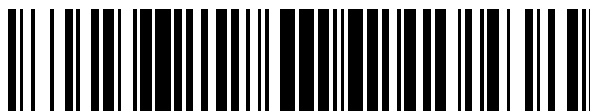


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 793 773**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

C07K 14/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2017 PCT/US2017/037964**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.12.2017 WO17222940**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2017 E 17734584 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3471755**

54 Título: **Interferón porcino pegilado y métodos de utilización del mismo**

30 Prioridad:

20.06.2016 US 201662352163 P

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

16.11.2020

73 Titular/es:

**ELANCO US INC. (50.0%)
2500 Innovation Way
Greenfield, IN 46140, US y
AMBRX, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CANNING, PETER CONNOR;
KNUDSEN, NICKOLAS y
SKIDMORE, LILLIAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 793 773 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

Interferón porcino pegilado y métodos de utilización del mismo

La administración de interferón alfa (INF- α) tiene secuelas médicas que deben evaluarse y tratarse. Por ejemplo, puede ser inducida también autoinmunidad por la terapia de INF- α para la hepatitis crónica viral en humanos. Por tanto, generalmente el tratamiento de humanos se ha limitado a pacientes que necesitan terapia, dado que la terapia puede agravar la autoinmunidad preexistente, desenmascarar procesos autoinmunes silenciosos o incluso inducir enfermedades autoinmunes *de novo*. F.L. Dumoulin *et al.*, "Autoimmunity induced by interferon-a therapy for chronic viral hepatitis", *Biomed. & Pharmacother.*, 53: 242-54 (1999). Se ha observado también que el interferón- α falla en el tratamiento de las infecciones por el virus de la hepatitis C en humanos.

Se ha observado que el interferón es eficaz para tratar algunos humanos con el virus de la hepatitis C (HCV), de tal modo que dos formas pegiladas de interferón alfa (INF- α) están actualmente en utilización clínico para los humanos, a saber, Peginterferón- α -2a y Peginterferón- α -2b, conocidas también como PEGASYS® y PEGINTRON® respectivamente. Sin embargo, no está claro cómo inhibe INF- α la replicación del VHC. Más interesante aún, Peginterferón- α -2a y Peginterferón- α -2b tienen solo 7% y 28% de actividad respectivamente en comparación con sus formas nativas (tipo salvaje).

En el proceso de fabricación del interferón, se han creado diversas variantes para tratamiento humano a fin de extender su biodisponibilidad y contribuir a la producción de proteínas. Un ejemplo es la patente US N.º 8.106.160, que discute la adición de uno o más residuos de aminoácidos a la cisteína N-terminal del interferón alfa-2b humano maduro para reducir la formación de enlaces disulfuro no naturales y, por tanto, reducir el nivel de isoformas estructurales. Esto incluye la adición de un residuo prolina en el término N.

Métodos para la introducción de aminoácidos no naturales insertados en sitios en una proteína se describen, por ejemplo, en el documento WO2010/011735 y en el documento WO2005/074650.

El interferón alfa-1 porcino tipo salvaje tiene una longitud de 189 aminoácidos y está localizado en GenBank X57191.

Las formas de interferón- α para utilización en animales y en la cría de animales son necesarias, especialmente en el tratamiento de poblaciones de cerdos propensas a infecciones virales, y aún más particularmente en el tratamiento de poblaciones de cerdos con infecciones virales activas y en curso a fin de proteger a las piaras de cerdos de la patología asociada con la infección viral. Una ventaja podría ser encontrar una variante de INF- α para utilización en animales porcinos que sea de acción prolongada y útil para inhibir o reducir la replicación viral, la patología de las piaras y la muerte de animales relacionada con la infección por el virus. La variante de INF- α porcina mantendría la bioactividad, tendría mayor biodisponibilidad y pocas isoformas, lo que haría posible una purificación más fácil.

FIG. 1 representa el plásmido pKG0083 con pINF- α -PS-E107 ámbar, que incluye una inserción N-terminal prolina-serina. Este plásmido dirige la producción de la proteína variante de SEQ ID NO:14 por la línea celular AXID2820.

FIG. 2 representa las alineaciones de secuencia y los identificadores de secuencia para las variantes de pINF- α que tienen el aminoácido sintético pAF sustituido por los residuos Q102, E103, E107, L112 e Y136. Todas las secuencias carecen de la secuencia señal para pINF- α . Las secuencias carecen (SEQ ID NOS: 6, 9, 12, 15 y 18) de un aminoácido adicional en el término N, o tienen prolina (SEQ ID NOS: 7, 10, 13, 16 y 19) o prolina-serina añadida en el término N (SEQ ID NOS: 8, 11, 14, 17 y 20).

FIG. 3 representa la secuencia de motivos de SEQ ID NO:1. SEQ ID NO: 2 es la misma que SEQ ID NO:1, pero incluye una metionina N-terminal, que usualmente se escinde en la maduración de la variante madura pINF- α . SEQ ID NO: 3 incluye la secuencia señal, pero carece de la inserción de prolina, prolina-serina y/o metionina. SEQ ID NO: 4 es el pINF- α maduro tipo salvaje. SEQ ID NO: 5 es la secuencia tipo salvaje con metionina en el término N.

FIG. 4 representa en una tabla de diferentes variantes de pINF- α de Q102, E103, E107, L112, y 136 que carecen de residuo adicional alguno o tienen una prolina o prolina-serina añadida en el término N, tal como se indica en las posiciones X_a y X_b. Por "abs" se entiende ausente. Se muestra SEQ ID NO:1 como referencia.

FIG. 5 representa las alineaciones de secuencia para tres variantes adicionales de pINF- α , en donde un pAF está sustituido en H7, R34 y H40. Estas secuencias no tienen prolina ni prolina-serina en el término N, ni tienen una metionina N-terminal. Los sitios de mutación se representan por recuadros en la secuencia pINF- α WT encima de la tabla, y en la tabla están representados por una "X" recuadrada. X_a y X_b son como se definen en el gráfico. Por "abs" se entiende ausente.

FIG. 6 representa mutaciones E107 adicionales sintetizadas, en las cuales se añaden una serina (SEQ ID NO: 24), una serina-glicina (SEQ ID NO: 25) y una histidina (SEQ ID NO: 26) en el término amino de un pINF- α variante que tiene pAF sustituido en E107 (representado por el recuadro "X"). X_a y X_b son como se definen en el gráfico. Por "abs" se entiende ausente.

En esta memoria se proporcionan variantes de interferón- α porcino (pINF- α) y métodos de utilización de los mismos que se pueden utilizar en animales que no están vacunados, tal como lechones recién nacidos no vacunados, así como en animales inmunodeprimidos, a saber, cerdas preñadas (marranas o cerdas jóvenes preñadas); en animales en los cuales la vacunación confiere protección insuficiente; en animales susceptibles a la infección por un virus para el cual no hay una vacuna eficaz disponible; y en animales actualmente infectados. Estas composiciones y métodos de utilización tendrán por objeto prevenir la infección en el caso de un brote viral. Las composiciones se pueden utilizar también para reducir la gravedad de la enfermedad en un cerdo infectado. En general, se administra un régimen de una sola dosificación. Alternativamente, y en caso necesario, las dosis pueden administrarse con una separación de aproximadamente 1-3 o 2 semanas, administrándose óptimamente sólo una o dos dosis.

10 El interferón- α porcino (pINF- α) tipo salvaje, que incluye la secuencia señal de 23 residuos es:

```
maptsaflta lvllscnaic slgcdlpqth slahtralrl laqmrrisfp scldhrrdfg
spheafggng vqkaqamalv hemlqqtfl fstegsaaaw nesllhqfct gldqqlrdle
acvmqeagle gtplleedsi lavrkyfhrl tlylqeksys pcaweivrae vmrsfsssrn
lqdrlrkke (SEQ ID NO: 3).
```

La porción doblemente subrayada es la secuencia señal que no está presente en la forma madura pINF- α tipo salvaje.

En esta memoria se proporciona una variante de (pINF- α). La variante omite la secuencia señal de 23 aminoácidos. La variante puede tener un residuo metionina en el término amino terminal que puede estar escindida en la forma madura de la proteína. Esta metionina no está presente en la forma de pINF- α tipo salvaje. La variante de pINF- α tiene además una inserción de uno o dos aminoácidos entre una secuencia señal metionina y la cisteína N-terminal. La inserción es una prolina o una prolina-serina. La secuencia se representa a continuación:

15
20 **MX_aX_b**CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISFPSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFLFSTEG
SAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVM
RSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 2). "X_b"(posición 3 en SEQ ID NO: 2) es prolina, serina o está ausente. X_a
(posición 2 en SEQ ID NO: 2) está ausente o es prolina. Cuando X_b está ausente, X_a está ausente, cuando X_b es
prolina X_a está ausente, y cuando X_b es serina, X_a es prolina El residuo ácido glutámico en negrita "**E**" localizado aguas
abajo de X_a y X_b es el sitio de sustitución de un aminoácido sintético, a saber, pAF.

25 La variante de pINF- α tiene, además, el aminoácido sintético para-acetil-fenilalanina (pAF), sustituido en uno de 5
lugares en SEQ ID NO:1, a saber: los residuos E103 (SEQ ID NOS: 9 a 11, respectivamente), E107 (SEQ ID NOS:12
a 14 respectivamente), L112 (SEQ ID NOS:15 a 17 respectivamente), Y136 (SEQ ID NOS:18 a 20) o Q102 (SEQ ID
NOS: 6 a 8 respectivamente) (la numeración es con respecto a la secuencia que se muestra en SEQ ID NO: 4 sin un
Met N-terminal).

30 La variante de pINF- α puede estar además pegilada en el pAF. La variante de pINF- α puede estar pegilada con PEG
de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 kDa, o con PEG de 30 kDa. La variante de pINF- α puede estar pegilada
con un oxiamino-PEG lineal de 30 kDa. Un grupo oxiamino activado reacciona quimiosselectivamente con una cadena
lateral acetilo presente en un aminoácido sintético, tal como para-acetilfenilalanina. Una variante de pINF- α tiene un
PEG lineal de 30 kDa unido covalentemente al pAF sustituido en E107 (SEQ ID NOS:12 a 14) (la numeración es con
respecto a la secuencia madura que se muestra en SEQ ID NO: 4). La variante E107 pINF- α puede tener además una
35 prolina o prolina y serina en el término N como se refleja en SEQ ID NOS:13 y 14 respectivamente.

Las variantes de pINF- α se pueden incorporar en formulaciones. Una formulación que comprende las variantes de
pINF- α puede comprender acetato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 100 mM, glicerol al 5% a pH 5,0 de 2,0 a 6,0 g/L
de título de INF- α porcino.

Las formulaciones pueden prepararse por un método que comprende los pasos de:

- 40 (a) purificación del pINF- α ;
- (b) solubilización de dicha variante de pINF- α purificada en Tris 50 mM, guanidina 6M de pH 8;
- (c) incubación de la variante solubilizada de pINF- α a la temperatura ambiente durante 16-24 horas en Tris
20 mM, arginina 1M, metionina 10 mM (met), EDTA (ácido etilendiamintetraacético) 1 mM a pH 8,0 para
permitir el repliegamiento de las proteínas;
- 45 (d) eliminación de las variantes acetiladas residuales por resolución cromatográfica en una resina de
intercambio aniónico fuerte;
- (e) conjugación de la variante de pINF- α con PEG en una ratio de PEG a proteína comprendida entre 1:1 y
1:8 o entre 1:1 y 1:2; y
- (f) purificación de la variante de pINF- α pegilada.

- Las variantes de pINF- α y formulaciones de las mismas se pueden utilizar para tratar una infección de virus. Un método de tratamiento de una infección viral en un cerdo comprende administrar la variante de pINF- α por vía subcutánea a un cerdo en una cantidad de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso animal de cualquiera de las variantes de interferón- α (pINF- α) porcino. El método puede comprender además una segunda administración de aproximadamente 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a aproximadamente 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso animal de la variante de pINF- α A. Si el método implica una segunda administración, la segunda administración puede realizarse aproximadamente 7, 14 o 21 días después de la primera administración.
- El método de tratamiento de la infección por virus se puede utilizar para tratar una infección por virus seleccionados del grupo que consiste en: virus de la enfermedad reproductiva y respiratoria porcina, virus de la fiebre aftosa porcina, virus de la influenza porcina, circovirus porcino, virus de la diarrea epidémica porcina, y virus de la gastroenteritis transmisible. El método se puede utilizar para tratar un cerdo recién nacido o una cerda preñada.
- Se contempla también una utilización de cualquiera de las variantes de pINF- α (o una formulación que contiene la variante) en una terapia de un cerdo para tratar una infección por virus, en donde la infección puede estar causada por cualquiera de los virus indicados en esta memoria.
- Se describe también una utilización de la variante de pINF- α para utilización en la fabricación de un medicamento para tratar una infección viral en un cerdo. El cerdo puede ser un cerdo recién nacido o una cerda preñada.
- Por "administración" se entiende la inyección de una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos y composiciones descritas que contienen dichos compuestos. La administración puede ser intramuscular (i.m.) o subcutánea (s.c.). La cantidad de variante de pINF- α administrada se daría en función del peso del animal, por ejemplo, recibiendo las cerdas preñadas mayor cantidad que los cerdos recién nacidos.
- Las formulaciones descritas en esta memoria se pueden disponer también en un vial monodosis o multidosis.
- El cerdo a tratar por los métodos descritos en esta memoria puede ser un cerdo recién nacido, o una cerda preñada (marrana o cerda joven preñada).
- Por "tratar", "tratamiento" o "terapia" se entiende la disminución o mejora de uno o más síntomas asociados con la infección por uno de los virus mencionados en esta memoria. La composición puede utilizarse además en la fabricación de un medicamento para tratar una infección viral en un cerdo. La composición o medicamento se puede utilizar para tratar un cerdo. El cerdo puede ser un cerdo recién nacido o una cerda preñada.
- A continuación, se hará referencia en detalle a los compuestos, formulaciones de dichos compuestos, métodos de fabricación de las formulaciones, y métodos de utilización de los compuestos y formulaciones para tratamiento de los cerdos (porcinos o puercos) que padecen una infección vírica.
- Como se utiliza en esta memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" o "la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario, y la utilización en plural puede abarcar también a su vez la utilización en singular.
- Un "aminoácido sintético" hace referencia a un aminoácido que no es uno de los 20 aminoácidos comunes o pirrolisina o selenocisteína. Ejemplos de tales aminoácidos sintéticos incluyen, pero no se limitan a, para-acetil fenilalanina (pAF), acetilglucosaminil-L-serina y N-acetilglucosaminil-L-treonina. Para detalles adicionales concernientes a tales aminoácidos sintéticos y su incorporación y modificación, véanse los documentos WO2010/011735 y WO2005/074650.
- El término "individuo" como se utiliza en esta memoria, se refiere a un cerdo, especialmente el cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica* o *Sus domestica*) y puede incluir cerdos miniatura, así como las razas criadas para producción de carne. Por "cerdo", "porcino" o "puerco" se entiende incluir todas las razas de cerdos.
- El término "cantidad eficaz" como se utiliza en esta memoria, se refiere a aquella cantidad de la variante de pINF- α que se administra que puede prevenir, tratar, o reducir la transmisión de un virus porcino de un animal infectado a un animal no infectado o puede prevenir, tratar o reducir un síntoma de una enfermedad causada por una infección con un virus porcino. En esta memoria se describen variantes (pINF- α) de interferón alfa porcino (pINF- α). Estas variantes han tenido aminoácidos sintéticos sustituidos en diversas posiciones de una secuencia de INF- α porcino. Un gen pINF- α de *Sus scrofa domestica* (GenBank X57191) en el que la secuencia conductora subrayada (residuos 1-23 de SEQ ID NO: 3) se ha eliminado como se muestra a continuación (orientación de término amino a carboxi):

MAPTSAFLTALVLLSCNAICSLGCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGS
PHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRD
LEACVMQEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSS
SRNLQDRLRKKE. (SEQ ID NO:3).

- La secuencia madura es: CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVH EMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDOOLRDLEACVMQEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 4). La secuencia señal subrayada en el término N de SEQ ID NO: 3 puede estar reemplazada por otra secuencia señal o incluso con un único residuo metionina, por ejemplo, para transcripción *in vitro*, dando como resultado la secuencia siguiente: MCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFOLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 5) o puede incluir los residuos prolina o prolina-serina entre la metionina N-terminal y la cisteína (véase SEQ ID NO: 2). Se pueden utilizar otras secuencias de porcino afines.
- 5
- 10 Las variantes de pINF- α han tenido aminoácidos sintéticos introducidos en una de las localizaciones siguientes en *Sus scrofa domestica* (utilizando su numeración con respecto a la secuencia madura que se muestra en SEQ ID NO: 4): Q102 (SEQ ID NO: 6), E103 (SEQ ID NO: 9), E107 (SEQ ID NO:12), L112 (SEQ ID NO:15) e Y136 (SEQ ID NO:18) (que están en negrita y subrayados anteriormente) y se muestran también en FIGS. 2-4. El pINF- α maduro puede tener el residuo metionina N-terminal (por ejemplo, el residuo 1 de SEQ ID NO: 5) escindido tras la maduración.
- 15 Los aminoácidos sintéticos y su incorporación son como se discute por ejemplo en el documento WO2010/011735. Los aminoácidos sintéticos pueden utilizarse en *Escherichia coli* (*E. coli*) (por ejemplo, L. Wang, *et al.*, (2001), Science 292: 498-500) y en el eucariota *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) (por ejemplo, J. Chin *et al.*, Science 301:964-7 (2003)), lo cual ha permitido la incorporación de aminoácidos sintéticos en proteínas *in vivo*.
- 20 De las cinco (5) variantes de sustitución con aminoácidos sintéticos enumeradas que tienen actividad biológica (sustituciones de pAF en uno de los cinco residuos E103, E107, L112, Y136, o Q102 del cual están subrayados en la secuencia siguiente), estas variantes pueden modificarse ulteriormente por inserción de aminoácidos en el término N de la molécula. Por ejemplo, se puede insertar una prolina (Pro) o prolina-serina (Pro-Ser) entre la Met N-terminal y Cys.
- La forma madura de las variantes podría omitir la metionina N-terminal.
- 25 En esta memoria se describen métodos de preparación de un polipéptido pINF- α unido a un polímero soluble en agua. Por "pegilación" y "pegilado" se entiende la unión covalente del aminoácido sintético especificado a una molécula de polietilenglicol (PEG). El método puede comprender la puesta en contacto de un polipéptido pINF- α aislado que comprende un aminoácido sintético con un polímero soluble en agua que comprende un resto que reacciona con el aminoácido sintético.
- 30 La molécula de poli(etilenglicol) puede tener un peso molecular de entre aproximadamente 0,1 kDa y aproximadamente 100 kDa. La molécula de poli(etilenglicol) puede tener un peso molecular de entre 0,1 kDa y 50 kDa, 20 kDa y 40 kDa, y cualquier valor entero entre 25 kDa y 35 kDa. La molécula de poli(etilenglicol) puede tener un peso molecular de aproximadamente 30 kDa. La molécula de poli(etilenglicol) puede ser una molécula lineal que tiene un peso molecular de entre 0,1 kDa y 50 kDa, 20 kDa y 40 kDa, y cualquier valor entero entre 25 kDa y 35 kDa. La molécula de poli(etilenglicol) puede ser una molécula lineal que tiene un peso molecular de 30 kDa. La molécula de poli(etilenglicol) puede tener un grupo aminooxi capaz de reaccionar con un grupo acetilo en un aminoácido sintético. La molécula de poli(etilenglicol) puede ser un PEG lineal de 30 kDa activado con aminooxi capaz de formar un enlace oxima con la cadena lateral acetilo de para-fenilalanina.
- 35 Un pINF- α tiene un PEG lineal de aproximadamente 30 kDa unido al residuo pAF.
- 40 Las variantes expuestas anteriormente y más adelante se pueden mezclar adicionalmente en una formulación con diversos excipientes, estabilizadores, tampones, y otros componentes para la administración a animales. La identificación de formulaciones adecuadas para estabilidad, administración a animales y actividad no son cuestiones sencillas. Por el contrario, la formulación debe adaptarse a cada compuesto, las necesidades de purificación de dicho compuesto, el estabilizador necesario para mantener el compuesto, y diversos otros componentes de la formulación.
- 45 Las sales adecuadas para inclusión en la formulación incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio o cloruro de calcio. Se puede utilizar acetato de sodio como agente tampón y/o agente estabilizador.
- Tampones adecuados pueden incluir tampón de fosfato-citrato, tampón fosfato, tampón citrato, L-histidina, hidrocloreto de L-arginina, tampón bicarbonato, tampón succinato, tampón citrato y tampón TRIS, sea solos o en combinación.
- 50 La formulación puede incluir también un crioprotector. Los crioprotectores pueden incluir un crioprotector seleccionado del grupo que consiste en hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPBCD), sucralosa, y polivinilpirrolidona 4000 (PVP 4000).
- La formulación puede incluir opcionalmente un tensioactivo. Los tensioactivos adecuados incluyen polisorbatos (por ejemplo, polisorbato 80), dodecilsulfato (SDS), o lecitina, sea solos o en combinación.

La formulación puede ser una composición acuosa o encontrarse en forma de una composición líquida reconstituida o en forma de polvo. La formulación puede almacenarse adicionalmente en un vial o cartucho o en una jeringa estéril prellenada para su fácil administración a un individuo.

El pH de la formulación puede oscilar desde 4,0 a 7,0 o 4,5 a 6,5 cuando la formulación está en forma líquida.

- 5 Infecciones virales adecuadas que se pueden tratar incluyen, sin limitación un coronavirus, un pestivirus (virus de la peste porcina o la fiebre porcina clásica, CSF), coronavirus de la gastroenteritis transmisible (TGEV), arterivirus porcino (PoAV), un virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV), un circovirus porcino (PCV), un virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), virus de la fiebre aftosa (FMDV), coronavirus porcino como el deltacoronavirus porcino (PDCoV) y virus de la influenza porcina (SIV).
- 10 La administración de la variante o una formulación que contiene la variante puede ser una dosis simple o una dosis simple seguida de una dosis secundaria 7 a 21 días después de la primera dosis, por ejemplo, aproximadamente 14 días después de la primera dosis. Se administra al animal la variante en una cantidad de variante de aproximadamente 25 µg/kg a aproximadamente 150 µg/kg de variante por kg de peso del animal. Otro intervalo de cantidad eficaz de la variante de pINF-α es aproximadamente 50 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de peso del animal. La variante puede administrarse en una formulación o por sí misma. La variante se puede administrar una sola vez, por ejemplo, antes de un brote. La variante se puede administrar también a la piara después de un brote de virus a fin de prevenir mayores pérdidas en la piara. La variante o una formulación de la misma se puede administrar por segunda vez. La segunda administración puede administrarse aproximadamente 7 a aproximadamente 21 días después de la primera administración, por ejemplo 14 días después de la primera administración. Se pueden contemplar administraciones adicionales en caso necesario para reducir o prevenir una enfermedad asociada con infecciones virales.
- 15
- 20

Ejemplos

Ejemplo 1: Variantes de pAF

Se crean once (11) variantes de pAF y se comparan contra el pINF-α tipo salvaje (wt). De éstas, tres variantes de pINF-α se eliminan de las tests siguientes debido a problemas de expresión/producción deficiente de proteínas para los aminoácidos sintéticos sustituidos en varios puntos en el pINF-α.

25

AXID2820 tiene el plásmido pKG0083 con pINF-α-E107 ámbar y la inserción N-terminal prolina-serina (Fig. 1). La numeración de los residuos se ha estandarizado para corresponder a la secuencia de pINF-α tipo salvaje (SEQ ID NO: 4). La secuencia de aminoácidos del interferón α-1 porcino tipo salvaje se obtiene de GenBank (Número de Acceso X57191). La secuencia de ácido nucleico correspondiente se sintetiza y se clona en un vector de expresión.

30 El codón de parada ámbar (TAG) se inserta en el codón de ácido glutámico correspondiente a la posición del aminoácido 107 (u otras posiciones que se indican) de la región de codificación del tipo salvaje maduro. Los ácidos nucleicos que codifican Pro-Ser se insertan en el término amino después del codón metionina inicial (AUG). Para confirmar que la clonación y la mutagénesis subsiguiente han tenido lugar como era de esperar sin introducción alguna de mutación o mutaciones no deseadas, se realiza la secuenciación de la secuencia entera del DNA plasmídico de pKG0083.

35

Las ocho (8) variantes de pINF-α de la Tabla 1 eran capaces de expresión de proteínas. Estas ocho variantes están pegiladas también con un PEG lineal de 30 kD activado con aminooxi. La pegilación de las variantes se logra ajustando la solución de proteínas (a una concentración de proteína de aproximadamente 20 mg/mL o mayor) a pH 4,0 con ácido acético glacial al 10%. Se agrega hidracida acética a una concentración final de 100 mM y se añade PEG oxiamino en una ratio molar de entre 1:1 y 2:1, o hasta aproximadamente 8:1, con relación a la variante de pINF-α. Se deja que la reacción continúe durante 1-3 días a 28-30°C en la oscuridad. La reacción se extingue diluyendo la mezcla de reacción 5 veces con acetato de sodio 30 mM, pH 5,0. Estas 8 variantes pegiladas se analizan mediante cromatografía de exclusión por tamaños (SEC), tal como se muestra en la Tabla 1. Las variantes de pINF-α son iguales que el pINF-α tipo salvaje, excepto por una sustitución de pAF en el residuo indicado; por ejemplo, His7 estaba sustituida con pAF, Arg34 estaba sustituida con pAF, etcétera. La concentración de proteína se indica en mg/mL. "RP" significa Fase Inversa (a saber, cromatografía de fase inversa o RP-HPLC).

40

45

Tabla 1. Producción de variantes de pINFα pegiladas.

Muestra	Conc. Proteína (mg/mL)	% Pico Principal por RP	% Monómero por SEC
pINF-α wt SEQ ID NO: 4	1,5	69,4	99,5
pINFα- H7 -PEG30	2,6	67,0	94,7

ES 2 793 773 T3

SEQ ID NO: 21			
pINF α - R34 -PEG30 SEQ ID NO: 22	2,2	73,8	99,6
pINF α - Q102 -PEG30 SEQ ID NO: 6	1,9	68,1	97,7
pINF α - E103 -PEG30 SEQ ID NO: 9	2,1	58,2	96,3
pINF α - E107 -PEG30 SEQ ID NO:12	1,9	60,2	98,2
pINF α - L112 -PEG30 SEQ ID NO:15	3,4	60,1	98,3
pINF α - Y136 -PEG30 SEQ ID NO:18	2,1	51,9	99,1
pINF α - H40 -PEG30 SEQ ID NO: 23	1,9	52,1	98,7

La SEC se realiza utilizando un sistema HPLC capaz de detectar longitudes de onda múltiples (Agilent 1100 o 1200, o equivalente). La fase móvil es fosfato de potasio 200 mM, cloruro de potasio 250 mM, pH 6,0, isopropanol (IPA) al 10%.

- 5 Estas 8 variantes se testan en un ensayo de bioactividad *in vitro*. Se utiliza el kit de ensayo de interferón disponible comercialmente *iLite™* huINF α de Pestka Biomedical Laboratories, Inc. (Piscataway, NJ, US) para testar la actividad biológica de pINF- α . La pérdida de actividad de las variantes-PEG se calcula con relación a la proteína Ambrx WT de la manera siguiente:

CE50 Variante-PEG

Pérdida de Actividad de la Variante-PEG = -----

10

CE50 Ambrx WT

Como se muestra en la Tabla 2, de las ocho testadas, tres de las variantes de pINF- α tenían sustancialmente menos actividad que el tipo salvaje de pINF- α no pegilada:

Tabla 2

Orden de rango	Muestra de test	Pérdida de actividad con relación a pINF α WT	EC50 de la muestra de test [ng/mL]	EC50 de Ambrx pINF α WT [ng/mL]
1	pINF α E103 -PEG30K	8x	184	22
2	pINF α L112 -PEG30K	15x	475	32
3	pINF α E107 -PEG30K	23x	731	32
4	pINF α Y136 -PEG30K	26x	874	33
5	pINF α Q102 -PEG30K	32x	693	22

6	pINFα H40- PEG30K	171x	5662	33
7	pINFα H7- PEG30K	387x	8761	23
ninguna actividad	pINFα R34- PEG30K	ninguna actividad	ninguna actividad	23

El control de pINF-α tipo salvaje carece del péptido señal, no tiene aminoácido N-terminal insertado alguno (metionina, prolina o serina), no tiene sustitución pAF alguna por ningún aminoácido, y no está pegilado (SEQ ID NO: 4)

5 Como resultado de estos experimentos, las variantes de pINF-α pegiladas que tienen una sustitución pAF en H40 (SEQ ID NO: 23), H7 (SEQ ID NO: 21), y R34 (SEQ ID NO: 22) se consideran variantes de pINF-α no útiles para tratamiento de la infección viral en porcinos debido a sus bajos niveles de actividad en comparación con el tipo salvaje en el ensayo *iLite™* huINFα.

El análisis RP-HPLC de las variantes pegiladas y no pegiladas para los resultados de la Tabla 2 utiliza una fase móvil A (0,05% TFA/agua) y una fase móvil B (0,05% TFA/ACN).

Ejemplo 2: Test *in vivo*

10 Dieciocho ratas Sprague Dawley (grupo de n=3) se dosificaron a 0,2 mg/kg de cada una de 6 muestras de test (resuspendidas en acetato de sodio 20 mM, pH 5,0, NaCl 100 mM, y glicerol al 5%) por vía subcutánea en el cogote de sus cuellos, distales al catéter: (1) pINFα-E103-PEG30K (SEQ ID NO: 9 pegilada) (2) pINFα-L112-PEG30K (SEQ ID NO:15 pegilada), (3) pINFα-E107-PEG30K (SEQ ID NO:12 pegilada), (4) pINFα-Y136-PEG30K (SEQ ID NO:18 pegilada) y (5) pINFα-α-Q102-PEG30K (SEQ ID NO: 6 pegilada).

15 Las variantes pINF-α se solubilizan en acetato de sodio 20 mM a pH 5,0, NaCl 100 mM y glicerol al 5%. Cada animal se inyecta por vía subcutánea (a saber, por vía intranucal) con una de las 5 variantes o el pINF-α tipo salvaje (el mismo que se utilizó en el Ejemplo 1) formando así los 6 grupos de test de 3 ratas cada uno.

20 Los momentos puntuales de muestreo son: antes de la dosis y después de la dosis a 1 h, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h, 144 h, 192 h, y 240 horas después de la dosificación. Se obtienen muestras de sangre a través del catéter de la vena yugular o la vena lateral de la cola o al final del experimento por punción cardíaca y se procesan dejando que la sangre se coagule y extrayendo el suero resultante. Las concentraciones de cada variante pINF-α pegilada se determinan utilizando un ensayo de fijación de ligando empleando un anticuerpo monoclonal de captura anti-PEG y un anticuerpo policlonal de detección de INF-α anti-porcino de cabra. AUC_{última}, C_{max}, y T_{max} se calculan por análisis de los datos sin procesar utilizando el software de modelización WINNONLIN® PK (Pharsight Corporation, ahora Certara USA, Inc.).
25 La exposición (AUC_{última}) de las variantes pegiladas se dividió por la exposición del pINF tipo salvaje (pINF WT) para obtener diferencias de actividad. Los resultados para las variantes pegiladas son como se indica en la Tabla 3:

Tabla 3. Biodisponibilidad de variantes pegiladas de INF-α

Compuesto	Animal #	AUC _{última}	Diferencia de actividad frente a pINF WT	C _{max}	T _{max}	Est. T _{1/2}
		(ng*h/mL)		(ng/mL)	h	H
PEG Q102 pINFα	Media	12500	133	339	24	16,3
	DS	686		14,4	0	2,10
PEG E107 pINFα	Media	9420	100	246	24	17,6
	DS	2590		77,6	0	3,93
PEG L112 pINFα	Media	6000	64	165	24	12,7
	DS	510		15,6	0	1,11
PEG E103 pINFα	Media	5210	55	147	18	11,7
	DS	365		12,5	10,4	0,479

PEG Y136 pINF α	Media	5140	55	141	24	12,4
	DS	788		23,2	0	0,987
WT pINF α SEQ ID NO: 4	Media	94,2	1	81	1	NC
	DS	49,3		49,9	0	NC

"DN" significa "dosis normalizada"; la unidad para DN AUC_{última} es (ng*h/mL)/(mg/kg) y para DN C_{max} es (ng/mL)/(mg/kg). C_{max} se utiliza para el cálculo de la semivida. Sin embargo, la variante de pINF- α pegilada E107 tiene la semivida mayor de las cinco (5) variantes. "NC" significa "no calculable" porque las concentraciones pudieron medirse sólo en dos momentos puntuales.

- 5 Como es evidente, la exposición (en términos de AUC_{última}) es máxima para PEG30K-Q102 y PEG30K-E107, y como se presenta en la tabla en orden de exposición decreciente. Las cinco variantes de pINF- α testadas tienen una exposición para pINF- α mayor que la forma de pINF- α tipo salvaje (SEQ ID NO: 4). T_{max} generalmente se observa a las 24 horas después de la dosis para las variantes de pINF- α pegiladas en comparación con 1 hora después de la dosis para pINF- α tipo salvaje. Para este experimento, se incluye C_{max} en el cálculo de la semivida debido a puntos de datos insuficientes en la fase terminal. Dado que el tiempo en C_{max} no representa la verdadera fase de eliminación, las estimaciones de semivida deben considerarse como una aproximación.

Debe señalarse que la heterología de especies no tiene ningún impacto en este tipo de estudio.

Ejemplo 3 : Caracterización de Contaminantes Relacionados con el Producto para pINF α -E107pAF

- 15 Basándose en la espectroscopía de masas (MS) de pINF- α -E107 (SEQ ID NO:12), existen formas acetiladas, una forma de 58 Da y contaminantes de oxidación. La variante sufre acetilación durante la biosíntesis en la cepa de producción de E. coli. Por tanto, una opción para la producción de pINF- α -E107 es añadir acetiltransferasas en el momento apropiado de la producción o utilizar la proteína ribosómica de silenciación alanina-acetiltransferasa (RimJ) (acetiltransferasa N-terminal). Además, se puede utilizar la cromatografía en pequeña y gran escala para la purificación. Alternativamente y como se muestra en esta memoria, la secuencia del término N puede modificarse
- 20 adicionalmente para prevenir que se produzca acetilación en la variante por completo.

- En cuanto a los medios cromatográficos, un método consiste en utilizar CAPTO Adhere Impres (GE Healthcare Lifesciences), que es un medio robusto (resina) de cromatografía BIOPROCESS multimodal de intercambio aniónico. Este método se utiliza con una fase móvil de acetato de amonio 25 mM (a pH 6,5), cargando la variante pINF- α no modificada (a saber, no pegilada) a una concentración de 1-5 mg/mL de resina. La columna se lava con 5 volúmenes de columna (CV) de acetato de amonio 25 mM a pH 6,5. La elución de la variante pINF- α se realiza con un gradiente lineal hasta 100% de tampón de elución (ácido acético 5 mM), y 0-100% B sobre 40 CV, con lo cual se eliminan los picos oxidados de pINF- α . El pico Uno tiene un pINF- α N-terminal sin acetilación de la cisteína, mientras que el Pico 2 contiene una forma acetilada (+42 Da), una forma +58 Da, una forma +58+1 Ox (probablemente una especie acetilada y mono-oxidada), y una forma +58Da+2 Ox (probablemente una forma acetilada con al menos dos oxidaciones).

- Debido a estos resultados, se insertó una prolina en el término amino de pINF- α para prevenir las formas acetiladas. Así, se creó un Pro-pINF α -E107pAF (SEQ ID NO: SEQ ID NO:13). Para mayor claridad, la numeración de las posiciones de los aminoácidos comienza siempre con la cisteína N-terminal (C1). La prolina añadida se convierte en el residuo -1, y la metionina N-terminal (si la hay) se convierte en el residuo -2. También puede hacerse una inserción Pro-Ser, en la cual el péptido contiene serina en la posición -1, prolina en la posición -2 y posiblemente una metionina en la posición -3 con respecto a la cisteína N-terminal. La adición de la prolina eliminó los otros picos observados para la variante anterior cuando se analizaron por espectroscopía de masas.

- En la Tabla 4 siguiente, la Pro-pINF α -E107pAF tiene una prolina en el término N y una sustitución pAF en E107. La actividad de la variante Pro-pINF α -E107pAF se compara con la actividad de la variante que carece de la adición de prolina en el término N, pINF α -E107pAF. La variante que tiene la prolina añadida tiene menos variantes acetiladas y oxidadas. Téngase en cuenta que estas variantes no están pegiladas y no incluyen la secuencia señal metionina.

Tabla 4

	Pro-pINF α -E107pAF, EC50, ng/mL	pINF α -E107pAF, EC50, ng/mL
Operación 1	6,46	8,08

Operación 2	4,55	7,01
-------------	------	------

Ejemplo 4: Otras variantes de terminal N

5 Dado el éxito alcanzado con la adición de prolina en el término N de pINF α -E107pAF, se evaluaron también otras variantes N-terminales que incluyen una adición de serina (Ser, S), una adición Pro Ser (PS), una adición His (H), y una adición Ser-Gly (SG) a pINF α -E107pAF. Estas variantes N-terminales no están pegiladas. La actividad de estas variantes N-terminales (todas las cuales son variantes E107-pAF) se evaluó luego en el bioensayo *in vitro* utilizando el kit *iLite*TM huINF α de Pestka Biomedical Laboratories descrito anteriormente, y los resultados se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5

Mutación	CE50 (ng/mL)
Pro-pINF α SEQ ID NO:13	18,3
S (-1) pINF α SEQ ID NO: 24	34,2
SG (-2/-1) pINF α SEQ ID NO: 25	69,1
PS (-2/-1) pINF α SEQ ID NO:14	28,7
H (-1) pINF α SEQ ID NO: 26	25,4

10 Pro-pINF α es la variante que tiene la prolina añadida en el término amino entre la metionina (en el péptido inmaduro) y la cisteína.

Ejemplo 5: Conjugación de la Variante de pINF- α con PEG

15 La variante de pINF α -PS-E107 (SEQ ID NO:14) se toma del combinado de cromatografía Capto después de utilizar cromatografía Capto conforme a las instrucciones del fabricante y se añade glicina 0,2 M a la forma purificada. El pH de la mezcla se ajusta a 4,0 con ácido acético. La variante de pINF- α se concentra luego a 8,2 mg/mL utilizando un filtro centrífugo Amicon Ultra de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Una vez concentrada, se añade PEG lineal de 30K (el PEG se puede adquirir comercialmente de NOF America Corporation o EMD Merck, por ejemplo) en una ratio molar 8:1 de pEG:variante de pINF α . La mezcla de variantes PEG/pINF- α se incuba luego a 28°C durante aproximadamente 18 horas. Este método da como resultado que > 95% de la variante de pINF- α se conjugue con PEG después de 18 horas de incubación.

20 La variante pegilada (pINF α -PS-E107-PEG30K) puede purificarse luego como sigue. Se puede utilizar una columna SP650S Tosoh de 143 mL para purificar la variante pegilada utilizando una fase móvil de:

A: acetato de sodio 30 mM, pH 5,0

B: acetato de sodio 30 mM, 5% etilenglicol, pH 5,0

0 a 100% B en 20 volúmenes de columna.

25 Ejemplo 6: Test de Comparación de Diferentes Variantes N-Terminales

30 Se realizan ensayos de actividad para varias variantes, tanto en sus formas pegiladas (PEG lineal de 30 KDa) como no pegiladas, para evaluar el impacto de la pegilación sobre las variantes que tienen pAF sustituido en E107 y que tienen prolina-serina en el término amino (SEQ ID NO :14). Los resultados se proporcionan a continuación en la Tabla 6. La concentración de proteína, SEC, RP y EC50 se determinan como se ha expuesto anteriormente. El pINF α -P-E107-pAF se utiliza como muestra de comparación para reflejar los resultados de la proteína sin una extensión amino terminal.

Tabla 6

Muestra	Conc. de proteínas, (mg/mL)	SEC, % Monómero	RP, % Pico Principal	CE50 (ng/mL)
pINF α -PS-E107-pAF	8,2	99,8	84,8	5,96
pINF α -PS-E107-30KPEG	7,3	99,0	98,2	409,7
pINF α -P-E107-pAF				4,27
pINF α -P-E107-30KPEG	3,3	99,3	99,7	641,2

5 Mientras se testaba la caracterización de las variantes, se observó que se incorporaba erróneamente norleucina. Se sabe que la norleucina se incorpora erróneamente en el aminoácido metionina durante la fermentación de alta densidad con *E. coli*. Esto se observó en las operaciones de fermentación realizadas. La incorporación de norleucina se redujo por la utilización de uno o más de los pasos siguientes: alimentación de las soluciones con metionina, fermentación con medio complejo frente a medio definido (el medio complejo tiene uno o más componentes no definidos incluidos en él, pero limitados a glicerol, sales, aminoácidos, vitaminas, extractos de levadura, hidrosolatos de plantas y animales, peptonas y triptonas), y/o disminución de la temperatura de la mezcla de reacción post-inducción. Se añade L-metionina al medio del lote a una concentración de 1,2 mM y se alimenta continuamente mediante la solución de alimentación que contiene L-metionina 20 mM.

Las variantes de pINF- α están bajo el control de un promotor T7. La adición de arabinosa (el inductor) a la fermentación da como resultado una cascada que hace posible la producción de las variantes. Por tanto, post-inducción significa después de la adición del inductor, en este caso arabinosa.

Ejemplo 7: Efecto de la congelación-descongelación sobre las variantes pegiladas y no pegiladas

15 Las muestras se congelaron y se descongelaron durante cinco ciclos por congelación a 0°C en tubos de 1,5 mL y descongelación en un baño de agua a la temperatura ambiente. No se observó impacto significativo alguno para el perfil de las proteínas de peso molecular alto (HMW) a lo largo de los cinco ciclos de congelación-descongelación, tal como se evidencia a continuación en la Tabla 7:

Tabla 7

Ciclo de congelación/descongelación	pINF α -PS-E107pAF		pINF α -PS-E107-30KPEG	
	% Pico principal	% HMW	% Pico principal	% HMW
0	99,8	0,2	99,0	0,7
1	99,8	0,2	99,0	0,8
3	99,8	0,2	99,0	0,9
5	99,8	0,2	99,0	0,9

20 La Tabla 7 refleja las diferencias entre las variantes pegiladas y no pegiladas que tienen la prolina-serina en el término N, así como el pAF sustituido en E107, en donde la variante tiene la inserción prolina-serina en el término amino (pINF α -PS-E107-30), es decir, en los residuos -2 y -1.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Eli Lilly y Company
Ambrx Inc.
- 5 <120> Interferón porcino pegilado y métodos de utilización del mismo
<130> 204257-0028-00-WO-561478
- 10 <150> 62/352.163
<151> 20-06-2016
<160> 26
- 15 <170> PatentIn versión 3.5
<210> 1
<211> 168
<212> PRT
- 20 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Polipéptido sintético
- 25 <220>
<221> característica miscelánea
<222> (1)..(1)
<223> Xa es Pro o está ausente
- 30 <220>
<221> característica miscelánea
<222> (2)..(2)
<223> Xb es Pro, Ser o está ausente, en donde cuando Xb está ausente, Xa está ausente, cuando Xb es Pro, Xa está ausente, y cuando Xb es Ser, Xa es Pro
- 35 <220>
<221> característica miscelánea
<222> (104)..(104)
<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 40 <220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (105)..(105)
<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 45 <220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (109)..(109)
<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 50 <220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (114)..(114)
<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 55 <220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (138)..(138)
<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 60 <400> 1

ES 2 793 773 T3

Xaa Xaa Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala
 1 5 10 15

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
 20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
 35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
 50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
 85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro
 100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
 115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
 130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
 145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 2

<211> 169

5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (1)..(1)

<223> puede eliminarse en polipéptido maduro

15

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (2)..(2)

<223> Xa es Pro o está ausente

20

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (3)..(3)

<223> Xb es Pro, Ser o está ausente, en donde cuando Xb está ausente, Xa está ausente, cuando Xb es Pro, Xa está ausente, y cuando Xb es Ser, Xa es Pro

25

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

ES 2 793 773 T3

<222> (105)..(105)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>
 5 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (106)..(106)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>
 10 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (110)..(110)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>
 15 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (115)..(115)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>
 20 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (139)..(139)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<400> 2

25
 Met Xaa Xaa Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg
 1 5 10 15
 Ala Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys
 20 25 30
 Leu Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly
 35 40 45
 Asn Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu
 50 55 60
 Gln Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp
 65 70 75 80
 Asn Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu
 85 90 95
 Arg Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr
 100 105 110
 Pro Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His
 115 120 125
 Arg Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp
 130 135 140
 Glu Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn
 145 150 155 160
 Leu Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 3
 30 <211> 189
 <212> PRT

ES 2 793 773 T3

<213> Sus scrofa

<220>

<221> péptido maduro

5 <222> (24)..(189)

<400> 3

Met Ala Pro Thr Ser Ala Phe Leu Thr Ala Leu Val Leu Leu Ser Cys
-20 -15 -10

Asn Ala Ile Cys Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu
-5 -1 1 5

Ala His Thr Arg Ala Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser
10 15 20 25

Pro Phe Ser Cys Leu Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu
30 35 40

Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val
45 50 55

His Glu Met Leu Gln Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser
60 65 70

Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu
75 80 85

Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly
90 95 100 105

Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg
110 115 120

10 Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser
125 130 135

Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser
140 145 150

Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
155 160 165

<210> 4

<211> 166

15 <212> PRT

<213> Sus scrofa

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

20 <222> (102)..(102)

<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

25 <222> (103)..(103)

<223> puede sustituirse con un aminoácido sintético

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (107)..(107)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
 5
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (112)..(112)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
 10
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (136)..(136)
 <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
 15
 <400> 4

 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

 Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

 Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

 Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

 Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

 Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

 Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

 Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

 Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

 Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165
 20
 <210> 5
 <211> 167
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polipéptido sintético

- 5
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (1)..(1)
 - <223> puede eliminarse en polipéptido maduro
- 10
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (103)..(103)
 - <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 15
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (104)..(104)
 - <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 20
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (108)..(108)
 - <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 25
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (113)..(113)
 - <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- 30
- <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 - <222> (137)..(137)
 - <223> puede sustituirse con un aminoácido sintético
- <400> 5

ES 2 793 773 T3

Met Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
 20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
 35 40 45

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
 50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
 65 70 75 80

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
 85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu
 100 105 110

Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
 115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
 130 135 140

Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
 145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 6

<211> 166

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (102)..(102)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 6

ES 2 793 773 T3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Xaa Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 7

<211> 167

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10 <220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (103)..(103)

<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15 <400> 7

Pro Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu

ES 2 793 773 T3

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
 20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
 35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
 50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
 85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Xaa Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro
 100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
 115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
 130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
 145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 9
 <211> 166
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (103)..(103)
 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15 <400> 9

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

ES 2 793 773 T3

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Xaa Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 10
 <211> 167
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (104)..(104)
 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15
 <400> 10

Pro Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
 20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
 35 40 45

ES 2 793 773 T3

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
65 70 75 80

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Xaa Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu
100 105 110

Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
130 135 140

Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 11
<211> 168
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Polipéptido sintético

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (105)..(105)
15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 11

Pro Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala
1 5 10 15

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln

ES 2 793 773 T3

50

55

60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Xaa Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro
100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 12

<211> 166

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (107)..(107)

<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15

<400> 12

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
50 55 60

ES 2 793 773 T3

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro Leu Leu
100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 13
<211> 167
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Polipéptido sintético

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (108)..(108)
15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 13

Pro Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
35 40 45

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
65 70 75 80

ES 2 793 773 T3

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro Leu
100 105 110

Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
130 135 140

Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 14
<211> 168
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Polipéptido sintético

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (109)..(109)
15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 14

Pro Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala
1 5 10 15

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
85 90 95

ES 2 793 773 T3

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro
 100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
 115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
 130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Arg Asn Leu
 145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 15
 <211> 166
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (112)..(112)
 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15 <400> 15

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Xaa

ES 2 793 773 T3

100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 16
 <211> 167
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
 <222> (113)..(113)
 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15 <400> 16

Pro Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
 20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
 35 40 45

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
 50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
 65 70 75 80

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
 85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu
 100 105 110

ES 2 793 773 T3

Xaa Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
 115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
 130 135 140

Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
 145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 17

<211> 168

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (114)..(114)

<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 17

Pro Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala
 1 5 10 15

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
 20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
 35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
 50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
 85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro
 100 105 110

Leu Xaa Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
 115 120 125

5

10

15

ES 2 793 773 T3

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 18

<211> 166

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (136)..(136)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 18

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Xaa Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

20

<210> 19

<211> 167

ES 2 793 773 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Polipéptido sintético

10 <220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (137)..(137)
<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 19

Pro Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
35 40 45

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
65 70 75 80

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu
100 105 110

Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Xaa Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
130 135 140

15 Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

20 <210> 20
<211> 168
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Polipéptido sintético

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (138)..(138)
<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

ES 2 793 773 T3

<400> 20

Pro Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala
1 5 10 15

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro
100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Xaa Ser Pro Cys Ala Trp Glu
130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
145 150 155 160

5

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
165

<210> 21

<211> 166

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

15

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (7)..(7)

<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

20

<400> 21

ES 2 793 773 T3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr Xaa Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 22

<211> 166

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (34)..(34)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 22

ES 2 793 773 T3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

Arg Xaa Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 23

<211> 166

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (40)..(40)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 23

ES 2 793 773 T3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu Arg
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp His
 20 25 30

Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro Xaa Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln Val
 35 40 45

Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln Thr
 50 55 60

Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp Leu
 85 90 95

Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Glu Gly Thr Pro Leu Leu
 100 105 110

Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu Thr
 115 120 125

Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile Val
 130 135 140

Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln Asp
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 24

<211> 167

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

10 <220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (108)..(108)

<223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

15 <400> 24

ES 2 793 773 T3

Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
 20 25 30

His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
 35 40 45

Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
 50 55 60

Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
 65 70 75 80

Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
 85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro Leu
 100 105 110

Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
 115 120 125

Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
 130 135 140

Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
 145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 25

<211> 168

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (109)..(109)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 25

ES 2 793 773 T3

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

Leu Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu
 20 25 30

Asp His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn
 35 40 45

Gln Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln
 50 55 60

Gln Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80

Glu Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg
 85 90 95

Asp Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro
 100 105 110

Leu Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg
 115 120 125

Leu Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
 130 135 140

Ile Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu
 145 150 155 160

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

<210> 26

<211> 167

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido sintético

<220>

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA

<222> (108)..(108)

15 <223> para-acetil-fenilalanina (pAF)

<400> 26

ES 2 793 773 T3

His Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Ala His Thr Arg Ala Leu
 1 5 10 15
 Arg Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Asp
 20 25 30
 His Arg Arg Asp Phe Gly Ser Pro His Glu Ala Phe Gly Gly Asn Gln
 35 40 45
 Val Gln Lys Ala Gln Ala Met Ala Leu Val His Glu Met Leu Gln Gln
 50 55 60
 Thr Phe Gln Leu Phe Ser Thr Glu Gly Ser Ala Ala Ala Trp Asn Glu
 65 70 75 80
 Ser Leu Leu His Gln Phe Tyr Thr Gly Leu Asp Gln Gln Leu Arg Asp
 85 90 95
 Leu Glu Ala Cys Val Met Gln Glu Ala Gly Leu Xaa Gly Thr Pro Leu
 100 105 110
 Leu Glu Glu Asp Ser Ile Arg Ala Val Arg Lys Tyr Phe His Arg Leu
 115 120 125
 Thr Leu Tyr Leu Gln Glu Lys Ser Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Ile
 130 135 140
 Val Arg Ala Glu Val Met Arg Ser Phe Ser Ser Ser Arg Asn Leu Gln
 145 150 155 160
 Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu
 165

REIVINDICACIONES

1. Una variante de interferón- α porcino (pINF- α) que comprende:
 $X_a X_b$ CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGS
 5 AAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSYPCAWIVRAEVMR
 SFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 1), en donde el residuo E103, E107, L112, Y136 o Q102 (numeración con respecto a SEQ ID NO: 4) está sustituido con un aminoácido sintético; y
 en donde $X_a X_b$ es carencia de aminoácidos, una prolina únicamente, o prolina-serina.
2. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde el aminoácido sintético es para-acetil-fenilalanina (pAF).
- 10 3. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 7.
4. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 10.
5. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 13.
6. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 16.
7. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 19.
- 15 8. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 8.
9. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 11.
10. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 14.
11. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 17.
12. La variante de pINF- α de la reivindicación 1, en donde la variante es SEQ ID NO: 20.
- 20 13. La variante de pINF- α de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el aminoácido sintético está pegilado.
14. La variante de pINF- α de la reivindicación 13, en donde la variante de pINF- α pegilada está pegilada con PEG de aproximadamente 5 kDa a 40 kDa.
15. La variante de pINF- α de la reivindicación 14, en donde el PEG es un PEG de 30 kDa.
- 25 16. Una variante de interferón- α porcino (pINF- α) que consiste en:
 PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSA
 AAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGL-pAF-GTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSYPCAWIVRAEV
 MRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 14), en donde el residuo correspondiente a E107 (numeración con respecto
 30 a SEQ ID NO: 4) está sustituido con para-acetil-fenilalanina (pAF) y dicho residuo de pAF está pegilado con un PEG
 lineal de 30 kDa.
17. Una formulación que comprende la variante de pINF- α de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, acetato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 100 mM, glicerol al 5% a pH 5,0 y título de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 6,0 g/L de dicha variante de pINF- α .
18. Un método de formulación de la variante de pINF- α de la reivindicación 1 que comprende los pasos de:
 35 (a) purificación del pINF- α ;
 (b) solubilización de dicha variante purificada de pINF- α en Tris 50 mM, guanidina 6M a pH 8;
 (c) incubación de la variante de pINF- α solubilizada a la temperatura ambiente durante 16-24 horas en Tris 20 mM, arginina 1M, metionina (met) 10 mM, EDTA 1 mM a pH 8,0;
 (d) eliminación de las variantes acetiladas residuales;
 40 (e) conjugación de la variante de pINF- α con PEG en una ratio de PEG a proteína de entre 1:1 y 1:2;
 y
 (f) purificación de la variante de pINF- α pegilada.
19. Un vial multidosis que contiene una formulación de la reivindicación 17.

20. La formulación de la reivindicación 17 o la variante de pINF- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-16 para su uso en terapia.
21. La formulación de la reivindicación 17 o la variante de pINF- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-16 para su uso en el tratamiento de una infección viral en un cerdo.
- 5 22. La formulación o variante de pINF- α para el uso de la reivindicación 20 o 21, en donde la variante de pINF- α se administra en el intervalo de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso del animal.
23. La formulación o variante de pINF- α para el uso de la reivindicación 22, que comprende una segunda administración de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso del animal de dicha variante de pINF- α .
- 10 24. La formulación o variante de pINF- α para el uso de la reivindicación 23, en donde la segunda administración es de 7 a 14 días después de la primera administración.
25. La formulación o variante de pINF- α para el uso de la reivindicación 21, en donde la infección viral se selecciona del grupo que consiste en: virus de la enfermedad reproductora y respiratoria porcina, virus de la fiebre aftosa, virus de la influenza porcina, circovirus porcino, virus de la diarrea epidémica porcina, y virus de la gastroenteritis transmisible.
- 15 26. La formulación o variante de pINF- α para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, en donde el cerdo es un cerdo recién nacido o una cerda preñada.

Sitio pAF	Secuencia	SEQ ID NO:	X=
Q102	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	6	102
Q102	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	7	103
Q102	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	8	104
E103	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	9	103
E103	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	10	104
E103	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	11	105
E107	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	12	107
E107	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	13	108
E107	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	14	109
L112	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	15	112
L112	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	16	113
L112	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	17	114
Y136	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE DSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	18	136
Y136	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	19	137
Y136	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTQFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLEE EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	20	138

FIG. 2

FIG. 3

Secuencia	SIN	Longitud	Comentario
X_aX_b CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQL FSTEGSAAAWNESLLHQFY TGLDQQLRDLEACVMQ Q EAGL E GTPL Q EEDSIRAVRKYFHRL TLYLQEK S S S PCAWIEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	1	168	Interferón- α -1 porcino tipo salvaje (con adiciones N-terminales), <i>Sus scrofa domestica</i> pIFN- α (GenBank X57191)
MX_aX_b CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQL LFSTEGSAAAWNESLLHQFY TGLDQQLRDLEACVMQ Q EAGL E GTPL Q EEDSIRAVRKYFHRL TLYLQEK S S SPCAWIEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	2	169	Igual que SIN 1 pero con M N-terminal (que está escindida usualmente en el polipéptido maduro)
MAP TS AFLTALVLLSCNAICSLGCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQ VQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFY TGLDQQLRDLEACVMQ Q EAGL E GTPL Q EEDSI RAVRKYFHRL TLYLQEK S S PCAWIEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	3	189	pIFN- α de <i>Sus scrofa domestica</i> (GenBank X57191) con <u>péptido señal</u>
CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFST EGSAAAWNESLLHQFY TGLDQQLRDLEACVMQ Q EAGL E GTPL Q EEDSIRAVRKYFHRL TLYLQEK S S PCAW WIEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	4	166	pIFN- α de <i>Sus scrofa domestica</i> (GenBank X57191), secuencia madura
MCDDL PQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFS TEGSAAAWNESLLHQFY TGLDQQLRDLEACVMQ Q EAGL E GTPL Q EEDSIRAVRKYFHRL TLYLQEK S S PCAW WIEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	5	167	pIFN- α de <i>Sus scrofa domestica</i> (GenBank X57191), secuencia madura con Met N-terminal añadida

FIG. 4

X_a	X_b	Sitio pAF	Secuencia	SIN	Longitud	X=
abs	abs	Q102	CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	6	166	102
abs	Pro	Q102	PCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQ YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	7	167	103
Pro	Ser	Q102	PSCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	8	168	104
abs	abs	E103	CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	9	166	103
abs	Pro	E103	PCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQ YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	10	167	104
Pro	Ser	E103	PSCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	11	168	105
abs	abs	E107	CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	12	166	107
abs	Pro	E107	PCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQ YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	13	167	108
Pro	Ser	E107	PSCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	14	168	109
abs	abs	L112	CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	15	166	112
abs	Pro	L112	PCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQ YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	16	167	113
Pro	Ser	L112	PSCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	17	168	114
abs	abs	Y136	CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	18	166	136
abs	Pro	Y136	PCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQ YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	19	167	137
Pro	Ser	Y136	PSCDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	20	168	138

$X_a X_b$ CDLPQTHSLAHTRALRLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 1)

Secuencia de 166 residuos de "pIFN-alfa WT"

1 CDLPQTSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNES
 81 LLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP
 161 RLRKKE

X _a	X _b	Sitio pAF	Secuencia	SIN	Longitud	X=
abs	abs	H7	CDLPQTSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	21	166	7
abs	abs	R34	CDLPQTHSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	22	166	34
abs	abs	H40	CDLPQTHSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	23	166	40

FIG. 5

X _s	X _b	Sitio pAF	Secuencia	SIN	Longitud	X=
ausente	Ser	E107	SCDLPQTHSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	24	167	108
Ser	Gly	E107	SGCDLPQTHSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	25	168	109
ausente	His	E107	HCDLPQTHSLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKADAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAAGLEGTP LLEEDSIRAVRKYFRLTYLQEKSYSP CAMEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	26	167	108

FIG. 6