

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 858**

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 10182056 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2013 EP 2261378**

54 Título: **Método para impedir la fusión virus:célula inhibiendo la función de la región de inicio de fusión en virus de ARN que tienen proteínas de envoltura 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:
14.01.2014

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 2 437 858 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 impedir la fusión virus:célula inhibiendo la función de la región de inicio de fusión en virus de ARN que tienen proteínas de envoltura fusogénicas de membrana de clase I

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE.UU. de número de serie 60/517181 presentada el 4 de noviembre de 2003.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a péptidos para su uso en la prevención o inhibición de infección vírica por un paramixovirus de una célula (evitando por lo tanto la entrada del genoma vírico dentro del citoplasma celular, una etapa requerida para infección vírica). La presente invención proporciona composiciones y usos de las mismas en la prevención de infección por un paramixovirus interfiriendo con su región de inicio de fusión (FIR).

Introducción

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

La fusión de la membrana vírica y la envoltura celular, etapas (b) y (c) anteriores, está mediada por la interacción de una glucoproteína transmembrana vírica (proteína de fusión) con proteínas de superficie y membranas de la célula objetivo. Estas interacciones causan cambios conformacionales en la proteína de fusión que dan como resultado la inserción de un péptido de fusión vírico dentro de la membrana de la célula objetivo. Esta inserción está seguida por cambios conformacionales adicionales en la proteína de fusión que llevan a proximidad cercana a la envoltura celular y a las membranas celulares y que dan como resultado la fusión de las dos bicapas membranosas.

Un virus es incapaz de dispersarse y propagarse dentro de su hospedador si este proceso de fusión está alterado. La alteración intencionada de este proceso de fusión se puede lograr dirigiendo 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 virus de ARN de clase I prototípica y contiene un dominio hidrófobo aminoterminal, referido como el 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 diversas familias incluyendo arenavirus, coronavirus, filovirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus, comparten varias características estructurales comunes con HA2 y se han referido como proteínas de fusión vírica de clase I. Se ha observado que la proteína de fusión del VIH-1, la glucoproteína transmembrana y otras proteínas transmembrana retrovíricas, como aquellas de los ortomixovirus y paramixovirus, poseen un dominio peptídico de fusión hidrófoba expuesto durante la escisión de un precursor (gp160) (Gallagher, 1987; Gonzalez-Scarano y cols., 1987). En base a estas similitudes y a algoritmos de ordenador que predicen configuraciones de proteínas, se ha sugerido (Gallagher y cols., 1989) que la parte externa (ectodominio, extremo amino) de la proteína transmembrana de VIH-1 y las proteínas transmembrana de otros retrovirus, podrían ajustarse todas al armazón de estructura de HA2 según se determina por cristalografía de rayos X (Wilson, Skehel y Wiley, 1981).

En base a estas observaciones, se predijo que las proteínas retrovíricas transmembrana contengan varias características estructurales además del péptido de fusión en común con la estructura conocida de HA2, incluyendo una hélice aminoterminal expandida (hélice N, normalmente una "héptada repetitiva" o "cremallera de leucina"), una hélice carboxiloterminal (hélice C) y un resto aromático proximal al dominio transmembrana. La presencia de al menos cuatro de estos cinco dominios define a una proteína de envoltura vírica como una proteína de fusión de clase I. Este modelo de proteínas transmembrana retrovíricas se confirmó subsiguientemente por determinaciones estructurales y análisis mutacionales (Chan y cols., 1997; Kowalski y cols., 1991; Weissenhorn y cols., 1997). Están presentes restos estructurales comunes no solo en proteínas de fusión de ortomixovirus y retrovirus, sino también en aquellas de paramixovirus, filovirus (tales como virus Ébola, EboV) (Gallagher, 1996) y arenavirus (Gallagher, DiSimone y Buchmeier, 2001). El modelo estructural de Gallagher de la proteína de fusión EboV (GP2) se ha confirmado también por métodos cristalográficos de rayos x (Malashkevich y cols., 1999; Weissenhorn y cols., 1998).

La figura 1 muestra los cinco dominios, previamente descritos, de las proteínas de fusión de las seis familias de los

virus de tipo I. Las proteínas de fusión se originan en un péptido de fusión hidrófoba, terminan en un péptido ancla e incorporan una hélice alfa aminoterminal expandida (hélice N, usualmente una "héptada repetitiva" o una "cremallera de leucina") una hélice alfa carboxiterna (hélice C) (Carr y Kim, 1993; Suárez y cols., 2000; Wilson, Skehel y Wiley, 1981) y algunas veces un resto aromático proximal a la envoltura del virión. También se muestra el sexto dominio, la región de inicio de la fusión (FIR), descubierta por los autores de la presente invención.

Inhibición de la fusión en los virus de tipo I

Los intentos anteriores por los autores de la presente invención (Garry) y otros para diseñar péptidos y peptidomiméticos, anticuerpos y otros factores que inhiban la fusión en virus tipo I se han centrado en el péptido de fusión, la hélice N y la hélice C de las proteínas de fusión. En el caso de los péptidos de fusión, se ha encontrado que análogos de los ortomixovirus y paramixovirus (Richardson, Scheid y Choppin, 1980) y dominios de péptidos de fusión (Gallagher y cols., 1992; Owens y cols., 1990; Silburn y cols. 1998), bloquean la infección vírica, presumiblemente formando heteroagregados inactivos. Se ha encontrado que los péptidos correspondientes a partes de la hélice N y la hélice C son efectivos en inhibir infección vírica tanto *in vitro* como *in vivo*. Por ejemplo, un péptido de 17 aminoácidos correspondiente a la parte carboxiterna de la hélice N de la proteína de fusión del VIH-1, definida como la región CS3, bloqueó la infección con VIH (Qureshi y cols., 1990). Además, otros péptidos inhibidores de hélice N y hélice C se desarrollaron en base al modelo estructural de proteína de fusión (Wild, Greenwell y Matthews, 1993; Wild y cols., 1992), incluyendo el fármaco peptídico anti-VIH-1 de hélice C DP 178 (T-20 o FUZEON®). DP 178 se solapa con la hélice C y el dominio proximal de anclaje aromático e inhibe la fusión del virión de VIH-1: célula a concentraciones muy bajas (inhibición del 50% a 1,7 nM) alcanzables *in vivo* tras la inyección. En un ensayo clínico, 100 mg/día de DP178 causaron una reducción de aproximadamente 100 veces en la carga de VIH-1 en plasma de individuos infectados (Kilby y cols., 1998). Este resultado ha motivado ampliamente la búsqueda de otros péptidos inhibidores de VIH-1 en base a la estructura de proteínas transmembrana (Pozniak, 2001; Sodroski, 1999). Los inhibidores peptídicos de paramixovirus han mostrado también inhibir la replicación vírica (Lambert y cols., 1996; Young y cols., 1999). Los estudios por Watanabe y colaboradores sugieren que un enfoque similar de marcar como objetivo la hélice N y la hélice C de EboV GP2 puede conducir también a inhibidores útiles (Watanabe y cols., 2000). Anticuerpos neutralizantes dirigidos contra partes de los dominios de la proteína de fusión han mostrado también inhibición de la fusión virión:célula.

Observaciones en VIH-1

Se ha dedicado un gran acuerdo de estudio a la inhibición de la fusión del virus de la inmunodeficiencia humana VIH-1, uno de los virus de ARN de tipo I. Bolognesi y cols. (documento 5.464.933) y los autores de la presente invención (Garry, documento USPN 5.567.805) enseñan que la matanza de células mediada por VIH se puede inhibir introduciendo péptidos que se unan a partes de la proteína de fusión transmembrana del virión de VIH-1. La región de unión a DP178 de Bolognesi, FUZEON® en la figura 7, se encuentra principalmente en la hélice C y está fuera de lo que se describe en la presente solicitud en la región de inicio de fusión (FIR). Bolognesi demuestra la inhibición pero no enseña ningún método de inhibición. Los autores de la presente invención (Garry) demostraron previamente inhibición en la región CS3 de VIH-1 TM, marcada como CS3 en la figura 7, pero no identificaron ningún método de inhibición, sugiriendo solo que la interacción CS3:receptor de CS3 está inhibida. El inesperado descubrimiento de la FIR por los autores de la presente invención (como se describe actualmente en el presente documento) y el hecho de que las secuencias de CS3 estén dentro de la FIR indica que la unión de receptor CS3:CS3 descrita en el documento USPN 5.567.805 es de hecho unión que tiene lugar entre la parte CS3 de la FIR y partes de la membrana celular para las que la parte CS3 de la FIR tiene una afinidad. Además, aunque Melikyan, Watanabe, Bewley y otros han descrito inhibición de fusión con péptidos introducidos, no han explicado los mecanismos por los que tiene lugar la inhibición. Correspondientemente, la localización del péptido FUZEON® está distante de la FIR, lo que sugiere fuertemente que otros elementos del proceso de fusión operan en la región FUZEON®.

En vista de lo anterior, está claro que existe una necesidad en la técnica de un medio más efectivo para identificar aquellas regiones de virus que están implicadas en el proceso de infección y de composiciones efectivas para prevenir o inhibir infección vírica. La invención descrita y revelada en el presente documento proporciona una solución efectiva para estas necesidades.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un péptido inhibidor de la fusión vírica aislado seleccionado del grupo que consiste en:

- (a) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en la SEC ID N.º: 5;
- (b) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 8 o más residuos de aminoácidos contiguos de la SEC ID N.º: 5; y
- (c) un análogo peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en la SEC ID N.º: 5 que incluye una o más sustituciones aminoacídicas conservadoras y en las que la mayoría de los residuos del análogo son idénticos a la

secuencia de SEC ID N.º: 5;

para su uso en el tratamiento de una infección de paramixovirus. Un péptido tal para su uso en el tratamiento de una infección de paramixovirus puede incluir un grupo acetilo, un grupo carbobenzoxilo, un grupo dansilo, un grupo t-butoxicarbonilo, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo amino del péptido. El péptido según se define en cada realización puede incluir un grupo amido, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo carboxiterminal del péptido.

La infección de paramixovirus puede ser una infección con un virus del sarampión, o la infección con paramixovirus puede seleccionarse del grupo que consiste en paperas, moquillo y enfermedad de Newcastle.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona el uso de un péptido según se define de acuerdo con el primer aspecto de la invención para la preparación de un medicamento para tratar una infección con paramixovirus en un paciente. La infección de paramixovirus puede ser una infección con un virus del sarampión.

De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, se proporciona una molécula de ADN recombinante que permite o estimula a un paciente para producir el péptido según se define de acuerdo con el primer aspecto de la invención para tratar una infección de paramixovirus en un paciente.

Este aspecto incluye el uso de una molécula de ADN recombinante que permite o estimula a un paciente a producir el péptido según se define en el presente documento para la preparación de un medicamento para tratar una infección de paramixovirus en un paciente. La infección de paramixovirus puede ser una infección con un virus del sarampión.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la invención, se proporciona el uso de un agente inhibidor de la fusión vírica que comprende un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 8 a 50 residuos de aminoácidos para su uso en el tratamiento de una infección con paramixovirus, en la que el péptido comprende una secuencia de aminoácidos de un péptido del primer aspecto de la invención. El agente inhibidor de la fusión vírica según se define en este aspecto de la invención para su uso en el tratamiento de una infección de paramixovirus puede incluir un grupo acetilo, un grupo carbobencilo, un grupo dansilo, un grupo t-butiloxycarbonilo, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo carboxiterminal. La presente invención también incluye el uso de un agente inhibidor de la fusión vírica del cuarto aspecto de la invención para la preparación de un medicamento para tratar una infección de paramixovirus 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 actualmente identificadas que tienen proteínas de envoltura de fusión de membranas de clase I. Las proteínas de fusión de estos virus de tipo I se han mostrado previamente por los autores de la presente invención (Garry) y otros para incorporar cinco restos conservados, o dominios (Carr y Kim, 1993; Gallaher y cols., 1989; Suárez y cols., 2000; Wilson, Skehel y Wiley, 1981). Estos dominios comprenden un péptido de fusión, una hélice N, una hélice C y un resto aromático, todos los cuales son ectodominios y un péptido ancla que es un endodominio.

Usando análisis computacional, los modelos de estructura secundaria, los cálculos de hidrofobicidad de interfase y otras técnicas, los autores de la presente invención han hecho el sorprendente descubrimiento de un sexto dominio altamente conservado que está presente en las proteínas de fusión de una amplia diversidad de virus (el sexto dominio se describe en el presente documento). Los virus que poseen este dominio incluyen, pero no están limitados necesariamente a las seis clases de virus de ARN enumerados anteriormente. Para enfatizar la función crítica de este dominio recién identificado que es un ectodominio, el dominio se refiere en el presente documento como la región de inicio de fusión (FIR) de los virus.

Como se usa en el presente documento el término hélice alfa "expandida" se refiere a una hélice alfa que tiene más de cuatro "vueltas de hélice alfa" (específicamente, más de 14 aminoácidos).

Otras realizaciones estipulan "factores" que los autores de la presente invención han encontrado inesperadamente que son efectivos para prevenir o inhibir infección vírica y/o fusión virus:célula.

Como se usa en el presente documento el término "factores" incluye, pero no se limita a péptidos aislados o segmentos peptídicos funcionales (o análogos peptídicos de los mismos) de los dominios de región de inicio de fusión (FIR) recién descritos, peptidomiméticos ("péptidomimético" hace referencia a cualquier compuesto o sustancia que pueda servir como un sustituto de un péptido que interactúe con el FIR, que es cualquier compuesto que mimetice las propiedades de un segmento funcional del FIR), anticuerpos específicos para dominios FIR funcionales (por ejemplo anticuerpos idiotípicos o anti-idiotípicos) y otros compuestos moleculares que interfieren con unión virus:célula o con fusión virus:célula.

Como se usa en el presente documento el término "segmento funcional" o "fragmento funcional" de una región de inicio de fusión (FIR) se refiere a un fragmento capaz de inhibir la fusión virus:célula, inhibir infectividad vírica, capaz de estimular un anticuerpo capaz de reconocer y específicamente unirse a la FIR y/o interferir con la infección celular mediada por FIR.

Como se usa en el presente documento, se define preferentemente un "péptido análogo" o un "péptido modificado" como un péptido FIR modificado para contener un grupo amino, un grupo acetilo, un grupo hidrófobo (por ejemplo carbobenzoxilo, dansilo, o t-butiloxycarbonilo) o un grupo macromolecular transportador (por ejemplo conjugado lipídico, polietilenglicol, un carbohidrato o una proteína) en el extremo aminoterminal. Una clase adicional de análogos peptídicos de FIR contiene un grupo carboxilo, un grupo amido, un grupo hidrófobo o un grupo de transportadores macromoleculares en el extremo carboxiterminal. Otros análogos peptídicos se definen como péptidos de FIR en los que al menos un enlace que une residuos de aminoácidos 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 configuraciones de isómeros D o un péptido en el que el orden de los aminoácidos está invertido. Análogos de péptidos adicionales son péptidos de FIR que comprometen al menos una sustitución aminoacídica en la que un primer residuo de aminoácido está sustituido por un segundo residuo de aminoácido, diferente (la sustitución de aminoácidos puede ser una sustitución conservada o una sustitución no conservada). Como se usa en el presente documento, tales análogos peptídicos pueden comprender secuencias de aminoácidos análogas en las que las secuencias análogas contienen una mayoría de aminoácidos idénticos o químicamente similares en el mismo orden que las secuencias primarias.

Como se usa en el presente documento, el término "región de inicio de fusión" (FIR) generalmente se refiere a una región de una proteína de fusión vírica implicada en la etapa inicial o en las etapas iniciales de la infección vírica y/o de la fusión vírica con una célula huésped.

Como se usa en el presente documento el término "peptidomimético" incluye, pero no se limita a compuestos orgánicos o a otros productos químicos que mimetizan la estructura o función del péptido 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 armazón de carbono/nitrógeno o de enlaces peptídicos. Peptidomimético hace referencia también a compuestos que mimetizan la acción de estos grupos laterales funcionales con otros restos.

Otras moléculas, tales como anticuerpos idiotípicos o antiidiotípicos o proteínas seleccionadas por medio de métodos de presentación de fagos, que se unen a los péptidos, análogos peptídicos o peptidomiméticos descritos en la presente solicitud pueden funcionar también como inhibidores de la infección vírica y/o de la fusión virus:célula. También están contemplados por la presente invención plásmidos, o virus recombinantes, u otras moléculas o compuestos que permiten o estimulan al paciente para producir un análogo de los compuestos inhibidores. Por ejemplo, una proteína recombinante, producida en una célula bacteriana, fúngica o mamífera manipulada, puede usarse para producir un análogo inmunogénico de la FIR de una proteína de fusión vírica. De forma similar, se podría inducir una respuesta anti-idiotípica en el individuo usando una proteína manipulada que comprenda una secuencia correspondiente al sitio de unión de un anticuerpo específico de FIR.

Como se usa en el presente documento el término "péptido de fusión" se refiere preferentemente a una secuencia hidrófoba en o cerca del extremo aminoterminal de una proteína de fusión vírica de clase I (véase, Gallaher y cols., 1987; 1992).

Como se usa en el presente documento, el término péptido o análogo peptídico "sustancialmente purificado" se refiere preferentemente a un péptido o análogo peptídico que está más puro que aproximadamente al 80%. Más preferentemente, "sustancialmente purificado" hace referencia a un péptido o análogo peptídico que está más puro que aproximadamente al 90% o más puro que aproximadamente al 95%. Lo más preferentemente ello se refiere a un péptido o análogo peptídico que está más puro que al 96%, 97%, 98% o 99%. Funcionalmente, "sustancialmente purificado" significa que ello está libre de contaminantes en un grado que lo hace adecuado para los propósitos aquí proporcionados. Los métodos para evaluar pureza se conocen bien por aquellos de habilidad en la técnica. Los métodos adecuados incluyen, pero no se limitan a análisis por espectrometría de masas ligada a cromatografía de gases (GC), análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y ensayos funcionales en sistemas de cultivos celulares que, entre otras cosas, evalúan citotoxicidad.

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 las semividas biológicas de más de 60 minutos.

Como se usa en el presente documento el término "derivado peptídico" hace referencia a un péptido que tiene aminoácidos sustituidos diferentes de aquellos en la secuencia FIR de una proteína de fusión vírica. En el que las sustituciones no vuelven al péptido útil para la presente invención.

Según diversos aspectos de la presente realización de la invención los péptidos, secuencias de ácidos nucleicos aisladas o anticuerpos pueden producirse por cualesquiera métodos conocidos en la técnica, incluyendo, pero no

limitados a, síntesis químicas, métodos de ADN recombinantes y combinaciones de los mismos.

Según se define en el presente documento, la presente invención proporciona composiciones y usos para tratar o prevenir la infección por paramixovirus. Uno de los posibles mecanismos por los que la presente invención puede prevenir y/o inhibir infección es interfiriendo con 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 las seis familias víricas (a saber, arenavirus, coronavirus, filovirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus). Los círculos en la figura 1 muestran la localización aproximada de la FIR en cada virus ilustrado.

Las figuras 2 a 7 muestran las secuencias de aminoácidos de estas proteínas de fusión (que corresponden a SEC ID N.ºs: 16-21, respectivamente) y una representación esquemática de sus estructuras ectópicas. Están específicamente mostrados los cinco dominios descritos anteriormente como el péptido de fusión, es decir, la hélice N, la hélice C, el resto aromático (si está presente) y el péptido ancla. El sexto dominio recién descubierto, la región de inicio de fusión, o FIR está identificado también. Cada FIR está indicado por un polígono en las figuras 2 a 7.

El área rodeada por círculo detrás de las proteínas de fusión en cada una de las figuras 2-7 representa la proteína de unión virus:célula principal (VCBP) del virus. La VCBP usualmente interacciona con la parte de la proteína de fusión que es más distal de la membrana vírica y así muestra estar colocada de este modo en las figuras. A diferencia de la proteína de fusión altamente conservada, la VCBP de cada familia de virus es más divergente. Es usualmente la VCBP la que dicta el intervalo de huéspedes de los virus y la que determina que tipos de las células huésped están marcados como objetivo para infección. La VCBP actúa en esta capacidad por reconocimiento y unión con proteínas de superficie celular específicas. La unión de la VCBP a las proteínas de células marcadas como objetivo tiene lugar antes de y es típicamente un prerrequisito para la fusión virus:célula.

Figura 8: inhibición de infectividad de coronavirus por péptidos de región de inicio de fusión. Entre 50 y 100 UFP de cepa A59 de virus de hepatitis murino o de cepa Urbani de coronavirus SARS se preincubaron con o sin los péptidos indicados (~ 100 µM) en DMEM libre de suero durante 1 hora. Se expusieron después células a inóculo tratado con péptido o a un control de vehículo (sin ningún péptido). Después de 1 h de adsorción, el inóculo se retiró, las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X y las células se recubrieron con DMEM que contenía FBS al 10% y agarosa al 0,5%. Cuarentaiocho horas después de la infección, las monocapas infectadas se fijaron y tiñeron con cristal violeta para determinar los números de placa.

Figura 9: inhibición de infectividad por virus Lassa por péptidos de región de inicio de fusión. Entre 50 y 100 UFC de virus Lassa se preincubaron con o sin los péptidos indicados (~ 100 µM) en BME libre de suero durante 1 h. Las células se expusieron después al inóculo tratado con péptidos o al control de vehículo (ningún péptido). Después de 1 h de adsorción, el inóculo se retiró, las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X y las células se recubrieron con BME conteniendo FBS al 5%, HEPES 10 mM y agarosa al 0,5%. Cuatro días después de la infección se aplicó un segundo revestimiento que contenía rojo neutral al 5% y se contaron placas 24 horas después.

Las seis familias de virus de ARN ahora conocidos por tener proteínas de fusión de clase I (virus de tipo I) y los miembros representativos de cada familia son como sigue:

Virus de ARN representativos que tienen proteínas de fusión de membrana de clase I (Virus de tipo I)		
Familia	Virus representativo	Mostrado en figuras
Arenavirus	Virus Lassa	Sí
	Virus de la Coriomeningis Linfocítica (LCMV)	No
	Virus Junin	No
	Virus Machupo	No
	Virus Guanarito	No
	Virus Sabia	No
Coronavirus	Virus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS)	Sí
	Virus de la Hepatitis Murina (MHV)	No
	Coronavirus Bovino	No
	Coronavirus Canino	No
	Virus de la Peritonitis Infecciosa Felina	No

Filovirus	Virus 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 Humana 1 (VIH-1)	Sí
	Virus de la Inmunodeficiencia Humana 2 (VIH-2)	No
	Virus Linfotrófico de Células T Humanas (HTLV-1)	No
	Virus Linfotrófico de Células T Humanas 2 (HTLV-2)	No
	Partícula 1 de Tipo A Intracisternal Humana 1 (HIAP-1)	No
	Partícula 1 de Tipo A Intracisternal Humana 2 (HIAP-2)	No

Los virus mostrados en las figuras son como sigue:

Virus de ARN ilustrados que tienen proteínas de fusión de membrana de clase I (tipo I)			
Figura	Familia	Virus mostrado	Proteína mostrada
Figura 2	Arenavirus	Virus Lassa	GP2
Figura 3	Coronavirus	Virus SARS	S
Figura 4	Filovirus	Virus Ébola	GP2
Figura 5	Ortomixovirus	Virus Influenza A	HA2
Figura 6	Paramixovirus	Virus del sarampión	F1
Figura 7	Retrovirus	VIH-1	TM

5

Listado de secuencias de proteínas de fusión de membrana de clase I (virus de tipo I)

GP2 de LASSA (número de acceso del Banco Genético Mundial: A43492, aminoácidos 257-490)

LLGT FTWTLSDSEG NETPGGYCLT RWMLIEAELK CFGNTAVAKC
NEKHDEEFCD MLRLDFDNKQ AIRRLKTEAQ MSIQLINKAV NALINDQLIM
KNHLRDIMGI PYCNYSRYWY LNHTSTGKTS LPRCWLISNG SYLNETKFSD
DIEQQADNMI TEMPLQKEYID RQKKTPLGLV DLFVFSTSFY LISIFLHLVK
IPTHRHIVGK PCPKPHRLNH MGICSCGLYK QPGVPVRWKR (SEC ID N.º: 16)

10

S de SARS (número de acceso del Banco Genético Mundial: AAQ9406, aminoácidos 864-1256)

WTF GAGAALQIPF AMQMAYRFNG IGVTONVLYE NQKQIANQFN
KAISQIQESL TTTSTALGKL QDVVNQNAQA LNTLVKQLSS NFGAISSVLN
DILSRDLKVE AEVQIDRLIT GRLQSLQTYV TQQLIRAAEI RASANLAATK
MSECVLGQSK RVDFCGKGYH LMSFPQAAPH GVVFHLVTVV PSQERNFTTA
PAICHEGKAY FPREGVVFVN GTSWFITQRN FFSPQIITTD NTFVSGNCDV
VIGIINNTVY DPLQPELDSF KEELDKYFKN HTSPDVLGD ISGINASVVN
IQKEIDRLNE VAKNLNESLI DLQELGKYEY YIKWPWYVWL GFIAGLIAIV
MVTILLCCMT SCCSCLKGAC SCGSCCKFDE DDSEPVLKGV KLHYT (SEC ID N.º: 17)

15

GP2 de ÉBOLA (número de acceso del Banco Genético Mundial: AAM76034, aminoácidos 502-676)

EAIVNAQPK CNPNLHYWTT QDEGAAIGLA WIPYFGPAAE GIYTEGLMHN
QDGLICGLRQ LANETTQALQ LFLRATTEL R TFSILNRKAI DFLLRWGGT
CHILGPDCCI EPHDWTKNIT DKIDQIIHDF VDKTLDPQGD NDNWWTGWRQ
WIPAGIGVTG VIIAVIALFC ICKFVF (SEC ID N.º: 18)

HA2 de INFLUENZA (número de acceso del Banco Genético Mundial: P03437, aminoácidos 346-566)

GLFGA IAGFIENGWE GMIDGWYGF HONSEGTOQA ADLKSTQAAI
DQINGKLN RV IEKTNEKFHQ IEKEFSEVEG RIQDLEKYVE DTKIDLWSYN
AELLVALENQ HTIDLTDSEM NKLFEKTRRQ LRENAEEMGN GCFKIYHKCD
NACIESIRNG TYDHDVYRDE ALNNRFQIKG VELKSGYKDW RCNICI

(SEC ID N.º: 19)

F1 de SARAPIÓN (número de acceso del Banco Genético Mundial: VGNZMV, aminoácidos 116-553)

FAGVV LAGAALGVAT AAQITAGIAL HQSMLNSQAI DNLRASLETT
NQAIEAIRQA GQEMILAVQG VQDYINNELI PSMNQLSCDL IGQKLGLKLL
RYYTEILSLF GPSLRDPISA EISIQALSYA LGGDINKVLE KLGYSGGDLL
GILESRIKA RITHVDTESY FIVLSIAYPT LSEIKGVIVH RLEGVSYNIG
SQEWYTTVPK YVATQGYLIS NFEDESSCTFM PEGTVCSQNA LYPMSPLLQE
CLRGSTKSCA RTLVSQSPGN RFILSQGNLI ANCASILCKC YTTGTIINQD
PDKILTYIAA DHCPVVEVNG VTIQVGSRRY PDAVYLHRID LGPPISLERL
DVGTLNLGNAI AKLEDKELL ESSDQILRSM KGLSSTSIYV ILIAVCLGGL
IGIPALICCC RGRCNKKGEQ VGMSRPGLKP DLTGTSKSYV RSL (SEC ID N.º: 20)

TM de VIH (número de acceso del Banco Genético Mundial: AAB50262, aminoácidos 512-710)

AVGIGALFL GFLGAAGSTM GAASMTLTVQ ARQLLSGIVQ QONNLLRATE
AQQLLQLTV WGIKQLQARI LAVERYLKDQ QLLGIWGCSS KLICTTAVPW
NASWSNKSLE QIWNHTTWME WDREINNYTS LIHSLIESQ NQKEKNEQEL
LELDKWLASLW NWFNITNLW YIKLFIMIVG GLVGLRIVFA VLSIVNRVRQ
(SEC ID N.º: 21)

15 Método de identificación de la FIR

A efectos de referencia, se describe el siguiente método para identificar dentro de las proteínas de fusión de los virus un resto conservado. El resto conservado de las regiones FIR de diferentes virus tendrá estructura y función similares. Adicionalmente, las regiones FIR de virus relacionados pueden tener, pero no tienen necesariamente, secuencias de aminoácidos altamente similares.

Como se describe anteriormente, la presente invención proporciona composiciones útiles para prevenir o inhibir infección vírica por el virus influenza usando péptidos, anticuerpos, o ácidos nucleicos aislados que se dirigen a la FIR de paramixovirus e interfieren con la función de esa FIR.

La FIR de una proteína de fusión vírica puede identificarse por un método como sigue que comprende las siguientes etapas:

(1) La secuencia de la proteína de fusión se ajusta primero al armazón de la proteína de fusión transmembrana del VIH, que comprende la hélice N, la hélice C y otros dominios anteriormente descritos, con el fin de identificar la hélice N y la hélice C en la proteína de fusión objetivo. Este proceso de ajuste se facilita buscando la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína para dos o más cisteínas que tienen una propensión a formar al menos un lazo unido covalentemente, que estará presente en la mayoría de pero no en todas estas secuencias. La hélice N puede identificarse después en la región que precede a este bucle de cisteína examinando la región en busca de aminoácidos cargados y de otros aminoácidos que tienen la propensión para formar una hélice alfa (por ejemplo, glutamina (Q), alanina (A), triptófano (W), lisina (K) y leucina (L)).

(2) El extremo aminoterminal del FIR se identifica después en la hélice N. Este extremo se encontrará usualmente dentro de los 10 a 20 aminoácidos finales de la hélice N y tendrá un núcleo que comprenderá típicamente tres o cuatro aminoácidos (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) El extremo carboxiterminal de la FIR se identifica después. En el caso de todas las familias salvo los coronavirus y paramixovirus, este extremo es el extremo carboxiterminal de la primera secuencia peptídica con hidrofobicidad de interfase positiva que se encuentra más allá de la hélice N. Este extremo está localizado usualmente más allá del bucle de cisteína, si el bucle está presente y algunas veces se solapa con la hélice C o está situado en la hélice C. Las secuencias de hidrofobicidad de interfase positiva tienen un porcentaje alto de aminoácidos aromáticos (tales como triptófano (P), fenilalanina (F) y tirosina (Y)) y aminoácidos hidrófobos pequeños (tales como glicina (G)). El grado de hidrofobicidad de interfase de estas secuencias se puede determinar usando la escala de hidrofobicidad de interfase Wimley-White, preferentemente con un programa de ordenador tal como el programa MPEX que incorpora esta escala. ("Hidrofobicidad de interfase" es una medida de la capacidad de un péptido para transferir a partir de una solución acuosa a la interfase de bicapa de la membrana y se basa en la escala de hidrofobicidad del residuo completo Wimley-White determinada experimentalmente (Jaysinghe, Hristova y White, 2000). Los programas de ordenador que usan esta escala pueden identificar una secuencia peptídica de una cadena peptídica que tiene puntuaciones de hidrofobicidad de interfase positivas y son por lo tanto los que se asocian más probablemente con la superficie de membranas). Véase Ejemplo 1, como un ejemplo de la aplicación de este método a la identificación de la FIR en el virus Ébola.

En el caso de los coronavirus, que tienen hélices alfa más largas y una escala generalmente más grande y los paramixovirus, en los que la FIR es discontinua debido a un inserto de una secuencia no FIR, el extremo carboxiterminal de la FIR es el extremo carboxiterminal de la segunda secuencia peptídica con hidrofobicidad de interfase positiva que se encuentra más allá de la hélice N. La secuencia entre la hélice N y la hélice C en la proteína F1 de los paramixovirus es más larga que las secuencias interhelicoidales de otros virus con proteínas de fusión víricas de clase I. La proteína F2 de paramixovirus, que cumple una función de unión a receptor, es correspondientemente más corta. Tras la inspección de modelos de ordenador, es obvio para aquellos especializados en la técnica que la proteína F1 contiene un inserto de secuencia entre la hélice N y la hélice C. En consecuencia, la FIR de paramixovirus contiene dos bucles de cisteína y dos secuencias de hidrofobicidad de interfase alta y es discontinua debido a que aminoácidos adicionales que son característicos solo de los paramixovirus y aparecen entre la hélice N y la secuencia de hidrofobicidad de interfase alta están excluidos de la FIR.

Secuencias de la FIR

La secuencia de la proteína de fusión y de FIR para cada uno de los seis virus representativos mostrados en las figuras desde la figura 2 hasta la figura 7 se da en la figura respectiva y en el Listado de secuencias proporcionado más adelante (SEC ID N.º: 16 a SEC ID N.º: 21 proporcionan las proteínas de fusión respectivas; y la SEC ID N.º: 1 a la SEC ID N.º: 7 proporcionan las respectivas FIR). Aunque hay menor secuencia de variación entre los virus hermanos entre cada una de estas seis familias, la FIR en cualquier virus de Tipo I se puede identificar fácilmente usando la secuencia representativa dada en la figura apropiada.

MÉTODOS DE INHIBICIÓN DE LA FUSIÓN EN ESTOS VIRUS

La presente invención proporciona composiciones según se definen en las reivindicaciones que inhiben la fusión virus:célula interfiriendo con la función de la FIR. Diversos aspectos de estas realizaciones incluyen marcar como objetivo la FIR con péptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos aislados según se definen en el presente documento, con el fin de interferir con la fusión virus:célula. En la presente invención los péptidos y los análogos de péptidos son según se definen en las reivindicaciones y son de tal longitud como sea necesario para proporcionar inhibición efectiva de infección vírica por paramixovirus. Como se usa en el presente documento el término "de tal longitud como sea necesario para proporcionar inhibición efectiva" del virus, hace referencia preferentemente a una longitud suficiente para proporcionar una reducción de 5 veces o mayor en infectividad vírica, cuando se usa de acuerdo con la presente invención. Los métodos para cuantificar reducción en infectividad vírica se conocen bien por aquellos de habilidad en la técnica. Por ejemplo, las reducciones en la actividad vírica se pueden determinar por reducción de placa, inhibición de unión, ensayo de reducción de valoración, o por estudios de pruebas en animales.

Los péptidos de FIR de la SEC ID N.º: 5, péptidos de las secuencias análogas de la SEC ID N.º: 5, o fragmentos de los mismos contemplados como que son parte de la presente invención son según se definen en las reivindicaciones. Se muestran las siguientes secuencias para los propósitos de comparación con SEC ID N.º: 5.

LASSA

X-LIMKNHLRDI MGIPYCNYSRYWYLNHTSTCKTLPRCWLI-Z (SEC ID N.º: 1),

SARS

**X-LIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSPQAAPH
GVVFLHVTYVPSQERNFTTAPAICHEGKAYFPREGVVFVNGTSWFITQRNFFS-Z**
(SEC ID N.º: 2)

ÉBOLA

5 X-LRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCI-Z (SEC ID N.º: 3)

INFLUENZA

10 X-IQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDSEMKNLF-Z (SEC ID N.º: 4)

SARAMPIÓN

X-LGLKLLRYYTEILSLFG-Z (SEC ID N.º: 5)

15 ----

**X-WYTTVPKYVATQGYLISNFDSSCTFMPEGTVCSQNALYPMSPLLQE
CLRGSTKSCARTLVSGSFGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTII-Z** (SEC ID N.º: 6)

(Los "----" indican que la FIR de sarampión es discontinua)

20

VIH

X-LQARILAVERYLKDQQLGIWGCSGKLICTTAVPWNASWSNKSLE QIWNHTTWMEWD-Z (SEC ID N.º: 7)

25 En cada una de las secuencias precedentes la "X" y la "Z" designan respectivamente bien el extremo aminoterminal o bien el extremo carboxiterminal, respectivamente, de péptido o de un resto adicional, como se describe más adelante.

Los péptidos de la SEC ID N.º: 5 proporcionados por la presente invención tienen la secuencia de una región FIR. La región es de un virus que pertenece a la familia vírica de los paramixovirus, que incluyen virus del sarampión, virus de las paperas, virus del moquillo, o virus de la enfermedad de Newcastle.

Otros aspectos de esta realización de la invención proporcionan secuencias de SEC ID N.º: 5 que comprende un fragmento funcional de una secuencia de FIR o secuencias análogas a ella de un virus perteneciente a la familia vírica de los paramixovirus. El péptido según se define en las reivindicaciones puede comprender un fragmento funcional de una secuencia a un fragmento funcional de un virus del sarampión, virus de las paperas, virus del moquillo, o virus de la enfermedad de Newcastle.

Los péptidos derivados pueden comprender secuencias alteradas en las que los residuos de aminoácidos funcionalmente equivalentes están sustituidos por residuos en la secuencia dando como resultado un cambio silencioso. Por ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia pueden sustituirse por otro aminoácido de una polaridad similar que actúa como un equivalente funcional, que da como resultado una alteración silenciosa (por *ejemplo*, sustitución de leucina por isoleucina). Los sustitutos para un aminoácido dentro de la secuencia pueden seleccionarse a partir de otros miembros de la clase a la que pertenece el aminoácido. Por ejemplo, los aminoácidos no polares (hidrófobos) incluyen alanina, leucina, isoleucina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano y metionina. Los aminoácidos neutrales polares incluyen glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparragina 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 aminoácidos D, y/o pueden comprender una proteína transportadora ineficaz, o ninguna proteína transportadora en absoluto.

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

El resto "X" de la invención puede comprender un grupo transportador macromolecular. Tal grupo transportador macromolecular puede estar seleccionado a partir del grupo que comprende, pero que no se limita a: un conjugado lipídico, un resto de polietilenoglicol, o un resto carbohidrato. Igualmente el "Z" puede comprender también un grupo transportador macromolecular; en el que dicho transportador macromolecular está seleccionado del grupo que

consiste en, pero no limitado a: un lípido conjugado, un resto polietilenoglicol, o un resto carbohidrato.

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

El péptido puede comprender uno o más residuos de aminoácidos que está/están en un aminoácido de isómero D.

Los péptidos pueden comprender una sustitución de uno o más aminoácidos en los que un primer residuo de aminoácidos está sustituido por un segundo residuo aminoacídico diferente, en las secuencias proporcionadas anteriormente (o en un segmento funcional de las mismas). En diversos aspectos de esta realización, la sustitución aminoacídica es una sustitución conservadora. En otros aspectos de esta realización la sustitución aminoacídica es una sustitución no conservadora. Aún otros aspectos de esta realización de la invención estipulan péptidos como se describen anteriormente salvo porque uno o más residuos aminoacídicos se han eliminado.

En diversos aspectos preferidos de las realizaciones actuales los péptidos FIR de la invención comprenden al menos 8 residuos contiguos de una FIR. Como se usa en el presente documento el término "péptido(s) inhibidor(es) de FIR" preferentemente hace referencia a un péptido o péptidos que tienen la secuencia de una FIR (o un segmento funcional de la misma) y a tales péptidos o segmentos funcionales en los que uno o más aminoácidos está/están sustituidos con aminoácidos funcionalmente equivalentes o químicamente similares (véase más abajo). Ello se refiere también a derivados de estos péptidos, incluyendo pero no limitados a, derivados bencilados, derivados glicosilados y péptidos que incluyen enantiómeros de aminoácidos que se dan en la naturaleza. En un aspecto preferido de esta realización el péptido tiene la secuencia de SEC ID N.º 5.

En aún otros aspectos de esta realización de la invención, los péptidos de FIR pueden estar unidos a una molécula transportadora tal como una proteína, incluyendo pero no limitada a, seroalbúmina humana (HSA).

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

Los péptidos de acuerdo con la presente invención pueden producirse a partir de proteínas víricas que se dan en la naturaleza o recombinantes. También pueden producirse usando técnicas de ADN recombinante estándar (*por ejemplo* la expresión de péptido por un microorganismo que contiene moléculas de ácido nucleico recombinante que codifican el péptido deseado, expresado sometido al control de un promotor transcripcional adecuado y la recogida del péptido deseado a partir de dicho microorganismo). En un aspecto preferido de la invención, cualquiera de los péptidos de la invención puede prepararse usando cualquier metodología de síntesis química conocida en la técnica que incluye, pero no se limita a, síntesis en fase sólida de Merrifield (Clark-Lewis y cols., 1986, Science 231: 134-139).

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

Los métodos generales para producir anticuerpos se conocen bien por aquellos de habilidad en la técnica. Los métodos para producir anticuerpos de acuerdo con 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 peptídico); (ii) expone el sistema inmune de un animal al antígeno tal como para inducir una respuesta inmune; (iii) recoger anticuerpos a partir del animal e identificar esos anticuerpos que reconocen específicamente una FIR (o segmento funcional de la misma) y/o capaces de inhibir o reducir infección virus:célula en una manera de respuesta a dosis en ensayos que miden infectividad vírica.

De acuerdo con distintos aspectos de la presente invención, los péptidos y/o anticuerpos de la presente invención útiles para tratar o prevenir la infección vírica de una célula pueden marcar como objetivo los aminoácidos circundantes y dentro del bucle de cisteína de FIR, la parte distal de la hélice N de FIR, cualquiera de las regiones de hidrofobicidad de la FIR, otras áreas de la FIR, o cualquier combinación de las mismas. Estos péptidos (colectivamente compuestos) se pueden usar individualmente; alternativamente se pueden usar en combinaciones de dos o más para prevenir o inhibir la infección de la célula por el virus. Los métodos para prevenir o inhibir la infección vírica de la célula interfiriendo con la función de la FIR proporcionados por la presente invención también incluyen el uso de anticuerpos neutralizantes, producidos exógena o endógenamente, contra toda la FIR o contra partes de la FIR. El propósito de tal uso es interferir con la función de la FIR, inhibiendo de este modo la infección vírica de las células y/o la fusión de membranas de virus:célula.

Otras realizaciones de la presente invención estipulan composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que comprenden cualesquiera y todos los péptidos de la presente invención. Esto incluye, pero no se limita a,

composiciones que contienen cualquier molécula que comprende, consta esencialmente de, o consta de un péptido de FIR de la SEC ID N.º: 5, o un segmento funcional de la FIR. Ello incluye adicionalmente, pero no se limita a composiciones que comprenden cualquier compuesto que específicamente reconoce, se une a, o interfiere con la función de una FIR vírica. Como se usa en el presente documento, la frase "interfiriendo con la función de la FIR" significa que un compuesto interacciona con la FIR o con la proteína celular que sirve como el receptor que reconoce la FIR tal como para prevenir o reducir la infección de la célula por el virus. Adicionalmente, se contempla que las composiciones pueden comprender bien una de las moléculas descritas o bien 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 prevención de la infección de una célula por un paramixovirus. Diversos aspectos de esta realización de la invención estipulan una cantidad efectiva de cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento para usar en administración a un paciente sospechoso de estar expuesto a un paramixovirus (o que tiene potencial para estar expuesto a un paramixovirus). En diversos aspectos de esta invención la composición farmacéutica comprende un anticuerpo que reconoce específicamente y se une a un péptido de FIR de SEC ID N.º: 5 (o a un segmento funcional de una FIR) o un fragmento de tal anticuerpo que reconoce específicamente y se une específicamente a una FIR, o a un segmento funcional de una FIR.

Aún otros aspectos de esta realización de la invención según se definen en las reivindicaciones estipulan una cantidad efectiva de una composición que comprende al menos una molécula de ADN recombinante; donde el ADN codifica una FIR de SEC ID N.º: 5 (o segmento funcional de la misma) tal como para prevenir o reducir la infección por el virus. En un aspecto preferido de esta realización la molécula de ADN recombinante y/o la composición farmacéutica comprende adicionalmente 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 ciertos aspectos de esta realización de la invención la molécula de ADN recombinante es parte de un plásmido recombinante o de un virus recombinante.

Ejemplos

Ejemplo 1: identificación de la FIR en el virus Ébola

El método para identificar la FIR de proteínas de fusión víricas de clase I puede ilustrarse por dos ejemplos. El primer ejemplo es la identificación de la FIR en la proteína de fusión de clase I mínima glucoproteína 2 (GP2) del virus Ébola, un filovirus. Los límites de la hélice N y de la hélice C de la GP2 del virus Ébola se han determinado por métodos cristalográficos de rayos x (Malashkevich y cols., 1999). Los aminoácidos terminales de la hélice N contienen la secuencia ILNRKAIDF (SEC ID N.º: 8) que concuerda con el 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 están dos cisteínas en la secuencia CHILGPDC (SEC ID N.º: 9). Definiendo los extremos de la FIR del virus Ébola está la secuencia FLLQRWGGTCH-ILGPDCCI (SEC ID N.º: 10), que tiene una puntuación de hidrofobicidad de interfase de Wimley- White de 2,59 como se determina por el programa MPEX (Jaysinghe y cols., 2002). Así, la FIR de la GP2 del virus Ébola se extiende desde el aminoácido 579 hasta el aminoácido 610.

Ejemplo 2: identificación de la FIR en virus del sarampión

El segundo ejemplo es una proteína de fusión de clase I compleja, la proteína F1 del virus del sarampión, un paramixovirus. Las hélices N y C de la F1 del virus del sarampión pueden identificarse examinando la secuencia primaria de los aminoácidos con la propensión a formar hélices. El alineamiento de la secuencia primaria de la F1 del virus del sarampión con la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína F1 de otro paramixovirus, la F1 del virus de la enfermedad de Newcastle, puede ayudar también en la identificación de los límites de la hélice. La estructura de la proteína F1 del virus de la enfermedad de Newcastle se ha determinado por métodos cristalográficos de rayos x (Chen y cols., 2001). Puede predecirse así que los límites de las hélices N y C son aminoácidos 131-217 y 455-491 respectivamente. En contraste con la GP2 del virus Ébola y con la mayoría de las otras proteínas de fusión de clase I víricas, la secuencia primaria entre las hélices N y C en los virus del sarampión es más larga de 100 aminoácidos. La región FIR de la F1 del virus del sarampión contiene una inserción que, después de la inspección de los modelos de ordenador, es obvia para aquellos expertos en la técnica y así la estructura de FIR está formada por una disposición secundaria que reúne dos partes de la secuencia primaria. La secuencia insertada forma un bucle externo a la FIR. Los aminoácidos terminales de la hélice N contienen la secuencia LKLLRYYTE (SEC ID N.º: 11) que concuerda con el consenso de un núcleo que comprende tres o cuatro aminoácidos hidrófobos, un aminoácido cargado positivamente, un aminoácido cargado negativamente y un aminoácido aromático. Hay ocho residuos de cisteína en la F1 de virus del sarampión F1 entre las hélices N y C. Sobre la base del alineamiento con F1 del virus de la enfermedad de Newcastle puede determinarse que las dos primeras cisteínas y las dos segundas cisteínas forman bucles unidos por puentes disulfuro: El primer par de cisteínas en la secuencia, CTFMPEGTV (SEC ID N.º: 12), es parte de la FIR debido a que está unido por una secuencia WYTTVPKYVATQGYLISNF (SEC ID N.º: 13) con una puntuación de hidrofobicidad de interfase de Wimley-White de 3,36, según se determina por el programa MPEX., El segundo par de cisteínas en la secuencia, CLRGSTKSC (SEC ID N.º: 14), también es parte de la FIR debido a que está adyacente a una secuencia TLVSGSFGNRFILSQGNLIANCASILCKCYTTGTII (SEC ID N.º: 15) con una puntuación de hidrofobicidad de interfase

de Wimley-White de 2,54, como se determina por el programa MPEX. Así, la FIR de la F1 del virus del sarampión se prolonga desde el aminoácido 205 hasta el aminoácido 407, con los aminoácidos 221 a 314 representando una inserción que no participa en la función de la FIR.

5 Ejemplo 3: Identificación de péptidos inhibidores de fusión de coronavirus

ANTECEDENTES

El síndrome respiratorio agudo grave (SARS) es una enfermedad recientemente reconocida que se dispersó desde China del sur a finales de 2002/principios de 2003 a varios países en Asia, Europa y Norteamérica (Guan y cols., 2004). El SARS usualmente empieza con una fiebre superior a 38°C. Los síntomas iniciales pueden incluir también dolor de cabeza, malestar y síntomas respiratorios leves. En el plazo de dos días a una semana, los pacientes del SARS pueden desarrollar una tos seca y tener problemas respiratorios. Los pacientes en las fases más avanzadas de SARS desarrollan bien neumonía o bien síndrome de dificultad respiratoria. En el brote inicial hubo 8098 en todo el mundo, con una mortalidad global del 9,6%. Se ha demostrado que un coronavirus (CoV) previamente no reconocido es la causa de la nueva enfermedad (Poutanen y cols., 2003; Peiris y cols., 2003; Drosten y cols., 2003; Rota y cols., 2003; Mara y cols., 2003). Las intervenciones de salud pública, tales como vigilancia, restricciones de viajes y cuarentenas, contenían la dispersión original de CoV de SARS en 2003 y parecen detener de nuevo la dispersión de SARS después de la aparición unos pocos casos nuevos en 2004. Se desconoce, sin embargo, si estas medidas de contención draconianas pueden mantenerse con cada aparición del CoV del SARS en seres humanos. Además, el potencial de este nuevo y a veces letal CoV como una amenaza de bioterrorismo es obvio.

Los coronavirus son virus de ARN de cadena positiva grandes típicamente con un intervalo de huéspedes amplio. Como otros virus con envoltura, CoV entra en las células objetivo por fusión entre las membranas vírica y celular, un proceso mediado por la proteína de espículas víricas (S). Las proteínas S del CoV, caracterizadas hasta la fecha, parecen constar de dos subunidades asociadas no covalentemente, S1 y S2. Usando análisis computacional, Garry y Gallaher (2003) propusieron primero que la parte de la proteína S del CoV de SARS que corresponde a la subunidad S2 se ajusta al modelo prototípico de una proteína de fusión vírica de clase I en base a la presencia de dos regiones de hélice alfa predichas en las regiones N-terminales y C-terminales de S2 (hélice N, hélice C) y de una región rica en aminoácidos justo antes del dominio de ancla transmembrana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las células L2 o las células Vero E6 se mantuvieron como monocapas en el medio Eagle modificado por Dulbecco completo (DMEM) conteniendo HCO_3^- al 0,15% suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 10%, penicilina G (100 U/ml), estreptomycin (100 mg/ml) y L-glutamina 2 mM a 37°C en un incubador de CO_2 al 5%. La cepa A59 del virus de hepatitis murino (MHV) o la cepa Urbani del CoV de SARS o HK se propagaron en células L2. Para ensayos de placa, las células L2 o las células Vero E6 se sembraron a una densidad de 1×10^6 células en cada pocillo de una placa de 6 pocillos. Se preincubaron de cincuenta a 100 unidades formadoras de placa (u.f.p.) de MHV o de CoV de SARS con o sin aproximadamente 100 $\mu\text{g/ml}$ de péptido DMEM libre de suero durante 1 h. Las células se infectaron después con inóculo tratado con péptido o con inóculo de control de vehículo. Después de adsorción de 1 hora, el inóculo se retiró, las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X y las células se recubrieron con FBS al 10%/DMEM conteniendo agarosa SEAPLAQUE® al 0,5% (Cambrex Bio Science Rockland, Inc., Rockland, ME). Se fijaron monocapas con formalina al 3,7% y se tiñeron con cristal violeta 1X 2 días tras la infección y los números de placas se determinaron por microscopía lumínica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Péptidos sintéticos correspondientes a los dominios de FIR de la proteína S del MHV o del CoV de SARS se pusieron a prueba en su capacidad inhibiendo la infección por estos coronavirus. La capacidad inhibiendo la formación de placas en monocapas celulares es la prueba más restrictiva *in vitro* de un fármaco inhibidor de infección potencial. Dos péptidos (GNHILSLVQNAPYGLYFIHFSW, SEC ID N.º: 22 y GYFVQDDGEWKFTGSSYYY, SEC ID N.º: 23) de la FIR de MVH pueden inhibir formación de placas por MHV, aunque el primer péptido de FIR de MHV es más eficiente (véase la figura 8A). Dos péptidos de la FIR de CoV, de SARS (GYHLMS-FPQAAPHGVVFLHVTY, SEC ID N.º: 24 y GVFVFNGLTSWIFITQRNFFS, SEC ID N.º: 25) inhibieron formación de placa por este coronavirus (véase la figura 8B). Hubo también una reducción significativa (~ 50%) en el diámetro promedio de las placas residuales. Estos resultados sugieren que este péptido inhibe tanto la entrada como la dispersión de MHV. Se obtuvieron resultados similares con estos péptidos inhibidores en experimentos independientes, con inhibición de placa al 50% observada a concentraciones de $< 5 \mu\text{M}$. Estos resultados es improbable que se expliquen por efectos citotóxicos no específicos de los péptidos. Salvo por las placas, las células, en las monocapas estuvieron intactas y fueron viables. El número bajo de placas que crecían fueron similares en tamaño a las placas control. Los péptidos desde otras regiones también inhibieron infección por estos virus, pero en menor medida que los péptidos de la FIR más activos (figura 8). Por ejemplo, péptidos de la región peptídica de fusión y la hélice carboxiloterminale (hélice C) de la S de MHV y de la S de CoV de SARS proporcionaron alguna inhibición (péptido de fusión de S de MHV = MFPPWSAAGVPFSLSVQY, SEC ID N.º: 26; hélice C de S de MHV = QDAIKKLNESYINLKEVGYEMVVKW, SEC ID N.º: 27; péptido de fusión de S de CoV de SARS = MYKTPTLKY-FGGFNFSQIL, SEC ID N.º: 28; hélice C de S de CoV de SARS =

AACEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKW, SEC ID N.º: 29). Se comunicaron recientemente actividades inhibitoras en el rango de μM con péptidos de hélice C de coronavirus por Bosch y cols., (2003) y otros (Bosch y cols., 2004; Lui y cols., 2004; Yuan y cols., 2004; Zhu y cols., 2004). Sin embargo, no se han comunicado péptidos inhibidores de coronavirus en FIR. No obstante, en vista de la presente invención, las referencias citadas colectivamente, proporcionan apoyo para las tremendas ventajas de las invenciones actualmente descritas y reivindicadas. Es decir, estas referencias son consistentes con la aserción de los autores de la presente invención de que los métodos de la presente invención se pueden usar ventajosamente identificando péptidos sintéticos que inhiben la fusión/infectividad por miembros de la familia Coronaviridae.

Ejemplo 4: identificación de péptidos inhibidores de fusión de arenavirus

ANTECEDENTES

La fiebre de Lassa es una enfermedad hemorrágica a menudo mortal llamada por la ciudad en el valle Yedseram River de Nigeria en la que tuvieron lugar 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 Lassa (LasV). El impacto en salud pública del LasV en zonas endémicas es inmenso. Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) han estimado que hay 100.000-300.000 casos de Lassa por año en África occidental y 5.000 muertes. En algunas partes de Sierra Leona, el 10-15% de todos los pacientes en hospitales tienen fiebre de Lassa. Las mortalidades de la enfermedad para la fiebre de Lassa son típicamente 15% al 20%, aunque en epidemias la mortalidad global puede ser tan alta como el 45%. La tasa de mortalidad para las mujeres en el último mes de embarazo es siempre alta, ~ 90% y la infección con LasV causa altas tasas de muerte fetal en todas las fases de gestación. Las tasas de mortalidad para Lassa parecen ser mayores en no africanos, lo que es de preocupación debido a que Lassa es la fiebre hemorrágica más comúnmente exportada. Debido a la tasa de mortalidad de casos alta y a la capacidad de dispersarse fácilmente por contacto humano-humano, el LasV se clasifica como un agente de Nivel de Bioseguridad 4 y como un agente de categoría A de Biodefensa del NIAID.

LasV es un miembro de la familia *Arenaviridae*. El genoma de los arenavirus consiste en dos segmentos de ARN de cadena simple, de ambos sentidos. Cuando se contemplan por microscopía electrónica de transmisión, los viriones esféricos provistos de envoltura (diámetro: 110-130 nm) muestran partículas granulosas que son ribosomas adquiridos a partir de las células del huésped (Murphy y Whitfield, 1975). De ahí el uso para el nombre de la familia del latín "arena" que significa "arenoso". Además de LasV, otros arenavirus que causan enfermedades en seres humanos incluyen virus Junin (fiebre hemorrágica argentina), virus Machupo (fiebre hemorrágica boliviana), virus Guanarito (fiebre hemorrágica de Venezuela) y virus Sabia (fiebre hemorrágica brasileña). Los arenavirus son zoonóticos; cada virus está asociado con una especie específica de roedores (Bowen, Peters y Nichol, 1997). El reservorio de LasV es la "rata provista de mamas múltiples" del género *Mastomys* (Monath y cols., 1974). La amplia distribución de *Mastomys* en África hace impracticable y ecológicamente indeseable la erradicación de este reservorio roedor.

Los signos y síntomas de la fiebre de Lassa, que tiene lugar 1-3 semanas después de la exposición al virus, son altamente variables, pero pueden incluir fiebre, dolor retrosternal, de espalda o abdominal, dolor de garganta, tos, vómitos, diarrea, inyección conjuntival e hinchazón facial. LasV infecta las células endoteliales, dando como resultado permeabilidad de capilares incrementada, volumen circulante efectivo disminuido, choque y fallo de sistema multiorgánico. La hemorragia franca, usualmente mucosal (encías, etc.), tiene lugar en menos de un tercio de los casos, pero confiere un mal pronóstico. También se han descrito problemas neurológicos, incluyendo pérdida de audición, temblores y encefalitis. Los pacientes que sobreviven comienzan a bajar la fiebre 2-3 semanas después de la aparición de la enfermedad. La complicación más frecuente de la fiebre de Lassa es la sordera. Tiene lugar sordera temporal o permanente unilateral o bilateral en ~ 30% de pacientes de fiebre de Lassa durante la convalecencia y no está asociada con la gravedad de la enfermedad aguda. El fármaco antivírico ribavirina es efectivo en el tratamiento de fiebre de Lassa, pero solo si se administra pronto (hasta seis días) en el curso de la enfermedad (Johnson y cols., 1987; McCormick y cols., 1986). Se desconoce si la ribavirina es efectiva contra otros arenavirus, tales como virus Junin, virus Machupo, virus Guanarito o virus Sabia. No está actualmente disponible ninguna vacuna de LasV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las células Vero se mantuvieron como monocapas en Medio Eagle Basal (BME) que contiene HEPES 10 mM y FBS al 5%. El virus Lassa (cepa Josiah) se propagó sobre células Vero. Para ensayos de placas, las células Vero se sembraron a una densidad de 1×10^6 células en cada pocillo de placa de 6 pocillos. Cincuenta a 100 u.f.p. de LasV se preincubaron con o sin péptido en BME libre de suero durante 1 h. Las células se infectaron después con inóculo tratado con péptidos o con inóculo control de vehículo. Después de adsorción de 1 h, el inóculo se retiró, las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato 1X y las células se recubrieron con 2 ml de agarosa al 0,5% en BME conteniendo HEPES 10 mM y FBS al 5% y se incubaron durante 4 días. Se aplicó un segundo revestimiento conteniendo rojo neutro al 5% y las placas se contaron 24 horas después.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se pusieron a prueba péptidos sintéticos correspondientes a los dominios de la FIR de la glucoproteína 2 (GP2) de

LasV en su capacidad inhibiendo infección por este arnavirus. Un péptido (NYSKYWYLNHTTGR, SEC ID N.º: 30) análogo a la secuencia NYSRYWYLNHTSTGK desde SEC ID N.º: 1 (LASSA FIR) puede inhibir formación de placas por LasV (figura 9). Un péptido análogo a otra región GP2, el péptido de fusión, (GTFTWTLSDSEGKDTPGGY, SEC ID N.º: 31) inhibió también infección por LasV, pero en un grado menor (figura 9). No se han comunicado péptidos inhibidores de arnavirus. Colectivamente, estos resultados sugieren que las aproximaciones de los autores de la presente invención pueden identificar péptidos sintéticos que inhiben la fusión/infectividad por miembros de los Arnavirus. Estos resultados, en combinación con los resultados de los autores de la presente invención con péptidos inhibidores de la FIR de coronavirus, establecen prueba del principio de que los péptidos de las regiones FIR pueden funcionar como inhibidores víricos.

Referencias

Bolognesi y cols. Patente de los EE.UU. N.º: 5.464.933.

Bosch y cols., (2004). Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU. 101: 8455-8460.

Bosch y cols., (2003) J Virol 77: 8801-8811.

Bowen y cols., (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 y cols., (1997). Cell 89 (2), 263-73.

Chen y cols., (2001). Structure 9 (3), 255-266.

Clark-Lewis y cols. (1986) Science. 231: 134-9.

Drosten y cols. (2003). New England J Med 348, 1967-76.

Gallaher y cols. (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 y cols. (1989). AIDS Res Human Retroviruses 5 (4), 431-40.

Gallaher y cols. (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 y cols. (1995). J. Virol 69, 7497-7506

Gonzalez-Scarano y cols. (1987). AIDS Res Hum Retroviruses. 3 (3), 245-52.

Guan y cols. (2004). Lancet 363, 99-104.

Guan y cols., (2003). Science 302, 276-278.

Henderson, Coy y Garry, Patente de los EE.UU. 5.567.805.

Jaysinghe y cols. (2000). Membrane Protein Explorer. www.blanco.biomol.cui.edu.mplex.

Johnson y cols., (1987). J Infect Dis 155 (3), 456-64.

Kilby y cols., (1998). Nat Med 4 (11), 1302-7.

Kowalski y cols., (1991). J. Virol. 65, 281-291.

Ksiazek y cols. (2003). N Engl J Med 348, 1953-66.

Lambert y cols. (1996). Proc Natl Acad Sci EE.UU. 93 (5), 2186-91.

- Liu y cols., (2004). Lancet 363: 938-947.
- Malashkevich y cols., (1999). Proc Natl Acad Sci EE.UU. 96 (6), 2662-7.
- 5 Marra y cols., (2003). Science 300,1399-1404.
- McCormick y col. (1986), N Engl J Med 314 (1), 20-6.
- Monath y cols., (1974). Science 185 (147), 263-5.
- 10 Murphy, F. A. y Whitfield, S. G. (1975). Bull World Health Organ 52 (4-6), 409-19.
- Owens y cols., (1990). AIDS Res Hum Retroviruses 6 (11), 1289-96.
- 15 Peiris y cols., (2003). Lancet 361, 1319-25.
- Pozniak, A. (2001). J HIV Ther 6 (4), 91-4.
- Poutanen y cols., (2003). New England J Med 348, 1995-2005.
- 20 Qureshi y cols., (1990). AIDS 4, 553-558.
- Richardson y cols., (1980). Virology 105 (1), 205-22.
- 25 Rota y cols., (2003). Science, 300, 1394-1399.
- Silburn y cols., (1998). AIDS Res Hum Retroviruses 14 (5), 385-92.
- Sodroski y cols., (1999). Cell 99 (3), 243-6.
- 30 Suárez y col. (2000). J Virol 74 (17), 8038-47.
- Watanabe y cols., (2000). J Virol 74 (21), 10194-201.
- 35 Weissenhom, W. (1998). Mol Cell 2(5), 605-16.
- Weissenhorn y cols., (1997). Nature 387 (6631), 426-30.
- Wild y cols., (1997) J. Gen. Virol 78 (1), 107-111.
- 40 Wild y cols., (1993). AIDS Research & Human Retroviruses 9 (11), 1051-3.
- Wild y cols., (1992). Proc Natl Acad Sci EE.UU. 89 (21), 10537-41.
- 45 Wilson y cols., (1981). Nature 289 (5796), 366-73.
- Young y col., (1999). J Virol 73 (7), 5945-56.
- Yuan y cols., (2004). Biochem. Biophys. Res. Commun. 319: 746-752.
- 50 Zhu y cols., (2004). Biochem. Biophys. Res. Commun. 319: 283-288.

Listado de secuencias

- 55 <110> Garry, Jr., Robert F. Wilson, Russell B.
- <120> MÉTODO PARA IMPEDIR LA FUSIÓN VIRUS:CÉLULA INHIBIENDO LA FUNCIÓN DE LA REGIÓN DE INICIO DE FUSIÓN EN VIRUS DE ARN QUE TIENEN PROTEÍNAS DE ENVOLTURA FUSOGÉNICAS DE MEMBRANA DE CLASE I
- <130> 12920.0013.00PC00
- 60 <150> Documento US 60/517181
- <151> 4-11-2003
- <160> 31
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- 65 <211> 39
- <212> PROTEÍNA

<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> PROTEÍNA

<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> PROTEÍNA

<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> PROTEÍNA

<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> PROTEÍNA

5 <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

10 <210>6

<211> 94

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <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> PROTEÍNA

20 <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> PROTEÍNA

5 <213> Secuencia artificia

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 8

Ile Leu Asn Arg Lys Ala Ile Asp Phe
 1 5

10 <210> 9

<211>8

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 9

Cys His Ile Leu Gly Pro Asp Cys
 1 5

<210> 10

<211> 19

20 <212> PROTEÍNA

<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

25

<210> 11

<211> 9

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 11

Leu Lys Leu Leu Arg Tyr Tyr Thr Glu
 1 5

<210> 12

35 <211> 10

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

40 <400> 12

Cys Thr Phe Met Pro Glu Gly Thr Val Cys
 1 5 10
 <210> 13
 <211> 19
 <212> PROTEÍNA
 5 <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
 10 <210> 14
 <211> 9
 <212> PROTEÍNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Péptido sintético
 <400> 14
 Cys Leu Arg Gly Ser Thr Lys Ser Cys
 1 5
 <210> 15
 <211> 36
 20 <212> PROTEÍNA
 <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
 25 35
 <210> 16
 <211> 234
 <212> PROTEÍNA
 <213> VIRUS LASSA
 30 <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> PROTEÍNA
 <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> PROTEÍNA

<213> VIRUS 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> PROTEINA

5 <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> PROTEÍNA

<213> VIRUS del SARAMPION

<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> PROTEÍNA
 <213> VIH
 <400> 21

5

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> PROTEÍNA

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<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

10 <211> 19

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15 <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> PROTEÍNA

5 <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

10 <210> 25

<211> 19

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <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

20 <212> PROTEÍNA

<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

25 <210> 27

<211> 26

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

30 <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

35 <211> 19

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

40 <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> PROTEÍNA

5 <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

10 <210> 30

<211> 15

<212> PROTEÍNA

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <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

20 <212> PROTEÍNA

<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

25

REIVINDICACIONES

1. Un péptido inhibidor de fusión vírica aislado seleccionado del grupo que consiste en:
 - 5 (a) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEC ID N.º: 5,
 - (b) un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 8 o más residuos aminoácidos de SEC ID N.º: 5, y
 - 10 (c) un análogo de péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en SEC ID N.º: 5 que incluye una o más sustituciones aminoácidas conservadoras y en el que la mayoría de los residuos del análogo son idénticos a la secuencia de SEC ID N.º: 5;
- 15 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus.
2. Un péptido según se define en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus 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 aminoterminal del péptido.
- 20 3. Un péptido según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus que incluye un grupo amido, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo carboxiterminal del péptido.
- 25 4. El péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus, en el que la infección por paramixovirus es una infección por virus del sarampión.
5. El péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus, en el que la infección por paramixovirus se selecciona del grupo que consiste en paperas, moquillo y enfermedad de Newcastle.
- 30 6. Uso de un péptido según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección por paramixovirus en un paciente.
7. El uso de la reivindicación 6 en el que la infección por paramixovirus es una infección por virus del sarampión.
- 35 8. Una molécula de ADN recombinante que permite a un paciente producir o estimula a un paciente a producir el péptido según se define en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus en un paciente.
- 40 9. Uso de una molécula de ADN recombinante que permite a un paciente producir o estimula a un paciente a producir el péptido según se define en la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para tratar una infección por paramixovirus en un paciente.
- 45 10. El uso de la reivindicación 9 en el que la infección por paramixovirus es una infección por virus del sarampión.
11. Un agente inhibidor de la fusión vírica que comprende un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 8 a 50 residuos de aminoácidos para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus, en el que el péptido comprende una secuencia de aminoácidos de un péptido de la reivindicación 1.
- 50 12. El agente inhibidor de la fusión vírica según define la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus que incluye un grupo acetilo, un grupo carbobenciloxi, un grupo dansilo, un grupo t-butoxicarbonilo, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo aminoterminal del mismo.
13. El agente inhibidor de la fusión vírica según define la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento de una infección por paramixovirus que incluye un grupo amido, un grupo hidrófobo, o un grupo macromolecular en el extremo carboxiterminal del mismo.
- 55 14. Uso de un agente inhibidor de la fusión vírica de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13 para la preparación de un medicamento para tratar una infección por paramixovirus en un paciente.

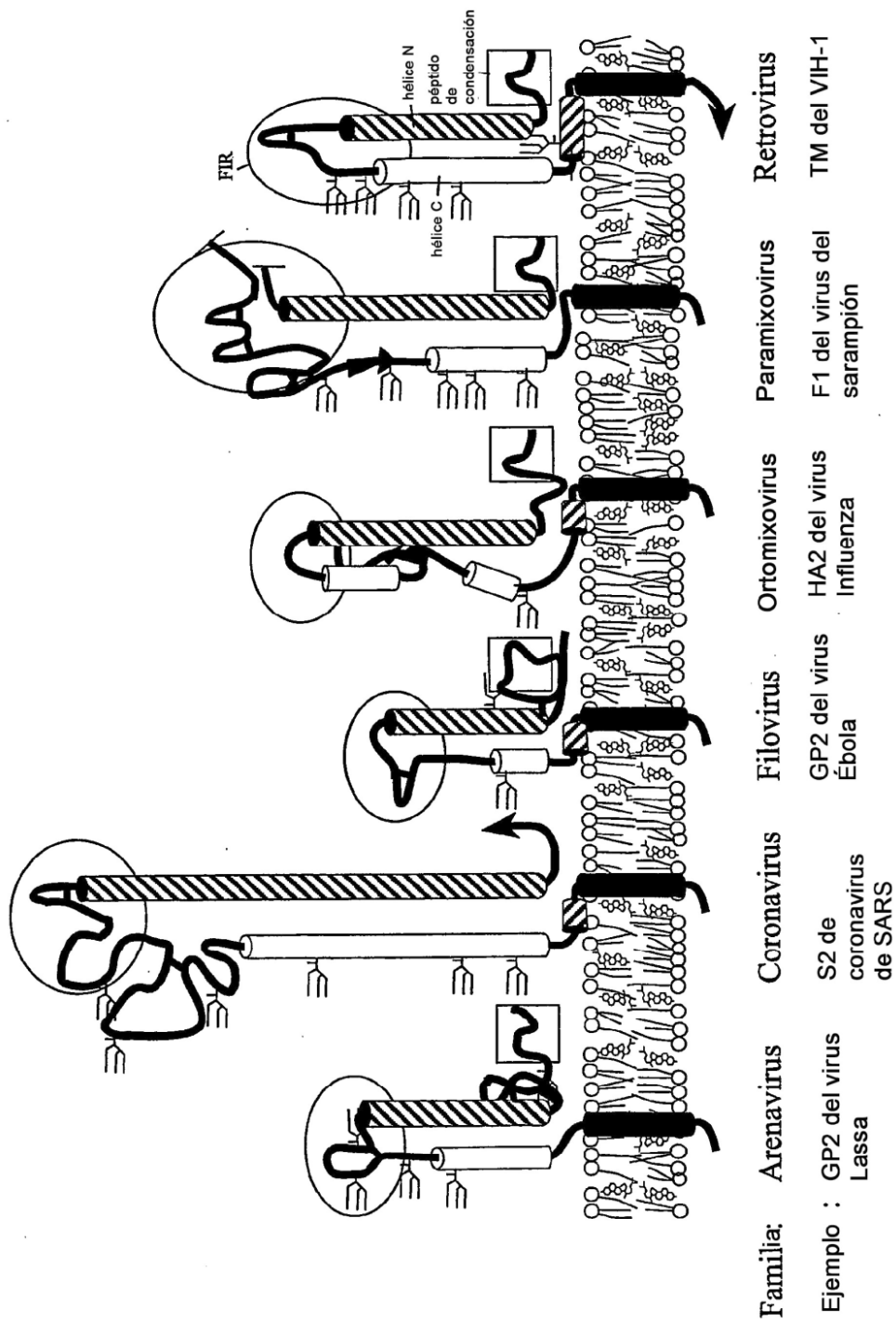
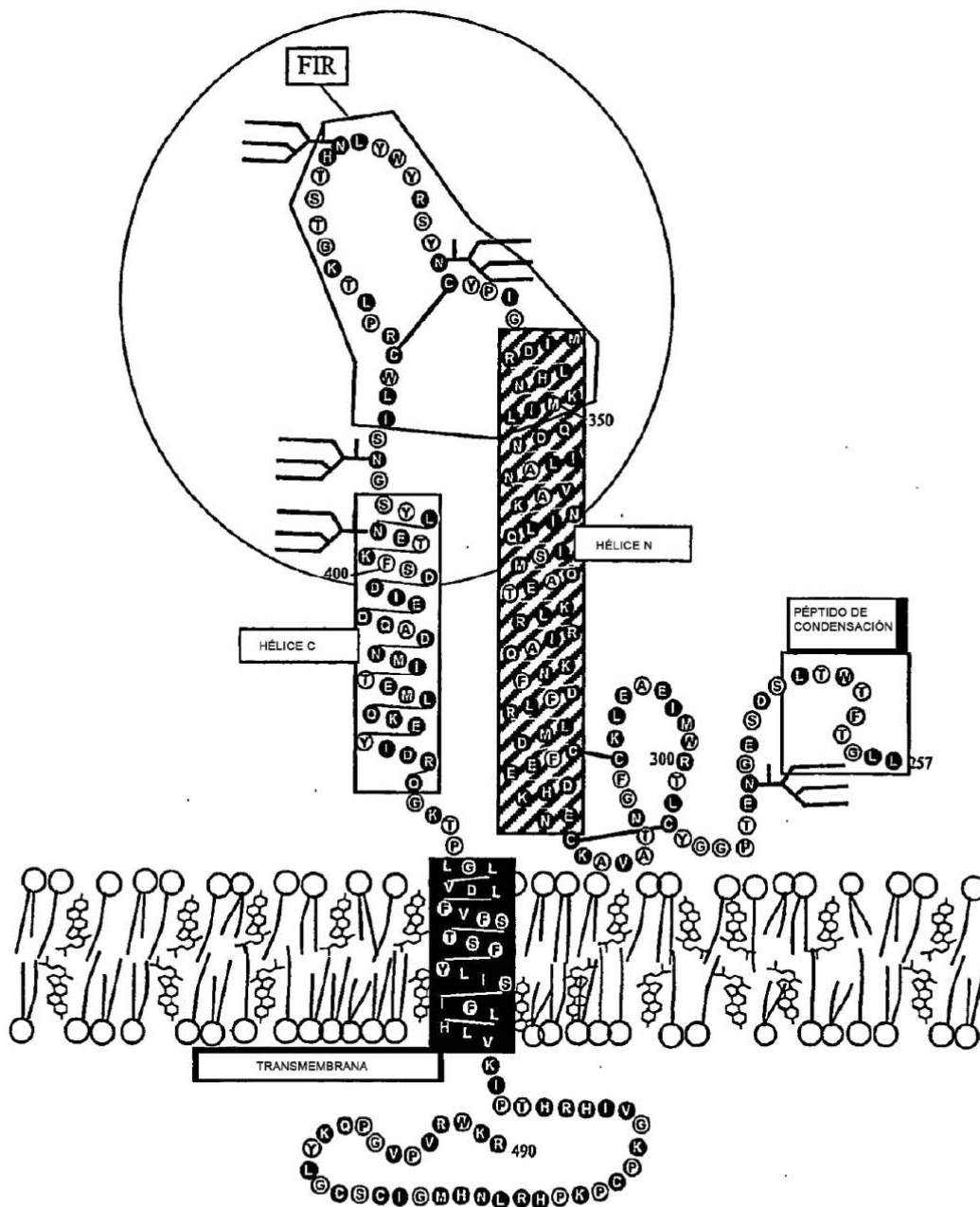
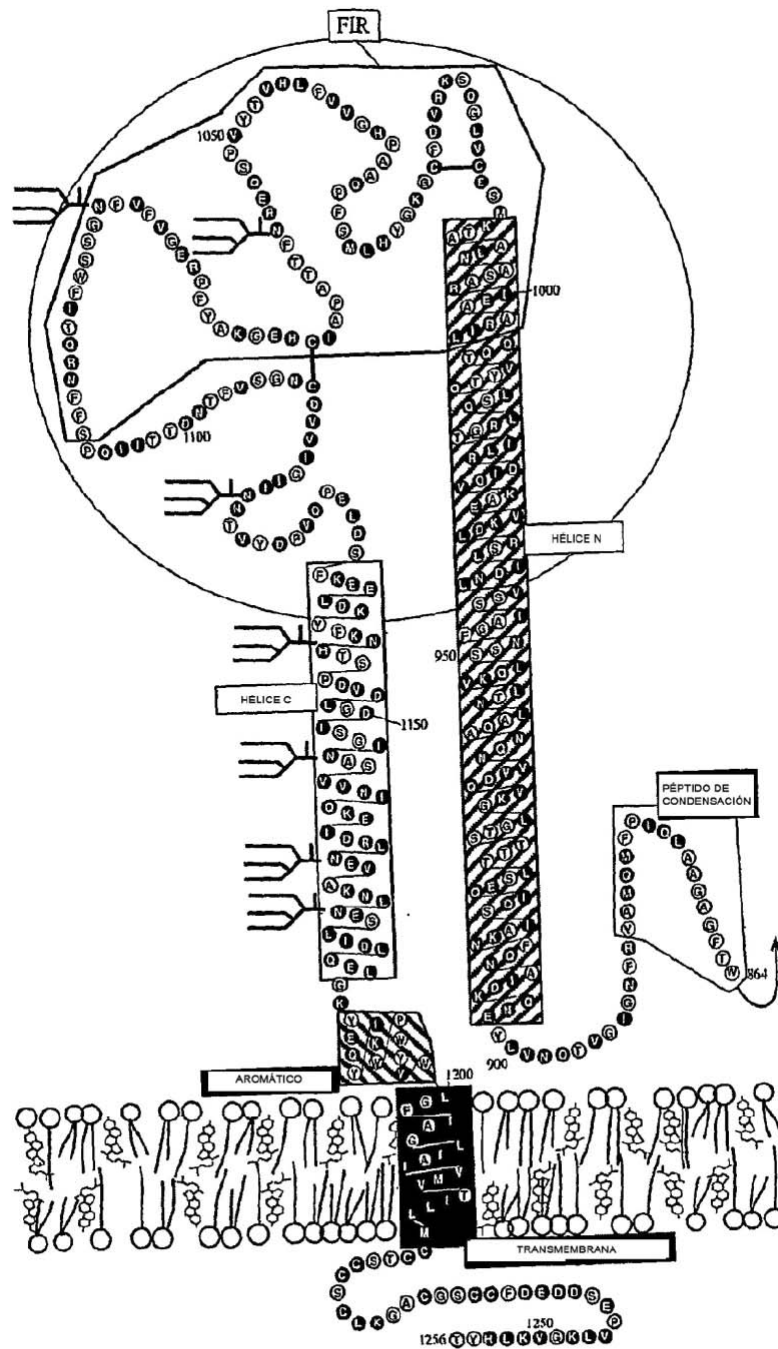


Figura 1



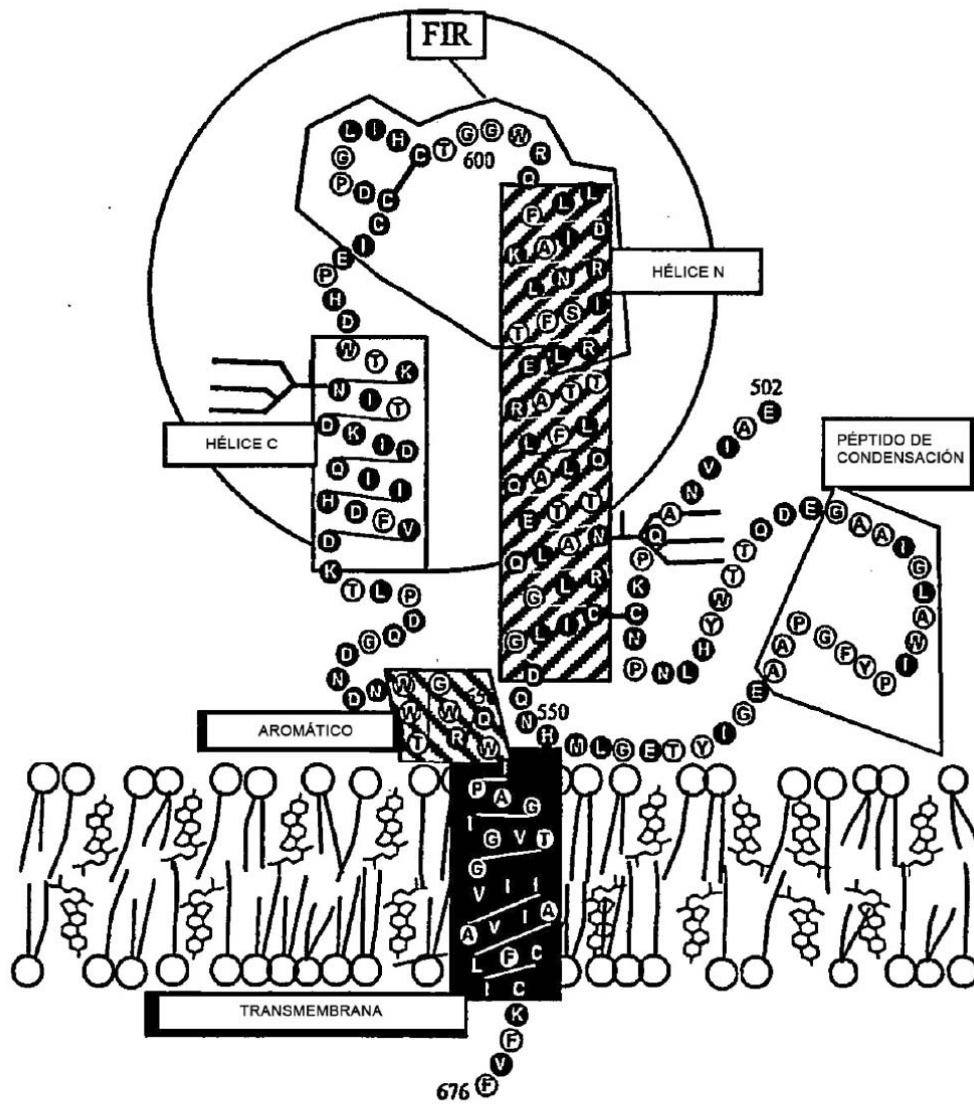
GP2 de virus LASSA

Figura 2



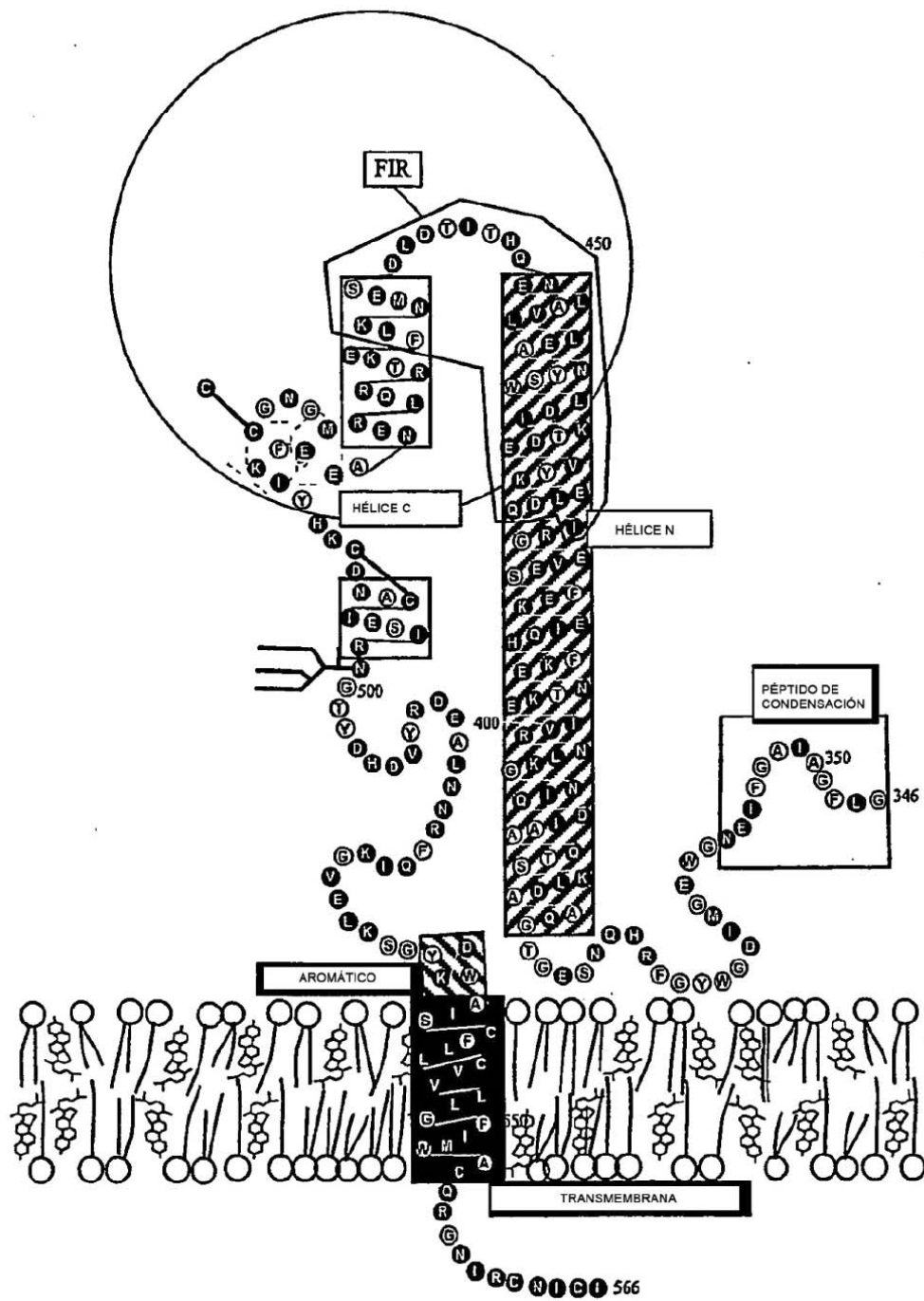
S de CoV de SARS

Figura 3



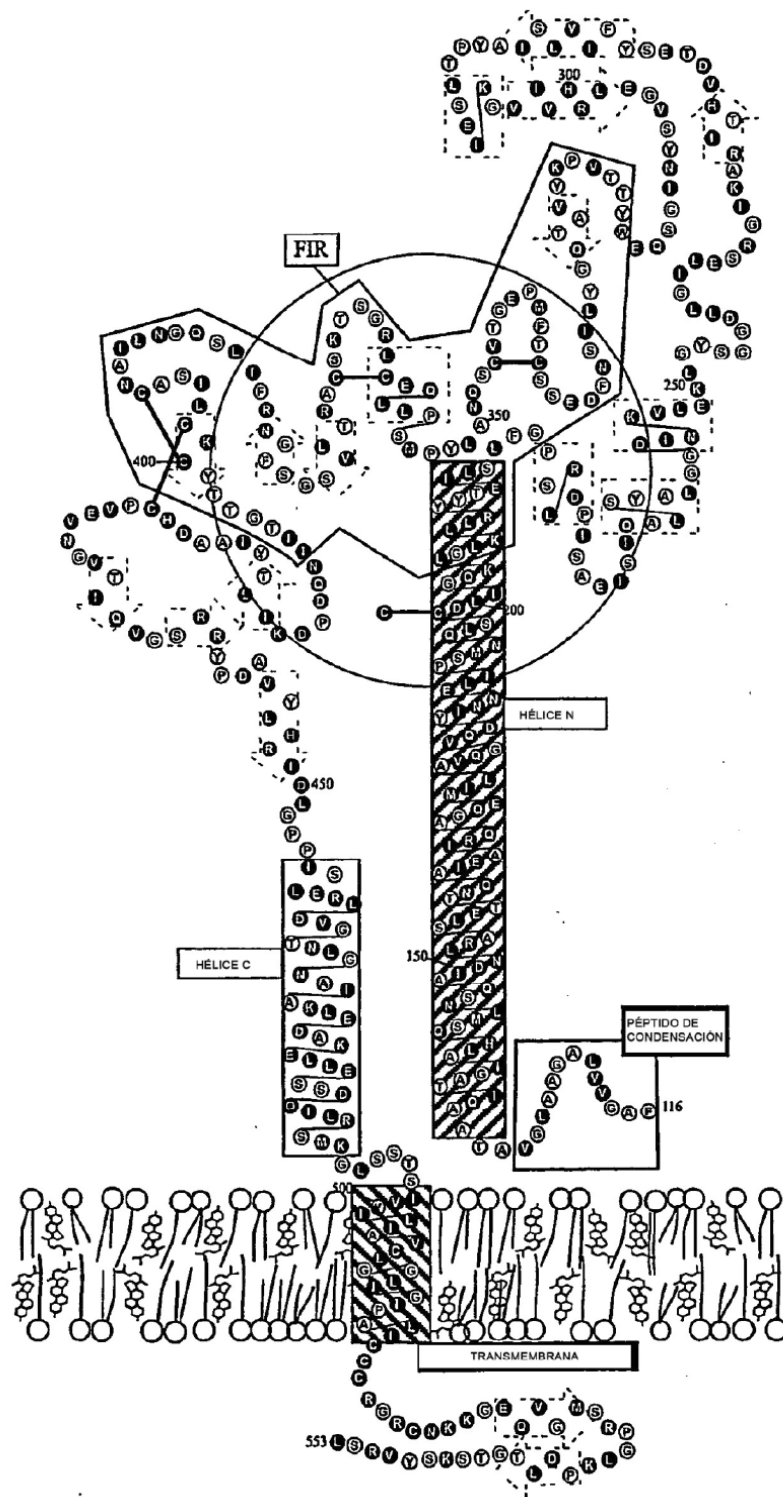
GP2 de virus Ébola

Figura 4



HA2 de virus INFLUENZA

Figura 5



F1 de virus del sarampión

Figura 6

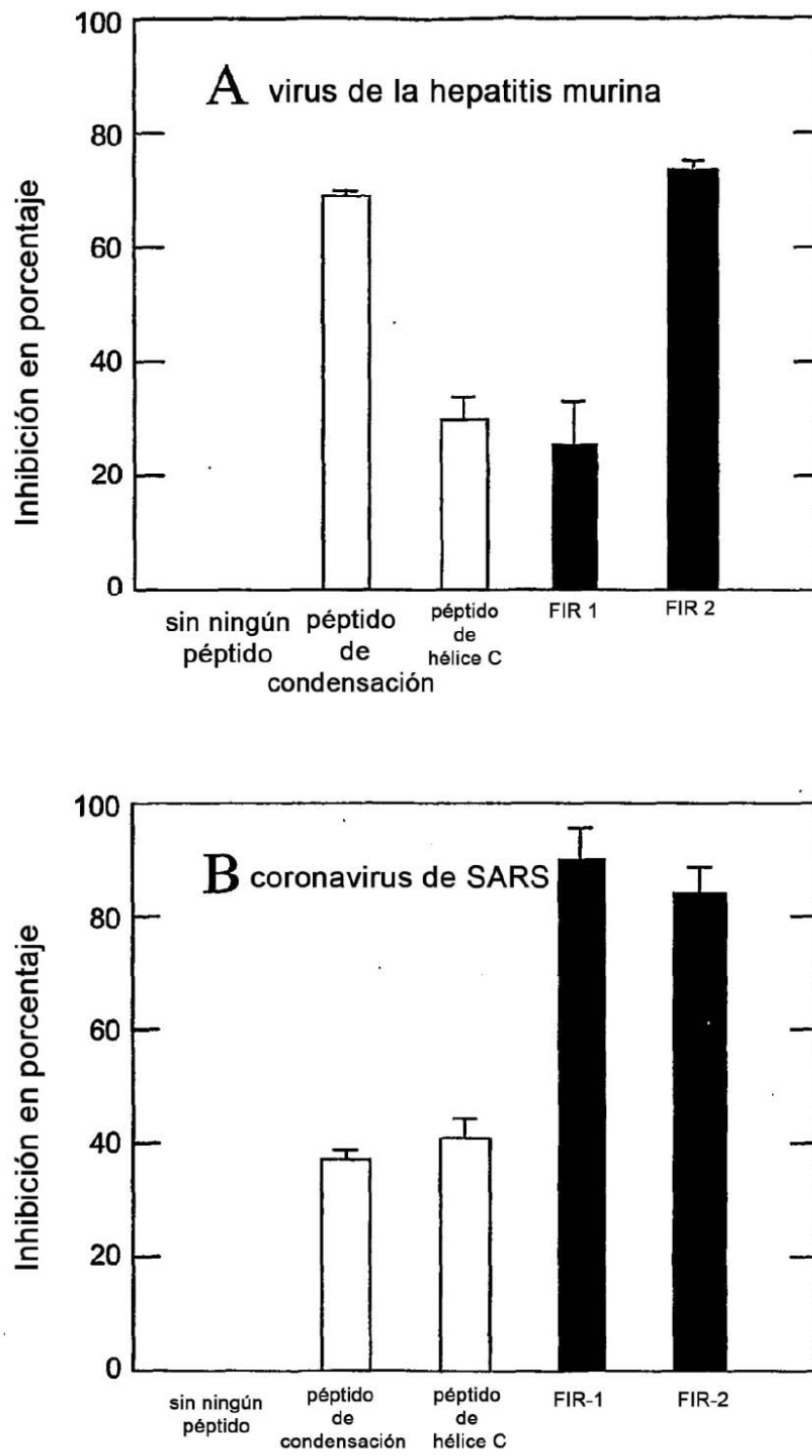


Figura 8

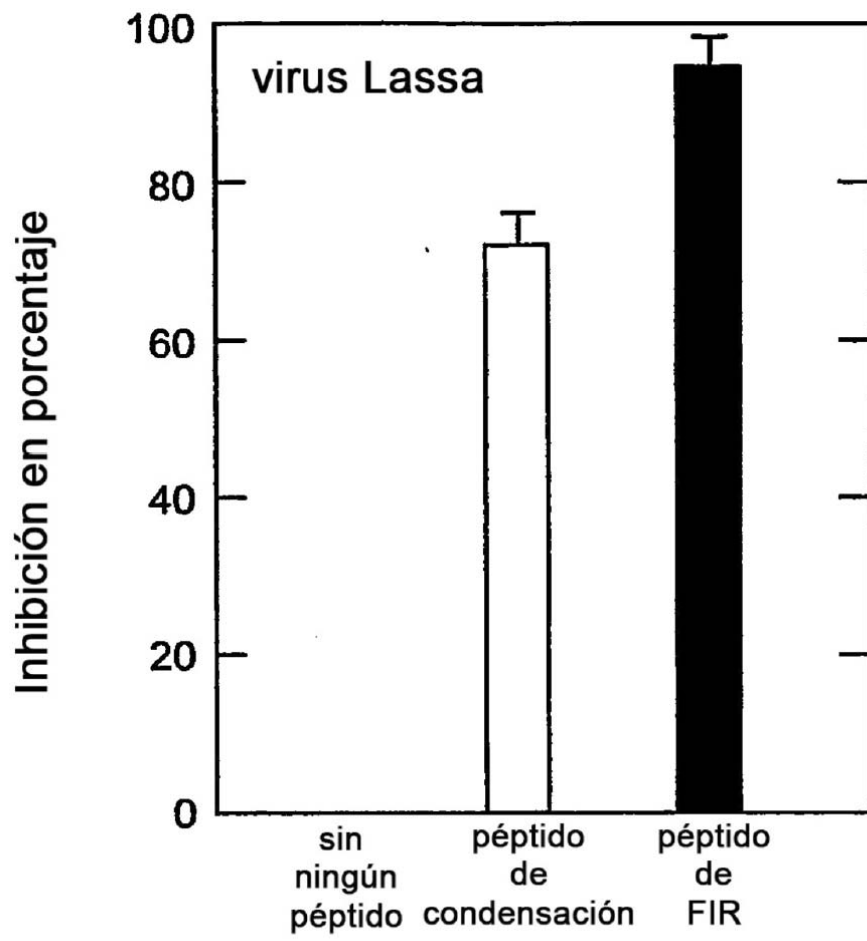


Figura 9