

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 874**

51 Int. Cl.:  
**C07H 21/04** (2006.01)  
**C12N 15/85** (2006.01)  
**C07K 16/00** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**C07K 14/47** (2006.01)  
**A61K 38/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03786613 .4**  
96 Fecha de presentación: **07.11.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1558276**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.08.2005**

54 Título: **Inhibidores de fusión de flavivirus**

30 Prioridad:  
**08.11.2002 US 424746 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.11.2012**

73 Titular/es:  
**THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE  
EDUCATIONAL FUND (50.0%)  
1430 TULANE AVENUE SL-13  
NEW ORLEANS LA 70112-2699, US y  
THE ROCKEFELLER UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:  
**GARRY, ROBERT, F.;  
DASH, SRIKANTA;  
COY, DAVID, H. y  
MCKEATING, JANE, A.**

74 Agente/Representante:  
**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 390 874 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

Inhibidores de fusión de flavivirus

### 1. Campo de la invención

La presente invención se refiere a péptidos y a métodos de inhibición de infección celular y/o fusión de virión:célula por miembros de la familia *Flaviviridae*.

### 2. Antecedentes de la invención

2.1. La entrada de virus animales con envuelta requiere la fusión entre la membrana viral y una membrana celular, o bien la membrana plasmática o bien una membrana interna. Las proteínas de fusión de clase I tienen un "péptido de fusión" en o próximo al extremo amino-terminal, un par de hélices extendidas y, generalmente, una agrupación de aminoácidos aromáticos próximos a un dominio de anclaje transmembrana hidrófobo (Carr y Kim, 1993; Suarez *et al.*, 2000; Wilson, Skehel y Wiley, 1981). Varios virus por lo demás distintos, incluyendo ortomixovirus, paramixovirus, retrovirus, arenavirus y filovirus codifican para proteínas de fusión de clase I que varían en longitud y secuencia, pero altamente similares en la estructura global (Gallaher, 1996; Gallaher *et al.*, 1989). La cristalografía de rayos X de la glicoproteína E (proteína E) del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (VETG), un miembro del género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae*, reveló una estructura para esta proteína de fusión distinta de otras proteínas de fusión (Rey *et al.*, 1995). La proteína E tiene un péptido de fusión interno estabilizado por uniones dicisteína y tres dominios (I-III) compuestos principalmente de láminas  $\beta$  antiparalelas. En la configuración en forma de varilla ligeramente curvada de la proteína E presente en el virión, el péptido de fusión se ubica en la punta del dominio II, el punto distal más lejano del anclaje transmembrana C-terminal. El examen por Lescar y colaboradores (2001) de E1, la proteína de fusión del togavirus, virus del bosque de Semliki (VBS), reveló un ajuste notable al andamiaje de E del VETG. Recientemente, la glicoproteína E del virus del dengue, un flavivirus importante desde el punto de vista médico, también mostró que tiene una estructura de clase II (Kuhn *et al.*, 2002).

2.2. La familia *Flaviviridae* consiste en tres géneros, *Flavivirus*, *Hepacivirus* y *Pestivirus*. Sólo en los Estados Unidos, 4 millones de personas están infectadas con un miembro del género *Hepacivirus*, el virus de la hepatitis C (VHC). Esto es cuatro veces el número de infectados por VIH. Cada año en los EE.UU., se producen 30-50.000 nuevas infecciones por VHC, y aproximadamente mueren 15-20.000 personas. Se espera que estos números aumenten drásticamente. La infección se propaga fundamentalmente a través de las agujas que se comparten entre los consumidores de drogas, aunque existe cierto riesgo de pinchazos accidentales con agujas, hemoderivados antes de 1992, diálisis sanguínea crónica y relaciones sexuales frecuentes. Los tratamientos actuales para el VHC usando ribavirina e interferón cuestan de 8.000\$ a 20.000\$ al año, y ayudan aproximadamente a la mitad de pacientes sólo parcialmente. La fase terminal de la enfermedad por VHC es la indicación más frecuente para los trasplantes de hígado y esto cuesta de 250.000\$ a 300.000\$. Se necesitan urgentemente mejores fármacos para tratar la infección por VHC y una vacuna eficaz para prevenir la infección por VHC. Los miembros del género *Flavivirus*, el virus del dengue, el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la fiebre amarilla y el virus del oeste del Nilo, provocan enfermedades humanas importantes en todo el mundo. Los pestivirus, tales como el virus de la diarrea viral bovina y el virus de la enfermedad de la frontera, provocan enfermedades veterinarias significativas.

### 3. Sumario de la invención

El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones y cualquier información que no se encuentre dentro de las reivindicaciones se proporciona sólo como información.

Basándose en similitudes de secuencia, es probable que las glicoproteínas E de otros miembros del género *Flavivirus* dentro de la familia *Flaviviridae*, incluyendo el virus del oeste del Nilo, también sean proteínas de fusión de clase II. Los análisis presentados en el presente documento indican que las glicoproteínas de virus de miembros de los otros dos géneros de la familia *Flaviviridae*, *Hepacivirus* y *Pestivirus*, tienen estructuras no descritas previamente. La glicoproteína de la envuelta E1 del virus de la hepatitis C, un hepacivirus, y la glicoproteína de la envuelta E2 de los pestivirus tienen estructuras novedosas, que se parecen a una versión truncada de una proteína de fusión de clase II. No se ha identificado previamente ninguna proteína viral con esta estructura. Estas observaciones eran inesperadas y contrastan con estudios publicados. El virus de la hepatitis C codifica para dos glicoproteínas de la envuelta, E1 (gp35) y E2 (gp70), ambas con dominios de anclaje transmembrana C-terminales. Estudios anteriores indicaban que otra proteína del VHC, E2, tiene una estructura de clase II. Las determinaciones estructurales de las proteínas de fusión de hepacivirus y pestivirus permiten la identificación de varias características desconocidas hasta la fecha de proteínas de fusión de flavivirus para el desarrollo de fármacos y vacunas.

Por tanto, la presente invención enseña que la glicoproteína de la envuelta E1 del VHC tiene una estructura desconocida previamente, una proteína de fusión de clase II truncada. Esta estructura identifica regiones E1 del VHC y otras proteínas de fusión virales de clase II importantes para la fusión de virus:célula. Esta memoria descriptiva también enseña que pueden diseñarse péptidos para inhibir virus, incluyendo el VHC y otros miembros de la familia *Flaviviridae*, que tienen péptidos de fusión con una estructura de clase II.

Las características estructurales de las glicoproteínas de la envuelta de flavivirus identificadas en el presente

5 documento proporcionan una orientación sorprendente para el desarrollo de vacunas y/o fármacos para prevenir o tratar infecciones por flavivirus. Antes de la disponibilidad de los datos estructurales de rayos X (Wild, Greenwell y Matthews, 1993; Wild *et al.*, 1994), se desarrollaron varios inhibidores potentes de TM del VIH-1 basados en el modelo de proteína de fusión de TM del VIH-1 de Gallaher (Gallaher *et al.*, 1989). Se ha mostrado que el péptido DP 178 (T20) (figura 5A) reduce sustancialmente la carga de VIH-1 en pacientes con SIDA en resultados preliminares de ensayos clínicos de fase III. (Hoffman-La Roche y Trimeris, 2002). Los fármacos peptídicos basados en estas estructuras deben ser relativamente fáciles de desarrollar. Una vez que se describe un inhibidor peptídico eficaz puede desarrollarse un fármaco no peptídico.

10 Más específicamente, la presente descripción proporciona métodos de inhibición de infección viral por flavivirus y/o fusión entre la envoltura del virión de los flavivirus y las membranas de la célula diana (el proceso que suministra el genoma viral al citoplasma celular). La invención se refiere al descubrimiento, tal como se describe en el presente documento, de que la glicoproteína de la envuelta E1 de hepacivirus y la glicoproteína E2 de pestivirus tienen estructuras novedosas. La invención proporciona composiciones que emplean péptidos o derivados de péptidos para su uso en la inhibición de la fusión de flavivirus:célula. La presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades inducidas por flavivirus.

Diversas realizaciones de la presente invención proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más péptidos seleccionados de uno o más de los siguientes grupos:

(A) Péptidos que consisten en la SEQ ID NO:1;

(B) Péptidos homólogos a la SEQ ID NO:1 tal como se identifican en las reivindicaciones adjuntas

20 Diversos aspectos de esta realización de la invención proporcionan composiciones para su uso en la inhibición de la fusión de virión de VHC:célula, previniendo o tratando de este modo infecciones por VHC, que comprenden uno o más péptidos seleccionados de los siguientes:

25 (A) Péptidos que consisten en cualquiera de la SEQ ID NO:1 o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40, en el que el resto químico N-terminal es un grupo amino y el resto químico C-terminal es un grupo carboxilo.

30 (B) Péptidos que consisten en cualquiera de la SEQ ID NO:1 o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40, en el que el resto químico N-terminal no es un grupo amino y/o el resto químico C-terminal no es un grupo carboxilo, en el que el "Xaa" N-terminal se selecciona del grupo que consiste en: un grupo acetilo, un grupo hidrófobo, grupo carbobenzoxilo, grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo o un grupo transportador macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono, y/o en el que el resto químico C-terminal se selecciona del grupo que consiste en un grupo amido, un grupo hidrófobo, grupo t-butiloxicarbonilo o un grupo macromolecular.

35 (C) Péptidos que consisten en cualquiera de la SEQ ID NO:1 o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40 excepto porque al menos un enlace que une residuos de aminoácido adyacentes es un enlace no peptídico.

(D) Péptidos que consisten en cualquiera de la SEQ ID NO:1 o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40, excepto porque al menos un residuo de aminoácido está en la configuración de isómero D.

(E) Péptidos tal como en los grupos "A)" o "B)" excepto porque al menos un aminoácido se ha sustituido por un aminoácido diferente (ya sea un cambio conservativo o no conservativo).

40 (F) Péptidos que son un fragmento funcional de un péptido tal como se expone en cualquiera de los grupos "A)" a "E)", anteriormente, en los que los péptidos tienen al menos 3 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO:1.

La solicitud también describe anticuerpos sustancialmente purificados que reaccionan específicamente con uno o más de los péptidos descritos anteriormente.

45 La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento o la prevención de infecciones virales en un animal, en las que el tratamiento o la prevención comprenden administrar a un animal o ser humano péptidos tal como se describieron anteriormente.

### 3.1. Abreviaturas

VIH--virus de inmunodeficiencia humana.

VETG--virus de la encefalitis transmitida por garrapatas.

50 VD--virus del dengue.

VON--virus del oeste del Nilo.

VHC--virus de la hepatitis C.

VGB--virus de la hepatitis GB

VFPC--virus de la fiebre porcina clásica

VDVB--virus de la diarrea viral bovina

5 VEF--virus de la enfermedad de la frontera

ASH--albúmina sérica humana

**4. Breve descripción de los dibujos**

Figura 1. Alineaciones de glicoproteínas E del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, E1 del virus de la hepatitis C y E2 del virus de la fiebre porcina clásica. Panel A: Los aminoácidos se numeran desde el comienzo de las poliproteínas de VETG, VHC y VFPC en esta figura y las figuras posteriores. Se encierran las secuencias insertadas del VHC entre corchetes y no representan una comparación de alineación. “(:)” se refiere a aminoácidos idénticos. “(.)” se refiere a aminoácidos químicamente similares. Panel B: Disposición lineal de la estructura de dominios de E del VETG tal como se determinó por Rey *et al.* (1995). Se indican las regiones con similitudes de secuencia significativas con E del VETG en E1 y E2 del VHC y E2 del VFPC tal como se determinó mediante el programa de alineación de secuencias PRSS3. Las probabilidades (valores de p) se basan en 1000 intercambios.

Figura 2. Estructuras de las glicoproteínas E1 de hepacivirus y E2 de pestivirus. Panel A. Se muestra esquemáticamente la estructura de E del VETG tal como se determinó por Rey *et al.* (1995) (dibujado a partir de una representación del software de visualización molecular RasMac). Panel B: Estructura de E1 del VHC. Se encierran entre comillas las secuencias de E1 del VHC con similitud con las secuencias de E del VETG. Panel C: Estructura de E2 del VFPC.

Figura 3. Alineaciones del precursor de la proteína de membrana pequeña del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, prM, y E1 del virus de la fiebre porcina clásica. Panel A: Se construyeron alineaciones tal como se detalla en el texto. Panel B: Disposición lineal de prM del VETG y E1 del VFPC con una región de similitud de secuencia determinada mediante el algoritmo PPSS3 indicado.

Figura 4. Orden común de las proteínas en poliproteínas de *Flaviviridae*. Proteínas o partes de las proteínas con funciones similares se ubican en ubicaciones similares a lo largo de las proteínas de los miembros de *Flaviviridae*. Se predijeron dominios hidrófobos usando TMpred.

Figura 5. Comparación de la glicoproteína transmembrana (TM) del virus de inmunodeficiencia humana con la glicoproteína de la envuelta 1 (E1) del virus de la hepatitis C. Panel A: una estructura actualizada de TM del VIH-1 de Gallaher *et al.* (1989) con motivos estructurales indicados en el orden de arco iris. Los aminoácidos se numeran desde el comienzo de la poliproteína Env. La TM del VIH-1 está truncada tras el dominio transmembrana. Los extremos precisos de las hélices N y C de TM no están claros debido a los datos estructurales conflictivos. No se hizo ningún intento de alinear las hélices N y C, aunque se resuelven puntos de contacto en las formaciones de superhélices. Se indican las posiciones de epítomos neutralizantes conocidos en la TM, así como secuencias correspondiente a los péptidos CS3 y DP 178 (T20) (Qureshi *et al.*, 1990; Wild *et al.*, 1994) que inhiben la infectividad de VIH-1. Panel B: Estructura de E1 del VHC con motivos que se comparten con la TM del VIH-1. Las flechas recuadradas son estructuras de lámina beta predichas que son similares a las láminas β indicadas de E del VETG. Se trazan las estructuras de hélice a predichas. Las flechas indican las direcciones en las que la estructura de E1 del VHC podría plegarse en las tres dimensiones.

**5. Descripción detallada de la invención**

El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones y cualquier información que no se encuentre dentro de las reivindicaciones se proporciona sólo como información.

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas para su uso en la inhibición de la infección por flavivirus que comprende inhibir la fusión entre la envoltura del virión y una membrana celular, el proceso que suministra el genoma viral al citoplasma celular. La descripción de la presente divulgación se dividirá en las siguientes subsecciones:

(i) péptidos de la descripción

(ii) utilidad de la descripción

5.1. Péptidos de la descripción.

Cualquier composición farmacéutica tal como se define en las reivindicaciones que se refiere a un péptido o una proteína que inhibe la fusión entre la envoltura del virión de flavivirus y una membrana celular, incluyendo los

flavivirus que infectan huéspedes humanos así como no humanos, puede usarse según la descripción. En diversas descripciones de la solicitud, estos inhibidores pueden incluir, pero no se limitan a péptidos relacionados con varios dominios que interactúan con membrana de proteínas de fusión de flavivirus.

5 Los péptidos inhibidores de flavivirus son, según las composiciones farmacéuticas tal como se reivindican según la presente invención, idénticos u homólogos a las secuencias de aminoácidos de proteína inhibidora de fusión 1 del VHC, X-YQVRNSSGLYHVTNDPCNSSIVYEADAIL-Z (SEQ ID NO:1); o partes de las mismas. Se describen a continuación en las tablas 1 a 4 secuencias peptídicas homólogas asociadas con otros flavivirus, incluyendo, pero sin limitarse a, HGB, VD, VEJ, VFA, VON, VFPC, VDVB o VEF.

10 Tal como se usa en el presente documento, el término “péptido homólogo” se refiere preferiblemente a péptidos similares a otras cepas de un virus dado o, alternativamente de virus relacionados.

Tal como se usa en el presente documento, el término “péptidos similares” se refiere a aquellos péptidos que tienen al menos el 70% de aminoácidos idénticos o químicamente similares. Más preferiblemente, se refiere a péptidos que tiene el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95% o más de residuos de aminoácido idénticos y/o químicamente equivalentes.

15 Tal como se usan en el presente documento, los términos “parte del mismo” se refieren al péptido que resulta de la eliminación de uno o más aminoácidos de cualquiera o ambos extremos del péptido enumerado, es decir un péptido truncado. El número de aminoácidos eliminados puede variar desde 1-10 siempre que el fragmento restante sea “funcional”. Tal como se define en el presente documento, el término “fragmento funcional” se refiere a un fragmento  
20 que puede inhibir la fusión de virus:célula, inhibir la infectividad viral, que puede provocar un anticuerpo que puede reconocer y unirse específicamente a un péptido no truncado y/o interferir con la infección celular mediada por proteína de la envuelta de flavivirus.

Tabla 1: Péptido inhibidor de fusión 1 de flavivirus.

PROTEÍNA	SECUENCIA
E1 del VHC	X-YQVRNSSGLYHVTNDPCNSSIVYEADAIL-Z (SEQ ID NO:1)
E1 del HGB	X-RVTDPTNTTILTNCQQRNQVIYCSPSTCL-Z (SEQ ID NO:5)
E del VD	X-RDFVEGYSGGSWVDIVLEHGSCVTTMAKNKPTLDF-Z (SEQ ID NO:6)
E del VEJ	X-RDFIEGASGATWVDLVLEGDSCLTIMANDKPTLDV-Z (SEQ ID NO:7)
E del VFA	X-RDFIEGVHGGTWVSATLEQDKCVTMAPDKPSLDI-Z (SEQ ID NO:8)
E del VON	X-RDFLEGVSGATWVDLVLEGDSCTIMSKDKPTIDV-Z (SEQ ID NO:9)
E2 del VFPC	X-GQLACKEDYRYAISSTNEIGLLGAGGLTTTWKEYN-Z (SEQ ID NO:10)
E2 del VDVB	X-GHLDCKPEFSYAIKDERIGQLGAEGTLTTTWKEYS-Z (SEQ ID NO:11)
E2 del VEF	X-GEFACREDHRYALAKTKEIGPLGAESLTTTWTDYQ-Z (SEQ ID NO:12)

Tabla 2: Péptido inhibidor de fusión 2 de flavivirus.

PROTEÍNA	SECUENCIA
E1 del VHC	X-CSALYWVGDLCGSVFLVGQLFTFSPRRHWTTQDC-Z (SEQ ID NO:2)
E1 del HGB	X-TCDALDIGELCGACVLVGDWLVLRHWHLIHDLNET-Z (SEQ ID NO:13)
E del VD	X-KRFVCKHSMVDRGWNGCGLFGKGGIVTCAMFTC-Z (SEQ ID NO:14)
E del VEJ	X-SSYVCKQGFTDRGWNGCGLFGKGSIDTCAKFSC-Z (SEQ ID NO:15)
E del VFA	X-GDNACKRTYSDRGWNGCGLFGKGSIVACAKFTC-Z (SEQ ID NO:16)
E del VON	X-PAFVCRQGVVDRGWNGCGLFGKGSIDTCAKFAC-Z (SEQ ID NO:17)
E2 del VFPC	X-KGKYNTLLLNLSAFYLVCPIGWTGVIECTAVSPT-Z (SEQ ID NO:18)
E2 del VDVB	X-RGKFNTLLNPAFQMVCPIGWTGTVSCTSFNMD-Z (SEQ ID NO: 19)

E2 del VEF	X-RGKYNATTLNGSAFQLVCPYEWTGRVECTTISKS-Z (SEQ ID NO:20)
------------	-------------------------------------------------------

Tabla 3: Péptido inhibidor de fusión 3 de flavivirus

PROTEÍNA	SECUENCIA
E1 del VHC	X-SPRRHWTTQDCNCSIYPGHITGHRMAWDMMMNWSPT-Z (SEQ ID NO:3)
E2 del HGB	X-IHIDLNETGTCYLEVPTGIDPGFLGFIGWMAGKVEA-Z (SEQ ID NO:21)
E del VD	X-MVLLQMEDKAWLVHRQWFLDLPLPWLPGADTQGSNW-Z (SEQ ID NO:22)
E del VEJ	X-FYVMTVGSKSFLVHREWFHDLALPWTSPSSTAWRNR-Z (SEQ ID NO:23)
E del VFA	X-SYIAEMETESWIVDRQWAQDZTLPWQSGSGGVWREM-Z (SEQ ID NO:24)
E del VON	X-YYVMTVGTKTFLVHREWFMDLNLWSSAGSTVWRNR-Z (SEQ ID NO:25)
E2 del VFPC	X-TLRTEWKTFRDKPFPHRMDAVTTTVENEDLFY-Z (SEQ ID NO:26)
E2 del VDVB	X-TLATEVVKIYKRTKFRSGLVATHHTTIYEEDLYH-Z (SEQ ID NO:27)
E2 del VEF	X-TLATTVVRTYRRSKPFPHRQGAIQKNLGEDLH-Z (SEQ ID NO:28)

Tabla 4: Péptido inhibidor de fusión 4 de flavivirus

PROTEÍNA	SECUENCIA
E1 del VHC	X-MMMNWSPTAADVVAQLLRIPQAIMDMIAGAHWGVLAGIKYFSMVGNW-Z (SEQ ID NO:4)
E1 del HGB	X-WMAGKVEAVIFLTKLASQVPYAIATMFSSVHYLAVGALIYYS-Z (SEQ ID NO:29)
E del VD	X-MAILGDTAWDFGSLGGVFTSIGKALHQVFGAIYGAAFSGVSW-Z (SEQ ID NO:30)
E del VEJ	X-LAALGDTAWDFGSIGGVFGSIGKAVHQVFGGAFRTLFGGMSW-Z (SEQ ID NO:1)
E del VFA	X-LAVMGDTAWDFSSAGGFSTSVGKGIHTVFGSAFQGLFGGLNW-Z (SEQ ID NO:32)
E del VON	X-LAALGDTAWDFGSVGGVFTSVGKAVHQVFGGAFRSLFGGMSW-Z (SEQ ID NO:3)
E2 del VFPC	X-QQYMLKGEYQYWFDLVDTRHSDYFAEFVVLVVVALLGGRYI-Z (SEQ ID NO:34)
E2 del VDVB	X-QQYMLKGEYQYWFDLEVTDHHRDYFAESILVVVALLGGRYV-Z (SEQ ID NO:35)
E2 del VEF	X-QQYMLKGQYQYWFDLEVISSTHQIDLTEFIMLAVVALLGGRYV-Z (SEQ ID NO:36)

5

Según la presente invención, los péptidos relacionados con los péptidos inhibidores de fusión de flavivirus (FIP) comprenden preferiblemente al menos tres residuos contiguos de los péptidos FIP, o un péptido homólogo, comprenden más preferiblemente 4, 5, 6 ó 7 residuos contiguos. comprenden incluso más preferiblemente al menos 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 residuos contiguos, y lo más preferiblemente todos los residuos de estas secuencias. Tal como se usa en el presente documento, el término péptidos inhibidores de flavivirus significa preferiblemente péptidos que tienen una secuencia idéntica a la parte correspondiente de los péptidos y las proteínas inhibidoras de flavivirus en la que uno o más aminoácidos se sustituyen por aminoácidos funcionalmente equivalentes (véase más adelante). El término también se refiere a derivados de estos péptidos, incluyendo pero sin limitarse a derivados bencilados, derivados glicosilados y péptidos que incluyen enantiómeros de aminoácidos que se producen de manera natural. En otras realizaciones de la invención, los péptidos inhibidores de flavivirus, derivados o péptidos relacionados se unen a una molécula transportadora tal como proteína. Las proteínas que se contemplan como útiles según esta realización de la invención, incluyen pero no se limitan a, (albúmina sérica humana). En el presente documento, se describen péptidos relacionados con péptidos inhibidores de flavivirus que comprenden aminoácidos adicionales.

Pueden producirse péptidos a partir de proteínas virales que se producen de manera natural o recombinantes, o pueden producirse usando técnicas de ADN recombinante convencionales (por ejemplo, la expresión de un péptido por un microorganismo que contiene molécula de ácido nucleico recombinante que codifica para el péptido deseado,

20

bajo el control de un promotor transcripcional adecuado, y la recogida del péptido deseado de dicho organismo). Preferiblemente, los péptidos de la invención pueden sintetizarse usando cualquier metodología conocida en la técnica, incluyendo pero sin limitarse a, la síntesis en fase sólida de Merrifield (Clark-Lewis *et al.*, 1986, Science 231:134-139).

- 5 Los FIP, o fragmentos o derivados de los mismos, de la composición farmacéutica de la invención incluyen, aquellos que contienen, como secuencias primarias de aminoácidos, la secuencia de aminoácidos de la proteína inhibidora de fusión 1 del VHC, X-YQVRNSSGLYHVTNDCPNSSIVYEAADAIL-Z (SEQ ID NO:1) o una parte funcional o partes funcionales de la misma tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. También se describen secuencias peptídicas homólogas asociadas con otros flavivirus, incluyendo, pero sin limitarse a, HGB, VD, VEJ, VFA, VON, VFPC, VDVB o VEF. También se describen secuencias alteradas (es decir, alteradas con respecto a cualquiera de las secuencias a las que se hace referencia en el presente documento) en las que se sustituyen residuos de aminoácido funcionalmente equivalentes por residuos dentro de la secuencia, dando como resultado un cambio funcionalmente silencioso. Por ejemplo, pueden sustituirse uno o más residuos de aminoácido dentro de la secuencia reemplazando el aminoácido original por otro aminoácido, de una polaridad similar, que actúa como equivalente funcional, dando como resultado una alteración funcionalmente silenciosa. Los sustitutos para un aminoácido dentro de la secuencia pueden seleccionarse de otros miembros de la clase a la que pertenece el aminoácido. Por ejemplo, los aminoácidos apolares (hidrófobos) incluyen alanina, leucina, isoleucina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano y metionina. Los aminoácidos neutros polares incluyen glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina y glutamina. Los aminoácidos cargados positivamente (básicos) incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos cargados negativamente (ácidos) incluyen ácido aspártico y ácido glutámico. Por ejemplo, y no a modo de limitación, tales péptidos también pueden comprender uno o más D-aminoácidos. Además, en cualquiera de las realizaciones de la presente invención, la composición farmacéutica puede comprender un péptido que comprende una proteína transportadora ineficaz, o ninguna proteína transportadora en absoluto.

### 5.3. Utilidad de la descripción

- 25 La composición farmacéutica tal como se define en las reivindicaciones adjuntas comprende péptidos inhibidores de flavivirus que pueden utilizarse para inhibir la fusión de virión de flavivirus:célula y, por consiguiente se describen para usarse en el tratamiento de la infección por flavivirus y también en la profilaxis contra la infección por flavivirus, formando parte de la composición farmacéutica de las reivindicaciones adjuntas. Los péptidos de la invención pueden administrarse a pacientes en cualquier vehículo farmacéutico biocompatible, estéril, incluyendo, pero sin limitarse a, solución salina, solución salina tamponada, dextrosa y agua. Los métodos para administrar péptidos a pacientes los conocen bien los expertos en la técnica; incluyen, pero no se limitan a, intradérmicos, intramusculares, intraperitoneales, intravenosos, subcutáneos, orales e intranasales. Además, puede ser deseable introducir las composiciones farmacéuticas de la invención en el sistema nervioso central mediante cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intratecal e intraventricular.

- 35 La presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden péptidos inhibidores de flavivirus, fragmentos peptídicos o derivados (tal como se describieron anteriormente y tal como se aparece en las reivindicaciones adjuntas) administradas por medio de liposomas, micropartículas o microcápsulas. Diversos aspectos de la descripción, contemplan tales composiciones para su uso en el logro de la liberación sostenida de péptidos inhibidores de flavivirus. Otras realizaciones contemplan composiciones farmacéuticas que incluyen los FIP o derivados de los mismos, unidos a un transportador molecular (por ejemplo, ASH).

- Diversos aspectos de la presente descripción proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden péptidos inhibidores de flavivirus para su uso para tratar sujetos animales o humanos padecen infección por flavivirus (por ejemplo, fiebre hemorrágica del dengue, enfermedad del oeste del Nilo, hepatitis C o fiebre porcina clásica). En cualquier realización, normalmente los péptidos se purifican sustancialmente (tal como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente purificado" se refiere a un péptido, análogo peptídico, que es puro en más de aproximadamente el 80%. Más preferiblemente, "sustancialmente purificado" se refiere a un péptido, análogo peptídico o anticuerpo que puro en más de aproximadamente el 90% o puro en más de aproximadamente el 95%. Lo más preferiblemente, se refiere a un péptido o análogo peptídico que puro en más del 99%. Funcionalmente, "sustancialmente purificado" significa que está libre de contaminantes en un grado que lo hace adecuado para los propósitos proporcionados en el presente documento. Otras realizaciones proporcionan la administración profiláctica de los péptidos a aquéllos que están en riesgo de contraer infección por flavivirus.

Otras realizaciones de la presente invención proporcionan métodos para identificar la estructura de proteínas de fusión de flavivirus truncadas que están implicadas en la fusión de virión:célula mediante miembros de la familia *Flaviviridae* y para las estructuras de las mismas.

- 55 Otras realizaciones de la invención proporcionan un péptido que tiene una fórmula seleccionada de uno o más de los siguientes.

A. Diversas realizaciones de la invención proporcionan péptidos inhibidores de fusión del virus de la hepatitis C: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la hepatitis C, X-YQVRNSSGLYHVTNDCPNSSIVYEAADAIL-Z (SEQ ID NO:1); proteína inhibidora de fusión 2 del VHC, X-CSALYWGDLCGSVFLVQLFTFSPRRHWTTQDC-Z (SEQ ID

NO:2); proteína inhibidora de fusión 3 del VHC, X-SPRRHWTTQDCNCSIVPGHITGHRMAWDMMMNWSPT-Z (SEQ ID NO:3); o proteína inhibidora de fusión 4 del VHC, X-MMMNWSPTAALVVAQLLRIPQAIMDMIAGAHWVGLAGIKYFSMVGW-Z (SEQ ID NO:4)

5 B. Otras realizaciones de la invención proporcionan un péptido u homólogo peptídico en el que el flavivirus es miembro o miembro provisional del género *Hepacivirus*. Una realización preferida de esta invención se refiere a un péptido o análogo peptídico en el que el miembro provisional del género *Hepacivirus* es el virus de la hepatitis G y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en: péptidos inhibidores de fusión del virus de la hepatitis G: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la hepatitis G, X-RVTDPTNTTILNCCQRNQVIYCSPTCL-Z (SEQ ID NO:5); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la hepatitis G, XTCDALDIGELCGACVLVDLVRHWHIDLNET-Z (SEQ ID NO:13); proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la hepatitis G, X-IHIDLNETGTCYLEVPTGIDPGFLGFIGWMAGKVEA-Z (SEQ ID NO:21); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus de la hepatitis G, X-WMAGKVEAVIFLTKLASQVPYAIATMFSSVHYLAVGALIYYZ (SEQ ID NO:29)

15 C. Otras realizaciones de la invención proporcionan un péptido u homólogo peptídico del género *Flavivirus*. En un aspecto preferido de esta realización, el péptido o análogo peptídico procede del virus del dengue y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en péptidos inhibidores de fusión del virus del dengue: proteína inhibidora de fusión 1 del virus del dengue, X-RDFVEGVSGGSWVDIVLEHGSCVTTMAKNKPTLDF-Z (SEQ ID NO:6); proteína inhibidora de fusión 2 del virus del dengue, X-KRFVCKHSMVDRGWNGCGLFGKGGIVTCAMFTC-Z (SEQ ID NO:14); proteína inhibidora de fusión 3 del virus del dengue, X-MVLLQMEDKAWLVHRQWFLDLPLPWLPGADTQGSNW-Z (SEQ ID NO:22); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus del dengue, X-MAILGDTAWDFGSLGGVFTSIGKALHQVFGAIYGAAFGVSW-Z (SEQ ID NO:30).

25 D. Un péptido u homólogo peptídico de miembro del género *Flavivirus*, virus de la encefalitis japonesa. Partes de la solicitud describen péptidos y/o análogos peptídicos que se seleccionan del grupo que consiste en péptidos inhibidores de fusión del virus de la encefalitis japonesa: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la encefalitis japonesa, X-RDFIEGASGATWVDLVLEGDSCLTIMANDKPTLDV-Z (SEQ ID NO:7); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la encefalitis japonesa, X-SSYVCKQGFTDRGWNGCGLFGKGSIDTCAKFSC-Z (SEQ ID NO:15); proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la encefalitis japonesa, X-FYVMTVGSKSFLVHREWFHDLALPWTSPSSTAWRNR-Z (SEQ ID NO:23); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus de la encefalitis japonesa, X-LAALGDTAWDFGSGGVFNSIGKAVHQVFG GAFRTLFGGMSW-Z (SEQ ID NO:31).

30 E. Un péptido y/u homólogos peptídicos en los que el miembro del género *Flavivirus* es el virus de la fiebre amarilla y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en: péptidos inhibidores de fusión del virus de la fiebre amarilla: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la fiebre amarilla, X-RDFIEGVHGGTWWSATLEQDKCVTMAPDKPSLDI-Z (SEQ ID NO:8); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la fiebre amarilla, X-GDNACKRTYSDRGWNGCGLFGKGSIVACAKFTC-Z (SEQ ID NO:16); proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la fiebre amarilla, X-SYIAEMETESWIVDRQWAQDLTLPWQSGSGGVWREM-Z (SEQ ID NO: 24); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus de la fiebre amarilla, X-LAVMGDTAWDFSSAGGFFTSVGKGIHTVFGSAFQGLFGGLNW-Z (SEQ ID NO:32).

40 F. Un péptido y/u homólogos peptídicos en los que el miembro del género *Flavivirus* es el virus del oeste del Nilo y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en péptidos inhibidores de fusión del virus del oeste del Nilo: proteína inhibidora de fusión 1 del virus del oeste del Nilo, X-RDFLEGVSGATWVDLVLEGDSCVTIMSKDKPTIDV-Z (SEQ ID NO:9); proteína inhibidora de fusión 2 del virus del oeste del Nilo, X-PAFVCRQGVVDRGWNGYCGFLFGKGSIDTCAKFAC-Z (SEQ ID NO:17); proteína inhibidora de fusión 3 del virus del oeste del Nilo, X-YYVMTVGTKTLVHREWFMDLNLPSWSSAGSTVWRNR-Z (SEQ ID NO:25); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus del oeste del Nilo, X-LAALGDTAWDFGSGGVFTSVGKAVHQVFGGAFRSLFGGMSW-Z (SEQ ID NO: 33).

50 G. Un péptido y/u homólogos peptídicos en los que el flavivirus es un miembro del género *Pestivirus*. Partes de la solicitud describen los péptidos u homólogos del mismo, el miembro del género *Pestivirus* es el virus de la fiebre porcina clásica y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en: péptidos inhibidores de fusión del virus de la fiebre porcina clásica: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la fiebre porcina clásica, X-GQLACKEDYRYAISSTNEIGLLGAGLTTTWKEYN-Z (SEQ ID NO:10); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la fiebre porcina clásica, X-KGKYNTLLNGSAFYLVCPIGWTGVIECTAVSPT-Z (SEQ ID NO:18); o proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la fiebre porcina clásica, X-TLRTEVVKTFRRDKPFPHRMDAVTTTVENEDLFY-Z (SEQ ID NO:26); o proteína inhibidora de fusión 4 del virus de la fiebre porcina clásica, XQQYMLKGEYQYWFDLVDTRHSDYFAEFVLLVVVALLGGRYI-Z (SEQ ID NO:34).

55 H. Un péptido y homólogos peptídicos en los que el miembro del género *Pestivirus* es el virus de la diarrea viral bovina y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en: péptidos inhibidores de fusión del virus de la diarrea viral bovina: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la diarrea viral bovina, X-GHLDCPEFSYAIKDERIGQLGAEGLTTTWKEYS-Z (SEQ ID NO:11); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la diarrea viral bovina, X-RGKFNTLLNGPAFQMVCPIGWTGTVSCTSFNMD-Z (SEQ ID NO:19); o proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la diarrea viral bovina, X-TLATEVVKIYKRTKFRSGLVATHHTTIYEDLYH-Z (SEQ

ID NO:27); o péptido inhibidor de fusión 4 del virus de la diarrea bovina, X-QQYMLKGQYQYWFDFLEVDHHRDYFAESILVVVVALLGGRYV-Z (SEQ ID NO:35).

5 I. Un péptido y homólogos peptídicos en los que el miembro del género *Pestivirus* es el virus de la enfermedad de la frontera y los péptidos se seleccionan del grupo que consiste en: péptidos inhibidores de fusión del virus de la enfermedad de la frontera: proteína inhibidora de fusión 1 del virus de la fiebre porcina clásica, X-GEFACREDHRYALAKTKEIGPLGAESLTTTWTDYQ-Z (SEQ ID NO:12); proteína inhibidora de fusión 2 del virus de la enfermedad de la frontera, X-RGKYNATLLNGSAFQLVCPYEWGTGRVECTTISKS-Z (SEQ ID NO:20); o proteína inhibidora de fusión 3 del virus de la enfermedad de la frontera, X-TLATTVVRTYRRSKPFPHRQGAIQKNLGEDLH-Z (SEQ ID NO:28); o péptido inhibidor de fusión 4 del virus de la enfermedad de la frontera, X-QQYMLKGQYQYWFDFLEVISSTHQIDLTEFIMLAVVALLGGRYV-Z (SEQ ID NO:36).

10 En cualquiera de los grupos anteriores, los aminoácidos están representados por el código de letra única. En diversos aspectos de estas realizaciones, "X" comprende un grupo amino, un grupo acetilo, un grupo hidrófobo o un grupo transportador macromolecular; "Z" comprende un grupo carboxilo, un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo transportador macromolecular. En otros aspectos de esta realización de la invención, X es un grupo hidrófobo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, grupo t-butiloxicarbonilo, un conjugado lipídico, un grupo polietilenglicol o un hidrato de carbono. En cualquier aspecto de esta realización, Z puede ser un grupo t-butiloxicarbonilo, un conjugado lipídico, un grupo polietilenglicol o un hidrato de carbono.

15 Además, aspectos de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención también incluyen péptidos en los que al menos un enlace que une residuos de aminoácido adyacentes es un enlace no peptídico. En aspectos particularmente preferidos de las realizaciones de la invención, el enlace no peptídico es un enlace imido, éster, hidrazina, semicarbazida o azo.

20 Otros aspectos de las realizaciones de la invención proporcionan péptidos en los que al menos un aminoácido es un aminoácido de isómero D.

25 Secciones adicionales de la solicitud describen péptidos en los que se ha comprometido al menos una sustitución de aminoácido de manera que un primer residuo de aminoácido se sustituye por un segundo residuo de aminoácido diferente. Estas sustituciones pueden ser conservativas o no conservativas. Siempre que el péptido todavía sea funcional según la presente invención.

## 6. Ejemplo: E1 del virus de la hepatitis C es una proteína de fusión de clase II truncada.

30 Se usaron herramientas computacionales de la proteómica para ajustar la proteína E1 del VHC al andamiaje de E del VETG, la proteína de fusión de clase II prototípica. Debido a que E1 del VHC es más corta que E del VETG, se razonó que la primera podría contener varias "deleciones" con respecto a la última. Se supuso que el péptido de fusión de E1 del VHC (Flint *et al.*, 1999) se ubicaba en el extremo de la molécula más alejado del dominio de anclaje transmembrana carboxilo-terminal (C-terminal), y, que se componía como otras proteínas de fusión de clase II principalmente de láminas  $\beta$  antiparalelas. Esta última suposición estuvo respaldada por los análisis de Chou-Fasman (Chou y Fasman, 1974) y Robson-Garnier (Biou *et al.*, 1988), los algoritmos aplicados más comúnmente para la predicción de la estructura secundaria.

35 El péptido de fusión del VHC (aminoácidos [aa] 272 a 281 de la poliproteína de longitud completa) se alineó con el péptido de fusión de E del VETG (aa 385-396) (figura 1A). Tanto los péptidos de fusión de E del VETG y E1 del VHC tienen restos de cisteína en cualquier extremo y contienen un núcleo de aminoácidos principalmente aromáticos e hidrófobos (figura 1A). Otro dominio fácilmente identificable en E1 del VHC es el dominio transmembrana. Se predijo que los aminoácidos 361 a 381 de la secuencia hidrófoba próxima al extremo carboxilo-terminal de E1 forman una hélice transmembrana mediante TMpred (software de predicción transmembrana, véase [ch.embnet.org](http://ch.embnet.org)) (puntuación de TMpred de 1308, >500 es estadísticamente significativa).

45 Varias regiones de hélices  $\alpha$  y láminas  $\beta$  predichas en E1 del VHC mostraron similitudes con las secuencias que se sabe que adoptan esas estructuras secundarias en E del VETG (figura 1A). Comenzando por el extremo aminoterminal, la primera similitud de E1 del VHC comienza en la lámina  $\beta$  Do de E del VETG y se extiende a través del péptido de fusión. Se usó PRSS3, un algoritmo de alineación de secuencias, para confirmar que existe una similitud significativa ( $p < 0,025$ ) entre los aminoácidos 246-281 de E1 del VHC y los aminoácidos 350-396 de E del VETG (figura 1B). El péptido de fusión está flanqueado por láminas  $\beta$  en proteínas de fusión de clase II y de hecho se predice que las láminas predichas con similitudes con las láminas  $\beta$  de b y c de E del VETG están presentes a ambos lados del supuesto péptido de fusión de E1 del VHC mediante análisis de Chou-Fasman y Robson-Garnier. La E1 del VHC también tiene una región extendida de similitud con la secuencia de aminoácidos entre las dos hélices más largas en E del VETG,  $\alpha A$  y  $\alpha B$ . Existe una alineación estadísticamente significativa ( $P < 0,025$ ) de los aminoácidos 316-356 de E1 del VHC con los aminoácidos 496-544 de E del VETG (figura 1B).

55 Para determinar la plausibilidad de estas alineaciones, se produjo la estructura de andamiaje de un modelo tridimensional de E1 del VHC sobre el dominio II de E del VETG (figura 2A). Se proporcionan estructuras/secuencias similares en ubicaciones similares. La reorientación de la lámina "b" en E1 es el único cambio con respecto a E

requerido para llevar los ocho residuos de cisteína a una proximidad cercana. Las cuatro dicisteínas de E1 del VHC forman potencialmente una “cremallera” bajo el centro de la molécula como las tres dicisteínas en el dominio II de E del VETG (figura 2B). Este modelo ubica los cinco sitios de glicosilación de E1 del VHC de modo que son accesibles en superficie. Adicionalmente, la mayoría de los residuos hidrófobos están presentes en una región en un lado de E1 entre el péptido de fusión y el anclaje transmembrana (véase a continuación, figura 5).

Cada una de las estructuras de E1 del VHC proporcionadas en la figura 2B se adaptan tanto a las predicciones de Chou-Fasman como de Robson-Garnier, con la excepción de la región desde “i” hasta “αB”. Se predijo que las estructuras denominadas “i” y “j” eran láminas β mediante el análisis de Chou-Fasman, pero de hélice α mediante el análisis de Robson-Garnier. Se predijo que la estructura denominada “αB” era una lámina β mediante el análisis de Chou-Fasman, pero de hélice α mediante el análisis de Robson-Garnier. Parece que falta E1 del VHC, con respecto a E del VETG, en gran parte de la molécula antes de la hélice transmembrana (preanclaje). Esta región de E del VETG sigue al sitio de escisión de tripsina en el aminoácido 395 usado para generar esa parte del ectodominio de E examinado mediante cristalografía de rayos X, y por tanto, la estructura de preanclaje (tallo) E del VETG es incierta. Se ha predicho que el preanclaje de E del VETG forma una hélice α anfipática (Allison *et al.*, 1999). Una secuencia (aa 693-721) del dominio de preanclaje en E del VETG tiene las características de una cremallera de leucina, es decir leucina u otro aminoácido hidrófobo en las posiciones primera y cuarta (a y d) de una periodicidad de siete aminoácidos (figura 1A). También se predijo que la secuencia de preanclaje de E1 del VHC era una hélice α con características de una “cremallera de leucina” (Charloteaux *et al.*, 2002). Debido a la similitud de secuencia de aminoácidos significativa con E del VETG, se representaron las estructuras secundarias E1 del VHC entre “αA” y “αB” como en E del VETG. Existen varias alternativas posibles al modelo 3D de E1 del VHC trazado en la figura 2B, y es posible que las estructuras secundarias cambien con la interacción con las membranas.

En contraposición a E1 del VHC, estos análisis no revelaron ninguna secuencia de E2 del VHC con similitud significativa con ninguna secuencia en los dominios I o II de E del VETG ni ninguna otra proteína E de flavivirus (se examinaron representantes de cada uno de los cuatro serogrupos principales). La mayor parte de la mitad N-terminal de E2 del VHC, que incluye la región hipervariable 1 (HVR 1), no tiene ninguna similitud de secuencia con E del VETG. Sin embargo, se detectó una alineación significativa ( $p < 0,025$ ) de la mitad C-terminal de E2 del VHC (aa 549-726) con la región de E del VETG (aa 590-763) desde el dominio III a través del primero de dos dominios transmembrana predichos de E del VETG (figura 1, TM1 de E del VETG, aminoácidos 448-469, TMpred: 1496; TM2, aminoácidos 474-496, TMpred: 1962). Tal como se trató anteriormente, la región de preanclaje de E del VETG tiene una secuencia (aa 693-721) con características de una “cremallera de leucina”; se encuentra un motivo similar (aa 675-703) en el preanclaje de E2 del VHC (figura 1). Además, el extremo carboxilo (C) terminal de E2 del VHC, como el de E del VETG, contiene un tramo de aminoácidos hidrófobos que podrían abarcar potencialmente el doble de la membrana. El/los anclaje(s) transmembrana de E2 del VHC (puntuación de TMpred: 1364) está(n) interrumpido(s) por aminoácidos cargados como TM1 de E del VETG. Por tanto, mediante alineaciones de secuencia y predicciones estructurales existen similitudes demostrables entre las partes C-terminales de E2 de VHC y de E del VETG .

Alineaciones significativas de E1 del virus de la hepatitis GB (VGB-B) con E1 del VHC, indican que este miembro no clasificado de la familia *Flaviviridae* también codifica para una proteína de fusión de clase II truncada.

## 6.1. Materiales y métodos

Se usaron cepas prototipo de representantes de *Flaviviridae* para comparaciones de secuencias y estructurales. Las cepas examinadas incluyen la cepa Neudoerfl de VETG (número de registro: P14336); y la cepa prototipo humana H (subtipo 1a) del virus de la hepatitis C (P27958). Algunas comparaciones usaron representantes de los serogrupos principales de los flavivirus, incluyendo virus de la encefalitis japonesa, cepa JaOARS982 (P32886), virus de la fiebre amarilla, cepa 17D-204 (P19901), virus del dengue tipo 2, cepa PR-159/S1 (P12823) y virus del oeste del Nilo, cepa NY 2000-crow3356 (AF404756). También se compararon secuencias del VHC con las del virus GB-virus B (AAC54059), un miembro no asignado de *Flaviviridae*.

Se usó MACMOLLY®, software de análisis de proteínas (Soft Gene GmbH, Berlín), para ubicar zonas de similitud de secuencia limitada y para realizar el análisis de Chou-Fasman y Robson-Garnier. Se usó PRSS3, un programa derivado de rdf2 (Pearson y Lipman, 1988), que usa el algoritmo de alineación de secuencias de Smith-Waterman (Smith y Waterman, 1981), para determinar la significación de las alineaciones de proteínas. PRSS3 es parte del paquete FASTA de programas de análisis de secuencias disponible del ftp anónimo de ftp.virginia.edu. Se usaron parámetros por defecto para PRSS3, incluyendo la matriz de puntuación blosum50, la penalización por apertura de hueco de 12 y la penalización por extensión de hueco de 2. Las alineaciones presentadas son las que produjeron las mayores puntuaciones de alineación, en lugar de las secuencias más largas que produjeron puntuaciones significativas. Los algoritmos de Chou-Fasman y Robson-Garnier predicen estructuras proteicas en un entorno acuoso, pero no pueden predecir estructuras proteicas en una bicapa lipídica. Se identificaron dominios con una propensión significativa a formar hélices transmembrana con TMpred (ExpASy, Swiss Institute of Bioinformatics). TMpred se basa en un análisis estadístico de TMbase, una base de datos de glicoproteínas transmembrana que se producen de manera natural (Hofmann y Stoffel, 1993). Se usó RasMac, desarrollado por Roger Sayle, para representar modelos 3D de E del VETG.

## 6.2. Resultados y discusión

Los resultados indican que el ectodominio de los hepacivirus es una versión truncada de la estructura de proteína de fusión de clase II. El ectodominio de E1 del VHC es equivalente en líneas generales a la parte de E del VETG desde la región "bisagra" hasta el péptido de fusión (figura 2). Estas conclusiones contrastan con las de Yagnik *et al.* (2000), que predijeron que E2 del VHC se ajusta al andamiaje de una proteína de fusión de clase II completa. Estos modelos no se describieron previamente. Yagnik *et al.* (2000), enseñaron que E2 del VHC se ajusta al andamiaje de una proteína de fusión de clase II completa. Lescar y colaboradores (2001) afirmaron que sus determinaciones estructurales de E1 de VBS, que establecían la existencia de una segunda clase de proteínas de fusión, "de hecho respaldan el modelo propuesto de la proteína de la envuelta E2 del virus de la hepatitis C que se basó en la estructura 3D de la proteína de la envuelta E de flavivirus." En contraposición, este modelo indicó que E1 del VHC es de clase II aunque no sea similar a lo descrito previamente. Aunque existen similitudes de secuencia y estructurales entre E2 de VHC y E del VETG, estas similitudes se limitan a las partes C-terminales de estas proteínas, y son diferentes de las propuestas previamente (Yagnik *et al.*, 2000).

### 7. Ejemplo: E2 de pestivirus es una proteína de fusión de clase II truncada.

Para proporcionar una prueba adicional del modelo de proteína de fusión de clase II de E1 del VHC, se determinó si las proteínas de fusión del tercer género de *Flaviviridae*, los pestivirus, podrían compartir similitudes de secuencia/estructurales con las proteínas de fusión de los miembros de los géneros *Flavivirus* y *Hepacivirus*. Los pestivirus codifican para tres glicoproteínas de la envuelta, E<sup>ms</sup>, E1 y E2. E<sup>ms</sup>, una proteína secretada con actividad ARNasa, no tiene un dominio de anclaje transmembrana hidrófobo. E<sup>ms</sup> sí que tiene un segmento anfipático cargado C-terminal que puede mediar la translocación de E<sup>ms</sup> a través de membranas bicapa (Langedijk, 2002). E1 y E2 de pestivirus tienen ambas dominios hidrófobos C-terminales que podrían funcionar como anclajes transmembrana. Por tanto, se postuló que o bien E1 o bien E2 de pestivirus deben ser la proteína de fusión de pestivirus.

Un supuesto péptido de fusión (aa 818-828) está presente en E2 del VFPC, que contiene una secuencia consenso con aminoácidos aromáticos e hidrófobos ubicados entre dos residuos de cisteína (figura 1). Los residuos de cisteína así como las secuencias entremedias están altamente conservadas entre los pestivirus, al igual que para péptidos de fusión de otros virus ARN con envuelta de clase I y II (no mostrados). Aunque no se detectaron alineaciones estadísticamente significativas entre los extremos N-terminal de E2 del VFPC y E del VETG (o entre otros flavivirus), se detectó una alineación significativa ( $p < 0,01$ ) entre E2 del VFPC (aa 792-835) y E1 del VHC (aa 253-294) en esta región (figura 1B). Además, se pronosticó que las secuencias que flanquean el supuesto péptido de fusión forman láminas  $\beta$  tanto mediante el análisis de Chou-Fasman como de Robson-Garnier (datos complementarios). También se determinó una alineación significativa ( $p < 0,05$ ) entre E2 del VFPC (aa 841-913) y E1 del VHC (aa 301-383). Por extensión, se predice que la parte central de E2 del VFPC se parece estructuralmente al dominio II de E del VETG. Se detectó una alineación significativa ( $p < 0,005$ ) entre los aminoácidos 914-1018 de E2 del VFPC y una secuencia en el dominio III de E del VETG (aa 587-685) (figura 1B). También hubo una similitud significativa ( $p < 0,005$ ) de esta región de E2 del VFPC (aa 914-1123) con una secuencia (aa 549-743) en la región de E2 del VHC que se alinea con el dominio III del VETG. Además, TMPred confirmó que el dominio C-terminal hidrófobo de E2 del VFPC tiene una alta propensión a abarcar la bicapa lipídica (puntuación: 1137). Como los dominios transmembrana de E1/E2 del VHC y TM1 del VETG, el supuesto anclaje transmembrana de E2 del VFPC tiene una carga positiva central.

Basándose en las regiones de similitudes de secuencia significativas entre E2 del VFPC, E1/E2 del VHC y E del VETG, unido a la ubicación interna de un posible péptido de fusión, se concluye que con respecto a E del VETG, E2 del VFPC carece de una parte del dominio I que incluye segmentos que corresponden a láminas  $\beta$  de E<sub>o</sub> a I<sub>o</sub>. También parece que E2 del VFPC contiene un segmento algo más corto con respecto a E del VETG en el dominio de preanclaje, es decir la secuencia entre la alineación con el dominio III de E del VETG y el dominio transmembrana (figura 1B). Ninguna cremallera de leucina es evidente en el preanclaje de E2 del VFPC. Un modelo tridimensional de E2 del VFPC (figura 2C) confirma que la alineación en la figura 1 es plausible. Cada uno de los residuos de cisteína está en la proximidad de los demás residuos de cisteína y forman potencialmente puentes dicisteína. Como E1 del VHC, E2 del VFPC se adapta a la estructura de una proteína de fusión de clase II truncada, aunque con menos truncamientos con respecto a E de flavivirus que E1 del VHC. Debido a que E2 se conserva entre el género *Pestivirus*, las similitudes de E2 del VFPC con E del VETG se extienden a los demás pestivirus.

Ninguna de las glicoproteínas de la envuelta E1 de ningún pestivirus porta ninguna similitud de secuencia significativa con ninguna proteína E de flavivirus secuenciada. Los viriones de flavivirus inmaduros contienen un precursor, prM, con respecto a la proteína de membrana pequeña M. prM se escinde en el retículo endoplasmático mediante furina o mediante una proteasa parecida a furina durante la liberación del virus para producir la proteína M madura ubicada en la superficie de los viriones de flavivirus (Stadler *et al.*, 1997). Una secuencia (aminoácidos 173-256) de E1 del VFPC tiene similitud ( $p = 0,030$ ) con los aminoácidos 583-654 de prM del VETG (figura 3A). E1 del VFPC no contiene la secuencia RXR/KR (SEQ ID NO: 37), el sitio de escisión consenso de furina. E1 del VFPC tampoco contiene un péptido de fusión identificable, aunque TMPred predice un dominio transmembrana significativo en el primer tercio de E1 del VFPC. Como los dominios transmembrana de E del VETG, E1 y E2 del VHC y E2 del VFPC, y prM del VETG (puntuación de TMPred=1828), se predice que el extremo C-terminal de E1 del VFPC forma un dominio de membrana (puntuación de TMPred=1884) con una carga positiva central.

#### 7.1. Materiales y métodos

Se usó la cepa Alfort 187 del virus de la fiebre porcina clásica, también conocido como virus del cólera porcino (CAA61161) como prototipo del género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*. Se usaron especies tipo de otros pestivirus en otras comparaciones, incluyendo el genotipo 1 del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), también conocido como pestivirus tipo 1, cepa NADL (CAB91847) y la cepa BD31 del virus de la enfermedad de la frontera (AAB37578). Los métodos computacionales proteómicos fueron tal como se describieron en 6.1.

## 7.2. Resultados y discusión

Las proteínas E2 de pestivirus son proteínas de fusión de clase II truncadas, aunque con menos truncamientos con respecto a E de flavivirus que E1 de hepacivirus.

### 8. Ejemplo: orden génico de los genomas de *Flaviviridae*

Pueden estar presentes genes que codifican para proteínas con funciones similares en ubicaciones similares en genomas de diferentes miembros de la familia *Flaviviridae*. Los genomas de ARN monocatenario de polaridad positiva de todos los miembros de *Flaviviridae* se traducen en una poliproteína grande individual que posteriormente se escinde mediante proteasas virales y celulares para dar proteínas funcionales. El orden (desde el extremo N-terminal hasta el C-terminal) de las proteínas en las poliproteínas de VETG y otros miembros del género *Flavivirus* es C-prM-E-no estructurales (C: cápsida), y el orden de las proteínas en las poliproteínas de los hepacivirus es C-E1-E2-p7-no estructurales (figura 4). La parte 5' del gen de E de flavivirus codifica para el péptido de fusión en el dominio II de la proteína E, mientras que el dominio de unión al receptor de E se ubica probablemente en el dominio III codificado por la parte 3' del gen de E (Crill y Roehrig, 2001; Mandl *et al.*, 2000). Las funciones receptoras y de fusión pueden residir en dos proteínas diferentes del VHC, E1 y E2 respectivamente, que aparecen en el mismo orden que los dominios de E de flavivirus que llevan a cabo estas funciones (figura 4). E1 y E2 de hepacivirus pueden haber surgido por la inserción de un anclaje transmembrana y dominios variables, incluyendo región hipervariable 1 (HVR-1, figura 1), en el gen de E ancestral. Alternativamente, E1 del VHC podría haber evolucionado en una proteína de fusión independiente a partir de prM ancestral, con la pérdida concurrente de las funciones del péptido de fusión y la fusión en E2. Sin embargo, las similitudes de secuencia entre E del VETG y E1 y E2 del VHC, no favorecen esta última posibilidad.

El orden de las proteínas en poliproteínas de pestivirus es Npro-C-Erns-E1-E2-p7-no estructurales. Los pestivirus codifican para dos proteínas, Npro y E<sup>ms</sup>, sin ningún homólogo obvio entre los miembros de los otros dos géneros de *Flaviviridae*. E1 y E2 de pestivirus son similares en secuencia a M y E de flavivirus, respectivamente. Como E del VETG, E2 de pestivirus puede servir tanto como proteína de fusión como proteína de unión al receptor. Estas funciones se llevan a cabo mediante dominios II y III de E del VETG que parecen estar representados por estructuras similares en E2 de pestivirus (figura 4). PrM/M del VETG funciona para proteger membranas celulares internas frente a la fusión mediada por E2, y es posible que E1 de pestivirus sirva para la misma función para E2, la proteína receptora/de fusión. Exceptuando Npro y E<sup>ms</sup>, el orden de las proteínas estructurales con secuencia y otras similitudes es análogo en poliproteínas de pestivirus y flavivirus.

E del VETG tiene dos dominios transmembrana C-terminales hidrófobos, TM1 y TM2 (figura 1). Los hepacivirus y los pestivirus codifican para un péptido hidrófobo pequeño, "p7", que podría asociarse con membranas celulares o virales. La escisión que produce p7 es ineficaz y retardada, y por tanto gran parte de E2 del VHC y E2 de pestivirus están presentes en la célula como precursores E2-p7 no escindidos (Harada, Tautz y Thiel, 2000). El gen p7 se ubica en una ubicación genómica y podría haber evolucionado a partir de una secuencia que codifica para el segundo dominio transmembrana, TM2, de E de flavivirus (figura 4). El genoma de *Flaviviridae* consenso puede representarse, por tanto, como X1-C-X2-M-fusión-unión-TM1-TM2-no estructurales-3', en el que X1 y X2 representan secuencias insertadas en pestivirus, N<sup>pro</sup> y E<sup>ms</sup>, respectivamente, M representa prM/M de flavivirus-E1 de pestivirus y TM2 es el segundo dominio transmembrana de los flavivirus y p7 de los hepacivirus y los pestivirus. Estas similitudes en las funciones y el orden génicos respaldan la hipótesis de que E1 es la proteína de fusión de VHC.

#### 8.1. Materiales y métodos

Se usaron cepas prototipo de representantes de *Flaviviridae* tal como se describió en 6.1 y 7.1 para comparaciones de secuencias.

#### 8.2. Resultados y discusión

Los hepacivirus, como los alfavirus, parecen usar una proteína de la envuelta para la unión (E2) y otra para la fusión (E1). En contraposición, las glicoproteínas E del VETG, el virus del dengue y otros miembros del género *Flavivirus* median tanto funciones de unión al receptor como de fusión de membrana. E2 funciona como una proteína de unión al receptor de pestivirus (Hulst y Moormann, 1997), y si el análisis actual es correcto también lleva a cabo la función de fusión de virión:célula. Además de E, los flavivirus codifican para una proteína de membrana prM cuyas funciones pueden incluir la protección de membranas celulares del péptido de fusión de E (Kuhn *et al.*, 2002). Pueden conferirse funciones de la proteína de membrana pequeña de flavivirus en E1 de pestivirus, que tiene similitud de secuencia significativa con prM de flavivirus. Los viriones de flavivirus maduros contienen prM que se ha escindido para dar M. A diferencia de M, E1 de pestivirus no se asocia con la envoltura del virión como una proteína

precursora y carece de un sitio de escisión de furina.

Los dominios funcionales y las estructuras de proteínas de fusión de flavivirus descritos en el presente documento están respaldados por las observaciones de que las glicoproteínas de la envuelta con similitudes de secuencia significativas, E1/2 del VHC, E del VETG y E2 de pestivirus y VETG prM y E1 de pestivirus están en ubicaciones análogas en las glicoproteínas codificadas por los tres géneros de *Flaviviridae*. Estos resultados sugieren que miembros de la familia *Flavivirus* pueden tener un ancestro común. Puede haberse producido divergencia de los genes para las proteínas de fusión dentro de los tres géneros de esta familia a través de o bien la adquisición de secuencias y/o bien la pérdida de secuencias en una forma de casete restringida por la organización de dominios de las proteínas de fusión de clase II.

## 9. Ejemplo: Dominios interfaciales de membrana en proteína de fusión de clase I y E1 del VHC.

Aunque las estructuras globales de las proteínas de fusión de clase I y II son distintas, pueden compartir características estructurales/funcionales en las partes de las moléculas con las que interaccionan y alteran membranas bicapa. Está bien establecido que las proteínas de fusión de clase I tienen un péptido de fusión en el extremo amino-terminal de la molécula que es crítico para la fusión (Gallaher, 1987; Gallaher, 1996; Gallaher *et al.*, 1989; Gallaher, DiSimone y Buchmeier, 2001). Las proteínas de fusión de clase II tienen un péptido de fusión interno que se ubica tras el plegamiento de la estructura secundaria en ubicaciones distales del anclaje transmembrana (Kuhn *et al.*, 2002; Lescar *et al.*, 2001; Rey *et al.*, 1995). Para proporcionar un respaldo adicional de los modelos propuestos de E1 del VHC y E2 de pestivirus, se usaron otras herramientas computacionales de la proteómica para comparar otros posibles dominios que interaccionan con membrana en las proteínas con la glicoproteína transmembrana del VIH-1 (TM), una proteína de fusión de clase I. Además de los péptidos de fusión, otro motivo en las proteínas de fusión de clase I que puede ser importante en la fusión de virus:célula es un motivo rico en aminoácidos aromáticos próximo al anclaje (figura 5A, aminoácidos 667-683) (Suarez *et al.*, 2000). Los dominios de preanclaje de las proteínas de fusión de clase I no son altamente hidrófobos según el algoritmo de predicción de hidropatía de Kyte-Doolittle, sin embargo, estos dominios tienen una tendencia al reparto en membranas bicapa, tal como se reveló mediante análisis usando la escala de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White (Suarez *et al.*, 2000; Wimley y White, 1996). E1 del VHC contiene tres dominios que producen puntuaciones de reparto de Wimley-White significativas usando Membrane Protein eXplorer (Jaysinghe, Hristova y White, 2000). Uno de éstos es el anclaje transmembrana (aa 361-372). Las otras dos secuencias con puntuaciones de reparto de Wimley-White significativas se ubican inmediatamente tras el péptido de fusión (aa 284-300) y en una ubicación (aa 321-340), que el modelo en la figura 2B predice que está próxima a la membrana bicapa (figura 5B).

### 9.1. Materiales y métodos

Se identificaron secuencias con una propensión al reparto en la bicapa lipídica con Membrane Protein eXplorer del laboratorio Stephen White (Jaysinghe, Hristova y White, 2000) usando los parámetros por defecto.

### 9.2. Resultados y discusión

Estos dos dominios de E1 del VHC, conjuntamente con el péptido de fusión y el anclaje transmembrana, forman potencialmente una pista continua de regiones que interaccionan con membrana que podrían canalizar el movimiento de lípidos durante la fusión de virión:célula. Por tanto, estos análisis de reparto de Wimley-White proporcionan un respaldo adicional a la propuesta de que E1 es la proteína de fusión del VHC.

## 10. Ejemplo: identificación de péptidos que inhiben la fusión/infectividad mediada por proteínas de la envuelta del VHC.

Las glicoproteínas de la envuelta fusogénicas de membrana de flavivirus comparten varias características estructurales comunes, incluyendo "péptidos de fusión" y estructuras de dominios globulares que consisten principalmente en láminas  $\beta$  antiparalelas. Además, la proteína E1 de VHC y las proteínas E de DEN, VON y VFA tienen cada una varios motivos con una alta propensión a interaccionar con membranas bicapa tal como se reveló mediante algoritmos que emplean la escala de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White. Estas características estructurales y motivos interfaciales de membrana son presumiblemente importantes en la infección, entrada y fusión de flavivirus y pueden representar dianas para desarrollar fármacos peptídicos contra la infección por flavivirus.

### 10.1. Materiales y métodos

Para superar la carencia de un sistema de cultivo celular convencional para la propagación del VHC, se han generado glicoproteínas de la envuelta del VHC que expresan virus de pseudotipo infeccioso (Hsu *et al.*, 2003). Se generaron pseudotipos con proteínas del núcleo del VIH y proteínas de la envuelta del VHC mediante contranfección de células 293-T con cantidades iguales de plásmidos que expresan E1 y E2 del VHC de la cepa H77 y genoma proviral defectuoso para la envuelta del VIH, pNL4.3.Luc.R'E' (Pohlmann *et al.*, 2003). Se solubilizaron péptidos a partir de un conjunto de péptidos de 18 meros, solapantes en 7-10 aminoácidos y que representan toda la secuencia de aminoácidos de E1 de la cepa H77 del VHC, en DMSO al 20%, se diluyeron (concentración de DMSO final <2%). Se incubaron los péptidos en hielo durante 30 minutos con sobrenadantes

virales de pseudotipo del VHC normalizados para el antígeno p24. La concentración promedio de péptidos fue de - 25  $\mu$ M, sin embargo, las concentraciones reales de algunos péptidos en disolución fueron de 10  $\mu$ M o menos debido a baja solubilidad en DMSO (marcado mediante un asterisco en la tabla 5). También se trataron los sobrenadantes con vehículo DMSO solo o con un Acm (anticuerpo monoclonal) contra E2 de VHC que se sabe que neutraliza la infectividad de los pseudotipos. También se incubaron péptidos del VHC, vehículo y Acm anti-E2 con pseudotipos que expresan proteínas de la envuelta del virus de la leucemia murina (VLM) y proteínas de la cápsida del VIH con el fin de controlar la citotoxicidad. Se añadieron pseudotipos de VLM y VHC control y tratados con péptidos a células, que se incubaron a 37°C durante 72 h. Entonces se sometieron a prueba lisados celulares para determinar la actividad luciferasa tal como se describió (Hsu *et al.*, 2003).

5

10.2. Resultados y discusión

10

Cuatro péptidos de E1 del VHC demostraron más del 70% de inhibición de la infectividad de los pseudotipos del VHC, con uno (péptido 54) que reduce la infectividad de los pseudotipos del VHC en >99,9% (tabla 5, figura 5B). Dos de los péptidos (66 y 70) corresponden a secuencias con una alta propensión a interactuar con la superficie de membranas bicapa, tal como se determinó mediante la aplicación de la escala de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White. El péptido 66 también inhibió la infección por el pseudotipo del VIH (VLM) en más del 50% lo que sugiere o bien que este péptido es un inhibidor general de la fusión viral o bien que es citotóxico. Se predijo que los otros dos péptidos inhibidores (54 y 74) representan secuencias de E1 del VHC que se "pliegan" e interactúan con la parte de E1 que muestra altas puntuaciones de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White (figura 5B). El supuesto plegamiento de estos dominios se marcó mediante flechas en la figura publicada original (figura 5 de Garry y Dash, 2003.). Estos resultados demuestran el potencial de los péptidos como fármacos anti-VHC, e indican que estrategias similares pueden identificar péptidos que inhiben la fusión y la infectividad de otros flavivirus.

15

20

Tabla 5. Identificación de péptidos guías que inhiben la infectividad mediada por proteínas de la envuelta del VHC

Número de péptido	‡H77-E1E2†	Porcentaje de inhibición	§VLM†	Porcentaje de inhibición
52	133.259	-17,16	533.179	-21,4
53	113.469	0,23	443.528	-9,95
54	74	99,93	280.113	36,22
55	112.470	1,12	447.957	-2,00
56	65.612	42,32	433.459	1,30
57	169.860	-49,35	331.852	24,44
58	118.767	-4,42	329.895	24,98
59	91.794	19,29	446.063	-1,57
60	98.766	13,16	340.384	22,49
61	148.796	-30,83	423.925	3,47
62	115.966	-1,96	415.014	5,50
63	57.915	49,08	438.440	0,16
64	113.108	0,55	316.948	27,83
65*	87.726	22,87	491.789	-11,98
66	23.387	79,46	189.683	56,81
67	64.601	43,20	357.577	28,58
68	79.297	31,28	498.991	-13,62
69*	196.922	-73,14	354.027	19,39
70	15.717	86,19	553.120	-25,95
71	83.489	26,60	533.765	-21,54

ES 2 390 874 T3

72	75.763	33,39	392.680	10,58
73	100.666	11,49	433.001	1,40
74	32.888	71,09	467.876	-6,54
75	113.359	0,32	420.026	4,36
76	96.283	15,34	473.757	-7,88
77	56.425	50,39	321.076	26,89
78*	137.700	-21,07	402.953	8,24
79	101.702	10,58	740.034	-68,51
Vehículo	113.733	—	439.158	—
anti-E2	73	99,93	349.113	21,50

‡H77-E1E2 es el pseudotipo que expresa glicoproteínas de la envuelta E1 y E2 de la cepa H77 de VHC.  
 §VLM es un pseudotipo similar que expresa la glicoproteína de la envuelta del virus de la leucemia murina y sirve como péptido control.  
 † Los números representan el número de unidades luciferasa (lúmenes) producidos tras la infección por o bien el pseudotipo de VLM o bien de VHC en presencia del péptido a una concentración de ~25 µM.

Tabla 6: Secuencia y ubicación de los péptidos mostrados en la tabla 5.

Número de péptido	Ubicación de péptido	Secuencia de aminoácidos	Solapamiento de FIP
52	183-200	SCLTVPASAYQVRNSSGL (SEQ ID NO:38)	
53	190-207	SAYQVRNSSGLYHVTNDC (SEQ ID NO:39)	FIP1 de E1 del VHC
54	197-214	SSGLYHVTNDCPNSSIVY (SEQ ID NO:40)	FEP1 de E1 del VHC
55	204-221	TNDCPNSSVVYEAADAIL (SEQ ID NO:41)	FIP1 de E1 del VHC
56	211-228	SIVYEAADAILHTPGCV (SEQ ID NO:42)	
57	218-235	DAILHTPGCVPCVREGNA (SEQ ID NO:43)	
58	225-242	GCVPCVREGNASRCWVAV (SEQ ID NO:44)	
59	232-249	WVAVTPTVATRDGKLPTT (SEQ ID NO:45)	
60	239-256	WVAVTPTVATRDGKLPTT (SEQ ID NO:46)	
61	246-263	VATRDGKLPTTQLRRHID (SEQ ID NO:47)	
62	253-270	LPTTQLRRHIDLLVGSAT (SEQ ID NO:48)	
63	260-277	RHIDLLVGSATLCSALYV (SEQ ID NO:49)	
64	267-284	GSATLCSALYVGDLCGSV (SEQ ID NO:50)	FIP2 de E1 del VHC
65	274-291	ALYVGDLCGSVFLVGQLF (SEQ ID NO:51)	FIP2 de E1 del VHC
66	281-298	CGSVFLVGQLFTFSPRHH (SEQ ID NO:52)	FIP2/3 de E1 del VHC
67	288-305	QLFTFSPRHHWTTQDCN (SEQ ID NO:53)	FIP3 de E1 del

			VHC
68	295-312	PRHHWTTQDCNCSIYPGH (SEQ ID NO:54)	FIP3 de E1 del VHC
69	302-319	QDCNCSIYPGHITGHRMA (SEQ ID NO:55)	FIP3 de E1 del VHC
70	309-326	YPGHITGHRMANMMMNW (SEQ ID NO:56)	FIP3/4 de E1 del VHC
71	316-333	HRMANMMMNWSPTAALV (SEQ ID NO:57)	FIP3/4 de E1 del VHC
72	323-340	MMNWSPTAALVVAQLLRI (SEQ ID NO:58)	FIP4 de E1 del VHC
73	330-347	AALVVAQLLRIPQAIMDM (SEQ ID NO:59)	FIP4 de E1 del VHC
74	337-354	LLRIPQAIMDMIAGAHWG (SEQ ID NO:60)	FIP4 de E1 del VHC
75	344-361	IMDMIAGAHWGVLAGIKY (SEQ ID NO:61)	FIP4 de E1 del VHC
76	351-368	AHWGVLAGIKYFSMVGW (SEQ ID NO:62)	FIP4 de E1 del VHC
77	359-375	GIKYFSMVGWAKVLVVL (SEQ ID NO:63)	
78	365-382	VGNWAKVLVLLLFAGVD (SEQ ID NO:64)	
79	372-389	LVVLLLFAGVDAETHVTG (SEQ ID NO:65)	

La cita o identificación de cualquier referencia en cualquier sección de esta solicitud no se interpretará como una admisión de que tal referencia está disponible como técnica anterior a la presente invención.

#### Bibliografía.

- 5 Cada una de las siguientes se incorpora como referencia al presente documento en su totalidad.
- CHAN, D. C., FASS, D., BERGER, J. M. y KIM, P. S. (1997). Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* 89, 263-73.
- FLINT, M., THOMAS, J. M., MAIDENS, C. M., SHOTTON, C., LEVY, S., BARCLAY, W. S. y McKEATING, J. A. (1999). Functional analysis of cell surface-expressed hepatitis C virus E2 glycoprotein. *J Virol* 73, 6782-90.
- 10 GALLAHER, W. R. (1987). Detection of a fusion peptide sequence in the transmembrane protein of human immunodeficiency virus. *Cell* 50, 327-8.
- GALLAHER, W. R. (1996). Similar structural models of the transmembrane glycoproteins of Ebola and avian sarcoma viruses. *Cell* 85, 1-2. GALLAHER, W. R., BALL, J. M., GARRY, R. F., GRIFFIN, M. C. y MONTELARO, R. C. (1989). A general model for the transmembrane proteins of HIV and other retroviruses. *AIDS Res Hum Retro* 5, 431-40.
- 15 GALLAHER, W. R., DISIMONE, C. y BUCHMEIER, M. J. (2001). The viral transmembrane superfamily: possible divergence of Arenavirus and Filovirus glycoproteins from a common RNA virus ancestor. *BMC Microbiol* 1, 1.
- GARRY, R. F. y DASH S. (2003). Proteomics computational analysis suggest that hepatitis C virus E1 and pestivirus E2 envelope glycoproteins are truncated class II fusion proteins. *Virology* 307, 255-65.
- 20 HOFFMAN-LA ROCHE y TRIMERIS. (2002). Roche and Trimeris announce 24-week results from second pivotal study of HIV fusion inhibitor T-20. [trimeris.com/news/pr/2002/020516.html](http://trimeris.com/news/pr/2002/020516.html).
- HSU, M., ZHANG, J., FLINT, M., LOGVINOFF, C., CHENG-MAYER, C., RICE, C. M. y MCKEATING, J. A. (2003). Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 7271-6.

- JAYSRRNGHE, S., HRISTOVA, K. y WHITE, S. H. (2000). Membrane Protein Explorer. <http://blanco.biomol.uci.edu/mpex>.
- 5 KUHN, R. J., ZHANG, W., ROSSMANN, M. G., PLETNEV, S. V., CORVER, J., LENCHES, E., JONES, C. T., MUKHOPADHYAY, S., CHIPMAN, P. R., STRAUSS, E.G., BAKER, T. S. y STRAUSS, J. H. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 108, 717-25.
- LESCAR J., ROUSSEL, A., WIEN, M. W., NAVAZA, J., FULLER, S. D., WENGLER, G. y REY, F. A. (2001). The fusion glycoprotein shell de Semliki Forest virus: an icosahedral assembly primed for fusogenic activation at endosomal pH. *Cell* 105, 137-48.
- 10 MALASHKEVICH, V. N., SCHNEIDER, B. J., MCNALLY, M. L., MILHOLLEN, M. A., PANG, J. X. y KIM, P. S. (1999). Core structure of the envelope glycoprotein GP2 from Ebola virus at 1.9-A resolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 2662-7.
- QURESHI, N., COY, D., GARRY, R. y HENDERSON LA (1990). Characterization of a putative cellular receptor for HIV-1 transmembrane glycoprotein using synthetic peptides. *AIDS* 4, 553-558.
- 15 REY, F. A., HEINZ, F. X., MANDL, C., KUNZ, C. y HARRISON, S. C. (1995). The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 A resolution. *Nature* 375, 291-8.
- SUAREZ, T., GALLAHER, W. R., AGIRRE, A., GONI, F. M. y NIEVA, J. L. (2000). Membrane interface-interacting sequences within the ectodomain of the human immunodeficiency type 1 envelope glycoprotein: putative role during viral fusion. *J Virol* 74, 8038-47.
- 20 WEISSENHORN, W., CARFI, A., LEE, K. H., SKEHEL, J. J. y WILEY, D. C. (1998). Crystal structure of the Ebola virus membrane fusion subunit, GP2, from the envelope glycoprotein ectodomain. *Mol Cell* 2, 605-16.
- WEISSENHORN, W., WHARTON, S. A., CALDER, L. J., EARL, P. L., Moss, B., ALIPRANDIS, E., SKEHEL, J. J. y WILEY, D. C. (1996). The ectodomain of HIV-1 env subunit gp41 forms a soluble, alpha-helical, rod-like oligomer in the absence of gp120 and the N-terminal fusion peptide. *EMBO J* 15, 1507-14.
- 25 WILD, C., GREENWELL, T. y MATTHEWS, T. (1993). A synthetic peptide from HIV-1 gp41 is a potent inhibitor of virus-mediated cell-cell fusion. *AIDS Res Hum Retro* 9, 1051-3.
- WILD, C. T., SHUGARS, D. C., GREENWELL, T. K., MCDANAL, C. B. y MATTHEW, T. J. (1994). Peptides corresponding to a predictive alpha-helical domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 are potent inhibitors of virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 9770-4.
- 30 WILSON, I. A., SKEHEL, J. J. y WILEY, D. C. (1981). Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 A resolution. *Nature* 289, 366-73.
- YAGNIK, A. T., LARK, A., MEOLA, A., ROCCASECCA, R. M., ERCOLE, B. B., NICOSIA, A. y TRAMONTANO, A. (2000). A model for the hepatitis C virus envelope glycoprotein E2. *Proteins* 40, 355-66

**Lista de secuencias**

35 <110> Los Administradores del Fondo Educativo Tulane

La Universidad Rockefeller

<120> Inhibidores de fusión de flavivirus

40 <130> TUL-001-EP

<140> Documento PCT/US03/35666

<141> 07-11-2003

45 <150> Documento US60/424.746

<151> 08-11-2002

<160> 65

5 <170> Bissap 1.0

<210> 1

<211> 30

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..30

15 <223> /mol\_type="proteína"

/note="péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 30..30

30 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 1

```

Tyr Gln Val Arg Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys
 1          5          10          15
Pro Asn Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala Ile Leu
          20          25          30
    
```

35

<210> 2

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type= "proteína"

/note="Péptido sintético"

10 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo,

25 <400> 2

```

Cys Ser Ala Leu Tyr Trp Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu
1   5   10   15
Val Gly Gln Leu Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg His Trp Thr Thr Gln
20  25  30
Asp Cys
    
```

<210> 3

30 <211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <221> FUENTE

<222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína"  
 /note="Péptido sintético"  
 /organism="Secuencia artificial"

5 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

10 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 36..36

15 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 3

20 Ser Pro Arg Arg His Trp Thr Thr Gln Asp Cys Asn Cys Ser Ile Tyr  
 1 5 10 15  
 Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp Asp Met Met Met Asn  
 20 25 30  
 Trp Ser Pro Thr  
 35

<210> 4

<211> 47

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..47

30 <223> /mol\_type="proteína"

/note="péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

35 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

5

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 47..47

10 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 4

```

Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Ala Leu Val Val Ala Gln Leu
1      5      10      15
Leu Arg Ile Pro Gln Ala Ile Met Asp Met Ile Ala Gly Ala His Trp
      20      25      30
      Gly Val Leu Ala Gly Ile Lys Tyr Phe Ser Met Val Gly Asn Trp
15      35      40      45
    
```

<210> 5

<211> 30

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..30

25 <223> /mol\_type="proteína"

/note="péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

30 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

35

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 30..30

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

5

<400> 5

Arg	Val	Thr	Asp	Pro	Asp	Thr	Asn	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	Asn	Cys	Cys
1				5					10					15	
Gln	Arg	Asn	Gln	Val	Ile	Tyr	Cys	Ser	Pro	Ser	Thr	Cys	Leu		
			20					25					30		

10 <210> 6

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..35

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

20 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

25 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

30 <221> MOD\_RES

<222> 35..35

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

35 <400> 6

```

Arg Asp Phe Val Glu Gly Val Ser Gly Gly Ser Trp Val Asp Ile Val
1      5      10
Leu Glu His Gly Ser Cys Val Thr Thr Met Ala Lys Asn Lys Pro Thr
20      25      30
Leu Asp Phe
35

```

<210> 7

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..35

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

20 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 35..35

25 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 7

```

Arg Asp Phe Ile Glu Gly Ala Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Leu Val
1      5      10
Leu Glu Gly Asp Ser Cys Leu Thr Ile Met Ala Asn Asp Lys Pro Thr
20      25      30
Leu Asp Val
35

```

30

<210> 8

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <221> FUENTE

<222> 1..35

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

10

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

20

<222> 35..35

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 8

25

```

Arg Asp Phe Ile Glu Gly Val His Gly Gly Thr Trp Val Ser Ala Thr
 1      5      10
Leu Glu Gln Asp Lys Cys Val Thr Val Met Ala Pro Asp Lys Pro Ser
 20      25      30
Leu Asp Ile
      35
    
```

<210> 9

<211> 35

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

35

<222> 1.35

<223> /mol\_type="proteína"  
 /note="péptido sintético"  
 /organism="Secuencia artificial"

5 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

10 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 35..35

15 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 9

20 Arg Asp Phe Leu Glu Gly Val Ser Gly Ala Thr Trp Val Asp Leu Val  
 1 5 10 15  
 Leu Glu Gly Asp Ser Cys Val Thr Ile Met Ser Lys Asp Lys Pro Thr  
 20 25 30  
 Ile Asp Val  
 35

<210> 10

<211> 35

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..35

30 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

35 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

5

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 35..35

10 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 10

```

Gly Gln Leu Ala Cys Lys Glu Asp Tyr Arg Tyr Ala Ile Ser Ser Thr
 1      5      10      15
Asn Glu Ile Gly Leu Leu Gly Ala Gly Gly Leu Thr Thr Thr Trp Lys
 20      25      30
Glu Tyr Asn
      35
    
```

15

<210> 11

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..35

<223> /mol\_type="proteína" /note="Péptido sintético"

25

/organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

30

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

35

<221> MOD\_RES

<222> 35..35

ES 2 390 874 T3

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 11

5

```

Gly His Leu Asp Cys Lys Pro Glu Phe Ser Tyr Ala Ile Ala Lys Asp
 1          5          10          15
Glu Arg Ile Gly Gln Leu Gly Ala Glu Gly Leu Thr Thr Thr Trp Lys
 20          25          30
Glu Tyr Ser
 35
    
```

<210> 12

<211> 35

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

15 <222> 1..35

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

20 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

25 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 35..35

30 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 12

ES 2 390 874 T3

```

Gly Glu Phe Ala Cys Arg Glu Asp His Arg Tyr Ala Leu Ala Lys Thr
1      5      10      15
Lys Glu Ile Gly Pro Leu Gly Ala Glu Ser Leu Thr Thr Thr Trp Thr
20      25      30
Asp Tyr Gln
35

```

<210> 13

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

20 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 34..34

25 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 13

```

Thr Cys Asp Ala Leu Asp Ile Gly Glu Leu Cys Gly Ala Cys Val Leu
1      5      10      15
Val Gly Asp Trp Leu Val Arg His Trp Leu Ile His Ile Asp Leu Asn
20      25      30
Glu Thr
30

```

<210> 14

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

10

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

20

<222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 14

25

```

Lys Arg Phe Val Cys Lys His Ser Met Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn
 1      5      10      15
Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ile Val Thr Cys Ala Met Phe
 20      25      30
Thr Cys
    
```

<210> 15

<211> 34

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

35

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

5 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

10

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 34..34

15 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 15

Ser	Ser	Tyr	Val	Cys	Lys	Gln	Gly	Phe	Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Gly	Asn
1				5					10					15	
Gly	Cys	Gly	Leu	Phe	Gly	Lys	Gly	Ser	Ile	Asp	Thr	Cys	Ala	Lys	Phe
			20					25					30		
Ser	Cys														

20

<210> 16

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

30 /note="péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

35 <222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga

uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

5 <221> MOD\_RES

<222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

10 <400> 16

Gly	Asp	Asn	Ala	Cys	Lys	Arg	Thr	Tyr	Ser	Asp	Arg	Gly	Trp	Gly	Asn
1				5					10					15	
Gly	Cys	Gly	Leu	Phe	Gly	Lys	Gly	Ser	Ile	Val	Ala	Cys	Ala	Lys	Phe
			20					25					30		
Thr	Cys														

<210> 17

15 <211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

25

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

30 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

35 <222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos:

amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 17

Pro Ala Phe Val Cys Arg Gln Gly Val Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Ile Asp Thr Cys Ala Lys Phe  
 20 25 30  
 5 Ala Cys

<210> 18

<211> 34

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..34

15 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 34..34

30 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 18

ES 2 390 874 T3

Lys Gly Lys Tyr Asn Thr Thr Leu Leu Asn Gly Ser Ala Phe Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Val Cys Pro Ile Gly Trp Thr Gly Val Ile Glu Cys Thr Ala Val Ser  
 20 25 30  
 Pro Thr

<210> 19

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

20 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 34..34

25 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 19

Arg Gly Lys Phe Asn Thr Thr Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met  
 1 5 10 15  
 Val Cys Pro Ile Gly Trp Thr Gly Thr Val Ser Cys Thr Ser Phe Asn  
 20 25 30  
 Met Asp

30

<210> 20

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note= péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

10

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

20

<222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 20

25

Arg	Gly	Lys	Tyr	Asn	Ala	Thr	Leu	Leu	Asn	Gly	Ser	Ala	Phe	Gln	Leu
1				5					10					15	
Val	Cys	Pro	Tyr	Glu	Trp	Thr	Gly	Arg	Val	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Ser
			20					25					30		
Lys	Ser														

<210> 21

<211> 36

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

35

<222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína" /note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

5 <222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

10 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 36..36

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

15

<400> 21

```

Ile His Ile Asp Leu Asn Glu Thr Gly Thr Cys Tyr Leu Glu Val Pro
1      5      10      15
Thr Gly Ile Asp Pro Gly Phe Leu Gly Phe Ile Gly Trp Met Ala Gly
20      25      30
Lys Val Glu Ala
35
    
```

20 <210> 22

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

30 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

35 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico,

polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

5 <222> 36..36

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 22

10

```

Met Val Leu Leu Gln Met Glu Asp Lys Ala Trp Leu Val His Arg Gln
 1          5          10
Trp Phe Leu Asp Leu Pro Leu Pro Trp Leu Pro Gly Ala Asp Thr Gln
      20          25          30
Gly Ser Asn Trp
      35
    
```

<210> 23

<211> 36

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

20 <222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

25 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

30

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 36..36

35 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 23

```

Phe Tyr Val Met Thr Val Gly Ser Lys Ser Phe Leu Val His Arg Glu
1      5      10      15
Trp Phe His Asp Leu Ala Leu Pro Trp Thr Ser Pro Ser Ser Thr Ala
20
Trp Arg Asn Arg
35
    
```

5

<210> 24

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína"

15 /note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

20 <222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 36..36

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

30

<400> 24

Ser Tyr Ile Ala Glu Met Glu Thr Glu Ser Trp Ile Val Asp Arg Gln  
 1 5 10 15  
 Trp Ala Gln Asp Leu Thr Leu Pro Trp Gln Ser Gly Ser Gly Gly Val  
 20 25 30  
 Trp Arg Glu Met  
 35

<210> 25

<211> 36

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..36

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

20 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 36..36

25 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 25

Tyr Tyr Val Met Thr Val Gly Thr Lys Thr Phe Leu Val His Arg Glu  
 1 5 10 15  
 Trp Phe Met Asp Leu Asn Leu Pro Trp Ser Ser Ala Gly Ser Thr Val  
 20 25 30  
 Trp Arg Asn Arg  
 35

30

<210> 26

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"

/note="péptido sintético"

10 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 34..34

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25 <400> 26

```

    Thr Leu Arg Thr Glu Val Val Lys Thr Phe Arg Arg Asp Lys Pro Phe
    1      5      10      15
    Pro His Arg Met Asp Ala Val Thr Thr Val Glu Asn Glu Asp Leu
    20      25      30
    Phe Tyr
  
```

<210> 27

30 <211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <221> FUENTE

<222> 1..34

<223> /mol\_type="proteína"  
 /note="Péptido sintético"  
 /organism="Secuencia artificial"

5 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

10 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 34..34

15 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 27

20            Thr Leu Ala Thr Glu Val Val Lys Ile Tyr Lys Arg Thr Lys Arg Phe  
               1                  5                  10                  15  
               Arg Ser Gly Leu Val Ala Thr His Thr Ile Tyr Glu Glu Asp Leu  
                           20                          25                          30  
               Tyr His

<210> 28

<211> 33

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..33

30 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

35 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

5 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 33..33

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

10

<400> 28

```

    Thr Leu Ala Thr Thr val val Arg Thr Tyr Arg Arg Ser Lys Pro Phe
    1      5      10      15
    Pro His Arg Gln Gly Ala Ile Thr Gln Lys Asn Leu Gly Glu Asp Leu
    20      25      30
    His
    
```

15 <210> 29

<211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..42

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

25 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

30 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

35 <221> MOD\_RES

<222> 42..42

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos:

ES 2 390 874 T3

amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 29

```
5      Trp Met Ala Gly Lys Val Glu Ala Val Ile Phe Leu Thr Lys Leu Ala
      1      5      10      15
      Ser Gln Val Pro Tyr Ala Ile Ala Thr Met Phe Ser Ser Val His Tyr
      20      25      30
      Leu Ala Val Gly Ala Leu Ile Tyr Tyr Ser
      35      40
```

<210> 30

<211> 42

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..42

15 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 42..42

30 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 30

```

Met Ala Ile Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Leu Gly Gly
1      5      10
Val Phe Thr Ser Ile Gly Lys Ala Leu His Gln Val Phe Gly Ala Ile
      20      25      30
Tyr Gly Ala Ala Phe Ser Gly Val Ser Trp
      35      40

```

<210> 31

<211> 42

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..42

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

20 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 42..42

25 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 31

```

Leu Ala Ala Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Ile Gly Gly
1      5      10
Val Phe Asn Ser Ile Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe Gly Gly Ala
      20      25      30
Phe Arg Thr Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp
      35      40

```

30

<210> 32

<211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..42

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

10 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

15 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

20 <221> MOD\_RES

<222> 42..42

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

25 <400> 32

```

Leu Ala Val Met Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Ser Ser Ala Gly Gly
 1          5          10          15
Phe Phe Thr Ser Val Gly Lys Gly Ile His Thr Val Phe Gly Ser Ala
          20          25          30
Phe Gln Gly Leu Phe Gly Gly Leu Asn Trp
          35          40
    
```

<210> 33

30 <211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <221> FUENTE

<222> 1..42

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

5

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

10 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

15 <222> 42..42

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 33

20

```

Leu Ala Ala Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly
 1           5           10           15
Val Phe Thr Ser Val Gly Lys Ala Val His Gln Val Phe Gly Gly Ala
          20           25           30
Phe Arg Ser Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp
          35           40
    
```

<210> 34

<211> 42

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

30 <222> 1..42

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

35 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

5 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 42..42

10 <223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<400> 34

15 Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly Glu Tyr Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp  
 1 5 10 15  
 Val Thr Asp Arg His Ser Asp Tyr Phe Ala Glu Phe Val Val Leu Val  
 20 25 30  
 Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Arg Tyr Ile  
 35 40

<210> 35

<211> 42

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..42

25 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<220>

30 <221> MOD\_RES

<222> 1..1

<223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

35

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 42..42

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

5

<400> 35

```

Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly Glu Tyr Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Glu
1   5   10   15
Val Thr Asp His His Arg Asp Tyr Phe Ala Glu Ser Ile Leu Val Val
20  25  30
Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Arg Tyr Val
35  40
    
```

10 <210> 36

<211> 43

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..43

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

20 /organism="Secuencia artificial"

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1..1

25 <223> El residuo de aminoácido amino-terminal comprende un grupo amino o está modificado para que contenga uno de los siguientes grupos: acetilo, hidrófobo, macromolecular, carbobenzoxilo, dansilo, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

<220>

30 <221> MOD\_RES

<222> 43..43

<223> El residuo de aminoácido carboxilo-terminal comprende un grupo carboxilo o uno de los siguientes grupos: amido, hidrófobo, macromolecular, t-butiloxicarbonilo, lipídico, polietilenglicol o hidrato de carbono

35 <400> 36

ES 2 390 874 T3

Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly Gln Tyr Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Glu  
 1 Val Ile Ser Ser Thr His Gln Ile Asp Leu Thr Glu Phe Ile Met Leu  
 20 Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Arg Tyr Val  
 35 40 15 30

<210> 37

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..5

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

15 <220>

<221> MOD\_RES

<222> 2..2

<223> xaa puede ser cualquier aminoácido que se produce de manera natural

20 <400> 37

Arg Xaa Arg Lys Arg  
 1 5

<210> 38

25 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<400> 38

5 Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser Ala Tyr Gln Val Arg Asn Ser Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Leu

<210> 39

<211> 18

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

15 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 39

20 Ser Ala Tyr Gln Val Arg Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn  
 1 5 10 15  
 Asp Cys

<210> 40

<211> 18

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

30 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético"

/organism="Secuencia artificial"

<400> 40

Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro Asn Ser Ser Ile  
 1 5 10 15  
 Val Tyr

<210> 41

5 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

15 <400> 41

Thr Asn Asp Cys Pro Asn Ser Ser Val Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala  
 1 5 10 15  
 Ile Leu

<210> 42

20 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

30 <400> 42

Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala Ile Leu His Thr Pro Gly Cys  
 1 5 10 15  
 Val Pro

<210> 43

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

10 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 43

Asp Ala Ile Leu His Thr Pro Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Asn Ala

15

<210> 44

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

25 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 44

Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Gly Asn Ala Ser Arg Cys Trp Val  
 1 5 10 15  
 Ala Val

30

<210> 45

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

5 <223> /mol\_type="proteína"  
/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 45

10 Trp Val Ala Val Thr Pro Thr Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu Pro  
1 5 10 15  
Thr Thr

<210> 46

<211> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

20 <223> /mol\_type="proteína"  
/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 46

25 Trp Val Ala Val Thr Pro Thr Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu Pro  
1 5 10 15  
Thr Thr

<210> 47

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 47

5

Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu Pro Thr Thr Gln Leu Arg Arg His  
 1 5 10 15  
 Ile Asp

<210> 48

<211> 18

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

15 <222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 48

20

Leu Pro Thr Thr Gln Leu Arg Arg His Ile Asp Leu Leu Val Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ala Thr

<210> 49

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

30 <222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 49

Arg His Ile Asp Leu Leu Val Gly Ser Ala Thr Leu Cys Ser Ala Leu  
 1 5 10 15  
 Tyr Val

<210> 50

5 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

15 <400> 50

Gly Ser Ala Thr Leu Cys Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Val

<210> 51

20 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

30 <400> 51

Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu Val Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Phe

<210> 52

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

10 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 52

	Cys	Gly	Ser	Val	Phe	Leu	Val	Gly	Gln	Leu	Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Arg
	1				5					10					15	
	His	His														

15

<210> 53

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

25 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 53

	Gly	Gln	Leu	Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Arg	His	His	Trp	Thr	Thr	Gln	Asp
	1				5					10					15	
	Cys	Asn														

30

<210> 54

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

5 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 54

10           Pro Arg His His Trp Thr Thr Gln Asp Cys Asn Cys Ser Ile Tyr Pro  
              1                            5                            10                            15  
              Gly His

<210> 55

<211> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

20 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 55

25           Gln Asp Cys Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg  
              1                            5                            10                            15  
                                          Met Ala

<210> 56

<211> 17

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

35 <222> 1..17

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 56

5

Tyr Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala Asn Met Met Met Asn  
 1 5 10 15  
 Trp

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..17

15 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 57

20 His Arg Met Ala Asn Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Ala Leu  
 1 5 10 15  
 Val

<210> 58

<211> 18

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

30 <223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 58

ES 2 390 874 T3

Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Ala Leu Val Val Ala Gln Leu Leu  
1 5 10 15  
Arg Ile

<210> 59

<211> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 59

15

Ala Ala Leu Val Val Ala Gln Leu Leu Arg Ile Pro Gln Ala Ile Met  
1 5 10 15  
Asp Met

<210> 60

<211> 18

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

25 <222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 60

30

Leu Leu Arg Ile Pro Gln Ala Ile Met Asp Met Ile Ala Gly Ala His  
1 5 10 15  
Trp Gly

<210> 61

<211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <221> FUENTE  
 <222> 1..18  
 <223> /mol\_type="proteína"  
 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

10  
 <400> 61

Ile Met Asp Met Ile Ala Gly Ala His Trp Gly Val Leu Ala Gly Ile  
 1 5 10 15  
 Lys Tyr

15 <210> 62  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <221> FUENTE  
 <222> 1..18  
 <223> /mol\_type="proteína"  
 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

25  
 <400> 62

Ala His Trp Gly Val Leu Ala Gly Ile Lys Tyr Phe Ser Met Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asn Trp

30 <210> 63  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

5 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 63

Gly Ile Lys Tyr Phe Ser Met Val Gly Asn Trp Ala Lys Val Leu Val  
 1 5 10 15  
 Val Leu

10

<210> 64

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

20 /note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 64

Val Gly Asn Trp Ala Lys Val Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Ala Gly  
 1 5 10 15  
 Val Asp

25

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /mol\_type="proteína"

ES 2 390 874 T3

/note="Péptido sintético" /organism="Secuencia artificial"

<400> 65

5           Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Ala Glu Thr His Val  
          1           5           10           15  
Thr Gly

## REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica para su uso en la inhibición de la fusión de virión de VHC:célula, previniendo o tratando de ese modo infecciones por VHC, comprendiendo la composición un péptido que consiste en uno cualquiera de la SEQ ID NO:1, o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40.
- 5 2. Composición farmacéutica para su uso en la inhibición de la fusión de virión de VHC:célula, previniendo o tratando de ese modo infecciones por VHC, comprendiendo la composición uno o más péptidos seleccionados del grupo que consiste en:
  - 10 a) un péptido que consiste en uno cualquiera de la SEQ ID NO:1, o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO: 40 en el que el resto químico N-terminal del péptido es un grupo amino y el resto químico C-terminal del péptido es un grupo carboxilo;
  - 15 b) un péptido que consiste en uno cualquiera de la SEQ ID NO:1, o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO:40, en el que el resto químico N-terminal del péptido se selecciona del grupo que consiste en: un grupo acetilo, un grupo hidrófobo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo y un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono, o en el que el resto químico C-terminal del péptido se selecciona del grupo que consiste en un grupo amido, un grupo hidrófobo, un grupo t-butiloxicarbonilo y un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono;
  - 20 c) un péptido que consiste en uno cualquiera de la SEQ ID NO:1, o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO: 40, en el que al menos un enlace que une residuos de aminoácido adyacentes es un enlace no peptídico; y
  - d) un péptido que consiste en uno cualquiera de la SEQ ID NO:1, o un fragmento de la SEQ ID NO:1 que comprende la SEQ ID NO: 40, en el que al menos un residuo de aminoácido está en la configuración de isómero D.
3. Composición según la reivindicación 2, en la que el péptido seleccionado es la SEQ ID NO: 1.
- 25 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el resto químico N-terminal de uno o más de los péptidos seleccionados es un grupo acetilo, un grupo hidrófobo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo o un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono; o el resto químico C-terminal de uno o más de los péptidos seleccionados es un grupo hidrófobo, un grupo t-butiloxicarbonilo o un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono.
- 30 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el resto químico N-terminal de uno o más de los péptidos seleccionados es un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono; o en la que el resto químico C-terminal de uno o más de los péptidos seleccionados es un grupo macromolecular seleccionado de un conjugado lipídico, polietilenglicol o un hidrato de carbono.
- 35 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que al menos un enlace que une residuos de aminoácido adyacentes en uno o más de los péptidos seleccionados es un enlace no peptídico seleccionado del grupo que consiste en un enlace imido, en enlace éster, un enlace hidrazina, un enlace semicarbazida y un enlace azo.
- 40 7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que al menos un aminoácido de uno o más de los péptidos seleccionados es un aminoácido de isómero D.
8. Composición según la reivindicación 2, en la que el péptido seleccionado es la SEQ ID NO:1, y en la que el resto químico N-terminal del péptido es un grupo amino y el resto químico C-terminal del péptido es un grupo carboxilo.
- 45 9. Composición según la reivindicación 2, en la que el péptido seleccionado es un fragmento de la SEQ ID NO: 1 que comprende la SEQ ID NO:40, en la que el resto químico N-terminal del péptido es un grupo amino y el resto químico C-terminal del péptido es un grupo carboxilo.
10. Composición según la reivindicación 9, en la que el péptido seleccionado es la SEQ ID NO:40.
- 50 11. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de infección por flavivirus.

E del VETG 281	<sup>A<sub>0</sub></sup>		<sup>B<sub>0</sub></sup>	<sup>C<sub>0</sub></sup>	<sup>D<sub>0</sub></sup>	
E1 del VHC 192		GRCHLEHMD PVYOTQOTR VELVLEQOC VYXA-ROKFP--S NEM-NLDAITG S-----				
E2 del VFPC 689		Y QVRNSOLYH VTRDC-----PNS VVVEDADAILR				
		COLACK EDYTRALISST NEIGLIGAGG LTTWKEINDLOL NDOVTVICVAG SPVYVALVVY SRTVLA				
						Péptido de Fusión
E del VETG 332		<sup>a</sup>	<sup>b</sup>	<sup>c</sup>	<sup>d</sup>	<sup>e</sup>
E1 del VHC 223		NP---ANTRY-----CL HAKLSDTVA ARCFTRGPRF LAEMHQOQTV CRODQSDRW G--NHQOL-FKSD SIYACVKAAC EMUKKATORV YDAM				
E2 del VFPC 757		TPQCFVCEBEMRCH VA-VTPT-VA TSKR-L-PTT -----Q---L RUIIDLIVAS A--TLCBALTU-9 DL--CGVFL VQQLPTFSRA NHMT				
		SLKHALPIVTFELLF DTHRETEH EKEPQGLCF PDSPPVQIK YHT-LLEBS APLVCEIGR-F9 VT-ECTAN-- SP--ITL--R TSVY				
E del VETG 416		<sup>B<sub>0</sub></sup>	<sup>F<sub>0</sub></sup>	<sup>G<sub>0</sub></sup>	<sup>H<sub>0</sub></sup>	
E1 del VHC ---		XIVTVVREP RTGDTVALMB THQCKRQAF TIGSEVILT NREYGVVAL CRVASQDL				
E2 del VFPC ---						
E del VETG 475		<sup>f</sup>	<sup>g</sup>	<sup>ad</sup>	<sup>h</sup>	<sup>i</sup>
E1 del VHC 301		AGTVILBLK IVEELFTAQ VNR-CRENDLA LFNKHEAQN WSNARLVEF GAPHVQSDV YMLDQTCUL LKALEVVA -HISQTKHL EG				
E2 del VFPC 842		-----TQDC NCSYPCHT QEMAS-JUDM B-NPTAL- ----VVAGLL RINQAI-NEM I-AGAHQVYL ----AGI-----K-----				
		-----K T9--RUKQF PMSKCVTIV ENEGLTCKL GEMTCVK-- QEP-VVYTOO V-V-KCIRAC QFQHPEDAL PHTYCK-----				

Figura 1A



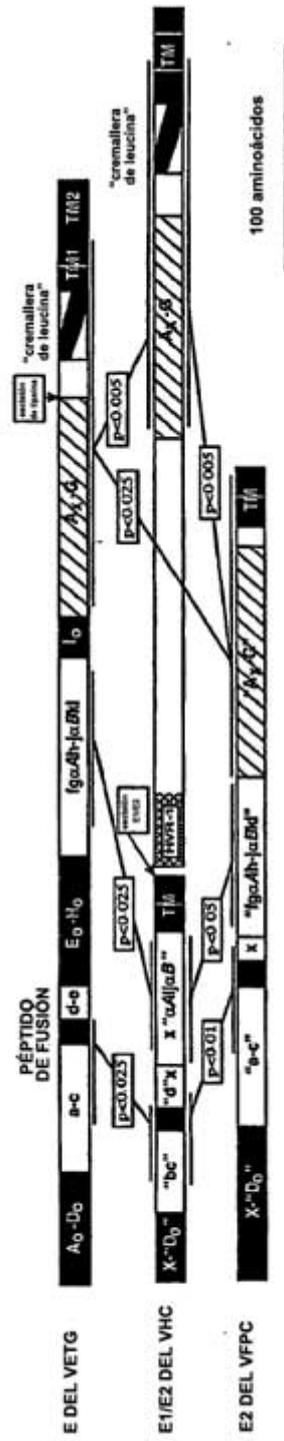
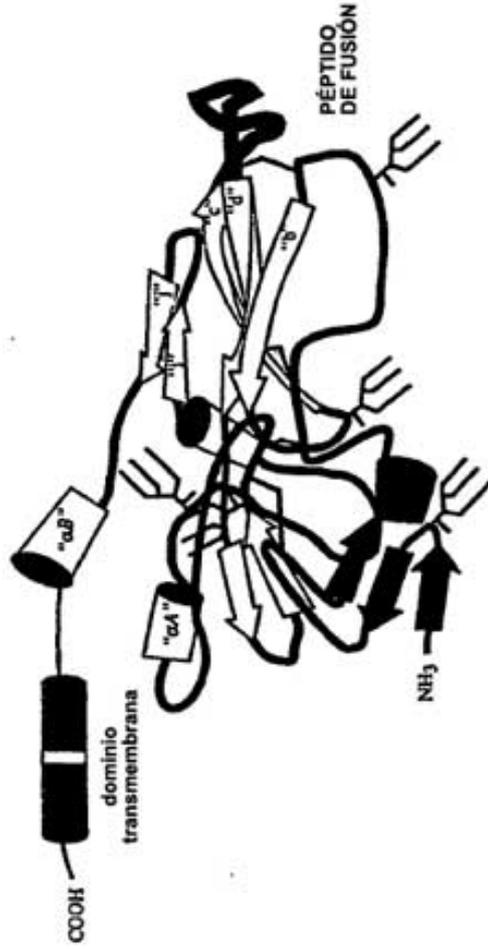


Figura 1B





glicoproteína de la envuelta 1 (E1) del virus de la hepatitis C

**Figura 2 cont.**



Glicoproteína de la envuelta 2 (E2) del virus de la fiebre porcina clásica

Figura 2 cont.



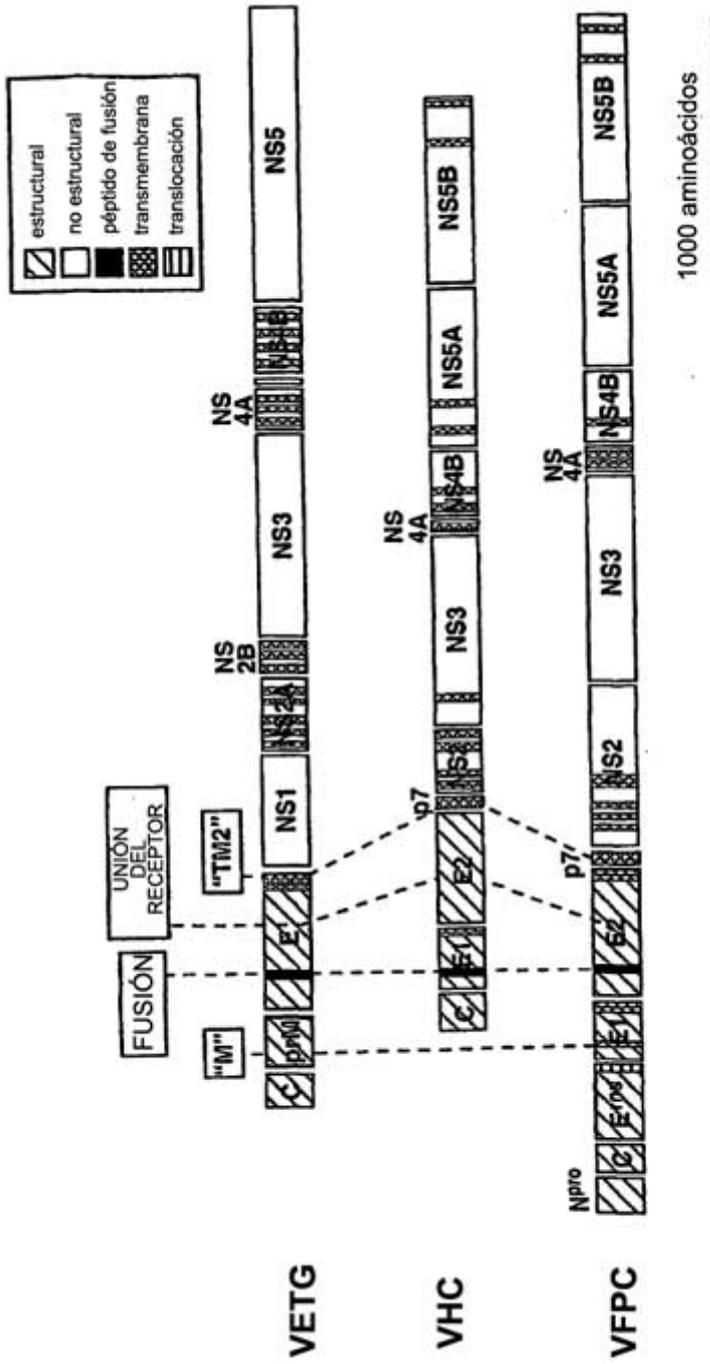


Figura 4

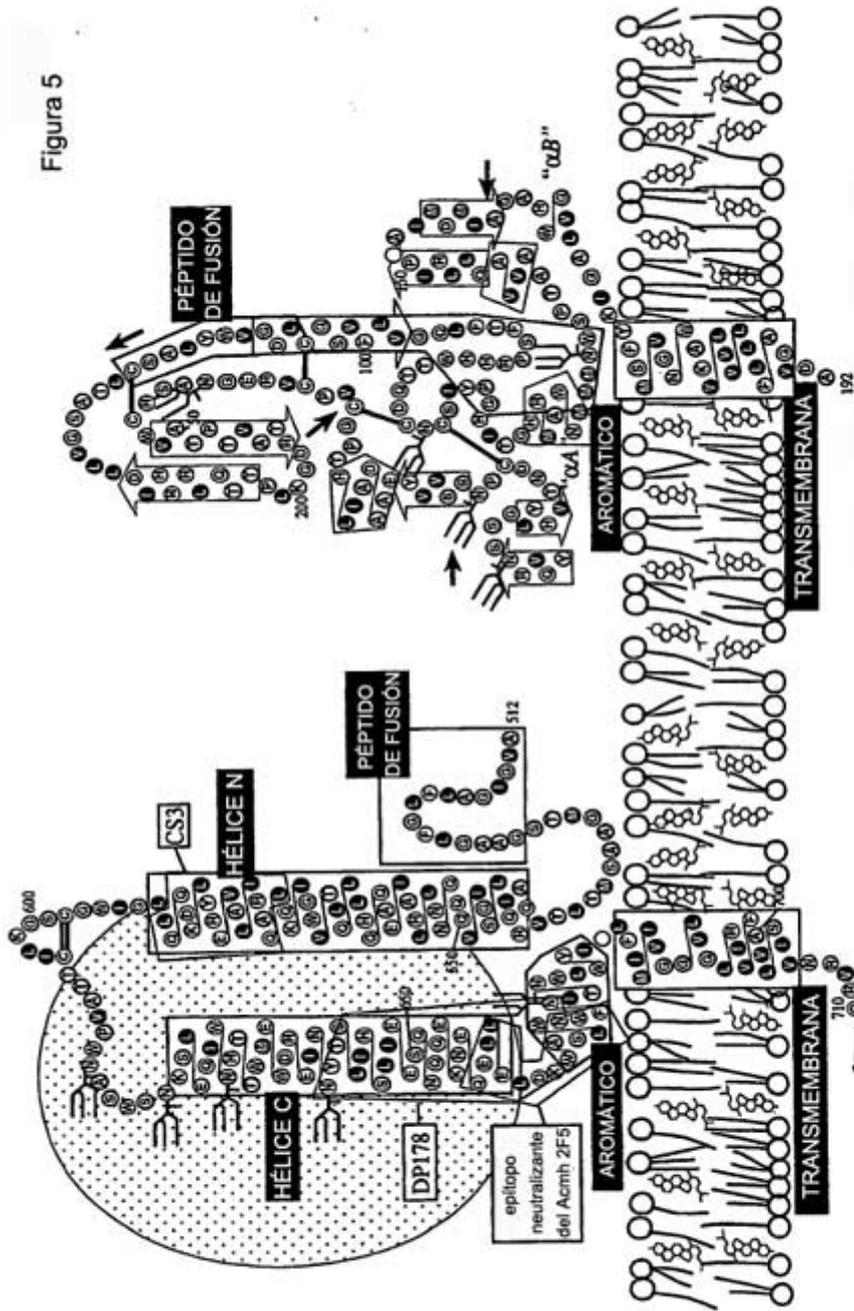


Figura 5

TM del VIH-1 E1 del virus de la hepatitis C

Figura 5