado anteriormente).

Por tanto, la planta transgénica obtenida a partir de una célula vegetal transformada con la construcción génica de la invención, o el alga transformada con la construcción génica de la invención, constituye un aspecto inventivo adicional de la presente invención. La planta se selecciona entre el grupo definido en la reivindicación adjunta 7.

Uso del factor de crecimiento de la invención

La capacidad del factor de crecimiento de la invención para aumentar la biomasa de los organismos fotosintéticos tiene aplicaciones en diferentes industrias dependiendo del organismo fotosintético. Por tanto, como se ha indicado anteriormente en aspectos inventivos anteriores, el factor de crecimiento de la invención puede usarse en aumentar la biomasa de plantas o algas que se van a utilizar en la producción de energía, en la obtención de madera, en la alimentación humana o animal, o en la floricultura como un modo de mejorar el aspecto de las plantas ornamentales.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención y no deben ser considerados como limitantes del ámbito de la misma.

Ejemplo 1

Aumento de la biomasa vegetal en plantas de zanahoria y tabaco

Material y procedimientos

Se suministraron callos de zanahoria (*Daucus carota*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*) por Carolina Biological Supply Company (Burlington, NC, EE.UU.) y se mantuvieron en condiciones estériles en medio sólido de iniciación de callos para zanahoria o para tabaco respectivamente (adquirido también en Carolina Biological). La composición concreta de los mismos está disponible en el catálogo de la compañía.

Un único callo se dividió en pequeños fragmentos y éstos se pesaron en condiciones estériles y se sembraron sobre medio fresco (medio sólido de iniciación de callos adquirido en Carolina Biologicals) que contenía distintas concentraciones del péptido sintético humano adrenomedulina (AM) (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, EE.UU.) Después de 30 días de crecimiento en la oscuridad se volvieron a pesar los callos y se calculó la tasa de crecimiento como el cociente entre el peso final partido por el inicial.

Se calculó el peso seco de cada muestra sometiendo los callos a un procedimiento de secado en un horno a 250 °C durante 24 horas.

Resultados

Tanto en zanahoria como en tabaco se observó un aumento de crecimiento en los callos después de una respuesta dependiente de la dosis (Figura 1). La concentración de AM más eficaz para estimular el crecimiento celular fue de 10^{-10} M. A concentraciones menores o mayores se produjo un aumento de crecimiento más moderado. A la dosis óptima de AM se obtuvo un aumento del 60 % en biomasa en comparación con el control.

Con el fin de verificar que este aumento de masa no se debía a un aumento de la hidratación del tejido, se midió el peso seco del tejido y se descubrió que las diferencias se mantenían, indicando que el aumento de biomasa correspondía a un crecimiento neto de los tejidos implicados.

El efecto observado en las células de callo, que consiste en un aumento de crecimiento (proliferación celular) en células de callo, se traslada perfectamente a las plantas completas. En algunas ocasiones, el aumento en la proliferación celular puede afectar a las características físicas u organolépticas de las plantas. Sin embargo, el aumento de la biomasa se producirá en las plantas al igual que se produce en las células de callo.

Ejemplo 2

Aumento de la biomasa de algas en microalgas del género *Chlorella*

Material y procedimientos

Se prepararon dos cultivos idénticos de *Chlorella* en medio F/2 de Guillard [Guillard, R.R.L. 1975. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. páginas 26-60. En Smith W.L. y Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, EE.UU.; Guillard, R.R.L. y Ryther, J.H. 1962. *Studies of marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervacea Cleve. Can. J. Microbiol.* 8: 229-239] (250 ml cada uno) en dos matraces de vidrio separados. Después, se añadieron 100 µl de medio F/2 de Guillard al primer matraz y 100 µl de dicho medio F/2 de Guillard que contenía el péptido sintético adrenomedulina

humana (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, EE.UU.) en una cantidad suficiente para conseguir una concentración final de 10^{-8} M en el otro matraz.

Se burbujeó aire con un 5 % de CO₂ continuamente en el cultivo. Los matraces se iluminaron con un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

- 5 Periódicamente se recogieron alícuotas del medio con el fin de evaluar el crecimiento de las microalgas. Se midió la absorbancia a 680 nm con un espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda 35.

Resultados

Las microalgas tratadas con AM crecen más rápidamente y alcanzan la fase estacionaria antes que las microalgas no tratadas.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> BioMass Booster, S.L.

<120> PROCEDIMIENTO PARA AUMENTAR LA BIOMASA VEGETAL

15

<130> P5680PC00

<150> EP 10382143.5

<151> 25-05-2010

20

<160> 11

<170> PatentIn versión 3.5

25

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Motivo comprendido dentro del factor de crecimiento de la invención

<220>

<221> misc_feature

35

<222> (2)..(5)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 1

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
1 5

40

<210> 2

<211> 185

<212> PRT

45

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

ES 2 698 835 T3

Met Lys Leu Val Ser Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe
1 5 10 15
Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys
20 25 30
Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met
35 40 45
Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala
50 55 60
Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg
85 90 95
Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe
100 105 110
Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr
115 120 125
Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln
130 135 140
Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly
145 150 155 160
Arg Thr Leu Val Ser Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro
165 170 175
Pro Ser Gly Ser Ala Pro His Phe Leu
180 185

5 <210> 3
<211> 52
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> DISULFURO
<222> (16)..(21)

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (52)..(52)
<223> AMIDACIÓN

<400> 3

ES 2 698 835 T3

Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys
 1 5 10 15

Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln
 20 25 30

Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser
 35 40 45

Pro Gln Gly Tyr
 50

5 <210> 4
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*

10 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (38)..(43)

15 <220>
 <221> SITIO
 <222> (69)..(73)
 <223> motivo

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (78)..(78)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 4

Met Leu Asp Thr Leu Ile Gly Gly Ile Val Gly Gly Ile Ala Gly Ala
 1 5 10 15

Ile Ile Gly Thr Val Asp Gly Phe Ala Arg Gly Ile Gly Ile Cys Pro
 20 25 30

Asp Ser Tyr Gln Ser Cys Thr Arg Thr Asp Cys Glu Glu His Lys Lys
 35 40 45

Lys Leu Pro Thr Asn Leu Ser Arg Asn Gly Gly Ala Ala Ala Val Lys
 50 55 60

Ala Lys Glu Asn Gly Arg Arg Arg Arg Gln Lys Asp Arg Glu
 65 70 75

25 <210> 5
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*

30 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (157)..(162)

35 <220>
 <221> SITIO

ES 2 698 835 T3

<222> (185)..(189)
 <223> motivo

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (222)..(222)
 <223> AMIDACIÓN

10 <400> 5

Met Asp Pro Lys Ser Cys Glu Asn Ser Ser Asp Val Lys Gly Gln Thr
 1 5 10 15
 Ser Asp Ser Val Ser Lys Lys Val Leu Ile Glu Glu Glu Glu Asp Val
 20 25 30
 Lys Lys Pro Gln Gln Gly Lys Glu Asn Asp Ser Arg Met Ala Lys Asp
 35 40 45
 Val Val Ser Cys Ser Ser Asn Ile Ser Ala His Val Val His Glu Glu
 50 55 60
 Val Ala Asp Asn Val Thr Ala Val Ser Cys Asn Glu Ala Glu Ser Asp
 65 70 75 80
 Ile Ser Lys Ala Lys Ala Lys Glu Phe His Thr Ile Asp Leu Ser Gly
 85 90 95
 Val Gly Glu Arg Ile Cys Arg Ile Cys His Phe Gly Ser Asp Gln Ser
 100 105 110
 Pro Glu Ala Ser Gly Asp Asp Lys Ser Val Ser Pro Glu Leu Ile Glu
 115 120 125
 Ile Gly Cys Lys Cys Lys Asn Glu Leu Gly Leu Ala His Phe His Cys
 130 135 140
 Ala Glu Ala Trp Phe Lys Leu Arg Gly Asn Ser Val Cys Glu Ile Cys
 145 150 155 160
 Gly Cys Thr Ala Lys Asn Val Thr Val Arg Leu Met Glu Asp Trp Ser
 165 170 175
 Gly Glu Arg Asp Asn Thr Leu Asp Gly Arg Arg Arg Arg Gly Arg Gly
 180 185 190
 Gln Ser Cys Cys Ile Phe Met Val Phe Leu Leu Thr Ile Leu Leu Leu
 195 200 205
 His Trp Phe Phe Lys Lys Ile Ser Gly Tyr Tyr Gln Asn Thr
 210 215 220

15 <210> 6
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

ES 2 698 835 T3

<221> DISULFURO
 <222> (49)..(54)

5 <220>
 <221> SITIO
 <222> (93)..(97)

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (218)..(218)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 6

Met Gly Asp Val Ile Leu Phe Ile Asp Asp Thr Lys Ser Lys Val Arg
 1 5 10 15
 Ile Thr Arg Cys Arg Ile Cys His Glu Glu Glu Glu Glu Ser Phe Phe
 20 25 30
 Glu Val Pro Cys Ala Cys Ser Gly Thr Val Lys Phe Ala His Arg Asn
 35 40 45
 Cys Ile Gln Arg Trp Cys Asn Glu Lys Gly Asn Thr Thr Cys Glu Ile
 50 55 60
 Cys Leu Gln Val Tyr Lys Asp Gly Tyr Thr Ala Val Leu Lys Gln Ser
 65 70 75 80
 Lys Leu Ile Glu Gln Glu Val Thr Ile Arg Val Asn Gly Arg Arg Arg
 85 90 95
 Arg Arg Ser Arg Arg Leu Val Ser Ile Ala Glu Ser Asp Ile Ser Gln
 100 105
 Cys Asn Ser Val Ala Asp Arg Gly Ala Ser Phe Cys Arg Ser Leu Thr
 115 120 125
 Phe Thr Leu Ser Val Phe Leu Leu Met Lys His Thr Phe Asp Val Ile
 130 135 140
 Tyr Gly Thr Glu Glu Tyr Pro Phe Ser Val Phe Thr Val Leu Thr Leu
 145 150 155 160
 Lys Ala Ile Gly Ile Leu Leu Pro Met Phe Ile Ile Ile Arg Thr Ile
 165 170 175
 Ser Thr Ile Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg His Gln Tyr Pro Glu Ser
 180 185 190
 Glu Glu Glu Asp Arg Leu Ser Ser Asp Asp Asp Asp Asp Leu Glu Glu
 195 200 205
 Glu Asp Glu Glu Gln Gln Gln His Leu Ala
 210 215

15

<210> 7

ES 2 698 835 T3

<211> 5
<212> PRT
<213> Desconocida

5

<220>
<223> Motivo

<400> 7

10

<210> 8
<211> 198
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*

15

<220>
<221> DISULFURO
<222> (124)..(129)

20

<220>
<221> SITIO
<222> (171)..(175)
<223> motivo

25

<400> 8

Gly Arg Arg Arg Arg
1 5

ES 2 698 835 T3

Met Glu Ala Ala Pro Arg Asp Asp Lys Pro Ala Arg Met Asn Ser Glu
 1 5 10 15
 Asp Asp Asp Gly His Arg Arg Trp Gly Ser Asp Gly Gly Glu Ala Met
 20 25 30
 Pro Arg Thr Thr Ser Pro Val Arg Arg Cys Asp Ala Gly Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Val Ala Asp Ser Ala Trp Glu Glu Glu Gly Pro Thr Gly Glu Ile
 50 55 60
 Pro Ala Arg Arg Met Glu Arg Pro Ala Arg His Gly Gly Val Pro Ala
 65 70 75 80
 Lys Tyr Gly Arg Arg Leu Asp Gly Glu Asp Asp Gly Val Leu Val Pro
 85 90 95
 Gly Glu Val Val Ala Thr Ser Ala Ser Ala Gln Glu Thr Arg Gln Arg
 100 105 110
 Arg Pro Glu Ala Glu Gln Trp Arg Gln Arg His Cys Cys Arg Arg Gly
 115 120 125
 Cys Thr Ser Gly Gly Val Arg Gly Lys Arg Arg Ala Gly Arg Gly Arg
 130 135 140
 Gly Gly Asp Tyr Asp Ala Gly Gly Gly Asp Gly Thr Ala Gly Arg Arg
 145 150 155 160
 Ala Asp Ala Ala Ala Gly Val Ala Gly Phe Gly Arg Arg Arg Arg Arg
 165 170 175
 Glu Arg Arg Ser Ala Thr Val Trp Leu Gly Arg Ser Gly Arg Gly Lys
 180 185 190
 Thr Glu Gly Glu Val Asp
 195

5 <210> 9
 <211> 1090
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

10 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (5)..(10)

15 <220>
 <221> SITIO
 <222> (51)..(55)

<400> 9

ES 2 698 835 T3

Leu Pro Asp Tyr Phe Thr Ala Trp Thr Asn Leu Glu Val Phe Gln Ala
 290 295 300
 Asp Gly Asn Arg Phe Thr Gly Glu Ile Pro Thr Ala Ile Thr Met Ala
 305 310 315 320
 Ser Arg Leu Glu Phe Leu Ser Leu Ala Thr Asn Asn Leu Ser Gly Ala
 325 330 335
 Ile Pro Pro Val Ile Gly Thr Leu Ala Asn Leu Lys Leu Leu Asp Leu
 340 345 350
 Ala Glu Asn Lys Leu Ala Gly Ala Ile Pro Arg Thr Ile Gly Asn Leu
 355 360 365
 Thr Ser Leu Glu Thr Leu Arg Leu Tyr Thr Asn Lys Leu Thr Gly Arg
 370 375 380
 Leu Pro Asp Glu Leu Gly Asp Met Ala Ala Leu Gln Arg Leu Ser Val
 385 390 400
 Ser Ser Asn Met Leu Glu Gly Glu Leu Pro Ala Gly Leu Ala Arg Leu
 405 410 415
 Pro Arg Leu Val Gly Leu Val Ala Phe Asp Asn Leu Leu Ser Gly Ala
 420 425 430
 Ile Pro Pro Glu Phe Gly Arg Asn Gly Gln Leu Ser Ile Val Ser Met
 435 440 445
 Ala Asn Asn Arg Phe Ser Gly Glu Leu Pro Arg Gly Val Cys Ala Ser
 450 455 460
 Ala Pro Arg Leu Arg Trp Leu Gly Leu Asp Asp Asn Gln Phe Ser Gly
 465 470 475 480
 Thr Val Pro Ala Cys Tyr Arg Asn Leu Thr Asn Leu Val Arg Leu Arg
 485 490 495
 Met Ala Arg Asn Lys Leu Ala Gly Asp Val Ser Glu Ile Leu Ala Ser
 500 505 510
 His Pro Asp Leu Tyr Tyr Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ser Phe Asp Gly
 515 520 525
 Glu Leu Pro Glu His Trp Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Phe Leu His
 530 535 540
 Leu Ser Gly Asn Lys Ile Ala Gly Ala Ile Pro Ala Ser Tyr Gly Ala
 545 550 555 560
 Met Ser Leu Gln Asp Leu Asp Leu Ser Ser Asn Arg Leu Ala Gly Glu

ES 2 698 835 T3

				565						570					575			
Ile	Pro	Pro	Glu	Leu	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Thr	Lys	Leu	Asn	Leu	Arg			
			580					585					590					
Arg	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Arg	Val	Pro	Ala	Thr	Leu	Gly	Asn	Ala	Ala			
		595					600					605						
Arg	Met	Glu	Met	Leu	Asp	Leu	Ser	Gly	Asn	Ala	Leu	Asp	Gly	Gly	Val			
	610					615					620							
Pro	Val	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Glu	Met	Trp	Tyr	Leu	Asn	Leu	Ser			
625					630					635					640			
Ser	Asn	Asn	Leu	Ser	Gly	Glu	Val	Pro	Pro	Leu	Leu	Gly	Lys	Met	Arg			
				645					650					655				
Ser	Leu	Thr	Thr	Leu	Asp	Leu	Ser	Gly	Asn	Pro	Gly	Leu	Cys	Gly	His			
			660					665					670					
Asp	Ile	Ala	Gly	Leu	Asn	Ser	Cys	Ser	Ser	Asn	Thr	Thr	Thr	Gly	Asp			
		675					680						685					
Gly	His	Ser	Gly	Lys	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Ala	Val	Thr	Leu	Ser	Val			
	690					695					700							
Ala	Ala	Ala	Leu	Leu	Val	Ser	Met	Val	Ala	Val	Val	Cys	Ala	Val	Ser			
705					710					715					720			
Arg	Lys	Ala	Arg	Arg	Ala	Ala	Val	Val	Val	Glu	Lys	Ala	Glu	Thr	Ser			
				725					730					735				
Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Thr	Ala	Ala	Ala	Val	Gln	Ala	Ser			
			740					745					750					
Ile	Trp	Ser	Lys	Asp	Thr	Thr	Phe	Ser	Phe	Gly	Asp	Ile	Leu	Ala	Ala			
		755					760					765						
Thr	Glu	His	Phe	Asn	Asp	Ala	Tyr	Cys	Ile	Gly	Lys	Gly	Ser	Phe	Gly			
	770					775					780							
Thr	Val	Tyr	Arg	Ala	Asp	Leu	Gly	Gly	Gly	Arg	Ala	Val	Ala	Val	Lys			
785					790					795					800			
Arg	Leu	Asp	Ala	Ser	Glu	Thr	Gly	Asp	Ala	Cys	Trp	Gly	Val	Ser	Glu			
				805					810					815				
Arg	Ser	Phe	Glu	Asn	Glu	Val	Arg	Ala	Leu	Thr	Arg	Val	Arg	His	Arg			
			820					825					830					
Asn	Ile	Val	Lys	Leu	His	Gly	Phe	Cys	Ala	Met	Gly	Gly	Tyr	Met	Tyr			
		835					840					845						

ES 2 698 835 T3

Leu Val Tyr Glu Leu Ala Glu Arg Gly Ser Leu Gly Ala Val Leu Tyr
 850 855 860
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Cys Arg Phe Asp Trp Pro Ala Arg Met
 865 870 875 880
 Arg Ala Ile Arg Gly Val Ala His Ala Leu Ala Tyr Leu His His Asp
 885 890 895
 Cys Ser Pro Pro Met Ile His Arg Asp Val Ser Val Asn Asn Val Leu
 900 905 910
 Leu Asp Pro Asp Tyr Glu Pro Arg Val Ser Asp Phe Gly Thr Ala Arg
 915 920 925
 Phe Leu Val Pro Gly Arg Ser Thr Cys Asp Ser Ile Ala Gly Ser Tyr
 930 935 940
 Gly Tyr Met Ala Pro Glu Leu Ala Tyr Met Arg Val Thr Thr Lys Cys
 945 950 955 960
 Asp Val Tyr Ser Phe Gly Val Val Ala Met Glu Met Leu Met Gly Lys
 965 970 975
 Tyr Pro Gly Gly Leu Ile Ser Ser Leu Gln His Ser Pro Gln Ser Leu
 980 985 990
 Ser Ala Glu Gly His Asp Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Glu Glu Ala
 995 1000 1005
 Ser Ala Ser Ala Ser Arg Arg Leu Leu Leu Lys Asp Val Val Asp
 1010 1015 1020
 Gln Arg Leu Asp Ala Pro Ala Gly Lys Leu Ala Gly Gln Val Val
 1025 1030 1035
 Phe Ala Phe Val Val Ala Leu Ser Cys Val Arg Thr Ser Pro Asp
 1040 1045 1050
 Ala Arg Pro Thr Met Arg Ala Val Ala Gln Glu Leu Ala Ala Arg
 1055 1060 1065
 Arg Arg Pro Ile Leu Asp Arg Pro Phe Glu Met Ile Lys Ile Gly
 1070 1075 1080
 Asp Leu Thr Asn Ser His Arg
 1085 1090

<210> 10
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

ES 2 698 835 T3

<220>
 <221> DISULFURO
 <222> (42)..(47)

5 <220>
 <221> SITIO
 <222> (66)..(70)
 <223> motivo

10 <400> 10

Met Ser Arg Arg Gly Thr Arg Arg Gln Arg Asp Gly Asn Gly Asp Arg
 1 5 10 15
 Gly Ala Ala Ser Ser Ser Ser Pro Ser Thr Ser Pro Ser His Gly Pro
 20 25 30
 Ala Gly Gly Trp Ala Ser Gln Ile Arg Cys Cys Gly Ala Trp Cys Gly
 35 40 45
 Gly Arg Thr Ser Val Ala Val Met Leu Gly Asp Gly Ala Pro Val Leu
 50 55 60
 Leu Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg Pro Pro Ser Ser Leu Leu Leu Met
 65 70 75 80
 Leu Phe Phe Phe Phe Phe Phe His Val Gln Asn Ala Cys Met Pro Cys
 85 90 95
 Ser Leu Ala Cys
 100

15 <210> 11
 <211> 357
 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

20 <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (256)..(261)

25 <220>
 <221> SITIO
 <222> (307)..(311)

<400> 11

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

ES 2 698 835 T3

Asp Phe Tyr Asp Arg Leu Leu Glu Glu Gly Ser Gly Glu Cys Cys Arg
 65 70 75 80
 Tyr Leu Glu Gly Gly Glu Glu Gly Gly Gly Gly Glu Gln Gln Arg Glu
 85 90 95
 Gly Glu Asp His Asp Arg Gln Glu Gly Gly Ser Asn Asp Arg Asn Gln
 100 105 110
 Leu Asp Ala Glu Phe Phe Gln Ser Leu Ala Asn Ala Asn Ser Arg Ser
 115 120 125
 Leu Glu Phe Ala Gly Val Tyr Thr Thr Val Leu Gly Ile Ala Leu Ser
 130 135 140
 Leu Tyr Gly Ser Thr Val Val Val Gly Phe Met Ser Leu Lys Gly Glu
 145 150 155 160
 Tyr Ile Pro Pro Cys Phe Ser Phe Arg Ser Met Ser Met Ile Glu Glu
 165 170 175
 Glu Gly Glu Val Gly Val Glu Asp Ala Asp Thr Gly Pro Arg Asn Leu
 180 185 190
 Trp Gly Glu Lys Ile His Arg Gly Val Phe Leu Gly Cys Leu Val Ile
 195 200 205
 Phe Ala Asn Leu Leu Leu Leu Cys Ala Val Ile Phe Gly Glu Leu Glu
 210 215 220
 Val His Asp Asn Tyr Asn Asn Tyr Asp Gln Gln Asn Asn Asp Asn Ile
 225 230 235 240
 Phe Ser Tyr Arg Ile Glu Lys Ile Ser Ser Val Phe Ala Ile Thr Cys
 245 250 255
 Ile Val Leu Ala Cys Val Tyr Val Leu Phe Ala Val Ile Tyr Leu Ser
 260 265 270
 Cys Gly Gly Met Leu Asp Asp Asp Asn Asp Thr Val Gln His Asn Thr
 275 280 285
 Gly Asn Trp Met Asp His Ser His Ser Gln Phe Glu Leu Ser Pro Arg
 290 295 300
 Gly Asn Gly Arg Arg Arg Arg Arg Gly Arg Arg Asp Met Pro Asp Lys
 305 310 315 320
 Ala Glu Pro Leu Val Ser Ala Val Gly Gly Gly Ile Thr Glu Ile Gly
 325 330 335

ES 2 698 835 T3

Cys Ala Thr Arg Ser Asp Glu Arg Ala Tyr Val Leu Asp Glu Gly Cys
340 345 350

Ile Asp Glu Thr Thr
355

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético que comprende cultivar dicho organismo fotosintético en presencia de un péptido que comprende:
 - i. la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3; o
 - 5 ii. Una variante funcional del péptido definido en (i), en el que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en el que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1]
- 10 en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos,
- en el que dicho péptido está presente en una concentración entre 10⁻⁸ M y 10⁻¹⁶ M.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho péptido es adrenomedulina, preferentemente adrenomedulina humana.
- 15 3. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho organismo fotosintético es una planta o un alga.
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho organismo fotosintético es una planta y dicho péptido se administra como un aditivo para complementar la solución nutritiva que alimenta dicha planta en un sistema hidropónico, o se administra al agua de riego de dicha planta.
- 20 5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha planta se selecciona entre una planta utilizada para la producción de energías renovables, una planta para nutrición humana o animal, una especie maderera y una planta ornamental.
6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho péptido está presente en una concentración entre 10⁻⁸ M y 10⁻¹⁰ M.
- 25 7. Un organismo fotosintético transgénico que comprende una construcción génica para aumentar la biomasa que comprende:
 - a. un ácido nucleico que codifica un péptido cuya secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 3; o una variante funcional del mismo, en el que dicha variante es un péptido cuya secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 3 de al menos
 - 30 el 70 % y mantiene su capacidad para aumentar la biomasa de un organismo fotosintético, y en el que dicha variante comprende la secuencia de aminoácidos Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys [SEQ ID NO 1] en la que Xaa₁, Xaa₂, Xaa₃ y Xaa₄, representan independientemente un aminoácido, y los restos de cisteína de la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1 forman un puente disulfuro entre ellos, y
 - b. elementos reguladores para regular su expresión en el organismo fotosintético,
- 35 en el que el organismo fotosintético es un alga o una planta seleccionada entre especies madereras, leguminosas, gramíneas, árboles frutales, orquídeas de la familia *Orchidaceae*, *Laurus nobilis*, *Lonicera fragrantissima*, *Magnolia stellata*, *Hydrangea macrophylla*, *Laburnum x watereri*, *Kerria japónica*, álamo, sauce, eucalipto, algarrobo, árboles coníferos, acacia, banano, cardo, miscanto, caña común, euforbio, nopal, remolacha, maíz, sorgo dulce, caña de azúcar, patata, pataca, colza, girasol, soja, lechuga, col, espinaca, acelgas, judías verdes, plantas de tomate, sorgo,
- 40 trigo, centeno, cebada y plantas pertenecientes a los géneros *Aeschynantus*, *Carina*, *Columnnea*, *Anemone*, *Azalea*, *Begonia*, *Calceolaria*, *Camelia*, *Dianthus*, *Freessia*, *Gerbera*, *Hibiscus*, *Hypoestes*, *Kalanchoe*, *Nicotiana*, *Pelargonium*, *Petunia*, *Prímula*, *Rannunculus*, *Rhipsalidopsis*, *Rosa*, *Saintpaulia*, *Sinningia-gloxinia*, *Streptocarpus*, *Tigridia*, *Verbena*, *Zinnia*.
8. Un organismo fotosintético transgénico de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho péptido es
- 45 adrenomedulina, preferentemente adrenomedulina humana.

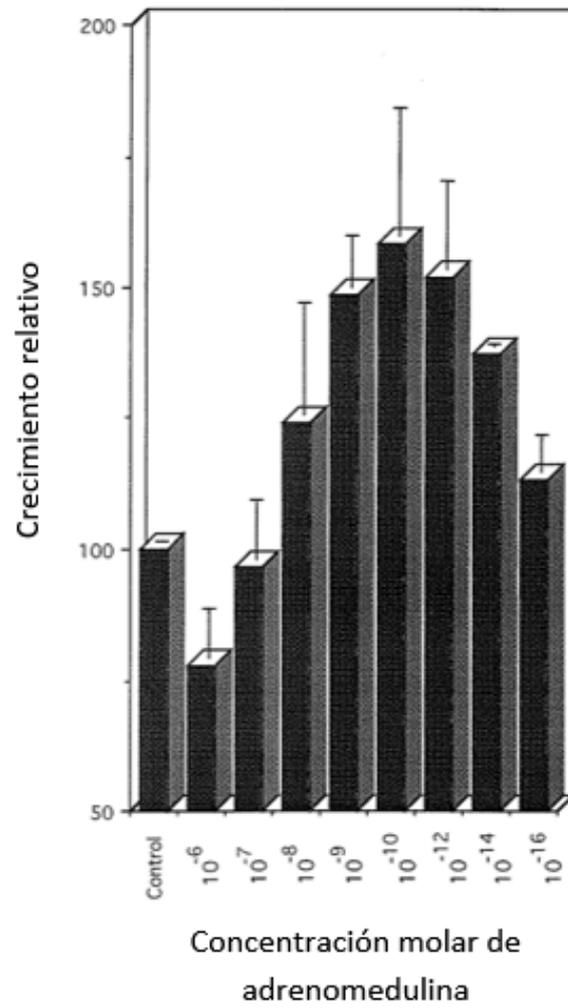


FIG. 1

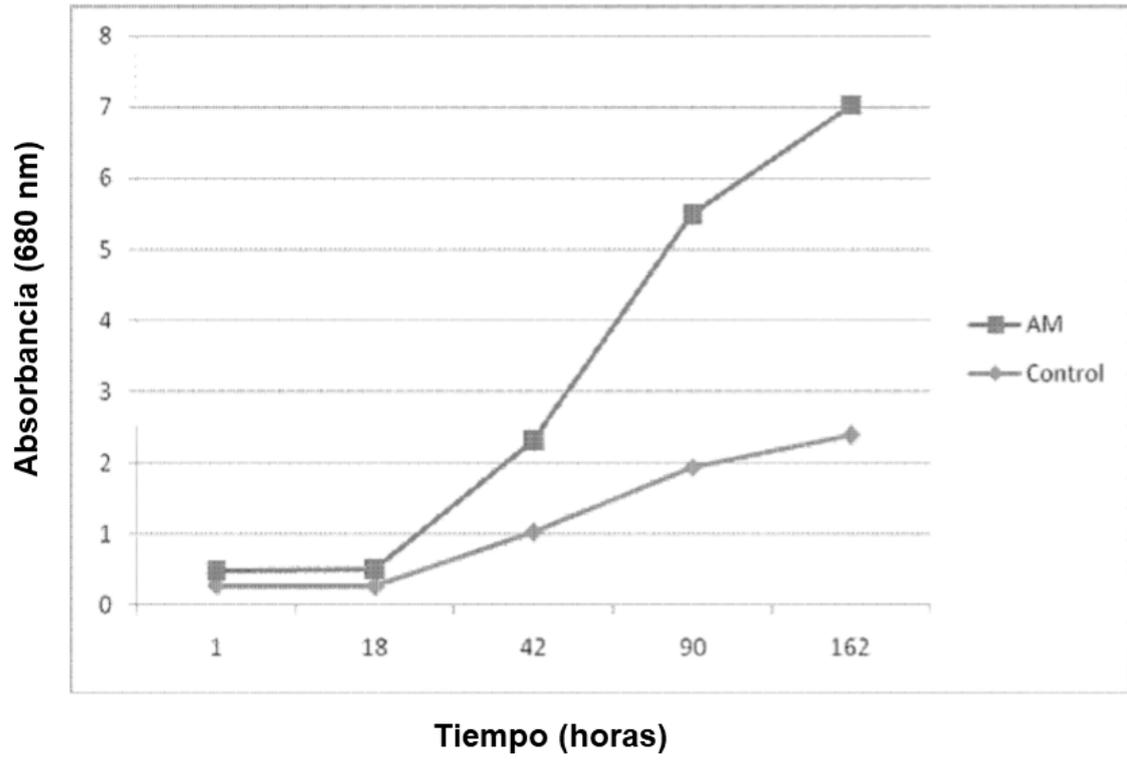


FIG. 2