

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Un precursor de insulina recombinante de acuerdo con la fórmula L-B-C-A, en donde
A es una cadena A de insulina,
B es una cadena B de insulina,
- 5 C es un péptido C que conecta la cadena A y la cadena B, y
L es un péptido L N-terminal,
en donde C es un péptido C que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la
SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de
secuencia con la SEQ ID NO: 1.
- 10
2. Un precursor de insulina recombinante de acuerdo con la fórmula L-B-C-A, en donde
A es una cadena A de insulina,
B es una cadena B de insulina,
C es un péptido C que conecta la cadena A y la cadena B, y
- 15 L es un péptido L N-terminal,
en donde L es un péptido L que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ
ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con
la SEQ ID NO: 2.
- 20
3. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde C
es un péptido C que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1
o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ
ID NO: 1 y L comprende un péptido L que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo
con la SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de
- 25 secuencia con la SEQ ID NO: 2.
4. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
anteriores, el péptido C consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
1 y el péptido L consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 2.
- 30
5. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
anteriores, en donde la cadena A comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la
SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de
secuencia con la SEQ ID NO: 3.

6. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cadena B comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de

5 secuencia con la SEQ ID NO: 4.

7. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cadena A se deriva de insulina porcina y/o la cadena B se deriva de insulina porcina.

10

8. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el precursor de insulina recombinante comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 6, 7 u 8 o una secuencia que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 6, 7 y/o 8.

15

9. El precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el precursor de insulina recombinante consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 6, 7 u 8.

20 10. Una secuencia de ADN que codifica un precursor de insulina recombinante de acuerdo con la fórmula L-B-C-A, en donde

A es una cadena A de insulina,

B es una cadena B de insulina,

C es un péptido C que conecta la cadena A y la cadena B, y

25 L es un péptido L N-terminal,

en donde C es un péptido C que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 y/o L es un péptido L que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que tiene al

30 menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2.

11. La secuencia de ADN de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la secuencia de ADN está optimizada por codones para la expresión en un microorganismo

12. La secuencia de ADN de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la secuencia de ADN está optimizada por codones para la expresión en *E. coli*.
13. La secuencia de ADN de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en donde
 5 A es una cadena A de insulina, preferiblemente codificada por una secuencia de ADN que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 11;
 B es una cadena B de insulina, preferiblemente codificada por una secuencia de ADN que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12;
 C es un péptido C que conecta la cadena A y la cadena B, preferiblemente en donde el
 10 péptido C está codificado por una secuencia de ADN que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 9; y
 L es un péptido L N-terminal, preferiblemente codificado por una secuencia de ADN que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10.
14. Un vector que comprende una secuencia de ADN de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-13.
15. Una célula huésped que comprende una secuencia de ADN de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-13 o un vector de acuerdo con la reivindicación 14.
16. La célula huésped de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la célula huésped es una célula de *E. coli* y/o una célula de *S. cerevisiae*.
17. Un método para producir insulina recombinante, en donde se expresa un precursor de
 25 insulina recombinante de acuerdo con la fórmula L-B-C-A, en donde
 A es una cadena A de insulina,
 B es una cadena B de insulina,
 C es un péptido C que conecta la cadena A y la cadena B, y
 L es un péptido L N-terminal,
 30 en donde C es un péptido C que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 y/o L es un péptido L que comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2, y el método comprende:

- a) expresar el precursor de insulina recombinante en una célula huésped,
 - b) lisar la célula huésped para obtener el precursor de insulina recombinante,
 - c) replegar el precursor de insulina recombinante, y
 - d) escindir el péptido L y el péptido C del precursor de insulina recombinante mediante una
- 5 reacción enzimática para obtener insulina recombinante.

18. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el paso a) es precedido por un paso de clonar una secuencia de ADN que codifica el precursor de insulina recombinante en un vector.

10

19. El método de acuerdo con la reivindicación 17 o 18, en donde el método comprende, además, un paso de purificar la insulina recombinante.

20. Uso de un precursor de insulina recombinante de acuerdo con cualquiera de las

15 reivindicaciones 1-9 para la producción de insulina recombinante.

21. Una composición que comprende insulina recombinante, en donde la composición comprende una cantidad detectable de un péptido C y/o péptido L, en donde el péptido C comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 o una secuencia de

20 aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 y/o el péptido L comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2.

25 22. Una composición de insulina recombinante que comprende una insulina recombinante producida por cualquiera de los métodos de las reivindicaciones 17-19 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

23. Un método para tratar la diabetes que comprende administrar a un animal que lo necesite

30 una cantidad terapéutica de la composición de insulina recombinante de la reivindicación 22.

24. La composición de insulina recombinante de la reivindicación 22 para uso en el tratamiento de la diabetes.