(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 427 847**

(51) Int. Cl.:

C12Q 1/70	(2006.01)
C07K 16/08	(2006.01)
C07K 14/005	(2006.01)
C07K 7/00	(2006.01)
A61K 38/04	(2006.01)
A61K 38/16	(2006.01)
A61K 39/12	(2006.01)
A61K 39/42	(2006.01)
G01N 33/48	(2006.01)
G01N 33/569	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2004** **E 10182060 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013** **EP 2261380**

(54) Título: **Método para prevenir la fusión virus:célula mediante la inhibición de la función de la región de iniciación de la fusión en virus de ARN que tienen proteínas de envuelta fusogénicas de membrana de clase I**

(30) Prioridad:

04.11.2003 US 517181 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.11.2013

(73) Titular/es:

THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE EDUCATIONAL FUND (50.0%)
1430 Tulane Avenue
New Orleans, LA 70112-2699, US y
AUTOIMMUNE TECHNOLOGIES, LLC (50.0%)

(72) Inventor/es:

GARRY, ROBERT F y
WILSON, RUSSELL B

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 427 847 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

Método para prevenir la fusión virus:célula mediante la inhibición de la función de la región de iniciación de la fusión en virus de ARN que tienen proteínas de envuelta fusogénicas de membrana de clase I

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense con número de serie 60/517.181, presentada el 4 de noviembre de 2003, que se incorpora en el presente documento mediante referencia.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a péptidos para su uso en la prevención o inhibición de la infección viral por un filovirus de una célula (previniendo de ese modo la inserción del genoma viral en el citoplasma celular, una etapa requerida para la infección viral). La presente invención proporciona composiciones y usos de las mismas para prevenir la infección por un virus filovirus de tipo I interfiriendo en su región de iniciación de la fusión (FIR, fusion inhibiting region).

Introducción

Todos los virus deben unirse a, e invadir, sus células diana para replicarse. Para virus de animales con envuelta, incluyendo virus de ARN que tienen proteínas de fusión de membrana de clase I (virus de tipo I), el proceso implica (a) la unión del virión a la célula diana, (b) la fusión de la envuelta del virus con la membrana plasmática o una membrana celular interna, (c) la desestabilización de la envuelta viral y la membrana celular en la zona fusionada para crear un poro de fusión, (d) la transferencia del ARN viral a través del poro y (e) la modificación de la función celular por el ARN viral.

La fusión de la membrana viral y la envuelta de la célula, etapas (b) y (c) anteriores, está mediada por la interacción de una glicoproteína transmembrana viral (proteína de fusión) con proteínas de superficie y membranas de la célula diana. Estas interacciones provocan cambios conformacionales en la proteína de fusión que dan como resultado la inserción de un péptido de fusión viral en la membrana de la célula diana. Esta inserción va seguida por cambios conformacionales adicionales dentro de la proteína de fusión que llevan la envuelta viral y las membranas celulares a una estrecha proximidad y da como resultado la fusión de las dos bicapas de membrana.

Un virus no puede diseminarse y propagarse dentro de su huésped si se altera este proceso de fusión. La alteración intencionada de este proceso de fusión puede lograrse mediante el direccionamiento de péptidos y peptidomiméticos homólogos a secuencias de proteínas de fusión, anticuerpos que reconocen la proteína de fusión, y otros factores que actúan contra la proteína de fusión.

Antecedentes de la invención

Similitudes estructurales entre proteínas de fusión de clase I de virus de ARN

La hemaglutinina 2 (HA2) del virus influenza, un ortomixovirus, es la proteína de fusión de clase I de virus de ARN prototípica y contiene un dominio hidrófobo amino-terminal, denominado péptido de fusión, que se expone durante la escisión de la proteína precursora de hemaglutinina. Las proteínas de fusión de membrana de virus de ARN de varias familias diversas, incluyendo arenavirus, coronavirus, filovirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus, comparten varias características estructurales comunes con la HA2 y se han denominado proteínas de fusión virales de clase I. Se ha observado que la proteína de fusión del VIH-1, la glicoproteína transmembrana y otras proteínas transmembrana retrovirales, como las de los ortomixovirus y paramixovirus, presentan un dominio de péptido de fusión hidrófobo expuesto durante la escisión de un precursor (gp160) (Gallaher, 1987; Gonzalez-Scarano et al., 1987). Basándose en estas similitudes y algoritmos informáticos que predicen configuraciones de proteínas, se ha sugerido (Gallaher et al., 1989) que la parte externa (ectodominio, extremo amino-terminal) de la proteína transmembrana de VIH-1 y las proteínas transmembrana de otros retrovirus, podría ajustarse en su totalidad al andamiaje de la estructura de HA2 tal como se determinó mediante cristalografía de rayos X (Wilson, Skehel y Wiley, 1981).

Basándose en estas observaciones, se predijo que las proteínas transmembrana retrovirales contienen varias características estructurales además del péptido de fusión en común con la estructura conocida de la HA2, que incluye una hélice amino-terminal extendida (N-hélice, habitualmente una “repetición de héptada” o “cremallera de leucina”), una hélice carboxilo-terminal (C-hélice) y un motivo aromático proximal al dominio transmembrana. La presencia de al menos cuatro de estos cinco dominios define una proteína de la envuelta viral como proteína de fusión de clase I. Este modelo de proteína transmembrana retroviral se confirmó posteriormente mediante determinaciones estructurales y análisis mutacionales (Chan et al., 1997; Kowalski et al., 1991; Weissenhorn et al., 1997). Están presentes motivos estructurales comunes no sólo en proteínas de fusión de ortomixovirus y retrovirus, sino también en las de paramixovirus, filovirus (tales como el virus del Ébola, VEbo) (Gallaher, 1996) y arenavirus (Gallaher, DiSimone y Buchmeier, 2001). El modelo estructural de Gallaher de la proteína de fusión de VEbo (GP2) también se ha conformado mediante métodos de cristalografía de rayos X (Malashkevich et al., 1999; Weissenhorn

et al., 1998).

La figura 1 muestra los cinco dominios, descritos previamente, de las proteínas de fusión de las seis familias de virus de tipo I. Las proteínas de fusión se originan en un péptido de fusión hidrófobo, terminan en un péptido de anclaje e incorporan una hélice alfa amino-terminal extendida (N-hélice, habitualmente una “repetición de héptada” o “cremallera de leucina”), una hélice alfa carboxilo-terminal (C-hélice) (Carr y Kim, 1993; Suarez et al., 2000; Wilson, Skehel y Wiley, 1981), y a veces un motivo aromático proximal a la envuelta del virión. También se muestra el sexto dominio, la región de iniciación de la fusión (FIR), descubierto por los presentes inventores.

Inhibición de la fusión en virus de tipo I

Los intentos previos de los presentes inventores (Garry) y otros para diseñar péptidos y peptidomiméticos, anticuerpos, y otros factores que inhiben la fusión en virus de tipo I se han centrado en el péptido de fusión, la N-hélice y la C-hélice de las proteínas de fusión. En el caso de péptidos de fusión, se ha encontrado que análogos de los ortomixovirus y paramixovirus (Richardson, Scheid y Choppin, 1980) y dominios de péptidos de fusión de VIH-1 (Gallaher et al., 1992; Owens et al., 1990; Silburn et al., 1998) bloquean la infección viral, presumiblemente formando heteroagregados inactivos. También se ha encontrado que péptidos correspondientes a partes de la N-hélice y la C-hélice son eficaces en la inhibición de infección viral tanto in vitro como in vivo. Por ejemplo, un péptido de 17 aminoácidos correspondiente a la parte carboxi-terminal de la N-hélice de la proteína de fusión de VIH-1, definida como la región CS3, bloqueaba la infección por VIH (Qureshi et al., 1990). Además, se desarrollaron otros péptidos inhibidores de N-hélice y C-hélice basándose en el modelo estructural de proteínas de fusión (Wild, Greenwell y Matthews, 1993; Wild et al., 1992), que incluyen el fármaco peptídico anti-VIH-1 de C-hélice DP178 (T-20 o FUZEON®). El DP178 se solapa con la C-hélice y el dominio proximal de anclaje aromático e inhibe la fusión virión:célula de VIH-1 a concentraciones muy bajas (inhibición del 50% a 1,7 nM) que pueden conseguirse in vivo tras inyección. En un ensayo clínico, 100 mg/día de DP178 provocaron una reducción de aproximadamente 100 veces en plasma de la carga de VIH-1 de individuos infectados (Kilby et al., 1998). Este resultado ha motivado enormemente la búsqueda de otros péptidos inhibidores de VIH-1 basados en la estructura de proteínas transmembrana (Pozniak, 2001; Sodroski, 1999). También se ha mostrado que inhibidores peptídicos de paramixovirus inhiben la replicación viral (Lambert et al., 1996; Young et al., 1999). Estudios de Watanabe y colaboradores sugieren que un enfoque similar de direccionamiento de la N-hélice y la C-hélice de la GP2 de VEbo también puede conducir a inhibidores útiles (Watanabe et al., 2000). También se ha mostrado que anticuerpos neutralizantes dirigidos contra partes de los dominios de proteínas de fusión inhiben la fusión virión:célula.

Observaciones en VIH-1

Se ha dedicado una gran cantidad de estudio a la inhibición de la fusión en el virus de la inmunodeficiencia humana VIH-1, uno de los virus de ARN de tipo I. Bolognesi et al. (documento 5.464.933) y los presentes inventores (Garry, USPN 5.567.805) enseñan que la destrucción celular mediada por VIH puede inhibirse introduciendo péptidos que se unen a partes de la partes de la proteína de fusión transmembrana del virión de VIH-1. La región de unión de DP178 de Bolognesi, marcada como FUZEON® en la figura 7, se basa principalmente en la C-hélice y está fuera de lo que se describe en la presente solicitud la región de iniciación de la fusión (FIR). Bolognesi demuestra la inhibición pero no enseña ningún método de inhibición. Los presentes inventores (Garry) demostraron previamente la inhibición en la región CS3 de la TM de VIH-1, marcada como CS3 en la figura 7, pero no identificaron ningún método de inhibición, sugiriendo sólo que se inhibe la interacción CS3:receptor de CS3. El descubrimiento inesperado de la FIR por los presentes inventores (tal como se describe actualmente en el presente documento) y el hecho de que las secuencias de CS3 se encuentren dentro de la FIR indica que la unión CS3:receptor de CS3 descrita en el documento USPN 5.567.805 es de hecho la unión que se produce entre la parte de CS3 de la FIR y partes de la membrana celular por las que tiene afinidad la parte de CS3 de la FIR. Además, aunque Melikyan, Watanabe, Bewley, y otros han descrito la inhibición de la fusión con péptidos introducidos, no han explicado los mecanismos a través de los cuales se produce la inhibición. De manera correspondiente, la ubicación del péptido FUZEON® está alejada de la FIR, lo que sugiere enérgicamente que otros elementos del proceso de fusión operan en la región de FUZEON®. El documento WO 02/24735 describe péptidos de superhélice que comprenden una parte de gp41 de VIH para su uso en la inhibición de la entrada de VIH en las células.

En vista de lo anterior, queda claro que existe la necesidad en la técnica de medios más eficaces para identificar aquellas regiones de virus que están implicadas en el proceso de infección y de composiciones eficaces para prevenir o inhibir la infección viral. La invención descrita y dada a conocer en el presente documento proporciona una solución eficaz a estas necesidades.

Sumario de la invención

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona un péptido aislado seleccionado del grupo que consiste en:

(a) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEQ ID NO: 3,

(b) un péptido que consiste en 8 o más residuos de aminoácido contiguos de SEQ ID NO: 3; y

(c) un análogo peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEQ ID NO: 3 que incluye una o más sustituciones de aminoácido conservativas;

para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus.

El péptido puede incluir un grupo acetilo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo amino-terminal del péptido. El péptido puede incluir además un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo carboxilo-terminal del péptido. La infección por filovirus puede ser una infección por virus del Ébola.

Según un segundo aspecto de la invención, se proporciona el uso de un péptido tal como se definió anteriormente en relación con el primer aspecto para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente. La infección por filovirus puede ser una infección por virus del Ébola.

Según un tercer aspecto de la invención, se proporciona una molécula de ADN recombinante que codifica para un péptido tal como se definió anteriormente en relación con el primer aspecto.

Según un cuarto aspecto de la invención, se proporciona el uso de una molécula de ADN recombinante que permite que, o estimula a, un paciente para que produzca el péptido tal como se definió anteriormente en relación con el primer aspecto para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente. La infección por filovirus puede ser una infección por virus del Ébola.

Según un quinto aspecto de la invención, se proporciona un agente de inhibición de la fusión viral que comprende un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en de 8 a 50 residuos de aminoácido para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, en el que el péptido comprende una secuencia de aminoácidos de un péptido del primer aspecto. El agente de inhibición de la fusión viral puede incluir un grupo acetilo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo amino-terminal del mismo. El agente de inhibición de la fusión viral puede incluir además un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo carboxilo-terminal del mismo.

Según un sexto aspecto de la invención, se proporciona el uso de un agente de inhibición de la fusión viral del quinto aspecto para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente.

Realizaciones ilustrativas de la invención

El sexto dominio de virus de ARN que tienen proteínas de fusión de membrana de clase I

Los arenavirus, coronavirus, filovirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus son las seis familias de virus de ARN identificadas actualmente que tienen proteínas de la envuelta de fusión de membrana de clase I. Los presentes inventores (Garry) y otros han mostrado previamente que las proteínas de fusión de estos virus de tipo I incorporan cinco dominios o motivos conservados (Carr y Kim, 1993; Gallaher et al., 1989; Suarez et al., 2000; Wilson, Skehel y Wiley, 1981). Estos dominios comprenden un péptido de fusión, una N-hélice, una C-hélice y un motivo aromático, que son todos ectodominios, y un péptido de anclaje, que es un endodominio.

Usando análisis computacionales, modelos de estructura secundaria, cálculos de hidrofobicidad superficial y otras técnicas, los presentes inventores han hecho el sorprendente descubrimiento de un sexto dominio altamente conservado que está presente en las proteínas de fusión de una amplia variedad de virus (este sexto dominio se describe en el presente documento). Los virus que presentan este dominio incluyen, pero no se limitan necesariamente a, las seis clases de virus de ARN enumeradas anteriormente. Para hacer hincapié en la función crítica de este dominio recién identificado, que es un ectodominio, se denomina el dominio en el presente documento, región de iniciación de la fusión (FIR) de los virus.

Tal como se usa en el presente documento, el término hélice alfa “extendida” se refiere a una hélice alfa que tiene más de cuatro “giros de hélice alfa” (específicamente, más de 14 aminoácidos).

Otras realizaciones proporcionan “factores” que los inventores han encontrado inesperadamente que son eficaces para prevenir o inhibir la infección viral y/o la fusión virus:célula.

Tal como se usa en el presente documento el término “factores” incluye, pero no se limita a, péptidos aislados o segmentos de péptidos funcionales (o análogos peptídicos de los mismos) de los dominios de la región de iniciación de la fusión (FIR) recién descritos, peptidomiméticos (“peptidomimético” se refiere a cualquier compuesto o sustancia que podría servir como sustituto de un péptido que interacciona con la FIR, es decir cualquier compuesto que imite las propiedades de un segmento funcional de la FIR), anticuerpos específicos para dominios de FIR funcionales (por ejemplo, anticuerpos idiotípicos o anti-idiotípicos) y otros compuestos moleculares que interfieren en la unión y/o fusión virus:célula.

Tal como se usa en el presente documento el término “segmento funcional” o “fragmento funcional” de una región de iniciación de la fusión (FIR) se refiere a un fragmento que puede inhibir la fusión virus:célula, inhibir la infectividad viral, que puede producir un anticuerpo que puede reconocer y unirse específicamente a la FIR y/o interferir en la infección celular mediada por FIR.

Tal como se usa en el presente documento, un “análogo peptídico” o “péptido modificado” se define preferiblemente como un péptido de FIR modificado para que contenga un grupo amino, un grupo acetilo, un grupo hidrófobo (por ejemplo, carbobenzoxilo, dansilo o t-butiloxicarbonilo) o un grupo portador macromolecular (por ejemplo, conjugado lipídico, polietilenglicol, un hidrato de carbono o una proteína) en el extremo amino-terminal. Una clase adicional de análogos peptídicos de FIR contiene un grupo carboxilo, un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo portador macromolecular en el extremo carboxilo-terminal. Otros análogos peptídicos se definen como péptidos de FIR en los que al menos un enlace que une residuos de aminoácido adyacentes es un enlace no peptídico (por ejemplo, un enlace imido, éster, hidrazina, semicarbazoide o azo), un péptido en el que al menos un residuo de aminoácido está en una configuración de isómero D o un péptido en el que el orden de los aminoácidos está invertido. Análogos peptídicos adicionales son péptidos de FIR que comprometen al menos una sustitución de aminoácido en la que un primer residuo de aminoácido se sustituye por un segundo residuo de aminoácido diferente (la sustitución de aminoácido puede ser una sustitución conservada o una sustitución no conservada). Tal como se usa en el presente documento, tales análogos peptídicos pueden comprender secuencias de aminoácidos análogas, conteniendo las secuencias análogas la mayoría de aminoácidos idénticos o químicamente similares en el mismo orden que las secuencias primarias.

Tal como se usa en el presente documento, el término “región de iniciación de la fusión” (FIR) generalmente se refiere a una región de una proteína de fusión viral implicada en la etapa o etapas iniciales de la infección viral y/o fusión con una célula huésped.

Tal como se usa en el presente documento el término “peptidomimético” incluye, pero no se limita a, compuestos orgánicos u otros productos químicos que imitan la estructura o función del péptido de FIR. Los ejemplos de peptidomiméticos incluyen, pero no se limitan a, compuestos orgánicos que comprenden los grupos laterales funcionales de un aminoácido o péptido, pero que carecen de la estructura principal de carbono/nitrógeno o los enlaces peptídicos. Peptidomimético también se refiere a compuestos que imitan la acción de estos grupos laterales funcionales con otros restos.

Otras moléculas, tales como anticuerpos idiotípicos o anti-idiotípicos o proteínas seleccionadas mediante métodos de presentación en fago, que se unen a los péptidos, análogos peptídicos o peptidomiméticos descritos en la presente solicitud también pueden funcionar como inhibidores de la infección viral y/o la fusión virus:célula. También se contemplan por la presente invención plásmidos, o virus recombinantes, u otras moléculas o compuestos que permiten que el, o estimulan al, paciente para que produzca un análogo de los compuestos inhibidores. Por ejemplo, puede usarse una proteína recombinante, producida en una célula bacteriana, fúngica o de mamífero modificada mediante ingeniería, para que produzca un análogo inmunogénico de la FIR de una proteína de fusión viral. De manera similar, podría inducirse una respuesta de anticuerpos anti-idiotípicos en el individuo usando una proteína modificada mediante ingeniería que comprende una secuencia correspondiente al sitio de unión de un anticuerpo específico de FIR.

Tal como se usa en el presente documento, el término “péptido de fusión” se refiere preferiblemente a una secuencia hidrófoba en el, o cerca del, extremo amino-terminal de una proteína de fusión viral de clase I (véase, Gallaher et al., 1987; 1992).

Tal como se usa en el presente documento, el término péptido o análogo peptídico “sustancialmente purificado” se refiere preferiblemente a un péptido o análogo peptídico que es puro en más de aproximadamente el 80%. Más preferiblemente, “sustancialmente purificado” se refiere a un péptido o análogo peptídico que es puro en más de aproximadamente el 90% o más de aproximadamente el 95%. Lo más preferiblemente, se refiere a un péptido o análogo peptídico que es puro en más del 96%, 97%, 98% o el 99%. Funcionalmente, “sustancialmente purificado” significa que está libre de contaminantes en un grado que lo hace adecuado para los fines previstos en el presente documento. Los expertos en la técnica conocen bien métodos para evaluar la pureza. Los métodos adecuados incluyen, pero no se limitan a, análisis mediante cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrofotometría de masas, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y ensayos funcionales en sistemas de cultivo celular que, entre otros, evalúan la citotoxicidad.

Tal como se usa en el presente documento, el término “análogo estable” se refiere a un péptido que tiene una semivida farmacológicamente activa en sistemas biológicos. Se contemplan semividas biológicas de más de 60 minutos.

Tal como se usa en el presente documento, el término “derivado de péptido” se refiere a un péptido que tiene aminoácidos sustituidos diferentes de aquéllos de la secuencia de FIR de una proteína de fusión viral. En ellos, las sustituciones no vuelven el péptido inútil para la presente invención.

Según diversos aspectos de la presente realización de la invención, los péptidos, secuencias aisladas de ácido nucleico o anticuerpos pueden producirse mediante cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo pero sin limitarse a, síntesis química, métodos de ADN recombinante y combinaciones de los mismos.

Tal como se define en el presente documento, la presente invención proporciona métodos para composiciones y usos para tratar o prevenir la infección por filovirus. Un posible mecanismo mediante el cual la presente invención puede prevenir y/o inhibir la infección es interfiriendo en la fusión virus:célula mediada por FIR.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra los dominios de las proteínas de fusión de un miembro de cada una de estas seis familias virales (concretamente, arenavirus, coronavirus, filovirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus). Los círculos en la figura 1 muestran la ubicación aproximada de la FIR en cada virus ilustrado.

Las figuras 2 a 7 muestran las secuencias de aminoácidos de estas proteínas de fusión (correspondientes a SEQ ID NO 16-21, respectivamente) y una representación esquemática de su estructura ectópica. Específicamente, se muestran los cinco dominios descritos previamente, que son el péptido de fusión, es decir, la N-hélice, la C-hélice, el motivo aromático (si está presente) y el péptido de anclaje. También se identifica el sexto dominio recién descubierto, la región de iniciación de la fusión o FIR. Cada FIR se indica por un polígono en la figuras 2 a 7.

El área encerrada en un círculo detrás de las proteínas de fusión en cada una de las figuras 2-7 representa la proteína de unión virus:célula (VCBP, virus:cell binding protein) primaria del virus. La VCBP habitualmente interacciona con la parte de la proteína de fusión que está más distal con respecto a la membrana viral y se muestra por tanto que está así situada en las figuras. A diferencia de la proteína de fusión altamente conservada, la VCBP de cada familia de virus es más divergente. Habitualmente es la VCBP la que dicta la gama de huéspedes del virus y determina cuáles de los tipos celulares del huésped se seleccionan como diana para la infección. La VCBP actúa en esta capacidad reconociendo y uniéndose con proteínas de superficie de células específicas. La unión de la VCBP a las proteínas de la célula seleccionadas como diana se produce antes de, y normalmente es un requisito previo para, la fusión virus:célula.

Figura 8: Inhibición de la infectividad por coronavirus por los péptidos de región de iniciación de fusión. Se preincubaron entre 50 y 100 UFP de virus de la hepatitis de ratón cepa A59 o coronavirus de SARS (severe acute respiratory syndrome, síndrome respiratorio agudo grave) cepa Urbani con o sin los péptidos indicados (~100 μM) en DMEM libre de suero durante 1 h. Entonces se expusieron las células a inóculo tratado con péptido o un control de vehículo (sin péptido). Tras 1 h de adsorción, se retiró el inóculo, se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X, y se recubrieron las células con DMEM que contenía FBS al 10% y agarosa al 0,5%. Cuarenta y ocho horas tras la infección, se fijaron las monocapas infectadas y se tiñeron con violeta cristal para determinar los números de placas de lisis.

Figura 9: Inhibición de la infectividad por virus de Lassa por los péptidos de región de iniciación de fusión. Se preincubaron entre 50 y 100 UFP de virus de Lassa con o sin los péptidos indicados (~100 μM) en BME libre de suero durante 1 h. Entonces se expusieron las células al inóculo tratado con péptido o control de vehículo (sin péptido). Tras 1 h de adsorción, se retiró el inóculo, se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X, y se recubrieron las células con BME que contenía FBA al 5%, HEPES 10 mM y agarosa al 0,5%. Cuatro días tras la infección, se aplicó un segundo recubrimiento que contenía rojo neutro al 5%, y se contaron las placas de lisis 24 h más tarde.

Las seis familias de virus de ARN que ahora se sabe que tienen proteínas de fusión de membrana de clase I (virus de tipo I) y miembros representativos de cada familia son los siguientes:

Virus de ARN representativos que tienen proteínas de fusión de membrana de tipo I (virus de tipo I)

Familia	Virus representativo	Mostrado en las figuras
Arenavirus	Virus de Lassa	Sí
	Virus de la coriomeningitis linfocítica (VCML)	No
	Virus de Junín	No
	Virus de Machupo	No
	Virus de Guanarito	No
	Virus de Sabia	No
Coronavirus	Virus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS)	Sí
	Virus de la hepatitis murina (VHM)	No
	Coronavirus bovino	No
	Coronavirus canino	No
	Virus de la peritonitis infecciosa felina	No

Filovirus	Virus del Ébola	Sí
	Virus de Marburgo	No
Ortomixovirus	Virus influenza A	Sí
	Virus influenza B	No
	Virus influenza C	No
Paramixovirus	Virus del sarampión	Sí
	Virus de las paperas	No
	Virus del moquillo canino	No
	Virus de la enfermedad de Newcastle	No
Retrovirus	Virus de la inmunodeficiencia 1 (VIH-1)	Sí
	Virus de la inmunodeficiencia 2 (VIH-2)	No
	Virus linfotrópico de células T humano tipo 1 (VLTH-1)	No
	Virus linfotrópico de células T humano tipo 2 (VLTH-2)	No
	Partícula tipo A intracisternal humana 1 (HIAP-1)	No
	Partícula tipo A intracisternal humana 2 (HIAP-2)	No

Los virus mostrados en las figuras son los siguientes:

Virus de ARN ilustrados que tienen proteínas de fusión de membrana de tipo I (virus de tipo I)

Figura	Familia	Virus mostrado	Proteína mostrada
Figura 2	Arenavirus	Virus de Lassa	GP2
Figura 3	Coronavirus	Virus de SARS	S
Figura 4	Filovirus	Virus del Ébola	GP2
Figura 5	Ortomixovirus	Virus influenza A	HA2
Figura 6	Paramixovirus	Virus del sarampión	F1
Figura 7	Retrovirus	VIH-1	TM

Lista de secuencias de las proteínas de fusión de membrana de clase I (virus de tipo I) ilustradas

GP2 DE LASSA (número de registro Genbank: A43492, aminoácidos 257-490)

```
      LLGT FTWTLSDSEG NETPGGYCLT RWMLIEAELK CFGNTAVAKC
NEKHDEEFCD MLRLFDFNKQ AIRRLKTEAQ MSIQLINKAV NALINDQLIM
KNHLRDIMGI PYCNYSRYWY LNHTSTGKTS LPRCWLISNG SYLNETKFSD
DIEQQADNMI TEMLQKEYID RQGKTPLGLV DLFVFSTSFY LISIFLHLVK
IPTHRHIVGK PCPKPHRLNH MGICSCGLYK QPGVPVRWKR (SEQ ID NO:16)
```

S DE SARS (número de registro Genbank: AAQ9406, aminoácidos 864-1256)

```
       WTF GAGAALQIPF AMQMAYRFNG IGVTQNVLYE NQKQIANQFN
KAISQIQESL TTTSTALGKL QDVVNQNAQA LNTLVKQLSS NFGAISSVLN
DILSRLDKVE AEVQIDRLIT GRLQSLQTYV TQQLIRAAEI RASANLAATK
MSECVLGQSK RVDFCGKGYH LMSFPQAAPH GVVFLHVTYV PSQERNFTTA
PAICHEGKAY FPREGVFVFN GTSWFITQRN FFSPQIITTD NTFVSGNCDV
VIGIINNTVY DPLQPELDSF KEELDKYFKN HTSPDVDLGD ISGINASVVN
IQKEIDRLNE VAKNLNESLI DLQELGKYEQ YIKWPWYVWL GFIAGLIAIV
MVTILLCCMT SCCSCLKGAC SCGSCCKFDE DDSEPVLKGV KLHYT (SEQ ID NO:17)
```

GP2 DE ÉBOLA (número de registro Genbank: AAM76034, aminoácidos 502-676)

```
 EAIVNAQPK CNPNLHYWTT QDEGAAIGLA WIPYFGPAAE GIYTEGLMHN
QDGLICGLRQ LANETTQALQ LFLRATTELR TFSILNRKAI DFLLQRWGGT
CHILGPDCCI EPHDWTKNIT DKIDQIIHDF VDKTLPDQGD NDNWWTGWRQ
WIPAGIGVTG VIIAVIALFC ICKFVF (SEQ ID NO:18)
```

HA2 DE INFLUENZA (número de registro Genbank: P03437, aminoácidos 346-566)

GLFGA IAGFIENGWE GMIDGWYGFR HQNSEGTGQA ADLKSTQAAI DQINGKLNRV IEKTNEKFHQ IEKEFSEVEG RIQDLEKYVE DTKIDLWSYN AELLVALENQ HTIDLTDSEM NKLFEKTRRQ LRENAEEMGN GCFKIYHKCD NACIESIRNG TYDHDVYRDE ALNNRFQIKG VELKSGYKDW RCNICI (SEQ ID NO:19)

F1 DE SARAMPIÓN (número de registro Genbank: VGNZMV, aminoácidos 116-553)

FAGVV LAGAALGVAT AAQITAGIAL HQSMLNSQAI DNLRASLETT NQAIEAIRQA GQEMILAVQG VQDYINNELI PSMNQLSCDL IGQKLGLKLL RYYTEILSLF GPSLRDPISA EISIQALSYA LGGDINKVLE KLGYSGGDLL GILESRGIKA RITHVDTESY FIVLSIAYPT LSEIKGVIVH RLEGVSYNIG SQEWYTTVPK YVATQGYLIS NFDESSCTFM PEGTVCSQNA LYPMSPLLQE CLRGSTKSCA RTLVSGSFGN RFILSQGNLI ANCASILCKC YTTGTIINQD PDKILTYIAA DHCPVVEVNG VTIQVGSRRY PDAVYLHRID LGPPISLERL DVGTNLGNAI AKLEDAKELL ESSDQILRSM KGLSSTSIVY ILIAVCLGGL IGIPALICCC RGRCNKKGEQ VGMSRPGLKP DLTGTSKSYV RSL (SEQ ID NO:20)

TM DE VIH (número de registro Genbank: AAB50262, aminoácidos 512-710)

AVGIGALFL GFLGAAGSTM GAASMTLTVQ ARQLLSGIVQ QQNNLLRAIE AQQHLLQLTV WGIKQLQARI LAVERYLKDQ QLLGIWGCSG KLICTTAVPW NASWSNKSLE QIWNHTTWME WDREINNYTS LIHSLIEESQ NQQEKNEQEL LELDKWASLW NWFNITNWLW YIKLFIMIVG GLVGLRIVFA VLSIVNRVRQ (SEQ ID NO:21)

Método de identificación de la FIR

Para fines de referencia, se describe el siguiente método para la identificación, dentro de las proteínas de fusión de virus, de un motivo conservado. El motivo conservado de las regiones FIR de diferentes virus tendrá una estructura y función similares. Adicionalmente, las regiones FIR de virus relacionados pueden tener, pero no las tendrán necesariamente, secuencias de aminoácidos primarias altamente similares.

Tal como se describió anteriormente, la presente invención proporciona composiciones útiles para prevenir o inhibir la infección viral por filovirus usando péptidos, anticuerpos o ácidos nucleicos aislados que se dirigen a la FIR de filovirus específica e interfieren en la función de esa FIR.

La FIR de una proteína de fusión viral puede identificarse mediante un método como el siguiente que comprende las siguientes etapas:

(1) La secuencia de la proteína de fusión se ajusta en primer lugar al andamiaje de la proteína de fusión transmembrana de VIH, que comprende la N-hélice, la C-hélice, y otros dominios descritos previamente, con el fin de identificar la N-hélice y la C-hélice en la proteína de fusión objeto. Este proceso de ajuste se facilita mediante la búsqueda de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína para dos o más cisteínas que tienen propensión a formar al menos un bucle enlazado covalentemente, que estará presente en la mayor parte pero no en la totalidad de esas secuencias. La N-hélice puede identificarse entonces en la región que precede a este bucle de cisteína examinando la región para detectar aminoácidos cargados y otros aminoácidos que tienen propensión a formar una hélice alfa (por ejemplo, glutamina (Q), alanina (A), triptófano (W), lisina (K) y leucina (L)).

(2) El extremo amino-terminal de la FIR se identifica entonces en la N-hélice. Este extremo terminal se encontrará habitualmente dentro de los 10 a 20 aminoácidos finales de la N-hélice y tendrá un núcleo que comprende normalmente tres o cuatro aminoácidos hidrófobos (tales como leucina (L) o alanina (A)), un aminoácido cargado positivamente (tal como lisina (K) o arginina (R)), un aminoácido cargado negativamente (tal como glutamato (E)) y un aminoácido aromático (tal como tirosina (Y)).

(3) Entonces se identifica el extremo carboxilo-terminal de la FIR . En el caso de todas las familias excepto los coronavirus y paramixovirus, este extremo terminal es el extremo carboxi-terminal de la primera secuencia peptídica con hidrofobicidad interfacial positiva que se encuentra más allá de la N-hélice. Este extremo terminal está ubicado habitualmente más allá del bucle de cisteína, si el bucle está presente, y a veces se solapa con la C-hélice o está

situado en la C-hélice. Las secuencias con hidrofobicidad interfacial positiva tienen un alto porcentaje de aminoácidos aromáticos (tales como triptófano (W), fenilalanina (F) y tirosina (Y)) y aminoácidos hidrófobos pequeños (tales como glicina (G)). El grado de hidrofobicidad interfacial de estas secuencias puede determinarse usando la escala de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White, preferiblemente con un programa informático tal como el programa MPEX que incorpora esta escala. ("Hidrofobicidad interfacial" es una medida de la capacidad de un péptido para transferirse de una disolución acuosa a la interfaz de la bicapa de membrana y se basa en la escala de hidrofobicidad interfacial de residuos completos de Wimley-White determinada experimentalmente (Jaysinghe, Hristova y White, 2000). Los programas informáticos que usan esta escala pueden identificar una secuencia peptídica de una cadena peptídica que tiene puntuaciones de hidrofobicidad interfacial positivas y son, por tanto, las que es más probable que se asocien con la superficie de las membranas.) Véase el ejemplo 1, como ejemplo de la aplicación de este método a la identificación de la FIR en el virus del Ébola.

En el caso de los coronavirus, que tienen hélices alfa más largas y una escala generalmente mayor, y los paramixovirus, en los que la FIR es discontinua debido a un inserto de secuencia distinto de una FIR, el extremo carboxilo-terminal de la FIR es el extremo carboxi-terminal de la segunda secuencia peptídica con hidrofobicidad interfacial positiva que se encuentra más allá de la N-hélice. La secuencia entre la N-hélice y la C-hélice en la proteína F1 de paramixovirus es más larga que las secuencias interhelicoidales de otros virus con proteínas de fusión virales de clase I. La proteína F2 de paramixovirus, que sirve para una función de unión a receptores, es correspondientemente más corta. Tras la inspección de modelos informáticos, es obvio para los expertos en la técnica que la proteína F1 contiene un inserto de secuencia entre la N-hélice y la C-hélice. Por consiguiente, la FIR de paramixovirus contiene dos bucles de cisteína y dos secuencias de alta hidrofobicidad interfacial y es discontinua debido a que los aminoácidos adicionales que son característicos sólo de los paramixovirus y aparecen entre la N-hélice y la primera secuencia de alta hidrofobicidad interfacial secuencia se excluyen de la FIR.

Secuencias de FIR

La secuencia de la proteína de fusión y FIR para cada uno de los seis virus representativos mostrados en las figura 2 a 7 se proporciona en la figura respectiva y en la lista de secuencias proporcionada a continuación (SEQ ID NO:16 a SEQ ID NO: 21 proporcionan las proteínas de fusión respectivas; y SEQ ID NO:1 a SEQ NO:7 proporcionan las FIR respectivas). Aunque existe cierta variación de secuencia menor entre los virus hermanos dentro de cada una de estas familias, la FIR en cualquier virus de tipo I puede identificarse fácilmente usando la secuencia representativa proporcionada en la figura apropiada.

Métodos de inhibición de la fusión en estos virus

La presente invención proporciona composiciones según las reivindicaciones que inhiben la fusión virus:célula interfiriendo en la función de la FIR. Diversos aspectos de estas realizaciones incluyen la selección como diana de la FIR con péptidos, anticuerpos y secuencias de ácido nucleico aisladas tal como se definen en el presente documento, con el fin de interferir en la fusión virus:célula. En la presente invención, los péptidos y análogos peptídicos consisten en una secuencia de SEQ ID NO: 3 u 8 aminoácidos contiguos de la misma y son de una longitud tal según sea necesario para proporcionar una inhibición eficaz de la infección viral por filovirus. Tal como se usa en el presente documento, el término "de una longitud tal según sea necesario para proporcionar una inhibición eficaz" del virus, preferiblemente se refiere a una longitud suficiente para proporcionar una reducción de 5 veces o mayor en la infectividad viral, cuando se usa según la presente invención. Los expertos en la técnica conocen bien métodos para cuantificar la reducción en la infectividad viral. Por ejemplo, pueden determinarse las reducciones en la actividad viral mediante ensayos de reducción de las placas de lisis, inhibición de la unión, ensayos de reducción del título o mediante estudios de exposición en animales.

Los péptidos de FIR de SEQ ID NO: 3, péptidos de secuencias análogas de SEQ ID NO: 3, o fragmentos de los mismos, contemplados como que forman parte de la presente invención son según las reivindicaciones. Se muestran las siguientes secuencias para fines de comparación con SEQ ID NO: 3:

LASSA

X-LIMKNHLRDIMGIPYCNYSRYWILNHTSTGKTLPRCWLI-Z (SEQ ID NO: 1).

SARS

X-LIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQAAPH GVVFLHVTYVPSQERNFTTAPAICHEGKAYFPREGVFVFNGTSWFITQRNFFS-Z (SEQ ID NO:2)

ÉBOLA

X-LRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCI-Z (SEQ ID NO: 3)

INFLUENZA

X-IQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMNKLF-Z (SEQ ID NO: 4)

SARAMPIÓN

X-LGLKLLRYYTEILSLFG-Z (SEQ ID NO: 5)

X-WYTTVPKYVATQGYLISNFDESSCTFMPEGTVCSQNALYPMSPLLQE

CLRGSTKSCARTLVSGSFGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTII-Z (SEQ ID NO:6)

("----" indica que la FIR de sarampión es discontinua).

VIH

X-LQARILAVERYLKDQQLLGIWGCSGKLICTTAVPWNASWSNKSLE QIWHTTWMEWD-Z (SEQ ID NO:7

En cada una de las secuencias anteriores, la "X" y la "Z" designan respectivamente o bien el extremo amino-terminal o bien el extremo carboxi-terminal, respectivamente, del péptido o un resto adicional, tal como se describe a continuación.

Los péptidos de SEQ ID NO: 3 previstos por la presente invención tienen la secuencia de una región FIR. La región FIR es de un virus que pertenece a la familia viral de filovirus que incluye el virus del Ébola y el virus de Marburgo.

Otros aspectos de esta realización de la invención proporcionan secuencias de SEQ ID NO: 3 que comprenden un fragmento funcional de una secuencia de FIR o secuencias análogas de la misma de un virus que pertenece a la familia viral de los filovirus que incluye el virus del Ébola y el virus de Marburgo.

Derivados de los péptidos de FIR descritos anteriormente y secuencias análogas de los mismos. Estos péptidos derivados pueden comprender secuencias alteradas en las que se sustituyen residuos de aminoácido funcionalmente equivalentes por residuos dentro de la secuencia que dan como resultado un cambio silencioso. Por ejemplo, uno o más residuos de aminoácido dentro de la secuencia pueden sustituirse por otro aminoácido de una polaridad similar que actúa como un equivalente funcional, dando como resultado una alteración silenciosa (por ejemplo, sustitución de leucina por isoleucina). 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. A modo de ejemplo adicional, y no a modo de limitación, tales péptidos también pueden comprender D-aminoácidos, y/o pueden comprender una proteína transportadora ineficaz o ninguna proteína transportadora en absoluto.

Los péptidos de FIR pueden comprender péptidos en los que "X" comprende un grupo amino, un grupo acetilo, un grupo hidrófobo o un grupo portador macromolecular; y/o "Z" comprende un grupo carboxilo, un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo portador macromolecular. El resto "X" también puede seleccionarse del grupo que comprende: un resto hidrófobo, un resto carbobenzoxilo, resto dansilo o un resto t-butiloxicarbonilo. El resto "Z" puede seleccionarse del grupo que comprende: un resto hidrófobo, un resto t-butiloxicarbonilo.

El resto "X" puede comprender un grupo portador macromolecular. Tal grupo portador macromolecular puede seleccionarse del grupo que comprende, pero no se limita a: un conjugado lipídico, un resto de polietilenglicol o un resto de hidrato de carbono. De manera similar, la "Z" también puede comprender un grupo portador macromolecular; seleccionándose dicho portador macromolecular se selecciona del grupo que comprende, pero no se limita a: un conjugado lipídico, resto de polietilenglicol o un resto de hidrato de carbono.

Uno o más de los enlaces moleculares que unen residuos de aminoácido adyacentes pueden ser un enlace no peptídico. Tales enlaces no peptídicos incluyen, pero no se limitan a: enlaces imido, éster, hidrazina, semicarbazoide y azo.

El péptido puede comprender uno o más residuos de aminoácido que está(n) en un aminoácido de isómero D.

Los péptidos pueden comprender una o más sustituciones de aminoácido en las que un primer residuo de aminoácido se sustituye por un segundo residuo de aminoácido diferente, en las secuencias proporcionadas anteriormente (o un segmento funcional de las mismas). En diversos aspectos de esta realización, la sustitución de aminoácido es una sustitución conservativa. En otros aspectos de esta realización, la sustitución de aminoácido es una sustitución no conservativa. Aún otros aspectos de esta realización de la invención proporcionan péptidos tales como se describieron anteriormente, excepto porque se han delecionado uno o más residuos de aminoácido.

En diversos aspectos preferidos de las presentes realizaciones, los péptidos de FIR de la invención comprenden al menos 8 residuos contiguos de una FIR. Tal como se usa en el presente documento, el término “péptido(s) inhibidor(es) de FIR” se refiere preferiblemente a un péptido o péptidos que tienen la secuencia de una FIR (o segmento funcional de la misma) y a tales péptidos de FIR o segmentos funcionales en los que uno o más aminoácidos se sustituyen(n) por aminoácidos funcionalmente equivalentes o químicamente similares (véase anteriormente). 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 un aspecto preferido de esta realización, el péptido tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3.

Aún en otros aspectos de esta realización de la invención, los péptidos de FIR pueden unirse a una molécula portadora tal como una proteína, incluyendo pero sin limitarse a, albúmina sérica humana (HSA).

Además, la presente invención contempla moléculas que comprenden cualquier combinación de los restos X y Z y/u otras modificaciones peptídicas descritas anteriormente.

Pueden producirse péptidos según la presente invención a partir de proteínas virales que se producen de manera natural o recombinantes. También pueden producirse usando técnicas de ADN recombinantes convencionales (por ejemplo, la expresión de péptido por un microorganismo que contiene una molécula de ácido nucleico recombinante que codifica para el péptido deseado, expresado bajo el control de un promotor transcripcional adecuado, y la recogida del péptido deseado de dicho microorganismo). En un aspecto preferido de la invención, puede prepararse cualquiera de los péptidos de la invención usando cualquier metodología de síntesis química conocida en la técnica incluyendo pero sin limitarse a, síntesis en fase sólida de Merrifield (Clark-Lewis et al., 1986, Science 231:134-139).

Realizaciones de la presente invención también proporcionan anticuerpos útiles para tratar o prevenir la infección de una célula por un virus. Los anticuerpos incluyen segmentos activos de los mismos, lo que significa partes de anticuerpos que pueden reconocer específicamente una región FIR o un segmento funcional de la misma. Los anticuerpos reconocen específicamente una FIR o fragmento antigénico de la misma para prevenir o reducir la infección de la célula por el virus. Los anticuerpos según estas realizaciones de la invención pueden ser monoclonales o policlonales.

Los expertos en la técnica conocen bien métodos generales para producir anticuerpos. Los métodos para producir anticuerpos según la presente invención comprenden las etapas de (i) proporcionar un antígeno que comprende una FIR o un fragmento antigénico de la misma (tal antígeno puede ser un péptido no modificado, un análogo peptídico o un derivado de péptido); (ii) exponer el sistema inmunitario de un animal al antígeno de modo que se induzca una respuesta inmunitaria; (iii) recoger los anticuerpos del animal e identificar aquellos anticuerpos que o bien reconocen específicamente una FIR (o segmento funcional de la misma) y/o que o bien pueden inhibir o reducir la infección virus:célula de manera sensible a la dosis en ensayos que miden la infectividad viral.

Según diversos aspectos de la presente invención, los péptidos y/o anticuerpos de la presente invención útiles para tratar o prevenir la infección viral de una célula pueden seleccionar como diana los aminoácidos que rodean y están dentro del bucle de cisteína de la FIR, la parte distal de la N-hélice de la FIR, cualquiera de las regiones con hidrofobicidad interfacial de la FIR, otras zonas de la FIR, o cualquier combinación de las mismas. Estos anticuerpos, péptidos o análogos peptídicos (colectivamente compuestos) pueden usarse de manera individual; alternativamente, pueden usarse en combinaciones de dos o más para prevenir o inhibir la infección de la célula por el virus. Los métodos de prevención o inhibición de la infección viral de la célula interfiriendo en la función de la FIR proporcionados por la presente invención también incluyen el uso de anticuerpos neutralizantes, producidos de manera exógena o endógena, contra la totalidad o partes de la FIR. El fin de tal uso es interferir en la función de la FIR, inhibiendo de ese modo la infección viral de la célula y/o la fusión virus: membrana celular.

Otras realizaciones de la presente invención proporcionan composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que comprende todos y cada uno de los péptidos (incluyendo análogos o anticuerpos). Esto incluye, pero no se limita a, composiciones que contienen cualquier molécula que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, una FIR, o un segmento funcional de una FIR de de SEQ ID NO: 3. Incluye además, pero no se limita a, composiciones que comprenden cualquier compuesto que específicamente reconoce, se une a o interfiere en, la función de una FIR viral. Tal como se usa en el presente documento, la expresión “que interfiere en la función de la FIR” significa que un compuesto interacciona con la FIR o con la proteína celular que sirve como receptor que reconoce la FIR de modo que se previene o reduce la infección de la célula por el virus. Adicionalmente, se contempla que las composiciones puedan comprender una cualquiera de las moléculas descritas o mezclas de dos

o más de las moléculas.

Realizaciones adicionales de la presente invención proporcionan usos de compuestos de la invención en el tratamiento o la prevención de la infección de una célula por un filovirus. Diversos aspectos de esta realización de la invención prevén una cantidad eficaz de cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento para su uso en la administración a un paciente que se sospecha que ha estado expuesto a un filovirus (o que tiene la posibilidad de estar expuesto a un filovirus). En diversos aspectos de la invención, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo que específicamente reconoce y se une a, una FIR de SEQ ID NO: 3 (o segmento funcional de una FIR) o un fragmento de tal anticuerpo que específicamente reconoce y se une a, una FIR o segmento funcional de una FIR.

Todavía otros aspectos de esta realización de la invención según las reivindicaciones prevén una cantidad eficaz de una composición que comprende al menos una molécula de ADN recombinante; en la que el ADN codifica para una FIR de SEQ ID NO: 3 (o segmento funcional de la misma) de modo que se previene o reduce la infección por el virus. En un aspecto preferido de esta realización, la molécula de ADN recombinante y/o composición farmacéutica comprende además los elementos necesarios para permitir que la proteína codificada por la molécula de ADN se exprese en una célula humana. A modo de ejemplo no exclusivo, en determinados aspectos de esta realización de la invención, la molécula de ADN recombinante es parte de un plásmido recombinante o virus recombinante.

Ejemplos

Ejemplo 1: Identificación de la FIR en el virus del Ébola

El método para identificar la FIR de proteínas de fusión virales de clase I puede ilustrarse mediante dos ejemplos. El primer ejemplo es la identificación de la FIR en la glicoproteína 2 (GP2) de proteína de fusión de clase I mínima del virus del Ébola, un filovirus. Los límites de la N-hélice y la C-hélice de la GP2 del virus del Ébola se han determinado mediante métodos de cristalografía de rayos X (Malashkevich et al., 1999). Los aminoácidos terminales de la N-hélice contienen la secuencia ILNRKAIDF (SEQ ID NO:8) que se ajusta a la secuencia consenso de un núcleo que comprende tres o cuatro aminoácidos hidrófobos, un aminoácido cargado positivamente, un aminoácido cargado negativamente y un aminoácido aromático. Entre estas dos hélices hay dos cisteínas en la secuencia CHILGPDC (SEQ ID NO:9). La secuencia FLLQRWGGTCHILGPDCCI (SEQ ID NO:10) define los extremos de la FIR de GP2 del virus del Ébola, teniendo una puntuación de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White de 2,59 tal como se determinó mediante el programa MPEX (Jaysinghe et al, 2002). Por tanto, la FIR de GP2 del virus del Ébola se extiende desde el aminoácido 579 hasta el 610.

Ejemplo 2: Identificación de la FIR en el virus del sarampión

El segundo ejemplo es una proteína de fusión de clase I compleja, la proteína F1 del virus del sarampión, un paramixovirus. La N-hélice y la C-hélice de F1 del virus del sarampión pueden identificarse examinando la secuencia primaria para aminoácidos con propensión a formar hélices. La alineación de la secuencia primaria de F1 del virus del sarampión con la secuencia primaria de aminoácidos de la proteína F1 de otros paramixovirus, F1 del virus de la enfermedad de Newcastle, también puede ayudar en la identificación de los límites de hélice. La estructura de la proteína F1 del virus de la enfermedad de Newcastle se ha determinado mediante métodos de cristalografía de rayos X (Chen et al., 2001). Por tanto, puede predecirse que los límites de las N-hélice y C-hélice son los aminoácidos 131-217 y 455-491, respectivamente. A diferencia de la GP2 del virus del Ébola y la mayoría de otras proteínas de fusión de clase I virales, la secuencia primaria entre las N-hélice y C-hélice en el virus del sarampión es más larga que 100 aminoácidos. La región FIR de F1 del virus del sarampión contiene una inserción que, tras la inspección de modelos informáticos, es obvia para los expertos en la técnica, y por tanto la estructura de la FIR está formada por una disposición secundaria que une dos partes de la secuencia primaria. La secuencia insertada forma un bucle externo a la FIR. Los aminoácidos terminales de la N-hélice contienen la secuencia LKLLRYYTE (SEQ ID NO:11) que se ajusta a la secuencia consenso de un núcleo que comprende tres o cuatro aminoácidos hidrófobos, un aminoácido cargado positivamente, un aminoácido cargado negativamente y un aminoácido aromático. Existen ocho residuos de cisteína en la F1 del virus del sarampión entre las N-hélice y C-hélice. Basándose en la alineación con la F1 del virus de la enfermedad de Newcastle, puede determinarse que las primeras dos cisteínas y las segundas dos cisteínas forman bucles unidos por enlaces disulfuro. El primer par de cisteínas en la secuencia, CTFMPEGTVC (SEQ ID NO:12), es parte de la FIR porque está unido por una secuencia WYTTVPKYVATQGILISNF (SEQ ID NO:13) con una puntuación de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White de 3,36, tal como se determinó mediante el programa MPEX. El segundo par de cisteínas en la secuencia, CLRGSTKSC (SEQ ID NO:14), es también parte de la FIR porque es adyacente a una secuencia TLVSGSFGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTII (SEQ ID NO:15) con una puntuación de hidrofobicidad interfacial de Wimley-White de 2,54, tal como se determinó mediante el programa MPEX. Por tanto, la FIR de F1 del virus del sarampión se extiende desde los aminoácidos 205 a 407, representando los aminoácidos 221 a 314 una inserción que no participa en la función de la FIR.

Ejemplo 3: Identificación de péptidos inhibidores de la fusión de coronavirus.

Antecedentes

El síndrome respiratorio agudo grave (SARS, severe acute respiratory syndrome) es una enfermedad reconocida recientemente que se diseminó desde el sur de China a finales del año 2002/principios del años 2003 hasta varios países en Asia, Europa y Norteamérica (Guan et al., 2004). El SARS comienza habitualmente con una fiebre de más de 38ºC. Los síntomas iniciales también pueden incluir cefalea, malestar y síntomas respiratorios leves. En el plazo de dos días a una semana, los pacientes con SARS pueden desarrollar una tos seca y tener problemas para respirar. Los pacientes en estadios más avanzados de SARS desarrollan o bien neumonía o bien síndrome de dificultad respiratoria. En el brote inicial hubo 8098 casos en todo el mundo, con una mortalidad global del 9,6%. Se ha demostrado que un coronavirus no reconocido previamente (CoV) es la causa de la nueva enfermedad (Poutanen et al., 2003; Peiris et al., 2003; Drosten et al., 2003; Rota et al., 2003; Mara et al., 2003). Intervenciones en la salud pública, tales como vigilancia, restricciones para viajar y cuarentenas, contuvieron la diseminación original de CoV de SARS en 2003 y de nuevo parecen haber detenido la diseminación de SARS tras la aparición de algunos nuevos casos en 2004. Se desconoce, sin embargo, si estas medidas de contención draconianas pueden sostenerse con cada aparición del CoV de SARS en seres humanos. Además, el potencial de este CoV nuevo y a veces letal como amenaza de terrorismo biológico es obvio.

Los coronavirus son grandes virus de ARN de cadena positiva normalmente con una amplia gama de huéspedes. Como otros virus con envuelta, los CoV entran en las células diana mediante fusión entre las membranas viral y celular, un proceso mediado por la proteína de la espícula (S) viral. Las proteínas S de CoV, caracterizadas hasta la fecha, parecen consistir en dos subunidades asociadas de manera no covalente, S1 y S2. Usando análisis computacional, Garry y Gallaher (2003) propusieron por primera vez que la parte de la proteína S de CoV de SARS correspondiente a la subunidad S2 se ajusta al modelo prototípico de una proteína de fusión viral de clase I basándose en la presencia de dos regiones de hélice alfa predichas en las regiones N- y C-terminal de S2 (N-hélice, C-hélice) y una región rica en aminoácidos aromáticos justo antes del dominio de anclaje transmembrana.

Materiales y métodos

Se mantuvieron células L2 o células Vero E6 como monocapas en medio de Eagle modificado por medio completo de Dulbecco (DMEM) que contenía HCO_3^- al 0,15% complementado con el 10% de suero bovino fetal (FBS), penicilina G (100 U/ml), estreptomicina (100 mg/ml) y L-glutamina 2 mM a 37ºC en un incubador con el 5% de CO_2. Se propagó el virus de la hepatitis de ratón (VHM) cepa A59 o CoV de SARS cepa Urbani o HK en células L2. Para ensayos de placas de lisis, se sembraron células E2 o células Vero E6 a una densidad de $1x10^6$ células en cada pocillo de una placa de 6 pocillos. Se preincubaron de cincuenta a 100 unidades formadoras de placas de lisis (u.f.p.) de VHM o CoV de SARS con o sin aproximadamente 100 μg/ml de péptido en DMEM libre de suero durante 1 h. Entonces se infectaron las células con inóculo tratado con péptido o inóculo control de vehículo. Tras 1 h de adsorción, se retiró el inóculo, se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X, y se recubrieron las células con FBS al 10%/DMEM que contenía agarosa SEAPLAQUE® al 0,5% (Cambrex Bio Science Rockland, Inc., Rockland, ME). Se fijaron las monocapas con formalina al 3,7% y se tiñeron con violeta cristal 1X 2 días tras la infección, y se determinaron los números de placas de lisis mediante microscopía óptica.

Resultados y discusión

Se sometieron a prueba péptidos sintéticos correspondientes a los dominios de FIR de la proteína S de VHM o CoV de SARS para determinar su capacidad para inhibir la infección por estos coronavirus. La capacidad para inhibir la formación de placas de lisis en monocapas celulares es la prueba más rigurosa in vitro de un posible fármaco inhibidor de la infección. Dos péptidos (GNHILSLVQNAPYGLYFIHFSW, SEQ ID NO:22 y GYFVQDDGEWKFTGSSYYY, SEQ ID NO:23) de la FIR de VHM pueden inhibir la formación de placas por VHM, aunque el primer péptido de FIR de VHM es más eficaz (véase la figura 8A). Dos péptidos de la FIR de CoV de SARS (GYHLMSFPQAAPHGVVFLHVTY, SEQ ID NO:24 y GVFVFNGTSWFTTQRNFFS, SEQ ID NO:25) inhibieron la formación de placas de lisis por este coronavirus (véase la figura 8B). También hubo una reducción significativa (~50%) en el diámetro promedio de las placas de lisis residuales. Estos resultados sugieren que este péptido inhibe tanto la entrada como la diseminación de VHM. Se obtuvieron resultados similares con estos péptidos inhibidores en experimentos independientes, observándose una inhibición de las placas de lisis del 50% a concentraciones de <5 μM. Es improbable que estos resultados se expliquen mediante efectos citotóxicos inespecíficos de los péptidos. Excepto por las placas de lisis, las células en las monocapas estaban intactas y eran viables. El bajo número de placas de lisis que crecieron fueron similares en tamaño a las placas de lisis de control. Los péptidos de otras regiones también inhibieron la infección por estos virus, pero en menor grado que los péptidos de FIR más activos (figura 8). Por ejemplo, los péptidos de la región del péptido de fusión y la hélice carboxilo-terminal (C-hélice) de la S de VHM y la S de CoV de SARS proporcionaron cierta inhibición (péptido de fusión de S de VHM = MFPPWSAAAGVPFSLSVQY, SEQ ID NO: 26; C-hélice de S de VHM = QDAIKKLNESYINLKEVGTYEMYVKW, SEQ ID NO:27; péptido de fusión de S de CoV de SARS = MYKTPTLKYFGGFNFSQIL, SEQ ID NO:28; C-hélice de S de CoV de SARS = AACEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKW, SEQ ID NO:29. Recientemente se notificaron actividades inhibidoras en el rango μM con péptidos de C-hélice de coronavirus por Bosch et al., (2003) y otros (Bosch et al., 2004; Lui et al., 2004; Yuan et al., 2004; Zhu et al., 2004). Sin embargo, no se han notificado péptidos inhibidores de coronavirus de FIR. No obstante, en vista de la presente invención, las referencias citadas colectivamente

proporcionan respaldo a las tremendas ventajas de las invenciones dadas a conocer y reivindicadas en el presente documento. Es decir, estas referencias concuerdan con la afirmación de los inventores de que el métodos de la presente invención pueden usarse ventajosamente para identificar péptidos sintéticos que inhiben la fusión/infectividad por miembros de la familia Coronaviridae.

Ejemplo 4: Identificación de péptidos inhibidores de la fusión de arenavirus.

Antecedentes

La fiebre de Lassa es una enfermedad hemorrágica a menudo mortal denominada así según la ciudad en el valle del río Yedseram de Nigeria en la que se produjeron los primeros casos descritos en 1969 (Buckley y Casals, 1970). Partes de Guinea, Sierra Leona, Nigeria y Liberia son endémicas para el agente etiológico, el virus de Lassa (VLas). El impacto sobre la salud pública de VLas en zonas endémicas es inmenso. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) han estimado que existen 100.000-300.000 casos de Lassa al año en África Occidental y 5.000 fallecimientos. En algunas partes de Sierra Leona, el 10-15% de todos los pacientes ingresados en hospitales tienen fiebre de Lassa. Las tasas de letalidad para la fiebre de Lassa son normalmente del 15% al 20%, aunque en epidemias la mortalidad global puede ser de hasta el 45%. La tasa de mortalidad para las mujeres en el último mes de embarazo es siempre alta, ~90%, y la infección por VLas provoca altas tasas de muerte fetal en todas las etapas de la gestación. Las tasas de mortalidad para Lassa parecen ser mayores en personas no africanas, lo que es motivo de preocupación debido a que Lassa es la fiebre hemorrágica exportada de la manera más común. Debido a la alta tasa de letalidad y a la capacidad para diseminarse fácilmente mediante contacto entre seres humanos, VLas se clasifica como un agente de categoría A de biodefensa del NIAID y nivel de bioseguridad 4.

VLas es un miembro de la familia Arenaviridae. El genoma de arenavirus consiste en dos segmentos de ARN ambisentido, monocatenario. Cuando se visualizan mediante microscopía de transmisión electrónica, los viriones esféricos con envuelta (diámetro: 110-130 nm) muestran partículas granuladas que son ribosomas adquiridos de las células huésped (Murphy y Whitfield, 1975). De ahí el uso para el nombre de la familia de la palabra latina “arena”, que significa “arenoso”. Además de VLas, otros arenavirus que producen enfermedad en seres humanos incluyen el virus de Junín (fiebre hemorrágica de Argentina), el virus de Machupo (fiebre hemorrágica de Bolivia), el virus de Guanarito (fiebre hemorrágica de Venezuela) y el virus de Sabiá (fiebre hemorrágica de Brasil). Los arenavirus son zoonóticos; cada virus se asocia con una especie específica de roedor (Bowen, Peters y Nichol, 1997). El reservorio de VLas es la “rata de múltiples mamas” del género Mastomys (Monath et al., 1974). La amplia distribución de Mastomys en África hace que la erradicación de este reservorio de roedores sea poco práctica y no deseable desde el punto de vista ecológico.

Los signos y síntomas de la fiebre de Lassa, que se producen 1-3 semanas tras la exposición al virus, son altamente variables, pero pueden incluir fiebre, dolor retroesternal, de espalda o abdominal, dolor de garganta, tos, vómitos, diarrea, inyección conjuntival e hinchazón facial. VLas infecta células endoteliales, dando como resultado un aumento de la permeabilidad capilar, una disminución del volumen circulante eficaz, choque y fallo multiorgánico. Se produce hemorragia franca, habitualmente de las mucosas (encías, etc.), en menos de una tercera parte de los casos, pero confiere un mal pronóstico. También se han descrito problemas neurológicos, incluyendo pérdida de audición, temblores y encefalitis. A los pacientes que sobreviven les comienza a bajar la fiebre 2-3 semanas después del inicio de la enfermedad. La complicación más común de la fiebre de Lassa es la sordera. Se produce sordera unilateral o bilateral, temporal o permanente, en ~30% de los pacientes con fiebre de Lassa durante la convalecencia, y no se asocia con la gravedad de la enfermedad aguda. El fármaco antiviral ribavirina es eficaz en el tratamiento de la fiebre de Lassa, pero sólo si se administra pronto (hasta seis días) en el transcurso de la enfermedad (Johnson et al., 1987; McCormick et al., 1986). Se desconoce si la ribavirina es eficaz frente a otros arenavirus, tales como virus de Junín, Machupo, Guanarito o Sabiá. Actualmente no está disponible ninguna vacuna contra VLas.

Materiales y métodos

Se mantuvieron células Vero como monocapas en medio basal de Eagle (BME) que contenía HEPES 10 mM y FBA al 5%. Se propagó el virus de Lassa (cepa Josiah) en células Vero. Para ensayos de placas de lisis, se sembraron células Vero a una densidad de $1x10^6$ células en cada pocillo de una placa de 6 pocillos. Se preincubaron de cincuenta a 100 u.f.p. de VLas con o sin péptido en BME libre de suero durante 1 h. Entonces se infectaron las células con inóculo tratado con péptido o inóculo control de vehículo. Tras 1 h de adsorción, se retiró el inóculo, se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X, y se recubrieron las células con 2 ml de agarosa al 0,5% en BME que contenía HEPES 10 mM y FBA al 5%, y se incubaron durante 4 días. Se aplicó un segundo recubrimiento que contenía rojo neutro al 5%, y se contaron las placas de lisis 24 h más tarde.

Resultados y discusión

Se sometieron a prueba péptidos sintéticos correspondientes a los dominios de FIR de glicoproteína 2 (GP2) de VLas para determinar su capacidad para inhibir la infección por este arenavirus. Un péptido (NYSKYWILNHTTTGR, SEQ ID NO:30) análogo a la secuencia NYSRYWILNHTSTGK de SEQ ID NO:1 (LASSA FIR) puede inhibir la

formación de placas de lisis por VLas (figura 9). Un péptido análogo a otra región de GP2, el péptido de fusión, (GTFTWTLSDSEGKDTPGGY, SEQ ID NO:31) también inhibió la infección por VLas, pero en menor grado (figura 9). No se han notificado péptidos inhibidores de arenavirus. Colectivamente, estos resultados sugieren que estos enfoques pueden identificar péptidos sintéticos que inhiben la fusion/infectividad por miembros de los Arenaviridae. Estos resultados, en combinación con los resultados con péptidos inhibidores de FIR de coronavirus, establecen una prueba del principio de que los péptidos con regiones FIR pueden funcionar como inhibidores virales.

Referencias

Bolognesi et al. patente estadounidense número 5.464.933

Bosch, et al., (2004). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 101: 8455-8460.

Bosch, et al, (2003) J Virol 77: 8801-8811.

Bowen, et al, (1997). Mol Phylogenet Evol 8 (3), 301-16.

Buckley, S. M. y Casals, J. (1970). Am J Trop Med Hyg 19(4), 680-91.

Carr, C. M. y Kim, P. S. (1993). Cell 73(4), 823-32.

Chan et al, (1997). Cell 89(2), 263-73.

Chen et al, (2001). Structure 9 (3), 255-266.

Clark-Lewis et al. (1986) Science. 231: 134-9.

Drosten, et al (2003). New England J Med 348, 1967-76.

Gallaher et al (1992). Adv. Membrane Fluidity 6,113-142.

Gallaher, W. R. (1987). Cell 50(3), 327-8.

Gallaher, W. R. (1996). Cell 85, 1-2.

Gallaher, et al. (1989). AIDS Res Human Retrovirus 5(4), 431-40.

Gallaher, et al. (2001). BMC Microbiol 1 (1), 1.

Gallaher, W. R. y Garry, R. F. (2003). < www. virology. net/Articles/sars/s2model. html > 1 de mayo de 2003.

Gelder, et al (1995). J. Virol 69, 7497-7506

Gonzalez-Scarano et al. (1987). AIDS Res Hum Retrovirus. 3(3), 245-52.

Guan et al (2004).Lancet 363,99-104.

Guan et al, (2003). Science 302, 276-278.

Henderson, Coy y Garry, patente estadounidense número 5.567.805.

Jaysinghe et al (2000). Membrana Protein Explorer. www.blanco.biomol.cui.edu.mplex.

Johnson et al, (1987). J Infect Dis 155 (3), 456-64.

Kilby, et al, (1998). Nat Med 4 (11), 1302-7.

Kowalski, et al, (1991). J. Virol. 65,281-291.

Ksiazek, et al. (2003). N Engl J Med 348, 1953-66.

Lambert, et al. (1996). Proc Natl Acad Sci USA 93(5), 2186-91.

Liu et al, (2004). Lancet 363: 938-947.

Malashkevich, et al, (1999). Proc Natl Acad Sci USA 96(6), 2662-7.

Marra, et al, (2003). Science 300,1399-1404.

McCormick, et al (1986), N Engl J Med 314 (1), 20-6.

Monath et al, (1974). Science 185 (147), 263-5.

Murphy, F. A. y Whitfield, S. G. (1975). Bull World Health Organ 52(4-6), 409-19.

Owens et al, (1990). AIDS Res Hum Retrovirus 6(11), 1289-96.

Peiris, et al, (2003). Lancet 361,1319-25.

Pozniak, A. (2001). J HIV Ther 6(4), 91-4.

Poutanen et al, (2003). New England J Med 348, 1995-2005.

Qureshi, et al, (1990). AIDS 4, 553-558.

Richardson, et al, (1980). Virology 105(1), 205-22.

Rota, et al, (2003). Science, 300,1394-1399.

Silburn, et al, (1998). AIDS Res Hum Retrovirus 14(5), 385-92.

Sodroski, et al, (1999). Cell 99(3), 243-6.

Suarez, et al (2000). J Virol 74(17), 8038-47.

Watanabe, et al, (2000). J Virol 74(21), 10194-201.

Weissenhorn, W. (1998). Mol Cell 2(5), 605-16.

Weissenhorn, et al, (1997). Nature 387 (6631), 426-30.

Wild et al, (1993). AIDS Research & Human Retroviruses 9 (11), 1051-3.

Wild, et al, (1992). Proc Natl Acad Sci USA 89(21),10537-41.

Wilson et al, (1981). Nature 289(5796), 366-73.

Young et al, (1999). J Virol 73 (7), 5945-56.

Yuan et al, (2004). Biochem. Biophys. Res. Commun. 319: 746-752.

Zhu et al, (2004). Biochem. Biophys. Res. Commun. 319: 283-288.

Lista de secuencias

<110> Garry, Jr., Robert F. Wilson, Russell B.

<120> MÉTODO PARA PREVENIR LA FUSIÓN VIRUS:CÉLULA MEDIANTE LA INHIBICIÓN DE LA FUNCIÓN DE LA REGIÓN DE INICIACIÓN DE LA FUSIÓN EN VIRUS DE ARN QUE TIENEN PROTEÍNAS DE LA ENVUELTA FUSOGÉNICAS DE MEMBRANA DE CLASE I

<130> 12920.0013.00PC00

<150> Documento US 60/517.181
<151> 04-11-2003

<160> 31

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1
<211> 39

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 1

Leu Ile Met Lys Asn His Leu Arg Asp Ile Met Gly Ile Pro Tyr Cys
1 5 10 15

Asn Tyr Ser Arg Tyr Trp Tyr Leu Asn His Thr Ser Thr Gly Lys Thr
20 25 30

Leu Pro Arg Cys Trp Leu Ile
35

<210> 2
<211> 100
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 2

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala Thr
1 5 10 15

Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp Phe Cys
20 25 30

Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ala Ala Pro His Gly
35 40 45

Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ser Gln Glu Arg Asn Phe
50 55 60

Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Glu Gly Lys Ala Tyr Phe Pro Arg
65 70 75 80
Glu Gly Val Phe Val Phe Asn Gly Thr Ser Trp Phe Ile Thr Gln Arg
85 90 95

Asn Phe Phe Ser
100

<210> 3
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 3

Leu Arg Thr Phe Ser Ile Leu Asn Arg Lys Ala Ile Asp Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Arg Trp Gly Gly Thr Cys His Ile Leu Gly Pro Asp Cys Cys Ile
20 25 30

<210> 4
<211> 43
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 4

```
Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys Ile Asp Leu Trp
1               5                   10                  15

Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn Gln His Thr Ile
            20                  25                  30

Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe
        35                  40
```

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 5

```
Leu Gly Leu Lys Leu Leu Arg Tyr Tyr Thr Glu Ile Leu Ser Leu Phe
1               5                   10                  15

Gly
```

<210> 6
<211> 94
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 6

```
Trp Tyr Thr Thr Val Pro Lys Tyr Val Ala Thr Gln Gly Tyr Leu Ile
1               5                   10                  15

Ser Asn Phe Asp Glu Ser Ser Cys Thr Phe Met Pro Glu Gly Thr Val
            20                  25                  30

Cys Ser Gln Asn Ala Leu Tyr Pro Met Ser Pro Leu Leu Gln Glu Cys
        35                  40                  45

Leu Arg Gly Ser Thr Lys Ser Cys Ala Arg Thr Leu Val Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Phe Gly Asn Arg Phe Ile Leu Ser Gln Gly Asn Leu Ile Ala Asn Cys
65                  70                  75                  80

Ala Ser Ile Leu Cys Lys Cys Tyr Thr Thr Gly Thr Ile Ile
                85                  90
```

<210> 7
<211> 57
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 7

Leu Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln
1 5 10 15

Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala
20 25 30

Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile Trp
35 40 45

Asn His Thr Thr Trp Met Glu Trp Asp
50 55

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 8

Ile Leu Asn Arg Lys Ala Ile Asp Phe
1 5

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 9

Cys His Ile Leu Gly Pro Asp Cys
1 5

<210> 10
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 10

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

Cys Cys Ile

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 11

Leu Lys Leu Leu Arg Tyr Tyr Thr Glu
1 5

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 12

Cys Thr Phe Met Pro Glu Gly Thr Val Cys
1 5 10

<210> 13
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 13

Trp Tyr Thr Thr Val Pro Lys Tyr Val Ala Thr Gln Gly Tyr Leu Ile
1 5 10 15

Ser Asn Phe

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 14

Cys Leu Arg Gly Ser Thr Lys Ser Cys
1 5

<210> 15
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 15

Thr Leu Val Ser Gly Ser Phe Gly Asn Arg Phe Ile Leu Ser Gln Gly
1 5 10 15

Asn Leu Ile Ala Asn Cys Ala Ser Ile Leu Cys Lys Cys Tyr Thr Thr
20 25 30

Gly Thr Ile Ile
35

<210> 16
<211> 234
<212> PRT
<213> VIRUS DE LASSA

<400> 16

Leu Leu Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu Ser Asp Ser Glu Gly Asn Glu
1 5 10 15

Thr Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Arg Trp Met Leu Ile Glu Ala Glu
20 25 30

Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val Ala Lys Cys Asn Glu Lys His
35 40 45

Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg Leu Phe Asp Phe Asn Lys Gln
50 55 60

Ala Ile Arg Arg Leu Lys Thr Glu Ala Gln Met Ser Ile Gln Leu Ile
65 70 75 80

Asn Lys Ala Val Asn Ala Leu Ile Asn Asp Gln Leu Ile Met Lys Asn
85 90 95

His Leu Arg Asp Ile Met Gly Ile Pro Tyr Cys Asn Tyr Ser Arg Tyr
100 105 110

Trp Tyr Leu Asn His Thr Ser Thr Gly Lys Thr Ser Leu Pro Arg Cys

115 120 125

Trp Leu Ile Ser Asn Gly Ser Tyr Leu Asn Glu Thr Lys Phe Ser Asp
130 135 140

Asp Ile Glu Gln Gln Ala Asp Asn Met Ile Thr Glu Met Leu Gln Lys
145 150 155 160

Glu Tyr Ile Asp Arg Gln Gly Lys Thr Pro Leu Gly Leu Val Asp Leu
165 170 175

Phe Val Phe Ser Thr Ser Phe Tyr Leu Ile Ser Ile Phe Leu His Leu
180 185 190

Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile Val Gly Lys Pro Cys Pro Lys
195 200 205

Pro His Arg Leu Asn His Met Gly Ile Cys Ser Cys Gly Leu Tyr Lys
210 215 220

Gln Pro Gly Val Pro Val Arg Trp Lys Arg
225 230

<210> 17
<211> 388
<212> PRT
<213> VIRUS DE SARS

<400> 17

Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln
1 5 10 15

Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val Leu Tyr
20 25 30

Glu Asn Gln Lys Gln Ile Ala Asn Gln Phe Asn Lys Ala Ile Ser Gln
35 40 45

Ile Gln Glu Ser Leu Thr Thr Thr Ser Thr Ala Leu Gly Lys Leu Gln
50 55 60

Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val Lys Gln
65 70 75 80

Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp Ile Leu
85 90 95

Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg Leu Ile
100 105 110

Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln Leu Ile
115 120 125

Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala Thr Lys Met
130 135 140

Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys
145 150 155 160

Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ala Ala Pro His Gly Val Val
165 170 175

Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ser Gln Glu Arg Asn Phe Thr Thr
180 185 190

Ala Pro Ala Ile Cys His Glu Gly Lys Ala Tyr Phe Pro Arg Glu Gly
195 200 205

Val Phe Val Phe Asn Gly Thr Ser Trp Phe Ile Thr Gln Arg Asn Phe
210 215 220

Phe Ser Pro Gln Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn
225 230 235 240

Cys Asp Val Val Ile Gly Ile Ile Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu
245 250 255

Gln Pro Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys
260 265 270

Asn His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn
275 280 285

Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
290 295 300

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys
305 310 315 320

Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Val Trp Leu Gly Phe Ile
325 330 335

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Leu Leu Cys Cys Met
340 345 350

Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Ala Cys Ser Cys Gly Ser Cys
355 360 365

Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys Gly Val Lys
370 375 380

Leu His Tyr Thr
385

<210> 18
<211> 175
<212> PRT
<213> VIRUS DEL ÉBOLA

<400> 18

Glu Ala Ile Val Asn Ala Gln Pro Lys Cys Asn Pro Asn Leu His Tyr
1 5 10 15

Trp Thr Thr Gln Asp Glu Gly Ala Ala Ile Gly Leu Ala Trp Ile Pro
20 25 30

Tyr Phe Gly Pro Ala Ala Glu Gly Ile Tyr Thr Glu Gly Leu Met His
35 40 45

Asn Gln Asp Gly Leu Ile Cys Gly Leu Arg Gln Leu Ala Asn Glu Thr
50 55 60

Thr Gln Ala Leu Gln Leu Phe Leu Arg Ala Thr Thr Glu Leu Arg Thr
65 70 75 80

Phe Ser Ile Leu Asn Arg Lys Ala Ile Asp Phe Leu Leu Gln Arg Trp
85 90 95

Gly Gly Thr Cys His Ile Leu Gly Pro Asp Cys Cys Ile Glu Pro His
100 105 110

Asp Trp Thr Lys Asn Ile Thr Asp Lys Ile Asp Gln Ile Ile His Asp
115 120 125

Phe Val Asp Lys Thr Leu Pro Asp Gln Gly Asp Asn Asp Asn Trp Trp
130 135 140

Thr Gly Trp Arg Gln Trp Ile Pro Ala Gly Ile Gly Val Thr Gly Val
145 150 155 160

Ile Ile Ala Val Ile Ala Leu Phe Cys Ile Cys Lys Phe Val Phe
165 170 175

<210> 19
<211> 191
<212> PRT
<213> VIRUS INFLUENZA

<400> 19

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Thr
20 25 30

Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile
35 40 45

Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile Glu Lys Thr Asn Glu Lys Phe His
50 55 60

Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu
65 70 75 80

Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala
85 90 95

Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp
100 105 110

Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu
115 120 125

Asn Ala Glu Glu Met Gly Asn Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys
130 135 140

Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp
145 150 155 160

Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val
165 170 175

Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp Trp Arg Cys Asn Ile Cys Ile
180 185 190

<210> 20
<211> 438
<212> PRT
<213> VIRUS DEL SARAMPIÓN

<400> 20

Phe Ala Gly Val Val Leu Ala Gly Ala Ala Leu Gly Val Ala Thr Ala
1 5 10 15

Ala Gln Ile Thr Ala Gly Ile Ala Leu His Gln Ser Met Leu Asn Ser
20 25 30

Gln Ala Ile Asp Asn Leu Arg Ala Ser Leu Glu Thr Thr Asn Gln Ala
35 40 45

Ile Glu Ala Ile Arg Gln Ala Gly Gln Glu Met Ile Leu Ala Val Gln
50 55 60

Gly Val Gln Asp Tyr Ile Asn Asn Glu Leu Ile Pro Ser Met Asn Gln
65 70 75 80

Leu Ser Cys Asp Leu Ile Gly Gln Lys Leu Gly Leu Lys Leu Leu Arg
85 90 95

Tyr Tyr Thr Glu Ile Leu Ser Leu Phe Gly Pro Ser Leu Arg Asp Pro
100 105 110

Ile Ser Ala Glu Ile Ser Ile Gln Ala Leu Ser Tyr Ala Leu Gly Gly
115 120 125

Asp Ile Asn Lys Val Leu Glu Lys Leu Gly Tyr Ser Gly Gly Asp Leu
130 135 140

Leu Gly Ile Leu Glu Ser Arg Gly Ile Lys Ala Arg Ile Thr His Val
145 150 155 160

Asp Thr Glu Ser Tyr Phe Ile Val Leu Ser Ile Ala Tyr Pro Thr Leu
165 170 175

Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Arg Leu Glu Gly Val Ser Tyr
180 185 190

Asn Ile Gly Ser Gln Glu Trp Tyr Thr Thr Val Pro Lys Tyr Val Ala
195 200 205

Thr Gln Gly Tyr Leu Ile Ser Asn Phe Asp Glu Ser Ser Cys Thr Phe
210 215 220

Met Pro Glu Gly Thr Val Cys Ser Gln Asn Ala Leu Tyr Pro Met Ser
225 230 235 240

Pro Leu Leu Gln Glu Cys Leu Arg Gly Ser Thr Lys Ser Cys Ala Arg
245 250 255

Thr Leu Val Ser Gly Ser Phe Gly Asn Arg Phe Ile Leu Ser Gln Gly
260 265 270

Asn Leu Ile Ala Asn Cys Ala Ser Ile Leu Cys Lys Cys Tyr Thr Thr
275 280 285

Gly Thr Ile Ile Asn Gln Asp Pro Asp Lys Ile Leu Thr Tyr Ile Ala
290 295 300

Ala Asp His Cys Pro Val Val Glu Val Asn Gly Val Thr Ile Gln Val
305 310 315 320

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

Gly Pro Pro Ile Ser Leu Glu Arg Leu Asp Val Gly Thr Asn Leu Gly
340 345 350

Asn Ala Ile Ala Lys Leu Glu Asp Ala Lys Glu Leu Leu Glu Ser Ser
355 360 365

Asp Gln Ile Leu Arg Ser Met Lys Gly Leu Ser Ser Thr Ser Ile Val
370 375 380

Tyr Ile Leu Ile Ala Val Cys Leu Gly Gly Leu Ile Gly Ile Pro Ala
385 390 395 400

Leu Ile Cys Cys Cys Arg Gly Arg Cys Asn Lys Lys Gly Glu Gln Val
405 410 415

Gly Met Ser Arg Pro Gly Leu Lys Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ser Lys
420 425 430

Ser Tyr Val Arg Ser Leu
435

<210> 21
<211> 199
<212> PRT
<213> VIH

<400> 21

Ala Val Gly Ile Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln
20 25 30

Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile
35 40 45

Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln
50 55 60

Leu Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln
65 70 75 80

Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala
85 90 95

Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile Trp
100 105 110

Asn His Thr Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr
115 120 125

Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys
130 135 140

Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala Ser Leu Trp Asn
145 150 155 160
Trp Phe Asn Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Leu Phe Ile Met
165 170 175

Ile Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Leu Ser
180 185 190

Ile Val Asn Arg Val Arg Gln
195

<210> 22
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 22

Gly Asn His Ile Leu Ser Leu Val Gln Asn Ala Pro Tyr Gly Leu Tyr
1 5 10 15

Phe Ile His Phe Ser Trp
20

<210> 23
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 23

Gly Tyr Phe Val Gln Asp Asp Gly Glu Trp Lys Phe Thr Gly Ser Ser
1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr

<210> 24
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 24

Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ala Ala Pro His Gly Val Val
1 5 10 15

Phe Leu His Val Thr Tyr
20

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 25

Gly Val Phe Val Phe Asn Gly Thr Ser Trp Phe Ile Thr Gln Arg Asn
1 5 10 15

Phe Phe Ser

<210> 26
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 26

Met Phe Pro Pro Trp Ser Ala Ala Ala Gly Val Pro Phe Ser Leu Ser
1 5 10 15

Val Gln Tyr

<210> 27
<211> 26
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 27

Gln Asp Ala Ile Lys Lys Leu Asn Glu Ser Tyr Ile Asn Leu Lys Glu
1 5 10 15

Val Gly Thr Tyr Glu Met Tyr Val Lys Trp
20 25

<210> 28
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 28

Met Tyr Lys Thr Pro Thr Leu Lys Tyr Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser
1 5 10 15

Gln Ile Leu

<210> 29
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 29

Ala Ala Cys Glu Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu
1 5 10 15

Gln Glu Leu Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp
20 25

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 30

Asn Tyr Ser Lys Tyr Trp Tyr Leu Asn His Thr Thr Thr Gly Arg
1 5 10 15

<210> 31
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 31

Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu Ser Asp Ser Glu Gly Lys Asp Thr Pro
1 5 10 15

Gly Gly Tyr

REIVINDICACIONES

1. Péptido aislado seleccionado del grupo que consiste en:

(a) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEQ ID NO: 3;

(b) un péptido que consiste en 8 o más residuos de aminoácido contiguos de SEQ ID NO: 3; y

(c) un análogo peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEQ ID NO: 3 que incluye una o más sustituciones de aminoácido conservativas;

para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus.

2. Péptido según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, que incluye un grupo acetilo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo amino-terminal del péptido.

3. Péptido según la reivindicación 1 o reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, que incluye un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo carboxilo-terminal del péptido.

4. Péptido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, siendo la infección por filovirus una infección por virus del Ébola.

5. Uso de un péptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente.

6. Uso según la reivindicación 5, en el que la infección por filovirus es una infección por virus del Ébola.

7. Molécula de ADN recombinante que codifica para un péptido según la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus.

8. Uso de una molécula de ADN recombinante que permite que, o estimula a, un paciente para que produzca el péptido según la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente.

9. Uso según la reivindicación 8, en el que la infección por filovirus es una infección por virus del Ébola.

10. Agente de inhibición de la fusión viral que comprende un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en de 8 a 50 residuos de aminoácido para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, en el que el péptido comprende una secuencia de aminoácidos de un péptido según la reivindicación 1.

11. Agente de inhibición de la fusión viral según la reivindicación 10, para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, que incluye un grupo acetilo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxicarbonilo, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo amino-terminal del mismo.

12. Agente de inhibición de la fusión viral según la reivindicación 10, para su uso en el tratamiento de una infección por filovirus, que incluye un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo macromolecular en el extremo carboxilo-terminal del mismo.

13. Uso de un agente de inhibición de la fusión viral según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, para la preparación de un medicamento para tratar una infección por filovirus en un paciente.

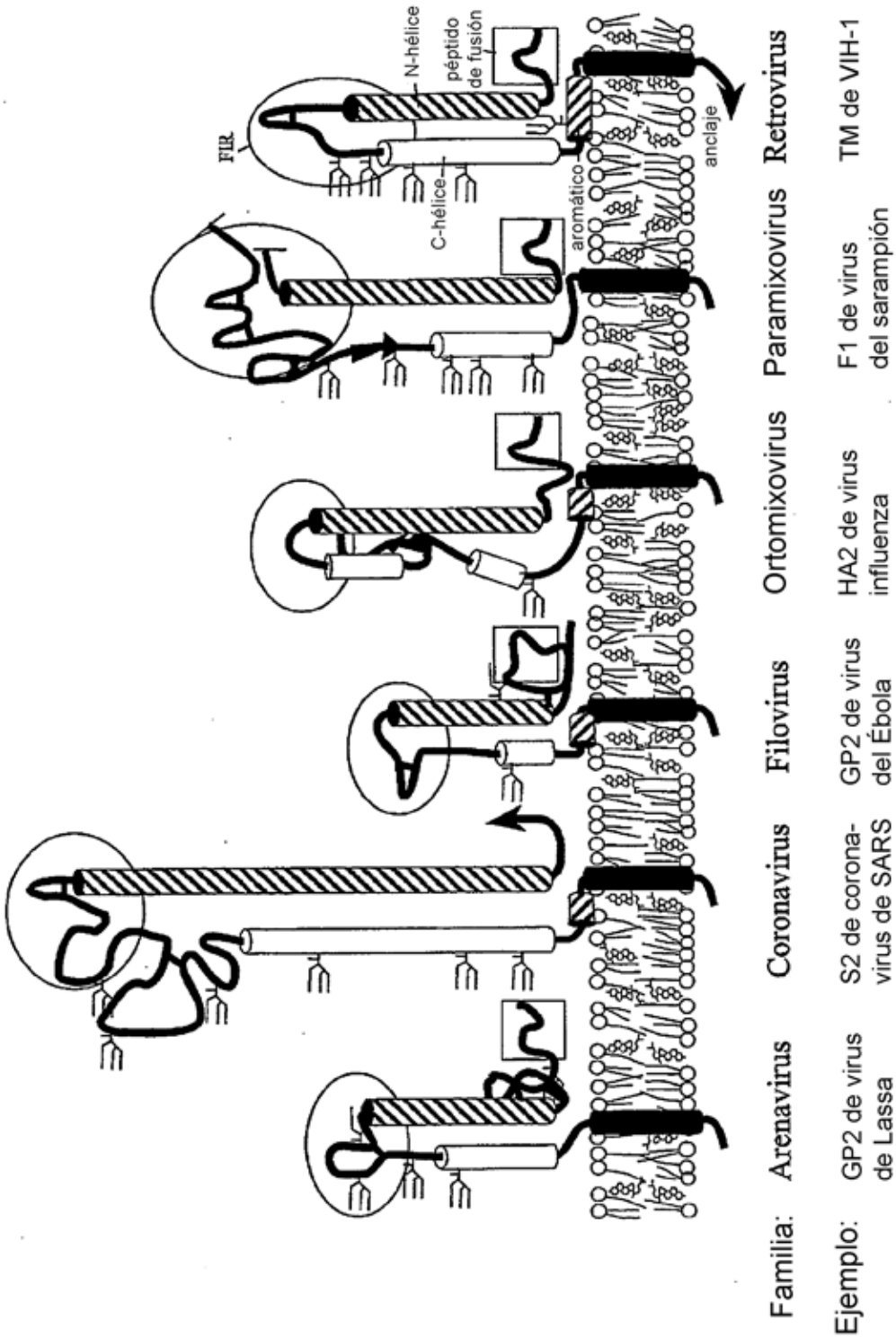
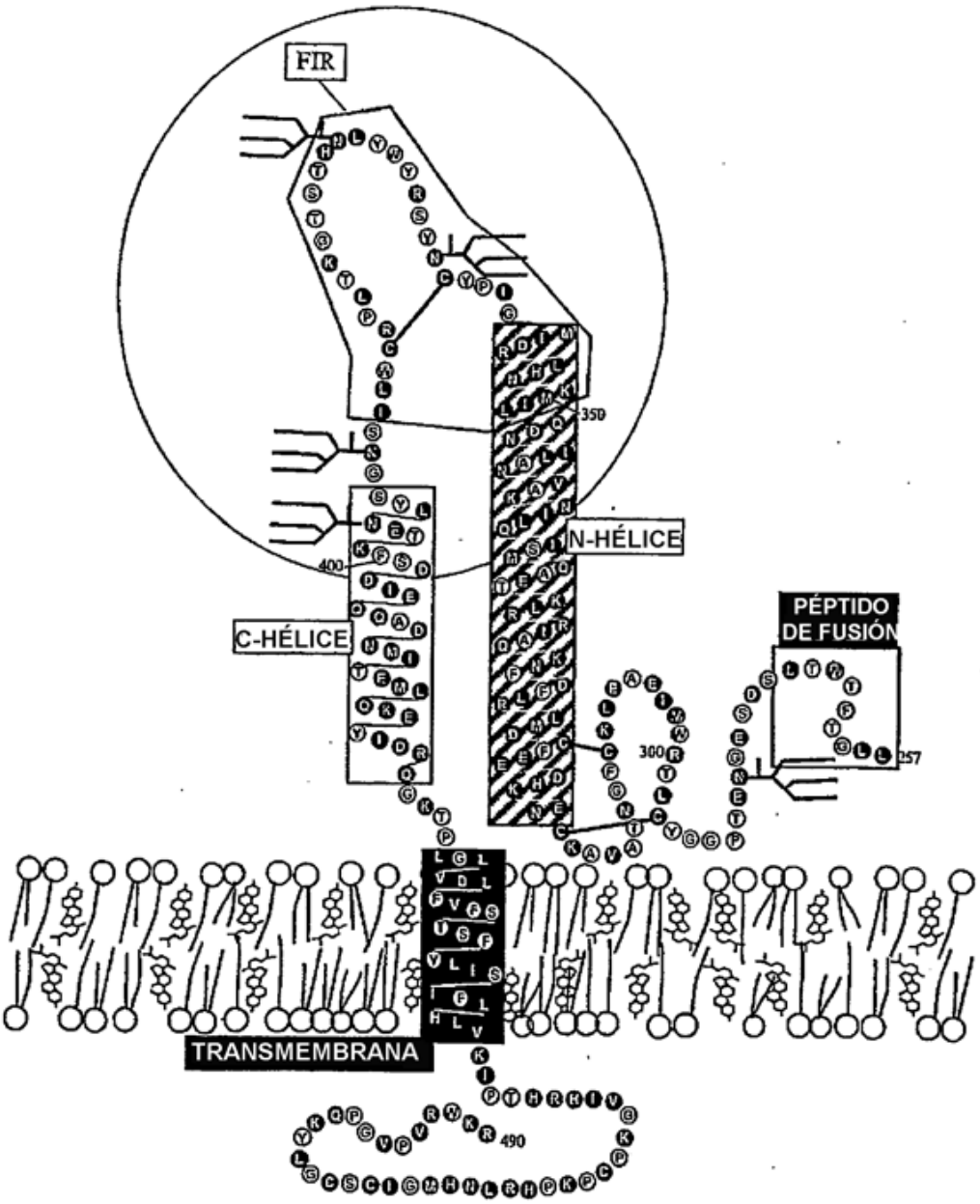
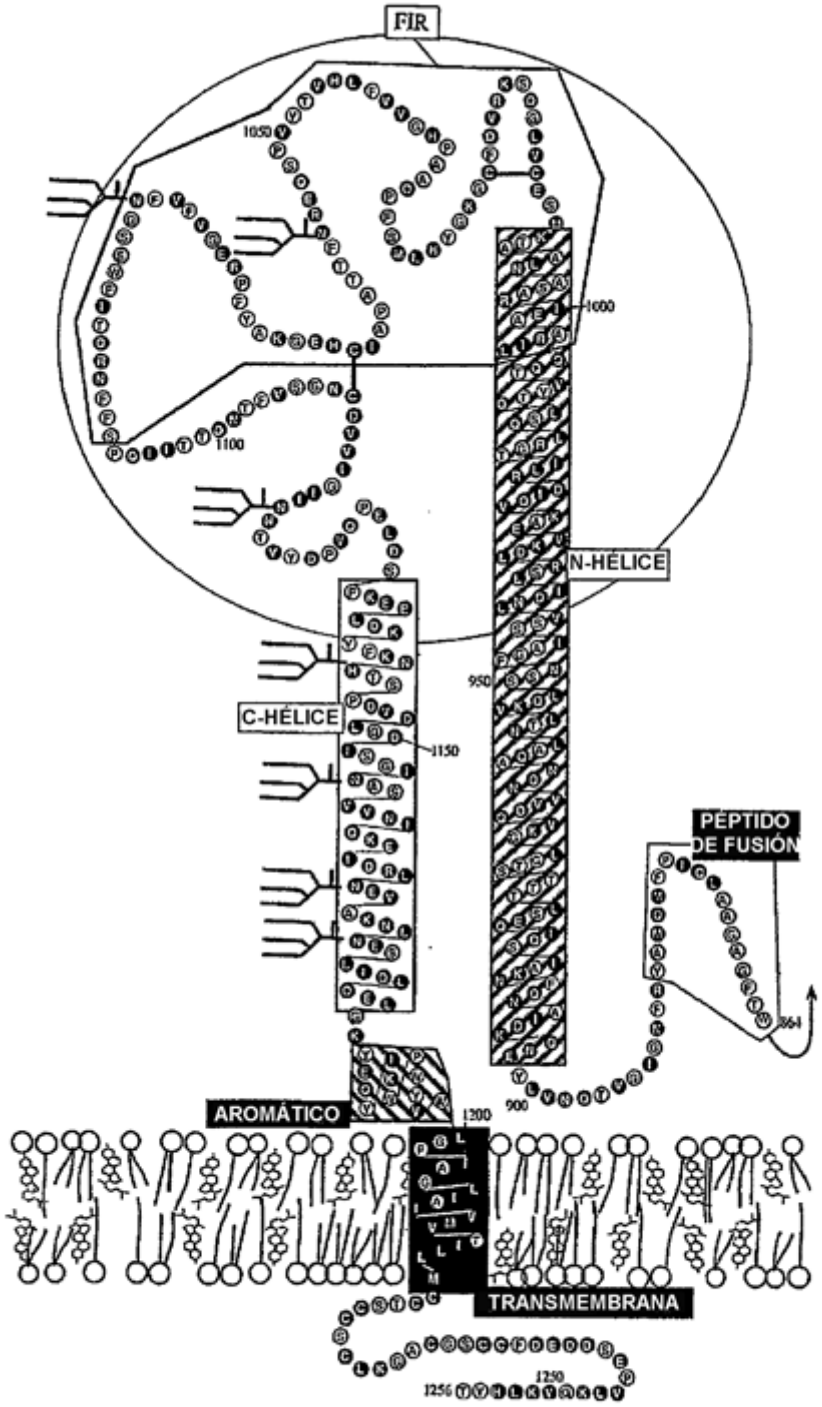

FIR
N-hélice
péptido de fusión
C-hélice
aromático
anclaje
Familia:
Arenavirus
Coronavirus
Filovirus
Ortomixovirus
Paramixovirus
Retrovirus
Ejemplo:
GP2 de virus de Lassa
S2 de corona-virus de SARS
GP2 de virus del Ébola
HA2 de virus influenza
F1 de virus del sarampión
TM de VIH-1

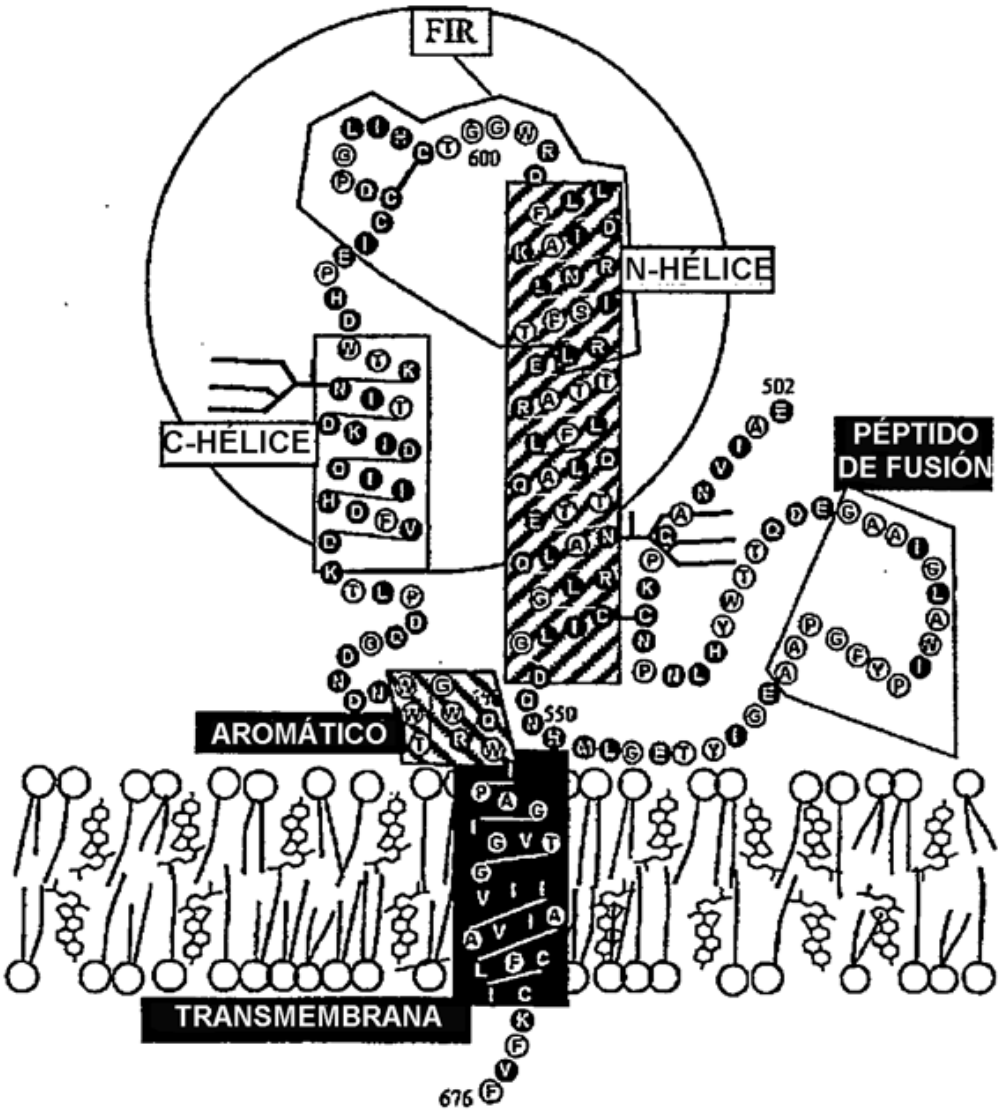
Figura 1



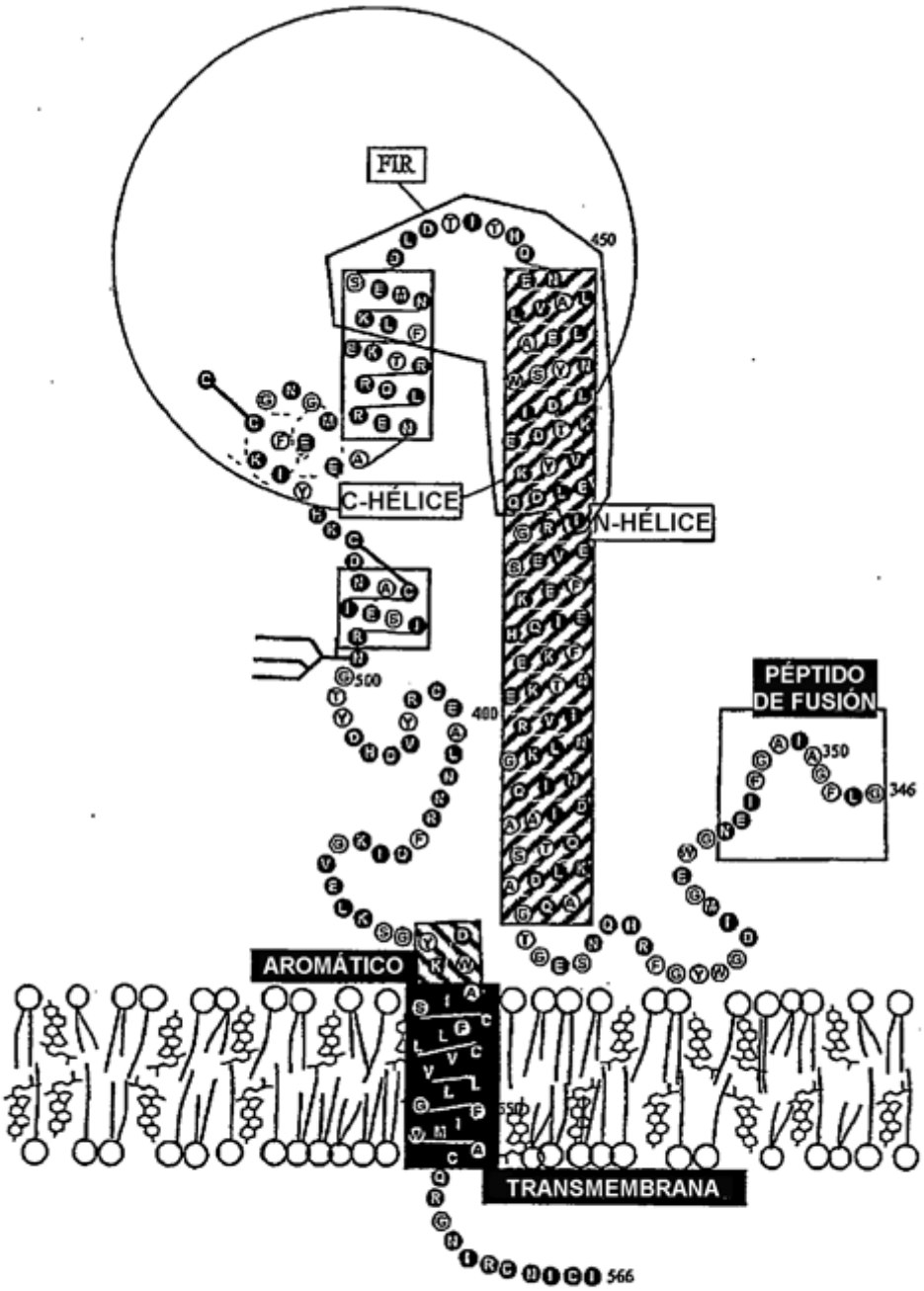
GP2 de virus de Lassa
Figura 2



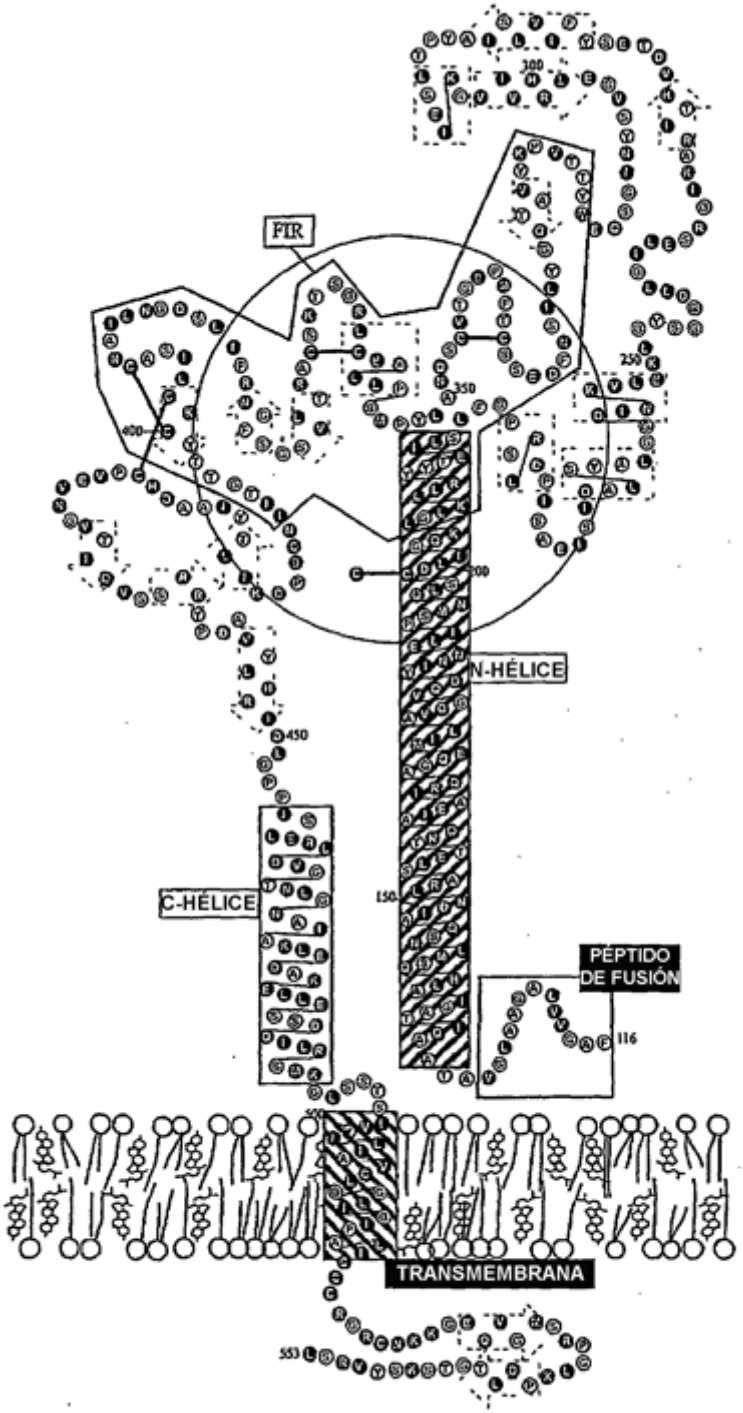
S de CoV de SARS
Figura 3



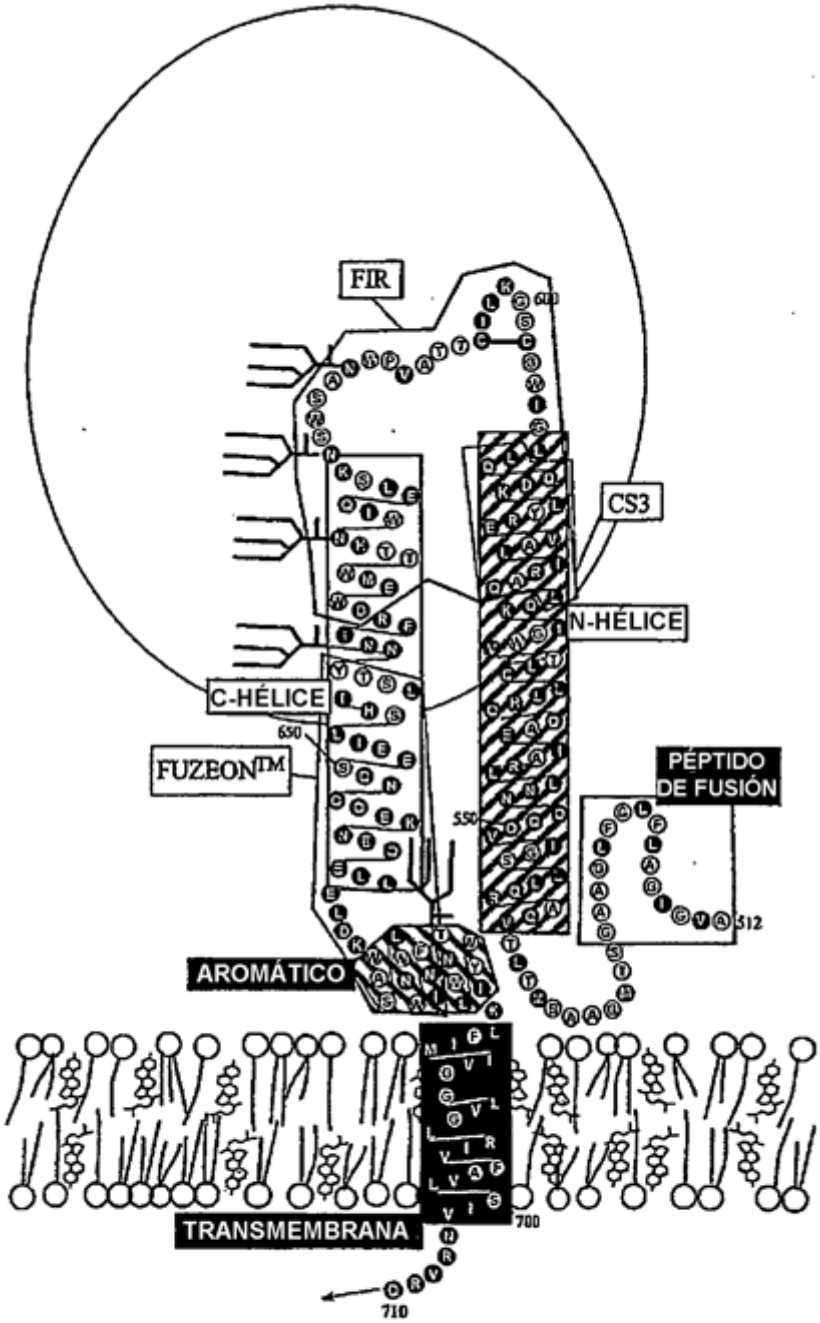
GP2 de virus del Ébola
Figura 4



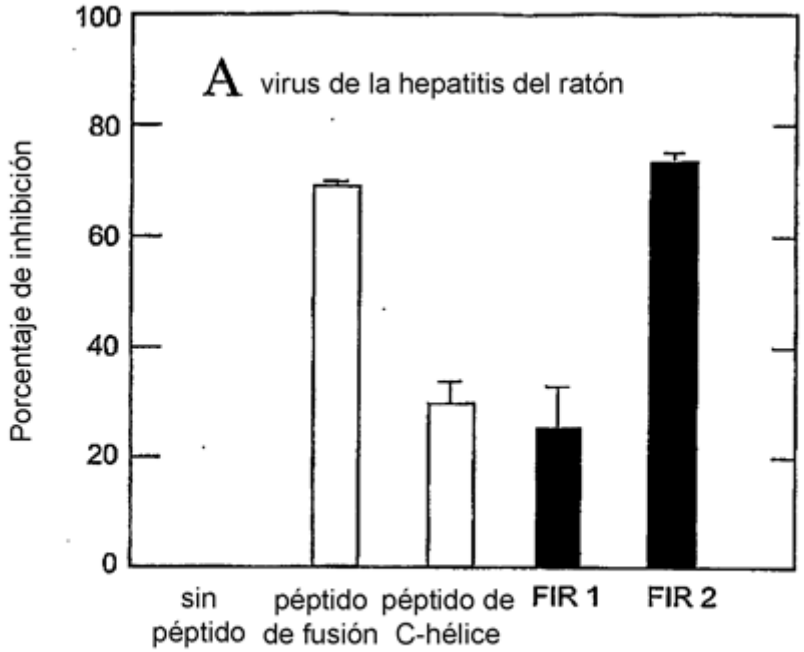
HA2 de virus influenza
Figura 5



F1 de virus del sarampión
Figura 6



TM de VIH-1
Figura 7


A virus de la hepatitis del ratón
Porcentaje de inhibición
100
80
60
40
20
0
sin péptido
péptido de fusión
péptido de C-hélice
FIR 1
FIR 2

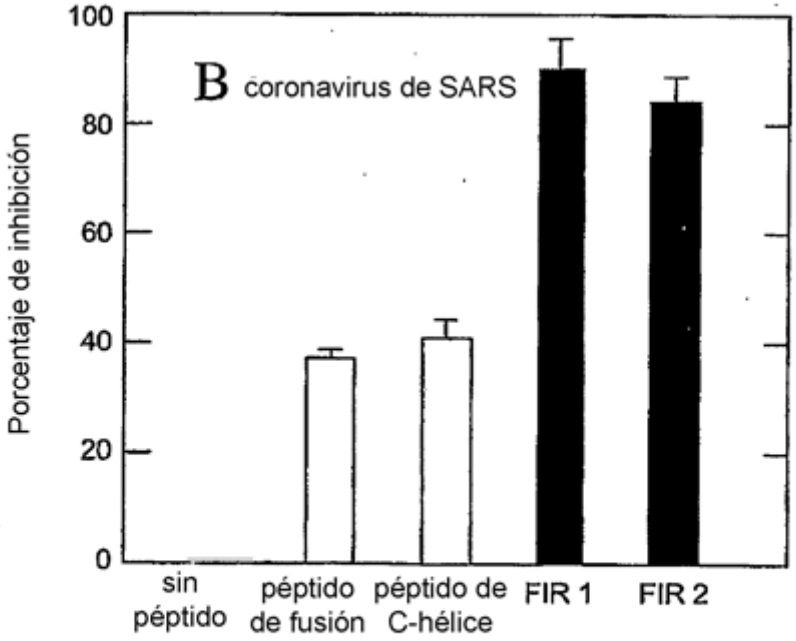

B coronavirus de SARS
Porcentaje de inhibición
100
80
60
40
20
0
sin péptido
péptido de fusión
péptido de C-hélice
FIR 1
FIR 2

Figura 8

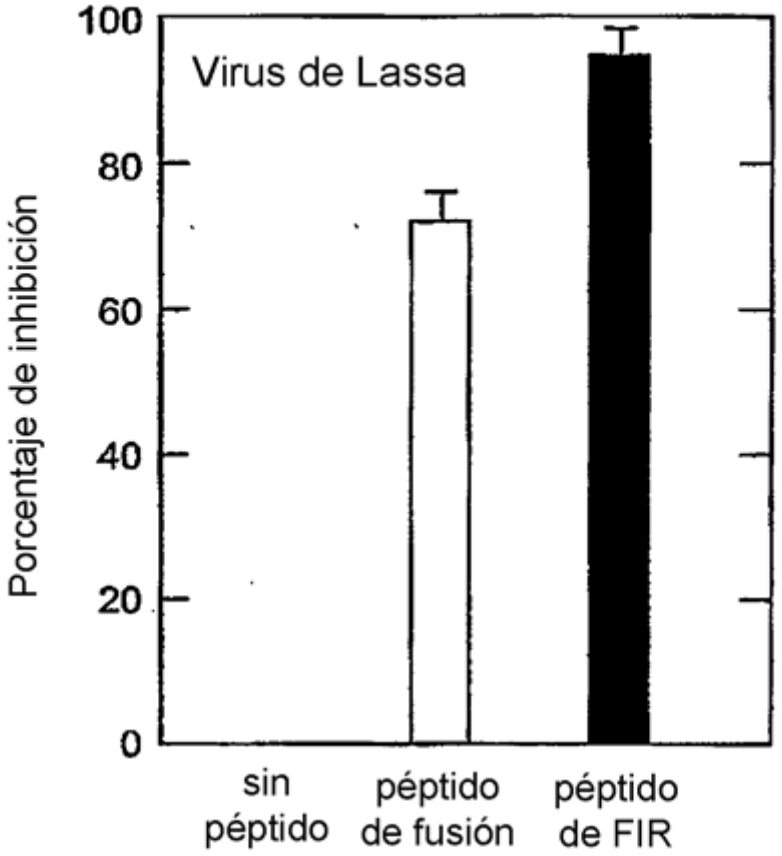

Virus de Lassa
Porcentaje de inhibición
100
80
60
40
20
0
sin péptido
péptido de fusión
péptido de FIR

Figura 9