

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 085**

51 Int. Cl.:

C07K 14/405 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2016 PCT/US2016/017267**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2016 WO16130628**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2016 E 16710345 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3256486**

54 Título: **Mutantes de griffithsina**

30 Prioridad:

10.02.2015 US 201562114217 P

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

28.08.2020

73 Titular/es:

**THE U.S.A. AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (33.3%)
Office of Technology Transfer, National Institutes of Health, 6011 Executive Boulevard, Suite 325, MSC 7660
Bethesda, MD 20892-7660, US;
UNIVERSITY OF LOUISVILLE RESEARCH FOUNDATION, INC. (33.3%) y
UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION (33.3%)**

72 Inventor/es:

**O'KEEFE, BARRY R.;
MOULAEI, TIHOUSH;
PALMER, KENNETH E.;
ROHAN, LISA C.;
FUQUA, JOSHUA L. y
KRAMZER, LINDSAY, F.**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 781 085 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

Mutantes de griffithsina

5 **Antecedentes de la invención**

La griffithsina es una potente proteína antivírica con actividad contra VIH y otros virus (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 7.884.178, 8.008.729 y 8.394.764; Mori *et al.*, J. Biol. Chem., 280: 9345-9353 (2005); el documento WO 2005/118627 A2; Ziolkowska *et al.*, Structure, 14: 1127-35 (2006); O'Keefe *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 106: 6099-104 (2009); O'Keefe *et al.*, J. Virol. 84: 2511-21 (2010); y Moulaei *et al.*, Structure, 18: 1104-15 (2010); el documento US 2014/274883 A1).

Sigue existiendo la necesidad de compuestos de griffithsina adicionales con propiedades mejoradas.

15 **Breve resumen de la invención**

La invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SLTHRKFGGSGGSPFSGLSIAVRSGSILDIIIDGVHHGGSGGNLSPTFTFGSGEYISNX₁TIRSGDYIDNISFX₂TN X₃GRRFGPYGGSGGSANTLSNVKVIQINGX₄X₅GDILDSLD X₆YYX₇QY (SEQ ID NO: 1), en la que X₁ puede ser M o V, X₂ puede ser E o Q, X₃ puede ser M, A, K, V, F, L, I, Q, R o G, X₄ puede ser S o R, X₅ puede ser A o S, X₆ puede ser I o F y X₇ puede ser E o Q siempre que SEQ ID NO: 1 no comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, así como un conjugado que comprende el polipéptido y al menos un componente efector. También se proporcionan moléculas de ácido nucleico que codifican para los polipéptidos y conjugados, vectores que comprenden las moléculas de ácido nucleico, células que comprenden las moléculas de ácido nucleico o vectores, así como composiciones que comprenden los polipéptidos, conjugados, moléculas de ácido nucleico, vectores y células.

La invención también proporciona estos polipéptidos y conjugados, vectores que comprenden las moléculas de ácido nucleico, células que comprenden las moléculas de ácido nucleico o vectores, así como composiciones que comprenden los polipéptidos, conjugados, moléculas de ácido nucleico, vectores y células para su uso en un método de inhibición de una infección vírica (por ejemplo, VIH) en una célula o huésped, que comprende administrar los polipéptidos, conjugados, moléculas de ácido nucleico, vectores, células o composiciones, de manera que se inhibe la infección vírica. La invención también proporciona un método de inhibición de una infección vírica (por ejemplo, VIH) en una muestra biológica o un objeto inanimado, que comprende administrar los polipéptidos, conjugados, moléculas de ácido nucleico, vectores, células o composiciones, de manera que se inhibe la infección vírica.

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona polipéptidos de griffithsina modificados con propiedades mejoradas, tales como oxidación de metionina reducida, semivida aumentada, solubilidad mejorada y biodisponibilidad mejoradas a diferentes intervalos de pH.

Los polipéptidos de griffithsina modificados pueden tener una mutación en la posición 78 (por ejemplo, una mutación Met-Ala) en relación con la secuencia de griffithsina de tipo natural (SEQ ID NO: 2) que elimina la posibilidad de oxidación de metionina en esta posición expuesta al disolvente. Esto impide la oxidación de la proteína y aumenta la semivida utilizable de formulaciones de griffithsina. Los polipéptidos de griffithsina modificados pueden contener un aminoácido en la posición 78 en relación con la secuencia de griffithsina de tipo natural (SEQ ID NO: 2) que no está cargada y no contiene azufre. Los aminoácidos a modo de ejemplo incluyen Ala, Lys, Val, Gly, Leu, Ile y Phe. En una realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15. En otras realizaciones, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 o 17.

Alternativamente, los polipéptidos de griffithsina modificados pueden contener un aminoácido en la posición 78 en relación con la secuencia de griffithsina de tipo natural (SEQ ID NO: 2) que está cargada, tal como un aminoácido básico (por ejemplo, Glu), lo que eliminaría la oxidación de Met y cambiaría el pI de los polipéptidos de griffithsina modificados haciéndolos más solubles a pH ácido. En una realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

Los polipéptidos de griffithsina modificados también pueden contener mutaciones que cambian el punto isoeléctrico de la proteína (por ejemplo, en las posiciones 75, 78, y 119) y alteran su solubilidad en diversos intervalos de pH (por ejemplo, en las posiciones 106 y 107) permitiendo una liberación mejorada del producto. Adicionalmente, los polipéptidos de griffithsina modificados pueden contener mutaciones en las posiciones 61 y 116, que están relacionadas con la oxidación de metionina.

Aunque sin querer restringirse a ninguna teoría particular, alterar el punto isoeléctrico (es decir, el pH al cual una molécula particular no porta carga eléctrica neta) de los polipéptidos de griffithsina modificados puede optimizar la biodisponibilidad de los polipéptidos de griffithsina modificados en diferentes compartimentos del cuerpo (por ejemplo, cavidad nasal, pulmón, intestino, intestino delgado, colon, sangre, vagina y recto). El pH de griffithsina de tipo natural de SEQ ID NO: 2 es de 5,1. Sin embargo, el pH de la cavidad nasal es de aproximadamente 5,5-6,5, el pH del pulmón es de aproximadamente 7,3 a 7,5, el pH del intestino es de aproximadamente 1 a 3, el pH del intestino delgado es de aproximadamente 5,5 a 7,5, el pH del colon es de aproximadamente 5,5 a 7, el pH de la sangre es de aproximadamente 7,3 a 7,5, el pH del fluido vaginal es de aproximadamente 3,8 a 4,5 y el pH del fluido rectal es de aproximadamente 7 a 8. Al manipular el pl de griffithsina a través de mutación, su pl puede desplazarse lejos del pH de los diversos compartimentos y de ese modo aumentar la biodisponibilidad de griffithsina en esos compartimentos.

En particular, la invención proporciona polipéptidos mutantes de griffithsina que comprenden, consisten esencialmente en o consisten en la secuencia de aminoácidos de SLTHRKFSGSGSPFSGLSIAVRSGSILDALIIDGVHHGGSGGNLSPTFTFGSGEYISNX₁TIRSGDYIDNISFX₂TN X₃GRRFGPYGGSGGSANTLSNVKVIQINGX₄X₅GDILDSLD X₆YYX₇QY (SEQ ID NO: 1), en la que X₁ puede ser M o V, X₂ puede ser E o Q, X₃ puede ser M, A, K, V, F, L, I, Q, R o G, X₄ puede ser S o R, X₅ puede ser A o S, X₆ puede ser I o F y X₇ puede ser E o Q siempre que SEQ ID NO: 1 no comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

En una primera realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 (correspondiente al mutante dVQK). La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ de SEQ ID NO: 1 son V, Q, K, S, A, I y E, respectivamente.

En una segunda realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (correspondiente al mutante dVQKR). La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ de SEQ ID NO: 1 son V, Q, K, R, A, I y E, respectivamente.

En una tercera realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (correspondiente al mutante dVQKFQ). La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ de SEQ ID NO: 1 son V, Q, K, S, A, F y Q, respectivamente.

En una cuarta realización, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (correspondiente al mutante dQKR). La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ de SEQ ID NO: 1 son M, Q, K, R, A, I y E, respectivamente.

En realizaciones adicionales, el polipéptido mutante de griffithsina comprende, consiste esencialmente en o consiste en:

(i) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ son M, Q, K/V/A, S, A, I y E, respectivamente (correspondiente a SEQ ID NO: 11);

(ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ son M, Q, K, S, A, I y Q, respectivamente (correspondiente a SEQ ID NO: 12);

(iii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ son V, Q, K, S, A, I y Q, respectivamente (correspondiente a SEQ ID NO: 13); o

(iv) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆ y X₇ son M, Q, K, S, A, F y Q, respectivamente (correspondiente a SEQ ID NO: 14).

Los puntos isoeléctricos de varios polipéptidos mutantes de griffithsina se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 1.

Mutaciones	SEQ ID NO	pI
Ninguna (tipo natural)	2	5,73
M61V, E75Q, M78K	3	6,77
M61V, E75Q, M78K, S106R	5	7,47
M61V, E75Q, M78K, I116F, E119Q	7	7,47

E75Q, M78K, S106R	9	7,47
E75Q, M78K/V/A	11	6,77
E75Q, M78K, E119Q	12	7,47
E75Q, M61V, M78K, E119Q	13	7,47
E75Q, M61V, M78K, I116F, E119Q	14	7,47

Si se desea, los polipéptidos mutantes de griffithsina de la invención (incluyendo fragmentos antivíricos, proteínas de fusión, constructos y conjugados) pueden modificarse, por ejemplo, mediante glicosilación, amidación, carboxilación o fosforilación, o mediante la creación de sales de adición de ácido, amidas, ésteres, en particular ésteres C-terminales, y derivados de N-acilo de las proteínas de la invención. Los polipéptidos también pueden modificarse para crear derivados de proteína formando complejos covalentes o no covalentes con otros restos según métodos conocidos en la técnica. Pueden prepararse complejos unidos covalentemente uniendo los restos químicos a grupos funcionales en las cadenas laterales de aminoácidos que comprenden las proteínas, o en el extremo N- o C-terminal. Deseablemente, tales modificaciones y conjugaciones no afectan de manera adversa a la actividad de los polipéptidos. Mientras que tales modificaciones y conjugaciones pueden tener mayor o menor actividad, la actividad deseablemente no se anula y es característica del polipéptido inalterado.

Los polipéptidos mutantes de griffithsina pueden contener inserciones, deleciones, sustituciones o adiciones adicionales. Sin embargo, en una realización preferida, los polipéptidos mutantes de griffithsina forman dímeros como griffithsina de tipo natural. En otras palabras, los cambios en la secuencia de aminoácidos de griffithsina de tipo natural no dan como resultado la pérdida de la capacidad de los polipéptidos mutantes de griffithsina para formar dímeros (es decir, griffithsina monomérica). Se ha notificado que los dímeros de Griffithsina tienen una potencia aumentada (por ejemplo, potencia aumentada aproximadamente 1000 veces) en comparación con monómeros de griffithsina (Moulaei *et al.* Structure, 18(9): 1104-1115 (2010)). Por tanto, en una realización preferida, los polipéptidos mutantes de griffithsina no contienen una sustitución en Leu2 (por ejemplo, Leu2Ser) en relación con la secuencia de aminoácidos de griffithsina (SEQ ID NO: 2) y/o una inserción de dos o más residuos entre Ser16 y Gly17 (por ejemplo, (Gly-Ser)_n, en donde n es 1 o 2) en relación con la secuencia de aminoácidos de griffithsina (SEQ ID NO: 2) sin compensar mutaciones/inserciones que permitirían versiones multiméricas de monómeros de griffithsina en la secuencia (es decir, tandémeros de griffithsina). Aunque sin querer restringirse a ninguna teoría particular, se cree que las mutaciones L2S y (Gly-Ser)_n están relacionadas con estructuras de griffithsina monoméricas obligadas. Adicional o alternativamente, los polipéptidos mutantes de griffithsina pueden incluir modificaciones N-terminales, tales como N-acetilación (por ejemplo, una serina N-terminal acetilada en el grupo amino). La N-acetilación aumenta la estabilidad de aminopeptidasas (O'Keefe *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 106(15): 6099-6104 (2009)).

Los polipéptidos (y fragmentos, proteínas de fusión y constructos) pueden prepararse mediante cualquiera de varias técnicas convencionales. El polipéptido puede aislarse o purificarse a partir de una fuente recombinante. Por ejemplo, un fragmento de ADN que codifica para un polipéptido deseado puede subclonarse en un vector apropiado usando técnicas genéticas moleculares bien conocidas. El fragmento puede transcribirse y el polipéptido traducirse posteriormente *in vitro*. Pueden emplearse kits disponibles comercialmente. Puede emplearse opcionalmente la reacción en cadena de la polimerasa en la manipulación de ácidos nucleicos.

Tales polipéptidos también pueden sintetizarse usando un sintetizador de péptidos automatizado según métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, el polipéptido (y fragmentos, proteínas de fusión y constructos) puede sintetizarse usando técnicas de síntesis de péptidos convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, tal como se resume en Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, (Springer-Verlag, Heidelberg: 1984)). En particular, el polipéptido puede sintetizarse usando el procedimiento de síntesis en fase sólida (véase, por ejemplo, Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85: 2149-54 (1963); Barany *et al.*, Int. J. Peptide Protein Res., 30: 705-739 (1987); y la patente estadounidense n.º 5.424.398). Si se desea, esto puede hacerse usando un sintetizador de péptidos automatizado. La eliminación de los grupos bloqueantes de aminoácidos t-butiloxicarbonilo (t-BOC) o 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) y la separación del polipéptido de la resina pueden lograrse mediante, por ejemplo, tratamiento con ácido a temperatura reducida. La mezcla que contiene proteína puede extraerse entonces, por ejemplo, con dietil éter, para eliminar compuestos orgánicos no peptídicos, y el polipéptido sintetizado puede extraerse del polvo de resina (por ejemplo, con ácido acético a aproximadamente el 25% p/v). Tras la síntesis del polipéptido, puede realizarse purificación adicional (por ejemplo, usando HPLC) opcionalmente con el fin de eliminar cualquier proteína incompleta, polipéptido, péptido o aminoácido libre. Puede realizarse análisis de aminoácidos y/o HPLC sobre el polipéptido sintetizado para validar su identidad.

Para otras aplicaciones según la invención, puede ser preferible producir el polipéptido como parte de una proteína de fusión más grande, o bien mediante conjugación química o bien a través de medios genéticos, tal como conocen los expertos en la técnica. En este sentido, la invención también proporciona una proteína de fusión que comprende el polipéptido mutante de griffithsina (o fragmento del mismo) y una o más de otras proteínas que tienen cualquier función efectora o propiedad deseada, tales como propiedades citotóxicas o

inmunológicas, u otras propiedades deseadas, tales como para facilitar el aislamiento, la purificación, el análisis o la estabilidad de la proteína de fusión.

También se proporciona un conjugado que comprende el polipéptido mutante de griffithsina acoplado a al menos un componente efector, que puede ser igual o diferente. El componente efector puede ser polietilenglicol, dextrano, albúmina, un reactivo inmunológico, una toxina, un agente antivírico o una matriz de soporte sólido. "Reactivo inmunológico" incluye, pero no se limita a, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, un fragmento de anticuerpo F(ab')₂, Fab', Fab, Fv, scFv, dsFv, eAd o Fc), una inmunoglobulina y un elemento de reconocimiento inmunológico. Un elemento de reconocimiento inmunológico es un elemento, tal como un péptido, por ejemplo, la secuencia FLAG de una proteína de fusión polipéptido mutante de griffithsina recombinante-FLAG, que facilita, a través de reconocimiento inmunológico, el aislamiento y/o la purificación y/o el análisis de la proteína o el péptido al que se une. Un reactivo inmunológico también puede ser un péptido inmunogénico, que puede fusionarse al polipéptido mutante de griffithsina para potenciar una respuesta inmunitaria.

En este sentido, la invención proporciona un conjugado antivírico que comprende el polipéptido mutante de griffithsina o fragmento del mismo unido a un virus o glicoproteína de la envuelta vírica. La proteína de fusión de polipéptido mutante de griffithsina es un tipo de conjugado de polipéptido mutante de griffithsina, en el que el polipéptido mutante de griffithsina se acopla a una o más de otras proteínas que tienen cualquier función efectora o propiedad deseada, tales como propiedades citotóxicas o inmunológicas, u otras propiedades deseadas, tales como para facilitar el aislamiento, la purificación o el análisis de la proteína de fusión o aumentar la estabilidad o semivida *in vivo* de la proteína de fusión. El polipéptido mutante de griffithsina también puede unirse a un resto químico que permite el reconocimiento, aislamiento, purificación y/o análisis de la proteína o péptido. Un ejemplo de un resto químico de este tipo es una etiqueta de His.

Una "toxina" puede ser, por ejemplo, exotoxina de *Pseudomonas*. Un "agente antivírico" puede ser AZT, ddI, ddC, 3TC ganciclovir, didesoxinucleósidos fluorados, nevirapina, R82913, Ro 31-8959, BI-RJ-70, aciclovir, interferón α , sCD4 recombinantes, michelaminas, calanolidas, nonoxinol-9, gosipol y derivados del mismo, gramicidina, amantadina, rimantadina e inhibidores de neuraminidasas, cianovirina-N o un homólogo o derivado funcional de la misma (véase, por ejemplo, la patente estadounidense 5.843.882), o escitovirina o un homólogo o derivado funcional de la misma (véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses 7.494.798 y 8.067.530). Una "matriz de soporte sólido" puede ser una perla magnética, una matriz sin retención, una esponja, una endoprótesis, una placa de cultivo, o una matriz que comprende un dispositivo anticonceptivo, tal como un condón, diafragma, tapón cervical, anillo vaginal o esponja anticonceptiva. En una realización alternativa, una matriz de soporte sólido puede ser un implante para implantación quirúrgica en un huésped y, si es apropiado, retirada posterior.

Los conjugados pueden comprender además los polipéptidos mutantes de griffithsina acoplados a más de una molécula efectora, cada una de las cuales, opcionalmente, puede tener funciones efectoras diferentes (por ejemplo, tal como una molécula de toxina (o un reactivo inmunológico) y una molécula de polietilenglicol (o dextrano o albúmina)). Diversas aplicaciones y usos de proteínas y péptidos funcionales unidos a o inmovilizados sobre una matriz de soporte sólido, se ejemplifican más específicamente para proteínas o péptidos conjugados con poli(etilenglicol) en una revisión de Holmberg *et al.* (En Poly(Etilene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications, Harris, ed., Plenum Press: Nueva York (1992), págs. 303-324).

La invención también proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica para el polipéptido mutante de griffithsina o proteína de fusión del mismo. Por ejemplo, la invención proporciona una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4, 6, 8 o 10.

Usando una secuencia codificante de ácido nucleico apropiada (por ejemplo, ADN), los polipéptidos mutantes de griffithsina, proteínas de fusión, constructos y conjugados de la invención pueden prepararse mediante técnicas de ingeniería genética (para antecedentes generales véanse, por ejemplo, Nicholl, en *An Introduction to Genetic Engineering*, Cambridge University Press: Cambridge (1994), págs. 1-5 & 127-130; Steinberg *et al.*, en *Recombinant DNA Technology Concepts and Biomedical Applications*, Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ (1993), págs. 81-124 & 150-162; Sofer en *Introduction to Genetic Engineering*, Butterworth-Heinemann, Stoneham, MA (1991), págs. 1-21 & 103-126; Old *et al.*, en *Principles of Gene Manipulation*, Blackwell Scientific Publishers: Londres (1992), págs. 1-13 & 108-221; y Emtage, en *Delivery Systems for Peptide Drugs*, Davis *et al.*, eds., Plenum Press: Nueva York (1986), págs. 23-33). Por ejemplo, puede incorporarse ADN que codifica para los polipéptidos mutantes de griffithsina, proteínas de fusión, constructos y conjugados de la invención en un vector de expresión apropiado y administrarse a un organismo que sintetiza polipéptidos apropiado (por ejemplo, *E. coli*, *S. cerevisiae*, *P. pastoris*, u otras células de mamífero, vegetales, de insecto, de levadura o bacterianas), en donde el ADN, bajo el control de un promotor endógeno o exógeno, puede transcribirse y traducirse se manera apropiada. Alternativamente, el vector de expresión puede administrarse a una planta o animal, por ejemplo, para la producción a gran escala (véanse, por ejemplo, Fischer *et al.*, *Transgenic Res.*, 9(4-5): 279-299 (2000); Fischer *et al.*, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 14: 83-92 (2000); deWilde *et al.*, *Plant Molec. Biol.*, 43: 347-359 (2000); Houdebine, *Transgenic Research*, 9: 305-320 (2000); Brink *et al.*, *Theriogenology*, 53:

139-148 (2000); Pollock *et al.*, J. Immunol. Methods, 231: 147-157 (1999); Conrad *et al.*, Plant Molec. Biol., 38: 101-109 (1998); Staub *et al.*, Nature Biotech., 18: 333-338 (2000); McCormick *et al.*, PNAS USA, 96: 703-708 (1999); Zeitlin *et al.*, Nature Biotech., 16: 1361-1364 (1998); Tacker *et al.*, Microbes and Infection, 1: 777-783 (1999); Tacket *et al.*, Nature Med., 4(5): 607-609 (1998); y Methods in Biotechnology, Recombinant Proteins from Plants, Production and Isolation of Clinically Useful Compounds, Cunningham y Porter, eds., Humana Press: Totowa, Nueva Jersey (1998)). Tales vectores de expresión (incluyendo, pero sin limitarse a, vectores de fago, cósmido, víricos y de plásmido) los conocen los expertos en la técnica, ya que son reactivos y técnicas apropiadas para la transferencia génica (por ejemplo, transfección, electroporación, transducción, microinyección, transformación, etc.). Si los polipéptidos mutantes de griffithsina van a producirse de manera recombinante en células eucariotas aisladas o en un organismo eucariota, tal como una planta (véanse las referencias anteriores y también Methods in Biotechnology, Recombinant Proteins from Plants, Production and Isolation of Clinically Useful Compounds, Cunningham y Porter, eds., Humana Press: Totowa, Nueva Jersey (1998)), cualquier sitio de glicosilación en los polipéptidos se vuelve resistente a la glicosilación (por ejemplo, los sitios de glicosilación unidos a N en las posiciones 45, 60, 71 y/o 104 en relación con la secuencia de aminoácidos de griffithsin (SEQ ID NO: 2). Posteriormente, el polipéptido producido de manera recombinante puede aislarse y purificarse usando técnicas convencionales conocidas en la técnica (por ejemplo, cromatografía, centrifugación, solubilidad diferencial, isoelectroenfoque, etc.), y someterse a ensayo para detectar la actividad antivírica.

En este sentido, la invención proporciona un vector que comprende la molécula de ácido nucleico que codifica para el constructo, proteína de fusión o polipéptido mutante de griffithsina. El vector puede estar dirigido a un receptor de superficie celular si así se desea. Una molécula de ácido nucleico tal como se describió anteriormente puede clonarse en cualquier vector adecuado y puede usarse para transformar o transfectar cualquier huésped adecuado. La selección de vectores y métodos para construirlos los conocen comúnmente los expertos habituales en la técnica y se describen en referencias técnicas generales. Deseablemente, el vector comprende secuencias reguladoras, tales como codones de iniciación y terminación de la transcripción y traducción, que son específicos para el tipo de huésped (por ejemplo, bacteria, hongo, planta o animal) en el que va a introducirse el vector, según sea apropiado y teniendo en consideración si el vector es ADN o ARN. Preferiblemente, el vector comprende secuencias reguladoras que son específicas para el género del huésped. Lo más preferiblemente, el vector comprende secuencias reguladoras que son específicas para la especie del huésped.

Pueden prepararse constructos de vector, que son circulares o lineares, para que contengan una molécula de ácido nucleico completa tal como se describió anteriormente o una porción de la misma ligada a un sistema de replicación funcional en una célula huésped procariota o eucariota. Pueden derivarse sistemas de replicación de ColE1, plásmido 2 μ , λ , SV40, virus del papiloma bovino, y similares.

Además del sistema de replicación y el ácido nucleico insertado, los constructos de vector pueden incluir uno más genes marcadores, que permiten la selección de huéspedes transformados o transfectados. Los genes marcadores incluyen resistencia a biocidas, por ejemplo, resistencia a antibióticos, metales pesados, etc., complementación en un huésped auxótrofo para proporcionar prototrofia, y similares.

Un experto habitual en la técnica apreciará que cualquiera de varios vectores conocidos en la técnica son adecuados para su uso en la invención. Los vectores adecuados incluyen los diseñados para propagación y expansión o para expresión o ambos. Los ejemplos de vectores adecuados incluyen, por ejemplo, plásmidos, complejos de plásmido-liposoma, y vectores víricos, por ejemplo, vectores de poxvirus, vectores basados en parvovirus (es decir, vectores basados en virus adenoasociados (VAA)), vectores de retrovirus, vectores basados en virus del herpes simple (VHS) y vectores a base de adenovirus. Cualquiera de estos constructos de expresión pueden prepararse usando técnicas de ADN recombinante convencionales descritas en, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2^a edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989); Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates y John Wiley & Sons, Nueva York, N. Y. (1994); Fischer *et al.*, Transgenic Res., 9(4-5): 279-299 (2000); Fischer *et al.*, J. Biol. Regul. Homeost. Agents, 14: 83-92 (2000); deWilde *et al.*, Plant Molec. Biol., 43: 347-359 (2000); Houdebine, Transgenic Research, 9: 305-320 (2000); Brink *et al.*, Theriogenology, 53: 139-148 (2000); Pollock *et al.*, J. Immunol. Methods, 231: 147-157 (1999); Conrad *et al.*, Plant Molec. Biol., 38: 101-109 (1998); Staub *et al.*, Nature Biotech., 18: 333-338 (2000); McCormick *et al.*, PNAS USA, 96: 703-708 (1999); Zeitlin *et al.*, Nature Biotech., 16: 1361-1364 (1998); Tacker *et al.*, Microbes and Infection, 1: 777-783 (1999); y Tacket *et al.*, Nature Med., 4(5): 607-609 (1998). Los ejemplos de vectores de clonación incluyen la serie pUC, la serie pBluescript (Stratagene, LaJolla, CA), la serie pET (Novagen, Madison, WI), la serie pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suecia) y la serie pEX (Clonetech, Palo Alto, CA). También pueden usarse vectores de bacteriófago, tales como λ GT10, λ GT11, λ ZapII (Stratagene), λ EMBL4 y λ NM1149. Los ejemplos de vectores de expresión de plantas incluyen pBI101, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 y pBIN19 (Clonetech, Palo Alto, CA). Los ejemplos de vectores de expresión de animales incluyen pEUK-C1, pMAM y pMAMneo (Clonetech). Cuando el vector es un plásmido (por ejemplo plásmido de ADN), el plásmido puede complejarse con quitosano.

Cuando el vector es para su administración a un huésped (por ejemplo, humano), el vector tiene preferiblemente

una baja eficiencia de replicación en una célula diana (por ejemplo, se producen no más de aproximadamente 1 progenie por célula o, más preferiblemente, no más de 0,1 progenies por célula). La eficacia de replicación puede determinarse fácilmente de manera empírica determinando el título del virus tras la infección de la célula diana.

5 Un vector de expresión puede comprender un promotor nativo o normativo operativamente unido a la molécula de ácido nucleico. La selección de promotores, por ejemplo, fuertes, débiles, inducibles, específicos de tejido y específicos de desarrollo, está dentro de la experiencia en la técnica. De manera similar, la combinación de una molécula de ácido nucleico tal como se describió anteriormente con un promotor también está dentro de la experiencia en la técnica.

10 La molécula de ácido nucleico puede subclonarse como parte de una fusión génica. En una fusión génica transcripcional, el ADN o ADNc contendrá su propia secuencia de control que dirige la producción apropiada de proteína (por ejemplo, sitio de unión al ribosoma, codón de iniciación de la traducción, etc.), y las secuencias de control de la transcripción (por ejemplo, elementos promotores y/o potenciadores) las proporcionará el vector. En una fusión génica traduccional, las secuencias de control de la transcripción así como al menos algunas de las secuencias de control de la traducción (es decir, el codón de iniciación de la traducción) las proporcionará el vector. En el caso de una fusión génica traduccional, se producirá una proteína quimérica.

15 También pueden construirse moléculas de ácido nucleico para proteínas de fusión específicas que contienen el polipéptido mutante de griffithsina más un componente de fusión que confiere atributo(s) deseado(s) adicional(es) a la proteína compuesta. Por ejemplo, puede añadirse una secuencia de fusión para una toxina o reactivo inmunológico para facilitar la purificación y el análisis de la proteína funcional.

20 Pueden construirse específicamente moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, genes) para que codifiquen para proteínas de fusión, que contienen el polipéptido mutante de griffithsina acoplado a una proteína efectora, tal como una toxina o reactivo inmunológico, para el direccionamiento específico a un virus o células infectadas con virus, por ejemplo, VIH y/o células infectadas con VIH. En estos casos, el constructo de polipéptido mutante de griffithsina sirve no solo como agente neutralizante sino también como agente de direccionamiento para dirigir las actividades efectoras de estas moléculas selectivamente contra un virus dado, tales como VIH o influenza. Por tanto, por ejemplo, puede obtenerse un agente terapéutico combinando la función de direccionamiento a VIH o función de direccionamiento a influenza de un polipéptido mutante de griffithsina funcional con una toxina que tiene como objetivo neutralizar virus infecciosos y/o destruyendo células que producen virus infecciosos, tales como VIH o influenza. De manera similar, puede obtenerse un agente terapéutico que combina la función de direccionamiento a virus del polipéptido mutante de griffithsina con las funciones de multivalencia y efectoras de diversas subclases de inmunoglobulina.

25 Pueden prepararse conjugados dirigidos a virus o bien mediante técnicas de ingeniería genética o bien mediante acoplamiento químico del componente de direccionamiento con un componente efector. La técnica más viable o apropiada que va a usarse para construir un conjugado o proteína de fusión que comprende el polipéptido mutante de griffithsina se seleccionará basándose en la consideración de las características de la molécula efectora particular seleccionada para acoplarse al polipéptido mutante de griffithsina. Por ejemplo, con una molécula efectora no proteínica seleccionada, el acoplamiento químico, en vez de técnicas de ingeniería genética, puede ser la única opción viable para crear el conjugado deseado.

30 También se proporciona una célula aislada que comprende el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico o vector. Puede usarse cualquier célula adecuada. Los ejemplos incluyen células huésped, tales como *E. coli* (por ejemplo, *E. coli* Tb-1, TG-2, DH5 α , XL-Blue MRF' (Stratagene), SA2821 y Y1090), *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* (por ejemplo, *P. aeruginosa*), *N. grassa*, células de insecto (por ejemplo, Sf9, Ea4), células de levadura (*S. cerevisiae*), y células derivadas de un mamífero, incluyendo líneas de células humanas. Los ejemplos específicos de células eucariotas adecuadas incluyen células VERO, HeLa, 3T3, de ovario de hámster chino (CHO), W138 BHK, COS-7 y MDCK. Alternativa y preferiblemente, pueden usarse células de un mamífero, tal como un ser humano, que va a tratarse según los métodos descritos en el presente documento, como células huésped. En una realización, la célula es una célula B humana.

35 La célula puede ser una célula de mamífero, bacteria o levadura. Una bacteria preferida es *Lactobacillus* u otro microorganismo comensal. La molécula de ácido nucleico descrita anteriormente, opcionalmente en forma de un vector, puede introducirse en una célula huésped usando técnicas tales como transformación mediada por cloruro de calcio, transducción, conjugación, acoplamiento triparental, DEAE, transfección mediada por dextrano, infección, fusión de membranas con liposomas, bombardeo de alta velocidad con microproyectiles recubiertos con ADN, microinyección directa en células individuales y electroporación. Deseablemente, la célula que comprende el vector o ácido nucleico expresa el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión o conjugado de manera que la secuencia de ácido nucleico se transcribe y se traduce eficientemente por la célula.

40 La invención proporciona además una composición que comprende (i) el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula y (ii) un portador,

excipiente o adyuvante para el mismo. Preferiblemente, el componente (i) de la composición está presente en una cantidad eficaz antivírica y el portador es farmacéuticamente aceptable. Por “cantidad eficaz antivírica” quiere decirse una cantidad suficiente para inhibir la infectividad del virus.

5 El portador puede ser cualquiera de los usados convencionalmente y está limitado solo por consideraciones fisicoquímicas, tales como la solubilidad y falta de reactividad con el agente activo de la invención, y por la vía de administración. Se prefiere que el portador farmacéuticamente aceptable sea uno que es químicamente inerte para el agente activo y uno que no tenga efectos secundarios perjudiciales o toxicidad en las condiciones de uso. Los portadores farmacéuticamente aceptables descritos en el presente documento, por ejemplo, vehículos,
10 adyuvantes, excipientes y diluyentes, los conocen bien los expertos habituales en la técnica y están fácilmente disponibles para el público. Normalmente, la composición, tal como una composición farmacéutica, puede comprender una solución salina fisiológica; dextrosa u otra disolución de sacáridos; o etileno, propileno, polietileno u otro glicol. La composición farmacéutica preferiblemente no comprende manosa o N-acetilglucosamina, ya que estas moléculas pueden interferir con el funcionamiento del agente activo. Adicionalmente,
15 la composición farmacéutica preferiblemente no comprende glucosa, puesto que la unión de griffithsina a gp120 se ve algo inhibida por la glucosa (Mori *et al.*, J. Biol. Chem., 280(10): 9345-9353 (2005)).

Si la composición va a usarse para inducir una respuesta inmunitaria, comprende una cantidad que induce una respuesta inmunitaria del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula
20 de ácido nucleico, vector o célula y puede comprender además un inmunoadyuvante, tal como polielectrolito de polifosfaceno.

La composición puede comprender además al menos un agente activo adicional, tal como un agente antivírico, en una cantidad eficaz antivírica. Los agentes antivíricos adecuados incluyen AZT, ddA, ddl, ddC, 3TC
25 ganciclovir, dideoxínucleósidos fluorados, aciclovir, interferón α , compuestos de análogos no nucleosídicos, tales como nevirapina (Shih *et al.*, PNAS, 88: 9878-9882, (1991)), derivados de TIBO, tales como R82913 (White *et al.*, Antiviral Res., 16: 257-266 (1991)), Ro31-8959, BI-RJ-70 (Merigan, Am. J. Med., 90 (supl. 4A): 8S-17S (1991)), michelaminas (Boyd *et al.*, J. Med. Chem., 37: 1740-1745 (1994)) y calanolidas (Kashman *et al.*, J. Med. Chem., 35: 2735-2743 (1992)), nonoxinol-9, gopisol y derivados y derivados, gramicidina, enfurtida (es decir, T20),
30 cianovirina-N y homólogos funcionales de la misma (Boyd *et al.* (1997), citado anteriormente y patente estadounidense 5.843.882), o escitovirina o un homólogo funcional o derivado del mismo (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 7.494.798 y 8.067.530). Otros compuestos antivíricos a modo de ejemplo incluyen inhibidores de proteasas (véanse R.C. Ogden y C.W. Flexner, eds., Protease Inhibitors in AIDS Therapy, Marcel Dekker, NY (2001)), tales como saquinavir (véase I.B. Duncan y S. Redshaw, en R.C. Ogden y C.W. Flexner,
35 citado anteriormente, págs. 27-48), ritonavir (véase D.J. Kempf, en R.C. Ogden y C.W. Flexner, citado anteriormente, págs. 49-64), indinavir (véase B.D. Dorsey y J.P. Vacca, en R.C. Ogden y C.W. Flexner, citado anteriormente, págs. 65-84), nelfinavir (véase S.H. Reich, en R.C. Ogden y C.W. Flexner, citado anteriormente, págs. 85-100), amprenavir (véase R.D. Tung, en R.C. Ogden y C.W. Flexner, citado anteriormente, págs. 101-118), tenofovir (véase Ferir *et al.*, Virology, 417(2): 253-258 (2011)), maraviroc (véase Ferir *et al.*, Virology,
40 417(2): 253-258 (2011)), agentes de unión a hidratos de carbono (véase Ferir *et al.*, AIDS Res. Hum. Retrovir., 28(11): 1513-23 (2012)), carragenanos y agentes anti-TAT. Si la composición va a usarse para inducir una respuesta inmunitaria, comprende una cantidad que induce una respuesta inmunitaria del agente de la invención y puede comprender además un inmunoadyuvante, tal como polielectrolito de polifosfaceno.

45 La composición (por ejemplo, composición farmacéutica) puede contener otros productos farmacéuticos, tales como viricidas, inmunomoduladores, inmunoestimulantes, antibióticos y potenciadores de la absorción. Los inmunomoduladores e inmunoestimulantes a modo de ejemplo incluyen diversas interleucinas, sCD4, citocinas, preparaciones de anticuerpos, transfusiones de sangre y transfusiones de células. Los antibióticos a modo de ejemplo incluyen agentes antifúngicos, agentes antibacterianos y agentes anti-*Pneumocystis carinii*. Los
50 potenciadores de la absorción a modo de ejemplo incluyen sales biliares y otros tensioactivos, saponinas, ciclodextrinas y fosfolípidos.

El constructo en tándem de mGRFT, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición puede usarse para inhibir una amplia gama de virus (véase, por ejemplo, Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control, Flint *et al.*, eds., ASM Press: Washington, D.C. (2000),
55 particularmente el capítulo 19). Los ejemplos de virus que pueden tratarse según la invención incluyen, pero no se limitan a, retrovirus de tipo C y tipo D, VLTH-1, VLTH-2, VIH, VIF, VLF, VIS, VLM, VLB, VIB, virus infeccioso equino, virus de la anemia, encefalitis japonesa (véase, por ejemplo, Ishag *et al.*, Arch. Virol., 158(2): 349-58 (2013)), virus del sarcoma aviar, tales como virus del sarcoma de Rous (VSR), virus de la hepatitis tipo A, B, C, distintos de A y distintos de B, arbovirus, virus de la varicela, virus del herpes (por ejemplo, VHH-6, VHS-1 y VHS-2 (véase, por ejemplo, Nixon *et al.*, J. Virol., 87(12): doi: 10.1128/JVI.00012-13 (2013)), sarampión, paperas, filovirus (por ejemplo, ébola, tal como cepas de ébola de Sudán, Zaire, Costa de Marfil y Reston), coronavirus humano y animal (por ejemplo, virus SARS, virus MERS) (O’Keefe *et al.*, J. Virol., 84(5): 2511-2521 (2010)), virus Nipah y virus de la rubéola. El constructo en tándem de mGRFT de la invención, proteína de fusión, constructo,
60 conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula también puede usarse para inhibir la infección por virus influenza, tal como una infección por virus H5N1, es decir, una infección por virus de la gripe aviar (véase, por

ejemplo, Fields Virology, tercera edición, Fields *et al.*, eds., Lippincott-Raven Publishers: Filadelfia, PA (1996), particularmente el capítulo 45) profiláctica y terapéuticamente según los métodos expuestos en el presente documento. Adicionalmente, el constructo en tándem de mGRFT, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición puede usarse para inhibir parásitos, tales como

5 *Trichomonas vaginalis*.

El polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo puede administrarse a cualquier sujeto (por ejemplo, mamífero, preferiblemente un ser humano) que lo necesita. Como resultado de la administración del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula al mamífero, se

10

inhibe la infección del mamífero por un virus (por ejemplo, VIH). El polipéptido mutante de griffithsina de la invención, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición para su uso en un método de este tipo puede inhibir profiláctica o terapéuticamente la infección por cualquier tipo de virus (por ejemplo, VIH), pero preferiblemente inhibe una infección por VIH, tal como una infección por VIH-1

15

y/o VIH-2. El polipéptido mutante de griffithsina de la invención, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición para su uso en un método de este tipo puede usarse para inhibir la infección por cualquier grupo de VIH (por ejemplo, grupos M y/o O) y subtipo (por ejemplo, clados A, B, C, D, E, EA, F y/o G).

20

Cuando se proporciona terapéuticamente, el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo se proporciona en o después del diagnóstico de una infección vírica (por ejemplo, VIH).

25

Cuando se proporcionan profilácticamente (por ejemplo, como un agente microbicida tópico en forma de una película o supositorio sólido), el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo se proporciona de antemano a una infección vírica (por ejemplo, VIH), tal como a pacientes o sujetos que corren el riesgo de exponerse a un virus (por ejemplo, VIH) o que se han expuesto recientemente a un virus (por ejemplo, VIH). Si el virus es VIH, entonces los pacientes o sujetos incluyen trabajadores sanitarios, fetos, recién nacidos o lactantes (por ejemplo, lactantes criados al pecho) cuyas madres están infectadas o en riesgo de infectarse, usuarios de fármacos intravenosos, receptores de transfusiones de sangre, productos sanguíneos o tejido de trasplante, y otros individuos que se han expuesto a un fluido corporal que contiene o puede contener VIH. La administración profiláctica del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula o composición del mismo impide, mejora o retrasa la infección viral (por ejemplo, VIH). En sujetos que se han expuesto recientemente al virus pero aún no han mostrado la presencia del virus (tal como se mide mediante PCR u otros ensayos para detectar el virus) en sangre u otro fluido corporal, el tratamiento eficaz con el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula o composición del mismo inhibe parcial o completamente o retrasa la aparición del virus o minimiza el nivel del virus en la sangre u otro fluido corporal del individuo expuesto.

40

La invención proporciona un polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición para su uso en un método de inhibición profiláctica o terapéutica de una infección vírica, en particular una infección por virus influenza, una infección por VIH o una infección por coronavirus (por ejemplo, SERS o MERS), de un sujeto. El método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector o célula o composición del mismo (en el presente documento denominado "el agente antivírico de la invención"). Cuando la infección vírica es una infección por virus influenza y el agente antivírico de la invención se administra por vía tópica al sujeto, preferiblemente el agente antivírico de la invención se administra al sistema respiratorio del sujeto, preferiblemente como un aerosol o polvo microparticulado.

50

El tratamiento profiláctico y terapéutico de muchas infecciones víricas, incluyendo infecciones por virus influenza, se complica por la aparición de formas de virus resistentes a los medicamentos empleados actualmente, tales como inhibidores de neurominidasa. El polipéptido mutante de griffithsina de la invención, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición para su uso es particularmente

55

útil en este contexto, ya que el agente antivírico de la invención se une a una amplia gama de glicoproteínas presentes sobre la superficie vírica. Por consiguiente, el agente antivírico de la invención puede administrarse a un animal, preferiblemente un ser humano, perro, gato, ave, vaca, cerdo, caballo, cordero, ratón o rata, en combinación con otros agentes antivíricos para proteger frente a la propagación de cepas de virus resistentes a antivíricos. Además, se cree que durante la mutación adaptativa (por ejemplo, resistencia a inhibidores de neuraminidasa), el nivel de glicosilación encontrado en la superficie vírica aumenta en algunos virus, tales como influenza. Por tanto, puesto que el agente antivírico de la invención se une a azúcares de glicoproteínas de la superficie vírica, el método del agente antivírico de la invención es para su uso para proporcionar una terapia complementaria valiosa a los regímenes antivíricos actuales.

65

Un experto en la técnica apreciará que están disponibles diversas vías de administración de un fármaco y, aunque puede usarse más de una vía para administrar un fármaco particular, una vía particular puede

proporcionar una reacción más inmediata y más eficaz que otra vía. Por ejemplo, el agente antivírico de la invención puede inhalarse en métodos de tratamiento profiláctico de un sujeto para la infección por influenza. La administración del agente antivírico en una ubicación de contacto vírico inicial, tal como la nariz o la boca, bloquea el comienzo de la infección. El agente antivírico puede administrarse por medio de inyección subcutánea. Alternativamente, en situaciones médicas críticas o agudas, el agente antivírico puede administrarse por vía intravenosa. En muchos casos de infección, un paciente genera una respuesta inmunitaria a un virus. Sin embargo, los efectos de la infección vírica comprometen tan gravemente la salud del paciente que no se logra una respuesta inmunitaria eficaz antes de la muerte. La administración del agente antivírico puede prolongar la vida del paciente hasta que la defensa inmunitaria natural de un paciente elimina el virus.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden consistir en disoluciones líquidas, tal como una cantidad eficaz del compuesto disuelto en diluyentes, tales como agua, solución salina o jugo de frutas; cápsulas, sobres o comprimidos, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada del principio activo, como sólidos, gránulos o células secadas por congelación; disoluciones o suspensiones en un líquido acuoso; y emulsiones de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite. Las formas de comprimidos pueden incluir uno o más de lactosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, celulosa microcristalina, goma arábiga, gelatina, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, talco, estearato de magnesio, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes humectantes, conservantes, agentes aromatizantes y portadores farmacológicamente compatibles. Las formulaciones adecuadas para administración oral también pueden incorporarse en microesferas poliméricas sintéticas y naturales, u otros medios para proteger a los agentes de la presente invención de la degradación dentro del tracto gastrointestinal (véase, por ejemplo, Wallace *et al.*, Science, 260: 912-915 (1993)).

El agente antivírico de la invención, solo o en combinación con otros compuestos antivíricos, puede prepararse para dar formulaciones en aerosol o formulaciones en polvo microparticulado para administrarse por medio de inhalación. Estas formulaciones en aerosol pueden colocarse en propelentes aceptables a presión, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

El agente antivírico de la invención, solo o en combinación con otros compuestos antivíricos o moduladores de la absorción, puede prepararse para dar formulaciones adecuadas para aplicación y absorción transdérmicas, tales como un parche (Wallace *et al.* (1993), citado anteriormente). Puede usarse también electroporación transdérmica o iontoforesis para promover y/o controlar la administración sistémica de los compuestos y/o composiciones de la presente invención a través de la piel (por ejemplo, véase Theiss *et al.*, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 13: 353-359 (1991)).

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen pastillas para chupar que comprenden el principio activo en un aromatizante, generalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un portador líquido adecuado; así como cremas, emulsiones, geles y similares que contienen, además del principio activo, tal como, por ejemplo, lactobacilos secados por congelación o cultivos de lactobacilos vivos modificados genéticamente para producir directamente un constructo, proteína de fusión o conjugado de la presente invención, tales portadores tal como se conocen en la técnica. Se prefiere la administración tópica para el tratamiento profiláctico y terapéutico de la infección por virus influenza, tal como por ejemplo mediante el uso de un inhalador.

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse, por ejemplo, como una formulación de película o supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato. Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como formulaciones de película (películas sólidas), formulaciones de anillo vaginal (anillos intravaginales), pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o fórmulas en aerosol que contienen, además del principio activo, tal como, por ejemplo, lactobacilos secados por congelación o cultivos de lactobacilos vivos modificados genéticamente para producir directamente un constructo, proteína de fusión o conjugado de la presente invención, tales portadores tal como se conoce en la técnica que son apropiados. De manera similar, el principio activo puede combinarse con un lubricante como recubrimiento sobre un condón. De hecho, preferiblemente, el principio activo se aplica a cualquier dispositivo anticonceptivo, incluyendo, pero sin limitarse a, un condón, un diafragma, un tapón cervical, un anillo vaginal y una esponja, en donde el dispositivo no se limita a la administración como anticonceptivo.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen disoluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizadores y conservantes. Las formulaciones pueden presentarse en envases sellados de dosis unitarias o múltiples dosis, tales como ampollas y viales, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones de inyección extemporánea a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

Las formulaciones que comprenden un constructo, proteína de fusión o conjugado adecuado para esterilización viricida (por ejemplo, VIH) de objetos inanimados, tales como suministros o equipos médicos, equipos y suministros de laboratorio, instrumentos, dispositivos y similares, pueden seleccionarse, por ejemplo, o adaptarse según sea apropiado, por un experto en la técnica, a partir de cualquiera de las composiciones o formulaciones mencionadas anteriormente. A ese respecto, la invención proporciona un método de inhibición de un virus en una muestra biológica o en/sobre un objeto inanimado que comprende poner en contacto la muestra biológica o el objeto inanimado con una cantidad inhibidora de virus del constructo, conjugado, ácido nucleico, vector, célula o composición de la invención, método que comprende opcionalmente además el contacto previo, simultáneo o posterior de la muestra biológica u objeto inanimado con un agente antivírico u otro agente que es eficaz para inhibir el virus.

Un experto en la técnica también apreciará que puede insertarse una secuencia de ADN del polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión de la invención *ex vivo* en células de mamífero previamente retiradas de un animal dado, en particular un huésped humano. Tales células pueden emplearse para expresar el correspondiente polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión *in vivo* después de su reintroducción en el huésped. La viabilidad de una estrategia terapéutica de este tipo para administrar una cantidad terapéutica de un agente en proximidad estrecha a las células diana y patógenos deseados, es decir, virus, más particularmente retrovirus, específicamente VIH y su glicoproteína de la envuelta gp120, se ha demostrado en estudios con células modificadas *ex vivo* para expresar sCD4.

También es posible que, como alternativa a la inserción *ex vivo* inserción de la secuencia de ADN del polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión de la invención, una secuencia de este tipo puede insertarse en las células directamente *in vivo*, tal como mediante el uso de un vector viral apropiado. Tales células transfectadas *in vivo* se espera que produzcan cantidades antivíricas del polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión directamente *in vivo*.

Alternativamente, una secuencia de ADN correspondiente al polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión puede insertarse en células huésped que no son de mamífero adecuadas, y tales células huésped expresarán cantidades terapéuticas o profilácticas del polipéptido mutante de griffithsina, conjugado, constructo o proteína de fusión directamente *in vivo* dentro o sobre un compartimento corporal deseado de un animal, en particular un ser humano. En una realización preferida de la presente invención, un polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición es para su uso en un método de profilaxis controlable por mujeres contra una infección vírica, tal como infección por VIH que comprende la administración intravaginal y/o el establecimiento, en una mujer humana, de una población intravaginal persistente de lactobacilos que se han transformado con una secuencia codificante de la presente invención para producir, a lo largo de un tiempo prolongado, niveles viricidas eficaces de un polipéptido mutante de griffithsina, conjugado o proteína de fusión, directamente en o dentro o sobre la mucosa vaginal y/o cervical y/o uterina.

Un experto habitual puede determinar la eficacia de la composición para inhibir una infección vírica (por ejemplo, induciendo una respuesta inmunitaria contra el virus) usando métodos de rutina conocidos en la técnica. Puede determinarse la respuesta mediada por células empleando, por ejemplo, un ensayo de proliferación de células T estimuladas por antígeno vírico. La presencia de una respuesta inmunitaria humoral puede determinarse, por ejemplo, con el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). El experto en la técnica apreciará que hay otros numerosos ensayos adecuados para evaluar la inducción de una respuesta inmunitaria. En la medida en que una dosis sea inadecuada para inducir una respuesta inmunitaria apropiada, pueden administrarse posteriormente administraciones "de refuerzo" con el fin de promover una respuesta inmunitaria más eficaz.

Se ha mostrado que la unión previa de griffithsina a la proteína de la envuelta de VIH gp120 aumenta la inmunogenicidad de la glicoproteína de la envuelta cuando se administran griffithsina y la proteína de la envuelta de VIH gp120 como una vacuna (véase, por ejemplo, Banerjee *et al*, AIDS Res. Hum. Retrovir., 28(2): 206-214 (2012)). Por tanto, en un aspecto de la invención, el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo es para su uso en un método de inhibición profiláctica o terapéutica de una infección vírica en una célula o huésped que comprende la administración de la glicoproteína de la envuelta de VIH gp120.

Puesto que el nivel eficaz se usa como punto final preferido para la dosificación, el programa y la dosis reales pueden variar, dependiendo de las diferencias entre individuos en la farmacocinética, distribución del fármaco y metabolismo. El "nivel eficaz" puede definirse, por ejemplo, como el nivel tisular o sanguíneo (por ejemplo, 0,1-1000 nM) deseado en el paciente que corresponde a una concentración del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo, que inhibe un virus, tal como VIH, en un ensayo que se sabe que predice la actividad antivírica clínica de compuestos químicos y agentes biológicos. El "nivel eficaz" para agentes de la invención también puede variar cuando el polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo se usa en combinación con AZT u otros compuestos antivíricos

conocidos o combinaciones de los mismos.

Un experto en la técnica puede determinar fácilmente la dosis apropiada, el programa y el método de administración para la formulación exacta de la composición que está usándose, con el fin de lograr la concentración eficaz deseada en el paciente individual. Un experto en la técnica puede determinar y usar también fácilmente un indicador apropiado de la "concentración eficaz" del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo de la invención mediante un análisis directo (por ejemplo, análisis químico analítico) o indirecto (por ejemplo, con indicadores sustitutos tales como p24 o RT) de muestras de pacientes apropiadas (por ejemplo, sangre y/o tejidos).

Los métodos en los que se usa el polipéptido mutante de griffithsina de la invención, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición pueden comprender además el tratamiento concurrente, anterior o posterior con un adyuvante para potenciar la respuesta inmunitaria, tal como la administración previa, simultánea o posterior, mediante la misma vía o una diferente, de un agente antivírico u otro agente que es eficaz en la inducción de una respuesta inmunitaria al virus, tal como un inmunoestimulante.

La actividad antivírica, por ejemplo, anti-VIH, del polipéptido mutante de griffithsina, proteína de fusión, constructo, conjugado, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición del mismo de la invención puede demostrarse adicionalmente en una serie de ensayos antivíricos *in vitro* interrelacionados (Gulakowski *et al.*, J. Virol. Methods, 33: 87-100 (1991)), que predicen de manera precisa la actividad antivírica en seres humanos. Estos ensayos miden la capacidad de los compuestos para impedir la replicación del VIH y/o los efectos citopáticos del VIH sobre células diana humanas. Estas mediciones se correlacionan directamente con la patología de la enfermedad inducida por VIH *in vivo*.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no debe interpretarse que limitan de ningún modo su alcance.

Ejemplo 1

Este ejemplo demuestra la actividad antivírica y estabilidad térmica de los mutantes de griffithsina.

Se analizaron mutantes de griffithsina para determinar su estabilidad térmica mediante calorimetría diferencial de barrido. Los resultados se representan mediante la temperatura de fusión (Tf) de cada mutante. Para comparación, la temperatura de fusión de griffithsina nativa es de ~81°C.

También se evaluó la actividad anti-VIH de cada mutante de griffithsina en un sistema de ensayo de virus VIH-1RF vivo que mide la reducción de citopaticidad inducida por VIH-1 en células linfoblásticas T CEM-SS. El valor de CE50 se refiere a la concentración eficaz de la proteína a la que el 50% de las células se protegen. Griffithsina nativa tiene un valor de CE₅₀ notificado de ~0,05 nM en este mismo sistema de ensayo.

Tabla 2.

Proteínas	SEQ ID NO	CE50 anti-VIH (nM)	Tf de DSC (°C)	ΔH de DSC (kcal/mol)
M61V, E75Q, M78K, S106R	5	0,63	72,83	172
M61V, E75Q, M78K	3	1,22	78,92	159
M61V, E75Q, M78K, I116F, E119Q	7	1,14	77,03	132

Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra los resultados de la dispersión de luz diferencial (DLS).

Se usa esta técnica para determinar el nivel de dispersidad de tamaño de proteínas disueltas en disolución. Mide el porcentaje de polidispersidad en cada disolución. Cuanto menor es el porcentaje de polidispersidad, más soluble es la proteína en esa disolución. Idealmente, una proteína en disolución tendrá un porcentaje de polidispersidad menor del 15%.

Se tomaron disoluciones de mutantes de griffithsina a altas concentraciones (>6 mg/ml) en disoluciones a lo largo de un intervalo de valores de pH para evaluar los efectos de la mutación sobre la solubilidad. De particular importancia es la solubilidad a pH = 5 ya que esto está próximo al pH vaginal normal. Mutantes de griffithsina que son más solubles a los pH indicados estarán más biodisponibles a esos pH en compartimentos fisiológicos.

Tabla 3.

Mutaciones	SEQ ID NO	pH	DLS, porcentaje de polidispersidad
Ninguna (tipo natural) (200 μ M) (6,3 mg/ml)	2	5	23,35
		6	19,3
		7	21,65
		8	30,15
		9	21,9
M61V, E75Q, M78K (200 μ M) (6,9 mg/ml)	3	5	16,35
		6	21,2
		7	17,6
		8	29,55
		9	16,8
M61V, E75Q, M78K, S106R (200 μ M) (6,4 mg/ml)	5	5	9,85
		6	19,4
		7	22,1
		8	21,25
		9	25,2
M61V, E75Q, M78K, I116F, E119Q (193 μ M) (6,7 mg/ml)	7	5	17
		6	29,9
		7	24,55
		8	25,5
		9	13,7

Ejemplo 3

Este ejemplo demuestra la capacidad de mutantes de griffithsina para neutralizar pseudovirus de VIH.

5

Se determinó la potencia antivírica (CI50) de griffithsina de tipo natural y mutantes de griffithsina contra pseudovirus de VIH (Q769.h5 y SF162) usando métodos convencionales. Tal como se muestra en la tabla 4, los mutantes de griffithsina tienen una capacidad similar o más potente (CI50) que griffithsina para neutralizar pseudovirus de VIH.

10

Tabla 4.

Mutaciones	SEQ ID NO	CI50 (μ g/ml)	
		Q769.h5	SF162
Ninguna (tipo natural)	2	0,09831	0,00008167
M78A	15	0,09084	0,00006044
M78K	16	0,04259	0,00004967
M78L	17	0,04784	0,00005891
M78Q	18	0,05847	0,00006237

Ejemplo 4

Este ejemplo demuestra la oxidación reducida observada para polipéptidos de griffithsina modificados que contienen una sustitución M78Q en relación con la secuencia de griffithsina de tipo natural (SEQ ID NO: 2).

El polipéptido de SEQ ID NO: 18 (Q-GRFT) y griffithsina de tipo natural de SEQ ID NO: 2 se expusieron a peróxido de hidrógeno al 0,02% (nivel biológicamente relevante de peróxido de hidrógeno encontrado en la vagina humana) durante 24 horas. Los picos de HPLC originales de griffithsina de tipo natural y Q-GRFT fueron del 0,16% y el 86,24%, respectivamente. De manera adicional, la espectrometría de masa intacta confirmó la

20

estabilidad aumentada de Q-GRFT con respecto a griffithsina de tipo natural tras la exposición a peróxido de hidrógeno (0,02% y 1,5%).

5 Al minimizar la degradación oxidativa, Q-GRFT será más estable dentro de una forma de dosificación farmacéutica y tras su administración dentro del cuerpo humano. Adicionalmente, una forma de dosificación farmacéutica que comprende Q-GRFT tendrá una semivida más prolongada y menos problemas de inestabilidad que griffithsina de tipo natural.

10 El uso de los términos “un” y “una” y “el/la” y “al menos uno” y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que cubre tanto el singular como plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso del término “al menos uno” seguido de una lista de uno o más elementos (por ejemplo, “al menos uno de A y B”) debe interpretarse que significa un elemento seleccionado de los elementos enumerados (A o B) o cualquier combinación de dos o más de los elementos enumerados (A y B),
 15 a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. Los términos “que comprende”, “que tiene”, “que incluye” y “que contiene” deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significan “incluyendo, pero sin limitarse a”), a menos que se indique lo contrario. La mención de intervalos de valores en el presente documento tiene el único propósito de servir como método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentra dentro del intervalo, a menos
 20 que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor por separado se incorpora a la memoria descriptiva como si se mencionara individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o expresiones a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionados en el presente documento, está
 25 destinado simplemente a iluminar mejor la invención y no supone una limitación en el alcance de la invención a menos que se indique lo contrario. Ninguna expresión en la memoria descriptiva debe interpretarse como indicativa de que algún elemento no reivindicado sea esencial para la práctica de la invención.

30 Las realizaciones preferidas de esta invención se describen en el presente documento, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones de esas realizaciones preferidas pueden resultar evidentes para los expertos en la técnica al leer la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos en la técnica empleen tales variaciones según sea apropiado, y los inventores tienen la intención de que la invención se ponga en práctica de otra manera que la descrita específicamente en el presente documento. Por consiguiente, esta invención incluye todas las modificaciones y equivalentes de la
 35 materia mencionada en las reivindicaciones adjuntas a la misma, según lo permitido por la ley aplicable. Además, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está incluida en la invención a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente.

40 **Lista de secuencias**

<110> THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES UNIVERSITY OF LOUISVILLE RESEARCH FOUNDATION, INC. UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION

45 <120> MUTANTES DE GRIFFITHSINA

<130> 722766

50 <150> Documento US 62/114.217
 <151> 10-02-2015

<160> 18

55 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 121

<212> PRT

60 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

65 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (61)..(61)
 <223> en la que X puede ser M o V

<220>
 5 <221> MISC_FEATURE
 <222> (75)..(75)
 <223> X puede ser E o Q

<220>
 10 <221> MISC_FEATURE
 <222> (78)..(78)
 <223> X puede ser M, A, K, V, F, L, I, Q, R, o G

<220>
 15 <221> MISC_FEATURE
 <222> (106)..(106)
 <223> X puede ser S o R

<220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (107)..(107)
 <223> X puede ser A o S

<220>
 25 <221> MISC_FEATURE
 <222> (116)..(116)
 <223> X puede ser I o F

<220>
 30 <221> MISC_FEATURE
 <222> (119)..(119)
 <223> X puede ser E o Q

<400> 1
 Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
 1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
 20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
 35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Xaa Thr Ile Arg
 50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Xaa Thr Asn Xaa Gly Arg
 65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
 85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Xaa Xaa Gly Asp Tyr Leu Asp
 100 105 110

35 Ser Leu Asp Xaa Tyr Tyr Xaa Gln Tyr
 115 120

<210> 2
 <211> 121
 <212> PRT

ES 2 781 085 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5

<400> 2

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Glu Thr Asn Met Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

10

<210> 3

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintética

<400> 3

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Val Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Gln Thr Asn Lys Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

<210> 4

<211> 366

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 4

agcctgaccc atcgcaagtt cggtagtagt ggtggaagtc cgttctctgg tctgagcagc 60

attgcagttc gtagtggcag ctatctggat gcgatcatca ttgatggtgt acatcacggt 120

ggctctggtg gtaacctgag tccgaccttc acctttggat ccggtgagta catcagcaac 180

gtgaccattc gtagtggaga ctacattgac aacatcagct ttcaaaccaa caagggtcgt 240

cgctttggtc cgtatggtgg atctggtggc agtgcaaaca ccctgagcaa cgtgaaagtc 300

atccagatca acggtagtagc aggtgactat ctggatagcc tggacatcta ctatgaacag 360

tactaa 366

<210> 5

15 <211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 5

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Val Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Gln Thr Asn Lys Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Arg Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

<210> 6
<211> 366
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

10 <400> 6
agcctgaccc atcgcaagtt cgggtgtagt ggtggaagtc cgttctctgg tctgagcagc 60
attgcagttc gtagtggcag ctatctggat gcgatcatca ttgatggtgt acatcacggt 120
ggctctggtg gtaacctgag tccgaccttc acctttggat ccggtgagta catcagcaac 180
gtgaccattc gtagtggaga ctacattgac aacatcagct ttcaaacc aaagggtcgt 240
cgctttggtc cgtatggtgg atctggtggc agtgcaaaca ccctgagcaa cgtgaaagtc 300
atccagatca acggtcgtgc aggtgactat ctggatagcc tggacatcta ctatgaacag 360
tactaa 366

15 <210> 7
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintética

<400> 7

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Val Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Gln Thr Asn Lys Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Phe Tyr Tyr Gln Gln Tyr
115 120

<210> 8

<211> 366

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 8

agcctgaccc atcgcaagtt cgggtgtagt ggtggaagtc cgttctctgg tctgagcagc 60

attgcagttc gtagtggcag ctatctggat gcgatcatca ttgatggtgt acatcacggt 120

ggctctggtg gtaacctgag tccgaccttc acctttggat ccggtgagta catcagcaac 180

gtgaccattc gtagtggaga ctacattgac aacatcagct ttcaaaccaa caagggtcgt 240

cgctttggtc cgtatggtgg atctggtggc agtgcaaaca ccctgagcaa cgtgaaagtc 300

atccagatca acggtagtagc aggtgactat ctggatagcc tggacttcta ctatcagcag 360

tactaa 366

<210> 9

15 <211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintética

<400> 9

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Gln Thr Asn Lys Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Arg Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

<210> 10

<211> 366

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 10

agcctgaccc atcgcaagtt cgggtgtagt ggtggaagtc cgttctctgg tctgagcagc 60

attgcagttc gtagtggcag ctatctggat gcgatcatca ttgatggtgt acatcacggt 120

ggctctgggtg gtaacctgag tccgaccttc acctttggat ccggtgagta catcagcaac 180

atgaccattc gtagtggaga ctacattgac aacatcagct ttcaaacc aaagggtcgt 240

cgctttggtc cgtatggtgg atctggtggc agtgcaaaca ccctgagcaa cgtgaaagtc 300

atccagatca acggtcgtgc aggtgactat ctggatagcc tggacatcta ctatgaacag 360

tactaa 366

<210> 11

<211> 121

15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (61)..(61)

<223> en la que X es M

25

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (75)..(75)

<223> en la que X es Q

ES 2 781 085 T3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (78)..(78)
 5 <223> en la que X es K, V o A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (106)..(106)
 10 <223> en la que X es S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (107)..(107)
 15 <223> en la que X es A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (116)..(116)
 20 <223> en la que X es I

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (119)..(119)
 25 <223> en la que X es E

<400> 11
 Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
 1 5 10 15

 Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
 20 25 30

 Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
 35 40 45

 Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Xaa Thr Ile Arg
 50 55 60

 Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Xaa Thr Asn Xaa Gly Arg
 65 70 75 80

 Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
 85 90 95

 Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Xaa Xaa Gly Asp Tyr Leu Asp
 100 105 110

 Ser Leu Asp Xaa Tyr Tyr Xaa Gln Tyr
 115 120

30 <210> 12
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintética

<220>
 <221> MISC_FEATURE

ES 2 781 085 T3

<222> (61)..(61)
 <223> en la que X es M

<220>
 5 <221> MISC_FEATURE
 <222> (75)..(75)
 <223> en la que X es Q

<220>
 10 <221> MISC_FEATURE
 <222> (78)..(78)
 <223> en la que X es K

<220>
 15 <221> MISC_FEATURE
 <222> (106)..(106)
 <223> en la que X es S

<220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (107)..(107)
 <223> en la que X es A

<220>
 25 <221> MISC_FEATURE
 <222> (116)..(116)
 <223> en la que X es I

<220>
 30 <221> MISC_FEATURE
 <222> (119)..(119)
 <223> en la que X es Q

<400> 12
 Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
 1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
 20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
 35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Xaa Thr Ile Arg
 50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Xaa Thr Asn Xaa Gly Arg
 65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
 85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Xaa Xaa Gly Asp Tyr Leu Asp
 100 105 110

35 Ser Leu Asp Xaa Tyr Tyr Xaa Gln Tyr
 115 120

<210> 13
 <211> 121
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

5

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (61)..(61)
<223> en la que X es V

10

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (75)..(75)
<223> en la que X es Q

15

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> en la que X es K

20

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (106)..(106)
<223> en la que X es S

25

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (107)..(107)
<223> en la que X es A

30

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (116)..(116)
<223> en la que X es I

35

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (119)..(119)
<223> en la que X es Q

40

<400> 13

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Xaa Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Xaa Thr Asn Xaa Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Xaa Xaa Gly Asp Tyr Leu Asp

100 105 110

Ser Leu Asp Xaa Tyr Tyr Xaa Gln Tyr
115 120

<210> 14
<211> 121
<212> PRT
5 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (61)..(61)
<223> en la que X es M

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (75)..(75)
<223> en la que X es Q

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> en la que X es K

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (106)..(106)
<223> en la que X es S

30 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (107)..(107)
<223> en la que X es A

35 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (116)..(116)

<223> en la que X es F

<220>

<221> MISC_FEATURE

5 <222> (119)..(119)

<223> en la que X es Q

<400> 14

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

10 Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Xaa Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Xaa Thr Asn Xaa Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Xaa Xaa Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Xaa Tyr Tyr Xaa Gln Tyr
115 120

<210> 15

<211> 121

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

20

<400> 15

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Glu Thr Asn Ala Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

<210> 16
<211> 121
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

10

<400> 16
Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Glu Thr Asn Lys Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

ES 2 781 085 T3

<210> 17
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Sintética

<400> 17
Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

10

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Glu Thr Asn Leu Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

<210> 18
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> Sintética

20

<400> 18

ES 2 781 085 T3

Ser Leu Thr His Arg Lys Phe Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ser Ile Ala Val Arg Ser Gly Ser Tyr Leu Asp Ala Ile
20 25 30

Ile Ile Asp Gly Val His His Gly Gly Ser Gly Gly Asn Leu Ser Pro
35 40 45

Thr Phe Thr Phe Gly Ser Gly Glu Tyr Ile Ser Asn Met Thr Ile Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Tyr Ile Asp Asn Ile Ser Phe Glu Thr Asn Gln Gly Arg
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Tyr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ala Asn Thr Leu Ser
85 90 95

Asn Val Lys Val Ile Gln Ile Asn Gly Ser Ala Gly Asp Tyr Leu Asp
100 105 110

Ser Leu Asp Ile Tyr Tyr Glu Gln Tyr
115 120

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SLTHRKFGGSGGSPFSGLSIAVRSGSILDAIIDGVHHGGSGGNLSPTFTFGSGEYISNX₁TIRSGDYIDNI SFX₂TNX₃GRRFGPYGGSGGSANTLSNVKVIQINGX₄X₅GDILDSLDX₆YYX₇QY (SEQ ID NO: 1), en la que X₁ puede ser M o V, X₂ puede ser E o Q, X₃ puede ser M, A, K, V, F, L, I, Q, R o G, X₄ puede ser S o R, X₅ puede ser A o S, X₆ puede ser I o F y X₇ puede ser E o Q siempre que SEQ ID NO: 1 no comprenda la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.
2. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que X₃ es Q, opcionalmente, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.
3. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.
4. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5.
5. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.
6. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9.
7. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.
8. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
9. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13.
10. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.
11. Polipéptido según la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15.
12. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el polipéptido forma un dímero.
13. Conjugado que comprende el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 y al menos un componente efector, opcionalmente en el que el al menos un componente efector, que puede ser igual o diferente, se selecciona del grupo que consiste en polietilenglicol, albúmina, dextrano, una toxina, un reactivo inmunológico, un virus, una glicoproteína de la envuelta vírica, un agente antivírico y una matriz de soporte sólido.
14. Molécula de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, opcionalmente en el que la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4, 6, 8 o 10.
15. Vector que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14.
16. Célula que comprende la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14 o el vector según la reivindicación 15.
17. Composición que comprende el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el conjugado según la reivindicación 13, la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14, el vector según la reivindicación 15 o la célula según la reivindicación 16 y un portador.
18. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, conjugado según la reivindicación 13, molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14, vector según la reivindicación 15 o célula según la reivindicación 16, para su uso en un método de inhibición profiláctica o terapéutica de una infección vírica en una célula o huésped que comprende administrar a un sujeto el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el conjugado según la reivindicación 13, la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14, el vector según la reivindicación 15 o la célula según la

reivindicación 16, de manera que se inhibe la infección vírica, opcionalmente en el que la infección vírica es una infección por VIH.

- 5 19. Método de inhibición de un virus en una muestra biológica o en/sobre un objeto inanimado que comprende poner en contacto la muestra biológica o el objeto inanimado con una cantidad de inhibición vírica del polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el conjugado según la reivindicación 13, la molécula de ácido nucleico según la reivindicación 14, el vector según la reivindicación 15 o la célula según la reivindicación 16, método que comprende opcionalmente además el contacto previo, simultáneo o posterior de la muestra biológica u objeto inanimado con un agente antivírico u otro agente que es eficaz en la inhibición del virus, con lo cual el virus se inhibe.
- 10