

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201892671** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2019.05.31

(51) Int. Cl. *A61K 38/21* (2006.01)  
*C07K 14/56* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2017.06.16

---

(54) **ПЕГИЛИРОВАННЫЙ СВИНОЙ ИНТЕРФЕРОН И СПОСОБЫ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 62/352,163

(32) 2016.06.20

(33) US

(86) PCT/US2017/037964

(87) WO 2017/222940 2017.12.28

(71) Заявитель:  
ЭЛАНКО ЮЭС ИНК.; АМБРКС,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Кэннинг Питер Коннор, Кнудсен  
Николас, Скидмор Лиллиан (US)

(74) Представитель:  
Парамонова К.В., Угрюмов В.М.,  
Христофоров А.А., Строкова О.В.,  
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М.,  
Лебедев В.В., Лыу Т.Н., Глухарёва  
А.О. (RU)

(57) В документе раскрыты варианты свиного интерферона альфа (pINF- $\alpha$ ), содержащие синтетическую аминокислоту в выбранных местоположениях в pINF- $\alpha$  и вставку одной или двух аминокислот на N-конце после удаления сигнального пептида. Варианты pINF- $\alpha$  могут быть дополнительно пегилированными. Также предполагаются способы получения и введения этих соединений для лечения вирусных инфекций у свиней и составы, содержащие данные варианты.

**201892671**  
**A1**

**201892671**  
**A1**

# ПЕГИЛИРОВАННЫЙ СВИНОЙ ИНТЕРФЕРОН И СПОСОБЫ ЕГО

## ПРИМЕНЕНИЯ

### ОПИСАНИЕ

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был предоставлен в формате ASCII с использованием EFS-Web и который таким образом включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия ASCII, созданная 15 июня 2017 года, имеет название 204257\_0028\_561478\_SL\_ST25.txt и размер 45280 байтов.

Введение интерферона альфа (INF- $\alpha$ ) имеет медицинские последствия, которые необходимо оценить и контролировать. Например, аутоиммунные реакции также могут индуцироваться у людей терапией хронического вирусного гепатита с использованием INF- $\alpha$ . Таким образом, лечение людей, в целом, было ограничено пациентами, которые нуждались в терапии, поскольку терапия может усугублять ранее существующие аутоиммунные реакции, демаскировать скрытые аутоиммунные процессы или даже индуцировать аутоиммунные заболевания *de novo*. F.L. Dumoulin et al., "Autoimmunity induced by interferon- $\alpha$  therapy for chronic viral hepatitis," *Biomed. & Pharmacother.*, 53: 242-54 (1999). Также наблюдали, что интерферон- $\alpha$  оказался неспособен к лечению инфекций вирусом гепатита С у людей.

Также наблюдали, что интерферон оказался эффективным для лечения некоторых людей с вирусом гепатита С (HCV) в такой степени, что на данный момент клиническое применение у людей имеют две пегилированные формы интерферона альфа (INF- $\alpha$ ), т.е. пегинтерферон- $\alpha$ -2а и пегинтерферон- $\alpha$ -2b, также известные как PEGASYS® и PEGINTRON®, соответственно. Пока остается неясным то, как INF- $\alpha$  ингибирует репликацию HCV. Что более интересно, пегинтерферон- $\alpha$ -2а и пегинтерферон- $\alpha$ -2b характеризуются только 7% и 28% активностью, соответственно, по сравнению с их нативными формами (диким типом).

В процессе получения интерферона были созданы различные варианты для лечения человека с целью повышения биологической доступности и содействия продуцированию белка. Один пример приведен в патенте США № 8106160, в котором обсуждается добавление одного или нескольких аминокислотных остатков к N-концевому цистеину зрелого человеческого интерферона альфа-2b для снижения образования дисульфидных связей, не характерных для естественных условий, и, вследствие этого, снижения уровня структурных изоформ. Он включает добавление пролинового остатка на N-конце.

Способы введения не встречающихся в естественных условиях аминокислот,

вставленных в сайты в белке, описаны, например, в международной заявке WO 2010/011735 и в международной заявке WO 2005/074650.

Свиной интерферон альфа-1 дикого типа имеет длину 189 аминокислот и находится под кодом доступа X57191 в GenBank.

Требуются формы интерферона- $\alpha$  для применения у животных и в животноводстве, в особенности, в лечении популяций свиней, чувствительных к вирусным инфекциям, и, еще более конкретно, в лечении популяций свиней с активными и протекающими вирусными инфекциями для защиты стад свиней от патологии, ассоциированной с вирусной инфекцией. Будет благоприятно обнаружить вариант IFN- $\alpha$  для применения у животных-свиней, который имеет продолжительное действие и является полезным для ингибирования или снижения репликации вируса, патологии в стаде и гибели животных, связанной с вирусной инфекцией. Вариант свиного IFN- $\alpha$  будет сохранять биологическую активность, будет иметь более длительный период биологической доступности и будет иметь малое число изоформ, что обеспечивает возможность более простой очистки.

На фиг. 1 изображена плаزمида pKG0083 с pIFN- $\alpha$ -PS-E107amber, который включает в себя N-концевую вставку пролин-серина. Эта плаزمида управляет продукцией варианта белка с SEQ ID NO: 14 клеточной линией AXID2820.

На фиг. 2 изображены результаты выравнивания последовательностей и идентификаторы последовательностей для вариантов pINF- $\alpha$ , имеющих синтетическую аминокислоту pAF, заменяющую остатки Q102, E103, E107, L112 и Y136. У всех последовательностей отсутствует сигнальная последовательность для pINF- $\alpha$ . У последовательностей либо отсутствует (SEQ ID NO: 6, 9, 12, 15 и 18) дополнительная аминокислота на N-конце, либо они имеют пролин (SEQ ID NO: 7, 10, 13, 16 и 19) или пролин-серин, добавленные на N-конце (SEQ ID NO: 8, 11, 14, 17 и 20).

На фиг. 3 изображена последовательность мотива SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 2 является такой же, как SEQ ID NO: 1, но включает в себя N-концевой метионин, который обычно отщепляется при созревании зрелого варианта pIFN- $\alpha$ . SEQ ID NO: 3 включает в себя сигнальную последовательность, но у нее отсутствует вставка пролина, пролина-серина и/или метионина. SEQ ID NO: 4 представляет собой зрелый pIFN- $\alpha$  дикого типа. SEQ ID NO: 5 представляет собой последовательность дикого типа с метионином на N-конце.

На фиг. 4 в таблице изображены различные варианты pIFN- $\alpha$  с Q102, E103, E107, L112 и 136, либо не имеющие дополнительного остатка, либо имеющие пролин или пролин-серин, присоединенные на N-конце, как указано в положениях X<sub>a</sub> и X<sub>b</sub>. Под «abs» подразумевается отсутствие. SEQ ID NO: 1 приведена для сравнения.

На фиг. 5 изображены результаты выравнивания последовательностей для трех дополнительных вариантов рIFN- $\alpha$ , в которых рAF заменяет Н7, R34 и Н40. Эти последовательности либо не имеют пролина или пролин-серина на N-конце, либо они не имеют N-концевого метионина. Сайты мутации изображены в рамке в последовательности рIFN-альфа WT над таблицей, и в таблице они изображены в виде «X» в рамке. X<sub>a</sub> и X<sub>b</sub> являются такими, как определено в таблице. Под «abs» подразумевается отсутствие.

На фиг. 6 изображены дополнительные синтезированные мутации в E107, в которых серин (SEQ ID NO: 24), серин-глицин (SEQ ID NO: 25) и гистидин (SEQ ID NO: 26) добавлены на amino-конце варианта рIFN- $\alpha$ , имеющего рAF, заменяющую E107 (представленный как «X» в рамке). X<sub>a</sub> и X<sub>b</sub> являются такими, как определено в таблице. Под «abs» подразумевается отсутствие.

В данном документе представлены варианты свиного интерферона- $\alpha$  (рINF- $\alpha$ ) и способы их применения, которые можно применять у животных, которые не являются вакцинированными, таких как невакцинированные новорожденные поросята, а также животные с угнетенным иммунитетом, т.е. беременные свиньи (беременные свиноматки или молодые свиньи); у животных, которым вакцинация предоставляет недостаточную защиту; у животных, чувствительных к инфекции вирусом, для которого нет доступной эффективной вакцины; и у животных, инфицированных в настоящее время. Эти композиции и способы применения будут предупреждать инфекцию в случае вспышки вирусной инфекции. Композиции также можно применять для снижения тяжести заболевания у инфицированной свиньи. В целом, введение осуществляют по схеме дозирования с введением одной дозы. В качестве альтернативы, и если это необходимо, дозы могут быть обеспечены с интервалом примерно 1-3 или 2 недели, причем, необязательно, вводят только одну-две дозы.

Свиной интерферон- $\alpha$  (рINF- $\alpha$ ) дикого типа, который включает в себя сигнальную последовательность из 23 остатков, представляет собой:

maptsaflta lvllscnaic slgcdlpqth slahtralrl laqmrrisfp scldhrrdfg  
 spheafggng vqkaqamalv hemlqqtfql fstegsaaaw nesllhqfct gldqqldle  
 acvmqeagle gtplleedsilavrkyfhrl tlylqeksys pcaweivrae vmrsfsssrn  
 lqdrlrkke (SEQ ID NO: 3).

Выделенная двойным подчеркиванием часть представляет собой сигнальную последовательность, которая не присутствует в зрелой форме рIFN- $\alpha$  дикого типа.

В данном документе представлен вариант (рINF- $\alpha$ ). В варианте пропущена сигнальная последовательность из 23 аминокислот. Вариант может иметь метиониновый

остаток на amino-конце, который может быть отщеплен в зрелой форме белка. Этот метионин не присутствует в форме pINF- $\alpha$  дикого типа. Вариант pINF- $\alpha$  дополнительно имеет вставку одной или двух аминокислот между метионином сигнальной последовательности и N-концевым цистеином. Вставка представляет собой либо пролин, либо пролин-серин. Последовательность представлена ниже:  
**MX<sub>a</sub>X<sub>b</sub>CDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAM**  
**ALVHEMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLL**  
**EEDSIRAVRKYFHRLTYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE** (SEQ ID NO: 2).

«X<sub>b</sub>» (положение 3 в SEQ ID NO: 2) либо представляет собой любой из пролина, серина, либо отсутствует. X<sub>a</sub> (положение 2 в SEQ ID NO: 2) либо отсутствует, либо представляет собой пролин. Если X<sub>b</sub> отсутствует, X<sub>a</sub> отсутствует, если X<sub>b</sub> представляет собой пролин, X<sub>a</sub> отсутствует, и если X<sub>b</sub> представляет собой серин, X<sub>a</sub> представляет собой пролин. Выделенный жирным шрифтом остаток глутаминовой кислоты «E», располагается ниже X<sub>a</sub> по направлению транскрипции, и X<sub>b</sub> представляет собой сайт замены синтетической аминокислотой, т.е. pAF.

Вариант pINF- $\alpha$  дополнительно имеет синтетическую аминокислоту, пара-ацетил-фенилаланин (pAF), заменяющую одно из 5 местоположений в SEQ ID NO: 1: остаток E103 (SEQ ID NO: 9-11, соответственно), E107 (SEQ ID NO: 12-14, соответственно), L112 (SEQ ID NO: 15-17, соответственно), Y136 (SEQ ID NO: 18-20) или Q102 (SEQ ID NO: 6-8, соответственно) (нумерация в соответствии с последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 4, без N-концевого Met).

Вариант pINF- $\alpha$  может быть дополнительно пегилирован на pAF. Вариант pINF- $\alpha$  может быть пегилирован с использованием PEG с молекулярной массой от приблизительно 5 до приблизительно 40 кДа или PEG с молекулярной массой 30 кДа. Вариант pINF- $\alpha$  может быть пегилирован с использованием линейного оксиамино-PEG с молекулярной массой 30 кДа. Активированная оксиамино-группа хемоселективно реагирует с ацетильной боковой цепью, присутствующей на синтетической аминокислоте, такой как пара-ацетилфенилаланин. Вариант pINF- $\alpha$  имеет линейный PEG с молекулярной массой 30 кДа, ковалентно связанный с pAF, заменяющей E107 (SEQ ID NO: 12-14) (нумерация в соответствии со зрелой последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 4). Вариант pINF- $\alpha$  с E107 может дополнительно иметь пролин или пролин и серин на N-конце, что отражено в SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно.

Варианты pINF- $\alpha$  могут быть включены в составы. Состав, содержащий варианты pINF- $\alpha$ , может содержать 20 mM ацетат натрия, 100 mM хлорид натрия, 5% глицерин при

pH 5,0 с титром свиного INF- $\alpha$ , составляющим от 2,0 до 6,0 г/л.

Составы могут быть получены с помощью способа, предусматривающего стадии:

- (a) очистки pINF- $\alpha$ ;
- (b) растворения указанного очищенного варианта pINF- $\alpha$  в 50 mM Tris, 6 M гуанидине при pH 8;
- (c) инкубирования растворенного варианта pINF- $\alpha$  при комнатной температуре в течение 16-24 часов в 20 mM Tris, 1 M аргинине, 10 mM метионине (met), 1 mM EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) при pH 8,0 для обеспечения возможности рефолдинга белка;
- (d) удаления оставшихся ацелированных вариантов с помощью хроматографического разделения на сильной анионообменной смоле;
- (e) конъюгирования варианта pINF- $\alpha$  с PEG при соотношении PEG к белку, составляющем от 1:1 до 1:8 или от 1:1 до 1:2; и
- (f) очистки пегилированного варианта pINF- $\alpha$ .

Варианты pINF- $\alpha$  и составы с ними можно применять для лечения вирусной инфекции. Способ лечения вирусной инфекции у свиньи предусматривает подкожное введение варианта pINF- $\alpha$  свинье в количестве любого из вариантов свиного интерферона- $\alpha$  (pINF- $\alpha$ ), составляющем от 25 мкг/кг до 150 мкг/кг массы животного. Способ может дополнительно предусматривать второе введение варианта pINF- $\alpha$  в количестве от приблизительно 25 мкг/кг до приблизительно 150 мкг/кг массы животного. Если способ включает второе введение, второе введение может происходить приблизительно через 7, 14 или 21 сутки после первого введения.

Способ лечения вирусной инфекции можно применять для лечения вирусной инфекции, выбранной из группы, состоящей из: вируса свиного репродуктивного и респираторного заболевания, вируса ящура, вируса свиного гриппа, свиного цирковируса, свиного вируса эпизоотической диареи и вируса трансмиссивного гастроэнтерита. Способ можно применять для лечения новорожденного поросенка или беременной свиньи.

Также предполагается применение любого из вариантов pINF- $\alpha$  (или состава, содержащего вариант) в терапии у свиньи для лечения вирусной инфекции, причем инфекция может быть вызвана любым из вирусов, обсуждаемых в данном документе.

Также описывается применение варианта pINF- $\alpha$  для применения в производстве лекарственного средства для лечения вирусной инфекции у свиньи. Свинья может представлять собой новорожденного поросенка или беременную свинью.

Под «введением» подразумевается, инъекция терапевтически эффективного количества соединений и композиций, содержащих указанные раскрытые соединения.

Введение может быть внутримышечным (i.m.) или подкожным (s.c.). Количество вводимого варианта рINF- $\alpha$  будут устанавливать на основании массы животного, например, при этом беременные свиньи получают большее количество, чем новорожденные поросята.

Составы, раскрытые в данном документе, также могут быть помещены во флакон с одной дозой или многодозовый флакон.

Свинья, подвергающаяся лечению с помощью способов, описанных в данном документе, будет представлять собой новорожденного поросенка или беременную свинью (беременную молодую свинью или свиноматку).

Под терминами «лечить», «осуществлять лечение» или «лечение» подразумевается снижение или ослабление одного или нескольких симптомов, ассоциированных с инфекцией одним из вирусов, упомянутых в данном документе. Композицию можно дополнительно применять в производстве лекарственного средства для лечения вирусной инфекции у свиньи. Композицию или лекарственное средство можно применять для лечения свиньи. Свинья может представлять собой новорожденного поросенка или беременную свинью.

Будут подробно обсуждаться соединения, составы с указанными соединениями, способы получения составов и способы применения соединений и составов для лечения свиней (подсвинок или хряков), имеющих вирусную инфекцию.

В контексте данного документа и пунктов приложенной формулы изобретения формы единственного числа включают в себя соответствующие формы множественного числа, если контекст явно не указывает иное, и использование форм множественного числа, в свою очередь, также может охватывать использование в единственном числе.

«Синтетическая аминокислота» относится к аминокислоте, которая не является одной из 20 распространенных аминокислот, или пирролизином, или селеноцистеином. Примеры таких синтетических аминокислот включают в себя, без ограничения, парацетилфенилаланин (pAF), ацетилглюкозаминил-L-серин и N-ацетилглюкозаминил-L-треонин. Для дополнительных подробностей относительно таких синтетических аминокислот и их включения и модификации, см. международные заявки WO 2010/011735 и WO 2005/074650.

Термин «субъект» в контексте данного документа относится к свинье, в особенности, к домашней свинье (*Sus scrofa domesticus* или *Sus domesticus*), и может включать в себя карликовых свиней, а также их породы, которые разводят для получения мяса. Предполагается, что термины «свинья», «хряк» или «подсвинок» включают в себя все породы свиней.

Используемый термин «эффективное количество» относится к такому количеству варианта рINF- $\alpha$ , которое при введении будет обеспечивать предупреждение, лечение или снижение переноса свиного вируса от инфицированного животного к неинфицированному животному или будет обеспечивать предупреждение, лечение или снижение симптома заболевания, вызванного инфекцией свинным вирусом. В данном документе раскрыты варианты свиного интерферона альфа (рIFN- $\alpha$ ). Эти варианты имеют синтетические аминокислоты, заменяющие различные положения в последовательности свиного IFN- $\alpha$ . Ген рIFN- $\alpha$  *Sus scrofa domestica* (GenBank X57191), в котором подчеркнутая лидерная последовательность (остатки 1-23 в SEQ ID NO: 3) удалена, как представлено ниже (в ориентации от amino- к карбокси-концу):

MAPTSAFLTALVLLSCNAICSLGCDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFG  
SPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLR  
DLEACVMQEAGLEGTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFS  
SSRNLDRLRKKE. (SEQ ID NO:3).

Зрелая последовательность представляет собой:

CDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVH  
EMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLLEEDS  
IRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSRNLDRLRKKE (SEQ ID NO:

4). Подчеркнутая сигнальная последовательность на N-конце SEQ ID NO: 3, может быть заменена на другую сигнальную последовательность или даже на один метиониновый остаток, например, для транскрипции *in vitro*, что приводит в результате к следующей последовательности:

MCDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQA  
MALVHEMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGT  
PLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSRNLDRLRKKE (SEQ  
ID NO: 5), или она может включать в себя остатки пролина или пролин-серина между N-концевым метионином и цистеином (см. SEQ ID NO: 2). Можно применять другие родственные свиные последовательности.

Варианты рIFN- $\alpha$  имеют синтетические аминокислоты, введенные в одно из следующих местоположений на *Sus scrofa domestica* (при использовании нумерации, соответствующей зрелой последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4): Q102 (SEQ ID NO: 6), E103 (SEQ ID NO: 9), E107 (SEQ ID NO: 12), L112 (SEQ ID NO: 15) и Y136 (SEQ ID NO: 18) (которые выделены жирным шрифтом и подчеркиванием в последовательности выше), а также изображены на фиг. 2-4. У зрелого рINF- $\alpha$  N-концевой метиониновый остаток (например, остаток 1 в SEQ ID NO: 5) может отщепляться при созревании.



Синтетические аминокислоты и их включение являются такими, как обсуждается, например, в международной заявке WO 2010/011735. Синтетические аминокислоты можно применять у *Escherichia coli* (*E. coli*) (например, L. Wang, et al., (2001), *Science* 292: 498-500) и у эукариота *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) (например, J. Chin et al., *Science* 301: 964-7 (2003)), которые обеспечивают возможность включения синтетических аминокислот в белки *in vivo*.

Из пяти (5) перечисленных вариантов с заменой на синтетическую аминокислоту, характеризующихся биологической активностью (замены на рАФ в одном из пяти остатков E103, E107, L112, Y136 или Q102, которые выделены подчеркиванием в последовательности ниже), эти варианты могут быть дополнительно модифицированы посредством вставки аминокислот на N-конце молекулы. Например, пролин (Pro) или пролин-серин (Pro-Ser) могут быть вставлены между N-концевым Met и Cys.

В зрелой форме вариантов будет исключен N-концевой метионин.

В данном документе описываются способы получения полипептида рINF- $\alpha$ , связанного с водорастворимым полимером. Подразумевается, что термины «пегилирование» и «пегилированный» относятся к ковалентному связыванию определенной синтетической аминокислоты с молекулой полиэтиленгликоля (PEG). Способ может предусматривать приведение в контакт выделенного полипептида рINF- $\alpha$ , содержащего синтетическую аминокислоту, с водорастворимым полимером, содержащим фрагмент, который реагирует с синтетической аминокислотой.

Молекула поли(этиленгликоля) может характеризоваться молекулярной массой, составляющей от приблизительно 0,1 кДа до приблизительно 100 кДа. Молекула поли(этиленгликоля) может характеризоваться молекулярной массой, составляющей от 0,1 кДа до 50 кДа, от 20 кДа до 40 кДа и любое значение в виде целого числа от 25 кДа до 35 кДа. Молекула поли(этиленгликоля) может характеризоваться молекулярной массой, составляющей приблизительно 30 кДа. Молекула поли(этиленгликоля) может представлять собой линейную молекулу, характеризующуюся молекулярной массой, составляющей от 0,1 кДа до 50 кДа, от 20 кДа до 40 кДа и любое значение в виде целого числа от 25 кДа до 35 кДа. Молекула поли(этиленгликоля) может представлять собой линейную молекулу, характеризующуюся молекулярной массой, составляющей 30 кДа. Молекула поли(этиленгликоля) может иметь аминокси-группу, способную к реакции с ацетильной группой на синтетической аминокислоте. Молекула поли(этиленгликоля) может представлять собой линейный PEG молекулярной массой 30 кДа с активированной аминокси-группой, способный к образованию оксимной связи с ацетильной боковой цепью пара-ацетилфенилаланина.

Один рINF- $\alpha$  имеет линейный PEG, который характеризуется молекулярной массой приблизительно 30 кДа, прикрепленный к остатку рAF.

Варианты, которые обсуждались выше и которые обсуждаются далее по тексту, могут быть дополнительно смешаны в составе с различными вспомогательными веществами, стабилизаторами, буферами и другими компонентами для введения животным. Идентификация подходящих составов в отношении стабильности, введения животным и активности не является простой задачей. Наоборот, состав должен быть адаптирован для каждого соединения, исходя из требований к очистке этого соединения, стабилизатора, необходимого для сохранения соединения, и различных других компонентов состава.

Подходящие соли для включения в состав включают в себя хлорид натрия, хлорид калия или хлорид кальция.

Ацетат натрия можно применять в качестве буферного средства и/или стабилизирующего средства.

Подходящие буферы могут включать в себя фосфатно-цитратный буфер, фосфатный буфер, цитратный буфер, L-гистидин, L-аргинина гидрохлорид, бикарбонатный буфер, сукцинатный буфер, цитратный буфер и TRIS буфер либо отдельно, либо в комбинации.

Состав также может включать в себя криопротектор. Криопротекторы могут включать в себя криопротектор, выбранный из группы, состоящей из гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина (HPBCD), сукралозы и поливинилпирролидона 4000 (PVP 4000).

Состав, необязательно, может включать в себя поверхностно-активное вещество. Подходящие поверхностно-активные вещества включают в себя полисорбаты (например, полисорбат 80), додецилсульфат (SDS), лецитин либо отдельно, либо в комбинации.

Состав может представлять собой водную композицию, или он может иметь форму восстановленной жидкой композиции или присутствовать в виде порошка. Кроме того, состав можно хранить во флаконе или картридже или в предварительно заполненном стерильном шприце, готовом для введения субъекту.

рН состава может находиться в диапазоне от 4,0 до 7,0 или от 4,5 до 6,5, когда состав имеет форму жидкости.

Подходящие вирусные инфекции, лечение которых можно осуществлять, включают в себя, без ограничения, коронавирус, пестивирус (вирус чумы свиней или классической чумы свиней, CSF), коронавирус, вызывающий трансмиссивный гастроэнтерит (TGEV), свиной артеривирус (PoAV), вирус свиного свиного репродуктивного и респираторного синдрома (PRRSV), свиной цирковирус (PCV), вирус свиной эпизоотической диареи

(PEDV), вирус ящура (FMDV), свиной коронавируса, такой как свиной дельтакоронавирус (PDCoV), и вирус свиного гриппа (SIV).

Введение варианта или состава, содержащего вариант, может представлять собой введение единственной дозы или за введением одной дозы следует введение второй дозы через 7-21 сутки после первой дозы, например, приблизительно через 14 суток после первой дозы. Животному вводят вариант в количестве, составляющем от приблизительно 25 мкг/кг до приблизительно 150 мкг/кг варианта на кг массы животного. Другой диапазон эффективных количеств варианта рINF- $\alpha$  составляет от приблизительно 50 мкг/кг до приблизительно 100 мкг/кг массы животного. Вариант можно вводить в составе или сам по себе. Вариант можно вводить однократно, например, перед вспышкой заболевания. Вариант также можно вводить после вспышки вирусной инфекции стаду с целью предотвращения дальнейших потерь в стаде. Вариант или состав с ним можно вводить во второй раз. Второе введение можно назначать после периода от приблизительно 7 до приблизительно 21 суток после первого введения, например, через 14 суток после первого введения. Дополнительные введения могут предполагаться, если они необходимы для снижения или предупреждения заболевания, ассоциированного с вирусными инфекциями.

Специалисту в данной области техники будет очевидно, что различные модификации и изменения могут быть выполнены без отступления от идеи или объема композиций, соединений и способов, раскрытых в данном документе. Таким образом, предполагается, что настоящим изобретением покрываются модификации и варианты настоящего изобретения при условии, что они попадают в объем пунктов прилагаемой формулы изобретения и их эквивалентов.

## **ПРИМЕРЫ**

### **Пример 1. Варианты с рAF**

Одиннадцать (11) вариантов с рAF создают и сравнивают относительно рINF- $\alpha$  дикого типа (wt). Из них три варианта рINF- $\alpha$  исключают из продолжающегося исследования вследствие плохой экспрессии белка/проблем с продуцированием в случае синтетических аминокислот, замещенных в различных точках в рINF- $\alpha$ .

AXID2820 имеет плазмиду рKG0083 с рIFN- $\alpha$ -E107amber и N-концевой вставкой пролин-серина (фиг. 1). Нумерация остатков была стандартизирована для обеспечения соответствия последовательности рIFN- $\alpha$  дикого типа (SEQ ID NO:4). Аминокислотную последовательность свиного интерферона- $\alpha$ -1 дикого типа получают из GenBank (номер доступа X57191). Соответствующую последовательность нуклеиновой кислоты

синтезируют и клонируют в вектор экспрессии. Стоп-кодон «янтарь» (TAG) вставляют в кодон глутаминовой кислоты, соответствующий положению аминокислоты 107 (или другим положениям, которые указаны) в кодирующем участке зрелой последовательности дикого типа. Нуклеиновые кислоты, кодирующие Pro-Ser, вставляют на amino-конец после иницирующего метионинового кодона (AUG). Для подтверждения того, что клонирование и последующий мутагенез протекали, как ожидается, без включения нежелательной(нежелательных) мутации(мутаций), полную последовательность плазмидной ДНК рKG0083 подвергают секвенированию.

Восемь (8) вариантов рINF- $\alpha$  в таблице 1 были способны экспрессироваться в виде белка. Эти восемь вариантов также пегилируют с использованием линейного PEG молекулярной массой 30 кДа с активированной аминокси-группой. Пегилирование вариантов осуществляют посредством доведения раствора белка (при концентрации белка, составляющей примерно 20 мг/мл или более) до pH 4,0 с использованием 10% ледяной уксусной кислоты. Гидразид уксусной кислоты добавляют до конечной концентрации 100 мМ и оксиамино-PEG добавляют в молярном отношении от 1:1 до 2:1 или вплоть до приблизительно 8:1 относительно варианта рINF $\alpha$ . Реакции позволяют протекать в течение 1-3 суток при 28-30°C в темноте. Реакцию гасят посредством 5-кратного разведения реакционной смеси 30 мМ ацетатом натрия, pH 5,0. Эти 8 пегилированных вариантов анализируют с использованием гель-хроматографии (SEC), как показано в таблице 1. Варианты рINF- $\alpha$  являются такими же, как рINF- $\alpha$  дикого типа, за исключением замены на рAF в указанном остатке, например, His7 заменяли на рAF, Arg34 заменяли на рAF и так далее. Концентрация белка указана в мг/мл. «RP» обозначает обращенную фазу (т.е. обращенно-фазовую хроматографию или RP-HPLC).

Таблица 1. Получение пегилированных вариантов рINF $\alpha$ .

<b>Образец</b>	<b>Конц. белка (мг/мл)</b>	<b>% от главного пика согласно RP</b>	<b>% мономера согласно SEC</b>
pINF- $\alpha$ wt SEQ ID NO: 4	1,5	69,4	99,5
pINF $\alpha$ -H7-PEG30 SEQ ID NO: 21	2,6	67,0	94,7
pINF $\alpha$ -R34-PEG30 SEQ ID NO: 22	2,2	73,8	99,6
pINF $\alpha$ -Q102-PEG30 SEQ ID NO: 6	1,9	68,1	97,7

Образец	Конц. белка (мг/мл)	% от главного пика согласно RP	% мономера согласно SEC
pIFN $\alpha$ -E103-PEG30 SEQ ID NO: 9	2,1	58,2	96,3
pIFN $\alpha$ -E107-PEG30 SEQ ID NO: 12	1,9	60,2	98,2
pIFN $\alpha$ -L112-PEG30 SEQ ID NO: 15	3,4	60,1	98,3
pIFN $\alpha$ -Y136-PEG30 SEQ ID NO: 18	2,1	51,9	99,1
pIFN $\alpha$ -H40-PEG30 SEQ ID NO: 23	1,9	52,1	98,7

SEC выполняют с использованием системы для HPLC, способной к детекции при нескольких длинах волны (Agilent 1100 или 1200 или эквивалент). Подвижная фаза представляет собой 200 мМ фосфат калия, 250 мМ хлорид калия, pH 6,0, 10% изопропанол (IPA).

Эти 8 вариантов исследуют в *in vitro* анализе биологической активности. Коммерчески доступный набор для анализа интерферона *iLite*<sup>TM</sup> huIFN $\alpha$  от Pestka Biomedical Laboratories, Inc. (Пискатауэй, Нью-Джерси, США) используют для исследования биологической активности pIFN- $\alpha$ . Кратность потери активности у вариантов PEG рассчитывают относительно белка Ambrx WT следующим образом:

$$\text{Кратность потери активности PEG-варианта} = \frac{EC50 \text{ PEG-варианта}}{EC50 \text{ Ambrx WT}}$$

Как показано в таблице 2, из восьми исследуемых вариантов три варианта pIFN- $\alpha$  характеризовались значительно меньшей активностью, чем непегилированный pIFN- $\alpha$  дикого типа.

Таблица 2.

Порядок по рангу	Исследуемый образец	Кратность потери активности по сравнению с pIFN $\alpha$ WT	EC50 [нг/мл] Исследуемый образец	EC50 [нг/мл] Ambrx pIFN $\alpha$ WT
1	pIFN $\alpha$ E103-PEG30K	8x	184	22
2	pIFN $\alpha$ L112-PEG30K	15x	475	32

Порядок по рангу	Исследуемый образец	Кратность потери активности по сравнению с рIFN $\alpha$ WT	EC50 [нг/мл] Исследуемый образец	EC50 [нг/мл] Ambrx рIFN $\alpha$ WT
3	рIFN $\alpha$ E107-PEG30K	23x	731	32
4	рIFN $\alpha$ Y136-PEG30K	26x	874	33
5	рIFN $\alpha$ Q102-PEG30K	32x	693	22
6	рIFN $\alpha$ H40-PEG30K	171x	5662	33
7	рIFN $\alpha$ H7-PEG30K	387x	8761	23
нет активности	рIFN $\alpha$ R34-PEG30K	нет активности	нет активности	23

У контрольного рIFN- $\alpha$  дикого типа отсутствует сигнальный пептид, нет вставленных N-концевых аминокислот (метионин, пролин или серин), нет замены любой аминокислоты на рAF, и он не является пегилированным (SEQ ID NO: 4).

В результате этих экспериментов пегилированные варианты рIFN- $\alpha$ , имеющие замену на рAF в H40 (SEQ ID NO: 23), H7 (SEQ ID NO: 21) и R34 (SEQ ID NO: 22), считаются бесполезными вариантами рIFN- $\alpha$  для лечения вирусной инфекции у свиней вследствие низких уровней их активности по сравнению с диким типом в анализе *iLite*<sup>TM</sup> huIFN $\alpha$ .

В анализе методом RP-HPLC и пегилированных, и непегилированных вариантов для результатов в таблице 2 используется подвижная фаза А (0,05% TFA/вода) и подвижная фаза В (0,05% TFA/ACN).

### **Пример 2. Исследование *in vivo***

Восемнадцать крыс линии Спраг-Дули (n=3 в группе) получают дозу 0,2 мг/кг каждого из 6 исследуемых образцов (ресуспендированных в 20 мМ ацетате натрия, рН 5,0, 100 мМ NaCl и 5% глицерине) подкожно в заднюю часть их шей, отдаленную от катетера: (1) рIFN $\alpha$ -E103-PEG30K (пегилированная SEQ ID NO: 9) (2) рIFN $\alpha$ -L112-PEG30K (пегилированная SEQ ID NO: 15), (3) рIFN $\alpha$ -E107-PEG30K (пегилированная SEQ ID NO: 12), (4) рIFN $\alpha$ -Y136-PEG30K (пегилированная SEQ ID NO: 18) и (5) рIFN $\alpha$ -a-Q102-PEG30K (пегилированная SEQ ID NO: 6).

Варианты рIFN- $\alpha$  растворяют в 20 мМ ацетате натрия с рН 5,0, 100 мМ NaCl и 5% глицерине. Каждому животному вводят инъекцией подкожно (т.е. в заднюю часть шеи)

один из 5 вариантов или рIFN- $\alpha$  дикого типа (такого же, как используется в примере 1) с образованием таким образом 6 тестовых групп, по 3 крысы в каждой.

Забор образцов осуществляют в следующие моменты времени: перед введением дозы и после введения дозы через 1 час, 6 часов, 24 часов, 48 часов, 72 часа, 144 часа, 192 часа и 240 часов после введения дозы. Образцы крови получают через катетер в яремной вене, или через боковую хвостовую вену, или в момент завершения эксперимента посредством прокола сердца, и их подвергают обработке, позволяя крови свернуться и удаляя образующуюся в результате сыворотку. Концентрации каждого пегилированного варианта рIFN- $\alpha$  определяют с помощью анализа связывания лиганда при использовании моноклонального антитела к PEG для захвата и козьего поликлонального антитела к свиному IFN- $\alpha$  для выявления.  $AUC_{last}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  рассчитывают посредством анализа необработанных данных с использованием программного обеспечения WINNONLIN® для моделирования ПК (фармакокинетических) свойств (Pharsight Corporation, сейчас Certara USA, Inc.). Воздействие ( $AUC_{last}$ ) для пегилированных вариантов делили на воздействие для рIFN дикого типа (рIFN WT) с получением кратности различий. Результаты для пегилированных вариантов представлены ниже в таблице 3.

Таблица 3. Биологическая доступность пегилированных вариантов IFN- $\alpha$ .

Соединение	Животное №	$AUC_{last}$	Кратность различия в сравнении с рIFN WT	$C_{max}$	$T_{max}$	Оцен. $T_{1/2}$
		(нг*час/мл)		(нг/мл)	час	час
PEG Q102 рIFN $\alpha$	Среднее значение	12500	133	339	24	16,3
	SD	686		14,4	0	2,10
PEG E107 рIFN $\alpha$	Среднее значение	9420	100	246	24	17,6
	SD	2590		77,6	0	3,93
PEG L112 рIFN $\alpha$	Среднее значение	6000	64	165	24	12,7
	SD	510		15,6	0	1,11
PEG E103 рIFN $\alpha$	Среднее значение	5210	55	147	18	11,7
	SD	365		12,5	10,4	0,479
PEG Y136 рIFN $\alpha$	Среднее значение	5140	55	141	24	12,4
	SD	788		23,2	0	0,987
WT рIFN $\alpha$ SEQ ID NO: 4	Среднее значение	94,2	1	81	1	NC
	SD	49,3		49,9	0	NC

«DN» обозначает «нормализованный к дозе»; единицы для DN  $AUC_{last}$  представляют собой (нг\*час/мл)/(мг/кг), а для DN  $C_{max}$  представляют собой (нг/мл)/(мг/кг).  $C_{max}$

используют для расчета периода полужизни. Тем не менее, пегилированный по E107 вариант рIFN- $\alpha$  характеризовался наибольшим периодом полужизни из пяти (5) вариантов. «НС» означает «не поддающийся расчету», поскольку концентрации поддавались измерению только в два момента времени.

Подтверждено, что воздействие (по показателю  $AUC_{last}$ ) является наивысшим для PEG30K-Q102 и PEG30K-E107, и они представлены в таблице в порядке убывания воздействия. Все из пяти исследуемых вариантов рIFN- $\alpha$  характеризуются большим воздействием для рIFN- $\alpha$ , чем форма рIFN- $\alpha$  дикого типа (SEQ ID NO: 4).  $T_{max}$  обычно наблюдают через 24 часа после введения дозы для пегилированных вариантов рIFN- $\alpha$  по сравнению с 1 часом после введения дозы для рIFN- $\alpha$  дикого типа. В случае этого эксперимента  $C_{max}$  включают в расчет периода полужизни вследствие несоответствующих точек данных в окончательной фазе. Поскольку время в момент  $C_{max}$  не представляет истинную фазу выведения, оценки периода полужизни следует рассматривать как приближенную величину.

Следует заметить, что гетерологичность молекулы не оказывает влияния в этом типе исследования.

### **Пример 3. Характеристика связанных с продуктом загрязняющих примесей для рIFN $\alpha$ -E107pAF**

Исходя из результатов масс-спектропии (MS) рIFN- $\alpha$ A-E107 (SEQ ID NO: 12), присутствуют ацетилированные формы, 58 Да форма и образующиеся в результате окисления загрязняющие примеси. Вариант становится ацетилированным в ходе биосинтеза внутри продуцирующего штамма *E. coli*. Таким образом, один вариант для продуцирования рIFN- $\alpha$ A-E107 заключается в добавлении ацетилтрансфераз в соответствующий момент в ходе продуцирования или в использовании нокаутной ацетилтрансферазы аланина рибосомального белка (ribosomal-protein-alanine acetyltransferase) (RimJ) (N-концевая ацетилтрансфераза). Кроме того, для очистки можно использовать мелко- и крупномасштабную хроматографию. В качестве альтернативы, и как показано в данном документе, последовательность N-конца может быть дополнительно модифицирована для предотвращения ацетилирования на варианте в целом.

В случае хроматографических методов один способ заключается в применении CAPTO Adhere Impres (GE Healthcare Lifesciences), которая представляет собой сильную анионообменную среду (смола) для мультимодальной хроматографии с использованием технологии BIOPROCESS. В этом способе используется подвижная фаза из 25 мМ ацетата аммония (при pH 6,5), загрузка немодифицированного (т.е. непегилированного) варианта



pIFN- $\alpha$  до концентрации 1-5 мг/мл смолы. Колонку промывают 5 объемами колонки (CV) 25 mM ацетата аммония при pH 6,5. Элюирование варианта pIFN- $\alpha$ A осуществляется с использованием линейного градиента к 100% буферу для элюирования (5 mM уксусная кислота) и 0-100%B за 40 CV (объем колонки), при помощи чего удаляют пики, соответствующие окисленному pIFN- $\alpha$ . Пик один имеет N-конец pIFN- $\alpha$  без ацетилирования цистеина, в то время как пик 2 содержал ацетилированную форму (+42 Да), +58 Да форму, +58+1 Ох форму (вероятно, ацетилированные и однократно окисленные молекулы) и +58 Да+2 Ох форму (вероятно, ацетилированная форма с по меньшей мере двумя окисленными остатками).

Исходя из результатов, пролин вставляли на amino-конец pIFN- $\alpha$  для предотвращения образования ацетилированных форм. Таким образом, создали Pro-pIFN $\alpha$ -E107pAF (SEQ ID NO: SEQ ID NO: 13). Для наглядности, нумерация положений аминокислот всегда начинается с N-концевого цистеина (C1). Добавленный пролин становится остатком -1, и N-концевой метионин (если он присутствует) становится остатком -2. Также можно выполнить вставку Pro-Ser, при этом пептид содержит серин в положении -1, пролин в положении -2 и, возможно, метионин в положении -3 относительно N-концевого цистеина. Добавление пролина удаляло другие пики, наблюдаемые для предыдущего варианта при анализе посредством масс-спектропии.

В таблице 4, ниже, Pro-pIFN $\alpha$ -E107pAF имеет пролин на N-конец и замену на pAF в E107. Активность варианта Pro-pIFN $\alpha$ -E107pAF сравнивают с активностью варианта, лишённого добавления пролина на N-конец, pIFN $\alpha$ -E107pAF. Вариант, имеющий добавленный пролин, имеет меньшее число ацетилированных и окисленных вариантов. Стоит заметить, что эти варианты не являются пегилированными и они не включают в себя метионин сигнальной последовательности.

Таблица 4.

	Pro-pIFN $\alpha$ -E107pAF EC50, нг/мл	pIFN $\alpha$ -E107pAF EC50, нг/мл
Прогон 1	6,46	8,08
Прогон 2	4,55	7,01

#### **Пример 4. Другие варианты N-концов**

С учетом успеха с добавлением пролина на N-конец pIFN $\alpha$ -E107pAF также оценивали другие варианты N-концов, включающие добавление серина (Ser, S), добавление

Pro-Ser (PS), добавление His (H) и добавление Ser-Gly (SG) к pINF $\alpha$ -E107pAF. Эти варианты N-концов не являются пегилированными. Активность этих вариантов N-концов (все они являются вариантами с E107-pAF) затем оценивали в биологическом *in vitro* анализе с использованием набора *iLite*<sup>TM</sup> huINF $\alpha$  kit от Pestka Biomedical Laboratories, описанного выше, и результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Мутация	EC50 (нг/мл)
Pro-pINF $\alpha$ SEQ ID NO: 13	18,3
S (-1) pINF $\alpha$ SEQ ID NO: 24	34,2
SG (-2/-1) pINF $\alpha$ SEQ ID NO: 25	69,1
PS (-2/-1) pINF $\alpha$ SEQ ID NO: 14	28,7
H (-1) pINF $\alpha$ SEQ ID NO: 26	25,4

Pro-pINF $\alpha$  представляет собой вариант, имеющий пролин, добавленный на аминоконце между метионином (в незрелом пептиде) и цистеином.

#### **Пример 5. Конъюгирование варианта pINF- $\alpha$ с PEG**

Вариант pINF $\alpha$ -PS-E107 (SEQ ID NO: 14) получают из пула собранных с помощью хроматографии по методу Сарто после применения хроматографии по методу Сарто в соответствии с инструкциями производителя и 0,2 М глицин добавляют к очищенной форме. pH смеси доводят до 4,0 с использованием уксусной кислоты. Вариант pINF- $\alpha$  затем концентрируют до 8,2 мг/мл с использованием фильтрующей центрифуги Amicon Ultra в соответствии с инструкциями производителя. После концентрирования линейный PEG с молекулярной массой 30 кДа (PEG может быть коммерчески приобретен, например, у NOF America Corporation или EMD Merck) добавляют при молярном отношении pEG:вариант pINF $\alpha$ , составляющем 8:1. Смесь PEG/вариант pINF- $\alpha$  затем инкубируют при 28°C в течение приблизительно 18 часов. Этот способ приводит в результате к тому, что >95% варианта pINF- $\alpha$  конъюгируются с PEG после 18 часов инкубирования.

Пегилированный вариант (pINF $\alpha$ -PS-E107-PEG30K) затем может быть очищен следующим образом. Колонку Tosoh SP650S объемом 143 мл можно применять для очистки пегилированного варианта при использовании следующей подвижной фазы:

**А:** 30 мМ ацетат натрия, рН 5,0

**В:** 30 мМ ацетат натрия, 5% этиленгликоль, рН 5,0

от 0 до 100% В за 20 объемов колонки.

### **Пример 6. Сравнительное исследование вариантов с различными N-концами**

Анализ активности проводят для нескольких вариантов как в их пегилированных (линейным PEG с молекулярной массой 30 кДа), так и непегилированных формах для оценки воздействия пегилирования на варианты, имеющие замену на рAF в E107 и имеющие пролин-серин на амино-конце (SEQ ID NO: 14). Результаты представлены ниже в таблице 6. Концентрация белка, значения SEC, RP и EC50 определены, как обсуждалось выше. рINF $\alpha$ -P-E107-рAF используют в качестве сравнительного образца, чтобы отразить результаты для белка без амино-концевого удлинения.

Таблица 6.

<b>Образец</b>	<b>Конц. белка (мг/мл)</b>	<b>SEC, % мономера</b>	<b>RP, % от главного пика</b>	<b>EC50 (нг/мл)</b>
pINF $\alpha$ -PS-E107-рAF	8,2	99,8	84,8	5,96
pINF $\alpha$ -PS-E107-30KPEG	7,3	99,0	98,2	409,7
pINF $\alpha$ -P-E107-рAF				4,27
pINF $\alpha$ -P-E107-30KPEG	3,3	99,3	99,7	641,2

При исследовании для характеристики вариантов наблюдали ошибочное включение норлейцина. Известно, что норлейцин ошибочно включается в положении аминокислоты метионина при ферментации с использованием *E. coli* при высокой плотности. Это наблюдалось при проведении экспериментов по ферментации. Включение норлейцина снижалось при использовании одной или нескольких из следующих стадий: подача растворов с метионином, ферментация с использованием комплексных сред вместо определенной среды (комплексные среды имеют один или несколько неопределенных компонентов в своем составе, в том числе, без ограничения, глицерин, соли, аминокислоты, витамины, дрожжевые экстракты, растительные и животные гидролизаты, пептоны и триптоны) и/или снижение температуры реакционной смеси после продуцирования. L-

метионин добавляют в партию среды в концентрации 1,2 мМ, а также непрерывно подают через питательный раствор, который содержит 20 мМ L-метионин.

Варианты рINF- $\alpha$  находятся под контролем промотора T7. Добавление арабинозы (индуктор) к среде ферментации приводит в результате к каскаду, который обеспечивает возможность продуцирования вариантов. Таким образом, после индукции означает после добавления индуктора, в данном случае арабинозы.

**Пример 7. Влияние замораживания-оттаивания на пегилированные и непегилированные варианты**

Образцы подвергали замораживанию и оттаиванию в течение пяти циклов посредством замораживания до 0°C в пробирках объемом 1,5 мл и оттаивания на водяной бане комнатной температуры. Не наблюдали какого-либо значительного воздействия в случае профиля белка с высокой молекулярной массой (HMW) в течение пяти циклов замораживания-оттаивания, что подтверждается ниже в таблице 7.

Таблица 7.

Цикл замораживания/оттаивания	pINF $\alpha$ -PS-E107pAF		pINF $\alpha$ -PS-E107-30KPEG	
	% от главного пика	% HMW	% от главного пика	% 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

В таблице 7 отражены различия между пегилированными и непегилированными вариантами, имеющими пролин-серин на N-конце, а также замену на pAF в E107, причем вариант имеет вставку пролин-серина на amino-конце (pINF $\alpha$ -PS-E107-30), т.е. в виде остатков -2 и -1.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- <110> ЭЛАНКО ЮЭС ИНК.; АМБРКС, ИНК.
- <120> Пегилированный свиной интерферон и способы его применения
- <130> 204257-0028-00-WO-561478
- <150> 62/352163
- <151> 2016-06-20
- <160> 26
- <170> PatentIn версия 3.5
- <210> 1
- <211> 168
- <212> Белок
- <213> Искусственная последовательность
- <220>
- <223> Синтетический полипептид
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (1)..(1)
- <223> Ха представляет собой Pro или отсутствует
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (2)..(2)
- <223> Xb представляет собой Pro, Ser или отсутствует, причем, если Xb отсутствует, Ха отсутствует, если Xb представляет собой Pro, Ха отсутствует, и если Xb представляет собой Ser, Ха представляет собой Pro
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (104)..(104)
- <223> может быть замещен синтетической аминокислотой
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (105)..(105)
- <223> может быть замещен синтетической аминокислотой
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (109)..(109)
- <223> может быть замещен синтетической аминокислотой
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (114)..(114)
- <223> может быть замещен синтетической аминокислотой
- <220>
- <221> иной признак
- <222> (138)..(138)
- <223> может быть замещен синтетической аминокислотой
- <400> 1

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (1)..(1)  
<223> может быть удален в зрелом полипептиде

<220>  
<221> иной признак  
<222> (2)..(2)  
<223> Ха представляет собой Pro или отсутствует

<220>  
<221> иной признак  
<222> (3)..(3)  
<223> Xb представляет собой Pro, Ser или отсутствует, причем, если Xb отсутствует, Xa отсутствует, если Xb представляет собой Pro, Xa отсутствует, и если Xb представляет собой Ser, Xa представляет собой Pro

<220>  
<221> иной признак  
<222> (105)..(105)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (106)..(106)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (110)..(110)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (115)..(115)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (139)..(139)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<400> 2

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

<211> 189

<212> Белок

<213> Sus scrofa

<220>

<221> зрелый пептид

<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



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  
<212> Белок  
<213> Sus scrofa

<220>  
<221> иной признак  
<222> (102)..(102)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (103)..(103)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (107)..(107)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (112)..(112)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (136)..(136)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<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

<210> 5  
<211> 167  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (1)..(1)  
<223> может быть удален в зрелом полипептиде

<220>  
<221> иной признак  
<222> (103)..(103)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (104)..(104)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (108)..(108)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (113)..(113)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<220>  
<221> иной признак  
<222> (137)..(137)  
<223> может быть замещен синтетической аминокислотой

<400> 5

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

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>

<221> иной признак

<222> (102)..(102)

<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 6

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> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (103)..(103)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 7

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 Xaa 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> 8

<211> 168

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>

<221> иной признак

<222> (104)..(104)

<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 8

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 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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (103)..(103)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<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

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (104)..(104)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<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

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (105)..(105)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (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  
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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (107)..(107)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<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

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (108)..(108)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (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

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (109)..(109)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (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

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> 15  
<211> 166  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (112)..(112)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<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  
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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (113)..(113)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<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

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> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (114)..(114)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (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

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

<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (136)..(136)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (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

<210> 19  
<211> 167  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>

<221> иной признак

<222> (137)..(137)

<223> пара-ацетил-фенилаланин (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

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

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu  
165

<210> 20

<211> 168

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>



<221> иной признак  
<222> (138)..(138)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)  
  
<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

Gln Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu  
165

<210> 21  
<211> 166  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (7)..(7)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 21

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

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>

<221> иной признак

<222> (34)..(34)

<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 22

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (40)..(40)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 23

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> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (108)..(108)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 24

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  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной признак  
<222> (109)..(109)  
<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 25

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

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<220>

<221> иной признак

<222> (108)..(108)

<223> пара-ацетил-фенилаланин (pAF)

<400> 26

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 Arg Asn Leu Gln  
145 150 155 160

Asp Arg Leu Arg Lys Lys Glu  
165

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Вариант свиного интерферона- $\alpha$  (pINF- $\alpha$ ), содержащий: X<sub>a</sub>X<sub>b</sub>CDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSYPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 1), причем остаток E103, E107, L112, Y136 или Q102 (нумерация относительно SEQ ID NO: 4) заменен на синтетическую аминокислоту.

2. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем синтетическая аминокислота представляет собой пара-ацетил-фенилаланин (pAF).

3. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 7.

4. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 10.

5. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 13.

6. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 16.

7. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 19.

8. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 8.

9. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 11

10. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 14.

11. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 17.

12. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 1, причем вариант представляет собой SEQ ID NO: 20.

13. Вариант pINF- $\alpha$  по любому из пп. 1-12, причем синтетическая аминокислота является пегилированной.

14. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 13, причем пегилированный вариант pINF- $\alpha$  пегилирован с использованием PEG с молекулярной массой приблизительно от 5 кДа до 40 кДа.

15. Вариант pINF- $\alpha$  по п. 14, причем PEG представляет собой PEG с молекулярной массой 30 кДа.

16. Вариант свиного интерферона- $\alpha$  (pINF- $\alpha$ ), состоящий из: PSCDLPQTHSLANTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGL-pAF-GTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSYPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 14), причем остаток, соответствующий E107 (нумерация относительно SEQ ID NO: 4), заменен на пара-ацетил-фенилаланин (pAF), и указанный остаток pAF пегилирован с использованием линейного PEG с молекулярной массой 30 кДа.

17. Состав, содержащий вариант pINF- $\alpha$  по любому из пп. 1-16, содержащий 20 мМ ацетат натрия, 100 мМ хлорид натрия, 5% глицерин при pH 5,0 с титром варианта pINF- $\alpha$



от приблизительно 2,0 до приблизительно 6,0 г/л.

18. Способ получения состава варианта рINF- $\alpha$  по п. 1, предусматривающий стадии:

- (a) очистки рINF- $\alpha$ ;
- (b) растворения указанного очищенного варианта рINF- $\alpha$  в 50 мМ Tris, 6 М гуанидине при рН 8;
- (c) инкубирования растворенного варианта рINF- $\alpha$  при комнатной температуре в течение 16-24 часов в 20 мМ Tris, 1 М аргинине, 10 мМ метионине (met), 1 мМ EDTA при рН 8,0;
- (d) удаления оставшихся ацетилированных вариантов;
- (e) конъюгирования варианта рINF- $\alpha$  с PEG при соотношении PEG к белку, составляющем от 1:1 до 1:2; и
- (f) очистки пегилированного варианта рINF- $\alpha$ .

19. Способ предупреждения или лечения вирусной инфекции у свиньи, предусматривающий подкожное введение указанной свинье, нуждающейся в этом, варианта рINF- $\alpha$  по любому из пп. 1-16.

20. Способ по п. 19, причем вариант рINF- $\alpha$  вводят в количестве в диапазоне от 25 мкг/кг до 150 мкг/кг массы животного.

21. Способ по п. 20, предусматривающий второе введение указанного варианта рINF- $\alpha$  в количестве от 25 мкг/кг до 150 мкг/кг массы животного, причем указанный вариант рINF- $\alpha$ .

22. Способ по п. 21, причем второе введение осуществляют через 7-14 суток после первого введения.

23. Способ по п. 19, причем вирусная инфекция выбрана из группы, состоящей из: вируса свиного репродуктивного и респираторного заболевания, вируса ящура, вируса свиного гриппа, свиного цирковируса, вируса свиной эпизоотической диареи и вируса трансмиссивного гастроэнтерита.

24. Способ по любому из пп. 19-23, причем свинья представляет собой новорожденного поросенка, или свинья представляет собой беременную свинью.

25. Многодозовый флакон, содержащий вариант рIFN- $\alpha$  по п. 17.

26. Применение варианта рIFN- $\alpha$  по любому из пп. 1-16 в терапии у свиньи для лечения вирусной инфекции.

27. Применение варианта рIFN- $\alpha$  по любому из пп. 1-16 для терапии.

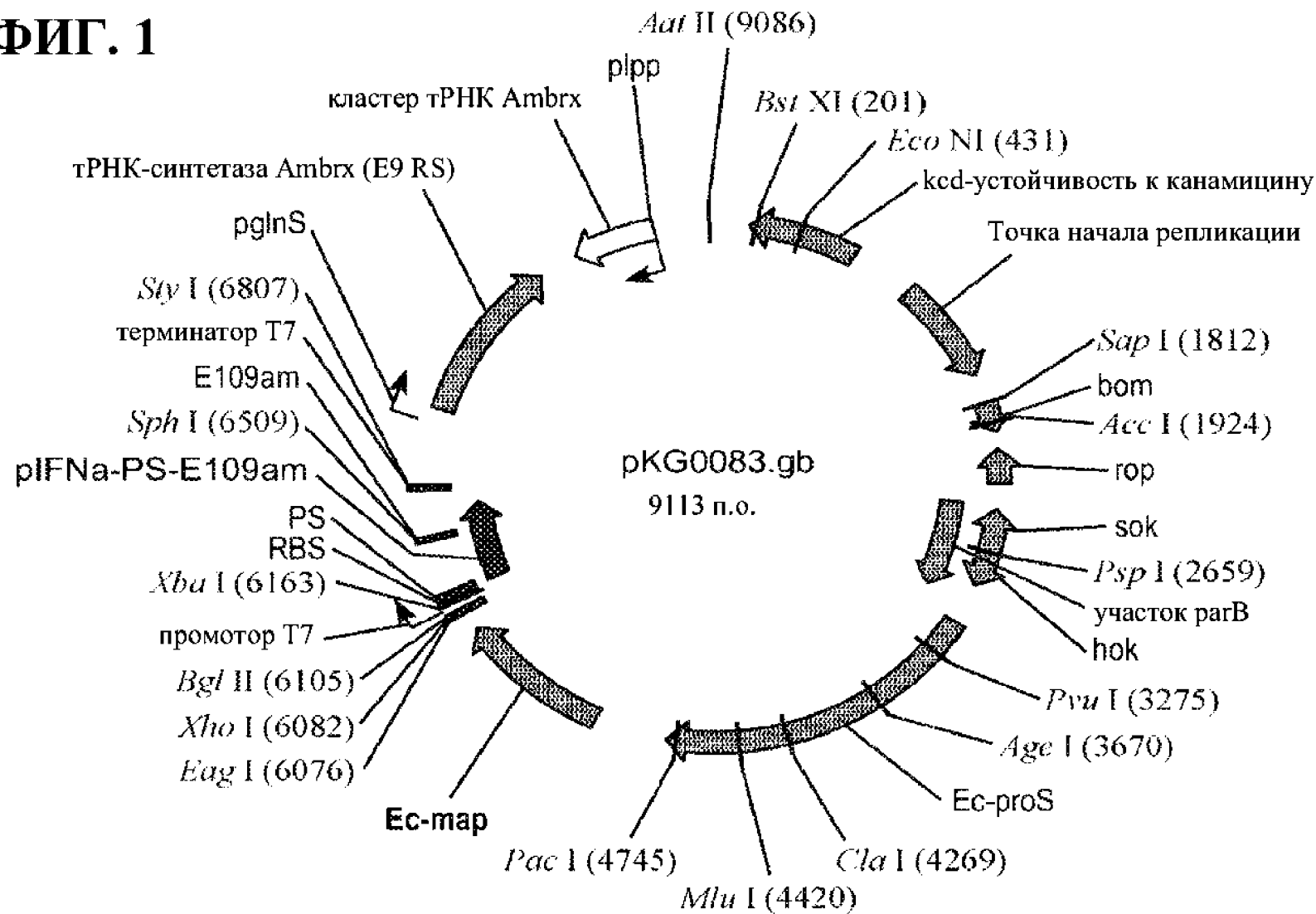
28. Применение состава по п. 17 или варианта рIFN- $\alpha$  по любому из пп. 1-16 для лечения вирусной инфекции у свиньи.

29. Применение состава по п. 17 или варианта рIFN- $\alpha$  по любому из пп. 1-16 для

применения в производстве лекарственного средства для лечения вирусной инфекции у свиньи.

30. Вариант рIFN- $\alpha$  по одному из п. 28 или п. 29, причем свинья представляет собой новорожденного поросенка или беременную свинью.

**ФИГ. 1**



Сайт pAF	Последовательность	SEQ ID NO:	X=
Q102	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLL EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	6	102
Q102	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPLL EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	7	103
Q102	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	8	104
E103	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	9	103
E103	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	10	104
E103	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	11	105
E107	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	12	107
E107	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	13	108
E107	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP LEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	14	109
L112	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	15	112
L112	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	16	113
L112	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	17	114
Y136	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALV HEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	18	136
Y136	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMAL VHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	19	137
Y136	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMA LVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTP EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	20	138

ФИГ. 2

### ФИГ. 3

Последовательность	SIN	Длина	Примечание
$X_a X_b$ CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPF SCLDHR RDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQL FSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQ $\square$ EAGLE $\square$ GTPL $\square$ EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSY $\square$ PCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	1	168	Свинной интерферон- $\alpha$ -1 дикого типа (с N-концевыми добавлениями) <i>Sus scrofa domestica</i> pIFN- $\alpha$ (GenBank X57191)
$M X_a X_b$ CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPF SCLDHR RDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQ LFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQ $\square$ EAGLE $\square$ GTPL $\square$ EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSY $\square$ SPCAW EIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	2	169	Такой же как SIN 1, но с N- концевым M (который обычно отщепляется в зрелом полипептиде)
<u>MAP</u> TS AFLTALVLLSCNAIGSLGCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPF SCLDHR RDFGSPHEAFGGNQ VQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQ $\square$ EAGLE $\square$ GTPL $\square$ EEDSI RAVRKYFHRLTLYLQEKSY $\square$ SPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	3	189	<i>Sus scrofa domestica</i> pIFN- $\alpha$ (GenBank X57191) с <u>сигнальным</u> <u>пептидом</u>
CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPF SCLDHR RDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFST EGSAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQ $\square$ EAGLE $\square$ GTPL $\square$ EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSY $\square$ SPCA WEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	4	166	<i>Sus scrofa domestica</i> pIFN- $\alpha$ (GenBank X57191) зрелая последовательность
MCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPF SCLDHR RDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFS TEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQ $\square$ EAGLE $\square$ GTPL $\square$ EEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSY $\square$ SPC AWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	5	167	<i>Sus scrofa domestica</i> pIFN- $\alpha$ (GenBank X57191) зрелая последовательность с добавленным N-концевым Met

## ФИГ. 4

$X_a$	$X_b$	Сайт pAF	Последовательность	SIN	Длина	$\chi =$
abs	abs	Q102	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	6	166	102
abs	Pro	Q102	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQ FYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	7	167	103
Pro	Ser	Q102	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	8	168	104
abs	abs	E103	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	9	166	103
abs	Pro	E103	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQ FYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	10	167	104
Pro	Ser	E103	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	11	168	105
abs	abs	E107	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	12	166	107
abs	Pro	E107	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQ FYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	13	167	108
Pro	Ser	E107	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	14	168	109
abs	abs	L112	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	15	166	112
abs	Pro	L112	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQ FYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	16	167	113
Pro	Ser	L112	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	17	168	114
abs	abs	Y136	CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQF YTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	18	166	136
abs	Pro	Y136	PCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQ FYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	19	167	137
Pro	Ser	Y136	PSCDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLH QFYTGLDQQLRDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	20	168	138

$X_a X_b$  CDLPQTHSLAHTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSPHEAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQL  
RDLEACVMQAEAGLEGTPILLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE (SEQ ID NO: 1)

Последовательность «pIFN-альфа WT» из 166 остатков

1 CDLPQT<sup>H</sup>SLA HTRALRLLAQ MRRISPFSCLDHRRD<sup>F</sup>FGSP<sup>H</sup>EAFGGNQVQK AQAMALVHEMLQQTFQLFST EGSAAAWNES  
 81 LLHQFYTGLD QQLRDLEACV MQEAGLEGTP LLEEDSIRAV RKYFHRLTLY LQEKSYSPCA WEIVRAEVMR SFSSSRNLQD  
 161 RLRKKE

$\chi_a$	$\chi_b$	Сайт pAF	Последовательность	SIN	Длина	$\chi=$
abs	abs	H7	CDLPQT <sup>H</sup> SLA <sup>X</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSP <sup>H</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	21	166	7
abs	abs	R34	CDLPQTHSLA <sup>H</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRR <sup>F</sup> DFGSP <sup>H</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	22	166	34
abs	abs	H40	CDLPQTHSLA <sup>H</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSP <sup>H</sup> <sup>X</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGLEGTPLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	23	166	40

ФИГ. 5

S/S

$\chi_a$	$\chi_b$	Сайт pAF	Последовательность	SIN	Длина	$\chi=$
Отсутствует	Ser	E 107	SCDLPQTHSLA <sup>H</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSP <sup>H</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGL <sup>X</sup> GTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	24	167	108
Ser	Gly	E 107	SGCDLPQTHSLA <sup>H</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSP <sup>H</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGL <sup>X</sup> GTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	25	168	109
Отсутствует	His	E 107	HCDLPQTHSLA <sup>H</sup> HTRALRLLAQMRRISPFSCLDHRRDFGSP <sup>H</sup> EAFGGNQVQKAQAMALVHEMLQQTFQLFSTEGSAAAWNESLLHQFYTGLDQQLRDLEACVMQEAGL <sup>X</sup> GTPLLEEDSIRAVRKYFHRLTLYLQEKSYSPCAWEIVRAEVMRSFSSSRNLQDRLRKKE	26	167	108

ФИГ. 6