



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202045535 A

(43) 公開日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 16 日

---

(21) 申請案號：109104938 (22) 申請日：中華民國 103 (2014) 年 06 月 30 日

(51) Int. Cl. : C07K14/745 (2006.01) A61K38/36 (2006.01)  
 C07H21/04 (2006.01) C12N15/12 (2006.01)  
 C12N15/63 (2006.01)

(30) 優先權：2013/06/28 美國 61/840,872

(71) 申請人：美商百歐維拉提夫治療公司 (美國) BIOVERATIV THERAPEUTICS INC. (US)  
 美國

(72) 發明人：喬巴拉 艾可塔 CHHABRA, EKTA SETH (IN) ; 庫門 約翰 KULMAN, JOHN  
 (US) ; 劉 彤瑤 LIU, TONGYAO (US)

(74) 代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：24 項 圖式數：8 共 362 頁

---

(54) 名稱

具有 X T E N 之凝血酶可裂解連接子及其用途

(57) 摘要

本發明提供包含經由 VWF 連接子與異源部分融合之 VWF 蛋白之嵌合分子。本發明提供可在凝血酶存在下裂解之有效的 VWF 連接子。該嵌合分子可進一步包含包括 FVIII 蛋白及第二異源部分之多肽鏈，其中包含該 VWF 蛋白之鏈與包含該 FVIII 蛋白之鏈彼此締合。本發明亦包括核苷酸、載體、宿主細胞、使用該嵌合蛋白之方法。

The present invention provides a chimeric molecule comprising a VWF protein fused to a heterologous moiety via a VWF linker. The invention provides an efficient VWF linker that can be cleaved in the presence of thrombin. The chimeric molecule can further comprise a polypeptide chain comprising a FVIII protein and a second heterologous moiety, wherein the chain comprising the VWF protein and the chain comprising the FVIII protein are associated with each other. The invention also includes nucleotides, vectors, host cells, methods of using the chimeric proteins.

指定代表圖：

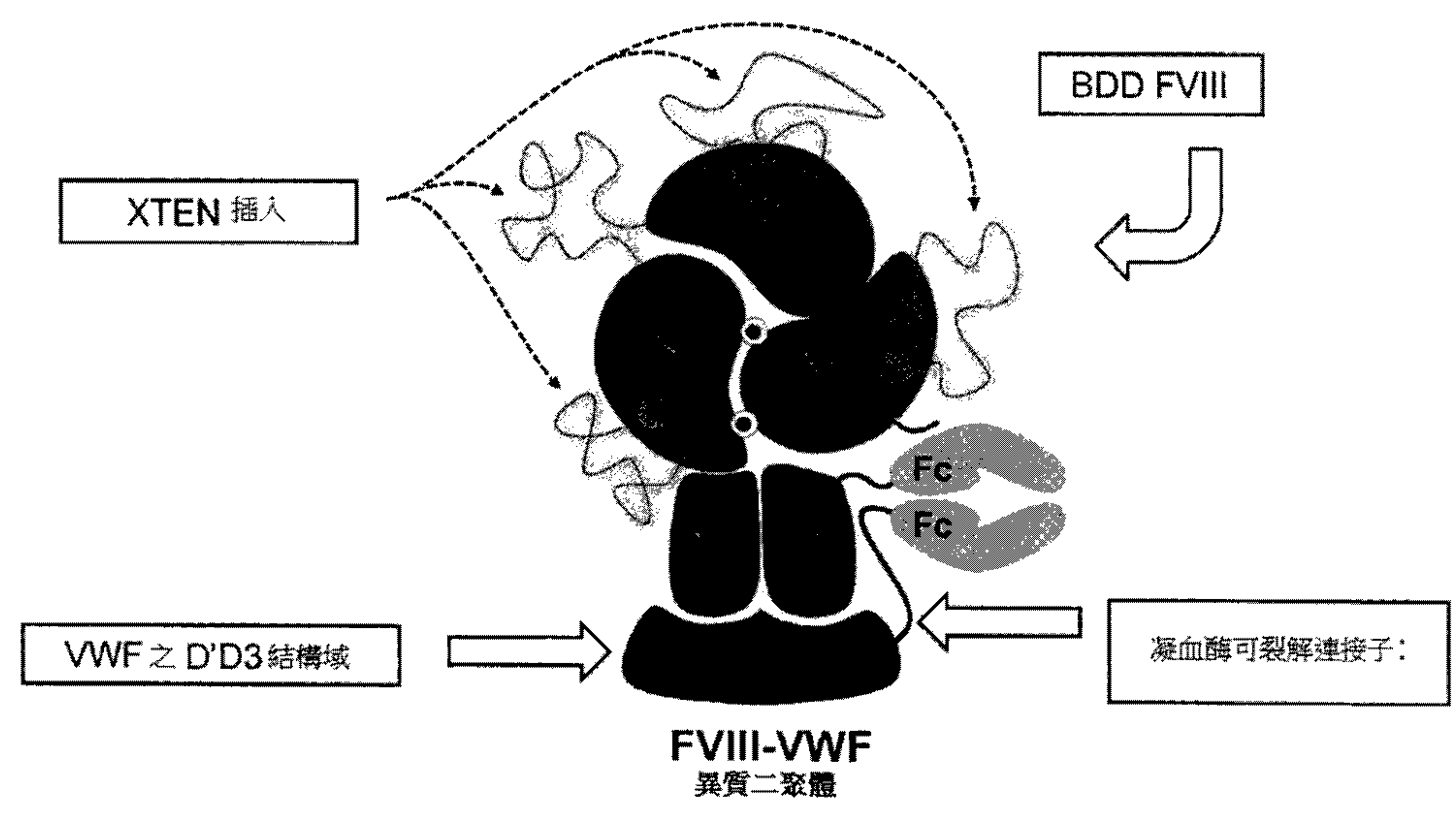


圖 1

## 發明摘要

### 【發明名稱】(中文/英文)

具有 XTEN 之凝血酶可裂解連接子及其用途

THROMBIN CLEAVABLE LINKER WITH XTEN AND ITS USES

THEREOF

### 【中文】

本發明提供包含經由 VWF 連接子與異源部分融合之 VWF 蛋白之嵌合分子。本發明提供可在凝血酶存在下裂解之有效的 VWF 連接子。該嵌合分子可進一步包含包括 FVIII 蛋白及第二異源部分之多肽鏈，其中包含該 VWF 蛋白之鏈與包含該 FVIII 蛋白之鏈彼此締合。本發明亦包括核苷酸、載體、宿主細胞、使用該嵌合蛋白之方法。

### 【英文】

The present invention provides a chimeric molecule comprising a VWF protein fused to a heterologous moiety via a VWF linker. The invention provides an efficient VWF linker that can be cleaved in the presence of thrombin. The chimeric molecule can further comprise a polypeptide chain comprising a FVIII protein and a second heterologous moiety, wherein the chain comprising the VWF protein and the chain comprising the FVIII protein are associated with each other. The invention also includes nucleotides, vectors, host cells, methods of using the chimeric proteins.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：第(1)圖。

**【本代表圖之符號簡單說明】**：無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】**：無



# 發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

具有XTEN之凝血酶可裂解連接子及其用途

THROMBIN CLEAVABLE LINKER WITH XTEN AND ITS USES

THEREOF

## 【技術領域】

[0001] 本發明關於具有XTEN之凝血酶可裂解連接子及其用途。

## 【先前技術】

[0002] A型血友病為由編碼凝血因子VIII (FVIII)之基因的缺陷所造成的出血性病征並且在男性新生兒中發病率為萬分之1-2。Graw等人, Nat. Rev. Genet. 6(6): 488-501 (2005)。罹患A型血友病之患者可藉由輸注純化或重組產生之FVIII來治療。然而，已知所有市售FVIII產品具有約8-12小時之半衰期，從而需要對患者進行頻繁的靜脈內施用。參見Weiner M.A.及Cairo, M.S., Pediatric Hematology Secrets, Lee, M.T., 12. Disorders of Coagulation, Elsevier Health Sciences, 2001；Lillicrap, D. Thromb. Res. 122 增刊4:S2-8 (2008)。另外，已嘗試多種方法以延長FVIII半衰期。舉例而言，為延長凝血因子之半衰期所開發的方法包括聚乙二醇化、糖基化以及與白蛋白結合。參見Dumont

等人, Blood. 119(13): 3024-3030 (線上公佈於2012年1月13日)。然而，不考慮所用之蛋白質工程改造，目前處於開發中之長效FVIII產品具有改良之半衰期，但該等半衰期據報導為有限的，在臨床前動物模型中僅達到約1.5至2倍改良。參見同上。在人類中已證實一致結果，例如，在A型血友病患者中，與ADVATE<sup>®</sup>相比，rFVIIIIFc經報導使半衰期提高達約1.7倍。參見同上。因此，儘管改良微小，但半衰期增加可指示其他 $t_{1/2}$ 限制因素之存在。

[0003] 由於頻繁給藥及由給藥方案所造成之不便，仍有必要開發需要較小頻率施用之FVIII產品，亦即，具有比1.5至2倍半衰期限制更長之半衰期的FVIII產品。

#### 【發明內容】

[0004] 本發明係針對一種包含溫韋伯氏因子(Von Willebrand Factor, VWF)蛋白、異源部分(H1)、XTEN序列及連接該VWF蛋白與該異源部分之VWF連接子的嵌合分子，其中該VWF連接子包含選自以下之多肽：(i)來自因子VIII (FVIII)之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合，且其中該XTEN序列連接至該VWF蛋白、該異源部分(H1)、該VWF連接子或其任何組合。在一個實施例中，該XTEN序列連接VWF蛋白與VWF連接子或者VWF連接子與異源部分。在另一實施例中，該



嵌合分子進一步包含包括FVIII蛋白之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈與該第二多肽鏈彼此締合。在其他實施例中，嵌合分子中之FVIII蛋白進一步包含另一XTEN序列。該另一XTEN序列可連接至FVIII蛋白之N端或C端或者插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間。在其他實施例中，第二多肽鏈進一步包含第二異源部分(H2)。

[0005] 本揭示內容亦包括一種嵌合分子，其包括包含VWF蛋白、異源部分(H1)及連接該VWF蛋白與該異源部分(H1)之VWF連接子之第一多肽鏈及包含FVIII蛋白及XTEN序列之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈中之該VWF連接子包含：(i)來自FVIII之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合，且其中該第一多肽鏈與該第二多肽鏈彼此締合。在一個實施例中，該XTEN序列連接至FVIII蛋白之N端或C端或者插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間。在另一實施例中，該嵌合分子進一步包含另一XTEN序列，其連接至該VWF蛋白、該異源部分、該VWF連接子或其任何組合。在其他實施例中，該嵌合分子進一步包含第二異源部分(H2)。在其他實施例中，該第二異源部分連接至FVIII蛋白、XTEN序列，或兩者。

[0006] 對於本揭示內容之嵌合分子，連接至嵌合分子中之VWF蛋白、VWF連接子、FVIII蛋白或任何其他組分之XTEN序列包含約42個胺基酸、約72個胺基酸、約108

個胺基酸、約144個胺基酸、約180個胺基酸、約216個胺基酸、約252個胺基酸、約288個胺基酸、約324個胺基酸、約360個胺基酸、約396個胺基酸、約432個胺基酸、約468個胺基酸、約504個胺基酸、約540個胺基酸、約576個胺基酸、約612個胺基酸、約624個胺基酸、約648個胺基酸、約684個胺基酸、約720個胺基酸、約756個胺基酸、約792個胺基酸、約828個胺基酸、約836個胺基酸、約864個胺基酸、約875個胺基酸、約912個胺基酸、約923個胺基酸、約948個胺基酸、約1044個胺基酸、約1140個胺基酸、約1236個胺基酸、約1318個胺基酸、約1332個胺基酸、約1428個胺基酸、約1524個胺基酸、約1620個胺基酸、約1716個胺基酸、約1812個胺基酸、約1908個胺基酸或約2004個胺基酸。在一些實施例中，XTEN多肽係選自AE42、AE72、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288或AG144。在其他實施例中，XTEN多肽係選自SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 40；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 45；SEQ ID NO: 44；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 42。

[0007] 在其他態樣中，嵌合分子中之另一XTEN序列包含約42個胺基酸、約72個胺基酸、約108個胺基酸、約144個胺基酸、約180個胺基酸、約216個胺基酸、約252個胺基酸、約288個胺基酸、約324個胺基酸、約360個胺基酸、約396個胺基酸、約432個胺基酸、約468個胺基酸、



約 504 個胺基酸、約 540 個胺基酸、約 576 個胺基酸、約 612 個胺基酸、約 624 個胺基酸、約 648 個胺基酸、約 684 個胺基酸、約 720 個胺基酸、約 756 個胺基酸、約 792 個胺基酸、約 828 個胺基酸、約 836 個胺基酸、約 864 個胺基酸、約 875 個胺基酸、約 912 個胺基酸、約 923 個胺基酸、約 948 個胺基酸、約 1044 個胺基酸、約 1140 個胺基酸、約 1236 個胺基酸、約 1318 個胺基酸、約 1332 個胺基酸、約 1428 個胺基酸、約 1524 個胺基酸、約 1620 個胺基酸、約 1716 個胺基酸、約 1812 個胺基酸、約 1908 個胺基酸或約 2004 個胺基酸。在一些實施例中，另一 XTEN 多肽係選自 AE42、AE72、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288 或 AG144。在某些實施例中，另一 XTEN 多肽係選自 SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 40；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 45；SEQ ID NO: 43；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 44 或 SEQ ID NO: 42。

[0008] 在一個實施例中，可用於連接嵌合分子中之 VWF 蛋白與異源部分之 VWF 連接子包含 a2 區域，其包含與對應於全長 FVIII 之 Glu720 至 Arg740 具至少約 80%、約 85%、約 90%、約 95% 或 100% 一致性的胺基酸序列，其中該 a2 區域能夠由凝血酶裂解。在一特定實施例中，a2 區域包含 ISDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSF (SEQ ID NO: 4)。在另一實施例中，可用於連接 VWF 蛋白與異源部分之 VWF 連接子包含 a1 區域，其包含與對應於全長

FVIII之Met337至Arg372具至少約80%、約85%、約90%、約95%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a1區域能夠由凝血酶裂解。在一些實施例中，a1區域包含

ISMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNDDNSPSFIQIRSV  
(SEQ ID NO: 5)。

[0009] 在其他實施例中，可用於連接VWF蛋白與異源部分之VWF連接子包含a3區域，其包含與對應於全長FVIII之Glu1649至Arg1689具至少約80%、約85%、約90%、約95%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a3區域能夠由凝血酶裂解。在一特定實施例中，a3區域包含

ISEITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSP  
RSFQ (SEQ ID NO: 6)。

[0010] 在其他實施例中，可用於連接VWF蛋白與異源部分之VWF連接子包含包括X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，且其中該PAR1外位點相互作用基元包含S-F-L-L-R-N (SEQ ID NO: 7)。在一個實施例中，PAR1外位點相互作用基元進一步包含選自以下之序列：P、P-N、P-N-D、P-N-D-K (SEQ ID NO: 8)、P-N-D-K-Y (SEQ ID NO: 9)、P-N-D-K-Y-E (SEQ ID NO: 10)、P-N-D-K-Y-E-P (SEQ ID NO: 11)、P-N-D-K-Y-E-P-F (SEQ ID NO: 12)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W (SEQ ID NO: 13)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E (SEQ ID NO: 14)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D (SEQ ID NO: 20)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E (SEQ ID NO: 21)、P-N-D-K-Y-E-P-F-



W-E-D-E-E (SEQ ID NO: 22)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E-S (SEQ ID NO: 23)或其任何組合。在其他實施例中，其中該脂族胺基酸係選自甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸或異白胺酸。在一特定實施例中，VWF連接子包含 GGLVPRSFLLRNPNDKYEPFWEDEES (SEQ ID NO: 24)。

[0011] 在某些實施例中，若在嵌合分子中用凝血酶裂解位點替代VWF連接子，則凝血酶裂解VWF連接子之速率比凝血酶將裂解凝血酶裂解位點之速率快。在其他實施例中，若在嵌合分子中用凝血酶裂解位點替代VWF連接子，則凝血酶裂解VWF連接子之速率為凝血酶將裂解凝血酶裂解位點之速率的至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80倍、至少約90倍或至少約100倍。

[0012] 在一些實施例中，VWF連接子進一步包含具有至少約5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1200、1400、1600、1800或2000個胺基酸之長度的一或多個胺基酸。在一個實例中，該一或多個胺基酸包含gly肽。在另一實例中，該一或多個胺基酸包含GlyGly。在其他實例中，該一或多個胺基酸包含gly/ser肽。在一些實例中，該gly/ser肽具有(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>n</sub>或S(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>n</sub>之式，其中n為選自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、

13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80或100之正整數。在某些實例中， $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 連接子為 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$  (SEQ ID NO: 89)或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$  (SEQ ID NO: 90)。

[0013] 可用於本發明之嵌合分子之VWF蛋白可包含VWF之D'結構域及D3結構域，其中該D'結構域及該D3結構域能夠結合至FVIII蛋白。在一個實施例中，VWF蛋白之D'結構域包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸764至866具至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的胺基酸序列。在另一實施例中，VWF蛋白之D3結構域包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸867至1240具至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的胺基酸序列。在其他實施例中，VWF蛋白在對應於SEQ ID NO: 2之殘基1099、殘基1142、或殘基1099與1142之殘基處含有至少一個胺基酸取代。在其他實施例中，在VWF蛋白之序列中，用除半胱胺酸之外的胺基酸取代對應於SEQ ID NO: 2之殘基1099、殘基1142、或殘基1099與1142之殘基。在其他實施例中，VWF蛋白之序列包含SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1240。在某些實施例中，VWF蛋白進一步包含VWF之D1結構域、D2結構域、或D1及D2結構域。在一些實施例中，VWF蛋白進一步包含選自A1結構域、A2結構域、A3結構域、D4結構域、B1結構域、B2結構域、B3結構域、C1結構域、C2結構域、CK結構域、其一或多個片段或其任何組合之VWF結構域。在其他實施例中，VWF蛋白基本



上由以下組成或由以下組成：(1) VWF之D'及D3結構域或其片段；(2) VWF之D1、D'及D3結構域或其片段；(3) VWF之D2、D'及D3結構域或其片段；(4) VWF之D1、D2、D'及D3結構域或其片段；或(5) VWF之D1、D2、D'、D3及A1結構域或其片段。在其他實施例中，VWF蛋白進一步包含VWF之信號肽。在其他實施例中，VWF蛋白經聚乙二醇化、糖基化、羥乙基澱粉化(hesylated)或聚唾液酸化。術語「聚乙二醇化」係指在蛋白質上具有聚乙二醇(PEG)；術語「糖基化」係指在蛋白質上具有糖基化；術語「羥乙基澱粉化」係指在蛋白質上具有羥乙基澱粉(HES)；以及術語「聚唾液酸化」係指在蛋白質上具有聚唾液酸(PSA)。PEG、HES及PSA之實例顯示於本文他處。

[0014] 在一些態樣中，經由VWF連接子與VWF蛋白融合之異源部分(H1)能夠延長嵌合分子之半衰期。在一個實施例中，異源部分(H1)包含免疫球蛋白恆定區或其部分、白蛋白、白蛋白結合部分、PAS、HAP、轉鐵蛋白或其片段、聚乙二醇(PEG)、羥乙基澱粉(HES)、PSA、人類絨毛膜促性腺激素之 $\beta$ 亞單位之C端肽(CTP)或其任何組合。在另一實施例中，異源部分包含FcRn結合搭配物。在其他實施例中，異源部分包含Fc區。在其他實施例中，異源部分(H1)包含清除受體或其片段，其中該清除受體阻斷FVIII蛋白結合於FVIII清除受體。在一些實施例中，其中該清除受體為低密度脂蛋白受體相關蛋白1(LRP1)或其FVIII結合片段。

[0015] 在一些態樣中，經由視情況選用之FVIII連接子與FVIII蛋白融合之第二異源部分包含免疫球蛋白恆定區或其部分、白蛋白、白蛋白結合多肽、PAS、人類絨毛膜促性腺激素之 $\beta$ 亞單位之C端肽(CTP)、聚乙二醇(PEG)、羥乙基澱粉(HES)、白蛋白結合小分子或其任何組合。在一個實施例中，第二異源部分(H2)能夠延長FVIII蛋白之半衰期。在另一實施例中，第二異源部分(H2)包含多肽、非多肽部分，或兩者。在其他實施例中，第二異源部分(H2)包含免疫球蛋白恆定區或其部分。在其他實施例中，第二異源部分包含FcRn結合搭配物。在其他實施例中，第二異源部分包含第二Fc區。

[0016] 在一些實施例中，經由VWF連接子與VWF蛋白融合之第一異源部分與經由視情況選用之連接子與FVIII蛋白融合之第二異源部分彼此締合，其中XTEN序列與該等組分中之任一者融合。在一個實施例中，第一多肽鏈與第二多肽之間的締合為共價鍵。在另一實施例中，第一異源部分與第二異源部分之間的締合為二硫鍵。在其他實施例中，第一異源部分為FcRn結合搭配物且第二異源部分為FcRn結合搭配物。在其他實施例中，第一異源部分為Fc區，且第二異源部分為Fc區。

[0017] 在某些實施例中，FVIII蛋白係藉由FVIII連接子連接至第二異源部分。在一個實施例中，第二連接子為可裂解連接子。在另一實施例中，FVIII連接子與VWF連接子相同。在其他實施例中，FVIII連接子與VWF連接子



不同。

[0018] 在一些態樣中，本發明之嵌合分子包含選自以下之式：(a) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C；(b) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C；(c) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C；(d) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C；(e) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2)；(f) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2)；(g) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V；(h) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V；(i) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(j) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(k) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V；或(l) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V；其中V為VWF蛋白；L1為VWF連接子；L2為視情況選用之FVIII連接子；H1為第一異源部分；H2為第二異源部分；X1為XTEN序列；X2為視情況選用之XTEN序列；C為FVIII蛋白；C(X2)為與XTEN序列融合之FVIII蛋白，其中該XTEN序列插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間；(-)為肽鍵或一或多個胺基酸；以及(:)為H1與H2之間的共價鍵。

[0019] 在其他態樣中，嵌合分子包含選自以下之式：(a) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C；(b) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C；(c) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C；(d) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C；(e) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2)；(f) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2)；(g) C-X2-L2-H2: H1-X1-L1-V；(h) C-X2-L2-H2: H1-L1-X1-V；(i) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(j) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(k) C(X2)-L2-H2: H1-X1-L1-V；或(l) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V；其中V為VWF蛋白；L1為VWF連接子；L2為視情況選用之FVIII連接

子；H1為第一異源部分；H2為第二異源部分；X1為視情況選用之XTEN序列；X2為XTEN序列；C為FVIII蛋白；C(X2)為與XTEN序列融合之FVIII蛋白，其中該XTEN序列插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間；(-)為肽鍵或一或多個胺基酸；以及(:)為H1與H2之間的共價鍵。

[0020] 在本發明之嵌合分子中，VWF蛋白可抑制或防止內源性VWF結合於FVIII蛋白。

[0021] 在某些態樣中，嵌合分子中之FVIII蛋白可包含第三異源部分(H3)。該第三異源部分(H3)可為XTEN序列。在其他態樣中，FVIII蛋白包含第四異源部分(H4)。該第四異源部分(H4)可為XTEN序列。在一些態樣中，FVIII蛋白包含第五異源部分(H5)。該第五異源部分可為XTEN序列。在其他態樣中，FVIII蛋白包含第六異源部分(H6)。該第六異源部分可為XTEN序列。在某些態樣中，第三異源部分(H3)、第四異源部分(H4)、第五異源部分(H5)及第六異源部分(H6)中之一或多者能夠延長嵌合分子之半衰期。在其他態樣中，第三異源部分(H3)、第四異源部分(H4)、第五異源部分(H5)及第六異源部分(H6)連接至FVIII之C端或N端或者插入FVIII蛋白之兩個胺基酸之間。在其他態樣中，第三異源部分、第四異源部分、第五異源部分及第六異源部分中之一或多者包含選自約42個胺基酸、約72個胺基酸、約108個胺基酸、約144個胺基酸、約180個胺基酸、約216個胺基酸、約252個胺基酸、約288個胺基酸、約324個胺基酸、約360個胺基酸、約396個胺基



酸、約432個胺基酸、約468個胺基酸、約504個胺基酸、約540個胺基酸、約576個胺基酸、約612個胺基酸、約624個胺基酸、約648個胺基酸、約684個胺基酸、約720個胺基酸、約756個胺基酸、約792個胺基酸、約828個胺基酸、約836個胺基酸、約864個胺基酸、約875個胺基酸、約912個胺基酸、約923個胺基酸、約948個胺基酸、約1044個胺基酸、約1140個胺基酸、約1236個胺基酸、約1318個胺基酸、約1332個胺基酸、約1428個胺基酸、約1524個胺基酸、約1620個胺基酸、約1716個胺基酸、約1812個胺基酸、約1908個胺基酸或約2004個胺基酸中之一或多者之長度。舉例而言，第三異源部分、第四異源部分、第五異源部分或第六異源部分之XTEN序列可選自AE42、AE72、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288或AG144。更特定言之，XTEN序列可選自SEQ ID NO: 39；SEQ ID NO: 40；SEQ ID NO: 47；SEQ ID NO: 45；SEQ ID NO: 43；SEQ ID NO: 41；SEQ ID NO: 48；SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 42。

[0022] 在某些實施例中，嵌合分子之半衰期相比於野生型FVIII延長至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約11倍或至少約12倍。

[0023] 本揭示內容亦提供編碼嵌合分子或其互補序

列之聚核苷酸或一組聚核苷酸。該聚核苷酸或該組聚核苷酸可進一步包含編碼PC5或PC7之聚核苷酸鏈。

[0024] 亦包括包含該聚核苷酸或該組聚核苷酸及可操作地連接至該聚核苷酸或該組聚核苷酸之一或多個啟動子的載體或一組載體。在一些實施例中，該載體或該組載體可進一步包含編碼PC5或PC7之另一聚核苷酸鏈。

[0025] 本發明亦包括一種宿主細胞，其包含該聚核苷酸或該組聚核苷酸或者該載體或該組載體。在一個實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞。在另一實施例中，宿主細胞係選自HEK293細胞、CHO細胞或BHK細胞。

[0026] 在一些態樣中，本發明包括一種醫藥組合物，其包含本文揭示之嵌合分子、編碼該嵌合分子之聚核苷酸或一組聚核苷酸、包含該聚核苷酸或該組聚核苷酸之載體或一組載體、或本文揭示之宿主細胞，及醫藥學上可接受之載劑。在一個實施例中，該組合物中之嵌合分子相比於野生型FVIII蛋白具有延長之半衰期。在另一實施例中，其中組合物中之嵌合分子之半衰期相比於野生型FVIII延長至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約11倍或至少約12倍。

[0027] 亦包括一種降低有需要之個體中出血事件之頻率或程度的方法，其包括施用有效量之本文揭示之嵌合分子、編碼該嵌合分子之聚核苷酸或一組聚核苷酸、本文



揭示之載體或一組載體、本文揭示之宿主細胞、或本文揭示之組合物。本發明亦包括一種預防有需要之個體中出血事件之發生的方法，其包括施用有效量之本文揭示之嵌合分子、編碼該嵌合分子之聚核苷酸或一組聚核苷酸、本文揭示之載體或一組載體、本文揭示之宿主細胞、或本文揭示之組合物。在一個實施例中，出血事件係來自出血凝血障礙、關節積血、肌肉出血、口腔出血、溢血、溢血進入肌肉、口腔溢血、創傷、創傷性頭癱、胃腸道出血、顱內溢血、腹內溢血、胸內溢血、骨折、中樞神經系統出血、咽後間隙出血、腹膜後間隙出血、髖腰肌鞘中出血或其任何組合。在另一實施例中，本文揭示之嵌合分子、編碼該嵌合分子之聚核苷酸或一組聚核苷酸、本文揭示之載體或一組載體、本文揭示之宿主細胞或本文揭示之組合物可藉由選自局部施用、眼內施用、非經腸施用、鞘內施用、硬膜下施用、經口施用或其任何組合之途徑施用。

[0028] 本揭示內容亦包括一種製備嵌合分子之方法，其包括用本文揭示之聚核苷酸或本文揭示之載體轉染一或多個宿主細胞且在該宿主細胞中表現該嵌合分子。該方法進一步包含分離該嵌合分子。在一些實施例中，嵌合分子之FVIII活性可藉由aPTT檢定或ROTEM檢定量測。

#### 【圖式簡單說明】

[0029] 圖1顯示包含兩個多肽鏈之嵌合分子(FVIII-XTEN/VWF異質二聚體)之例示圖，第一個鏈包含經由凝

血酶可裂解 VWF 連接子與 Fc 區融合之 VWF 蛋白 (例如, VWF 之 D' 結構域及 D3 結構域) 並且第二個鏈包含經由 FVIII 連接子與第二 Fc 區融合之 FVIII 蛋白。該 FVIII 蛋白在 FVIII 之多個結構域中包含一或多個 XTEN。

[0030] 圖 2 顯示各種 VWF 構築體, 各構築體包含經由凝血酶可裂解 VWF 連接子與 Fc 區融合之 D' 結構域及 D3 結構域, 對照物 (亦即, VWF-052) 除外。VWF-031 包含包括 L-V-P-R (SEQ ID NO: 25) 之凝血酶裂解位點的具有 48 個胺基酸之連接子。VWF-034 包含具有 288 個胺基酸之 XTEN 序列及包含 L-V-P-R (SEQ ID NO: 25) 之凝血酶裂解位點的具有 35 個胺基酸之連接子。VWF-035 包含包括 L-V-P-R (SEQ ID NO: 25) 之凝血酶裂解位點的具有 73 個胺基酸之連接子。VWF-036 包含包括 L-V-P-R (SEQ ID NO: 25) 之凝血酶裂解位點的具有 98 個胺基酸之連接子。VWF-039 包含包括 L-V-P-R (SEQ ID NO: 25) 之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元的具有 26 個胺基酸之 VWF 連接子。VWF-051 包含包括 A-L-R-P-R-V-V (SEQ ID NO: 26) 之凝血酶裂解位點的具有 54 個胺基酸之連接子。VWF-052 包含不具有任何凝血酶裂解位點之具有 48 個胺基酸之連接子 (對照物)。VWF-054 包含包括來自 FVIII 之 a1 區域的具有 40 個胺基酸之 VWF 連接子。VWF-055 包含包括來自 FVIII 之 a2 區域的具有 34 個胺基酸之 VWF 連接子。VWF-056 包含包括來自 FVIII 之 a3 區域的具有 46 個胺基酸之 VWF 連接子。

[0031] 圖 3A 顯示 VWF-Fc 融合構築體、亦即 VWF-



031、VWF-034、VWF-036、VWF-039、VWF-051及VWF-052之凝血酶介導性裂解速率(單位為共振單位/秒(RU/s))隨捕捉密度(單位為RU)變化之函數關係。圖3B顯示VWF-Fc融合構築體、亦即VWF-031、VWF-034、VWF-036、VWF-051及VWF-052之凝血酶介導性裂解速率(單位為共振單位/秒(RU/s))隨捕捉密度(單位為RU)變化之函數關係。在此等實驗中，各VWF-Fc融合構築體以不同密度捕捉且隨後暴露於固定濃度之人類 $\alpha$ -凝血酶。圖3A及圖3B中各曲線之斜率直接反映各構築體之凝血酶裂解易感性，裂解速率與起始捕捉含量成正比。

[0032] 圖4A顯示VWF-Fc融合構築體、亦即VWF-054、VWF-055及VWF-056之凝血酶介導性裂解速率(單位為共振單位/秒(RU/s))隨捕捉密度(單位為RU)變化之函數關係。圖4B顯示VWF-Fc融合構築體、亦即VWF-031、VWF-039、VWF-054、VWF-055及VWF-056之凝血酶介導性裂解速率(單位為共振單位/秒(RU/s))隨捕捉密度(單位為RU)變化之函數關係。在此等實驗中，各VWF-Fc融合構築體以不同密度捕捉且隨後暴露於固定濃度之人類 $\alpha$ -凝血酶。圖4A及圖4B中各曲線之斜率直接反映各構築體之凝血酶裂解易感性。

[0033] 圖5顯示測定各種VWF-Fc構築體VWF-031、VWF-034、VWF-036、VWF-039、VWF-051、VWF-052、VWF-054、VWF-055及VWF-056對於凝血酶介導性裂解之易感性之線性回歸分析的結果。數值以 $s^{-1}$ 為單位表示且反映圖3及圖4中所示之曲線的斜率。兩種不同構築體之相對

易感性係得自其相應斜率之商。斜率<sub>VWF-039</sub>/斜率<sub>VWF-031</sub>為71，指示VWF-Fc融合構築體VWF-039對於凝血酶介導性裂解之易感性為VWF-031之71倍。斜率<sub>VWF-055</sub>/斜率<sub>VWF-031</sub>為65，以及斜率<sub>VWF-051</sub>/斜率<sub>VWF-031</sub>為1.8。

[0034] 圖6顯示藉由全血ROTEM檢定所量測之各種嵌合分子於HemA患者中之凝血時間。FVII155/VWF-031包含兩個多肽鏈，第一個鏈包含與Fc區融合之BDD FVIII且第二個鏈包含經由最小凝血酶裂解位點(亦即，L-V-P-R (SEQ ID NO: 25))與Fc區融合之VWF之D'結構域及D3結構域。FVII155/VWF-039包含兩個多肽鏈，第一個鏈包含與Fc區融合之BDD FVIII且第二個鏈包含經由包含L-V-P-R (SEQ ID NO: 25)及PAR1外位點相互作用基元之VWF連接子與Fc區融合的VWF之D'結構域及D3結構域。FVII155/VWF-055包含兩個多肽鏈，第一個鏈包含與Fc區融合之BDD FVIII且第二個鏈包含經由包含來自FVIII之a2區域之VWF連接子與Fc區融合的VWF之D'結構域及D3結構域。

[0035] 圖7顯示代表性FVIII-VWF異質二聚體以及FVIII169、FVIII286、VWF057、VWF059及VWF062構築體之圖。舉例而言，FVIII169構築體包含與Fc區融合之具有R1648A取代之B結構域缺失FVIII蛋白，其中在對應於成熟全長FVIII之胺基酸745處插入XTEN序列(例如，AE288)(A1-a1-A2-a2-288XTEN-a3-A3-C1-C2-Fc)。FVIII286構築體包含與Fc區融合之具有R1648取代之B結構



域缺失FVIII蛋白，其中在對應於成熟全長FVIII之胺基酸745處插入XTEN序列(例如，AE288)，在FVIII與Fc之間具有另一a2區域(A1-a1-A2-a2-288XTEN-a3-A3-C1-C2-a2-Fc)。VWF057為包含經由VWF連接子連接至Fc區之VWF蛋白之D'D3結構域(在D'D3結構域中具有兩個胺基酸取代，亦即，C336A及C379A)的VWF-Fc融合構築體，該VWF連接子包含LVPR凝血酶位點(「LVPR」)及GS連接子(「GS」)，其中XTEN序列(亦即144XTEN)插入D'D3結構域與VWF連接子之間(D'D3-144XTEN-GS+LVPR-Fc)。

VWF059為包含經由作為VWF連接子之酸性區域2(a2)區域連接至Fc區之VWF蛋白之D'D3結構域(在D'D3結構域中具有兩個胺基酸取代，亦即，C336A及C379A)的VWF-Fc融合構築體，其中XTEN序列插入D'D3結構域與VWF連接子之間。VWF062為包含連接至Fc區之VWF蛋白之D'D3結構域(在D'D3結構域中具有兩個胺基酸取代，亦即，C336A及C379A)的VWF-Fc融合構築體，其中XTEN序列插入D'D3結構域與Fc區之間(D'D3-144XTEN-Fc)。

[0036] 圖8顯示FVIII-XTEN-Fc/D'D3-連接子-Fc異質二聚體(亦即，FVIII169/VWF034、FVIII169/VWF059及FVIII169/VWF057)相比於B結構域缺失FVIII(「SQ BDD FVIII」或「BDD-rFVIII」)或媒劑對照物在HemA小鼠尾部剪斷模型中之急性功效。BDD-rFVIII以圓形顯示，而FVIII169/VWF034以正方形顯示，FVIII169/VWF059以三角形顯示，FVIII169/VWF057以中空圓形顯示，以及媒劑

以倒三角形顯示。VWF034為包含經由VWF連接子與Fc區融合之VWF之D'結構域及D3結構域的VWF-Fc融合構築體，該VWF連接子包含LVPR，其中XTEN序列(亦即288XTEN)插入D'D3結構域與VWF連接子之間(D'D3-288XTEN-LVPR-Fc)。FVIII169、VWF059及VWF057之構築體詳情示於本文他處。在各治療組中給與75 IU/kg構築體之後的小鼠中值失血量(uL)由水平線指示。

### 【實施方式】

[0037] 本發明係針對包含XTEN序列及連接VWF蛋白或FVIII蛋白與異源部分(例如，半衰期延長部分)之凝血酶可裂解連接子的嵌合分子。本發明亦提供包含兩個多肽鏈之嵌合分子，第一個鏈包含與異源部分融合之VWF蛋白，且第二個鏈包含FVIII蛋白及第二異源部分，其中該嵌合分子在該第一或第二多肽鏈中包含XTEN序列且其中該VWF蛋白或該FVIII蛋白(或兩者)經由VWF連接子或FVIII連接子(或兩者)與異源部分融合。該凝血酶可裂解連接子(VWF連接子或FVIII連接子)可在容易獲得凝血酶之損傷部位由凝血酶有效裂解。例示性嵌合分子說明於本說明書及圖式中。在一些實施例中，本發明係關於具有例如圖1至圖7中所示之結構的嵌合分子。在其他實施例中，本發明係關於編碼本文所揭示之嵌合分子構築體之聚核苷酸。

[0038] 為提供對本說明書及申請專利範圍之清晰理解，下文提供以下定義。



## I. 定義

[0039] 應注意到，術語「一個」實體係指一或多個該實體；例如，「核苷酸序列」應理解為表示一或多個核苷酸序列。因而，術語「一個」、「一或多個」及「至少一個」在本文可互換使用。

[0040] 術語「約」在本文用於意謂大約、大致、左右或附近。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由擴展邊界高於及低於所述數值來調節該範圍。一般而言，術語「約」在本文用於調節數值高於及低於所述值，變化為 $\pm 10\%$  (更高或更低)。

[0041] 術語「聚核苷酸」或「核苷酸」意欲涵蓋單數個核酸以及複數個核酸，且係指分離之核酸分子或構築體，例如，信使RNA (mRNA)或質體DNA (pDNA)。在某些實施例中，聚核苷酸包含習知磷酸二酯鍵或非習知鍵(例如，醯胺鍵，諸如見於肽核酸(PNA)中)。術語「核酸」係指聚核苷酸中存在之任何一或多個核酸區段，例如，DNA或RNA片段。「分離之」核酸或聚核苷酸意指已自其自然環境中移出之核酸分子、DNA或RNA。舉例而言，就本發明而言，編碼載體中所含之因子VIII多肽之重組聚核苷酸視為分離的。分離聚核苷酸之其他實例包括保持於異源宿主細胞中或於溶液中自其他聚核苷酸純化(部分地或實質上)之重組聚核苷酸。分離RNA分子包括本發明之聚核苷酸之活體內或活體外RNA轉錄物。根據本發明之分離

聚核苷酸或核酸進一步包括合成產生之此類分子。另外，聚核苷酸或核酸可包括調控元件，諸如啟動子、增強子、核糖體結合位點或轉錄終止信號。

[0042] 如本文所用，「編碼區」或「編碼序列」為聚核苷酸之一部分，其由可轉譯成胺基酸之密碼子組成。儘管「終止密碼子」(TAG、TGA或TAA)通常並不轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區之一部分，但任何側接序列，例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子以及其類似物，並非編碼區之一部分。編碼區之邊界通常在5'端由起始密碼子決定，其編碼所得多肽之胺基端，以及在3'端由轉譯終止密碼子決定，其編碼所得多肽之羧基端。本發明之兩個或更多個編碼區可存在於單一聚核苷酸構築體中，例如，單一載體上，或單獨聚核苷酸構築體中，例如，單獨(不同)載體上。反之，單一載體可僅含有單一編碼區，或者包含兩個或更多個編碼區，例如，單一載體可獨立編碼如下所述之嵌合分子之第一多肽鏈及第二多肽鏈。另外，本發明之載體、聚核苷酸或核酸可編碼與編碼本發明嵌合分子之核酸融合或未融合之異源編碼區。異源編碼區包括(不限於)專業元件或基元，諸如分泌信號肽或異源功能結構域。

[0043] 由哺乳動物細胞分泌之某些蛋白質與分泌信號肽縮合，一旦生長蛋白鏈穿過粗面內質網之輸出已起始，即自成熟蛋白質裂解出該分泌信號肽。一般技術者認識到，信號肽一般與多肽之N端融合，且自完整或「全長」



多肽裂解以產生分泌或「成熟」形式之多肽。在某些實施例中，使用原生信號肽，例如FVIII信號肽或VWF信號肽，或者保留引導可操作性締合之多肽分泌之能力的該序列之功能衍生物。或者，可使用異源哺乳動物信號肽，例如，人類組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)或小鼠 $\beta$ -葡糖苷酸酶信號肽，或其功能衍生物。

[0044] 術語「下游」係指位於參考核苷酸序列之3'的核苷酸序列。在某些實施例中，下游核苷酸序列係指在轉錄起始點後之序列。舉例而言，基因之轉譯起始密碼子位於轉錄起始位點下游。

[0045] 術語「上游」係指位於參考核苷酸序列之5'的核苷酸序列。在某些實施例中，上游核苷酸序列係指位於編碼區之5'側或轉錄起始點上之序列。舉例而言，大部分啟動子位於轉錄起始位點上游。

[0046] 如本文所用，術語「調控區」係指位於編碼區上游(5'非編碼序列)、其內或下游(3'非編碼序列)且影響所締合之編碼區之轉錄、RNA加工、穩定性或轉譯之核苷酸序列。調控區可包括啟動子、轉譯前導序列、內含子、多腺苷酸化識別序列、RNA加工位點、效應子結合位點及莖-環結構。若編碼區意欲表現於真核細胞中，則多腺苷酸化信號及轉錄終止序列通常將位於編碼序列之3'。

[0047] 編碼基因產物(例如，多肽)之聚核苷酸可包括啟動子及/或與一或多個編碼區可操作性締合之其他轉錄或轉譯控制元件。在可操作締合中，基因產物(例如，多

肽)之編碼區以使得基因產物之表現處於一或多個調控區之影響或控制下之方式與該一或多個調控區締合。舉例而言，若啟動子功能之誘導導致編碼由編碼區編碼之基因產物之 mRNA 的轉錄，並且若啟動子與編碼區之間之連接的性質不幹擾啟動子引導基因產物表現之能力或不幹擾待轉錄之 DNA 模板之能力，則該編碼區與該啟動子係「可操作性締合」。除啟動子之外，其他轉錄控制元件，例如增強子、操縱子、阻遏子及轉錄終止信號亦可與編碼區可操作性締合以引導基因產物表現。

[0048] 多種轉錄控制區為熟習此項技術者所知。其包括(但不限於)在脊椎動物細胞中起作用之轉錄控制區，諸如(但不限於)來自巨細胞病毒(立即早期啟動子，結合內含子-A)、猿猴病毒 40 (早期啟動子)及反轉錄病毒(諸如 Rous 肉瘤病毒)之啟動子及增強子區段。其他轉錄控制區包括源自脊椎動物基因者，諸如肌動蛋白、熱休克蛋白、牛生長激素及兔 $\beta$ -球蛋白，以及能夠控制真核細胞中之基因表現的其他序列。其他合適之轉錄控制區包括組織特異性啟動子及增強子以及淋巴因子誘導性啟動子(例如，可由幹擾素或介白素誘導之啟動子)。

[0049] 類似地，多種轉譯控制元件為一般技術者所知。其包括(但不限於)核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子，及源自小核糖核酸病毒之元件(尤其是內部核糖體進入位點或 IRES，亦稱為 CITE 序列)。

[0050] 如本文所用之術語「表現」係指聚核苷酸產



生基因產物(例如，RNA或多肽)之過程。其包括(但不限於)將聚核苷酸轉錄成信使RNA (mRNA)、轉移RNA (tRNA)、小髮夾RNA (shRNA)、小幹擾RNA (siRNA)或任何其他RNA產物，以及將mRNA轉譯成多肽。表現產生「基因產物」。如本文所用，基因產物可為核酸，例如，由基因轉錄產生之信使RNA，或自轉錄物轉譯之多肽。本文所述之基因產物進一步包括具有轉錄後修飾(例如，多腺苷酸化或剪接)之核酸，或具有轉譯後修飾(例如，甲基化、糖基化、添加脂質、與其他蛋白質亞單位締合，或蛋白水解裂解)之多肽。

[0051] 「載體」係指用於將核酸選殖及/或轉移至宿主細胞中之任何運載體。載體可為可連接至另一核酸區段以產生所連接區段之複製的複製子。「複製子」係指在活體內充當自主複製單元，亦即能夠在其自身控制下複製之任何遺傳元件(例如，質體、噬菌體、黏粒、染色體、病毒)。術語「載體」包括在活體外、離體或在活體內用於將核酸引入細胞中之病毒及非病毒運載體。大量載體為已知的且用於此項技術中，包括例如質體、經修飾真核病毒或經修飾細菌病毒。可藉由將適當聚核苷酸片段連接至具有互補性黏性末端之所選載體來將聚核苷酸插入合適載體中。

[0052] 載體可經工程改造以編碼可選擇標記或報導體，其提供已併有該載體之細胞之選擇或鑒別。可選擇標記或報導體之表現允許鑒別及/或選擇併有且表現於載體

上所含之其他編碼區之宿主細胞。此項技術中已知且使用之可選擇標記基因之實例包括：提供對胺苄青黴素、鏈黴素、慶大黴素、卡那黴素、潮黴素、畢拉草除草劑、磺醯胺及其類似物具抗性之基因；以及用作表型標記之基因，亦即，花青素調控基因、異戊烯基轉移酶基因及其類似物。此項技術中已知且使用之報導體之實例包括：螢光素酶(Luc)、綠色螢光蛋白(GFP)、氯黴素乙醯轉移酶(CAT)、-半乳糖苷酶(LacZ)、-葡糖苷酸酶(Gus)及其類似物。可選擇標記亦可視為報導體。

[0053] 術語「質體」係指通常帶有並非細胞中心代謝部分之基因的染色體外元件，並且通常呈環狀雙鏈DNA分子形式。該等元件可為源自任何來源之單鏈或雙鏈DNA或RNA之線性、環狀或超螺旋狀自主複製序列、基因組整合序列、噬菌體或核苷酸序列，其中多個核苷酸序列已經接合或重組成獨特構造，其能夠將所選基因產物之啟動子片段及DNA序列與適當的3'非轉譯序列一起引入細胞中。

[0054] 可使用之真核病毒載體包括(但不限於)腺病毒載體、反轉錄病毒載體、腺相關病毒載體、痘病毒(例如牛痘病毒)載體、杆狀病毒載體或胞疹病毒載體。非病毒載體包括質體、脂質體、帶電脂質(細胞轉染劑)、DNA-蛋白質複合物及生物聚合物。

[0055] 「選殖載體」係指「複製子」，其為連續複製之單位長度之核酸並且其包含複製起點，諸如質體、噬菌體或黏粒，另一個核酸區段可與其連接以產生所連接區



段之複製。某些選殖載體能夠於一種細胞類型(例如細菌)中複製且於另一種細胞類型(例如真核細胞)中表現。選殖載體通常包含可用於選擇包含載體之細胞之一或多個序列及/或用於插入相關核酸序列之一或多個多選殖位點。

[0056] 術語「表現載體」係指經設計以實現所插入核酸序列在插入宿主細胞中之後之表現的運載體。所插入核酸序列與如上所述之調控區處於可操作性締合。

[0057] 藉由此項技術中熟知之方法將載體引入宿主細胞中，例如，轉染、電穿孔、顯微注射、轉導、細胞融合、DEAE葡聚糖、磷酸鈣沈澱、脂質轉染(溶酶體融合)、使用基因槍、或DNA載體轉運體。

[0058] 如本文所用之「培養」意謂在允許細胞生長或分裂或維持細胞處於存活狀態之活體外條件下培育細胞。如本文所用之「經培養細胞」意謂在活體外繁殖之細胞。

[0059] 如本文所用，術語「多肽」意欲涵蓋單數個「多肽」以及複數個「多肽」，且係指由藉由醯胺鍵(亦稱為肽鍵)線性連接之單體(胺基酸)組成的分子。術語「多肽」係指具有兩個或更多個胺基酸之任何一或多個鏈，且並非指代特定長度之產物。因此，肽、二肽、三肽、寡肽、「蛋白質」、「胺基酸鏈」或用於指代具有兩個或更多個胺基酸之一或多個鏈的任何其他術語包括於「多肽」之定義內，且術語「多肽」可替代任何此等術語使用或與任何此等術語互換使用。術語「多肽」亦意欲指代多肽之表

現後修飾產物，該等修飾包括(但不限於)糖基化、乙醯化、磷酸化、醯胺化、藉由已知保護/阻斷基團衍生、蛋白水解裂解或藉由非天然存在之胺基酸進行修飾。多肽可源自天然生物來源或產生重組技術，但未必自所設計之核酸序列轉譯。其可以任何方式產生，包括藉由化學合成。

[0060] 「分離」多肽或其片段、變異體或衍生物係指並非處於其天然環境中之多肽。不需要特定程度之純化。舉例而言，分離多肽可簡單地自其自然或天然環境移除。就本發明而言，表現於宿主細胞中之重組產生多肽及蛋白質視為分離的，因為原生或重組多肽已藉由任何合適技術分離、分餾、或部分地或實質上純化。

[0061] 本發明中亦包括多肽之片段或變異體及其任何組合。術語「片段」或「變異體」當指代本發明之多肽結合域或結合分子時，包括保留參考多肽之至少一些特性(例如，FcRn結合域或Fc變異體之FcRn結合親和力、FVIII變異體之凝血活性，或VWF蛋白之FVIII結合活性)的任何多肽。除本文他處所討論之特定抗體片段之外，多肽之片段包括蛋白水解片段，以及缺失片段，但不包括天然存在之全長多肽(或成熟多肽)。本發明之多肽結合域或結合分子之變異體包括如上文所述之片段，以及由於胺基酸取代、缺失或插入而具有改變之胺基酸序列的多肽。變異體可為天然存在或非天然存在的。非天然存在之變異體可使用此項技術中已知之突變誘發技術產生。變異多肽可包含保守性或非保守性胺基酸取代、缺失或添加。



[0062] 本文使用之術語「VWF片段」意謂與FVIII相互作用且保留通常由全長VWF向FVIII提供之至少一或多種特性的任何VWF片段，例如，預防FVIIIa過早活化、預防過早蛋白水解、預防可導致過早清除的與磷脂膜之締合、預防與可結合裸FVIII但不結合VWF結合FVIII之FVIII清除受體的結合，及/或穩定FVIII重鏈及輕鏈相互作用。在一特定實施例中，如本文所用之「VWF片段」包含VWF蛋白之D'結構域及D3結構域，但不包括VWF蛋白之A1結構域、A2結構域、A3結構域、D4結構域、B1結構域、B2結構域、B3結構域、C1結構域、C2結構域及CK結構域。

[0063] 如本文所用之術語「半衰期限制因子」或「FVIII半衰期限制因子」指示防止FVIII蛋白之半衰期相比於野生型FVIII（例如，ADVATE<sup>®</sup>或REFACTO<sup>®</sup>）為其1.5倍或2倍之因子。舉例而言，全長或成熟VWF可藉由利用一或多種VWF清除路徑誘導FVIII與VWF複合物自系統清除而充當FVIII半衰期限制因子。在一個實例中，內源性VWF為FVIII半衰期限制因子。在另一實例中，與FVIII蛋白非共價結合之全長重組VWF分子為FVIII半衰期限制因子。

[0064] 如本文所用之術語「內源性VWF」指示血漿中天然存在之VWF分子。該內源性VWF分子可為多聚體，但可為單體或二聚體。血漿中之內源性VWF結合於FVIII且與FVIII形成非共價複合物。

[0065] 「保守性胺基酸取代」為胺基酸殘基經具有

類似側鏈之胺基酸殘基置換的胺基酸取代。具有類似側鏈之胺基酸殘基家族已於此項技術中定義，包括鹼性側鏈(例如，離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如，天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電之極性側鏈(例如，甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、酥胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、非極性側鏈(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、 $\beta$ -分枝側鏈(例如，酥胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。因此，若多肽中之胺基酸經來自相同側鏈家族之另一胺基酸置換，則將該取代視為保守性。在另一實施例中，一串胺基酸可經側鏈家族成員在結構上類似而次序及/或組成不同之串保守性置換。

[0066] 如此項技術中已知，兩個多肽之間的「序列一致性」係藉由比較一個多肽之胺基酸序列與第二多肽之序列來確定。當在本文中討論時，可使用此項技術中已知之方法及電腦程式/軟體(諸如但不限於BESTFIT程式)(Wisconsin序列分析套件，Unix第8版，Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711)來測定任何特定多肽是否與另一多肽具至少約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致性。BESTFIT使用Smith及Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981)之局部同源性演算法來找出兩個序列之間的最佳同源性區段。當



使用BESTFIT或任何其他序列比對程式來測定特定序列是否與根據本發明之參考序列具例如95%一致性時，參數當然經設定以使得一致性百分比係在參考多肽序列之全長上計算並且允許參考序列中胺基酸總數之至多5%之同源性空隙。

[0067] 如本文所用，VWF序列或FVIII蛋白序列中之「對應於……之胺基酸」或「等效胺基酸」係藉由比對鑒別以最大化第一VWF或FVIII序列與第二VWF或FVIII序列之間的一致性或類似性。用於鑒別第二VWF或FVIII序列中之等效胺基酸之編號係基於用於鑒別第一VWF或FVIII序列中之相應胺基酸之編號。

[0068] 「融合」或「嵌合」分子包含第一胺基酸序列連接至其本質上並非天然連接之第二胺基酸序列。通常存在於獨立蛋白質中之胺基酸序列可集合於融合多肽中，或者通常存在於相同蛋白質中之胺基酸序列可置於融合多肽中之新排列中，例如，本發明之因子VIII結構域與免疫球蛋白Fc結構域之融合。融合蛋白係例如藉由化學合成或藉由產生且轉譯以所需關係編碼肽區域之聚核苷酸而產生。嵌合蛋白可進一步包含藉由共價、非肽鍵或非共價鍵與第一胺基酸序列締合之第二胺基酸序列。

[0069] 如本文所用，術語「半衰期」係指特定多肽在活體內之生物半衰期。半衰期可由施用至個體之量的一半自動物中之循環及/或其他組織中清除所需的時間表示。當既定多肽之清除曲線經理解為時間之函數時，該曲線

通常為具有快速 $\alpha$ 相及較長 $\beta$ 相之雙相。該 $\alpha$ 相通常表示所施用多肽在血管內空間與血管外空間之間的平衡且由多肽大小部分地決定。該 $\beta$ 相通常表示多肽在血管內空間中之分解代謝。在一些實施例中，本發明之嵌合分子為單相的，且因此不具有 $\alpha$ 相，而僅為單一 $\beta$ 相。因此，在某些實施例中，如本文所用之術語半衰期係指 $\beta$ 相中多肽之半衰期。人類抗體在人類中之典型 $\beta$ 相半衰期為21天。

[0070] 如應用於聚核苷酸或多肽之術語「異源」意謂聚核苷酸或多肽係源自與其相比較之實體相異之實體。因此，連接至VWF蛋白之異源多肽意謂多肽鏈連接至VWF蛋白且並非VWF蛋白之天然存在部分。例如，異源聚核苷酸或抗原可源自不同物種、不同細胞類型之個體、或相同或不同細胞類型之相異個體。

[0071] 如本文所用之術語「連接(linked)」、「融合(fused)」或「連接(connected)」係指第一胺基酸序列或核苷酸序列接合於第二胺基酸序列或核苷酸序列(例如，分別經由肽鍵或磷酸二酯鍵)。術語「共價連接的」或「共價連接」係指連接在一起的兩個部分之間的共價鍵，例如，二硫鍵、肽鍵或一或多個胺基酸，例如，連接子。第一胺基酸或核苷酸序列可直接接合於第二胺基酸或核苷酸序列或者插入序列可接合第一序列與第二序列。術語「連接」、「融合」或「連接」不僅意謂第一胺基酸序列與第二胺基酸序列在C端或N端融合，且亦包括將整個第一胺基酸序列(或第二胺基酸序列)插入第二胺基酸序列(或第一胺



基酸序列)中之任何兩個胺基酸中。在一個實施例中，第一胺基酸序列可藉由肽鍵或連接子接合於第二胺基酸序列。第一核苷酸序列可藉由磷酸二酯鍵或連接子接合於第二核苷酸序列。連接子可為肽或多肽(對於多肽鏈)或核苷酸或核苷酸鏈(對於核苷酸鏈)或任何化學部分(對於多肽及聚核苷酸鏈)。共價連接有時以(-)或連字符指示。

[0072] 如本文所用，術語「與.....締合」係指第一胺基酸鏈與第二胺基酸鏈之間形成的共價或非共價鍵。在一個實施例中，術語「與.....締合」意謂共價、非肽鍵或非共價鍵。在一些實施例中，此種締合由冒號(亦即，(:))指示。在另一實施例中，其意謂除肽鍵之外的共價鍵。在其他實施例中，如本文所用之術語「共價締合」意謂兩個部分之間由共價鍵(例如，二硫鍵、肽鍵或一或多個胺基酸(例如，連接子))締合。舉例而言，胺基酸半胱胺酸包含可與第二半胱胺酸殘基上之硫醇基形成二硫鍵或橋聯之硫醇基。在大部分天然存在之IgG分子中，CH1及CL區域係藉由二硫鍵締合且兩個重鏈係藉由在對應於使用Kabat編號系統之239及242之位置(位置226或229，EU編號系統)處的兩個二硫鍵締合。共價鍵之實例包括(但不限於)肽鍵、金屬鍵、氫鍵、二硫鍵、 $\sigma$ 鍵、 $\pi$ 鍵、 $\delta$ 鍵、糖苷鍵、不可知鍵、彎曲鍵、偶極鍵、 $\pi$ 反向鍵、雙鍵、參鍵、四重鍵、五重鍵、六重鍵、共軛、超共軛、芳香性、哈普托數(hapticity)或反鍵。非共價鍵之非限制性實例包括離子鍵(例如，陽離子 $\pi$ 鍵或鹽鍵)、金屬鍵、氫鍵(例如，二氫鍵

、二氫複合物、低障壁氫鍵或對稱氫鍵)、範德華力、倫敦分散力、機械鍵、鹵鍵、金鍵(aurophilicity)、插層(intercalation)、堆疊、熵力或化學極性。

[0073] 如本文所用，術語「裂解位點」或「酶促裂解位點」係指由酶識別之位點。在一個實施例中，多肽具有藉由在凝血級聯期間活化之酶裂解的酶促裂解位點，以使得此等位點之裂解發生在凝塊形成部位。在另一實施例中，連接FVIII蛋白與第二異源部分之FVIII連接子可包含裂解位點。例示性此類位點包括例如由凝血酶、因子XIa或因子Xa所識別者。例示性FXIa裂解位點包括例如TQSFNDFTR (SEQ ID NO: 27)及SVSQTSKLTR (SEQ ID NO: 28)。例示性凝血酶裂解位點包括例如DFLAEGGGVR (SEQ ID NO: 29)、TTKIKPR (SEQ ID NO: 30)、LVPRG (SEQ ID NO: 31)及ALRPR (SEQ ID NO: 26之胺基酸1至5)。其他酶促裂解位點為此項技術中已知。可由凝血酶裂解之裂解位點在本文稱為「凝血酶裂解位點」。

[0074] 如本文所用，術語「加工位點」或「細胞內加工位點」係指多肽中之一類酶促裂解位點，其為在多肽轉譯後起作用之酶的靶標。在一個實施例中，此等酶在自高爾基體(Golgi)內腔轉運至轉運高爾基體功能區期間起作用。細胞內加工酶在自細胞中分泌蛋白質之前裂解多肽。此等加工位點之實例包括例如由內肽酶之PACE/furin (其中PACE為配對鹼性胺基酸裂解酶(Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme)之縮寫)家族所靶向者。此等酶定位於高



爾基體膜且在序列基元 Arg-[任何殘基]-(Lys或 Arg)-Arg 之羧基末端側上裂解蛋白。如本文所用，酶之「furin」家族包括例如 PCSK1 (亦稱為 PC1/Pc3)、PCSK2 (亦稱為 PC2)、PCSK3 (亦稱為 furin 或 PACE)、PCSK4 (亦稱為 PC4)、PCSK5 (亦稱為 PC5 或 PC6)、PCSK6 (亦稱為 PACE4) 或 PCSK7 (亦稱為 PC7/LPC、PC8 或 SPC7)。其他加工位點為此項技術中所知。本文提及之術語「可加工連接子」意謂包含細胞內加工位點之連接子。

[0075] 術語「furin」係指對應於 EC No. 3.4.21.75 之酶。Furin 為枯草桿菌蛋白酶樣前蛋白轉化酶，其亦稱為配對鹼性胺基酸裂解酶 (PACE, Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme)。Furin 缺失非活性前體蛋白之部分以將其轉化成生物活性蛋白。在其細胞內轉運期間，藉由高爾基體中之 furin 酶自成熟 VWF 分子裂解出前肽。

[0076] 在包括一個以上加工或裂解位點之構築體中，應瞭解，此等位點可相同或不同。

[0077] 如本文所用之止血障礙意謂一種基因遺傳性或後天性病狀，其特徵為自發地或由創傷所致，由於形成纖維蛋白凝塊之能力受損或不能形成纖維蛋白凝塊而溢血之傾向。此等病症之實例包括血友病。三種主要形式為 A 型血友病 (因子 VIII 缺乏)、B 型血友病 (因子 IX 缺乏或「聖誕病」) 及 C 型血友病 (因子 XI 缺乏、輕度出血傾向)。其他止血障礙包括例如血管性血友病 (von Willebrand disease)、因子 XI 缺乏 (PTA 缺乏)、因子 XII 缺乏、纖維蛋白原、凝

血酶原、因子V、因子VII、因子X或因子XIII缺乏或結構異常、伯納德-蘇裏爾症候群(Bernard-Soulier syndrome) (其為GPIb有缺陷或缺乏)。GPIb為VWF之受體，其可能具有缺陷且導致缺乏初級凝塊形成(初級止血)及出血傾向增加，以及Glanzman及Naegeli之血小板功能不全(血小板無力症(Glanzmann thrombasthenia))。在肝衰竭(急性及慢性形式)中，肝臟產生之凝血因子不足；此可能增加出血風險。

[0078] 本發明之嵌合分子可預防性使用。如本文所用，術語「預防性治療」係指在出血事件之前施用分子。在一個實施例中，需要一般止血劑之個體正在進行手術，或將要進行手術。本發明之嵌合蛋白可在手術之前或之後作為預防劑施用。本發明之嵌合蛋白可在手術期間或之後施用以控制急性出血事件。手術可包括(但不限於)肝移植、肝切除、牙科手術或幹細胞移植。

[0079] 本發明之嵌合分子亦用於按需(亦稱為「偶發性」)治療。術語「按需治療」或「偶發性治療」係指回應於出血事件之症狀或在可造成出血之活動之前而施用嵌合分子。在一個態樣中，按需(偶發性)治療可給予開始出現(諸如在手術後)或預期出血(諸如在手術前)之個體。在另一態樣中，可在增加出血風險之活動(諸如接觸性運動)之前給予按需治療。

[0080] 如本文所用，術語「急性出血」係指不考慮潛在原因之出血事件。舉例而言，個體可具有創傷、尿毒



癥、遺傳性出血性病徵(例如，因子VII缺乏)、血小板病症或由於產生凝血因子抗體而造成的抗性。

[0081] 如本文所用之治療係指例如疾病或病狀之嚴重程度降低；疾病過程之持續時間縮短；與疾病或病狀相關之一或多種症狀之改善；向具有疾病或病狀之個體提供有益作用，而未必治癒該疾病或病狀，或預防與疾病或病狀相關之一或多種症狀。在一個實施例中，術語「治療」意謂藉由施用本發明之嵌合分子在個體中維持FVIII穀底含量為至少約1 IU/dL、2 IU/dL、3 IU/dL、4 IU/dL、5 IU/dL、6 IU/dL、7 IU/dL、8 IU/dL、9 IU/dL、10 IU/dL、11 IU/dL、12 IU/dL、13 IU/dL、14 IU/dL、15 IU/dL、16 IU/dL、17 IU/dL、18 IU/dL、19 IU/dL或20 IU/dL。在另一實施例中，治療意謂維持FVIII穀底含量介於約1至約20 IU/dL、約2至約20 IU/dL、約3至約20 IU/dL、約4至約20 IU/dL、約5至約20 IU/dL、約6至約20 IU/dL、約7至約20 IU/dL、約8至約20 IU/dL、約9至約20 IU/dL、或約10至約20 IU/dL。疾病或病狀之治療亦可包括將個體中FVIII活性維持在相當於非血友病個體中至少約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%之FVIII活性的程度。治療所需之最低谷底含量可藉由一或多種已知方法量測且可針對每個人進行調節(增加或減少)。

## II. 嵌合分子

[0082] 本發明之嵌合分子經設計以改進VWF蛋白或FVIII蛋白自該VWF蛋白或FVIII蛋白所融合之另一部分的釋放。本發明提供可在損傷部位快速且有效裂解之凝血酶可裂解連接子。在本發明之一個態樣中，嵌合分子可包含溫韋伯氏因子(VWF)蛋白、異源部分(H1)、XTEN序列及連接該VWF蛋白與該異源部分之VWF連接子，其中該VWF連接子包含選自以下之多肽：(i)來自因子VIII (FVIII)之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合，且其中該XTEN序列連接至該VWF蛋白、該異源部分(H1)、該VWF連接子或其任何組合。在本發明之另一態樣中，嵌合分子可包括包含VWF蛋白、異源部分(H1)及連接該VWF蛋白與該異源部分(H1)之VWF連接子之第一多肽鏈及包含FVIII蛋白及XTEN序列之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈中之該VWF連接子包含：(i)來自FVIII之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合，且其中該第一多肽鏈與該第二多肽鏈彼此締合。

[0083] 在本發明之其他態樣中，嵌合分子包含包括經由FVIII連接子與異源部分融合之FVIII蛋白之多肽鏈，其中該FVIII連接子包含：(i)來自FVIII之a2區域；(ii)來自



FVIII之 a1 區域；(iii)來自 FVIII 之 a3 區域；(iv)包含 X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元，其中 X 為脂族胺基酸；或(v)其任何組合。

## II.A. 具有 VWF、XTEN、VWF 連接子之嵌合分子

[0084] 本發明提供包含經由 VWF 連接子與 XTEN 序列融合之 VWF 蛋白之嵌合分子，其中該 VWF 連接子包含選自以下之多肽：(i)來自 FVIII 之 a2 區域；(ii)來自 FVIII 之 a1 區域；(iii)來自 FVIII 之 a3 區域；(iv)包含 X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元，其中 X 為脂族胺基酸；或(v)其任何組合。

[0085] 在一個實施例中，嵌合分子包含 VWF 蛋白、異源部分(H1)、XTEN 序列，及連接該 VWF 蛋白與該異源部分之 VWF 連接子，其中該 XTEN 序列位於該 VWF 蛋白與該 VWF 連接子之間且其中該 VWF 連接子包含選自以下之多肽：(i)來自因子 VIII (FVIII)之 a2 區域；(ii)來自 FVIII 之 a1 區域；(iii)來自 FVIII 之 a3 區域；(iv)包含 X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元，其中 X 為脂族胺基酸；或(v)其任何組合。在另一實施例中，嵌合分子包含 VWF 蛋白、異源部分(H1)、XTEN 序列，及連接該 VWF 蛋白與該異源部分之 VWF 連接子，其中該 XTEN 序列位於該 VWF 連接子與該異源部分之間且其中該 VWF 連接子包含選自以下之多肽：(i)來自 FVIII 之 a2 區域；(ii)來自 FVIII 之 a1 區域；(iii)來自 FVIII 之 a3 區域；(iv)

包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合。

[0086] 在其他實施例中，嵌合分子進一步包含包括FVIII蛋白之多肽鏈，其中包含VWF蛋白之第一個鏈及包含FVIII蛋白之第二個鏈彼此締合。在一個實例中，締合可為共價(例如，二硫鍵)締合。在其他實施例中，包含FVIII蛋白之多肽鏈進一步包含另一XTEN序列。該另一XTEN序列可連接至FVIII蛋白之N端或C端或者插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間。在其他實施例中，包含FVIII蛋白之鏈進一步包含第二異源部分(H2)。在一些實施例中，FVIII蛋白經由FVIII連接子與第二異源部分融合。在某些實施例中，FVIII連接子與連接VWF蛋白與異源部分之VWF連接子相同。在其他實施例中，FVIII連接子與連接VWF蛋白與異源部分之VWF連接子不同。

[0087] 在某些實施例中，嵌合分子包含選自以下之式：(i) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C；(ii) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C；(iii) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C；(iv) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C；(v) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2)；(vi) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2)；(vii) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V；(viii) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V；(ix) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(x) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(xi) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V；或(xii) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V；其中V為VWF蛋白；L1為VWF連接子；L2為視情況選用之



FVIII連接子；H1為第一異源部分；H2為第二異源部分；X1為XTEN序列；X2為視情況選用之XTEN序列；C為FVIII蛋白；C(X2)為與XTEN序列融合之FVIII蛋白，其中該XTEN序列插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間；(-)為肽鍵或一或多個胺基酸；以及(:)為H1與H2之間的共價鍵。

[0088] 在一些實施例中，嵌合分子中之FVIII蛋白包含第三異源部分(H3)，其可為XTEN序列。在其他實施例中，嵌合分子中之FVIII蛋白包含第四異源部分(H4)，其可為XTEN序列。在其他實施例中，嵌合分子中之FVIII蛋白包含第五異源部分(H5)，其可為XTEN序列。在其他實施例中，嵌合分子中之FVIII蛋白包含第六異源部分(H6)，其可為XTEN序列。在某些實施例中，第三異源部分(H3)、第四異源部分(H4)、第五異源部分(H5)及第六異源部分(H6)中之一或多者能夠延長嵌合分子之半衰期。在一些實施例中，第三異源部分(H3)、第四異源部分(H4)、第五異源部分(H5)及第六異源部分(H6)連接至FVIII之C端或N端或者插入FVIII蛋白之兩個胺基酸之間。

## II.B. 具有 FVIII、XTEN、VWF 蛋白、VWF 連接子之嵌合分子

[0089] 本發明亦提供一種嵌合分子，其包括包含VWF蛋白、異源部分(H1)及連接該VWF蛋白與該異源部分(H1)之VWF連接子之第一多肽鏈及包含FVIII蛋白及XTEN

序列之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈中之該VWF連接子包含：(i)來自FVIII之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合，且其中該第一多肽鏈與該第二多肽鏈彼此締合。在一個實施例中，其中該XTEN序列連接至FVIII蛋白之N端或C端或者插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間。在另一實施例中，該嵌合分子進一步包含另一XTEN序列，其連接至該VWF蛋白、該異源部分、該VWF連接子或其任何組合。在其他實施例中，該嵌合分子進一步包含第二異源部分(H2)。在其他實施例中，該嵌合分子之該第二異源部分連接至FVIII蛋白、XTEN序列，或兩者。在其他實施例中，該第二異源部分經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白或XTEN序列。在其他實施例中，FVIII連接子與VWF連接子相同。在一些實施例中，FVIII連接子與VWF連接子不同。

[0090] 在某些實施例中，嵌合分子包含選自以下之式：(i) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C；(ii) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C；(iii) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C；(iv) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C；(v) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2)；(vi) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2)；(vii) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V；(viii) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V；(ix) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(x) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V；(xi) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V；或(xii) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V；其中



V 為 VWF 蛋白；L1 為 VWF 連接子；L2 為視情況選用之 FVIII 連接子；H1 為第一異源部分；H2 為第二異源部分；X1 為視情況選用之 XTEN 序列；X2 為 XTEN 序列；C 為 FVIII 蛋白；C(X2) 為與 XTEN 序列融合之 FVIII 蛋白，其中該 XTEN 序列插入彼此相鄰之兩個 FVIII 胺基酸之間；(-) 為肽鍵或一或多個胺基酸；以及 (:) 為 H1 與 H2 之間的共價鍵。在一個實施例中，VWF 連接子與 FVIII 連接子可相同。在另一實施例中，VWF 連接子與 FVIII 連接子不同。

[0091] 在某些實施例中，嵌合分子之 FVIII 蛋白包含第三異源部分 (H3)，其可為 XTEN 序列。在其他實施例中，嵌合分子之 FVIII 蛋白包含第四異源部分 (H4)，其為 XTEN 序列。在其他實施例中，嵌合分子之 FVIII 蛋白包含第五異源部分 (H5)，其可為 XTEN 序列。在其他實施例中，FVIII 蛋白包含第六異源部分 (H6)，其可為 XTEN 序列。在某些實施例中，第三異源部分 (H3)、第四異源部分 (H4)、第五異源部分 (H5) 及第六異源部分 (H6) 中之一或多者能夠延長嵌合分子之半衰期。在一些實施例中，第三異源部分 (H3)、第四異源部分 (H4)、第五異源部分 (H5) 及 / 或第六異源部分 (H6) 連接至 FVIII 之 C 端或 N 端或者插入 FVIII 蛋白之兩個胺基酸之間。

## II.C. 具有 FVIII、XTEN 及 FVIII 連接子之嵌合分子

[0092] 本發明之嵌合分子可包含 FVIII 蛋白、XTEN 序列、及藉由 FVIII 連接子融合之異源部分，該 FVIII 連接子

包含 (i) 來自 FVIII 之 a2 區域；(ii) 來自 FVIII 之 a1 區域；(iii) 來自 FVIII 之 a3 區域；(iv) 包含 X-V-P-R (SEQ ID NO: 3) 之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元，其中 X 為脂族胺基酸；或 (v) 其任何組合。在某些實施例中，嵌合分子包含兩個多肽鏈，第一個鏈包含經由 FVIII 連接子與第一 Fc 區融合之 FVIII 蛋白，且第二個鏈包含與 Fc 區融合之 VWF 蛋白 (例如，VWF 之 D' 結構域及 D3 結構域)，其中該第一多肽鏈中之該 FVIII 連接子包含：(i) 來自 FVIII 之 a2 區域；(ii) 來自 FVIII 之 a1 區域；(iii) 來自 FVIII 之 a3 區域；(iv) 包含 X-V-P-R (SEQ ID NO: 3) 之凝血酶裂解位點及 PAR1 外位點相互作用基元，其中 X 為脂族胺基酸；或 (v) 其任何組合，且其中該第一多肽鏈與該第二多肽鏈彼此締合且其中 XTEN 序列連接至第一多肽 (例如，FVIII 蛋白之 N 端或 C 端、連接子或第一 Fc 區或 FVIII 蛋白內部)、第二多肽 (例如，VWF 蛋白之 N 端或 C 端或 Fc 區或 FVIII 蛋白內部)，或兩者。在一特定實施例中，第一多肽鏈中之連接子包含來自 FVIII 之 a2 區域。

[0093] 在某些實施例中，嵌合分子包含選自以下之式：(i) V-L2-X2-H2:H1-L1-X1-C；(ii) V-X2-L2-H2:H1-L1-X1-C；(iii) V-L2-X2-H2:H1-X1-L1-C；(iv) V-X2-L2-H2:H1-X1-L1-C；(v) V-L2-X2-H2:H1-L1-C(X1)；(vi) V-X2-L2-H2:H1-L1-C(X1)；(vii) C-X1-L1-H1:H2-X2-L2-V；(viii) C-X1-L1-H1:H2-L2-X2-V；(ix) C-L1-X1-H1:H2-L2-X2-V；(x) C-L1-X1-H1:H2-L2-X2-V；(xi) C(X1)-L1-



H1:H2-X2-L2-V；或(xii) C(X1)-L1-H1:H2-L2-X2-V，其中V為VWF蛋白；L1為FVIII連接子；L2為視情況選用之VWF連接子；H1為第一異源部分；H2為第二異源部分；X1為視情況選用之XTEN序列；X2為視情況選用之XTEN序列；C為FVIII蛋白；C(X1)為與XTEN序列融合之FVIII蛋白，其中該XTEN序列插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間；(-)為肽鍵或一或多個胺基酸；以及(:)為H1與H2之間的共價鍵，且其中至少一個XTEN序列存在於嵌合分子中。在一個實施例中，VWF連接子與FVIII連接子相同。在另一實施例中，VWF連接子與FVIII連接子不同。

## II.D. 嵌合分子之組分

### II.C.1. VWF連接子或FVIII連接子

[0094] 可用於本發明之嵌合分子之VWF連接子或FVIII連接子為融合VWF蛋白與異源部分或者融合FVIII蛋白與異源部分之凝血酶可裂解連接子。在一個實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含FVIII之a1區域。在另一實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含FVIII之a2區域。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含FVIII之a3區域。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含包括X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸。

[0095] 在一個實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a1區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之Met337至

Arg372具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a1區域能夠由凝血酶裂解。在另一實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a1區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之胺基酸337至374具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a1區域能夠由凝血酶裂解。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子進一步包含其他胺基酸，例如，一個、兩個、三個、四個、五個、十個或更多個。在一特定實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含 ISMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNDDNSPSFI QIRSV (SEQ ID NO: 5)。

[0096] 在一些實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a2區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之Glu720至Arg740具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a2區域能夠由凝血酶裂解。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a2區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之胺基酸712至743具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子進一步包含其他胺基酸，例如，一個、兩個、三個、四個、五個、十個或更多個。在一特定實施例中，VWF連接子包含 ISDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNN AIEPRSFS



(SEQ ID NO: 4)。

[0097] 在某些實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a3區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之Glu1649至Arg1689具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a3區域能夠由凝血酶裂解。在一些實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含a3區域，其包含與對應於全長成熟FVIII之胺基酸1649至1692具至少約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或100%一致性的胺基酸序列，其中該a3區域能夠由凝血酶裂解。在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子進一步包含其他胺基酸，例如，一個、兩個、三個、四個、五個、十個或更多個。在一特定實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含 ISEITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKE DFDIYDEDENQSPRSFQ (SEQ ID NO: 6)。

[0098] 在其他實施例中，VWF連接子或FVIII連接子包含包括X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元且其中該PAR1外位點相互作用基元包含S-F-L-L-R-N (SEQ ID NO: 7)。在一些實施例中，PAR1外位點相互作用基元進一步包含選自以下之胺基酸序列：P、P-N、P-N-D、P-N-D-K (SEQ ID NO: 8)、P-N-D-K-Y (SEQ ID NO: 9)、P-N-D-K-Y-E (SEQ ID NO: 10)、P-N-D-K-Y-E-P (SEQ ID NO: 11)、P-N-D-K-Y-E-P-F (SEQ ID NO: 12)、P-N-D-K-Y-E-P-F-W (SEQ ID NO: 13)

、 P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E (SEQ ID NO: 14)、 P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D (SEQ ID NO: 20)、 P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E (SEQ ID NO: 21)、 P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E (SEQ ID NO: 22)、 P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E-S (SEQ ID NO: 23)或其任何組合。在其他實施例中，包含 X-V-P-R之凝血酶裂解位點之脂族胺基酸係選自甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸或異白胺酸。在一特定實施例中，凝血酶裂解位點包含 L-V-P-R。在一些實施例中，若用凝血酶裂解位點 (L-V-P-R) 分別替代 VWF 連接子或 FVIII 連接子 (亦即，不存在 PAR1 外位點相互作用基元)，則凝血酶裂解 VWF 連接子或 FVIII 連接子之速率比凝血酶將裂解凝血酶裂解位點 (例如，L-V-P-R) 之速率快。在一些實施例中，若用凝血酶裂解位點 (例如，L-V-P-R) 替代 VWF 連接子或 FVIII 連接子，則凝血酶裂解 VWF 連接子或 FVIII 連接子之速率為凝血酶將裂解凝血酶裂解位點 (例如，L-V-P-R) 之速率的至少約 10 倍、至少約 20 倍、至少約 30 倍、至少約 40 倍、至少約 50 倍、至少約 60 倍、至少約 70 倍、至少約 80 倍、至少約 90 倍或至少約 100 倍。

[0099] 在一些實施例中，包含 (i) a1 區域、(ii) a2 區域、(iii) a3 區域或 (iv) 凝血酶裂解位點 X-V-P-R 及 PAR1 外位點相互作用基元之 VWF 連接子或 FVIII 連接子進一步包含一或多個具有至少約 2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、300、350



、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1200、1400、1600、1800或2000個胺基酸之長度的胺基酸。在一個實施例中，該一或多個胺基酸包含gly肽。在另一實施例中，該一或多個胺基酸包含GlyGly。在其他實施例中，該一或多個胺基酸包含IleSer。在其他實施例中，該一或多個胺基酸包含gly/ser肽。在其他實施例中，該一或多個胺基酸包含具有(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>n</sub>或S(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>n</sub>之式的gly/ser肽，其中n為選自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80或100之正整數。在一些實施例中，該一或多個胺基酸包含(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 89)或(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub> (SEQ ID NO: 90)。

## II.C.2. VWF蛋白

[0100] VWF(亦稱為F8VWF)為存在於血漿中且在內皮(在Weibel-Palade小體中)、巨核細胞(血小板之 $\alpha$ -顆粒)及內皮下層結締組織中組成性產生的大型多聚糖蛋白。基本VWF單體為具2813個胺基酸之蛋白質。每個單體包含多個具有特定功能之特定結構域，D'/D3結構域(其結合於因子VIII)、A1結構域(其結合於血小板GPIb-受體、肝素及/或可能地膠原蛋白)、A3結構域(其結合於膠原蛋白)、C1結構域(其中RGD結構域當其經活化時結合於血小板整合素 $\alpha$ IIb $\beta$ 3)，及在蛋白質之C端之「半胱胺酸結」結構域(該VWF與血小板衍生生長因子(PDGF)、轉化生長因子- $\beta$

(TGF $\beta$ )及 $\beta$ -人類絨毛膜促性腺激素( $\beta$ HCG)共用))。

[0101] 如本文所用之術語「VWF蛋白」包括(但不限於)包含D'結構域及D3結構域之全長VWF蛋白或功能性VWF片段，其能夠抑制內源性VWF與FVIII之結合。在一個實施例中，VWF蛋白結合於FVIII。在另一實施例中，VWF蛋白阻斷FVIII上之VWF結合位點，從而抑制FVIII與內源性VWF之相互作用。在其他實施例中，VWF蛋白未藉由VWF清除路徑清除。VWF蛋白包括保留VWF之此等活性之衍生物、變異體、突變體或類似物。

[0102] 人類VWF之2813單體胺基酸序列在Genbank中報導為寄存編號\_NP\_000543.2\_\_。編碼人類VWF之核苷酸序列在Genbank中報導為寄存編號\_\_NM\_000552.3\_。人類VWF之核苷酸序列指定為SEQ ID NO: 1。SEQ ID NO: 2為由SEQ ID NO: 1編碼之胺基酸序列。VWF之各結構域列於表1中。



表 1. VWF 序列

VWF 結構域	胺基酸序列		
VWF 信號肽 (SEQ ID NO:2 之胺基酸 1 至22)	1	<u>MIPARFAGVL LALALILPGT LC</u>	22
VWF D1D2 區域 (SEQ ID NO:2 之胺基酸 23 至763)	23	AEGTRGRS STARCSLFGS	
		DFVNTFDGSM	
	51	YSEAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE	
		FFDIHLFVNG	
	101	TVTQGDQKRS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI	
		DGSGNFQVLL	
	151	SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDEMTQEGTL TSDPYDFANS	
		WALSSGEQWC	
	201	ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL	
		VDPEPFVALC	
	251	EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTDBSA	
		CSEVCPAGME	
	301	YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG	
		LCVESTPCPC	
	351	VHSGKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV	
		TGQSHFKSFD	
	401	NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIETV QCADDRDAVC	
		TRSVTVRLPG	
	451	LHNSLVKCLKH GAGVAMDGQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV	
		RLSYGEDLQM	
	501	DWDGRGRLLV KLSFVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTSPG	
		LAEPRVEDFG	
	551	NAWKLHGDCQ DLQKQHSDEP ALNPRMTRFS EEACAVLTSP	
		TFEACHRAVS	
	601	FLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV	
		AWREPGRCEL	
	651	NCPKQVYIQ CGTPCNLTGR SLSYPDEECN EACLEGCFCP	
		PGLYMDERGD	
	701	CVEKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDBHTMICY CEDGFMHCTM	
		SGVEGSLLPD	
	751	AVLSSPLSHR SKR	763

VWF D' 結構域	764	<u>SLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK</u>		
		<u>TCQNYDLECM</u>		
	801	<u>SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HOGKEYAPGE</u>		
	851	<u>TVKIGCNTCV</u> <u>CRDRKWNCTD HVCDAT</u>	866	
VWF D3 結構域	867	<u>CSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGEQ</u>		
		<u>YVLVQDYCGS</u>		
	901	<u>NPGETFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVITLVE GGEIELFDGE</u> <u>VNVKRPMKDE</u>		
	951	<u>THFEVVESEGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE</u> <u>KVCGLCGNED</u>		
	1001	<u>GIONNDLTSS NLQVEEDFVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD</u> <u>SSEATCHNNI</u>		
	1051	<u>MKQTMVDSSC RILTSDFVQD CNKLYDPEFY LDVCIYDICS</u> <u>CESIGDCACF</u>		
	1101	<u>CDTIAAYAHV CAQHGKVVIV RTATLCPQSC EERNLRENGY</u> <u>ECEWRYNSCA</u>		
	1151	<u>PACQVTCQHP EPLACPVCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC</u> <u>VDFEDCPVCE</u>		
	1201	<u>VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACOEP</u>		
	1240			
	VWF A1 結構域	1241	<u>GGLVVPPTDA</u>	
		1251	<u>PVSPTLYVE DISEPPLHDF YCSRLLDLVF LLDGSSRLSE</u> <u>AEFEVLKAFV</u>	
		1301	<u>VMMERLRIS QKWVRVAVVE YHDGSHAYIG LKDRKRPESEL</u> <u>RRIASQVKYA</u>	
1351		<u>GSQVASTSEV LKYTLFQIFS KIDRPEASRI ALLLMASOEP</u> <u>QRMSRNFVRY</u>		
1401		<u>VQGLKKKKVI VIPVGIGPHA NLKQIRLIEK QAPENKAFVL</u> <u>SSVDELEQQR</u>		
1451		<u>DEIVSYLCDL APEAPPPTLP PDMAQVIVG</u>	1479	
	1480	<u>P GLLGVSTLGP KRNSMVLQVA</u>		
	1501	<u>FVLEGS DKIG EADFNRSKEF MEEVIQRM DV GDSDIHVTIVL</u> <u>QYSYMTIVEY</u>		
	1551	<u>PFSEAQSKGD ILQVRREIRY QGGNRTNTGL ALRYLSDHSF</u> <u>LVSQGDREQA</u>	1600	
	1601	<u>PNLVYMTIGN PASDEIKRLEP GDIQVVP IGV GPNANVQELE</u> <u>RIGWPNAPIL</u>		
	1651	<u>IQDFETLPRE APDLVLQRC C SGEGLOIPTL SPAPDCSQPL</u> <u>DVILLLDGSS</u>		
	1701	<u>SFPASYFDEM KSEFAKAFISK ANIGPRLTQV SVLOYGSITT</u> <u>IDVPWNVVPE</u>		
	1751	<u>KAHLLSLVDV MQREGGPSQI GDALGEAVRY LTSEMHGARP</u> <u>GASKAVVILV</u>		
	1801	<u>TDVSVDSVDA AADAARSNRV TVFPIGIGDR YDAAQLRILA</u> <u>GPAGDSNVVK</u>		
	1851	<u>LQRIEDLPTM VTLGNSELHK LCSGFVRCM DEDGNEKRP G</u> <u>DVWTLPDQCH</u>		
	1901	<u>TVTCQPDGQT LLKSHRVNCD RGLRPSCPNS QSPVKVEETC</u> <u>GCRWICPCVC</u>		
	1951	<u>TGSSTRHIVI FDGQNFKLTG SCSYVLFQNK EQDLEVILHN</u> <u>GACSPGARQG</u>		
	2001	<u>CMKSIEVKHS ALSVEXHSDM EVTIVNGRLVS VPYVGGNMEV</u> <u>NVYGAIMHEV</u>		



	2051	RFNHLGHIFT FIPQNEFQL QLSPKIFASK TYGLCGICDE NGANDEMLRD
	2101	GTVTTDWKTLL VQEWTVQRPQ OTCQFILEEQ CLVPDSSHCO VLLLPLFAEC
	2151	HKVLAPATFY AICQQDSCHQ EQVCEVIASY AHLCRTNGVC VDWRTPDFCA
	2201	MSCPPSLVYN HCEHGCPRHG DGNVSSCGDH PSEGCECPED KVMLEGSCVP
	2251	EEACTQCIGE DGVQHQFLEA WVPDHQPCQI CTCLSGRKVN CTTQPCPTAK
	2301	APTGLCEVA RLRQADQCC PEYECVDFV SCDLPPVPHC ERGLQPTLN
	2351	PGECRPNFTC ACRKEECKRV SPPSCPPHRL PTLRKTQCCD EYECACNCVN
	2401	STVSCPLGYL ASTATNDCGC TTTTCLPKV CVHRSTIYPV GQFWEEGCDV
	2451	CTCIDMEDAV MGLRVAQCSQ KPCEDSCRSG FTIYVLHEGEC CGRCLPSACE
	2501	VVTGSPRGDS QSSWKSQVGSQ WASPENPCLI NECVRVKEEV FIQQRNVSCP
	2551	QLEVPVCPSP FQLSCKTSAC CPSCRCERME ACMLNGTVIG PGKTVMIDVC
	2601	TTCRCMVQVG VISGFKLECR KTTCNPCPLG YKEENNTIGEC CGRCLPTACT
	2651	IQLRGGQIMT LKRDETLQDG CDTHFCKVNE RGEYFWEKRV TGCPFFDEHK
	2701	CLAEGGKIMK IPGTCCDICE EPECNDITAR LOYVKVGSK SEVEVDIHYC
	2751	OGKCASKAMY SIDINDVODQ CSCCSPTRTE PMQVALHCTN GSVYHEVLN
	2801	AMECKSPRK CSK
	核苷酸序列(SEQ ID NO: 1)	
全長VWF	1	ATGATTCTG CCAGATTTC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCTCATTI
	51	GCCAGGGACC CTTTGTGAG AAGGAACICG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
	101	GATGCAGCCT TTTCCGAAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
	151	TACAGCTTTG CGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
	201	ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
	251	TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTTTGACA TCCATTGTG TGCATGGT
	301	ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTAIG CCTCCAAAGG
	351	GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGIGAGGCCT
	401	ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
	451	TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
	501	CTTTGCTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
	551	CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT

601	GAACGGGCAT CTCCTCCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
651	GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCIGAAGAGC ACCTCGGTGT
701	TTGCCCGCTG CCACCCCTCTG GTGGACCCCG AGCCITTTGT GGCCCTGTGT
751	GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGGC CCTGCCCTGC
801	CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAATG GTGCTGTACG
851	GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
901	TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCIGCCAGA GCCTGCACAT
951	CAATGAAATG TGTCAGGAGC GATGCGTGGA TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
1001	GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC
1051	GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCITCCCTCT CTCGAGACTG
1101	CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
1151	GTCCAGGGGA GTGCCCTGTG ACTGGTCAAT CCCCTTCAA GAGCTTTGAC
1201	AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA
1251	TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTGAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
1301	ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCTGGC
1351	CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACIGAAGCAT GGGGCAGGAG TIGCCATGGA
1401	TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCTTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
1451	ATACAGTGAC GGCCITCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
1501	GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
1551	CGGGAAGACC TGCGGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG
1601	ACTTCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCRGAGC CCCGGGTGGG GGAATTCGGG
1651	AACGCCITGA AGCTGCACGG GGACTGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG
1701	CGATCCCIGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCTCC GAGGAGGCGT
1751	GCGCGGTCCCT GACGTCCCCC ACATTGAGG CCTGCCATCG TGCCGTGAGC
1801	CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA
1851	CGGCCCGAG TGCCGTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGGC
1901	CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG
1951	AACTGCCCGA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TCCGGGACCC CCTGCAACCT
2001	GACCTGCCGC TCTCTCTTT ACCCGGATGA



	GGAATGCAAT GAGGCCTGCC
2051	TGGAGGGCTG CTTCGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC
2101	TGCGTGCCCA AGGCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA
2151	GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG
2201	GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC
2251	GCTGTCCCTCA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAGGA GCCTATCTTG
2301	TCGGCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG
2351	AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG
2401	AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCCTCTGC CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA
2451	TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA
2501	AGGAGTATGC CCTTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC
2551	TGTCGGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG
2601	CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTCGACGGG CTCAAATACC
2651	TGTTCCCCGG GGAGTGGCCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT
2701	AACCCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC
2751	CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA
2801	TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG
2851	ACTCACTTTG AGGTGGTGGG GTCTGSCCGG TACATCATTG TGCTGCTGGG
2901	CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC
2951	TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCGTGTGTG GAATTTTGAT
3001	GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA
3051	CCTGTGGAC TTTGGAACT CCTGGAAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA
3101	CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC
3151	ATGAAGCAGA CGATGGTGGG TTCCCTCTGT AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201	CTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251	GCATTTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCTGCTTC
3301	TGCGACACCA TTGCTGCTTA TGCCCACGTG TGTGCCAGC ATGGCAAGGT
3351	GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401	ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGTGTGAGT GGCGCTATAA CAGCTGTGCA

3451	CCTGCCTGTC AAGTCAGTG TCAGCACCT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501	GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCACTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551	ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCCTG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG
3601	GTGGCTGGCC GCGTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTCACCT TGAATCCCAG
3651	TGACCCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTTGTC AACCTCACCT
3701	GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG GGAGGCCTGG TGGTGCCCTC CACAGATGCC
3751	CCGGTGAGCC CCACCACTCT GTATGTGGAG GACATCTCGG AACCGCCGT
3801	GCACGATTTC TACTGCAGCA GGCTACTGGA CCTGGTCTTC CTGCTGGATG
3851	GCTCCTCCAG GCTGTCCGAG GCTGAGTTTG AAGTGCTGAA GGCCTTTGTG
3901	GTGGACATGA TGGAGCGGCT GCGCATCTCC CAGAAGTGGG TCCGCGTGGC
3951	CGTGGTGGAG TACCAGGACG GCTCCCACGC CTACATCGGG CTCAAGGACC
4001	GGAAGCGACC GTCAGAGCTG CGGCGCATTG CCAGCCAGGT GAAGTATGCG
4051	GGCAGCCAGG TGGCCTCCAC CAGCGAGGTC TTGAAATACA CACTGTTCCA
4101	AATCTTCAGC AAGATCGACC GCCCTGAAGC CTCCCGCATC GCCCTGCTCC
4151	TGATGGCCAG CCAGGAGCCC CAACGGATGT CCCGGAACTT TGTCCGCTAC
4201	GTCCAGGGCC TGAAGAAGAA GAAGGTCATT GTGATCCCGG TGGGCATTGG
4251	GCCCCATGCC AACCTCAAGC AGATCCGCCT CATCGAGAAG CAGGCCCTG
4301	AGAACAAGGC CTTCGTGCTG AGCAGTGTGG ATGAGCTGGA GCAGCAAAGG
4351	GACGAGATCG TTAGCTACCT CTGTGACCTT GCCCTGAAG CCCCTCCTCC
4401	TACTCTGCCC CCCGACATGG CACAAGTCAC TGTGGGCCCG GGGCTCTTGG
4451	GGGTTTCGAC CCTGGGGCCC AAGAGGAACT CCATGGTTCT GGATGTGGCG
4501	TTCGTCCCTGG AAGSATCGGA CAAAATTGGT GAAGCCGACT TCAACAGGAG
4551	CAAGGAGTTC ATGGAGGAGG TGATTCAGCG GATGGATGTG GGCCAGGACA
4601	GCAATCCAGT CACGGTGCTG CAGTACTCCT ACATGGTGTG CGTGGAGTAC
4651	CCCTTCAGCG AGGCACAGTC CAAAGGGGAC ATCCTGCAGC GGGTGGGAGA
4701	GATCCGCTAC CAGGGCGGCA ACAGGACCAA CACTGGGCTG GCCCTGCGGT
4751	ACCTCTCTGA CCACAGCTTC TTGGTCAGCC AGGGTGACCG GGAGCAGGCG
4801	CCCAACCTGG TCTACATGGT CACCGGAAT CCTGCCTCTG ATGAGATCAA
4851	GAGGCTGCCT GGAGACATCC AGGTGGTGGC



	CATTGGAGTG GGCCCTAATG
4901	CCAACGTGCA GGAGCTGGAG AGGATTGGCT GGCCCAATGC CCCTAICCTC
4951	ATCCAGGACT TTGAGACGCT CCCCCGAGAG GCTCCTGACC TGGTGTGCA
5001	GAGGTGTGTC TCCGGAGAGG GGCTGCAGAT CCCCACCCTC TCCCCTGCAC
5051	CTGACTGCAG CCAGCCCCIG GACGTGATCC TTCTCCTGGA TGGCTCCTCC
5101	AGTTTCCAG CTICTTATTT TGATGAAATG AAGAGTTTCG CCAAGCCTTT
5151	CATTTCAAAA GCCAATATAG GGCCTCGTCT CACTCAGGTG TCAGTGTGTC
5201	AGTATGGAAG CATCACCACC ATTGACGTGC CATGGAACGT GGTCCCGGAG
5251	AAAGCCCATT TGCTGAGCCT TGTGGACGTC ATGCAGCGGG AGGGAGGCC
5301	CAGCCAAATC GGGGATGCCT TGGGCTTTGC TGTGCGATAC TTGACTTCAG
5351	AAATGCAATG TGCCAGGCCG GGAGCCTCAA AGGCGGTGGT CATCCTGGTC
5401	ACGGACGTCT CIGTGGATTC AGTGGATGCA GCAGCTGATG CCGCCAGGTC
5451	CAACAGAGTG ACAGTGTTC CTATTGGAAT TGGAGATCGC TACGATGCAG
5501	CCCAGCTACG GATCTTGGA GGGCCAGCAG GCGACTCAA CGTGGTGAAG
5551	CTCCAGCGAA TCGAAGACCT CCCTACCATG GTCACCTTGG GCAATTCCTT
5601	CCTCCACAAA CTGTGCTCTG GATTTGTTAG GATTTGCAIG GATGAGGATG
5651	GGAATGAGAA GAGGCCCGGG GACGICTGGA CCTTGCCAGA CCAGTGCCAC
5701	ACCGTACTT GCCAGCCAGA TGGCCAGACC TTGCTGAAGA GTCATCGGGT
5751	CAACTGTGAC CGGGGGCTGA GGCCTTCGTG CCCTAACAGC CAGTCCCCTG
5801	TTAAAGTGA AGAGACCTGT GGCTGCCGCT GGACCTGCCC CTGYGTGTGC
5851	ACAGGCAGCT CCACTCGGCA CATCGTGACC TTTGATGGGC AGAATTTCAA
5901	GCTGACTGGC AGCTGTTCIT ATGTCCTATT TCAAACAAG GAGCAGGACC
5951	TGGAGGTGAT TCTCCATAAT GGTGCCTGCA GCCCTGGAGC AAGGCAGGGC
6001	TGCATGAAAT CCATCGAGGT GAAGCACAGT GCCCTCICCG TCGAGSTGCA
6051	CAGTGACATG GAGGTGACGG TGAATGGGAG ACTGGTCTCT GTTCCTTACG
6101	TGGGTGGGAA CATGGAAGTC AACGTTTATG GTGCCATCAT GCATGAGGTC
6151	AGATTCAATC ACCTTGGTCA CATCTTACA TTCACTCCAC AAAACAATGA
6201	GTTCCAAC TG CAGCTCAGCC CCAAGACTTT TGCTTCAAAG ACGTATGGTC
6251	TGTGTGGGAT CTGTGATGAG AACGGAGCCA ATGACTTCAT GCTGAGGGAT

6301	GGCACAGTCA CCACAGACTG GAAAACACTT GTTCAGGAAT GACTGTGCA
6351	GCGGCCAGGG CAGACGTGCC AGCCCATCCT GGAGGAGCAG TGTCTTGICC
6401	CCGACAGCTC CCACTGCCAG GTCCTCCTCT TACCACTGTT TGCTGAAIGC
6451	CACAAGGTCC TGGCTCCAGC CACATTCTAT GCCATCTGCC AGCAGGACAG
6501	TTGCCACCAG GAGCAAGTGT GTGAGGTGAT CGCCTCTTAT GCCCACCICT
6551	GTCGGACCAA CGGGGTCTGC GTTGACTGGA GGACACCTGA TTTCTGTGCT
6601	ATGTCATGCC CACCATCTCT GGTCTACAAC CACTGTGAGC ATGGCTGICC
6651	CCGGCACTGT GATGGCAACG TGAGCTCCTG TGGGGACCAT CCCICCGAAG
6701	GCTGTTTCTG CCCICCAGAT AAAGTCATGT TGGAAGGCAG CTGTGTCCCT
6751	GAAGAGGCCT GCACTCAGTG CATTGGTGAG GATGGAGTCC AGCACCAGTT
6801	CCTGGAAGCC TGGGICCCGG ACCACCAGCC CTGTCAGATC TGCACATGCC
6851	TCAGCGGGCG GAAGGTCAAC TGCACAACGC AGCCCTGCCC CACGGCCAAA
6901	GCTCCCACGT GTGGCCTGTG TGAAGTAGCC CGCCTCCGCC AGAATGCAGA
6951	CCAGTGCTGC CCCGAGTATG AGTGTGTGTG TGACCCAGTG AGCTGTGACC
7001	TGCCCCCAGT GCCTCACTGT GAACGTGGCC TCCAGCCCAC ACTGACCAAC
7051	CCTGGCGAGT GCAGACCCAA CTTACCTTGC GCCTGCAGGA AGGAGGAGTG
7101	CAAAAGAGTG TCCCCACCCT CCTGCCCCCC GCACCGTTTG CCCACCCITC
7151	GGAAGACCCA GTGCTGTGAT GAGTATGAGT GTGCCTGCAA CTGTGTCAAC
7201	TCCACAGTGA GCTGTCCCCT TGGGTACTTG GCCTCAACCG CCACCAATGA
7251	CTGTGGCTGT ACCACAACCA CCTGCCTTCC CGACAAGGTG TGTGTCCACC
7301	GAAGCACCAT CTACCCTGTG GGCCAGTTCT GGGAGGAGGG CTGCGATGTG
7351	TGCACCTGCA CCGACATGGA GGATGCCGTG ATGGGCCTCC GCGTGGCCCA
7401	GTGCTCCCAG AAGCCCTGTG AGGACAGCTG TCGGTCGGGC TTCACTTACG
7451	TTCTGCATGA AGCCGAGTGC TGTGGAAGGT GCCTGCCATC TGCTGTGAG
7501	GTGGTACTG GCTCACCGCG GGGGGACTCC CAGTCTTCTT GGAAGAGTGT
7551	CGGCTCCCAG TGGGCCTCCC CGGAGAACCC CTGCCTCATC AATGAGTGTG
7601	TCCGAGTGAA GGAGGAGGTC TTTATACAAC AAAGGAACGT CTCCTGCCCC
7651	CAGCTGGAGG TCCCTGTCTG CCCCTCGGGC TTTACGCTGA GCTGTAAGAC
7701	CTCAGCGTGC TGCCCAAGCT GTCGCTGTGA



	GCGCATGGAG GCCTGCAATGC
7751	TCAATGGCAC TGTCATTGGG CCCGGGAAGA
	CTGTGATGAT CGATGTGTGC
7801	ACGACCTGCC GCTGCAATGGT GCAGGTGGGG
	GTCATCTCTG GATTCAAGCT
7851	GGAGTGCAGG AAGACCACCT GCAACCCCTG
	CCCCCTGGGT TACAAGGAAG
7901	AAAATAACAC AGGIGAATGT TGTGGGAGAT
	GTTTGCCTAC GGCTTGCACC
7951	ATTCAGCTAA GAGGAGGACA GATCATGACA
	CTGAAGCGTG ATGAGACGCT
8001	CCAGGATGGC TGTGATACTC ACTTCTGCAA
	GGTCAATGAG AGAGGAGAGT
8051	ACTTCTGGGA GAAGAGGGTC ACAGGCTGCC
	CACCCTTTGA TGAACACAAG
8101	TGTCTTGCTG AGGGAGGTAA AATTATGAAA
	ATTCCAGGCA CCTGCTGTGA
8151	CACATGTGAG GAGCCTGAGT GCAACGACAT
	CAC TGCCAGG CTGCAGTATG
8201	TCAAGGTGGG AAGCTGTAAG TCTGAAGTAG
	AGGTGGATAT CCACTACTGC
8251	CAGGGCAAAT GTGCCAGCAA AGCCATGTAC
	TCCATTGACA TCAACGATGT
8301	GCAGGACCAG TGCTCCTGCT GCTCTCCGAC
	ACGGACGGAG CCCATGCAGG
8351	TGGCCCTGCA CTGCACCAAT GGCTCTGTTG
	TGTACCAATGA GGTTCCTCAAT
8401	GCCAIGGAGT GCAAATGCTC CCCAGGAAG TGCAGCAAGT
	GA

[0103] 如本文所用之VWF蛋白可包含VWF之D'結構域及D3結構域，其中該VWF蛋白結合於FVIII且抑制內源性VWF（全長VWF）與FVIII之結合。包含D'結構域及D3結構域之VWF蛋白可進一步包含選自A1結構域、A2結構域、A3結構域、D1結構域、D2結構域、D4結構域、B1結構域、B2結構域、B3結構域、C1結構域、C2結構域、CK結構域、其一或多個片段或其任何組合之VWF結構域。在一個實施例中，VWF蛋白包含以下、基本上由以下組成、或由以下組成：(1) VWF之D'及D3結構域或其片段；(2) VWF之D1、D'及D3結構域或其片段；(3) VWF之D2、D'及D3結構域或其片段；(4) VWF之D1、D2、D'及D3結構域

或其片段；或(5) VWF之D1、D2、D'、D3或A1結構域或其片段。本文所述之VWF蛋白不包含VWF清除受體結合位點。本發明之VWF蛋白可包含連接至或融合至VWF蛋白之任何其他序列。舉例而言，本文所述之VWF蛋白可進一步包含信號肽。

[0104] 在一個實施例中，VWF蛋白結合於FVIII蛋白或與FVIII蛋白締合。藉由結合於FVIII蛋白或與FVIII蛋白締合，本發明之VWF蛋白可保護FVIII免於蛋白酶裂解及FVIII活化，穩定FVIII之重鏈及輕鏈，且防止FVIII由清道夫受體清除。在另一實施例中，VWF蛋白結合於FVIII蛋白或與FVIII蛋白締合且阻斷或防止FVIII蛋白結合於磷脂及活化蛋白C。藉由防止或抑制FVIII蛋白與內源性全長VWF結合，本發明之VWF蛋白可減少FVIII由內源性VWF清除受體清除且因此延長FVIII蛋白之半衰期。FVIII蛋白之半衰期延長因此係由於FVIII蛋白與缺乏VWF清除受體結合位點之VWF蛋白之締合，且從而屏蔽及/或保護FVIII蛋白遠離包含VWF清除受體結合位點之內源性VWF。結合於VWF蛋白或由VWF蛋白保護之FVIII蛋白亦可允許FVIII蛋白之再循環。藉由消除全長VWF分子中之VWF清除路徑受體結合位點，本發明之FVIII/VWF異質二聚體經屏蔽遠離VWF清除路徑，從而進一步延長FVIII半衰期。

[0105] 在一個實施例中，本發明之VWF蛋白包含VWF之D'結構域及D3結構域，其中該D'結構域與SEQ ID NO: 2之胺基酸764至866具至少約60%、70%、80%、85%



、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該VWF蛋白防止內源性VWF結合於FVIII。在另一實施例中，VWF蛋白包含VWF之D'結構域及D3結構域，其中該D3結構域與SEQ ID NO: 2之胺基酸867至1240具至少60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該VWF蛋白防止內源性VWF結合於FVIII。在一些實施例中，本文所述之VWF蛋白包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：VWF之D'結構域及D3結構域，其與SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1240具至少60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該VWF蛋白防止內源性VWF結合於FVIII。在其他實施例中，VWF蛋白包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：D1、D2、D'及D3結構域，其與SEQ ID NO: 2之胺基酸23至1240具至少60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該VWF蛋白防止內源性VWF結合於FVIII。在其他實施例中，VWF蛋白進一步包含可與其操作性連接之信號肽。

[0106] 在一些實施例中，本發明之VWF蛋白基本上由以下組成或由以下組成：(1) D'D3結構域、D1D'D3結構域、D2D'D3結構域或D1D2D'D3結構域；及(2)至多約10個胺基酸(例如，自SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1240至SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1250的任何序列)、至多約15個胺基酸(例如，自SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1240至SEQ ID

NO: 2之胺基酸 764至 1255的任何序列)、至多約 20個胺基酸(例如, 自SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1240至SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1260的任何序列)、至多約 25個胺基酸(例如, 自SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1240至SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1265的任何序列)、或至多約 30個胺基酸(例如, 自SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1240至SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1260的任何序列)之另一VWF序列。在一特定實施例中, 包含D'結構域及D3結構域或基本上由D'結構域及D3結構域組成之VWF蛋白既非SEQ ID NO: 2之胺基酸 764至 1274, 亦非全長成熟VWF。在一些實施例中, D1D2結構域與D'D3結構域呈反式表現。在一些實施例中, D1D2結構域與D'D3結構域呈順式表現。

[0107] 在其他實施例中, 包含連接至D1D2結構域之D'D3結構域之VWF蛋白進一步包含細胞內加工位點, 例如, (PACE (furin)或PC5之加工位點), 其允許在表現時D1D2結構域自D'D3結構域裂解。細胞內加工位點之非限制性實例揭示於本文他處。

[0108] 在其他實施例中, VWF蛋白包含D'結構域及D3結構域, 但不包含選自以下之胺基酸序列: (1) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1241至 2813、(2) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1270至胺基酸 2813、(3) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1271至胺基酸 2813、(4) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1272至胺基酸 2813、(5) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1273至胺基酸 2813、(6) SEQ ID NO: 2之胺基酸 1274至胺基酸 2813, 或其任何組合。



[0109] 在其他實施例中，本發明之VWF蛋白包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：對應於D'結構域、D3結構域及A1結構域之胺基酸序列，其中該胺基酸序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1479具至少60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該VWF蛋白防止內源性VWF結合於FVIII。在一特定實施例中，VWF蛋白不為SEQ ID NO: 2之胺基酸764至1274。

[0110] 在一些實施例中，本發明之VWF蛋白包含D'結構域及D3結構域，但不包含選自以下之至少一個VWF結構域：(1) A1結構域、(2) A2結構域、(3) A3結構域、(4) D4結構域、(5) B1結構域、(6) B2結構域、(7) B3結構域、(8) C1結構域、(9) C2結構域、(10) CK結構域、(11) CK結構域及C2結構域、(12) CK結構域、C2結構域及C1結構域、(13) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、(14) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域、(15) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域及B1結構域、(16) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域、B1結構域及D4結構域、(17) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域、B1結構域、D4結構域及A3結構域、(18) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域、B1結構域、D4結構域、A3結構域及A2結構域、(19) CK結構域、C2結構域、C1結構域、B3結構域、B2結構域、B1結構

域、D4結構域、A3結構域、A2結構域及A1結構域，或(20)其任何組合。

[0111] 在其他實施例中，VWF蛋白包含D'D3結構域及一或多個結構域或模組。此等結構域或模組之實例包括(但不限於)Zhour等人，Blood，線上公佈於2012年4月6日：DOI 10.1182/blood-2012-01-405134中所揭示之結構域及模組。舉例而言，VWF蛋白可包含D'D3結構域及選自以下之一或多個結構域或模組：A1結構域、A2結構域、A3結構域、D4N模組、VWD4模組、C8-4模組、TIL-4模組、C1模組、C2模組、C3模組、C4模組、C5模組、C5模組、C6模組或其任何組合。

[0112] 在某些實施例中，本發明之VWF蛋白形成多聚體，例如，二聚體、三聚體、四聚體、五聚體、六聚體、七聚體或更高階多聚體。在其他實施例中，VWF蛋白為僅具有一個VWF蛋白之單體。在一些實施例中，本發明之VWF蛋白可具有一或多個胺基酸取代、缺失、添加或修飾。在一個實施例中，VWF蛋白可包括胺基酸取代、缺失、添加或修飾以使得VWF蛋白不能形成二硫鍵或形成二聚體或多聚體。在另一實施例中，胺基酸取代在D'結構域及D3結構域內。在一特定實施例中，本發明之VWF蛋白在對應於SEQ ID NO: 2之殘基1099、殘基1142、或殘基1099與1142之殘基處包含至少一個胺基酸取代。該至少一個胺基酸取代可為並不天然存在於野生型VWF中之任何胺基酸。舉例而言，胺基酸取代可為除半胱胺酸之外之任何胺基酸



，例如，異白胺酸、丙胺酸、白胺酸、天冬醯胺酸、離胺酸、天冬胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、麩胺酸、酥胺酸、麩醯胺酸、色胺酸、甘胺酸、纈胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、精胺酸或組胺酸。在另一實例中，胺基酸取代具有防止或抑制VWF蛋白形成多聚體之一或多個胺基酸。

[0113] 在一些實施例中，VWF蛋白包含在對應於VWF之D'D3結構域之殘基336 (SEQ ID NO: 2之殘基1099)處自半胱胺酸至丙胺酸之胺基酸取代，及在對應於VWF之D'D3結構域之殘基379 (SEQ ID NO: 2之殘基1142)處自半胱胺酸至丙胺酸之胺基酸取代，或兩者。

[0114] 在某些實施例中，本文可使用之VWF蛋白可經進一步修飾以改善其與FVIII之相互作用，例如，改善與FVIII之結合親和力。作為非限制性實例，VWF蛋白包含在對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸764之殘基處的絲胺酸殘基及在對應於SEQ ID NO: 2之胺基酸773之殘基處的離胺酸殘基。殘基764及/或773可促進VWF蛋白與FVIII之結合親和力。在其他實施例中，可用於本發明之VWF蛋白可具有其他修飾，例如，蛋白質可經聚乙二醇化、糖基化、羥乙基澱粉化或聚唾液酸化。

### II.C.3. 異源部分

[0115] 可經由VWF連接子與VWF蛋白融合或經由FVIII連接子與FVIII蛋白融合之異源部分可為異源多肽或異源非多肽部分。在某些實施例中，異源部分為此項技術

中已知之半衰期延長分子且包含多肽、非多肽部分或兩者之組合。異源多肽部分可包含FVIII蛋白、免疫球蛋白恆定區或其部分、白蛋白或其片段、白蛋白結合部分、轉鐵蛋白或其片段、PAS序列、HAP序列、其衍生物或變異體、人類絨毛膜促性腺激素之 $\beta$ 亞單位之C端肽(CTP)或其任何組合。在一些實施例中，非多肽結合部分包含聚乙二醇(PEG)、聚唾液酸、羥乙基澱粉(HES)、其衍生物或其任何組合。在某些實施例中，可存在一個、兩個、三個或更多個異源部分，其可各自為相同或不同分子。

#### II.C.3.a 免疫球蛋白恆定區或其部分

[0116] 免疫球蛋白恆定區由稱為CH (恆定重)結構域(CH1、CH2等)之結構域組成。視同種型(亦即IgG、IgM、IgA、IgD或IgE)而定，恆定區可由三個或四個CH結構域組成。一些同種型(例如IgG)恆定區亦包含鉸鏈區。參見Janeway等人，2001, *Immunobiology*, Garland Publishing, N.Y., N.Y。

[0117] 用於產生本發明之嵌合蛋白之免疫球蛋白恆定區或其部分可獲自多種不同來源。在一些實施例中，免疫球蛋白恆定區或其部分係源自人類免疫球蛋白。然而，應瞭解，免疫球蛋白恆定區或其部分可源自另一哺乳動物物種之免疫球蛋白，該等哺乳動物物種包括例如齧齒動物(例如，小鼠、大鼠、兔、天竺鼠)或非人類靈長類動物(例如黑猩猩、獼猴)物種。此外，免疫球蛋白恆定區或其部



分可源自任何免疫球蛋白種類，包括IgM、IgG、IgD、IgA及IgE，以及任何免疫球蛋白同種型，包括IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。在一個實施例中，使用人類同種型IgG1。

[0118] 多種免疫球蛋白恆定區基因序列(例如人類恆定區基因序列)可以公開訪問之存放物形式獲得。可選擇具有特定效應功能(或缺乏特定效應功能)或具有特定修飾以降低免疫原性之恆定區結構域序列。抗體及抗體編碼基因之許多序列已公開且可使用此項技術中公認之技術自此等序列獲得合適的Ig恆定區序列(例如，鉸鏈、CH2及/或CH3序列、或其部分)。使用任何前述方法獲得之遺傳物質隨後可改變或合成以獲得本發明之多肽。應進一步瞭解，本發明之範疇涵蓋恆定區DNA序列之等位基因、變異體及突變。

[0119] 免疫球蛋白恆定區或其部分之序列可例如使用聚合酶鏈反應及經選擇以擴增相關結構域之引子來選殖。為自抗體選殖免疫球蛋白恆定區或其部分之序列，可自雜交瘤、脾臟或淋巴細胞分離mRNA，反轉錄成DNA，且藉由PCR擴增抗體基因。PCR擴增方法詳細描述於美國專利第4,683,195號、第4,683,202號、第4,800,159號、第4,965,188號中；以及例如「PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications」，Innis等人編，Academic Press, San Diego, CA (1990)；Ho等人，1989. *Gene* 77:51；Horton等人，1993. *Methods Enzymol.* 217:270中)。

[0120] 本文使用之免疫球蛋白恆定區可包括所有結

構域及鉸鏈區或其部分。在一個實施例中，免疫球蛋白恆定區或其部分包含CH2結構域、CH3結構域及鉸鏈區，亦即，Fc區或FcRn結合搭配物。

[0121] 如本文所用，術語「Fc區」定義為對應於原生免疫球蛋白之Fc區之多肽部分，亦即，如藉由其兩個重鏈之相應Fc結構域之二聚締合形成。原生Fc區與另一Fc區形成均二聚體。

[0122] 在一個實施例中，「Fc區」係指開始於木瓜蛋白酶裂解位點正上游之鉸鏈區中(亦即IgG中之殘基216，將重鏈恆定區之第一殘基取為114)且結束於抗體之C端的單一免疫球蛋白重鏈的部分。因此，完整Fc結構域至少包含鉸鏈結構域、CH2結構域及CH3結構域。

[0123] 視免疫球蛋白同種型而定，免疫球蛋白恆定區之Fc區可包括CH2、CH3及CH4結構域以及鉸鏈區。包含免疫球蛋白之Fc區之嵌合蛋白賦予嵌合蛋白若干所需特性，包括增加之穩定性、增加之血清半衰期(參見Capon等人，1989, *Nature* 337:525)以及結合於Fc受體如新生兒Fc受體(FcRn)(美國專利第6,086,875號、第6,485,726號、第6,030,613號；WO 03/077834；US2003-0235536A1)，該等專利以全文引用之方式併入本文中。

[0124] 免疫球蛋白恆定區或其部分可為FcRn結合搭配物。FcRn活躍於成人上皮組織中且表現於腸內腔、肺部氣管、鼻表面、陰道表面、結腸及直腸表面(美國專利第6,485,726號)。FcRn結合搭配物為結合於FcRn之免疫球蛋



白之一部分。

[0125] FcRn受體已自若干哺乳動物物種(包括人類)中分離。人類FcRn、猴FcRn、大鼠FcRn及小鼠FcRn之序列為已知的(Story等人, 1994, *J. Exp. Med.* 180:2377)。FcRn受體在相對低pH下結合IgG(而非其他免疫球蛋白種類如IgA、IgM、IgD及IgE), 積極地在管腔內跨細胞轉運IgG至漿膜方向, 且隨後在間質液中存在之相對較高pH下釋放IgG。其表現於成人上皮組織(美國專利第6,485,726號、第6,030,613號、第6,086,875號; WO 03/077834; US2003-0235536A1)中, 包括肺及腸上皮(Israel等人, 1997, *Immunology* 92:69)、腎近端小管上皮(Kobayashi等人, 2002, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 282:F358)以及鼻上皮、陰道表面及膽管樹表面。

[0126] 可用於本發明中之FcRn結合搭配物涵蓋可由FcRn受體特異性結合之分子, 包括完整IgG、IgG之Fc片段, 及包括FcRn受體之完整結合區域之其他片段。已基於X射線晶體學描述結合於FcRn受體之IgG之Fc部分的區域(Burmeister等人, 1994, *Nature* 372:379)。Fc與FcRn之主要接觸區域接近CH2與CH3結構域之交界處。Fc-FcRn接觸皆在單一Ig重鏈內。FcRn結合搭配物包括完整IgG、IgG之Fc片段, 及IgG中包括FcRn之完整結合區域之其他片段。主要接觸位點包括CH2結構域之胺基酸殘基248、250-257、272、285、288、290-291、308-311及314以及CH3結構域之胺基酸殘基385-387、428及433-436。對於免疫球蛋白

或免疫球蛋白片段或區域之胺基酸編號之提及皆基於 Kabat 等人, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Public Health, Bethesda, Md。

[0127] 結合於 FcRn 之 Fc 區或 FcRn 結合搭配物可藉由 FcRn 而有效穿梭跨越上皮障壁，因此提供一種非侵入性方法來系統性施用所需治療分子。另外，包含 Fc 區或 FcRn 結合搭配物之融合蛋白係由表現 FcRn 之細胞內吞。但並非標誌著降解，此等融合蛋白再循環出來以再次進入循環中，因此增加此等蛋白質之活體內半衰期。在某些實施例中，免疫球蛋白恆定區之部分為通常經由二硫鍵及其他非特異性相互作用與另一 Fc 區或另一 FcRn 結合搭配物締合以形成二聚體及更高階多聚體之 Fc 區或 FcRn 結合搭配物。

[0128] FcRn 結合搭配物區域為可由 FcRn 受體特異性結合且隨後由 Fc 區之 FcRn 受體活性轉運之分子或其部分。特異性結合係指兩個分子形成在生理條件下相對穩定之複合物。特異性結合之特徵為高親和力及低至中等能力，其與非特異性結合相區別，非特異性結合通常具有低親和力及中等至高能力。通常，當親和常數  $K_A$  高於  $10^6 \text{ M}^{-1}$  或高於  $10^8 \text{ M}^{-1}$  時，將結合視為特異性。必要時，可藉由改變結合條件來減少非特異性結合而不會實質上影響特異性結合。熟習此項技術者可使用常規技術最佳化適當的結合條件，諸如分子之濃度、溶液之離子強度、溫度、允許結合之時間、阻斷劑(例如血清白蛋白、乳酪蛋白)之濃度等。

[0129] 無數突變體、片段、變異體及衍生物描述於



例如 PCT 公開案第 WO 2011/069164 A2 號、第 WO 2012/006623 A2 號、第 WO 2012/006635 A2 號或第 WO 2012/006633 A2 號中，其皆以全文引用之方式併入本文中。

#### II.C.3.b. 白蛋白或其片段或變異體

[0130] 在某些實施例中，經由 VWF 連接子連接至 VWF 蛋白或經由 FVIII 連接子連接至 FVIII 蛋白之異源部分為白蛋白或其功能片段。在一些實施例中，融合至 VWF 蛋白之白蛋白與融合至 FVIII 蛋白之白蛋白共價締合。

[0131] 人類血清白蛋白 (HSA 或 HA) 為其全長形式為 609 個胺基酸之蛋白質，其負責顯著比例之血清滲透壓且亦充當內源性及外源性配位體之運載體。如本文所用之術語「白蛋白」包括全長白蛋白或其功能片段、變異體、衍生物或類似物。白蛋白或其片段或變異體之實例揭示於美國專利公開案第 2008/0194481A1 號、第 2008/0004206 A1 號、第 2008/0161243 A1 號、第 2008/0261877 A1 號或第 2008/0153751 A1 號或 PCT 申請公開案第 2008/033413 A2 號、第 2009/058322 A1 號或第 2007/021494 A2 號中，其以全文引用之方式併入本文中。

#### II.C.3.c. 白蛋白結合部分

[0132] 在某些實施例中，經由 VWF 連接子連接至 VWF 蛋白或經由 FVIII 連接子連接至 FVIII 蛋白之異源部分

為白蛋白結合部分，其包含白蛋白結合肽、細菌白蛋白結合域、白蛋白結合抗體片段或其任何組合。舉例而言，白蛋白結合蛋白可為細菌白蛋白結合蛋白、抗體或抗體片段，包括結構域抗體(參見美國專利第6,696,245號)。白蛋白結合蛋白例如可為細菌白蛋白結合域，諸如鏈球菌蛋白G之一(Konig, T.及Skerra, A. (1998) *J. Immunol. Methods* 218, 73-83)。可用作結合搭配物之白蛋白結合肽之其他實例為例如具有Cys-Xaa<sub>1</sub>-Xaa<sub>2</sub>-Xaa<sub>3</sub>-Xaa<sub>4</sub>-Cys一致序列者，其中Xaa<sub>1</sub>為Asp、Asn、Ser、Thr或Trp；Xaa<sub>2</sub>為Asn、Gln、His、Ile、Leu或Lys；Xaa<sub>3</sub>為Ala、Asp、Phe、Trp或Tyr；且Xaa<sub>4</sub>為Asp、Gly、Leu、Phe、Ser或Thr，如美國專利申請案2003/0069395或Dennis等人(Dennis等人, (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 35035-35043)中所述。

#### II.C.3.d. PAS序列

[0133] 在其他實施例中，經由VWF連接子連接至VWF蛋白或經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白之異源部分為PAS序列。在一個實施例中，嵌合分子包含經由VWF連接子融合至PAS序列之本文所述之VWF蛋白。在另一實施例中，本發明之嵌合分子包含包括經由VWF連接子融合至PAS序列之VWF蛋白之第一個鏈及包括FVIII蛋白及另一視情況選用之PAS序列之第二個鏈，其中該PAS序列屏蔽或保護FVIII蛋白上之VWF結合位點，從而抑制或防止FVIII蛋白與內源性VWF之相互作用。兩個PAS序列可彼此共價



締合。

[0134] 如本文所用，PAS序列意謂主要包含丙胺酸及絲胺酸殘基或主要包含丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸殘基之胺基酸序列，該胺基酸序列在生理條件下形成無規捲曲構型。因此，PAS序列為架構基塊、胺基酸聚合物或包含丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸、基本上由丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸組成或由丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸組成之序列盒，其可用作嵌合蛋白中異源部分之一部分。然而，熟習此項技術者認識到，當除丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸之外之殘基作為PAS序列中之次要成分添加時，胺基酸聚合物亦可形成無規捲曲構型。如本文所用之術語「次要成分」意謂除丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸之外之胺基酸可在某種程度上添加於PAS序列中，例如，PAS序列之至多約12%（亦即，100個胺基酸中約12個）、PAS序列之至多約10%（亦即，100個胺基酸中約10個）、至多約9%（亦即，100個胺基酸中約9個）、至多約8%（亦即，100個胺基酸中約8個）、約6%（亦即，100個胺基酸中約6個）、約5%（亦即，100個胺基酸中約5個）、約4%（亦即，100個胺基酸中約4個）、約3%（亦即，100個胺基酸中約3個）、約2%（亦即，100個胺基酸中約2個）、約1%（亦即，100個胺基酸中約1個）。不同於丙胺酸、絲胺酸及脯胺酸之胺基酸可選自由Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Thr、Trp、Tyr及Val組成之群。

[0135] 在生理條件下，PAS序列伸展形成無規捲曲構

型且從而可介導VWF因子或具凝血活性之蛋白質之活體內及/或活體外穩定性增加。由於無規捲曲結構域不採用穩定結構或自身起作用，由與其融合之VWF蛋白或FVIII蛋白介導之生物活性基本上得以保留。在其他實施例中，形成無規捲曲結構域之PAS序列呈生物惰性，尤其關於在血漿中之蛋白水解、免疫原性、等電點/靜電行為、結合於細胞表面受體或內化，但仍可生物降解，其提供明顯優於合成聚合物如PEG之優勢。

[0136] 形成無規捲曲構型之PAS序列之非限制性實例包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：  
 ASPAAPAPASPAAPAPSAPA (SEQ ID NO: 32) 、  
 AAPASPAPAAPSAPAPAAPS (SEQ ID NO: 33) 、  
 APSSPSPSAPSSPSPASPSS (SEQ ID NO: 34) 、  
 APSSPSPSAPSSPSPASPS (SEQ ID NO: 35) 、  
 SSPSAPSPSSPASPSPPA (SEQ ID NO: 36) 、  
 AASPAAPSAPPAAASPAAPSAPPA (SEQ ID NO: 37) 及  
 ASAAAPAAASAAASAPSAAA (SEQ ID NO: 38)或其任何組合。PAS序列之其他實例可自例如美國專利公開案第2010/0292130 A1號及PCT申請公開案第WO 2008/155134 A1號已知。

#### II.C.3.e. HAP序列

[0137] 在某些實施例中，經由VWF連接子連接至VWF蛋白或經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白之異源部分



為富含甘胺酸之胺基酸均聚物(HAP)。HAP序列可包含甘胺酸之重複序列，其具有長度為至少50個胺基酸、至少100個胺基酸、120個胺基酸、140個胺基酸、160個胺基酸、180個胺基酸、200個胺基酸、250個胺基酸、300個胺基酸、350個胺基酸、400個胺基酸、450個胺基酸或500個胺基酸。在一個實施例中，HAP序列能夠延長融合至或連接至HAP序列之部分的半衰期。HAP序列之非限制性實例包括(但不限於)  $(\text{Gly})_n$ 、 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 或 $\text{S}(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ ，其中 $n$ 為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一個實施例中， $n$ 為20、21、22、23、24、25、26、26、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40。在另一實施例中， $n$ 為50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200。參見例如 Schlapschy M 等人，*Protein Eng. Design Selection*, 20: 273-284 (2007)。

#### II.C.3.f. 轉鐵蛋白或其片段

[0138] 在某些實施例中，經由VWF連接子連接至VWF蛋白或經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白之異源部分為轉鐵蛋白或其片段。任何轉鐵蛋白可用於製備本發明之嵌合分子。舉例而言，野生型人類Tf (Tf)為具有兩個主要結構域N (約330個胺基酸)及C (約340個胺基酸)之約75 KDa之具679個胺基酸的蛋白質(不造成糖基化)，其似乎源自基因複製。參見 GenBank 寄存編號 NM001063、

XM002793、M12530、XM039845、XM 039847及S95936 ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/))，其皆以全文引用之方式併入本文中。轉鐵蛋白包含兩個結構域，N結構域及C結構域。N結構域包含兩個子結構域，N1結構域及N2結構域，且C結構域包含兩個子結構域，C1結構域及C2結構域。

[0139] 在一個實施例中，嵌合分子之轉鐵蛋白部分包括轉鐵蛋白剪接變異體。在一個實例中，轉鐵蛋白剪接變異體可為人類轉鐵蛋白之剪接變異體，例如，Genbank 寄存編號AAA61140。在另一實施例中，嵌合分子之轉鐵蛋白部分包括轉鐵蛋白序列之一或多個結構域，例如，N結構域、C結構域、N1結構域、N2結構域、C1結構域、C2結構域或其任何組合。

### II.C.3.g 聚合物，例如聚乙二醇(PEG)

[0140] 在其他實施例中，經由VWF連接子連接至VWF蛋白或經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白之異源部分為此項技術中已知之可溶性聚合物，包括(但不限於)聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖或聚乙烯醇。異源部分如可溶性聚合物可連接至嵌合分子內之任何位置。

[0141] 在某些實施例中，嵌合分子包含經由VWF連接子與異源部分(例如，Fc區)融合之VWF蛋白，其中該VWF蛋白進一步連接至PEG。在另一實施例中，嵌合分子包含經由VWF連接子與Fc區融合之VWF蛋白以及FVIII蛋



白，該VWF蛋白與該FVIII蛋白彼此締合，其中該FVIII蛋白連接至PEG。

[0142] 本發明亦提供本發明嵌合分子之化學修飾衍生物，其可提供其他優點，諸如增加之多肽溶解性、穩定性及循環時間，或降低之免疫原性(參見美國專利第4,179,337號)。用於修飾之化學部分可選自水溶性聚合物，包括(但不限於)聚乙二醇、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖或聚乙烯醇。嵌合分子可在分子內之任意位置或在N端或C端、或在分子內之預定位置經修飾且可包括一個、兩個、三個或更多個連接之化學部分。

[0143] 聚合物可具有任何分子量，且可為分枝或未分枝的。對於聚乙二醇，在一個實施例中，為了易於處理及製造，分子量介於約1 kDa與約100 kDa之間。視所需概況(例如，所需持續釋放之持續時間、對生物活性之影響(若存在)、易於處理、抗原性之程度或缺乏以及聚乙二醇對蛋白質或類似物之其他已知作用)而定，可使用其他尺寸。舉例而言，聚乙二醇可具有約200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、45,000、50,000、55,000、60,000、65,000、

70,000、75,000、80,000、85,000、90,000、95,000或100,000 kDa之平均分子量。

[0144] 在一些實施例中，聚乙二醇可具有分枝結構。分枝聚乙二醇描述於例如美國專利第5,643,575號；Morpurgo等人，*Appl. Biochem. Biotechnol.* 56:59-72 (1996)；Vorobjev等人，*Nucleosides Nucleotides* 18:2745-2750 (1999)；及Caliceti等人，*Bioconjug. Chem.* 10:638-646 (1999)中，其各自以全文引用之方式併入本文中。

[0145] 連接至各嵌合分子之聚乙二醇部分之數目(亦即，取代程度)亦可改變。舉例而言，本發明之聚乙二醇化蛋白質平均可連接至1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20個或更多個聚乙二醇分子。類似地，平均取代程度在諸如每個蛋白質分子1-3、2-4、3-5、4-6、5-7、6-8、7-9、8-10、9-11、10-12、11-13、12-14、13-15、14-16、15-17、16-18、17-19或18-20個聚乙二醇部分之範圍內。用於測定取代程度之方法討論於例如Delgado等人，*Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys.* 9:249-304 (1992)中。

[0146] 在其他實施例中，本發明中使用之FVIII蛋白結合於一或多個聚合物。聚合物可為水溶性的且共價或非共價連接至因子VIII或結合至因子VIII之其他部分。聚合物之非限制性實例可為聚(環氧烷)、聚(乙烯吡咯啉酮)、聚(乙烯醇)、聚噁唑啉或聚(丙烯醯基嗎啉)。其他類型之聚合物結合FVIII揭示於美國專利第7,199,223號中。



## II.C.3.h. 羥乙基澱粉(HES)

[0147] 在某些實施例中，經由VWF連接子連接至VWF蛋白或經由FVIII連接子連接至FVIII蛋白之異源部分為聚合物，例如，羥乙基澱粉(HES)或其衍生物。

[0148] 羥乙基澱粉(HES)為天然存在之支鏈澱粉的衍生物且藉由 $\alpha$ -澱粉酶在體內降解。HES為碳水化合物聚合物支鏈澱粉之經取代衍生物，其以至多95重量%之濃度存在於玉米澱粉中。HES展現有利之生物特性且用作血容量替代劑以及在診所用於血液稀釋療法中(Sommermeier等人, *Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987); 及Weidler等人, *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 41, 494-498 (1991))。

[0149] 支鏈澱粉含有葡萄糖部分，其中在主鏈中存在 $\alpha$ -1,4-糖苷鍵且在分枝位點存在 $\alpha$ -1,6-糖苷鍵。此分子之物理-化學特性主要由糖苷鍵類型決定。由於帶缺口之 $\alpha$ -1,4-糖苷鍵，產生每圈具有約六個葡萄糖單體之螺旋結構。聚合物之物理-化學以及生物化學特性可經由取代修飾。可經由鹼性羥乙基澱粉化達成羥乙基之引入。藉由調整反應條件，有可能利用未經取代之葡萄糖單體中之各別羥基關於羥乙基澱粉化之不同反應性。由此，熟習此項技術者能夠在有限程度上影響取代模式。

[0150] HES之主要特徵在於分子量分佈及取代程度。取代程度(以DS指示)係關於莫耳取代，為熟習此項技術者

所知。參見如上文所引用之 Sommermeyer 等人，*Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987)，尤其是第 273 頁。

[0151] 在一個實施例中，羥乙基澱粉具有 1 至 300 kD、2 至 200kD、3 至 100 kD 或 4 至 70 kD 之平均分子量(重量平均值)。羥乙基澱粉可進一步展現 0.1 至 3、較佳 0.1 至 2、更佳 0.1 至 0.9、較佳 0.1 至 0.8 之莫耳取代程度，且關於羥乙基之 C2:C6 取代之間的比率在 2 至 20 之範圍內。具有約 130 kD 之平均分子量之 HES 的非限制性實例為具有 0.2 至 0.8 諸如 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 或 0.8、較佳 0.4 至 0.7 諸如 0.4、0.5、0.6 或 0.7 之取代程度的 HES。在一特定實施例中，具有約 130 kD 之平均分子量之 HES 為來自 Fresenius 之 VOLUVEN<sup>®</sup>。VOLUVEN<sup>®</sup> 為人工膠體，例如用於治療及預防低容量血症之治療適應症中所用之容量替代。VOLUVEN<sup>®</sup> 之特徵為 130,000 +/- 20,000 D 之平均分子量、0.4 之莫耳取代及約 9:1 之 C2:C6 比率。在其他實施例中，羥乙基澱粉之平均分子量範圍為例如 4 至 70 kD 或 10 至 70 kD 或 12 至 70 kD 或 18 至 70 kD 或 50 至 70 kD 或 4 至 50 kD 或 10 至 50 kD 或 12 至 50 kD 或 18 至 50 kD 或 4 至 18 kD 或 10 至 18 kD 或 12 至 18 kD 或 4 至 12 kD 或 10 至 12 kD 或 4 至 10 kD。在其他實施例中，所用羥乙基澱粉之平均分子量在高於 4 kD 且低於 70 kD 之範圍內，諸如為約 10 kD，或在 9 至 10 kD 或 10 至 11 kD 或 9 至 11 kD 之範圍內，或為約 12 kD，或在 11 至 12 kD 或 12 至 13 kD 或 11 至 13 kD 之範圍內，或為約 18 kD，或



在 17 至 18 kD 或 18 至 19 kD 或 17 至 19 kD 之範圍內，或為約 30 kD，或在 29 至 30、或 30 至 31 kD 之範圍內，或為約 50 kD，或在 49 至 50 kD 或 50 至 51 kD 或 49 至 51 kD 之範圍內。

[0152] 在某些實施例中，異源部分可為具有不同平均分子量及/或不同取代程度及/或不同 C2:C6 取代比率之羥乙基澱粉之混合物。因此，可使用具有不同平均分子量及不同取代程度及不同 C2:C6 取代比率、或具有不同平均分子量及不同取代程度及相同或大致相同 C2:C6 取代比率、或具有不同平均分子量及相同或大致相同取代程度及不同 C2:C6 取代比率、或具有相同或大致相同平均分子量及不同取代程度及不同 C2:C6 取代比率、或具有不同平均分子量及相同或大致相同取代程度及相同或大致相同 C2:C6 取代比率、或具有相同或大致相同平均分子量及不同取代程度及相同或大致相同 C2:C6 取代比率、或具有相同或大致相同平均分子量及相同或大致相同取代程度及不同 C2:C6 取代比率、或具有大致相同平均分子量及大致相同取代程度及大致相同 C2:C6 取代比率之羥乙基澱粉之混合物。

#### II.C.3.i. 聚唾液酸 (PSA)

[0153] 在某些實施例中，經由 VWF 連接子連接至 VWF 蛋白或經由 FVIII 連接子連接至 FVIII 蛋白之非多肽異源部分為聚合物，例如，聚唾液酸 (PSA) 或其衍生物。聚唾液酸 (PSA) 為藉由某些細菌株且在哺乳動物中在某些細

胞中產生之天然存在之未分枝唾液酸聚合物。Roth J.等人, (1993) *Polysialic Acid: From Microbes to Man*, Roth J., Rutishauser U., Troy F. A.編 (Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland), 第335-348頁。其可藉由有限之酸水解或藉由神經胺酸酶消化, 或藉由聚合物之天然之細菌源形式分餾, 以自  $n=$ 約80或更多個唾液酸殘基至降至  $n=2$ 之各種聚合程度產生。不同聚唾液酸之組成亦改變, 以使得存在均聚物形式, 亦即包含大腸桿菌株K1及B族腦膜炎球菌之莢膜多醣之 $\alpha$ -2,8-連接聚唾液酸, 其亦存在於神經元細胞黏附分子(N-CAM)之胚胎形式上。亦存在異質聚合物形式, 諸如大腸桿菌株K92及C族腦膜炎奈瑟球菌多醣之交替 $\alpha$ -2,8  $\alpha$ -2,9聚唾液酸。唾液酸亦可見於與除唾液酸之外之單體諸如W135族或Y族腦膜炎奈瑟球菌之交替共聚物。聚唾液酸具有重要之生物功能, 包括藉由致病菌逃避免疫及補體系統以及在胎兒發育期間調控未成熟神經元之神經膠質黏附性(其中該聚合物具有抗黏附功能)(Cho及Troy, *P.N.A.S., USA*, 91 (1994) 11427-11431), 但在哺乳動物中不存在聚唾液酸之已知受體。大腸桿菌株K1之 $\alpha$ -2,8-連接聚唾液酸亦稱為『多聚乙醯神經酸(colominic acid)』且(以各種長度)用於例示本發明。連接或結合聚唾液酸與多肽之各種方法已經描述(例如, 參見美國專利第5,846,951號、WO-A-0187922及US 2007/0191597 A1, 其以全文引用之方式併入本文中。



#### II.C.4. XTEN序列。

[0154] 如本文所用，「XTEN序列」係指具有主要由小的親水性胺基酸組成之非天然存在之實質上非重複序列的延長長度之多肽，其中序列在生理條件下具有低程度之二級或三級結構或者不具有二級或三級結構。作為嵌合蛋白搭配物，XTEN可充當載劑，當連接至本發明之VWF蛋白或FVIII蛋白以產生嵌合蛋白時賦予某些所需藥物動力學、物理化學及醫藥特性。該等所需特性包括(但不限於)增強之藥物動力學參數及溶解特性。如本文所用，「XTEN」特定排除抗體或抗體片段，諸如單鏈抗體或輕鏈或重鏈之Fc片段。

[0155] 在一些實施例中，本發明之XTEN序列為具有大於約20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1200、1400、1600、1800或2000個胺基酸殘基之肽或多肽。在某些實施例中，XTEN為具有大於約20個至約3000個胺基酸殘基、大於30個至約2500個殘基、大於40個至約2000個殘基、大於50個至約1500個殘基、大於60個至約1000個殘基、大於70個至約900個殘基、大於80個至約800個殘基、大於90個至約700個殘基、大於100個至約600個殘基、大於110個至約500個殘基、或大於120個至約400個殘基之肽或多肽。

[0156] 本發明之XTEN序列可包含一或多個具有9至14個胺基酸殘基之序列基元或與該序列基元具至少80%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，其中該基元包含以下、基本上由以下組成或由以下組成：選自由甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、酥胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)組成之群的4至6種類型之胺基酸。參見US 2010-0239554 A1。

[0157] 在一些實施例中，XTEN包含非重疊序列基元，其中約80%、或至少約85%、或至少約90%、或約91%、或約92%、或約93%、或約94%、或約95%、或約96%、或約97%、或約98%、或約99%或約100%之序列由選自表2A中選出之單一基元家族之非重疊序列的多個單元組成，從而產生家族序列。如本文所用，「家族」意謂XTEN具有僅由來自表2A之單一基元類別選出之基元；亦即，AD、AE、AF、AG、AM、AQ、BC或BD XTEN，且XTEN中並非來自家族基元之任何其他胺基酸經選擇以達成所需特性，諸如允許藉由編碼核苷酸併入限制位點，併入裂解序列，或達成與FVIII或VWF之更佳連接。在XTEN家族之一些實施例中，XTEN序列包含AD基元家族、或AE基元家族、或AF基元家族、或AG基元家族、或AM基元家族、或AQ基元家族、或BC家族、或BD家族之非重疊序列基元之多個單元，其中所得XTEN展現上述同源性範圍。在其他實施例中，XTEN包含來自表2A之兩個或更多個基元家族之基元序列的多個單元。此等序列可經選擇以達成所需物理/化學特性，包括諸如淨電荷、親水性、缺乏二級結構或缺乏由基元之胺基酸組成所賦予之重複性等性質，其在



下文更充分描述。在此段落中之上述實施例中，併入XTEN中之基元可使用本文所述之方法選擇且組裝以達成具有約36個至約3000個胺基酸殘基之XTEN。

表2A. 具有12個胺基酸之XTEN序列基元及基元家族

基元家族*	基元序列
AD	GESPGGSSGSES (SEQ ID NO: 49)
AD	GSEGSSGPGESS (SEQ ID NO: 50)
AD	GSSESGSSEGGP (SEQ ID NO: 51)
AD	GSGGEPSESGSS (SEQ ID NO: 52)
AE, AM	GSPAGSPTSTEE (SEQ ID NO: 53)
AE, AM, AQ	GSEPATSGSETP (SEQ ID NO: 54)
AE, AM, AQ	GTSESATPESGP (SEQ ID NO: 55)
AE, AM, AQ	GTSTEPSEGSAP (SEQ ID NO: 56)
AF, AM	GSTSESPSGTAP (SEQ ID NO: 57)
AF, AM	GTSTPESGSASP (SEQ ID NO: 58)
AF, AM	GTSPSGESSTAP (SEQ ID NO: 59)
AF, AM	GSTSSTAESPGP (SEQ ID NO: 60)
AG, AM	GTPGSGTASSSP (SEQ ID NO: 61)
AG, AM	GSSTPSGATGSP (SEQ ID NO: 62)
AG, AM	GSSPSASTGTGP (SEQ ID NO: 63)
AG, AM	GASPGTSSTGSP (SEQ ID NO: 64)
AQ	GEPAGSPTSTSE (SEQ ID NO: 65)
AQ	GTGEPSSTPASE (SEQ ID NO: 66)
AQ	GSGPSTESAPTE (SEQ ID NO: 67)
AQ	GSETPSGPSETA (SEQ ID NO: 68)
AQ	GPSETSTSEPGA (SEQ ID NO: 69)
AQ	GSPSEPTEGTSA (SEQ ID NO: 70)
BC	GSGASEPTSTEP (SEQ ID NO: 71)
BC	GSEPATSGTEPS (SEQ ID NO: 72)
BC	GTSEPSTSEPGA (SEQ ID NO: 73)
BC	GTSTEPSEPGSA (SEQ ID NO: 74)
BD	GSTAGSETSTEA (SEQ ID NO: 75)
BD	GSETATSGSETA (SEQ ID NO: 76)
BD	GTSESATSESGA (SEQ ID NO: 77)
BD	GTSTEASEGSAS (SEQ ID NO: 78)

- 指示當以各種排列一起使用時產生「家族序列」之個別基元序列

[0158] XTEN可具有不同長度以供插入或連接至FVIII或VWF或嵌合分子之任何其他組分。在一個實施例中，一

或多個XTEN序列之長度係基於在融合蛋白中待達成之性質或功能而進行選擇。視預期性質或功能而定，XTEN可為可充當載劑之較短或中等長度序列或較長序列。在某些實施例中，XTEN包括具有約6個至約99個胺基酸殘基之短區段、具有約100個至約399個胺基酸殘基之中等長度區段，及具有約400個至約1000個且至多約3000個胺基酸殘基之較長長度區段。因此，插入或連接至FVIII或VWF之XTEN可具有約6、約12、約36、約40、約42、約72、約96、約144、約288、約400、約500、約576、約600、約700、約800、約864、約900、約1000、約1500、約2000、約2500或至多約3000個胺基酸殘基之長度。在其他實施例中，XTEN序列之長度為約6至約50、約50至約100、約100至150、約150至250、約250至400、約400至約500、約500至約900、約900至1500、約1500至2000、或約2000至約3000個胺基酸殘基。插入或連接至FVIII或VWF之XTEN之精確長度可改變而不會不利影響FVIII或VWF之活性。在一個實施例中，本文使用之一或多種XTEN具有36個胺基酸、42個胺基酸、72個胺基酸、144個胺基酸、288個胺基酸、576個胺基酸或864個胺基酸之長度且可選自XTEN家族序列中之一或多者；亦即，AD、AE、AF、AG、AM、AQ、BC或BD。

[0159] 在一些實施例中，本發明中使用之XTEN序列與選自由以下組成之群之序列具至少60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、



98%、99%或100%一致性：AE42、AG42、AE48、AM48、AE72、AG72、AE108、AG108、AE144、AF144、AG144、AE180、AG180、AE216、AG216、AE252、AG252、AE288、AG288、AE324、AG324、AE360、AG360、AE396、AG396、AE432、AG432、AE468、AG468、AE504、AG504、AF504、AE540、AG540、AF540、AD576、AE576、AF576、AG576、AE612、AG612、AE624、AE648、AG648、AG684、AE720、AG720、AE756、AG756、AE792、AG792、AE828、AG828、AD836、AE864、AF864、AG864、AM875、AE912、AM923、AM1318、BC864、BD864、AE948、AE1044、AE1140、AE1236、AE1332、AE1428、AE1524、AE1620、AE1716、AE1812、AE1908、AE2004A、AG948、AG1044、AG1140、AG1236、AG1332、AG1428、AG1524、AG1620、AG1716、AG1812、AG1908及AG2004。參見US 2010-0239554 A1。

[0160] 在一個實施例中，XTEN序列與選自由AE42、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288、AG144及其任何組合組成之群之胺基酸序列具至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性。在另一實施例中，XTEN序列係選自由AE42、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288、AG144及其任何組合組成之群。在一特定實施例中，XTEN序列為AE288。本發明之某些XTEN序列之胺

基酸序列示於表2B中。

表2B. XTEN序列

XTEN	胺基酸序列
AE42 SEQ ID NO: 39	GAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPASS
AE72 SEQ ID NO: 40	GAP TSESATPESG PGSEPATSGS ETPGTSESAT PESGPGSEPA TSGSETPGTS ESATPESGPG TSTEPSEGSAPGASS
AE144 SEQ ID NO: 41	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESA PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP
AG144 SEQ ID NO: 42	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTSGTASSSPGSSTPSGATGSP
AE288 SEQ ID NO: 43	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG288 SEQ ID NO: 44	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTIASS SPGSSSTPSGATGSPGTPGSGTIASSSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSSTPSGATGSPGSSPSAS TGTPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
AE576 SEQ ID NO: 45	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSG TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG



	SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEF ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG576 SEQ ID NO: 46	PGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGATG SPGSSTPSGATGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGSSTPSG SSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGSSPSASTGTGPGTTPGSGTA SSSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSG ATGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGASPG TSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGSST PSGATGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGS STPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGS
AE864 SEQ ID NO: 47	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEF ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG864 SEQ ID NO: 48	GASPGTSSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGTGPGTASS SPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSST GSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSTPSGA TGSPGSSSTPSGATGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGT ASSSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGSSPSASTGTGPGTTPGSG TASSSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGSSSTPSGATGSEGSSTP SGATGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGSSST PSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGAS PGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSPGS STPSGATGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPGTGPGTASSSPGSSTPSGATGSPG SSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGTGPGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGASPGTSSSTGS PGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSSTGSPGSSPSASTGTGPGTTPGSGTASS SPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGASPGTSSSTGS

[0161] 在所用XTEN組分中小於100%之其胺基酸由選自甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、酰胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)之4、5或6種類型之胺基酸組成、或小於100%之序列由來自表2A之序列基元或表2B之XTEN序列組成的彼等實施例中，XTEN之其他胺基酸殘基係選自任何其他14種天然L-胺基酸，但優先選自親水性胺基酸以使得



XTEN序列含有至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或至少約99%親水性胺基酸。不為甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、酥胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)之XTEN胺基酸散佈於整個XTEN序列內，位於序列基元內或之間，或者集中在XTEN序列之一或多個短伸展物中，例如，以產生XTEN與其他組分(例如，VWF蛋白)之間的連接子。在XTEN組分包含除甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、酥胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)之外之胺基酸的此等情況下，較佳的是小於約2%或小於約1%之胺基酸為疏水性殘基以使得所得序列一般缺乏二級結構，例如，如藉由本文揭示之方法所測定，不具有大於2%  $\alpha$ 螺旋或2%  $\beta$ 折疊。在XTEN之構造中不太偏愛之疏水性殘基包括色胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸、白胺酸、異白胺酸、纈胺酸及甲硫胺酸。另外，可設計XTEN序列以包含小於5%或小於4%或小於3%或小於2%或小於1%之下列胺基酸或不合下列胺基酸：半胱胺酸(以避免二硫化物形成及氧化)、甲硫胺酸(以避免氧化)、天冬醯胺酸及麩醯胺酸(以避免脫醯胺)。因此，在一些實施例中，包含除甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、酥胺酸(T)、麩胺酸(E)及脯胺酸(P)之外之其他胺基酸的XTEN具有如藉由Chou-Fasman演算法所量測貢獻於 $\alpha$ 螺旋及 $\beta$ 折疊之殘基小於5%的序列且具有如藉由GOR演算法所量測至少90%或至少約95%以上之無規捲曲形成。

[0162] 在其他實施例中，本發明中使用之XTEN序列



影響本發明嵌合蛋白之物理或化學特性，例如，藥物動力學特性。本發明中使用之XTEN序列可展現下列有利特性中之一或多者：構型靈活性、增強之水溶性、高程度之蛋白酶抗性、低免疫原性、與哺乳動物受體之低結合或增大之流體動力學(或Stokes)半徑。在一特定實施例中，在本發明中連接至FVIII蛋白之XTEN序列提高藥物動力學特性，諸如較長終末半衰期或增加之曲線下面積(AUC)，以使得本文所述嵌合蛋白相比於野生型FVIII保持在活體內之時間增加。在其他實施例中，本發明中使用之XTEN序列提高藥物動力學特性，諸如較長終末半衰期或增加之曲線下面積(AUC)，以使得FVIII蛋白相比於野生型FVIII保持在活體內之時間增加。

[0163] 可使用多種方法及檢定來測定包含XTEN序列之蛋白質的物理/化學特性。該等方法包括(但不限於)分析離心、EPR、離子交換HPLC、尺寸排阻HPLC、逆相HPLC、光散射、毛細管電泳、圓二色法、差示掃描熱量測定、螢光法、離子交換HPLC、尺寸排阻HPLC、IR、NMR、拉曼光譜、折射率測定及紫外/可見光譜。其他方法揭示於Amau等人, *Prot Expr and Purif* 48, 1-13 (2006)中。

[0164] 根據本發明可使用XTEN序列之其他實例且其揭示於美國專利公開案第2010/0239554 A1號、第2010/0323956 A1號、第2011/0046060 A1號、第2011/0046061 A1號、第2011/0077199 A1號或第2011/0172146 A1號、或者國際專利公開案第WO

2010091122 A1 號、第 WO 2010144502 A2 號、第 WO 2010144508 A1 號、第 WO 2011028228 A1 號、第 WO 2011028229 A1 號、第 WO 2011028344 A2 號或第 WO2013123457 A1 號、或者國際申請案第 PCT/US2013/049989 號中。

#### II.C.5. FVIII 蛋白

[0165] 除非另外說明，否則如本文所用之「FVIII 蛋白」意謂在凝血中呈其正常作用之功能性 FVIII 多肽。術語 FVIII 蛋白包括在凝血路徑中保持全長野生型因子 VIII 之功能的其功能性片段、變異體、類似物或衍生物。「FVIII 蛋白」可與 FVIII 多肽(或蛋白質)或 FVIII 互換使用。FVIII 功能之實例包括(但不限於)活化凝血之能力、充當因子 IX 之輔因子之能力、或在  $\text{Ca}^{2+}$  及磷脂存在下與因子 IX 形成 tenase 複合物且隨後將因子 X 轉化為活化形式 Xa 之能力。FVIII 蛋白可為人類、豬、犬、大鼠或鼠類 FVIII 蛋白。另外，來自人類及其他物種之 FVIII 之間的比較已鑒別可能為功能所需之保守殘基 (Cameron 等人, *Thromb. Haemost.* 79:317-22 (1998); US 6,251,632)。

[0166] 多種測試可用於評估凝血系統之功能：活化部分凝血活酶時間(aPTT)測試、顯色檢定、ROTEM 檢定、凝血酶原時間(PT)測試(亦用於測定 INR)、血纖維蛋白原測試(通常藉由 Clauss 法)、血小板計數、血小板功能測試(通常藉由 PFA-100)、TCT、出血時間、混合測試(若將患者



之血漿與正常血漿混合時是否校正異常)、凝血因子檢定、抗磷脂抗體、D-二聚體、基因測試(例如因子V Leiden、凝血酶原突變 G20210A)、稀釋 Russell 毒蛇毒液時間(dRVVT)、雜項血小板功能測試、血栓彈力圖(TEG或Sonoclot)、血栓彈力測定(TEM<sup>®</sup>, 例如ROTEM<sup>®</sup>)或優球蛋白溶解時間(ELT)。

[0167] aPTT測試為量測「固有」(亦稱為接觸活化路徑)及常見凝血路徑之功效的效能指標。此測試通常用於量測市售重組凝血因子(例如, FVIII或FIX)之凝血活性。其與量測外部路徑之凝血酶原時間(PT)結合使用。

[0168] ROTEM分析提供關於止血之完全動力學的資訊: 凝血時間、凝塊形成、凝塊穩定性及溶解。血栓彈力測定中之不同參數取決於血漿凝血系統之活性、血小板功能、纖維蛋白溶解或影響此等相互作用之許多因素。此檢定可提供二次止血之完整見解。

[0169] FVIII多肽及聚核苷酸序列為已知的, 許多功能性片段、突變體及修飾形式亦如此。人類FVIII序列(全長)之實例顯示為SEQ ID NO: 16或18中之子序列。

[0170]

表3. 全長FVIII (FVIII信號肽加下劃線；FVIII重鏈加雙下劃線；B結構域為斜體字；且FVIII輕鏈為普通文字)

信號肽：(SEQ ID NO: 15)

MQIELSTCFFLCLLRFCFS

成熟因子VIII (SEQ ID NO: 16)\*

ATRRYYLGAVELSDYMQSDLGELPVDARFPPRVPKSEPFNTSVVYKKTLEVEFTDHLFNIAPRPPWMGLL  
GPTIQAEVYDTEVVITLKNMASHEVSLHAVGVSYWKASEGAEYDDQTSOREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKEN  
GPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREGLAKEKTQTLHKETLLFAVEDEGKSWHSETKNSL  
MODRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLET  
SPITFLTAQITLLMDLGQFLLFCHLSSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVR  
DDDNSPSFIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLAPDDR SYKSOYLNNGPQRI GRKYKKVRFMAYT  
DETFKIREAIQHESGILGPLLYGEVGDITLLIIFKNOASRPYNIYPHGII DVRP LYSRRLPKGVKHLKDEPIL  
PGEIFKYKWTIVVEDGPTKSDPRCLTRYSSFEVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDORGNQIMSDKRNVI  
SVEDENRSWYLTFENIQRFENPAGVQLEDEEFOASNIMHSINGYVFDLQSVCLHEVAYWYILSIGAQTDF  
LSVFFSGYTFKHKMVEYEDLTLFFFSGETVEMSMENPGLNWLGHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGDY  
DSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFSONSRHPS TRQKQFNATFI PENDIEKTD PWF AHRTPMPKIQNVSSDLLM  
LLRQSPTPHGLSLSDLQEAKEYETFSDDPSPGAIDSMNSLSEMTHERPQLHHS GDMVFTPE SGLQLRLNEKLG  
TTAATELKKLDFKVSSTSNWLITSTPDRLAAGTDNTSSLGPPSMPVHYDSQLDITLFGKKSSPLTESGGPL  
SLSEENND SKLLESGLMNSQESSWQKVVSTESGRLEFKGKRAHPALLTKDNALFKVSTISLLKTKNTSNNSA  
TWRKTHIDGPSLLIENS PSVWQWILESDTEFKKVTPLIHDRMLMDKNATALRLNHSNKTTSSKNMEMVQOK  
KEGPIPPDAQNPDMSEFKMLFLPESARWIORTHGKNSLNSGQGPS PKQLVSLGPEKSVQGNFLSEKKNVVV  
GKGEFTKDVGLKEMVFPSSRNLEFLNLDNLHENNTNQEKKIQEEIEKKETLIQENVVLPQIHTVPTGKTFM  
KNLFLSTRQNVESYD GAYAPVLQDFRSLNDSINRTKHTAHFSKKGEEENLEGLGNQTKQIVEKYACTTR  
ISPNTSQQNFVTQRSKRALKQFRPLEEETELEKRIIVDDTSTQW SKNMKHLTPSTLTQIDYNEKEKGAITQS  
PLSDCLTRSHSIPQANRSPLPIAKVSSFP SIRPIYLTRVLFQDNSSHLPAAS YRKKDSEVQESSHFLOGAKK  
NNLSLAILTLEMTGDQREVGSLGTSATNSVTPYKVENTVLPKPDLPKTS GKVELLPKVHIYQKDLFPTETSN  
GPSGHLDLVEGSLLOGTEGAIKWNEANRPGKVPFLRVATESSAKTPSKLLDPLAWDNHYGTQIPKEEWSQE  
KSPKTAFAKKKDTILSLNACESNHATAAINEGQNKPEIETWAKQGRTERLCSQNPVPLKRHQREITRTTLQ  
SDQEEIDYDDTISVEMKKEFDIYDEDENQSPRSFOKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLRNRAQSGSVP  
QFKKVVFOEFTDGSFTQPLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVIFRNQASRPYSFYSSLSIYEEDQRQGA  
EPRKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYESD VLEKDVHSGLIGPLLCHTNTLNPAHGRQVT  
VQEFALFFTIIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYL  
LSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLP SKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFLV  
YSNKCQTPGLMASGHIRDFQITASGQYGQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPESWIKVDLLAPMIHGIKTQG  
ARQKFSLLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGIKHNI FNPIIARYIRLHPHTYSIRS  
TLRMELMGC DLNSCSMPLGME SKAISDAQITASSYFTNMEATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPEKWLQV  
DFQKTMKVTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVKVFEQGNQDSETPVVNSLDPPLLTR  
YLRHFPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY



表 4. 編碼全長 FVIII 之核苷酸序列 (SEQ ID NO: 17)\*

661					ATG CAAATAGAGC TCTCCACCTG
721	CTTCTTCTG	TGCCTTTTGC	GATTCTGCTT	TAGTGCCACC	AGAAGATACT ACCTGGGTGC
781	AGTGGAAGT	TCATGGGACT	ATATGCAAAG	TGATCTCGGT	GAGCTGCCTG TGGACGCAAG
841	ATTTCTCCT	AGAGTGCCAA	AATCTTTTCC	ATTCAACACC	TCAGTCGTGT ACAAAAAGAC
901	TCTGTTTGTA	GAATTCACGG	ATCACCTTTT	CAACATCGCT	AAGCCAAGGC CACCTGGAT
961	GGGTCGCTA	GGTCCTACCA	TCCAGGCTGA	GGTTTATGAT	ACAGTGGTCA TTACACTTAA
1021	GAACATGGCT	TCCCATCCTG	TCAGTCTTCA	TGCTGTTGGT	GTATCCTACT GGAAAGCTTC
1081	TGAGGGAGCT	GAATATGATG	ATCAGACCAG	TCAAAGGGAG	AAAGAAGATG ATAAAGTCTT
1141	CCCTGGTGG	AGCCATACAT	ATGTCGCGCA	GGTCCTGAAA	GAGAATGGTC CAATGGCCTC
1201	TGACCCACTG	TGCCTTACCT	ACTCATATCT	TTCTCATGTG	GACCTGGTAA AAGACTTGAA
1261	TTCAGGCCTC	ATTGGAGCCC	TACTAGTATG	TAGAGAAGGG	AGTCTGGCCA AGGAAAAGAC
1321	ACAGACCTTG	CACAAATTTA	TACTACTTTT	TGCTGTATTT	GATGAAGGGA AAAGTTGGCA
1381	CTCAGAAACA	AAGAACTCCT	TGATGCAGGA	TAGGGATGCT	GCATCTGCTC GGGCCTGGCC
1441	TAAAATGCAC	ACAGTCAATG	GTTATGTAAA	CAGGTCTCTG	CCAGGTCTGA TTGGATGCCA
1501	CAGGAAATCA	GTCTATTGGC	ATGTGATTGG	AATGGGCACC	ACTCCTGAAG TGCACCTAAT
1561	ATTCCTCGAA	GGTCACACAT	TTCTTGTGAG	GAACCATCGC	CAGGCGTCTT TGGAAATCTC



1621	GCCAATAACT	TTCCTTACTG	CTCAAACACT	CTTGATGGAC	CTTGGACAGT	TTCTACTGTT
1681	TTGTCATATC	TCTTCCCACC	AACATGATGG	CATGGAAGCT	TATGTCAAAG	TAGACAGCTG
1741	TCCAGAGGAA	CCCCAACTAC	GAATGAAAAA	TAATGAAGAA	GCGGAAGACT	ATGATGATGA
1801	TCTTACTGAT	TCTGAAATGG	ATGTGGTCAG	GTTTGAATGAT	GACAACTCTC	CTTCCITTTAT
1861	CCAAATTCGC	TCAGTTGCCA	AGAAGCATCC	TAAAACITGG	GTACATTACA	TTGCTGCTGA
1921	AGAGGAGGAC	TGGGACTATG	CTCCCTTAGT	CCTCGCCCCC	GATGACAGAA	GTTATAAAAAG
1981	TCAATATTTG	AACAATGGCC	CTCAGCGGAT	TGGTAGGAAG	TACAAAAAAG	TCCGATTTAT
2041	GGCATAACACA	GATGAAACCT	TTAAGACTCG	TGAAGCTATT	CAGCATGAAT	CAGGAATCTT
2101	GGGACCTTTA	CTTTATGGGG	AAGTTGGAGA	CACACTGTTG	ATTATATTTA	AGAATCAAGC
2161	AAGCAGACCA	TATAACATCT	ACCCTCACGG	AATCACTGAT	GTCCGTCCTT	TGTATTCAAG
2221	GAGATTACCA	AAAGGTGTAA	AACATTTGAA	GGATTTTCCA	ATTCTGCCAG	GAGAAATATT
2281	CAAATATAAA	TGGACAGTGA	CTGTAGAAGA	TGGGCCAACT	AAATCAGATC	CTCGGTGCCT
2341	GACCCGCTAT	TACTCTAGTT	TCGTTAATAT	GGAGAGAGAT	CTAGCTTCAG	GACTCATTGG
2401	CCCTCTCCTC	ATCTGCTACA	AAGAATCTGT	AGATCAAAGA	GGAAACCAGA	TAATGTCAGA
2461	CAAGAGGAAT	GTCATCCTGT	TTTCTGTATT	TGATGAGAAC	CGAAGCTGGT	ACCTCACAGA
2521	GAATATACAA	CGCTTTCTCC	CCAATCCAGC	TGGAGTGCAG	CTTGAGGATC	CAGAGTTCCA
2581	AGCCTCCAAC	ATCATGCACA	GCATCAATGG	CIATGTTTTT	GATAGTTTGC	AGTTGTCAGT
2641	TTGTTTGCAT	GAGGTGGCAT	ACTGGTACAT	TCTAAGCATT	GGAGCACAGA	CTGACTTCCT
2701	TTCTGTCTTC	TTCTCTGGAT	ATACCTTCAA	ACACAAAATG	GTCTATGAAG	ACACACTCAC
2761	CCATTTCCCA	TTCTCAGGAG	AAACTGICTT	CATGTCGAIG	GAAAACCCAG	GTCTATGGAT
2821	TCTGGGGTGC	CACAACTCAG	ACTTTCGGAA	CAGAGGCATG	ACCGCCTTAC	TGAAGGTTTC
2881	TAGTTGTGAC	AAGAACACTG	GTGATTATTA	CGAGGACAGT	TATGAAGATA	TTTCAGCATA
2941	CTTGCTGAGT	AAAAACAATG	CCATTGAACC	AAGAAGCTTC	TCCCAGAAIT	CAAGACACCC
3001	TAGCACTAGG	CAAAAGCAAT	TTAATGCCAC	CACAATTCCA	GAAAATGACA	TAGAGAAGAC
3061	TGACCCTTGG	TTTGCACACA	GAACACCTAT	GCCTAAAATA	CAAAATGICT	CCTCTAGTGA
3121	TTTGTTGATG	CTCTTGCGAC	AGAGTCCYAC	TCCACATGGG	CTATCCTIAT	CTGATCTCCA
3181	AGAAGCCAAA	TATGAGACTT	TTTCTGATGA	TCCATCACCT	GGAGCAATAG	ACAGTAATAA
3241	CAGCCTGTCT	GAAATGACAC	ACTTCAGGCC	ACAGCTCCAT	CACAGTGGGG	ACATGGTATT
3301	TACCCCTGAG	TCAGGCCCTCC	AATTAAGATT	AAATGAGAAA	CTGGGGACAA	CTGCAGCAAC
3361	AGAGTTGAAG	AAACTTGATT	TCAAAGTTTC	TAGTACATCA	AATAATCTGA	TTTCAACAAT
3421	TCCATCAGAC	AATTTGGCAG	CAGGTACTGA	TAATACAAGT	TCCTTAGGAC	CCCCAAGIAT
3481	GCCAGTTCAT	TATGATAGTC	AATTAGATAC	CACICTIATTI	GGCAAAAAGT	CATCTCCCCT
3541	TACTGAGTCT	GGTGGACCTC	TGAGCTTGAG	TGAAGAAAAT	AATGATTCAA	AGTTGTTAGA
3601	ATCAGGTTTA	ATGAATAGCC	AAGAAAGTTC	ATGGGGAAAA	AATGTATCGT	CAACAGAGAG
3661	TGGTAGGTTA	TTTAAAGGGA	AAAGAGCTCA	TGGACCTGCT	TTGTTGACTA	AAGATAATGC
3721	CITATTCAAA	GTTAGCATCT	CTTTGTTAAA	GACAAACAAA	ACTTCCAATA	ATTCAGCAAC
3781	TAATAGAAAG	ACTCACATTG	ATGGCCCATC	ATTATTAATT	GAGAATAGTC	CATCAGTCTG
3841	GCAAAATATA	TTAGAAAAGTG	ACACTGAGTT	TAAAAAAGTG	ACACCTTTGA	TTTATGACAG
3901	AATGCTTATG	GACAAAAATG	CTACAGCTTT	GAGGCTAAAT	CATATGTCAA	ATAAACTAC
3961	TTCATCAAAA	AACATGGAAA	TGFTCCAACA	GAAAAAAGAG	GGCCCCATT	CACCAGATGC
4021	ACAAAATCCA	GATATGTCGT	TCTTTAAGAT	GCTATTCTTG	CCAGAATCAG	CAAGGIGGAT
4081	ACRAAGGACT	CATGGAAAGA	ACTCTCTGAA	CTCTGGGCCAA	GGCCCCAGTC	CAAAGCAATT
4141	AGTATCCTTA	GGACCAGAAA	AATCTGTGGA	AGGTGAGAAAT	TTCTTGTCTG	AGAAAAACAA
4201	AGTGGTAGTA	GGAAAGGGTG	AATTTACAAA	GGACGTAGGA	CTCAAAGAGA	TGGTTTTTCC
4261	AAGCAGCAGA	AACCTATTTT	TTACTAACTT	GGATAATTTA	CATGAAAATA	ATACACACAA
4321	TCAAGAAAAA	AAAATTCAGG	AAGAAATAGA	AAAGAAGGAA	ACATTAATCC	AAGAGAATGT
4381	AGTTTTGCCT	CAGATACATA	CAGTGACTGG	CACTAAGAAT	TTCATGAAGA	ACCTTTTCTT
4441	ACTGAGCACT	AGGCAAAAATG	TAGAAGGTTT	ATATGACGGG	GCATATGCTC	CAGTACTTCA
4501	AGATTTTAGG	TCATTAATG	ATTCAACAAA	TAGAACAAAG	AAACACACAG	CTCATTTCTC
4561	AAAAAAGGG	GAGGAAGAAA	ACTTGGAAAG	CTTGGGAAAT	CAAACCAAGC	AAATTGTAGA
4621	GAAATATGCA	TGCACCACAA	GGATATCTCC	TAATACAAGC	CAGCAGAATT	TTGTCACGCA
4681	ACGTAGTAAG	AGAGCTTTGA	AACAATTCAG	ACTCCCACTA	GAAGAAACAG	AACTTGAAAA
4741	AAGGATAATT	GTGGATGACA	CCTCAACCCA	GTGGTCCAAA	AACATGAAAC	ATTTGACCCC
4801	GAGCACCTTC	ACACAGATAG	ACTACAATGA	GAAGGAGAAA	GGGGCCATTA	CTCAGTCTCC
4861	CTTATCAGAT	TGCCTTACGA	GGAGTCATAG	CATCCCTCAA	GCAAATAGAT	CTCCATTACC
4921	CATTGCAAG	GTATCATCAT	TTCCATCTAT	TAGACCTATA	TATCTGACCA	GGGTCTTATT
4981	CCAAGACAAC	TCTTCTCATC	TTCAGCAGC	ATCTTATAGA	AAGAAAGATT	CTGGGGTCCA



```

5041 AGAAAGCAGT CATTCTTAC AAGGAGCCAA AAAAAATAAC CTTTCTTTAG CCATTCTAAC
5101 CTTGGAGATG ACTGGTGATC AAAGAGAGGT TGGCTCCCTG GGGACAAGTG CCACAAATTC
5161 AGTCACATAC AAGAAAGTTG AGAACACTGT TCTCCCGAAA CCAGACTTGC CCAAAACATC
5221 TGGCAAAGTT GAATTGCTTC CAAAAGTTCA CATTITATCAG AAGGACCTAT FCCCTACGGA
5281 AACTAGCAAT GGGTCTCCTG GCCATCTGGA TCTCGTGGAA GGGAGCCTTC TTCAGGGAAC
5341 AGAGGGAGCG ATTAAGTGGG ATGAAGCAAA CAGACCTGGA AAAGTTCCCT TTCTGAGAGT
5401 AGCAACAGAA AGCTCTGCAA AGACTCCCTC CAAGCTATTG GATCCCTTG CTTGGGATAA
5461 CCACTATGGT ACTCAGATAC CAAAAGAAGA GTGGAAATCC CAAGAGAAGT CACCAGAAAA
5521 AACAGCTTTT AAGAAAAAGG ATACCATTTT GTCCCTGAAAC GCTTGTGAAA GCAATCATGC
5581 AATAGCAGCA ATAAATGAGG GACAAAATAA GCCCGAAATA GAAGTCACCT GGGCAAAGCA
5641 AGGTAGGACT GAAAGGCTGT GCTCTCAAAA CCCACCAGTC TTGAAACGCC ATCAACGGGA
5701 AATAACTCGT ACTACTCTTC AGTCAGATCA AGAGGAAATT GACTATGATG ATACCATATC
5761 AGTTGAAATG AAGAAGGAAG ATTTTGACAT TTATGATGAG GATGAAAATC AGAGCCCCCG
5821 CAGCTTTCAA AAGAAAACAC GACACTATTT TATTGCTGCA GTGGAGAGGC TCTGGGATTA
5881 TGGGATGAGT AGCTCCCCAC ATGTTCTAAG AAACAGGGCT CAGAGTGGCA GTGTCCCTCA
5941 GTTCAAGAAA GTTGTITTTCC AGGAATTTAC TGATGGCTCC TTTACTCAGC CCTTATACCG
6001 TGGAGAACTA AATGAACATT TGGGACTCCT GGGGCCATAT ATAAGAGCAG AAGTTGAAGA
6061 TAATATCATG GTAACITTTCA GAAATCAGGC CTCTCGTCCC TATTCCTTCT ATTCTAGCCT
6121 TATTTCTTAT GAGGAAGATC AGAGGCAAGG AGCAGAACCT AGAAAAAACT TTGTCAAGCC
6181 TAATGAAACC AAAACTTACT TTTGGAAAGT GCAACATCAT ATGGCACCCA CTAAAGATGA
6241 GTTIGACTGC AAAGCCTGGG CTTATTTCTC TGATGTTGAC CTGGAAAAAG ATGTGCACTC
6301 AGGCCTGATT GGACCCCTTC TGGTCTGCCA CACTAACACA CTGAACCCCTG CTCATGGGAG
6361 ACAAGTGACA GTACAGGAAT TTGCTCTGTT TTTACCATC TTTGATGAGA CCAAAAGCTG
6421 GTRACTCACT GAAAATATGG AAAGAAACTG CAGGGCTCCC TGCAATATCC AGATGGAAGA
6481 TCCCACITTT AAAGAGAATT ATCGCTTCCA TGCAATCAAT GGCTACATAA TGGATACACT
6541 ACCTGGCTTA GTAATGGCTC AGGATCAAAG GATTTCGATG TATCTGCTCA GCATGGGCAG
6601 CAATGAAAAC ATCCATTCTA TTCATTTTCA TGGACATGTG TTCACITGAC GAAAAAAGA
6661 GGAGTATAAA ATGGCACTGT ACAATCTCTA FCCAGGTGTT TTTGAGACAG TGGAAATGTT
6721 ACCATCCAAA GCTGGAATTT GGCGGGTGGA ATGCCTTATT GGCAGCATC TACATGCTGG
6781 GATGAGCACA CTTTTTCTGG TGTACAGCAA TAAGTGTGAG ACTCCCTGG GAATGGCTTC
6841 TGGACACATT AGAGATTTTC AGATTACAGC TTCAGGACAA TATGGACAGT GGGCCCCAAA
6901 GCTGGCCAGA CTTCAATATT CCGGATCAAT CAATGCCTGG AGCACCAAGG AGCCCTTTTC
6961 TTGGATCAAG GTGGATCTGT TGGCACCAAT GATTATTCAC GGCATCAAGA CCCAGGGTGC
7021 CCGTCAGAAG TTCTCCAGCC TCTACATCTC TCAGTTTATC ATCATGTATA GTCTTGATGG
7081 GAAGAAGTGG CAGACTTATC GAGGAAATTC CACTGGAACC TTAATGGTCT TCTTTGGCAA
7141 TGFGGATFCA TCTGGGATAA AACACAAAT ATTTAACCTT CCAATTATTG CTCGATACAT
7201 CCGTTTGCAC CCAACTCATT ATAGCATTCG CAGCACTCTT CGCATGGAGT TGATGGGCTG
7261 TGATTTAAAT AGTTGCAGCA TGCCATTGGG AATGGAGAGT AAAGCAATAT CAGATGCACA
7321 GATTACTGCT TCATCCTACT TTACCAATAT GTTTGCCACC TGGTCTCCTT CAAAAGCTCG
7381 ACTTCACCTC CAAGGGAGGA GTAATGCCTG GAGACCTCAG GTGAATAATC CAAAAGAGTG
7441 GCTGCAAGTG GACTTCCAGA AGACAATGAA AGTCACAGGA GTAACTACTC AGGGAGTAAA
7501 ATCTCTGCTT ACCAGCATGT ATGTGAAGGA GTTCCTCATC TCCAGCAGTC AAGATGGCCA
7561 TCAGTGGACT CTCTTTTTTC AGAATGGCAA AGTAAAGGTT TTTCAGGGAA ATCAAGACTC
7621 CTTACACCTT GTGGTGAAC CTCTAGACCC ACCGTTACTG ACTCGCTACC TTCGAATTCA
7681 CCCCAGAGT TGGGTGCACC AGATTGCCCT GAGGATGGAG GTTCTGGGCT GCGAGGCACA
7741 GGACCTCTAC

```

\*加下劃線之核酸編碼信號肽。

[0171] FVIII多肽包括全長FVIII、在N端減去Met之全長FVIII、成熟FVIII (減去信號序列)、在N端具有另一Met之成熟FVIII及/或具有B結構域之完全或部分缺失之FVIII。在某些實施例中，FVIII變異體包括B結構域缺失，存在部分或完全缺失。



[0172] 人類 FVIII 基因經分離且表現於哺乳動物細胞中 (Toole, J. J. 等人, *Nature* 312:342-347 (1984) ; Gitschier, J. 等人, *Nature* 312:326-330 (1984) ; Wood, W. I. 等人, *Nature* 312:330-337 (1984) ; Vehar, G. A. 等人, *Nature* 312:337-342 (1984) ; WO 87/04187 ; WO 88/08035 ; WO 88/03558 ; 及美國專利第 4,757,006 號)。如美國專利第 4,965,199 號中所示, 自 cDNA 推導 FVIII 胺基酸序列。另外, 部分或完全 B 結構域缺失之 FVIII 示於美國專利第 4,994,371 號及第 4,868,112 號中。在一些實施例中, 人類 FVIII B 結構域經人類因子 V B 結構域置換, 如美國專利第 5,004,803 號中所示。編碼人類因子 VIII 之 cDNA 序列及胺基酸序列分別示於美國專利第 7,211,559 號之 SEQ ID NO: 1 及 2 中。

[0173] 豬 FVIII 序列公開於 Toole, J. J. 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:5939-5942 (1986) 中。此外, 自來自豬脾 cDNA 文庫之 FVIII 序列之 PCR 擴增獲得的完整豬 cDNA 序列已報導於 Healey, J. F. 等人, *Blood* 88:4209-4214 (1996) 中。具有所有結構域、所有亞單位及特定胺基酸序列之取代的雜交人類/豬 FVIII 揭示於 Lollar 及 Runge 之美國專利第 5,364,771 號中以及 WO 93/20093 中。近來, 豬 FVIII 之 A1 及 A2 結構域以及具有用豬 A1 及/或 A2 結構域取代相應人類結構域之嵌合 FVIII 之核苷酸及相應胺基酸序列報導於 WO 94/11503 中。Lollar, J. S. 之美國專利第 5,859,204 號亦揭示豬 cDNA 及推導之胺基酸序列。美國專利第



6,458,563號揭示B結構域缺失之豬FVIII。

[0174] Lollar, J. S.之美國專利第5,859,204號報導具有降低之抗原性及降低之免疫反應性的FVIII之功能突變體。Lollar, J. S.之美國專利第6,376,463號亦報導具有降低之免疫反應性之FVIII突變體。Saenko等人之美國申請公開案第2005/0100990號報導FVIII之A2結構域中之功能突變。

[0175] 在一個實施例中，FVIII蛋白(或嵌合蛋白之FVIII部分)可與SEQ ID NO: 18之胺基酸1至1438或SEQ ID NO: 16 (不具有信號序列)之胺基酸1至2332之FVIII胺基酸序列具至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性，其中該FVIII具有凝血活性，例如，活化作為輔因子之因子IX以將因子X轉化為活化因子X。FVIII (或嵌合蛋白之FVIII部分)可與SEQ ID NO: 18之胺基酸1至1438或SEQ ID NO: 16 (不具有信號序列)之胺基酸1至2332之FVIII胺基酸序列一致。FVIII蛋白可進一步包含信號序列。

[0176] 如本文所用，FVIII之「B結構域」與此項技術中已知由內部胺基酸序列一致性及蛋白水解裂解位點界定之B結構域相同，例如，全長人類FVIII之殘基Ser741-Arg1648。其他人類FVIII結構域係由以下胺基酸殘基界定：A1，殘基Ala1-Arg372；A2，殘基Ser373-Arg740；A3，殘基Ser1690-Asn2019；C1，殘基Lys2020-Asn2172；C2，殘基Ser2173-Tyr2332。A3-C1-C2序列包括殘基

Ser1690-Tyr2332。其餘序列(殘基 Glu1649-Arg1689)通常稱為 a3 酸性區域。所有結構域(包括豬、小鼠及犬 FVIII 之 B 結構域)之邊界位置亦為此項技術中已知。在一個實施例中，FVIII 之 B 結構域缺失(「B 結構域缺失之因子 VIII」或「BDD FVIII」)。BDD FVIII 之實例為 REFACTO<sup>®</sup> (重組 BDD FVIII)，其具有與表 5 中之序列之因子 VIII 部分相同的序列。(BDD FVIII 重鏈加雙下劃線；B 結構域為斜體字；且 BDD FVIII 輕鏈為普通文字)。

表 5. BDD FVIII (SEQ ID NO: 18)

ATRRYYLGAVELSWDYMOSDLGELPVDAREPPRVPKSEFENTSVVYKKTLFVEFTDHLFNIAPRPPWMGLL  
GPTIQAEVYDVTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYDDQTSOREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKEN  
GPMSDFLCLTYSYLSHVLDLVKDLNSGLIGALLVCREGLAKEKIQTLHKFILLEAVFDEGKSWHSETKNSL  
MQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSYYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEI  
SPITELTAQTLMLDLGQFLLECHISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVR  
DDNSPSPFIQIRSVAKKHPKIVVHYIAEEEDWDYAPLVLA PDDRSYKSOYLNNGPORIGRKYKKVRFMAYT  
DEFKKTREAIQHESGILGPLYGEGVDTLIIIFKNQASRFYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPIL  
PGEIFKYKWTIVTEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQORGNOIMSDKRNVI  
SVFDENRSWYLTEINIORFLPNPAGVOLEDPEFOASNIMHSINGYVFDLSLQSVCLHEVAYWYILSIGAQTDF  
LSVFFSGYTFKHKMYEDILILEPFSGETVEMSMENPGLWILGCHNSDFERNRGMIALLKVSSCDKNTGDY  
DSYEDISAYLLSKNNAIEPRFSQNPVLRHOREITRITLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDEFIDEDENQ  
SPRSEQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVQFQKVVVFQFTDGSFTQPLYRGELNEHLGL  
LGPIYRAEVEDNIMVIFRNQASRPYSFYSSLSYEEDQRQGAEPKNEFKPNETKTYFWKVQHMAPTKDEF  
DCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTENMERNCRAP  
CNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMA  
LYNLYPGVFEETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLELVYSNKCQIPLGMASGHIRDFQITASGQYQW  
APKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIHGIKIQGARQKFS SLYISQFTIMYSLDGKKWQTYRGN  
STGTLMVFEFQVNDSSGIKHNI FNPP IARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGC DLNSCSMPLGME SKAISDAQI

TASSYFTNMFAIWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTKMKTGVITQGVKSLTSMYVKEFLI  
 SSSQDGHQWTLFQNGKVKVYFQGNQDSFTPVVNSLDPFLTRYLRHQPQSWVHQIALRMEVLGCEAODLY



表 6. 編碼 BDD FVIII 之核苷酸序列 (SEQ ID NO: 19)\*

661				A	TGCAAATAGA	GCTCTCCACC	TGCTTCTTTC
721	TGTGCCTTTT	GCGATTCTGC	TTTAGTGCCA	CCAGAAGATA	CTACCTGGGT	GCAGTGGAAC	
781	TGTCATGGGA	CTATATGCAA	AGTGATCTCG	GTGAGCTGCC	TGTGGACGCA	AGATTTCCTC	
841	CTAGAGTGCC	AAAATCTTTT	CCATTCAACA	CCTCAGTCGT	GTACAAAAAG	ACTCTGTTTG	
901	TAGAATTCAC	GGATCACCTT	TTCAACATCG	CTAAGCCAAG	GCCACCCTGG	ATGGGTCTGC	
961	TAGGTCCTAC	CATCCAGGCT	GAGGTTTATG	ATACAGTGGT	CATTACACTT	AAGAACAIGG	
1021	CTTCCCATCC	TGTCAGTCTT	CATGCTGTTG	GTGTATCTTA	CTGGAAAGCT	TCTGAGGGAG	
1081	CTGAATATGA	TGATCAGACC	AGTCAAAGGG	AGAAAGAAGA	TGATAAAGTC	TTCCCTGGTG	
1141	GAAGCCATAC	ATATGTCTGG	CAGGTCTCTGA	AAGAGAATGG	TCCAATGGCC	TCTGACCCAC	
1201	TGTGCCTTAC	CTACTCATAT	CTTTCTCATG	TGGACCTGGT	AAAAGACTTG	AATTCAGGCC	
1261	TCATTGGAGC	CCTACTAGTA	TGTAGAGAAG	GGAGTCTGGC	CAAGGAAAAG	ACACAGACCT	
1321	TGCACAAATT	TAFACTACTT	TTTGTGTAT	TTGATGAAGG	GAAAAGTTGG	CACTCAGAAA	
1381	CAAAGAACTC	CTTGATGCAG	GATAGGGATG	CTGCATCTGC	TCGGGCCTGG	CCTAAAATGC	
1441	ACACAGTCAA	TGGTTATGTA	AACAGGTCTC	TGCCAGGTCT	GATTGGATGC	CACAGGAAAT	
1501	CAGTCTATTG	GCATGTGATT	GGAAATGGCA	CCACTCCTGA	AGTGCACICA	ATAATCCTCG	
1561	AAGGTCACAC	ATTTCTTGTG	AGGAACCATC	GCCAGGCGTC	CTTGGAAATC	TCGCCAATAA	
1621	CTTTCCTTAC	TGCTCAAACA	CTCTTGATGG	ACCTTGGACA	GTTTCTACTG	TTTTGTGATA	
1681	TCTCTTCCCA	CCAACATGAT	GGCATGGAAG	CTTATGTCAA	AGTAGACAGC	TGTCCAGAGG	
1741	AACCCCAACT	ACGAATGAAA	AATAATGAAG	AAGCGGAAGA	CTATGATGAT	GATCTTACTG	
1801	ATTCIGAAAT	GGATGTGGTC	AGGTTTGAIG	ATGACAACIC	TCCTTCCTTT	ATCCAAATTC	
1861	GCTCAGTTGC	CAAGAAGCAT	CCTAAAACCT	GGGTACATTA	CATTGCTGCT	GAAGAGGAGG	
1921	ACTGGGACTA	TGCTCCCTTA	GTCCTCGCCC	CCGATGACAG	AAGTTATAAA	AGTCAATATT	
1981	TGAACAATGG	CCCTCAGCGG	ATTGGTAGGA	AGTACAAAAA	AGTCCGATTT	ATGGCATAACA	
2041	CAGATGAAAC	CTTTAAGACT	CGTGAAGCTA	TTCAGCATGA	ATCAGGAATC	TTGGGACCTT	
2101	TACTTTATGG	GGAAGTTGGA	GACACACTGT	TGATTATATT	TAAGAATCAA	GCAAGCAGAC	
2161	CATATAACAT	CTACCCTCAC	GGAACTACTG	ATGTCCGTCC	TTTGTATTCA	AGGAGATTAC	
2221	CAAAAGGTGT	AAAACATTTG	AAGGATTTTC	CAATTCTGCC	AGGAGAAATA	TTCAAATATA	
2281	AATGGACAGT	GACTGTAGAA	GATGGGCCAA	CTAAATCAGA	TCCTCGGTGC	CTGACCCGCT	
2341	ATTACTCTAG	TTTCGTTAAT	ATGGAGAGAG	ATCTAGCTTC	AGGACTCATT	GGCCCTCTCC	
2401	TCATCTGCTA	CAAAGAATCT	GTAGATCAAA	GAGGAAACCA	GATAATGTCA	GACAAGAGGA	
2461	ATGTCATCCT	GTTTTCTGTA	TTTGATGAGA	ACCGAAGCTG	GTACCTCACA	GAGAATATAC	
2521	AACGCTTTCT	CCCCAATCCA	GCTGGAGTGC	AGCTTGAGGA	TCCAGAGTTC	CAAGCCTCCA	
2581	ACATCATGCA	CAGCATCAAT	GGCTATGTTT	TTGATAGTTT	GCAGTTGTCA	GTTTGTGTTG	
2641	ATGAGGTGGC	ATACTGGTAC	ATTCIAAGCA	TTGGAGCACA	GACTGACTTC	CTTICTGTCT	
2701	TCTTCTCTGG	ATATACCTTC	AAACACAAAA	TGGTCTATGA	AGACACACTC	ACCCTATTCC	
2761	CATTCTCAGG	AGAAACTGTC	TTTATGTCTG	TGGAAAACCC	AGGTCTATGG	ATTCTGGGGT	
2821	GCCACAACCTC	AGACTTTCGG	AACAGAGGCA	TGACCGCCTT	ACTGAAGGTT	TCTAGTTGTG	
2881	ACAAGAACAC	TGGTGATTAT	TACGAGGACA	GTTATGAAGA	TATTTAGCA	TACTTGCTGA	
2941	GTAAAAACAA	TGCCATTGAA	CCAAGAAGCT	TCTCTCAAAA	CCCACCAGTC	TTGAAACGCC	
3001	ATCAACGGGA	AATAACTCGT	ACTACTCTTC	AGTCAGATCA	AGAGGAAATT	GACTATGATG	
3061	ATACCATAATC	AGTTGAAATG	AAGAAGGAAG	ATTTTGACAT	TTATGATGAG	GATGAAAATC	
3121	AGAGCCCCCG	CAGCTTTCAA	AAGAAAACAC	GACACTATTT	TATTGCTGCA	GTGGAGAGGC	
3181	TCTGGGATTA	TGGGATGAGT	AGCTCCCCAC	ATGTTCTAAG	AAACAGGGCT	CAGAGTGGCA	
3241	GTGTCCCTCA	GTTCAAGAAA	GTTGTTTTCC	AGGAATTTAC	TGATGGCTCC	TTTACTCAGC	
3301	CCTTATACCG	TGGAGAACIA	AATGAACAT	TGGGACTCCT	GGGGCCATAI	ATAAGAGCAG	
3361	AAGTTGAAGA	TAATATCATG	GTAACCTTCA	GAAATCAGGC	CTCTCGTCCC	TATTCCTTCT	
3421	ATTCTAGCCT	TATTTCTTAT	GAGGAAGATC	AGAGGCAAGG	AGCAGAACCT	AGAAAAACT	
3481	TTGTCAAGCC	TAATGAAACC	AAAACCTTACT	TTTGGAAAGT	GCAACATCAT	ATGGCACCCA	
3541	CTAAAGATGA	GTTTACTGTC	AAAGCCTGGG	CTTATTTCTC	TGATGTTGAC	CTGGAAAAAG	
3601	ATGTGCACTC	AGGCCTGATT	GGACCCCTTC	TGGTCTGCCA	CACTAACACA	CTGAACCCTG	
3661	CTCATGGGAG	ACAAGTGACA	GTACAGGAAT	TTGCTCTGTT	TTTCACCATC	TTTATGAGAG	
3721	CCAAAAGCTG	GTACTTCACT	GAAAATATGG	AAAGAACTG	CAGGGCTCCC	TGCAATATCC	



```

3781 AGATGGAAGA TCCCACTTTT AAAGAGAATT ATCGCTTCCA TGCAATCAAT GGCTACATAA
3841 TGGATACACT ACCTGGCTTA GTAATGGCTC AGGATCAAAG GATTCGATGG TATCTGCTCA
3901 GCATGGGCAG CAATGAAAAC ATCCATTCTA TTCATTTTCTG TGGACATGTG TTCACTGTAC
3961 GAAAAAAGA GGAGTATAAA ATGGCACTGT ACAATCTCTA TCCAGGTGTT TTTGAGACAG
4021 TGGAAATGTT ACCATCCAAA GCTGGAATTT GCGGGTGGGA ATGCCTTATT GCGGAGCATC
4081 TACATGCTGG GATGAGCACA CTTTTCTGG TGTACAGCAA TAAGTGTGAG ACTCCCCTGG
4141 GAATGGCTTC TGGACACATT AGAGATTTTC AGATTACAGC TTCAGGACAA TATGGACAGT
4201 GGGCCCCAAA GCTGGCCAGA CTTCAATATT CCGGATCAAT CAATGCCTGG AGCACCAAGG
4261 AGCCCTTTTC TTGGATCAAG GTGGATCTGT TGGCACCAAT GATTATTAC GGCATCAAGA
4321 CCCAGGGTGC CCGTCAGAAG TTCTCCAGCC TCTACATCTC TCAGTTTATC ATCATGTATA
4381 GTCTTGATGG GAAGAAGTGG CAGACTTATC GAGGAAATTC CACTGGAACC TTAATGGTCT
4441 TCTTTGGCAA TGTGGATTCA TCTGGGATAA AACACAATAT TTTTAACCCT CCAATTATTG
4501 CTCGATACAT CCGTTTGCAC CCAACTCATT ATAGCATTGG CAGCACTCTT CGCATGGAGT
4561 TGATGGGCTG TGATTAAAT AGTTGCAGCA TGCCATTGGG AATGGAGAGT AAAGCAATAT
4621 CAGATGCACA GATTACTGCT TCATCCTACT TTACCAATAT GTTTGCCACC TGGTCTCCTT
4681 CAAAAGCTCG ACTTCACCTC CAAGGGAGGA GTAATGCTTG GAGACCTCAG GTGAATAATC
4741 CAAAAGAGTG GCTGCAAGTG GACTTCCAGA AGACAATGAA AGTCACAGGA GTAACTACTC
4801 AGGGAGTAAA ATCTCTGCTT ACCAGCATGT ATGTGAAGGA GTTCCTCATC TCCAGCAGTC
4861 AAGATGGCCA TCAGTGGACT CTCTTTTTTC AGAATGGCAA AGTAAAGGTT TTTGAGGAA
4921 ATCAAGACTC CTTACACCT GTGGTGAAC CTCTAGACCC ACCGTTACTG ACTCGCTACC
4981 TTCGAATTCA CCCCAGAGT TGGGTGCACC AGATTGCCCT GAGGATGGAG GTTCTGGGCT
5041 GCGAGGCACA GGACCTCTAC

```

\*加下劃線之核酸編碼信號肽。

[0177] 「B結構域缺失之FVIII」可具有美國專利第6,316,226號、第6,346,513號、第7,041,635號、第5,789,203號、第6,060,447號、第5,595,886號、第6,228,620號、第5,972,885號、第6,048,720號、第5,543,502號、第5,610,278號、第5,171,844號、第5,112,950號、第4,868,112號及第6,458,563號中所揭示之完全或部分缺失。在一些實施例中，本發明之B結構域缺失之FVIII序列包含美國專利第6,316,226號(亦於US 6,346,513中)之第4欄第4行至第5欄第28行及實例1-5中所揭示之缺失中的任一者。在另一實施例中，B結構域缺失之因子VIII為S743/Q1638 B結構域缺失之因子VIII (SQ BDD FVIII) (例如，具有胺基酸744至胺基酸1637之缺失之因子VIII，例如，具有SEQ ID NO: 16之胺基酸1-743及胺基酸1638-2332之因子VIII，亦即，SEQ ID NO: 18)。在一



些實施例中，本發明之B結構域缺失之FVIII具有在美國專利第5,789,203號(以及US 6,060,447、US 5,595,886及US 6,228,620)之第2欄第26-51行及實例5-8中揭示之缺失。在一些實施例中，B結構域缺失之因子VIII具有美國專利第5,972,885號之第1欄第25行至第2欄第40行；美國專利第6,048,720號之第6欄第1-22行及實例1；美國專利第5,543,502號之第2欄第17-46行；美國專利第5,171,844號之第4欄第22行至第5欄第36行；美國專利第5,112,950號之第2欄第55-68行、圖2及實例1；美國專利第4,868,112號之第2欄第2行至第19欄第21行及表2；美國專利第7,041,635號之第2欄第1行至第3欄第19行、第3欄第40行至第4欄第67行、第7欄第43行至第8欄第26行及第11欄第5行至第13欄第39行；或美國專利第6,458,563號之第4欄第25-53行中所述之缺失。

[0178] 在一些實施例中，B結構域缺失之FVIII具有大部分B結構域之缺失，但仍包含對於將主要轉譯產物活體內蛋白水解加工成兩個多肽鏈所必需之B結構域之胺基末端序列，如WO 91/09122中所揭示。在一些實施例中，B結構域缺失之FVIII經構築具有胺基酸747-1638之缺失，亦即，B結構域之幾乎完全缺失。Hoeben R.C.等人，*J. Biol. Chem.* 265 (13): 7318-7323 (1990)。B結構域缺失之因子VIII亦可包含FVIII之胺基酸771-1666或胺基酸868-1562之缺失。Meulien P.等人，*Protein Eng.* 2(4): 301-6 (1988)。作為本發明之部分的其他B結構域缺失包括：胺

基酸 982至 1562或 760至 1639 (Toole等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1986) 83, 5939-5942))、797至 1562 (Eaton等人, *Biochemistry* (1986) 25:8343-8347))、741至 1646 (Kaufman (PCT公開申請案第 WO 87/04187號))、747-1560 (Sarver等人, *DNA* (1987) 6:553-564))、741至 1648 (Pasek (PCT申請案第 88/00831號))或 816至 1598 或 741至 1648 (Lagner (Behring Inst. Mitt. (1988) No 82:16-25, EP 295597))之缺失。在其他實施例中, BDD FVIII包括包含保留一或多個N連接糖基化位點(例如, 殘基 757、784、828、900、963或視情況 943, 其對應於全長FVIII序列之胺基酸序列)之B結構域片段之FVIII多肽。B結構域片段之實例包括B結構域之226個胺基酸或163個胺基酸, 如 Miao, H.Z.等人, *Blood* 103(a): 3412-3419 (2004); Kasuda, A等人, *J. Thromb. Haemost.* 6: 1352-1359 (2008); 及 Pipe, S.W.等人, *J. Thromb. Haemost.* 9: 2235-2242 (2011)中所揭示(亦即, B結構域之前226個胺基酸或163個胺基酸得以保留)。在一些實施例中, 具有部分B結構域之FVIII為FVIII198。FVIII198為含有單鏈FVIII Fc分子-226N6之部分B結構域。226表示FVIII B結構域之N端226胺基酸, 且N6表示B結構域中之六個N糖基化位點。在其他實施例中, BDD FVIII進一步包含殘基309處之點突變(Phe至Ser)以改良BDD FVIII蛋白之表現。參見 Miao, H.Z.等人, *Blood* 103(a): 3412-3419 (2004)。在其他實施例中, BDD FVIII包括包含B結構域之一部分的FVIII多肽, 但不包含一或多



個 furin 裂解位點 (例如, Arg1313 及 Arg 1648)。參見 Pipe, S.W. 等人, *J. Thromb. Haemost.* 9: 2235-2242 (2011)。在任何 FVIII 序列中可進行各前述缺失。

[0179] 可用於本發明中之 FVIII 蛋白可包括其中具有一或多個其他異源序列或化學或物理修飾之 FVIII, 其不影響 FVIII 凝血活性。此等異源序列或化學或物理修飾可與 FVIII 蛋白之 C 端或 N 端融合或插入 FVIII 蛋白中之兩個胺基酸殘基中之一或多者之間。FVIII 蛋白中之此等插入不影響 FVIII 凝血活性或 FVIII 功能。在一個實施例中, 插入可改良 FVIII 蛋白之藥物動力學特性 (例如, 半衰期)。在另一實施例中, 插入可超過兩個、三個、四個、五個或六個位點。

[0180] 在一個實施例中, FVIII 在胺基酸 1648 (在全長因子 VIII 或 SEQ ID NO: 16 中)、胺基酸 754 (在 S743/Q1638 B 結構域缺失之因子 VIII 或 SEQ ID NO: 16 中) 或相應精胺酸殘基 (在其他變異體中) 處緊鄰精胺酸後裂解, 從而產生重鏈及輕鏈。在另一實施例中, FVIII 包含重鏈及輕鏈, 其係藉由金屬離子介導之非共價鍵連接或締合。

[0181] 在其他實施例中, FVIII 為尚未在胺基酸 1648 (在全長因子 FVIII 或 SEQ ID NO: 16 中)、胺基酸 754 (在 S743/Q1638 B 結構域缺失之因子 FVIII 或 SEQ ID NO: 18 中) 或相應精胺酸殘基 (在其他變異體中) 處緊鄰精胺酸後裂解的單鏈 FVIII。單鏈 FVIII 可包含一或多個胺基酸取代。在

一個實施例中，胺基酸取代在對應於全長成熟因子 VIII 多肽 (SEQ ID NO: 16) 之殘基 1648、殘基 1645 或兩者或 SQ BDD 因子 VIII (SEQ ID NO: 18) 之殘基 754、殘基 751 或兩者的殘基處。胺基酸取代可為除精胺酸之外的任何胺基酸，例如，異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、酥胺酸、色胺酸、纈胺酸、丙胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、甘胺酸、脯胺酸、硒代半胱胺酸、絲胺酸、酪胺酸、組胺酸、鳥胺酸、吡咯離胺酸或牛磺酸。

[0182] FVIII 可進一步由凝血酶裂解且隨後活化為 FVIIIa，從而充當活化因子 IX 之輔因子 (FIXa)。且活化 FIX 與活化 FVIII 一起形成 Xase 複合物且將因子 X 轉化為活化因子 X (FXa)。對於活化，FVIII 係在胺基酸 372、740 及 1689 (對應於 B 結構域缺失之 FVIII 序列中之胺基酸 372、740 及 795) 處三個精胺酸殘基後由凝血酶裂解，裂解產生之 FVIIIa 具有 50kDa A1、43kDa A2 及 73kDa A3-C1-C2 鏈。在一個實施例中，可用於本發明之 FVIII 蛋白為非活性 FVIII。在另一實施例中，FVIII 蛋白為活化 FVIII。

[0183] 具有連接至 VWF 蛋白或與 VWF 蛋白締合之 FVIII 多肽的蛋白質可包含與 SEQ ID NO: 16 或 18 具至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 一致性的序列，其中該序列具有 FVIII 凝血活性，例如，活化作為輔因子之因子 IX 以將因子 X 轉化為活化因子 X (FXa)。



[0184] 在一些實施例中，FVIII蛋白進一步包含與FVIII蛋白之C端或N端融合或插入FVIII蛋白中之兩個相鄰胺基酸之間的一或多個異源部分。在其他實施例中，異源部分包含具有至少約50個胺基酸、至少約100個胺基酸、至少約150個胺基酸、至少約200個胺基酸、至少約250個胺基酸、至少約300個胺基酸、至少約350個胺基酸、至少約400個胺基酸、至少約450個胺基酸、至少約500個胺基酸、至少約550個胺基酸、至少約600個胺基酸、至少約650個胺基酸、至少約700個胺基酸、至少約750個胺基酸、至少約800個胺基酸、至少約850個胺基酸、至少約900個胺基酸、至少約950個胺基酸或至少約1000個胺基酸之胺基酸序列。在一些實施例中，嵌合分子之半衰期相比於野生型FVIII延長至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約4倍、至少約5倍、至少約6倍、至少約7倍、至少約8倍、至少約9倍、至少約10倍、至少約11倍或至少約12倍。

[0185] 其他例示性FVIII變異體亦揭示於2013年1月17日公開之美國公開案第US2013/0017997號、2013年8月22日公開之國際公開案第WO 2013/122617號、或2014年1月16日公開之國際公開案第WO 2014/011819號、或國際公開案第WO2013123457 A1號、或國際申請案第PCT/US2013/049989號中。

### III. 聚核苷酸、載體、宿主細胞及製備方法

[0186] 本發明中亦提供編碼本文所述之嵌合分子之聚核苷酸。當VWF蛋白經由VWF連接子連接至異源部分且連接至嵌合蛋白中之FVIII蛋白及XTEN序列作為單一多肽鏈時，本發明係關於編碼單一多肽鏈之單一聚核苷酸。當嵌合蛋白包含第一多肽鏈及第二多肽鏈時，該第一多肽鏈包含經由VWF連接子連接之VWF蛋白、XTEN序列及第一異源部分(例如，第一Fc區)且該第二多肽鏈包含FVIII蛋白及第二異源部分(例如，第二Fc區)，聚核苷酸可包含第一核苷酸區域及第二核苷酸區域。在一個實施例中，第一核苷酸區域及第二核苷酸區域處於相同聚核苷酸上。在另一實施例中，第一核苷酸區域及第二核苷酸區域處於兩個不同聚核苷酸(例如，不同載體)上。在某些實施例中，本發明係針對一組包含第一核苷酸鏈及第二核苷酸鏈之聚核苷酸，其中該第一核苷酸鏈編碼VWF蛋白、XTEN序列、VWF連接子及嵌合蛋白之異源部分且該第二核苷酸鏈編碼FVIII蛋白及第二異源部分。在一些實施例中，本發明係針對一組包含第一核苷酸鏈及第二核苷酸鏈之聚核苷酸，其中該第一核苷酸鏈編碼VWF蛋白及嵌合蛋白之異源部分且該第二核苷酸鏈編碼經由FVIII連接子與第二異源部分融合之FVIII蛋白，其中至少一個XTEN序列與嵌合蛋白融合。在其他實施例中，本發明係針對一組包含第一核苷酸鏈及第二核苷酸鏈之聚核苷酸，其中該第一核苷酸鏈編碼VWF蛋白、VWF連接子及嵌合蛋白之異源部分且該第二核苷酸鏈編碼FVIII蛋白、FVIII連接子及第二異源部分，其



中至少一個 XTEN 序列與嵌合蛋白融合。

[0187] 在其他實施例中，該組聚核苷酸進一步包含編碼蛋白質轉化酶之另一核苷酸鏈(例如，當嵌合多肽係由單一聚核苷酸鏈編碼時的第二核苷酸鏈，或當嵌合蛋白係由兩個聚核苷酸鏈編碼時的第三核苷酸鏈)。蛋白質轉化酶可選自 5 型前蛋白轉化酶枯草桿菌蛋白酶/kexin (PCSK5 或 PC5)、7 型前蛋白轉化酶枯草桿菌蛋白酶/kexin (PCSK7 或 PC5)、酵母 Kex 2、3 型前蛋白轉化酶枯草桿菌蛋白酶/kexin (PACE 或 PCSK3)，或其中兩者或更多者之組合。在一些實施例中，蛋白酶轉化酶為 PACE、PC5 或 PC7。在一特定實施例中，蛋白質轉化酶為 PC5 或 PC7。參見國際申請案第 PCT/US2011/043568 號，其以引用之方式併入本文中。在另一實施例中，蛋白酶轉化酶為 PACE/furin。

[0188] 在某些實施例中，本發明包括一組聚核苷酸，其包含編碼經由 VWF 連接子與第一異源部分融合之包含 VWF 之 D' 結構域及 D3 結構域之 VWF 蛋白的第一核苷酸序列、編碼 FVIII 蛋白及第二異源部分之第二核苷酸序列，及編碼 VWF 之 D1 結構域及 D2 結構域之第三核苷酸序列，且其中 XTEN 序列存在於第一個鏈或第二個鏈中。在此實施例中，D1 結構域及 D2 結構域分別表現(並不連接至 VWF 蛋白之 D'D3 結構域)以使得適當二硫鍵形成及 D'D3 結構域折疊。D1D2 結構域表現可為順式或反式。

[0189] 如本文所用，表現載體係指當引入適當宿主

細胞中時，包含插入編碼序列之轉錄及轉譯所必需之元件或在RNA病毒載體之情況下為複製及轉譯所必需之元件的任何核酸構築體。表現載體可包括質體、噬菌體、病毒及其衍生物。

[0190] 本發明之表現載體將包括編碼嵌合分子之聚核苷酸。

[0191] 在一個實施例中，嵌合分子之編碼序列可操作地連接至表現控制序列。如本文所用，當兩個核酸序列以允許各組分核酸序列保留其功能性之方式共價連接時，其係可操作地連接。當編碼序列及基因表現控制序列以將編碼序列之表現或轉錄及/或轉譯置於基因表現控制序列之影響或控制下的方式共價連接時，將其稱為可操作地連接。若5'基因表現序列中之啟動子之誘導產生編碼序列之轉錄且若兩個DNA序列之間之連接的性質不會(1)導致移碼突變之引入，(2)幹擾啟動子區域引導編碼序列之轉錄的能力，或(3)幹擾相應RNA轉錄物轉譯成蛋白質之能力，則將該兩個DNA序列稱為可操作地連接。因此，若基因表現序列能夠實現編碼核酸序列之轉錄以使得所得轉錄物轉譯成所需蛋白質或多肽，則該基因表現序列將可操作地連接至該編碼核酸序列。

[0192] 如本文所用之基因表現控制序列為任何調控核苷酸序列，諸如啟動子序列或啟動子-增強子組合，其促進與其可操作地連接之編碼核酸之有效轉錄及轉譯。基因表現控制序列可例如為哺乳動物或病毒啟動子，諸如組



成性或可誘導啟動子。組成性哺乳動物啟動子包括(但不限於)以下基因之啟動子：次黃嘌呤磷酸核糖轉移酶(HPRT)、腺苷去胺酶、丙酮酸激酶、 $\beta$ -肌動蛋白啟動子及其他組成性啟動子。在真核細胞中組成性地起作用之例示性病毒啟動子包括例如來自巨細胞病毒(CMV)、猿猴病毒(例如，SV40)、乳頭狀瘤病毒、腺病毒、人類免疫缺陷病毒(HIV)、Rous肉瘤病毒、巨細胞病毒、Moloney白血病毒之長末端重複序列(LTR)及其他反轉錄病毒之啟動子，以及單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子。其他組成性啟動子為一般技術者所知。可用作本發明之基因表現序列之啟動子亦包括可誘導啟動子。可誘導啟動子在誘導劑之存在下表現。舉例而言，金屬硫蛋白啟動子經誘導以促進在某些金屬離子存在下轉錄及轉譯。其他可誘導啟動子為一般技術者所知。

[0193] 一般而言，基因表現控制序列必要時應包括分別涉及轉錄及轉譯之起始的5'非轉錄及5'非轉譯序列，諸如TATA盒、封端序列、CAAT序列及其類似物。尤其是，此等5'非轉錄序列將包括啟動子區域，其包括用於可操作地接合之編碼核酸之轉錄控制的啟動子序列。必要時，基因表現序列視情況包括增強子序列或上游激活子序列。

[0194] 病毒載體包括(但不限於)來自以下病毒之核酸序列：反轉錄病毒，諸如Moloney鼠類白血病毒、Harvey鼠類肉瘤病毒、鼠類乳腺腫瘤病毒及Rous肉瘤病

毒；腺病毒、腺相關病毒；SV40型病毒；多瘤病毒；愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus)；乳頭狀瘤病毒；胞疹病毒；牛痘病毒；脊髓灰質炎病毒；及RNA病毒，諸如反轉錄病毒。可容易地採用此項技術中熟知之其他載體。某些病毒載體係基於非細胞致病性真核病毒，其中非必需基因已置換為相關基因。非細胞致病性病毒包括反轉錄病毒，其生命週期涉及基因組病毒RNA反向轉錄成DNA，隨後前病毒整合至宿主細胞DNA中。反轉錄病毒已經批准用於人類基因療法試驗。大部分有用者為彼等複製缺陷型反轉錄病毒(亦即，能夠引導所需蛋白之合成，但不能製造感染性粒子)。此等基因改變之反轉錄病毒表現載體具有基因在活體內高效轉導之一般效用。用於產生複製缺陷型反轉錄病毒之標準方案(包括以下步驟：將外源遺傳物質併入質體中，用質體轉染包裝細胞株，藉由包裝細胞株產生重組反轉錄病毒，自組織培養基收集病毒粒子，及用病毒粒子感染靶細胞)提供於Kriegler, M., *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, W.H. Freeman Co., New York (1990)及Murry, E. J., *Methods in Molecular Biology*, 第7卷, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991)中。

[0195] 在一個實施例中，病毒為腺相關病毒、雙鏈DNA病毒。腺相關病毒可經工程改造為複製缺陷型且能夠感染廣泛多種細胞類型及物種。其進一步具有以下優點，諸如熱及脂質溶劑穩定性；在不同譜系細胞(包括造血細胞)中之高轉導頻率；及缺乏二重感染抑制，因而允許多



個系列之轉導。據報導，腺相關病毒可以位點特異性方式整合至人類細胞DNA中，從而將插入突變誘發之可能性及反轉錄病毒感染之插入基因表現特徵之可變性最小化。另外，野生型腺相關病毒感染已在不存在選擇性壓力之情況下在組織培養中傳代100次以上，表明腺相關病毒基因組整合為相對穩定之事件。腺相關病毒亦可以染色體外方式起作用。

[0196] 其他載體包括質體載體。質體載體已在此項技術中廣泛描述且為本領域技術人員所熟知。參見例如 Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989。近年來，已發現質體載體特別有利於在活體內傳遞基因至細胞，此係由於其不能在宿主基因組中複製及整合至宿主基因組中。然而，具有可與宿主細胞相容之啟動子之此等質體可自在質體內可操作地編碼之基因表現肽。一些可獲自商業供應商之常用質體包括pBR322、pUC18、pUC19、各種pcDNA質體、pRC/CMV、各種pCMV質體、pSV40及pBlueScript。特定質體之其他實例包括pcDNA3.1，目錄號V79020；pcDNA3.1/hygro，目錄號V87020；pcDNA4/myc-His，目錄號V86320；及pBudCE4.1，目錄號V53220，均來自Invitrogen (Carlsbad, CA.)。其他質體為一般技術者所熟知。另外，可使用標準分子生物學技術來定制設計質體以移除及/或添加特定DNA片段。

[0197] 在可用於產生本發明之蛋白質的一個昆蟲表

現系統中，使用苜蓿銀紋夜蛾 (*Autographa californica*) 核多角體病毒 (AcNPV) 作為載體來表現外來基因。該病毒在草地夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 細胞中生長。可將編碼序列選殖至病毒之非必需區域 (例如，多面體基因) 中且置於 ACNPV 啟動子 (例如，多面體啟動子) 之控制下。編碼序列之成功插入將導致多面體基因之失活及非閉合重組病毒 (亦即，缺乏由多面體基因編碼之蛋白質包衣之病毒) 的產生。此等重組病毒隨後用於感染已表現插入基因之草地夜蛾細胞。(參見例如 Smith 等人, (1983) *J Virol* 46:584; 美國專利第 4,215,051 號)。此表現系統之其他實例可見於 Ausubel 等人編, (1989) *Current Protocols in Molecular Biology*, 第 2 卷, Greene Publish. Assoc. & Wiley Interscience 中。

[0198] 可用於表現本發明蛋白質之另一系統為麩醯胺酸合成酶基因表現系統，亦稱為「GS 表現系統」(Lonza Biologics PLC, Berkshire UK)。此表現系統詳細描述於美國專利第 5,981,216 號中。

[0199] 在哺乳動物宿主細胞中，可利用多種基於病毒之表現系統。在使用腺病毒作為表現載體之情況下，可將編碼序列連接至腺病毒轉錄/轉譯控制複合物，例如，後期啟動子及三重前導序列。隨後可藉由活體外或活體內重組將此嵌合基因插入腺病毒基因組中。插入病毒基因組之非必需區域 (例如，區域 E1 或 E3) 中將產生有活力且能夠在感染宿主中表現肽之重組病毒。參見例如 Logan 及 Shenk



(1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3655)。或者，可使用牛痘7.5 K啟動子。參見例如Mackett等人，(1982) *Proc Natl Acad Sci USA* 79:7415；Mackett等人，(1984) *J Virol* 49:857；Panicali等人，(1982) *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4927。

[0200] 為增加產生效率，可設計聚核苷酸以編碼由酶促裂解位點分離之本發明蛋白之多個單元。所得多肽可裂解(例如，藉由用適當的酶處理)以回收多肽單元。此可增加由單一啟動子驅動之多肽之產率。當用於適當的病毒表現系統中時，在轉錄物中內部引導由mRNA編碼之各多肽之轉譯；例如，藉由內部核糖體進入位點IRES。因此，多順反子構築體引導單一大型多順反子mRNA之轉錄，而該單一大型多順反子mRNA又引導多個個別多肽之轉譯。此方法消除聚蛋白之產生及酶促加工且可顯著增加由單一啟動子驅動之多肽的產率。

[0201] 用於轉化中之載體通常將含有用於鑒別轉化株之可選擇標記。在細菌系統中，此可包括抗生素抗性基因，諸如胺苄青黴素或卡那黴素。用於經培養哺乳動物細胞中之可選擇標記包括賦予藥物(諸如新黴素、潮黴素及甲胺喋呤)以抗性之基因。可選擇標記可為可擴增可選擇標記。一種可擴增可選擇標記為二氫葉酸還原酶(DHFR)基因。Simonsen C C等人，(1983) *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2495-9。可選擇標記係由Thilly (1986) *Mammalian Cell Technology*, Butterworth Publishers, Stoneham, Mass. 評

述，且可選擇標記之選擇完全處於一般技術者之技術水準內。

[0202] 可選擇標記可與相關基因同時引入另一質體上之細胞中，或其可引入相同質體上。若處於相同質體上，則可選擇標記及相關基因可處於不同啟動子或相同啟動子之控制下，後者之排列產生雙順反子訊息。此類型之構築體為此項技術中已知(例如，美國專利第4,713,339號)。

[0203] 表現載體可編碼允許易於純化重組產生之蛋白質的標籤。實例包括(但不限於)載體pUR278 (Ruther等人, (1983) *EMBO J* 2:1791)，其中待表現之蛋白質之編碼序列可連接至與lac z編碼區同框之載體中，以便產生經標記之融合蛋白；可使用pGEX載體來表現具有麩胱甘肽S-轉移酶(GST)標籤之本發明蛋白質。此等蛋白質通常可溶且可容易地藉由吸附至麩胱甘肽-瓊脂糖珠粒、接著在遊離麩胱甘肽存在下溶離而自細胞中純化。該等載體包括用於在純化後容易移除標籤之裂解位點(凝血酶或因子Xa蛋白酶或PRESCISSION PROTEASE™ (Pharmacia, Peapack, N.J.))。

[0204] 隨後將一或多個表現載體轉染或共轉染至合適靶細胞中，其將表現多肽。此項技術中已知之轉染技術包括(但不限於)磷酸鈣沈澱(Wigler等人, (1978) *Cell* 14:725)、電穿孔(Neumann等人, (1982) *EMBO J* 1:841)及基於脂質體之試劑。多種宿主-表現載體系統可用於表現



本文所述之蛋白質，包括原核及真核細胞。此等包括(但不限於)微生物，諸如用含有適當編碼序列之重組噬菌體DNA或質體DNA表現載體轉化之細菌(例如，大腸桿菌)；用含有適當編碼序列之重組酵母或真菌表現載體轉化之酵母或絲狀真菌；用含有適當編碼序列之重組病毒表現載體(例如，杆狀病毒)感染之昆蟲細胞系統；用含有適當編碼序列之重組病毒表現載體(例如，花椰菜花葉病毒或煙草花葉病毒)感染或用含有適當編碼序列之重組質體表現載體(例如，Ti質體)轉化之植物細胞系統；或動物細胞系統，包括哺乳動物細胞(例如，HEK 293、CHO、Cos、HeLa、HKB11及BHK細胞)。

[0205] 在一個實施例中，宿主細胞為真核細胞。如本文所用，真核細胞係指任何具有明確細胞核之動物或植物細胞。真核動物細胞包括脊椎動物(例如哺乳動物)之細胞，及無脊椎動物(例如，昆蟲)之細胞。真核植物細胞特定可包括(但不限於)酵母細胞。真核細胞相異於原核細胞(例如，細菌)。

[0206] 在某些實施例中，真核細胞為哺乳動物細胞。哺乳動物細胞為源自哺乳動物之任何細胞。哺乳動物細胞特定包括(但不限於)哺乳動物細胞株。在一個實施例中，哺乳動物細胞為人類細胞。在另一實施例中，哺乳動物細胞為HEK 293細胞，其為人類胚胎腎細胞株。HEK 293細胞可以CRL-1533獲自American Type Culture Collection, Manassas, VA，且以293-H細胞(目錄號11631-

017) 或 293-F 細胞 (目錄號 11625-019) 獲自 Invitrogen (Carlsbad, Calif.)。在一些實施例中，哺乳動物細胞為 PER.C6<sup>®</sup>細胞，其為源自視網膜之人類細胞株。PER.C6<sup>®</sup>細胞可獲自 Crucell (Leiden, The Netherlands)。在其他實施例中，哺乳動物細胞為人類倉鼠卵巢(CHO)細胞。CHO 細胞可獲自 American Type Culture Collection, Manassas, VA (例如，CHO-K1；CCL-61)。在其他實施例中，哺乳動物細胞為幼倉鼠腎(BHK)細胞。BHK細胞可獲自 American Type Culture Collection, Manassas, Va (例如，CRL-1632)。在一些實施例中，哺乳動物細胞為 HKB11 細胞，其為 HEK293 細胞與人類 B 細胞株之雜交細胞株。Mei 等人, *Mol. Biotechnol.* 34(2): 165-78 (2006)。

[0207] 在一個實施例中，編碼 VWF 蛋白、VWF 連接子、異源部分或本發明嵌合蛋白之質體進一步包括可選擇標記，例如，博萊黴素抗性，且轉染於 HEK 293 細胞中，以用於產生嵌合蛋白。

[0208] 在其他實施例中，轉染細胞經穩定轉染。使用本領域技術人員已知之習知技術，此等細胞可選擇且維持為穩定細胞株。

[0209] 含有蛋白質之 DNA 構築體之宿主細胞生長於適當生長培養基中。如本文所用，術語「適當生長培養基」意謂包含細胞生長所需之營養素之培養基。細胞生長所需之營養素可包括碳源、氮源、必要胺基酸、維生素、礦物及生長因子。視情況，培養基可含有一或多種選擇因



子。視情況，培養基可含有牛血清或胎牛血清(FCS)。在一個實施例中，培養基實質上不含IgG。生長培養基一般將針對含有DNA構築體之細胞進行選擇，藉由例如在由DNA構築體上之可選擇標記補充或與DNA構築體共轉染之必要營養素中之藥物選擇或其缺乏。培養之哺乳動物細胞一般生長於市售含血清或不含血清之培養基(例如，MEM、DMEM、DMEM/F12)中。在一個實施例中，培養基為CD293 (Invitrogen, Carlsbad, CA.)。在另一實施例中，培養基為CD17 (Invitrogen, Carlsbad, CA.)。適於所用特定細胞株之培養基之選擇在熟習此項技術者之技術水準內。

[0210] 為了共表現如本文所述之嵌合分子之兩個多肽鏈，宿主細胞在允許兩個鏈表現之條件下培養。如本文所用，培養係指將活細胞在活體外至少保持一段確定的時間。保持可以(但無需)包括活細胞群體之增加。舉例而言，保持培養之細胞可為靜態群體，但仍存活且能夠產生所需產物，例如，重組蛋白或重組融合蛋白。用於培養真核細胞之合適條件為此項技術中所熟知且包括培養基、培養基補充劑、溫度、pH、氧飽和度及其類似條件之適當選擇。對於商業目的，培養可包括使用任何各種類型之規模擴大系統，包括震盪瓶、滾瓶、中空纖維生物反應器、攪拌槽生物反應器、氣升式生物反應器、Wave生物反應器以及其他。

[0211] 細胞培養條件亦經選擇以允許嵌合分子中第一個鏈與第二個鏈之締合。允許嵌合分子表現之條件可包

括維生素K源之存在。舉例而言，在一個實施例中，將穩定轉染之HEK 293細胞培養於補充有4 mM麩醯胺酸之CD293培養基(Invitrogen, Carlsbad, CA)或OptiCHO培養基(Invitrogen, Carlsbad, CA)中。

[0212] 在一個態樣中，本發明係針對表現、製備或產生嵌合蛋白之方法，其包括a)用編碼嵌合分子之聚核苷酸轉染宿主細胞及b)在適於表現嵌合分子之條件下在培養基中培養該宿主細胞，其中該嵌合分子經表現。

[0213] 在其他實施例中，含有嵌合分子之蛋白質產物分泌於培養基中。培養基自細胞中分離，濃縮，過濾且隨後穿過兩個或三個親和管柱，例如，蛋白質A管柱及一或兩個陰離子交換管柱。

[0214] 在某些態樣中，本發明係關於由本文所述之方法產生之嵌合多肽。

[0215] 活體外產生允許擴大規模以得到大量的本發明之所需變異多肽。在組織培養條件下用於哺乳動物細胞培養之技術為此項技術中所知且包括均質懸浮培養，例如在氣升式反應器中或在連續攪拌反應器中；或固定化或包埋細胞培養，例如在中空纖維、微囊中、在瓊脂糖微珠粒或陶瓷濾筒上。必要時及/或需要時，可藉由習用層析方法，例如凝膠過濾、離子交換層析、疏水性相互作用層析(HIC)、DEAE纖維素層析或親和層析來純化多肽之溶液。

[0216] 本發明亦包括改良包含與第一異源部分及XTEN序列融合之VWF蛋白及與第二異源部分融合之FVIII



蛋白之嵌合FVIII蛋白之FVIII活性的方法，該方法包括將VWF連接子插入該VWF蛋白與該第一異源部分之間，其中該VWF連接子包含選自以下之多肽：(i)來自因子VIII(FVIII)之a2區域；(ii)來自FVIII之a1區域；(iii)來自FVIII之a3區域；(iv)包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或(v)其任何組合。在一些實施例中，藉由aPTT檢定或ROTEM檢定量測FVIII活性。

#### IV. 醫藥組合物

[0217] 含有本發明之嵌合分子之組合物可含有合適之醫藥學上可接受之載劑。舉例而言，其可含有促進將活性化合物加工成設計用於傳遞至作用部位之製劑的賦形劑及/或助劑。

[0218] 醫藥組合物可經調配以藉由團式注射進行非經腸施用(亦即，靜脈內、皮下或肌肉內)。用於注射之調配物可以單位劑型呈現，例如，於安瓿中或於具有外加防腐劑之多劑量容器中。組合物可採用諸如於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液形式，且含有諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑等調配劑。或者，活性成分可呈粉末形式以用合適之媒劑(例如，無熱原質之水)配製。

[0219] 適於非經腸施用之調配物亦包括水溶性形式之活性化合物(例如，水溶性鹽)之水溶液。另外，可施用呈適當的油性注射懸浮液形式之活性化合物懸浮液。合適

之親脂溶劑或媒劑包括脂肪油，例如芝麻油，或合成脂肪酸酯，例如油酸乙酯或三甘油酯。水性注射懸浮液可含有增加懸浮液黏度之物質，包括例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇及葡聚糖。視情況，懸浮液亦可含有穩定劑。亦可使用脂質體來囊封本發明之分子以傳遞至細胞或間隙空間中。例示性醫藥學上可接受之載劑為生理學相容性溶劑、分散介質、包衣、抗細菌及抗真菌劑、等滲劑吸收延遲劑、水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及其類似物。在一些實施例中，組合物包含等滲劑，例如，糖、多元醇諸如甘露糖醇、山梨糖醇，或氯化鈉。在其他實施例中，組合物包含醫藥學上可接受之物質諸如濕潤劑或微量的助劑物質諸如濕潤或乳化劑、防腐劑或緩衝劑，其增強活性成分之存放期或有效性。

[0220] 本發明之組合物可呈多種形式，包括例如液體(例如，可注射及可輸注溶液)、分散液、懸浮液、半固體劑固體劑型。較佳形式取決於施用模式及治療應用。

[0221] 組合物可調配成溶液、微乳液、分散液、脂質體或適於高藥物濃度之其他有序結構。可藉由將所需量之活性成分與所需要之上文所列成分之一或組合併入適當溶劑中，接著過濾滅菌來製備無菌可注射溶液。一般而言，藉由將活性成分併入含有鹼性分散介質及來自上文所列者之所需其他成分之無菌媒劑中來製備分散液。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末之情況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥，其得到活性成分粉末以及來自先



前無菌過濾溶液之任何其他所需成分。可例如藉由使用諸如卵磷脂等包衣，在分散液之情況下藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持溶液之適當流動性。可藉由在組合物中包括延遲吸收劑(例如，單硬脂酸鹽及明膠)來產生可注射組合物之延長吸收。

[0222] 活性成分可用控制釋放調配物或裝置來調配。此等調配物及裝置之實例包括植入物、經皮貼片及微囊封傳遞系統。可使用生物可降解之生物相容性聚合物，例如，乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備此等調配物及裝置之方法為此項技術中所知。參見例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson編, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

[0223] 可藉由形成藥物於生物可降解聚合物諸如聚丙交酯-聚乙交酯中之微囊封基質來製備可注射儲槽式調配物。視藥物與聚合物之比率及所用聚合物之性質而定，可控制藥物釋放速率。其他例示性生物可降解聚合物為聚原酸酯及聚酸酐。亦可藉由將藥物包埋於脂質體或微乳液中來製備儲槽式可注射調配物。

[0224] 補充性活性化合物可併入組合物中。在一個實施例中，將本發明之嵌合分子與另一凝血因子、或其變異體、片段、類似物或衍生物一起調配。舉例而言，凝血因子包括(但不限於)因子V、因子VII、因子VIII、因子IX、因子X、因子XI、因子XII、因子XIII、凝血酶原、血

纖維蛋白原、溫韋伯氏因子或重組可溶性組織因子(rsTF)或前述任一者之活化形式。止血劑之凝血因子亦可包括抗纖維蛋白溶解藥，例如， $\epsilon$ -胺基-己酸、胺甲環酸。

[0225] 可調節給藥方案以提供最佳所需反應。舉例而言，可施用單一大丸劑，可隨時間施用若干分次劑量，或可按照治療情形之緊急程度所指示按比例降低或增加劑量。為易於施用及劑量均勻性，宜將非經腸組合物調配成單位劑型。參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., Easton, Pa. 1980)。

[0226] 除活性化合物之外，液體劑型可含有惰性成分，諸如水、乙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲醯胺、油類、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇及脫水山梨糖醇脂肪酸酯。

[0227] 合適之醫藥學載劑之非限制性實例亦描述於 E. W. Martin之 Remington's Pharmaceutical Sciences 中。賦形劑之一些實例包括澱粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、大米、麵粉、白堊、矽膠、硬脂酸鈉、單硬脂酸甘油酯、滑石、氯化鈉、脫脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇及其類似物。組合物亦可含有 pH 緩衝試劑，及濕潤或乳化劑。

[0228] 對於經口施用，醫藥組合物可採用藉由習知方式製備之錠劑或膠囊形式。組合物亦可製成液體，例如糖漿或懸浮液。液體可包括懸浮劑(例如，山梨糖醇糖漿、纖維素衍生物或氫化可食用脂肪)、乳化劑(卵磷脂或



阿拉伯膠)、非水性媒劑(例如,杏仁油、油性酯、乙醇或分餾植物油),及防腐劑(例如,對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯或山梨酸)。製劑亦可包括調味劑、著色劑及甜味劑。或者,組合物可呈現為用於用水或另一合適媒劑配製之無水產品形式。

[0229] 對於經頰施用,根據習知方案,組合物可採用錠劑或口含錠形式。

[0230] 對於藉由吸入施用,根據本發明使用之化合物宜以具有或不具有賦形劑之噴霧氣霧劑形式或以氣霧劑噴霧形式自視情況具有推進劑之加壓包或噴霧器傳遞,推進劑為例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟甲烷、二氧化碳或其他合適之氣體。在加壓氣霧劑之情況下,可藉由提供閥來確定計量單位以傳遞計量量。用於吸入器或吹入器中之例如明膠之膠囊及濾筒可經調配合含有化合物與合適之粉末基質諸如乳糖或澱粉之粉末混合物。

[0231] 醫藥組合物亦可經調配以例如含有習知栓劑基質諸如可可脂或其他甘油酯之栓劑或保留灌腸劑形式經直腸施用。

## V. 基因療法

[0232] 本發明之嵌合分子可使用治療出血性疾病或病症之基因治療方法在哺乳動物(例如,人類患者)中活體內產生,該出血性疾病或病症選自出血凝血障礙、關節積血、肌肉出血、口腔出血、溢血、溢血進入肌肉、口腔溢

血、創傷、創傷性頭癰、胃腸道出血、顱內溢血、腹內溢血、胸內溢血、骨折、中樞神經系統出血、咽後間隙出血、腹膜後間隙出血或髂腰肌鞘中出血，其將是治療上有益的。在一個實施例中，出血性疾病或病症為血友病。在另一實施例中，出血性疾病或病症為A型血友病。此涉及施用可操作地連接至合適表現控制序列之編碼合適嵌合分子之核酸。在某些實施例中，此等序列經併入病毒載體中。適於此種基因療法之病毒載體包括腺病毒載體、慢病毒載體、杆狀病毒載體、愛潑斯坦-巴爾病毒載體、乳多空病毒載體、牛痘病毒載體、單純疱疹病毒載體及腺相關病毒(AAV)載體。病毒載體可為複製缺陷型病毒載體。在其他實施例中，腺病毒載體在其E1基因或E3基因中具有缺失。當使用腺病毒載體時，哺乳動物可能不暴露於編碼可選擇標記基因之核酸。在其他實施例中，將序列併入熟習此項技術者所知之非病毒載體中。

## VI. 嵌合蛋白之使用方法

[0233] 本發明進一步提供使用本發明之嵌合分子降低有需要之個體中出血事件之頻率或程度的方法。例示性方法包括向該有需要之個體施用治療有效量之本發明之嵌合分子。在其他態樣中，本發明包括使用本發明之嵌合分子預防有需要之個體中出血事件之發生的方法。在其他態樣中，可向有需要之個體施用包含編碼本發明之重組蛋白之DNA的組合物。在本發明之某些態樣中，可向有需要之



個體施用表現本發明之嵌合分子之細胞。在本發明之某些態樣中，醫藥組合物包含(i)嵌合分子、(ii)編碼嵌合分子之分離核酸、(iii)包含編碼嵌合分子之核酸之載體、(iv)包含編碼嵌合分子之分離核酸及/或包含編碼嵌合分子之核酸之載體的細胞，或(v)其組合，且該等醫藥組合物進一步包含可接受之賦形劑或載劑。

[0234] 出血事件可由凝血障礙造成或獲得。凝血障礙亦可稱為凝血功能異常。在一個實例中，可用本揭示內容之醫藥組合物治療之凝血障礙為血友病或 von Willebrand病(vWD)。在另一實例中，可用本揭示內容之醫藥組合物治療之凝血障礙為A型血友病。

[0235] 在一些實施例中，與出血性病狀相關之出血類型係選自關節積血、肌肉出血、口腔出血、溢血、溢血進入肌肉、口腔溢血、創傷、創傷性頭癱、胃腸道出血、顱內溢血、腹內溢血、胸內溢血、骨折、中樞神經系統出血、咽後間隙出血、腹膜後間隙出血、髖腰肌鞘中出血或其任何組合。

[0236] 在其他實施例中，罹患出血性病狀之個體需要手術治療，包括例如手術預防或圍手術期管理。在一個實例中，手術係選自小手術及大手術。例示性外科手術包括拔牙、扁桃體切除術、腹股溝疝切開術、滑膜切除術、開顱手術、骨接合術、創傷手術、顱內手術、腹腔內手術、胸內手術、關節置換手術(例如，全膝關節置換、髖關節置換及其類似物)、心臟手術及剖宮產術。

[0237] 在另一實例中，用因子IX伴隨治療個體。由於本發明化合物能夠活化FIXa，因此其可用於在向個體施用FIXa之前預活化FIXa多肽。

[0238] 可向需要預防治療或按需治療之個體實踐本發明之方法。

[0239] 包含本發明嵌合分子之醫藥組合物可經調配用於任何適當施用方式，包括例如局部(例如，經皮或經眼)、經口、經頰、經鼻、經陰道、經直腸或非經腸施用。

[0240] 如本文所用之術語非經腸包括皮下、皮內、血管內(例如，靜脈內)、肌肉內、脊柱、顱內、鞘內、眼內、眼周、眼眶內、滑膜內及腹膜內注射，以及任何類似注射或輸注技術。組合物亦可為例如懸浮液、乳液、持續釋放調配物、乳膏、凝膠或散劑。組合物可經調配為具有傳統黏合劑及載劑諸如三甘油酯之栓劑。

[0241] 現已詳細描述本發明，藉由參考以下實例將更清楚地理解本發明，該等實例僅出於說明目的包括於此且不欲限制本發明。本文提及之所有專利及公開案係以引用之方式明確併入。

## 實例

[0242] 在整個實例中，除非另外說明，否則使用以下材料及方法。



## 材料及方法

[0243] 一般而言，除非另外說明，否則本發明之實踐使用習知化學、生物物理學、分子生物學、重組DNA技術、免疫學技術(尤其是例如抗體技術)，以及標準電泳技術。參見例如 Sambrook, Fritsch 及 Maniatis, *Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press* (1989) ; *Antibody Engineering Protocols (Methods in Molecular Biology)*, 510, Paul, S., Humana Pr (1996) ; *Antibody Engineering: A Practical Approach (Practical Approach Series, 169)*, McCafferty編, Irl Pr (1996) ; *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow 等人, CS.H.L. Press, Pub. (1999) ; 及 *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel等人編, John Wiley & Sons (1992)。

### 實例 1. 評估各種 VWF 構築體之凝血酶介導性 D'D3 釋放

[0244] 本實例評估圖2中所提及之各種 VWF 構築體在 37°C 下之凝血酶介導性 D'D3 釋放的動力學。用在 VWF 之 D'D3 結構域與 Fc 之間含有不同凝血酶可裂解連接子之 VWF-Fc 構築體來進行 Biocore 實驗。最終目的在於將自 VWF-Fc 凝血酶消化採集之資訊應用於如本文所述之 FVIII-VWF 異質二聚體。所有 VWF-D'D3 構築體皆在晶片上操作以達成在 100-700 RU 範圍內之蛋白質捕捉密度。於晶片上捕捉 VWF 構築體之後，將 5 U/ml 凝血酶注射於表面上持續 5 分鐘。Fc 保持結合於晶片，而可裂解構築體中之 D'D3 得

以釋放。如圖3及圖4中所示繪製速率(RU/s)對捕捉密度(RU)之曲線。清除速率與起始捕捉密度成正比，而斜率提供各構築體之凝血酶裂解易感性之量度。

[0245] 圖3顯示如所預期之VWF-052 (其在連接子區域中不具有凝血酶裂解位點)並未由凝血酶裂解。VWF-039 (具有PAR1位點之LVPR)之速率與FVIII裂解速率相當(資料未示)。因此，VWF-039充當自Fc完全釋放D'D3之基準。使用各種VWF-Fc構築體相對於VWF-039之斜率的比率來測定凝血酶裂解效率。用凝血酶使VWF-039 (具有PAR1位點之LVPR)裂解之速率為VWF-031 (LVPR)之約70-80倍。VWF-51 (ALRPRVV)之裂解速率為VWF-031 (LVPR)之1.8倍。含有288 XTEN以及LVPR位點之VWF-034相比於VWF-031顯示較緩慢之裂解。

[0246] 亦藉由在連接子區域中引入FVIII蛋白之不同酸性區域(a1、a2及a3)來制得VWF-Fc構築體。VWF-055(其在D'D3與Fc區之間含有a2區域)顯示與VWF-039構築體類似之凝血酶裂解。如圖4中所示，VWF-054 (a1區域)及VWF-056 (a3區域)顯示約5倍降低之凝血酶裂解。

[0247] 圖5顯示不同VWF構築體之凝血酶裂解曲線之斜率值。根據此等結果，FVIII之酸性區域2 (a2)似乎為高效凝血酶裂解位點且併入如本文所述之FVIII-VWF異質二聚體中。

實例2. 利用HemA患者全血ROTEM檢定評估FVIII/



## VWFD'D3異質二聚體之止血效能

[0248] 在HemA供體全血旋轉血栓彈力測定 (rotational thromboelastometry, ROTEM)檢定中評估含有不同凝血酶可裂解連接子之FVIII/VWFD'D3異質二聚體的止血效能。利用檸檬酸鈉作為抗凝血劑，自患有重度A型血友病出血障礙之供體採集全血樣品。在血樣採集後40分鐘，將含有不同凝血酶可裂解連接子-FVIII155/VWF031(48aa, LVPR位點)、FVIII155/VWF039 (26aa, LVPR+PAR1位點)、FVIII155/VWF055 (34aa, 來自FVIII之a2)之FVIII/VWFD'D3異質二聚體變異體稀釋於全血樣品中至最終濃度為正常值之100%、30%、10%及3%，如藉由FVIII顯色檢定所量測。在添加FVIII/VWFD'D3異質二聚體之後不久，藉由添加CaCl<sub>2</sub>來起始ROTEM反應。藉由儀器記錄凝血時間(自測試開始至達到2 mm幅值之時間)且針對樣品中之FVIII濃度繪製曲線(圖6)。假定更有效之FVIII/VWFD'D3異質二聚體將誘導更快凝血過程，因此導致相比於效力較低之FVIII/VWFD'D3異質二聚體之凝血時間較短。如圖6中所示，添加有FVIII/VWF039異質二聚體之樣品在已測試之所有濃度下皆具有最短凝血時間，且添加有FVIII/VWF031異質二聚體之樣品在所有濃度下皆具有最長凝血時間。添加有FVIII155/VWF055異質二聚體之樣品之凝血時間居中。因此，止血效能等級為FVIII155/VWF039>FVIII155/VWF055>FVIII155/VWF031。由於該三種分子之間的唯一差異在於VWF蛋白

與Fc區之間的凝血酶可裂解連接子，因此結果指示含有LVPR位點及PAR1外位點相互作用基元及FVIII之a2區域之連接子相比於僅含有LVPR位點之連接子的作用更佳。

### 實例3. 評估FVIII/VWF異質二聚體之活性

[0249] 使用以下三種質體將FVIII-XTEN/VWF異質二聚體構築體轉染於HEK293F細胞中：第一表現FVIII-XTEN-Fc、第二表現VWF-XTEN-Fc及第三表現PACE。使用聚乙烯亞胺(PEI)標準方案進行轉染並且在轉染5天后，收集組織培養基。自該培養基純化FVIII-VWF異質二聚體之各種組合。使用標準方案在顯色(兩階段)及aPTT(一階段)凝血檢定中測試純化蛋白質之活性。將FVIII之酸性區域2(a2)引入FVIII與Fc之間或D'D3與Fc之間(如表7A及圖7中所示)可改良FVIII-VWF異質二聚體之aPTT活性，如表7C中所示。舉例而言，FVIII169/VWF059異質二聚體在D'D3-Fc連接子區域中具有a2凝血酶裂解位點且具有比FVIII169/VWF057更佳之aPTT活性，該FVIII169/VWF057在D'D3Fc連接子中含有LVPR凝血酶位點，如表7C中所示。

[0250] 類似地，將a2區域併入FVIII與Fc之間可增加異質二聚體之一階段凝血活性，如由表7B中所示之FVIII286/VWF059及FVIII286/VWF062之改良的顯色/aPTT比所示。



表 7A

序號	構築體	FVIII與Fc (aa)之間的連接子長度	連接子中之凝血酶位點
1	FVIII169	-	無
2	FVIII286	32	FVIII-a2
序號	構築體	D'D3與Fc (aa)之間的連接子長度	連接子中之凝血酶位點
1	VWF057	144AE XTEN+ 35+ LVPR	LVPR
2	VWF059	144AE XTEN+ 32	FVIII-a2
3	VWF062	144AE XTEN	無

表 7B

構築體	顯色/aPTT比
FVIII169/VWF057	2.51
FVIII169/VWF059	1.67
FVIII169/VWF062	2.7
FVIII286/VWF059	0.69
FVIII286/VWF062	0.83

表 7C

構築體	顯色比活性 (IU/pmol)	aPTT 比活性 (IU/pmol)
FVIII169/VWF057	1.60	0.65
FVIII169/VWF059	1.60	0.90
FVIII169/VWF062	0.87	0.32
FVIII286/VWF059	1.35	1.96
FVIII286/VWF062	1.08	1.33

實例 4：FVIII-XTEN-Fc/D'D3-XTEN-Fc 異質二聚體在 HemA 小鼠尾部剪斷出血模型中之急性功效

[0251] 使用 HemA 小鼠尾部剪斷出血模型評估含有不同凝血酶可裂解連接子之異質二聚體的急性功效。

[0252] 將 8-12 周齡雄性 HemA 小鼠隨機分配至 5 個治

療組，且分別用 SQ BDD-FVIII、rFVIII169/VWF034、rFVIII169/VWF057、rFVIII169/VWF059或媒劑溶液之單次靜脈內施用來治療。為了模擬FVIII之情形治療(以重構50-100%之正常FVIII血漿含量)，如藉由FVIII aPTT活性所量測，所選FVIII治療劑量為75 IU/kg。在此劑量水準下，所有測試FVIII變異體將在給藥後5分鐘重構約70%之正常鼠類血漿FVIII活性。

[0253] 如下進行尾部剪斷程序。簡言之，在尾部損傷前用50 mg/kg氯胺酮/0.5 mg/kg右美托咪定混合液麻醉小鼠且將其置於37°C加熱墊上以幫助維持體溫。隨後將小鼠尾部浸於37°C鹽水中持續10分鐘以擴張側靜脈。在靜脈擴張後，經由尾靜脈注射FVIII變異體或媒劑溶液且隨後在給藥後5分鐘使用直邊#11解剖刀切掉尾部末端5 mm。將流出之血收集於13 ml之37°C鹽水中持續30分鐘且藉由血液收集管之重量變化確定失血量：失血量=(收集管最終重量-開始重量+0.10) ml。使用t檢定(Kolmogorov-Smirnov檢定)及單因子ANOVA (KRUSKAL-Wallis檢定，後檢定：Dunns多重比較檢定)進行統計分析。

[0254] 將研究中各個別動物之失血量繪製於圖8中。觀測到所有FVIII治療組相比於媒劑處理動物之失血量顯著減少( $p < 0.05$ ，表8)。自所有異質二聚體治療組觀測到相比於BDD-FVIII治療之類似失血減少( $p > 0.5$ ，表8)，表明對於按需治療，異質二聚體分子可潛在地與SQ BDD-FVIII同樣有效。



表 8 : Kolmogorov-Smirnov 檢定之 P 值

	FVIII169/VWF034	FVIII169/VWF057	FVIII169/VWF059
BDD-FVIII	0.7591	0.9883	0.5176
媒劑	0.0006	0.0006	0.0266

pSYN VWF057 核苷酸序列 (連接子中具有 LVPR 凝血酶位點之 VWF D'D3-Fc) (SEQ ID NO: 79)

```

1   ATGATTCTTG CCAGATTTCG CGGGGTGCTG CTIGCTCTGG CCTTCATTTT
51  GCCAGGGACC CTTTGTGTCAG AAGGAACTCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
101 GATGCAGCCT TTTCGGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
151 TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
201 ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
251 TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTTTGACA TCCATTTGTT TGTCAATGGT
301 ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG
351 GCTGTATCTA GAAACTGAGG CIGGGIACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT
401 ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
451 TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
501 CTTTGTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
551 CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT
601 GAACGGGCAT CTCCTCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
651 GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT
701 TTGCCCGCTG CCACCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT
751 GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGGC CCTGCCCTGC
801 CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAATG GTGCTGTACG
851 GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
901 TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGGCAGA GCCTGCACAT
951 CAATGAAATG TGTGAGGAGC GATGCGTGGG TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
1001 GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC
1051 GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG
1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTG ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC
1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA
1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTCAI TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCIGCCTGGC
1351 CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA
1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
1451 ATACAGTGAC GGCTTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
1551 CGGGAAGACC TGCGGCCTGT GIGGGAATTA CAAIGGCAAC CAGGGCGACG
1601 ACTTCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGACTTCGGG

```



1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGACTGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG  
1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTICTCC GAGGAGGCGT  
1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCCC ACATTGAGG CCTGCCATCG TGCCGTGAGC  
1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA  
1851 CGGCCGCGAG TGCCTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG  
1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG  
1951 AACTGCCCGA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TCGGGGACCC CCTGCAACCT  
2001 GACCTGCCGC TCTCTCTCTT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCCTGCC  
2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC  
2101 TCGGTGCCCA AGGCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA  
2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG  
2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC  
2251 GCTGTCTCTA GCAGTCCCCI GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG  
2301 TCGGCCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG  
2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG  
2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCTCTGC CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA  
2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA  
2501 AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC  
2551 TGTCCGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG  
2601 CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTCGACGGG CTCAAATACC  
2651 TGTTCCCGGG GGAGTGGCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT  
2701 AACCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC  
2751 CTCAGTGAAG TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA  
2801 TTGAGCTGTI TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG  
2851 ACTCACTTTG AGGTGGTGGG GTCTGGCCGG TACATCATTG TGCTGCTGGG  
2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC  
2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGTG  
3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA  
3051 CCTGTGGAC TTTGGGAAGT CCTGGAAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA  
3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC  
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGG TTCTCTCTGT AGAATCCTTA CCAGTACGCT  
3201 CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT  
3251 GCATTTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCATTC  
3301 TGCGACACCA TTGCTGCCTA TGCCCACGTG TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT  
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA  
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GCGCTATAA CAGCTGTGCA  
3451 CCTGCCTGTC AAGTCACGTG TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT  
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCACTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG  
3551 ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCCTG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG  
3601 GTGGCTGGCC GCGGTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTCACCT TGAATCCAG  
3651 TGACCCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTGTG AACCTCACCT  
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CCGCAACATC AGAGAGCGCC  
3751 ACCCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTCCGAAAC  
3801 GCCAGGCACA AGTGTGCTG CAACTCCCGA GTCCGGACCT GGCTCCGAGC  
3851 CTGCCACTAG CGGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCCGAGAG CGCTACACCA  
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG  
3951 CAGCCAGCC GGCTCTCCTA CATCCACGGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG  
4001 CCACCCCGGA GTCAGGGCCA GGATCTGAAC CCGCTACCTC AGGCAGTGAG  
4051 ACGCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGGC CAGGGAGCCC  
4101 TGCTGGATCT CCTACGTCCA CTGAGGAAGG GTCACCAGCG GGCTCGCCCA  
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGAGCGGCG GTGGAGGATC CGGTGGCGGG  
4201 GGATCCGGTG GCGGGGGATC CGGTGGCGGG GGATCCGGTG GCGGGGGATC  
4251 CGGTGGCGGG GGATCCCTGG TCCCCGGGG CAGCGGAGGC GACAAAACCT  
4301 ACACATGCC ACCGTGCCCA GCTCCAGAAC TCCTGGGCGG ACCGTGAGTC  
4351 TTCTCTTCC CCCCAAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC  
4401 TGAGGTCACA TCGGTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA  
4451 AGTTCAACTG GTACGTGGAC GCGGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG



```

4501   CCGCGGGAGG AGCAGTACAA CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC
4551   CGTCCTGCAC CAGGACTGGC TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT
4601   CCAACAAAGC CCTCCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA
4651   GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGATGA
4701   GCTGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC
4751   CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC
4801   TACAAGACCA CGCCTCCCGT GTTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCCTCTA
4851   CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT
4901   CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC
4951   CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA ATGA

```

pSYN VWF057蛋白質序列(連接子中具有LVPR凝血酶位點之VWF D'D3-Fc)：粗體下劃線區域顯示含有連接子區域之凝血酶可裂解LVPR (SEQ ID NO: 80)

```

1     MIPAREAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNTFDGSM
51    YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101   TVTQGDQVRS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DGSGNFQVLL
151   SDRYFNKTCG LCGNENIFAE DDEMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201   ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEEFVALC
251   EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWDHSA CSPVCPAGME
301   YRQCVSPCAR TCQSLHINEM COERCVDGCS CPEGQLLEDEG LCVESTTEPC
351   VHS GKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TGQSHFKSEF
401   NRYFTFSGIC QYLLARDQD HSFSIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG
451   LHNSLVKCLKH GAGVAMDQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV RLSYGEDLQM
501   DWDGRGRLLV KLSVPYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG
551   NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
601   FLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL
651   NCPKGQVYLQ CGTFCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCF PGLYMDERGD
701   CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
751   AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM
801   SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
851   CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLEPGEQ YVLVQDYCGS
901   NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRPKDE
951   THEEVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
1001  GIONNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI
1051  MKQTMVDSSC RILTSDFEQD CNKLVDPPEY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
1101  CDTIAAYAHV CAQHGVVVTW RTATLCPOSC EERNLRENGY EAENRYNSCA
1151  PACQVTCQHP EPLACPVCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
1201  VAGRREASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGAPTESA
1251  TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP
1301  ESGPGTSTEP SEGSAPGSPA GSPTSTEEGT SESATPESGP GSEPATSGSE
1351  TPGTSESATP ESGPGSPAGS FTSTEEGSPA GSPTSTEEGA SSGGGSGGG
1401  GSGGGSGGG GSGGGSGGG GSGGGSLVP RSGGDKTHT CPPCPAPELL
1451  GGPSVLEFPK PKDITLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKE NWYVDGVEVH
1501  NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT
1551  ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNOVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG
1601  QPENNYKTP PVLDSGSEFF LYSKLTVDKS RWQGNVFSV SVMHEALHNH
1651  YTQKSLSLSP GK*

```

pSYN VWF059核苷酸序列(連接子中具有酸性區域2 (a2)凝

血酶位點之VWF D'D3-Fc) (SEQ ID NO: 81)

```
1   ATGATTCCCTG CCAGATTTCG CGGGGIGCTG CTTGCTCIGG CCCTCAITTT
51  GCCAGGGACC CTTTGTGCAG AAGGAACTCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
101 GATGCAGCCT TTTCGGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
151 TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
201 ACGTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAAIGGCAAG AGAGTGAGCC
```



251 TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTTTGACA TCCATTTGTT TGTCAATGGT  
 301 ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG  
 351 GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT  
 401 ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG  
 451 TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT  
 501 CTTTGCTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC  
 551 CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT  
 601 GAACGGGCAT CTCCTCCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT  
 651 GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT  
 701 TTGCCCGCTG CCACCCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT  
 751 GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGGC CCTGCCCTGC  
 801 CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAATG GTGCTGTACG  
 851 GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG  
 901 TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT  
 951 CAATGAAATG TGTGAGGAGC GATGCGTGGG TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG  
 1001 GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC  
 1051 GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCTCCCAGG ACCTCCCTCT CTCGAGACTG  
 1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT  
 1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTG ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC  
 1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA  
 1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTGAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG  
 1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCCTGGC  
 1351 CTGCACAACA GCCCTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA  
 1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC  
 1451 ATACAGTGAC GGCTCCTGTC CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG  
 1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC  
 1551 CGGGAAGACC TGCGGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG  
 1601 ACTTCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGACTTCGGG  
 1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGACTGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG  
 1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCCTC GAGGAGGCGT  
 1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCCC ACATTCGAGG CCTGCCATCG TGCCGTCAGC  
 1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA  
 1851 CGGCCGCGAG TGCCCTGTGG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG  
 1901 CGGGGAGAGG CGTGCCTGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG  
 1951 AACTGCCCGA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TCGGGGACCC CCTGCAACCT  
 2001 GACCTGCCGC TCTCTCTCT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCCTGCC  
 2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC  
 2101 TCGGTGCCCA AGGCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA  
 2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG  
 2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC  
 2251 GCTGTCTCTA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG  
 2301 TCGGCCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG  
 2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACCTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG  
 2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCCTGTC CCCCCGGSCA TGGTCCGGCA  
 2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA  
 2501 AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC  
 2551 TGTGCGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG  
 2601 CTCCACGATC GGCAITGGCC ACTACCTCAC CTTCGACGGG CTCAAATACC  
 2651 TGTTCCTCCG GGAGTGGCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT  
 2701 AACCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC  
 2751 CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA  
 2801 TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG  
 2851 ACTCACTTTG AGGTGGTGGG GTCTGGCCGG TACATCATTC TGCTGCTGGG  
 2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC  
 2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGTG  
 3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA  
 3051 CCTGTGGAC TTTGGGAACT CCTGGAAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA



```

3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGG TTCCCTCTGT AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201 CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251 GCATTTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCATTC
3301 TGCGACACCA TTGCTGCCTA TGCCACGTG TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GGCCTATAA CAGCTGTGCA
3451 CCTGCCTGTC AAGTCACGTG TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCACTG CCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551 ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCTG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG
3601 GTGGCTGGCC GGCCTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTCACCT TGAATCCCAG
3651 TGACCCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTTGTC AACCTCACCT
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CGCCAACATC AGAGAGCGCC
3751 ACCCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTCCGAAAC
3801 GCCAGGCACA AGTGAGTCTG CAACTCCCGA GTCGGGACCT GGCTCCGAGC
3851 CTGCCACTAG CGGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCGAGAG CGCTACACCA
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG
3951 CAGCCCAGCC GGCCTCCTA CAICACCGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG
4001 CCACCCCGGA GTCAGGGCCA GGATCTGAAC CCGCTACCTC AGGCAGTGAG
4051 ACGCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGGC CAGGGAGCCC
4101 TGCTGGATCT CCTACGTCCA CTGAGGAAGG GTCACCAGCG GGCTCGCCCA
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGATATCTG ACAAGAACAC TGGTGATTAT
4201 TACGAGGACA GTTATGAAGA TATTTAGCA TACTTGCTGA GTAAAAACAA
4251 TGCCATTGAA CCAAGAAGCT TCTCTGACAA AACTCACACA TGCCCACCGT
4301 GCCCAGCTCC AGAACTCCTG GCGGACCGT CAGTCTTCTT CTTCCCCCA
4351 AAACCCAAGG ACACCCTCAT GATCTCCCGG ACCCCTGAGG TCACATGCGT
4401 GGTGGTGGAC GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG
4451 TGGACGSGCT GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG
4501 TACAACAGCA CGTACCGTGT GGTGAGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA
4551 CTGGCTGAAT GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC
4601 CAGCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAAGGGCA GCCCCGAGAA
4651 CCACAGSTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
4701 GGTGAGCCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCAGC GACATCGCCG
4751 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGAGG ACAACTACAA GACCACGCCT
4801 CCCGTGTTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
4851 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
4901 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
4951 GGTAATGA

```

pSYN VWF059蛋白質序列(連接子中具有LVPR凝血酶位點  
 之VWF D'D3-Fc) - 粗體下劃線區域顯示a2區域(SEQ ID  
 NO: 82)



```

1   MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNIIFDGSM
51  YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101 TVTQGDQRVS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DGSGNFQVLL
151 SDRYFNKTCG LCGNFENIFAE DDEMTOEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201 ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC
251 EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTIDHSA CSPVCPAGME
301 YRQCVSPCAR TCQSLHINEM COERCVDGCS CPEGQLLEDEG LCVESTECPC
351 VHS GKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECV LGQSHFKSFD
401 NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFESIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG
451 LHNSLVKCLKH GAGVAMDGQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV RLSYGEDLQM
501 DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTSPG LAEPRVEDFG
551 NAWKLHGDCQ DLOKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
601 PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV ANREPGRCEL
651 NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD
701 CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
751 AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM

801 SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
851 CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS
901 NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELEDGE VNVKRPKDE
951 THEEVVESGR YIILLGKAL SVVWRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
1001 GIONNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI
1051 MKQTMVDSSC RILTSDFVD CNKLVDPPEY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
1101 CDTIAAYAHV CAQHGVVTV RTATLCPOSC EERNLRENGY EAERYNSCA
1151 PACQVTCQHP EPLACPQCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
1201 VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGAPTSESA
1251 TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP
1301 ESGPGTSTEP SEGSAPGSPA GSPTSTEEGT SESATPESGP GSEPATSGSE
1351 TPGTSESATP ESGPGSPAGS PTSTEEGSPA GSPTSTEEGA SISDRKNTGDY
1401 YEDSYEDISA YLLSKNNAIE PRSFSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPF
1451 KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
1501 YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
1551 PQVYTLPPSR DELTKNOVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTF
1601 PVLDSGGSFF LYSKLIVDKS RWQQGNVFC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
1651 GK*

```

pSYN VWF062核昔酸序列(連接子中不具有凝血酶位點之  
VWF D'D3-Fc) (SEQ ID NO: 83)

1 ATGATTCTG CCAGATTTGC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCCTCATTTF  
51 GCCAGGGACC CTTTGTGCAG AAGGAACTCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC  
101 GATGCAGCCT TTTCGGAAGT GACTTCGTCA ACACCITTTGA TGGGAGCATG  
151 TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA  
201 ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC  
251 TCICCGTGTG TCTTGGGGAA TTTTTTGACA TCCATTTGTT TGTCAATGGT  
301 ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG  
351 GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCCT  
401 ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG  
451 TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT  
501 CTTTGTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC  
551 CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT  
601 GAACGGGCAT CTCCTCCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT  
651 GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT  
701 TTGCCCGCTG CCACCCTCTG GTGGACCCCG AGCCITTTGT GGCCCTGTGT  
751 GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGGC CCTGCCCTGC  
801 CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAAATG GTGCTGTACG  
851 GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG  
901 TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT  
951 CAATGAAATG TGTGAGGAGC GATGCGTGGG TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG  
1001 GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC  
1051 GTGCATTCG GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG  
1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT  
1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTG ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC  
1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA  
1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTCAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG  
1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCCTGGC  
1351 CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA  
1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC  
1451 ATACAGTAC GGCCTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG  
1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC  
1551 CGGGAAGACC TCGGCCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG  
1601 ACTTCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGACTTCGGG  
1651 AACGCTTGA AGCTGCACGG GGACTGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG  
1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTCTCTC GAGGAGGCGT



1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCC ACATTGAGG CCTGCCATCG TGCCGTCAGC  
1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA  
1851 CGGCCGCGAG TGCTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG  
1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG  
1951 AACTGCCCGA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TCGGGGACCC CCTGCAACCT  
2001 GACCTGCCGC TCTCTCTCTT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCCTGCC  
2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC  
2101 TCGGTGCCCA AGGCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA  
2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG  
2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC  
2251 GCTGTCTCTA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAAAGGA GCCTATCCTG  
2301 TCGGCCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAACT CTGCGGGCTG  
2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG  
2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCTCTGC CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA  
2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA  
2501 AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC  
2551 TGTGGGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG  
2601 CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTGACGGG CTCAAATACC  
2651 TGTTCCCCGG GGAGTGCCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT  
2701 AACCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC  
2751 CTCAGTAAA TGCAAGAAAC GGGTACCCTT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA  
2801 TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG  
2851 ACTCACTTTG AGGTGGTGGG GTCTGGCCGG TACATCATTG TGCTGCTGGG  
2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC  
2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGA  
3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA  
3051 CCCTGTGGAC TTTGGGAACT CCTGGAAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA  
3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC  
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGG TTCCTCCTGT AGAATCCTTA CCAGTGCAGT  
3201 CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT  
3251 GCATTTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCATTC  
3301 TGCACACCA TTGCTGCCTA TGCCACAGTG TGTGCCAGC ATGGCAAGGT  
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA  
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GCGCTATAA CAGCTGTGCA  
3451 CCTGCCGTGC AAGTCACGTG TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT  
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCACTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG  
3551 ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCCTG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG  
3601 GTGGCTGGCC GGCCTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTACCTT TGAATCCCAG  
3651 TGACCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTTGTC AACCTCACCT  
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CGCCAACATC AGAGAGCGCC  
3751 ACCCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTCCGAAAC  
3801 GCCAGGCACA AGTGTGTCTG CAACTCCCGA GTCCGGACCT GGCTCCGAGC  
3851 CTGCCACTAG CGGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCGAGAG CGCTACACCA  
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG  
3951 CAGCCAGCC GGCTCTCCTA CATCCACGGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG  
4001 CCACCCCGGA GTCAGGGCCA GGATCTGAAC CCGCTACCTC AGGCAGTGAG  
4051 ACGCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGGC CAGGGAGCCC  
4101 TGCTGGATCT CCIACGTCCA CTGAGGAAGG GTCACCAGCG GGCTCGCCCA  
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGAGCGACA AACTCACAC ATGCCACCG  
4201 TGCCAGCTC CAGAACTCCT GGGCGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCC  
4251 AAAACCCAAG GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACATGCG  
4301 TGGTGGTGGG CGTGAGCCAC GAAGACCCTG AGGTCAAGTT CAACTGGTAC  
4351 GTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAAGCCGC GGGAGGAGCA  
4401 GTACAACAGC ACGTACCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTC CTGCACCAGG  
4451 ACTGGCTGAA TGGCAAGGAG TACAAGTGA AGGTCTCAA CAAAGCCCTC  
4501 CCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA GCCAAAGGGC AGCCCCGAGA  
4551 ACCACAGGTG TACACCCTGC CCCCATCCCG GGATGAGCTG ACCAAGAACC



4601 AGGTCAGCCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTATCCCAG CGACATCGCC  
 4651 GTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAACTACA AGACCACGCC  
 4701 TCCCGTGTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTACAGC AAGCTCACCG  
 4751 TGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CICCCTGATG  
 4801 CATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGCAG AAGAGCCTCT CCCTGTCTCC  
 4851 GGGTAAATGA

pSYN VWF062蛋白質序列(連接子中不具有凝血酶位點之

VWF D'D3-Fc) (SEQ ID NO: 84)

1 MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNTFDGSM  
 51 YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFONGK RVSLSVYLGE FEDIHLFVNG  
 101 TVTQGDQRVS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGEVARI DGSGNFQVLL  
 151 SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC  
 201 ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEOCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC  
 251 EKILCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTDHSA CSPVCPAGME  
 301 YRQCVSPCAR TCQSLHINEM COERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTECPC  
 351 VHS GKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TGQSHFKSFD  
 401 NRYFTFSGIC OYLLARDCOD HSFSIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG  
 451 LHNSLVKCLKH GAGVAMDGQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV RLSYGEDLQM  
 501 DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDEFLTPSG LAEPRVEDEG  
 551 NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS  
 601 PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL  
 651 NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD  
 701 CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFS DHHTMCY CEDGEMHCTM SGVPGSLLPD  
 751 AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCONYDLECM  
 801 SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV  
 851 CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS  
 901 NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRP MKDE  
 951 THFEVVEGR YIILLGKAL SVVWRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD  
 1001 GIQNNDLISS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI  
 1051 MKQTMVDSSC RILTSDFEQD CNKLVDPPEY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF  
 1101 CDTIAAYAHV CAQH GKVV TW RTATLCPOSC EERNLRENGY EAERYNSCA  
 1151 PACQVTCQHP EPLACPQCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE  
 1201 VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGAPTSESA  
 1251 TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP  
 1301 ESGPGTSTEP SEGSAPGSPA GSPTSTEEGT SESATPESGP GSEPATSGSE  
 1351 TPGTSESATP ESGPGSPAGS PTSTEEGSPA GSPTSTEEGA SSDKTHTCPP  
 1401 CPAPELLGGP SVFLFPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY  
 1451 VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL  
 1501 PAPIEKTISK ARGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA  
 1551 VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM  
 1601 HEALHNHYTQ KSLSLSPGK\*



pSYN FVIII 286核苷酸序列(FVIII與Fc之間具有另一 a2 區域之FVIII-Fc) (SEQ ID NO: 85)

```
1   ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCITT TCGGATTCTG
51  CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG
101 ACIATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCTT
151 CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA
201 GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA
251 GGCCACCCTG GATGGGICTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT
301 GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CIGTCAGTCT
351 TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCFGAGGGA GCTGAATATG
```

401 ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT  
451 GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCTTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC  
501 CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG  
551 TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA  
601 GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT  
651 TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT  
701 CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCTTG GCCTAAAATG  
751 CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG  
801 CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAAATGGC ACCACTCCTG  
851 AAGTGCCTC AATATTCCTC GAAGGTGACA CATTTCCTGT GAGGAACCAT  
901 CGCCAGGCTA GCTTGGAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC  
951 ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTGAT ATCTCTTCCC  
1001 ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG  
1051 GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA  
1101 TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAAC  
1151 CTCCTTCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAAC  
1201 TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT  
1251 AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG  
1301 GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC  
1351 ACAGATGAAA CCTTAAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT  
1401 CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAAGTTG AGACACACTG TTGATTATAT  
1451 TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT  
1501 GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CAAAAGGGTG TAAAACATTT  
1551 GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG  
1601 TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC  
1651 TATTACTCIA GTTTCGTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT  
1701 TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC  
1751 AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG  
1801 AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCAATCC  
1851 AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC  
1901 ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTGTTG  
1951 CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT  
2001 CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACTT CAAACACAAA ATGGTCTATG  
2051 AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAACTGT CTTGATGTCG  
2101 ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAAC CAGACTTTCG  
2151 GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA  
2201 CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTGAGC ATACTTGCTG  
2251 AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCTCAA ACGGCGCGCC  
2301 AGGTACCTCA GAGTCTGCTA CCCCCGAGTC AGGGCCAGGA TCAGAGCCAG  
2351 CCACCTCCGG GTCTGAGACA CCCGGGACTT CCGAGAGTGC CACCCCTGAG  
2401 TCCGGACCCG GGTCCGAGCC CGCCACTTCC GGCTCCGAAA CTCCCGGCAC  
2451 AAGCGAGAGC GCTACCCAG AGTCAGGACC AGGAACATCT ACAGAGCCCT  
2501 CTGAAGGCTC CGCTCCAGGG TCCCAGCCG GCAGTCCCAC TAGCACCGAG  
2551 GAGGGAACCT CTGAAAGCGC CACACCCGAA TCAGGGCCAG GGTCTGAGCC  
2601 TGCTACCAGC GECAGCGAGA CACCAGGCAC CTCTGAGTCC GCCACACCAG  
2651 AGTCCGGACC CGGATCTCCC GCTGGGAGCC CCACCTCCAC TGAGGAGGGA  
2701 TCTCCTGCTG GCTCTCCAAC ATCTACTGAG GAAGGTACCT CAACCGAGCC  
2751 ATCCGAGGGA TCAGCTCCCG GCACCTCAGA GTCGGCAACC CCGGAGTCTG  
2801 GACCCGGAAC TTCCGAAAGT GCCACACCAG AGTCCGGTCC CGGGACTTCA  
2851 GAATCAGCAA CACCCGAGTC CGGCCCTGGG TCTGAACCCG CCACAAGTGG  
2901 TAGTGAGACA CCAGGATCAG AACCTGCTAC CTCAGGGTCA GAGACACCCG  
2951 GATCTCCGGC AGGCTCACCA ACCTCCACTG AGGAGGGCAC CAGCACAGAA  
3001 CCAAGCGAGG GCTCCGCACC CGGAACAAGC ACTGAACCCA GTGAGGGTTC  
3051 AGCACCCGGC TCTGAGCCGG CCACAAGTGG CAGTGAGACA CCCGGCACTT  
3101 CAGAGAGTGC CACCCCGAG AGTGGCCAG GCACTAGTAC CGAGCCCTCT  
3151 GAAGGCAGTG CGCCAGCCTC GAGCCCACCA GTCTTGAAAC GCCATCAAGC  
3201 TGAAATAACT CGTACTACTC TTCAGTCAGA TCAAGAGGAA ATCGATTATG



3251 ATGATACCAT ATCAGTTGAA ATGAAGAAGG AAGATTTTGA CATTATGAT  
3301 GAGGATGAAA ATCAGAGCCC CCGCAGCTTT CAAAAGAAAA CACGACACTA  
3351 TTTTATTGCT GCAGTGGAGA GGCTCTGGGA TTATGGGATG AGTAGCTCCC  
3401 CACATGTTCT AAGAAACAGG GCTCAGAGTG GCAGTGTCCC TCAGTTCAAG  
3451 AAAGTTGTTT TCCAGGAATT TACTGATGGC TCCTTTACTC AGCCCTTATA  
3501 CCGTGGAGAA CTAAATGAAC ATTTGGGACT CCTGGGGCCA TATATAAGAG  
3551 CAGAAGTTGA AGATAATATC ATGGTAACTT TCAGAAATCA GGCCCTCTCGT  
3601 CCCTATTCTT TCTATTCTAG CCTTATTTCT TATGAGGAAG ATCAGAGGCA  
3651 AGGAGCAGAA CCTAGAAAAA ACTTTGTCAA GCCTAATGAA ACCAAAACCTT  
3701 ACTTTTGGAA AGTGCAACAT CATATGGCAC CCACTAAAGA TGAGTTTGAC  
3751 TGCAAAGCCT GGGCTTATTT CTCTGATGTT GACCTGGAAA AAGATGTGCA  
3801 CTCAGGCCTG ATTGGACCCC TTCTGGTCTG CCACACTAAC ACACTGAACC  
3851 CTGCTCATGG GAGACAAGTG ACAGTACAGG AATTIGCTCT GTTTTTACC  
3901 ATCTTTGATG AGACCAAAAG CTGGTACTTC ACTGAAAATA TGGAAAGAAA  
3951 CTGCAGGGCT CCCTGCAATA TCCAGATGGA AGATCCCCTT TTTAAAGAGA  
4001 ATTATCGCTT CCATGCAATC AATGGCTACA TAATGGATAC ACTACCTGGC  
4051 TTAGTAATGG CTCAGGATCA AAGGATTCGA TGGTATCTGC TCAGCATGGG  
4101 CAGCAATGAA AACATCCATT CTATTCAATT CAGTGGACAT GTGTTCACTG  
4151 TACGAAAAAA AGAGGAGTAT AAAATGGCAC TGTACAATCT CTATCCAGGT  
4201 GTTTTTGAGA CAGTGGAAAT GTTACCATCC AAAGCTGGAA TTTGGCGGGT  
4251 GGAATGCCTT ATTGGCGAGC ATCTACATGC TGGGATGAGC ACACTTTTTTC  
4301 TGGTGTACAG CAATAAGTGT CAGACTCCCC TGGGAATGGC TTCIGGACAC  
4351 ATTAGAGATT TTCAGATTAC AGCTTCAGGA CAATATGGAC AGTGGGCCCC  
4401 AAAGCTGGCC AGACTTCATT ATTCCGGATC AATCAATGCC TGGAGCACCA  
4451 AGGAGCCCTT TTCTTGGATC AAGGTGGATC TGTTGGCACC AATGATTATT  
4501 CACGGCATCA AGACCCAGGG TGCCCGTCAG AAGTTCTCCA GCCTCTACAT  
4551 CTCTCAGTTT ATCATCATGT ATAGTCTTGA TGGGAAGAAG TGGCAGACTT  
4601 ATCGAGGAAA TTCCACTGGA ACCTTAATGG TCTTCTTTGG CAATGTGGAT  
4651 TCATCTGGGA TAAAACACAA TATTTTTAAC CCTCCAATTA TTGCTCGATA  
4701 CATCCGTTTG CACCCAACTC ATTATAGCAT TCGCAGCACT CTTCCGATGG  
4751 AGTTGATGGG CTGTGATTIA AATAGTTGCA GCATGCCATT GGGAAATGGAG  
4801 AGTAAAGCAA TATCAGATGC ACAGATTACT GCTTCATCCT ACTTTACCAA  
4851 TATGTTTGCC ACCTGGTCTC CTTCAAAGC TCGACTTCAC CTCCAAGGGA  
4901 GGAGTAATGC CTGGAGACCT CAGGTGAATA ATCCAAAAGA GTGGCTGCAA  
4951 GTGGACTTCC AGAAGACAAT GAAAGTCACA GGAGTAACTA CTCAGGGAGT  
5001 AAAATCTCTG CTTACCAGCA TGTATGTGAA GGAGTTCCTC ATCTCCAGCA  
5051 GTCAGATGG CCATCAGTGG ACTCTCTTTT TTCAGAAATGG CAAAGTAAAG  
5101 GTTTTTCAGG GAAATCAAGA CTCCTTCACA CCTGTGGTGA ACTCTCTAGA  
5151 CCCACCGTTA CTGACTCGCT ACCTTTGAAT TCACCCCCAG AGTTGGGTGC  
5201 ACCAGATTGC CCTGAGGATG GAGGTTCTGG GCTGCGAGGC ACAGGACCTC  
5251 TACGACAAGA ACACTGGTGA TTATTACGAG GACAGTTATG AAGATATTTT  
5301 AGCATACTTG CTGAGTAAAA ACAATGCCAT TGAACCAAGA AGCTTCTCTG  
5351 ACAAACCTCA CACATGCCCA CCGTGCCAG CTCCAGAACT CCTGGGCGGA  
5401 CCGTCAGTCT TCCTCTTCCC CCCAAAACCC AAGGACACCC TCATGATCTC  
5451 CCGGACCCCT GAGGTCACAT GCGTGGTGGT GGACGTGAGC CACGAAGACC  
5501 CTGAGGTCAA GTTCAACTGG TACGTGGACG GCGTGGAGGT GCATAATGCC  
5551 AAGACAAAGC CGCGGGAGGA GCAGTACAAC AGCACGTACC GTGTGGTCAG  
5601 CGTCCTCACC GTCCTGCACC AGGACTGGCT GAATGGCAAG GAGTACAAGT  
5651 GCAAGGTCTC CAACAAAGCC CTCCCAGCCC CCATCGAGAA AACCATCTCC  
5701 AAAGCCAAAG GGCAGCCCCG AGAACCACAG GTGTACACCC TGCCCCATC  
5751 CCGGGATGAG CTGACCAAGA ACCAGGTCAG CCTGACCTGC CTGGTCAAAG  
5801 GCTTCTATCC CAGCGACATC GCCGTGGAGT GGGAGAGCAA TGGGCAGCCG  
5851 GAGAACAACCT ACAAGACCAC GCCTCCCGTG TTGGACTCCG ACGGCTCCTT  
5901 CTTCTCTIAC AGCAAGCTCA CCGTGGACAA GAGCAGGTGG CAGCAGGGGA  
5951 ACGTCTTCTC ATGCTCCGTG ATGCATGAGG CTCTGCACAA CCACTACAGG  
6001 CAGAAGAGCC TCTCCCTGTC TCCGGGTAAA TGA



pSYN FVIII 286蛋白質序列(FVIII與Fc之間具有另一a2區域之FVIII-Fc；以粗體及下劃線顯示)(SEQ ID NO: 86)

```

1   ATRRYYLGAVAL ELSWDYMQSD LGELPVDARF PPRVPKSFPF NTSVVYKKTLL
51  FVEFTDHLFN IAKPRFPWVG LLGPTIQAEV YDTVVITLKN MASHPVSLHA
101 VGVSYWKASE GAEYDDQTSQ REKEDDKVFP GGSHTYVWQV LKENGPMASD
151 PLCLTYSYLS HVDLVKDLNS GLIGALLVCR EGSLAKEKTQ TLHKFILLFA
201 VFDEGKSNHS ETKNSLMQDR DAASARAWPK MHTVNGYVNR SLPGLIGCHR
251 KSVYWHVIGM GTTPEVHSIF LEGHTFLVRN HROASLEISP ITFLTAQTLL
301 MDLGQFLLFC HISSHQHDGM EAYVKVDSCE EPQLRMKNN EEAEDYDDDL
351 TDSEMDVVRV DDDNSPFIQ IRSVAKKHPK TWVHYIAAEE EDWDYAPLVL
401 APDDRSYKSO YLNNQPORIG RKYKKVREMA YDDEFKTR EAIQHEGILG
451 PLLYGEVGDV LLIIFKNOAS RPYNIYPHGI TDVRFPLYSRR LPKGVKHLKD
501 FPILPGEIFK YKWTVTVEDG PTKSDPRCLT RYSSSFVNME RDLASGLIGP
551 LLICYKESVD QRGNQIMSDK RNVILFSVFD ENRSWYLTIEN IQRFLPNPAG
601 VOLEDPEFOA SNIMHSINGY VFDSLQLSVC LHEVAYWYIL SIGAQTDFLS
651 VFFSGYTFKH KMYEDTLTL FPFSGETVFM SMENPGLWIL GCHNSDFRNR
701 GMTALLKVSS CDKNIGDYEE DSYEDISAYL LSKNNAIEPR SESONGAPGT
751 SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP ESGPGSEPAT SGSETPGTSE
801 SATPESGPGT STEPSEGSAP GSPAGSPTST EEGTSESATP ESGPGSEPAT
851 SGSETPGTSE SATPESGPGS PAGSPTSTEE GSPAGSPTST EEGTSTEPSE
901 GSAPGTSESA TPESGPGTSE SATPESGPGT SESATPESGP GSEPATSGSE
951 TPGSEPATSG SETPGSPAGS PTSTEEGTST EPSEGSAPGT STEPSEGSAP
1001 GSEPATSGSE TPGTSESATP ESGPGTSTEP SEGSAPASSP PVLKRHQAEI
1051 TRITLQSDQE EIDYDDTISV EMKKEDFDIY DEDENQSPRS FQKTRHYFI
1101 AAVERLWDYG MSSSPHVLRN RAQSGSVQF KVVVQEFQD GSFTQPLYRG
1151 ELNEHLGLLG PYIRAEVEDN IMVIFRNOAS RPYSFYSSLI SYEEDQRQGA
1201 EPRKNFVKPN ETKTYFWKVQ HHMAPTKDEF DCKAWAYFSD VDLEKDVHSG
1251 LIGPLLVCHT NTLNPAHGRQ YTVQEFALFF TIFDETKSWY FTENMERNCR
1301 APCNIQMEDP TFKENYRFHA INGYIMDTLP GLVMAQDQRI RWYLLSMGSN
1351 ENIHSIHFSG HVFTVRKKEE YKMALYNLYP GVFTVEMLP SKAGIWRVEC
1401 LIGEHLHAGM STLELVYSNK CQPLGMASG HIRDFQITAS GOYGQWAPKL
1451 ARLHYSGSIN AWSTKEPFSW IKVDLLAPMI IHGIKTQGAR QKFSSLYISQ
1501 FIIMYSLDGG KWQTYRGNST GTLMVFFGNV DSSGIKHNI FNPPIIARYIR
1551 LHPTHYSIRS TLRMELMGCD LNCSMPLGM ESKAISDAQI TASSYFTNMF
1601 ATWSPSKARL HLOGRSNAWR PQVNNKEWL QVDFQKTMKV TGVTTQGVKS
1651 LLTSMYVKEF LISSSQDGHQ WTLFFQNGKV KVFQGNQDSF TPVVNSLDPP
1701 LLTRYLRHP QSWVHQIALR MEVLGCEAOD LYDKNTGDYY EDSYEDISAY
1751 LLSKNNAIEP RSFSDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT
1801 PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL
1851 TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD
1901 ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSGGSFEL
1951 YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K*

```

FVIII 169核昔酸序列(SEQ ID NO: 87)

```

1   ATGCA AATAG AGCTC TCCAC CTGCT TCTTT CTGTG CTTT TCGGA TTCTG
51  CTTTA GTGCC ACCAG AAGAT ACTAC CTGGG TGCAG TGGAA CTGTC ATGGG
101 ACTAT ATGCA AAGTG ATCTC GGTGA GCTGC CTGTG GACGC AAGAT TTCCT
151 CCTAG AGTGC CAAAA TCTTT TCCAT TCAAC ACCTC AGTCG TGTAC AAAAA
201 GACTC TGTTT GTAGA ATTCA CGGAT CACCT TTTCA ACATC GCTAA GCCAA
251 GGCCA CCTG GATGG GTCTG CTAGG TCCTA CCATC CAGGC TGAGG TTTAT
301 GATAC AGTGG TCATT AACT TAAGA ACATG GCTTC CCATC CTGTC AGTCT
351 TCATG CTGTT GGIGT ATCCT ACTGG AAAGC TTCTG AGGGA GCTGA ATATG
401 ATGAT CAGAC CAGTC AAAGG GAGAA AGAAG ATGAT AAAGT CTTCC CTGGT
451 GGAAG CCATA CATAT GTCTG GCAGG TCCTG AAAGA GAATG GTCCA ATGGC

```



501 CTCTG ACCCA CTGTG CCTTA CCTAC TCATA TCTTT CTCAT GTGGA CCTGG  
551 TAAAA GACTT GAATT CAGGC CTCAT TGGAG CCCTA CTAGT ATGTA GAGAA  
601 GGGAG TCTGG CCAAG GAAAA GACAC AGACC TTGCA CAAAT TTATA CTACT  
651 TTTTG CTGTA TTTGA TGAAG GGAAA AGTTG GCACT CAGAA ACAA GAACT  
701 CCTTG ATGCA GGATA GGGAT GCTGC ATCTG CTCGG GCCTG GCCTA AAATG  
751 CACAC AGTCA ATGGT TATGT AAACA GGTCT CTGCC AGGTC IGATT GGATG  
801 CCACA GGAAA TCAGT CTATT GGCAT GTGAT TGGAA TGGGC ACCAC TCCTG  
851 AAGTG CACTC AATAT TCCTC GAAGG TCACA CATTI CTGTG GAGGA ACCAT  
901 CGCCA GGCTA GCTTG GAAAT CTCGC CAATA ACTTT CCTTA CTGCT CAAAC  
951 ACTCT TGATG GACCT TGGAC AGTTT CTACT GTTTT GTCAT ATCTC TTCCC  
1001 ACCAA CATGA TGGCA TGGAA GCTTA TGTCA AAGTA GACAG CTGTC CAGAG  
1051 GAACC CCAAC TACGA ATGAA AAATA ATGAA GAAGC GGAAG ACTAT GATGA  
1101 TGATC TTACT GATTC TGAAA TGGAT GTGGT CAGGT TTGAT GATGA CAACT  
1151 CTCCT TCCTT TATCC AAATT CGCTC AGTTG CCAAG AAGCA TCCTA AAACT  
1201 TGGGT ACATT ACATT GCTGC TGAAG AGGAG GACTG GGACT ATGCT CCCTT  
1251 AGTCC TCGCC CCCGA TGACA GAAGT TATAA AAGTC AATAT TTGAA CAATG  
1301 GCCCT CAGCG GATTG GTAGG AAGTA CAAAA AAGTC CGATT TATGG CATAc  
1351 ACAGA TGAAA CCTTT AAGAC TCGTG AAGCT ATTCA GCATG AATCA GGAAT  
1401 CTGGG GACCT TTACT TTATG GGGAA GTTGG AGACA CACTG TTGAT TATAT  
1451 TTAAG AATCA AGCAA GCAGA CCATA TAACA TCTAC CCTCA CGGAA TCACT  
1501 GATGT CCGTC CTTTG TATTC AAGGA GATTA CCAA AGGTG TAAAA CATTI  
1551 GAAGG ATTTT CCAAT TCTGC CAGGA GAAAT ATTCA AATAT AAATG GACAG  
1601 TGACT GTAGA AGATG GGCCA ACTAA ATCAG ATCCT CGGIG CCTGA CCCGC  
1651 TATTA CTCTA GTTTC GTTAA TATGG AGAGA GATCT AGCTT CAGGA CTCAT  
1701 TGGCC CTCTC CTCAT CTGCT ACAA GAATC TGTAG ATCAA AGAGG AAACC  
1751 AGATA ATGTC AGACA AGAGG AATGT CATCC TGTTT TCTGT AITTG ATGAG  
1801 AACCG AAGCT GGTAC CTCAC AGAGA ATATA CAACG CTTTC TCCCC AATCC  
1851 AGCTG GAGTG CAGCT TGAGG ATCCA GAGTT CCAAG CCTCC AACAT CATGC  
1901 ACAGC ATCAA TGGCT ATGTT TTTGA TAGTT TGCAG TTGTC AGTTT GTTTG  
1951 CATGA GGIGG CATAc TGGTA CATTc TAAGC ATTGG AGCAC AGACT GACTT  
2001 CCTTT CTGTC TTCTT CTCTG GATAT ACCTT CAAAC ACAA ATGGT CTATG  
2051 AAGAC ACACT CACCC TATTC CCATT CTCAG GAGAA ACTGT CTTCA TGTCG  
2101 ATGGA AAACC CAGGT CTATG GATTC TGGGG TGCCA CAACT CAGAC TTTCG  
2151 GAACA GAGGC ATGAC CGCCT TACTG AAGGT TTCTA GTTGT GACAA GAACA  
2201 CTGGT GATTA TTACG AGGAC AGTTA TGAAG ATATT TCAGC ATACT TGCTG  
2251 AGTAA AAACA ATGCC ATTGA ACCAA GAAGC TTCTC TCAA ACGGC GCGCC  
2301 AGGTA CCTCA GAGTC TGCTA CCCCC GAGTC AGGGC CAGGA TCAGA GCCAG  
2351 CCACC TCCGG GTCTG AGACA CCGG GACTT CCGAG AGTGC CACCC CTGAG  
2401 TCCGG ACCCG GGTCC GAGCC CGCCA CTTCC GGCTC CGAAA CTCCC GGCAC  
2451 AAGCG AGAGC GCTAC CCCAG AGTCA GGACC AGGAA CATCT ACAGA GCCCT  
2501 CTGAA GGCTC CGCTC CAGGG TCCCC AGCCG GCAGT CCCAC TAGCA CCGAG  
2551 GAGGG AACCT CTGAA AGCGC CACAC CCGAA TCAGG GCCAG GGTCT GAGCC  
2601 TGCTA CCAGC GGCAG CGAGA CACCA GGCAC CTCTG AGTCC GCCAC ACCAG  
2651 AGTCC GGACC CGGAT CTCCC GCTGG GAGCC CCACC TCCAC TGAGG AGGGA  
2701 TCTCC TGCTG GCTCT CCAAC ATCTA CTGAG GAAGG TACCT CAACC GAGCC  
2751 ATCCG AGGGA TCAGC TCCCG GCACC TCAGA GTCGG CAACC CCGGA GTCTG  
2801 GACCC GGAAC TTCCG AAAGT GCCAC ACCAG AGTCC GGTCC CGGGA CTICA  
2851 GAATC AGCAA CACCC GAGTC CGGCC CTGGG TCTGA ACCCG CCACA AGTGG  
2901 TAGTG AGACA CCAGG ATCAG AACCT GCTAC CTCAG GGTCA GAGAC ACCCG  
2951 GATCT CCGGC AGGCT CACCA ACCTC CACTG AGGAG GGCAC CAGCA CAGAA  
3001 CCAAG CGAGG GCTCC GCACC CGGAA CAAGC ACTGA ACCCA GTGAG GGTTC  
3051 AGCAC CCGGC TCTGA GCCGG CCACA AGTGG CAGTG AGACA CCGG CACTT  
3101 CAGAG AGTGC CACCC CCGAG AGTGG CCCAG GCACT AGTAC CGAGC CCTCT  
3151 GAAGG CAGTG CGCCA GCCTC GAGCC CACCA GTCTT GAAAC GCCAT CAAGC  
3201 TGAAA TAACT CGTAC TACTC TTCAG TCAGA TCAAG AGGAA ATCGA TTATG  
3251 ATGAT ACCAT ATCAG TTGAA ATGAA GAAGG AAGAT TTTGA CATTI ATGAT  
3301 GAGGA TGAAA ATCAG AGCCC CCGCA GCTTT CAAAA GAAAA CACGA CACTA



3351 TTTTA TTGCT GCAGT GGAGA GGCTC TGGGA TTATG GGATG AGTAG CTCCC  
3401 CACAT GTTCT AAGAA ACAGG GCTCA GAGTG GCAGT GTCCC TCAGT TCAAG  
3451 AAAGT TGTTT TCCAG GAATT TACTG ATGGC TCCTT TACTC AGCCC TTATA  
3501 CCGTG GAGAA CTAAA TGAAC ATTTG GGACT CCTGG GGCCA TATAT AAGAG  
3551 CAGAA GTTGA AGATA ATATC ATGGT AACTT TCAGA AATCA GGCCT CTCGT  
3601 CCCTA TTCCT TCTAT TCTAG CCTTA TTTCT TATGA GGAAG ATCAG AGGCA  
3651 AGGAG CAGAA CCTAG AAAAA ACTTT GTCAA GCCTA ATGAA ACCAA AACTT  
3701 ACTTT TGGAA AGTGC AACAT CATAT GGCAC CCACT AAAGA TGAGT TTGAC  
3751 TGCAA AGCCT GGGCT TATTT CTCTG ATGTT GACCT GGAAA AAGAT GTGCA  
3801 CTCAG GCCTG ATFGG ACCCC TTCTG GECTG CCACA CTAAC ACACT GAACC  
3851 CTGCT CATGG GAGAC AAGTG ACAGT ACAGG AATTT GCTCT GTTTT TCACC  
3901 ATCTT TGATG AGACC AAAAG CTGGT ACTTC ACTGA AAATA TGGAA AGAAA  
3951 CTGCA GGGCT CCCTG CAATA TCCAG ATGGA AGATC CCACT TTTAA AGAGA  
4001 ATTAT CGCTT CCATG CAATC AATGG CTACA TAATG GATAC ACTAC CTGGC  
4051 TTAGT AATGG CTCAG GATCA AAGGA TTCGA TGGTA TCTGC TCAGC ATGGG  
4101 CAGCA ATGAA AACAT CCATT CTATT CATTI CAGTG GACAT GTGTT CACTG  
4151 TACGA AAAAA AGAGG AGTAT AAAAT GGCAC TGTAC AATCT CTATC CAGGT  
4201 GTTTT TGAGA CAGTG GAAAT GTTAC CATCC AAAGC TGGAA TTTGG CGGGT  
4251 GGAAT GCCTT ATFGG CGAGC ATCTA CATGC TGGGA TGAGC ACACT TTTTC  
4301 TGGTG TACAG CAATA AGTGT CAGAC TCCCC TGGGA ATGGC TTCTG GACAC  
4351 ATTAG AGATT TTCAG ATTAC AGCTT CAGGA CAATA TGGAC AGTGG GCCCC  
4401 AAAGC TGGCC AGACT TCATT ATTCC GGATC AATCA ATGCC TGGAG CACCA  
4451 AGGAG CCCTT TTCTT GGATC AAGGT GGATC TGTTG GCACC AATGA TTATT  
4501 CACGG CATCA AGACC CAGGG TGCCC GTCAG AAGTT CTCCA GCCTC TACAT  
4551 CTCTC AGTTT ATCAT CATGT ATAGT CTTGA TGGGA AGAAG TGGCA GACTT  
4601 ATCGA GGAAA TTCCA CTGGA ACCCT AATGG TCTTC TTTGG CAATG TGGAT  
4651 TCATC TGGGA TAAAA CACAA TATTT TTAAC CCTCC AATTA TTGCT CGATA  
4701 CATCC GTTTG CACCC AACTC ATTAT AGCAT TCGCA GCACCT CTTCG CATGG  
4751 AGTTG ATGGG CTGTG ATTTA AATAG TTGCA GCATG CCATT GGGAA TGGAG  
4801 AGTAA AGCAA TATCA GATGC ACAGA TFACT GCTTC ATCCT ACTTT ACCAA  
4851 TATGT TTGCC ACCTG GTCTC CTTCA AAAGC TCGAC TTCAC CTCCA AGGGA  
4901 GGAGT AATGC CTGGA GACCT CAGGT GAATA ATCCA AAAGA GTGGC TGCAA  
4951 GTGGA CTTCC AGAAG ACAAT GAAAG TCACA GGAGT AACTA CTCAG GGAGT  
5001 AAAAT CTCTG CTTAC CAGCA TGTAT GTGAA GGAGT TCCTC ATCTC CAGCA  
5051 GTCAA GATGG CCATC AGTGG ACTCT CTTTT TTCAG AATGG CAAAG TAAAG  
5101 GTTTT TCAGG GAAAT CAAGA CTCCT TCACA CCTGT GGTGA ACTCT CTAGA  
5151 CCCAC CGTTA CTGAC TCGCT ACCCT CGAAT TCACC CCCAG AGTTG GGTGC  
5201 ACCAG ATTGC CCTGA GGATG GAGGT TCTGG GCTGC GAGGC ACAGG ACCTC  
5251 TACGA CAAAA CTCAC ACATG CCCAC CGTGC CCAGC TCCAG AACTC CTGGG  
5301 CGGAC CGTCA GTCTT CCTCT TCCCC CAAA ACCCA AGGAC ACCCT CATGA  
5351 TCTCC CGGAC CCCTG AGGTC ACATG CGTGG TGGTG GACST GAGCC ACGAA  
5401 GACCC TGAGG TCAAG TTCAA CTGGT ACSTG GACGG CGTGG AGGTG CATAA  
5451 TGCCA AGACA AAGCC GCGGG AGGAG CAGTA CAACA GCACG TACCG TGTGG  
5501 TCAGC GTCCT CACCG TCCTG CACCA GGACT GGCTG AATGG CAAGG AGTAC  
5551 AAGTG CAAGG TCTCC AACAA AGCCC TCCA GCCCC CATCG AGAAA ACCAT  
5601 CTCCA AAGCC AAAGG GCAGC CCCGA GAACC ACAGG TGTAC ACCCT GCCCC  
5651 CATCC CGGGA TGAGC TGACC AAGAA CCAGG TCAGC CTGAC CTGCC TGGTC  
5701 AAAGG CTTCT ATCCC AGCGA CATCG CCGTG GAGTG GGAGA GCAAT GGGCA  
5751 GCCGG AGAAC AACTA CAAGA CCACG CCTCC CGTGT TGGAC TCCGA CGGCT  
5801 CCTTC TTCCT CTACA GCAAG CTCAC CGTGG ACAAG AGCAG GTGGC AGCAG  
5851 GGGAA CGTCT TCTCA TGCTC CGTGA TGCAT GAGGC TCTGC ACAAC CACTA  
5901 CACGC AGAAG AGCCT CTCCC TGTCT CCGGG TAAAT GA



## FVIII 169蛋白質序列 (SEQ ID NO: 88)

```

1   MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAWE LSWDYMQSDL GELPVDARFP
51  PRVPKSEFPN TSVVYKKTLE VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY
101 DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG
151 GSHTYVWQVL KENGPMSADP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE
201 GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM
251 HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHIFLVRNH
301 ROASLEISPI TFLTAQTLIM DLGQELLECH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE
351 EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT
401 WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDRSYKSOY LNNGPQRIGR KYKKVREMAV
451 TDETFKIREA IQHESGILGP LLYGEVGDIT LLIIFKNOASR PYNIPHGIT
501 DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIEFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR
551 YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE
601 NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPFQOAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL
651 HEVAYWYILS IGAQIDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVEMS
701 MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL
751 SKNNAIEPRS FSONGAPGTS ESATPESGPG SEPATSGSET PGTSESATPE
801 SGPGESEPAT SGPGESEPAT SGPGESEPAT SGPGESEPAT SGPGESEPAT
851 EGTSESATPE SGPGESEPAT SGPGESEPAT SGPGESEPAT SGPGESEPAT
901 SPAGSPTSTE EGTSTEPSEG SAPGTSESAT PESGPGTSES ATPESGPGTS
951 ESATPESGPG SEPATSGSET PGSEPATSGS ETPGSPAGSP TSTEEGTSTE
1001 PSEGSAPGTS TEPSEGSAPG SEPATSGSET PGTSESATPE SGPGTSTEPS
1051 EGSAPASSPP VLKRHQAEIT RTTLQSDQEE IDYDDTISVE MKKEDFDIYD
1101 EDENQSPRSF QKKTRHYFIA AVERLWDYGM SSSPHVLRNR AQSGSVPOFK
1151 KVVFOEFTDG SFTQPLYRGE LNEHLGLLGP YIRAEVEDNI MVTFRNOASR
1201 PYSFYSSLIS YEEDQRQGAE PRKNFVKPNE TKTYFWKVQH HMAPTKDEFD
1251 CKAWAYFSDV DLEKDVHSGI IGPLLVCHTN TLNPAHGRQV TVQEFALFFT
1301 IFDETKSWYF TENMERNCRP PCNIQMEDPT FKENYRFHAI NGYIMDTLPG
1351 LVMAQDQIR WYLLSMGSNE NIHSIHFSGH VFTVRKKEEY KMALYNLYPG
1401 VFETVEMLPS KAGIWRVECL IGEHLHAGMS TLFLVYSNKC QTPLGMASGH
1451 IRDFQITASG QYGQWAPKLA RLHYSGSINA WSTKEPFSWI KVDLLAPMII
1501 HGIKTQGARQ KFSSLYISQF IIMYSLDGKK WQTYRGNSTG TLMVFFGNVD
1551 SSGIKHNIEN PPIIARYIRL HPTHYSIRST LRMELMGCDL NSCSMPLGME
1601 SKAISDAQIT ASSYFTNMEA TWSPSKARLH LQGRSNAWRP QVNNPKEWLQ
1651 VDFQKTMKVT GVTTQGVKSL LISMVYKEFL ISSSQDGHQW TLFFQNGKVK
1701 VFQGNQDSFT PVVNSLDPEL LTRYLRHPO SWVHQIALRM EVLGCEAODL
1751 YDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVIVSHE
1801 DPEVKENWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
1851 KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSPRDELT KNQVSLTCLV
1901 KGFYPSDIAV EWESNGQPN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
1951 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

```

## VWF034核苷酸序列(SEQ ID NO: 91)

```
1   ATGAT TCCTG CCAGA TTTGC CGGGG TGCTG CTTGC TCTGG CCCTC ATTTT
51  GCCAG GGACC CTTTG TGCAG AAGGA ACTCG CGGCA GGTCA TCCAC GGCCC
101 GATGC AGCCT TTTCG GAAGT GACTT CGTCA ACACC TTTGA TGGGA GCATG
151 TACAG CTTTG CGGGA TACTG CAGTT ACCTC CTGGC AGGGG GCTGC CAGAA
201 ACGCT CCTTC TCGAT TATTG GGGAC TTCCA GAATG GCAAG AGAGT GAGCC
251 TCTCC GTGTA TCTTG GGGAA TTTT  TGACA TCCAT TTGTT TGTC AATGGT
301 ACCGT GACAC AGGGG GACCA AAGAG TCTCC ATGCC CTATG CCTCC AAAGG
351 GCTGT ATCTA GAAAC TGAGG CTGGG TACTA CAAGC TGTCC GGTGA GGCCT
401 ATGGC TTTGT GGCCA GGATC GATGG CAGCG GCAAC TTTCA AGTCC TGCTG
451 TCAGA CAGAT ACTTC AACAA GACCT GCGGG CTGTG TGGCA ACTTT AACAT
501 CTTTG CTGAA GATGA CTTTA TGACC CAAGA AGGGA CCTTG ACCTC GGACC
551 CTTAT GACTT TGCCA ACTCA TGGGC TCTGA GCAGT GGAGA ACAGT GGTTT
601 GAACG GGCAT CTCCT CCCAG CAGCT CATGC AACAT CTCCT CTGGG GAAAT
651 GCAGA AGGGC CTGTG GGAGC AGTGC CAGCT TCTGA AGAGC ACCTC GGTTT
701 TTGCC CGCTG CCACC CTCIG GTGGA CCCC  AGCCT TTTGT GGCCC TGTGT
751 GAGAA GACTT TGTGT GAGTG TGCTG GGGGG CTGGA GTGCG CCTGC CCTGC
```



801 CCTCC TGGAG TACGC CCGGA CCTGT GCCCA GGAGG GAATG GTGCT GTACG  
 851 GCTGG ACCGA CCACA GCGCG TGCAG CCCAG TGTGC CCTGC TGGTA TGGAG  
 901 TATAG GCAGT GTGTG TCCCC TTGCG CCAGG ACCTG CCAGA GCCTG CACAT  
 951 CAATG AAATG TGTC AAGGC CTCTG CGTGG AGAGC ACCGA GTGTC CCTGC  
 1001 GACAG CTCCT GGATG AAGGC CTCTG CGTGG AGAGC ACCGA GTGTC CCTGC  
 1051 GTGCA TTCCG GAAAG CGCTA CCCIC CCGGC ACCIC CCTCT CTCGA GACTG  
 1101 CAACA CCTGC ATTTG CCGAA ACAGC CAGTG GATCT GCAGC AATGA AGAAT  
 1151 GTCCA GGGGA GTGCC TTGTC ACTGG TCAAT CCCAC TTCAA GAGCT TTGAC  
 1201 AACAG ATACT TCACC TTCAG TGGGA TCTGC CAGTA CCTGC TGGCC CGGGA  
 1251 TTGCC AGGAC CACTC CTTCT CCATT GTCAT TGAGA CTGTC CAGTG TGCTG  
 1301 ATGAC CGCGA CGCTG TGTGC ACCCG CTCCG TCACC GTCCG GCTGC CTGGC  
 1351 CTGCA CAACA GCCTT GTGAA ACTGA AGCAT GGGGC AGGAG TTGCC ATGGA  
 1401 TGGCC AGGAC ATCCA GCTCC CCCTC CTGAA AGGTG ACCTC CGCAT CCAGC  
 1451 AFACA GTGAC GGCTT CCGTG CGCCT CAGCT ACGGG GAGGA CCTGC AGATG  
 1501 GACTG GGATG GCCGC GGGAG GCTGC TGGTG AAGCT GTCCC CCGTC TATGC  
 1551 CGGGA AGACC TGCCG CCTGT GTGGG AATTA CAATG GCAAC CAGGG CGACG  
 1601 ACTTC CTTAC CCCCT CTGGG CTGGC GGAGC CCCGG GTGGA GGACT TCGGG  
 1651 AACGC CTGGA AGCTG CACGG GGACT GCCAG GACCT GCAGA AGCAG CACAG  
 1701 CGATC CCTGC GCCCT CAACC GCGGC ATGAC CAGGT TCTCC GAGGA GCGCT  
 1751 GCGCG GTCCT GACGT CCCCC ACATT CGAGG CCTGC CATCG TGCCG TCAGC  
 1801 CCGCT GCCCT ACCTG CGGAA CTGCC GCTAC GACGT GTGCT CCTGC TCGGA  
 1851 CGGCC GCGAG TGCCT GTGCG GCGCC CTGGC CAGCT ATGCC GCGGC CTGGC  
 1901 CGGGG AGAGG CGTGC GCGTC GCGTG GCGCG AGCCA GGCCG CTGTG AGCTG  
 1951 AACTG CCCGA AAGGC CAGGT GTACC TGCAG TCGCG GACCC CCTGC AACCT  
 2001 GACCT GCCGC TCTCT CTCTT ACCCG GATGA GGAAT GCAAT GAGGC CTGCC  
 2051 TGGAG GGCTG CTTCT GCCCC CCAGG GCTCT ACATG GATGA GAGGG GGGAC  
 2101 TCGGT GCCCA AGGCC CAGTG CCCCT GTTAC TATGA CGGTG AGATC TTCCA  
 2151 GCCAG AAGAC ATCTT CTCAG ACCAT CACAC CATGT GCTAC TGTGA GGATG  
 2201 GCTTC ATGCA CTGTA CCATG AGTGG AGTCC CCGGA AGCTT GCTGC CTGAC  
 2251 GCTGT CCTCA GCAGT CCCCT GTCTC ATCGC AGCAA AAGGA GCCTA TCCCTG  
 2301 TCGGC CCCCC ATGGT CAAGC TGGTG TGTCC CGCTG ACAAC CTGCG GGCTG  
 2351 AAGGG CTCGA GTGTA CAAA ACGTG CCAGA ACTAT GACCT GGAGT GCATG  
 2401 AGCAT GGGCT GTGTC TCTGG CTGCC TCTGC CCCCC GGGCA TGGTC CGGCA  
 2451 TGAGA ACAGA TGTGT GGCCC TGGAA AGGTG TCCCT GCTTC CATCA GGGCA  
 2501 AGGAG TATGC CCCTG GAGAA ACAGT GAAGA TTGGC TGCAA CACTT GTGTC  
 2551 TGTG GGACC GGAAG TGGAA CTGCA CAGAC CATGT GTGTG ATGCC ACGTG  
 2601 CTCGA CGATC GGCAAT GGCCC ACTAC CTCAC CTTG ACGGG CTCAA ATACC  
 2651 TGTTC CCCGG GGAGT GCCAG TACGT TCTGG TGCAG GATTA CTGCG GCAGT  
 2701 AACCC TGGGA CCTTT CCGAT CCTAG TGGGG AATAA GGGAT GCAGC CACCC  
 2751 CTCAG TGA AA TGCAA GAAAC GGGTC ACCAT CCTGG TGGAG GGAGG AGAGA  
 2801 TTGAG CTGTT TGACG GGGAG GTGAA TGTGA AGAGG CCCAT GAAGG ATGAG  
 2851 ACTCA CTTTG AGGTG GTGGA GTCTG GCCGG TACAT CATTG TGCTG CTGGG  
 2901 CAAAG CCCIC TCCGT GGTCT GGGAC CGCCA CCTGA GCATC TCCGT GGTCC  
 2951 TGAAG CAGAC ATACC AGGAG AAAGT GTGTG GCCTG TGTGG GAATT TTGAT  
 3001 GGCAT CCAGA ACAAT GACCT CACCA GCAGC AACCT CCAAG TGGAG GAAGA  
 3051 CCCTG TGGAC TTTGG GAACT CCTGG AAAGT GAGCT CGCAG TGTGC TGACA  
 3101 CCAGA AAAGT GCCTC TGGAC TCATC CCCTG CCACC TGCCA TAACA ACATC  
 3151 ATGAA GCAGA CGATG GTGGA TTCCT CCTGT AGAAT CCTTA CCAGT GACGT  
 3201 CTTCC AGGAC TGCAA CAAGC TGGTG GACCC CGAGC CATAT CTGGA TGTCT  
 3251 GCATT TACGA CACCT GCTCC TGTGA GTCCA TTGGG GACTG CGCCG CATTG  
 3301 TGCGA CACCA TTGCT GCCTA TGCCC ACGTG TGTGC CCAGC ATGGC AAGGT  
 3351 GGTGA CCTGG AGGAC GGCCA CATTG TGCCC CCAGA GCTGC GAGGA GAGGA  
 3401 ATCTC CGGGA GAACG GGTAT GAGGC TGAGT GCGGC TATAA CAGCT GTGCA  
 3451 CCTGC CTGTC AAGTC ACGTG TCAGC ACCCT GAGCC ACTGG CCTGC CCTGT  
 3501 GCAGT GTGTG GAGGG CTGCC ATGCC CACTG CCCTC CAGGG AAAAT CCTGG  
 3551 ATGAG CTTTT GCAGA CCTGC GTTGA CCCTG AAGAC TGTCC AGTGT GTGAG  
 3601 GTGGC TGGCC GCGGT TTTGC CTCAG GAAAG AAAGT CACCT TGAAT CCCAG



3651 TGACC CTGAG CACTG CCAGA TTTGC CACTG TGATG TTGTC AACCT CACCT  
3701 GTGAA GCCTG CCAGG AGCCG ATATC GGGTA CCTCA GAGTC TGCTA CCCCC  
3751 GAGTC AGGGC CAGGA TCAGA GCCAG CCACC TCCGG GTCTG AGACA CCCGG  
3801 GACTT CCGAG AGTGC CACCC CTGAG TCCGG ACCCG GGTCC GAGCC CGCCA  
3851 CTTCC GGCTC CGAAA CTCCC GGCAC AAGCG AGAGC GCTAC CCCAG AGTCA  
3901 GGACC AGGAA CATCT ACAGA GCCCT CTGAA GGCTC CGCTC CAGGG TCCCC  
3951 AGCCG GCAGT CCCAC TAGCA CCGAG GAGGG AACCT CTGAA AGCGC CACAC  
4001 CCGAA TCAGG GCCAG GGTCT GAGCC TGCTA CCAGC GGCAG CGAGA CACCA  
4051 GGCAC CTCTG AGTCC GCCAC ACCAG AGTCC GGACC CGGAT CTCCC GCTGG  
4101 GAGCC CCACC TCCAC TGAGG AGGGA TCTCC TGCTG GCTCT CCAAC ATCTA  
4151 CTGAG GAAGG TACCT CAACC GAGCC ATCCG AGGGA TCAGC TCCCC GCACC  
4201 TCAGA GTCGG CAACC CCGGA GTCTG GACCC GGAAC TTCCG AAAGT GCCAC  
4251 ACCAG AGTCC GGTCC CGGGA CTTCA GAATC AGCAA CACCC GAGTC CGGCC  
4301 CTGGG TCTGA ACCCG CCACA AGTGG TAGTG AGACA CCAGG ATCAG AACCT  
4351 GCTAC CTCAG GGTCA GAGAC ACCCG GATCT CCGGC AGGCT CACCA ACCTC  
4401 CACTG AGGAG GGCAC CAGCA CAGAA CCAAG CGAGG GCTCC GCACC CGGAA  
4451 CAAGC ACTGA ACCCA GTGAG GGTTC AGCAC CCGGC TCTGA GCCGG CCACA  
4501 AGTGG CAGTG AGACA CCCGG CACTT CAGAG AGTGC CACCC CCGAG AGTGG  
4551 CCCAG GCACT AGTAC CGAGC CCTCT GAAGG CAGTG CGCCA GATTG TGGCG  
4601 GTGGA GGTTC CGGTG GCGGG GGATC CGGTG GCGGG GGATC CGGTG GCGGG  
4651 GGATC CGGTG GCGGG GGATC CCTGG TCCCC CGGGG CAGCG GAGGC GACAA  
4701 AACTC ACACA TGCCC ACCGT GCCCA GCTCC AGAAC TCCTG GCGGG ACCGT  
4751 CAGTC TTCCT CTTC CCCCC AAACC CAAGG ACACC CTCAT GATCT CCCGG  
4801 ACCCC TGAGG TCACA TGCGT GGTGG TGGAC GTGAG CCACG AAGAC CCTGA  
4851 GGTCA AGTTC AACTG GTACG TGGAC GCGGT GGAGG TGCAT AATGC CAAGA  
4901 CAAAG CCGCG GGAGG AGCAG TACAA CAGCA CGTAC CGTGT GGTCA GCGTC  
4951 CTCAC CGTCC TGCAC CAGGA CTGGC TGAAT GGCAA GGAGT ACAAG TGCAA  
5001 GGTCT CCAAC AAAGC CCTCC CAGCC CCCAT CGAGA AAACC ATCTC CAAAG  
5051 CCAAA GGGCA GCCCC GAGAA CCACA GGTGT ACACC CTGCC CCCAT CCCGG  
5101 GATGA GCTGA CCAAG AACCA GGTC GCTG ACCTG CCTGG TCAAA GGCTT  
5151 CTATC CCAGC GACAT CGCCG TGGAG TGGGA GAGCA ATGGG CAGCC GGAGA  
5201 ACAAC TACAA GACCA CGCCT CCCGT GTTGG ACTCC GACGG CTCCT TCTTC  
5251 CTCTA CAGCA AGCTC ACCGT GGACA AGAGC AGGTG GCAGC AGGGG AACGT  
5301 CTTCT CATGC TCCGT GATGC ATGAG GCTCT GCACA ACCAC TACAC GCAGA  
5351 AGAGC CTCTC CCTGT CTCCG GGTAA ATGA



## VWF034蛋白質序列 (SEQ ID NO: 92)

```

1     MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNTFDGSM
51    YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101   TVIQGDQORVS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DGSGNFQVLL
151   SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201   ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC
251   EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTDHSA CSPVCPAGME
301   YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTECPC
351   VHS GKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECV TGQSHFKSFD
401   NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIVTV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG
451   LHNSLVKCLKH GAGVAMDGQD IQLPLLKGD LRIQHTVIASV RLSYGEDLQM
501   DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG
551   NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
601   PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL
651   NCPKGOVYLQ CGTFCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD
701   CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFS DHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
751   AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCONYDLECM
801   SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
851   CRDRKWNCTD HVC DATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS
901   NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRPMKDE
951   THFEVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
1001  GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI
1051  MKQTMVDSSC RILTSDFVQD CNKLVDP EPY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
1101  CDTIAAYAHV CAQHGKVVW RTATLCPQSC EERNLRENGY EAEWRYN SCA
1151  PACQVTCQHP EPLACPVCV EGCHAHCPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
1201  VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGTSESATP
1251  ESGPGSEPAT SGSETPGTSE SATPESGPGS EPATSGSETP GTSESATPES
1301  GPGTSTEPSE GSAPGSPAGS PTSTEEGTSE SATPESGPGS EPATSGSETP
1351  GTSESATPES GPGSPAGSPT STEEGSPAGS PTSTEEGTST EPSEGSAPGT
1401  SESATPESGP GTSESATPES GPGTSESATP ESGPGSEPAT SGSETPGSEP
1451  ATSGSETPGS PAGESPTSTEE GTSTEPSEGS APGTSTEPSE GSAPGSEPAT
1501  SGSETPGTSE SATPESGPGT STEPSEGSAP DIGGGGGSGG GGS LVPRGSG
1551  GDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE
1601  DPEVKENWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
1651  KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPOVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV
1701  KGFYPSDIAY EWESNGQEN NYKTT PPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
1751  GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

```

[0255] 特定實施例之前述描述將完全揭示本發明之一般性質，以使得其他人在無需過多實驗且不悖離本發明之一般概念之情況下，藉由應用此項技術技能範圍內之知識而容易地針對各種應用來修改及/或改適此等特定實施例。因此，基於本文呈現之教示及指導，該等改適及修改意欲在所揭示實施例之等效物之含義及範圍內。應瞭解，本文之短語或術語係出於描述目的而非限制目的，因此熟習此項技術者應鑒於教示及指導來理解本說明書之術語或

短語。

[0256] 根據對本文揭示之本發明之說明書及實踐的考慮，本發明之其他實施例對於熟習此項技術者將為顯而易見的。預期本說明書及實例應理解為僅具例示性，而本發明之真實範疇及精神係由以下申請專利範圍指示。

[0257] 本文引用之所有專利及公開案係以全文引用之方式併入本文中。

[0258] 本申請案主張2013年6月28日申請之美國臨時專利申請案第61/840,872號之優先權。上述申請案之內容係以全文引用之方式併入本文中。



## 序列表

<110> 美商百歐維拉提夫治療公司(BIOVERATIV THERAPEUTICS INC.)

<120> 具有 XTEN 之凝血酶可裂解連接子及其用途

<130> 2159.420PC01

<140> 109104938

<141> 2014-06-30

<150> US 61/840,872

<151> 2013-06-28

<160> 92

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 8442

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc	60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt	120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc	180
ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag	240
agagtgagcc tctcctgtga tcttggggaa tttttgaca tccatttggt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtctgtctg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg	480
ctgtgtggca actttaacat ctttgctgaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg	600

gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcggtgt ttgcccctg ccacctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgccctgc cctcctggag tacgcccgga cctgtgcca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag	900
tataggcagt gtgtgtccc ttgcccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgcctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta cctcccggc	1080
acctccctct ctgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actgggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc	1320
accgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc cctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattccagc atacagtac ggccctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac ccctctggg	1620
ctggcrgagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgctgcct acctgoggaa ctgccgctac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860
tgccctgtgc gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc	1920



gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag 1980  
 tgcgggaccc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat 2040  
 gaggcctgcc tggagggtg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac 2100  
 tgcgtgcccga aggcccagtg cccctgttac tatgacgggtg agatcttcca gccagaagac 2160  
 atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtaccatg 2220  
 agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcccct gtctcatcgc 2280  
 agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgttcc cgctgacaac 2340  
 ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcag 2400  
 agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggtcggca tgagaacaga 2460  
 tgtgtggccc tggaaagggtg tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520  
 acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580  
 catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgatc ggcatggccc actacctcac cttcgacggg 2640  
 ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700  
 aaccctggga cctttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtgaaa 2760  
 tgcaagaaac gggtcacat cctgggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820  
 gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg 2880  
 tacatcattc tgctgctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc 2940  
 tccgtgggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000  
 ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060  
 tttgggaact cctggaaagt gagctcgag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac 3120  
 tcatcccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctctctgt 3180  
 agaatcctta ccagtgacgt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacc cgagccatat 3240

ctggatgtct gcatttacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgctgcttc 3300  
tgcgacacca ttgctgccta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg 3360  
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat 3420  
gagtgtgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacctt 3480  
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg 3540  
aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag 3600  
gtggctggcc ggcgttttgc ctccaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag 3660  
cactgccaga ttgcccactg tgatgttgc aacctacct gtgaagcctg ccaggagccg 3720  
ggaggcctgg tggcgctcc cacagatgcc ccggtgagcc ccaccactct gtatgtggag 3780  
gacatctegg aaccgcegtt gcacgatttc tactgcagca ggctactgga cctggtcttc 3840  
ctgctggatg gctcctccag gctgtccgag gctgagtttg aagtgtgaa ggcctttgtg 3900  
gtggacatga tggagcggct gcgcatctcc cagaagtggg tccgcgtggc cgtggtggag 3960  
taccacgacg gctcccacgc ctacatcggg ctcaaggacc ggaagcgacc gtcagagctg 4020  
cggcgcattg ccagccaggt gaagtatgcg ggcagccagg tggcctccac cagcgaggtc 4080  
ttgaaataca cactgttcca aatcttcagc aagatcgacc gccctgaagc ctcccgcac 4140  
gccctgctcc tgatggccag ccaggagccc caacggatgt cccggaactt tgtccgctac 4200  
gtccagggcc tgaagaagaa gaaggtcatt gtgatcccg tgggcattgg gcccctgcc 4260  
aacctcaagc agatccgct catcgagaag caggccccctg agaacaagge cttcgtgctg 4320  
agcagtgtgg atgagctgga gcagcaaagg gacgagatcg ttagctacct ctgtgacctt 4380  
gccctgaag cccctctcc tactctgccc cccgacatgg cacaagtcac tgtgggcccg 4440  
gggctcttgg gggtttcgac cctggggccc aagaggaact ccatggttct ggatgtggcg 4500  
ttegtcctgg aaggatcgga caaaattggt gaagccgact tcaacaggag caaggagttc 4560



atggaggagg tgattcagcg gatggatgtg ggccaggaca gcatccacgt cacggtgctg	4620
cagtactcct acatggtgac cgtggagtac cccttcagcg aggcacagtc caaaggggac	4680
atcctgcagc gggatgcgaga gatccgctac cagggcggca acaggaccaa cactgggctg	4740
gccctgcggt acctctctga ccacagcttc ttggtcagcc agggtgaccg ggagcaggcg	4800
cccaacctgg tctacatggt caccggaat cctgcctctg atgagatcaa gaggctgcct	4860
ggagacatcc aggtggtgcc cattggagtg ggcctaata ccaacgtgca ggagctggag	4920
aggattggct ggccaatgc ccctatcctc atccaggact ttgagacgct cccccgagag	4980
gctcctgacc tgggtctgca gaggtgctgc tccggagagg ggctgcagat cccacacctc	5040
tcccctgcac ctgactgcag ccagcccctg gacgtgatcc ttctcctgga tggctcctcc	5100
agtttcccag cttcttattt tgatgaaatg aagagtttcg ccaaggcttt catttcaaaa	5160
gccaatatag ggctctgtct cactcaggtg tcagtgtctg agtatggaag catcaccacc	5220
attgacgtgc catggaacgt ggtcccggag aaagcccatt tgctgagcct tgtggacgtc	5280
atgcagcggg agggaggccc cagccaaatc ggggatgcct tgggctttgc tgtgcgatac	5340
ttgacttcag aatgcatgg tgccaggccg ggagcctcaa aggcggtggt catcctggtc	5400
acggacgtct ctgtggattc agtggatgca gcagctgatg ccgccaggtc caacagagtg	5460
acagtgttcc ctattggaat tggagatcgc tacgatgcag cccagctacg gatcttggca	5520
ggcccagcag gcgactccaa cgtggtgaag ctccagcgaa tcgaagacct ccctaccatg	5580
gtcaccttgg gcaattcctt cctccacaaa ctgtgctctg gatttgtag gatttgcag	5640
gatgaggatg ggaatgagaa gaggcccggg gacgtctgga ccttgccaga ccagtgccac	5700
accgtgactt gccagccaga tggccagacc ttgctgaaga gtcacgggt caactgtgac	5760
cgggggctga ggcttcgtg ccctaacagc cagtcccctg ttaaagtgga agagacctgt	5820
ggctgccgct ggacctgccc ctgygtgtgc acaggcagct ccaactcgga catcgtgacc	5880

tttgatgggc agaatttcaa gctgactggc agctgttctt atgtcctatt tcaaaacaag 5940  
gagcaggacc tggaggtgat tctccataat ggtgcctgca gccctggagc aaggcagggc 6000  
tgcataaaat ccatcgaggt gaagcacagt gccctctccg tcgagstgca cagtgcacatg 6060  
gaggtgacgg tgaatgggag actgggtctt gttccttacg tgggtgggaa catggaagtc 6120  
aacgtttatg gtgccatcat gcatgaggtc agattcaatc accttggca catcttcaca 6180  
ttcactccac aaaacaatga gttccaactg cagctcagcc ccaagacttt tgcttcaaag 6240  
acgtatggtc tgtgtgggat ctgtgatgag aacggagcca atgacttcat gctgagggat 6300  
ggcacagtca ccacagactg gaaaacactt gttcaggaat ggactgtgca gcggccaggg 6360  
cagacgtgcc agccatcct ggaggagcag tgtcttctcc ccgacagctc ccactgccag 6420  
gtcctcctct taccactgtt tgctgaatgc cacaaggtcc tggctccagc cacattctat 6480  
gccatctgcc agcaggacag ttgccaccag gagcaagtgt gtgaggtgat cgcctcttat 6540  
gcccacctct gtcggaccaa cggggtctgc gttgactgga ggacacctga tttctgtgct 6600  
atgtcatgcc caccatctct ggtctacaac cactgtgagc atggctgtcc ccggcactgt 6660  
gatggcaacg tgagctcctg tggggaccat cctccgaag gctgtttctg cccctccagat 6720  
aaagtcattg tggaaggcag ctgtgtccct gaagaggcct gcactcagtg cattgggtgag 6780  
gatggagtcc agcaccagtt cctggaagcc tgggtcccg accaccagcc ctgtcagatc 6840  
tgcacatgcc tcagcgggcg gaaggtcaac tgcacaacgc agccctgccc cacggccaaa 6900  
gctcccacgt gtggcctgtg tgaagtagcc cgctctcgcc agaatgcaga ccagtgtgc 6960  
cccagtatg agtgtgtgtg tgaccagtg agctgtgacc tgccccagt gcctcactgt 7020  
gaacgtggcc tccagcccac actgaccaac cctggcgagt gcagaccaa cttcacctgc 7080  
gcctgcagga aggaggagtg caaaagagtg tccccacct cctgcccccc gcaccgtttg 7140  
cccacccttc ggaagacca gtgctgtgat gagtatgagt gtgcctgcaa ctgtgtcaac 7200



tccacagtga gctgtcccct tgggtacttg gcctcaaccg ccaccaatga ctgtggctgt 7260  
 accacaacca cctgccttcc cgacaagggtg tgtgtccacc gaagcacat ctaccctgtg 7320  
 ggccagttct gggaggagg ctgcgatgtg tgcacctgca ccgacatgga ggatgccgtg 7380  
 atgggcctcc gcggtggcca gtgctcccag aagccctgtg aggacagctg tcggtcgggc 7440  
 ttcacttacg ttctgcatga aggcgagtgc tgtggaaggt gcctgccatc tgcctgtgag 7500  
 gtggtgactg gctcaccgcg gggggactcc cagtcttctt ggaagagtgt cggctcccag 7560  
 tgggcctccc cggagaacct ctgcctcacc aatgagtgtg tccgagtga ggaggagtc 7620  
 tttatacaac aaaggaacgt ctctgcccc cagctggagg tccctgtctg cccctcgggc 7680  
 tttcagctga gctgtaagac ctcagcgtgc tgcccaagct gtcgctgtga gcgcatggag 7740  
 gcctgcatgc tcaatggcac tgtcattggg cccgggaaga ctgtgatgat cgatgtgtgc 7800  
 acgacctgcc gctgcatggt gcaggtgggg gtcctctctg gattcaagct ggagtgcagg 7860  
 aagaccacct gcaaccctg cccctgggt tacaaggaag aaaataacac aggtgaatgt 7920  
 tgtgggagat gtttgctac ggcttgacc attcagctaa gaggaggaca gatcatgaca 7980  
 ctgaagcgtg atgagacgct ccaggatggc tgtgatactc acttctgcaa ggtcaatgag 8040  
 agaggagagt acttctggga gaagagggtc acaggctgcc cacccttga tgaacacaag 8100  
 tgtcttgctg agggaggtaa aattatgaaa attccaggca cctgctgtga cacatgtgag 8160  
 gagcctgagt gcaacgacat cactgccagg ctgcagtatg tcaaggtggg aagctgtaag 8220  
 tctgaagtag aggtggatat ccactactgc cagggcaaat gtgccagcaa agccatgtac 8280  
 tccattgaca tcaacgatgt gcaggaccag tgetctgtct gctctccgac acggacggag 8340  
 cccatgcagg tggccctgca ctgcaccaat ggctctgttg tgtacatga ggttctcaat 8400  
 gccatggagt gcaaatgctc ccccaggaag tgcagcaagt ga 8442

<210> 2

<211> 2813  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2016)..(2016)  
 <223> 其中 Xaa 可為除半胱氨酸之外的任何胺基酸

<400> 2

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile  
 1                   5                   10                   15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr  
                   20                   25                   30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly  
           35                   40                   45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly  
       50                   55                   60

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

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu  
                   85                   90                   95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro  
           100                   105                   110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys  
       115                   120                   125



Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly  
 130 135 140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly  
 145 150 155 160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln  
 165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala  
 180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser  
 195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln  
 210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu  
 225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu  
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala  
 260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His  
 275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys  
 290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met  
305 310 315 320

Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu  
325 330 335

Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His  
340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn  
355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys  
370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp  
385 390 395 400

Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg  
405 410 415

Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys  
420 425 430

Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu  
435 440 445

Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val  
450 455 460

Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu  
465 470 475 480



Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu  
 485 490 495

Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu  
 500 505 510

Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn  
 515 520 525

Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro  
 530 535 540

Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln  
 545 550 555 560

Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met  
 565 570 575

Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe  
 580 585 590

Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys  
 595 600 605

Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly  
 610 615 620

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val  
 625 630 635 640

Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln  
 645 650 655

Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu  
 660 665 670

Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe  
 675 680 685

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys  
 690 695 700

Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp  
 705 710 715 720

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met  
 725 730 735

His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val  
 740 745 750

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg  
 755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu  
 770 775 780

Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met  
 785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg  
 805 810 815

His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln  
 820 825 830



Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr  
 835 840 845

Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp  
 850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly  
 865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp  
 885 890 895

Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys  
 900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu  
 915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys  
 930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg  
 945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg  
 965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val  
 980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr  
 995 1000 1005

Ser	Ser	Asn	Leu	Gln	Val	Glu	Glu	Asp	Pro	Val	Asp	Phe	Gly	Asn
1010						1015					1020			
Ser	Trp	Lys	Val	Ser	Ser	Gln	Cys	Ala	Asp	Thr	Arg	Lys	Val	Pro
1025						1030					1035			
Leu	Asp	Ser	Ser	Pro	Ala	Thr	Cys	His	Asn	Asn	Ile	Met	Lys	Gln
1040						1045					1050			
Thr	Met	Val	Asp	Ser	Ser	Cys	Arg	Ile	Leu	Thr	Ser	Asp	Val	Phe
1055						1060					1065			
Gln	Asp	Cys	Asn	Lys	Leu	Val	Asp	Pro	Glu	Pro	Tyr	Leu	Asp	Val
1070						1075					1080			
Cys	Ile	Tyr	Asp	Thr	Cys	Ser	Cys	Glu	Ser	Ile	Gly	Asp	Cys	Ala
1085						1090					1095			
Cys	Phe	Cys	Asp	Thr	Ile	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Val	Cys	Ala	Gln
1100						1105					1110			
His	Gly	Lys	Val	Val	Thr	Trp	Arg	Thr	Ala	Thr	Leu	Cys	Pro	Gln
1115						1120					1125			
Ser	Cys	Glu	Glu	Arg	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Gly	Tyr	Glu	Cys	Glu
1130						1135					1140			
Trp	Arg	Tyr	Asn	Ser	Cys	Ala	Pro	Ala	Cys	Gln	Val	Thr	Cys	Gln
1145						1150					1155			
His	Pro	Glu	Pro	Leu	Ala	Cys	Pro	Val	Gln	Cys	Val	Glu	Gly	Cys
1160						1165					1170			



His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln  
 1175 1180 1185

Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly  
 1190 1195 1200

Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp  
 1205 1210 1215

Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr  
 1220 1225 1230

Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro Gly Gly Leu Val Val Pro Pro Thr  
 1235 1240 1245

Asp Ala Pro Val Ser Pro Thr Thr Leu Tyr Val Glu Asp Ile Ser  
 1250 1255 1260

Glu Pro Pro Leu His Asp Phe Tyr Cys Ser Arg Leu Leu Asp Leu  
 1265 1270 1275

Val Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ser Arg Leu Ser Glu Ala Glu Phe  
 1280 1285 1290

Glu Val Leu Lys Ala Phe Val Val Asp Met Met Glu Arg Leu Arg  
 1295 1300 1305

Ile Ser Gln Lys Trp Val Arg Val Ala Val Val Glu Tyr His Asp  
 1310 1315 1320

Gly Ser His Ala Tyr Ile Gly Leu Lys Asp Arg Lys Arg Pro Ser  
 1325 1330 1335

Glu Leu Arg Arg Ile Ala Ser Gln Val Lys Tyr Ala Gly Ser Gln  
 1340 1345 1350

Val Ala Ser Thr Ser Glu Val Leu Lys Tyr Thr Leu Phe Gln Ile  
 1355 1360 1365

Phe Ser Lys Ile Asp Arg Pro Glu Ala Ser Arg Ile Ala Leu Leu  
 1370 1375 1380

Leu Met Ala Ser Gln Glu Pro Gln Arg Met Ser Arg Asn Phe Val  
 1385 1390 1395

Arg Tyr Val Gln Gly Leu Lys Lys Lys Lys Val Ile Val Ile Pro  
 1400 1405 1410

Val Gly Ile Gly Pro His Ala Asn Leu Lys Gln Ile Arg Leu Ile  
 1415 1420 1425

Glu Lys Gln Ala Pro Glu Asn Lys Ala Phe Val Leu Ser Ser Val  
 1430 1435 1440

Asp Glu Leu Glu Gln Gln Arg Asp Glu Ile Val Ser Tyr Leu Cys  
 1445 1450 1455

Asp Leu Ala Pro Glu Ala Pro Pro Pro Thr Leu Pro Pro Asp Met  
 1460 1465 1470

Ala Gln Val Thr Val Gly Pro Gly Leu Leu Gly Val Ser Thr Leu  
 1475 1480 1485

Gly Pro Lys Arg Asn Ser Met Val Leu Asp Val Ala Phe Val Leu  
 1490 1495 1500



Glu Gly Ser Asp Lys Ile Gly Glu Ala Asp Phe Asn Arg Ser Lys  
 1505 1510 1515

Glu Phe Met Glu Glu Val Ile Gln Arg Met Asp Val Gly Gln Asp  
 1520 1525 1530

Ser Ile His Val Thr Val Leu Gln Tyr Ser Tyr Met Val Thr Val  
 1535 1540 1545

Glu Tyr Pro Phe Ser Glu Ala Gln Ser Lys Gly Asp Ile Leu Gln  
 1550 1555 1560

Arg Val Arg Glu Ile Arg Tyr Gln Gly Gly Asn Arg Thr Asn Thr  
 1565 1570 1575

Gly Leu Ala Leu Arg Tyr Leu Ser Asp His Ser Phe Leu Val Ser  
 1580 1585 1590

Gln Gly Asp Arg Glu Gln Ala Pro Asn Leu Val Tyr Met Val Thr  
 1595 1600 1605

Gly Asn Pro Ala Ser Asp Glu Ile Lys Arg Leu Pro Gly Asp Ile  
 1610 1615 1620

Gln Val Val Pro Ile Gly Val Gly Pro Asn Ala Asn Val Gln Glu  
 1625 1630 1635

Leu Glu Arg Ile Gly Trp Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ile Gln Asp  
 1640 1645 1650

Phe Glu Thr Leu Pro Arg Glu Ala Pro Asp Leu Val Leu Gln Arg  
 1655 1660 1665

Cys Cys Ser Gly Glu Gly Leu Gln Ile Pro Thr Leu Ser Pro Ala  
 1670 1675 1680

Pro Asp Cys Ser Gln Pro Leu Asp Val Ile Leu Leu Leu Asp Gly  
 1685 1690 1695

Ser Ser Ser Phe Pro Ala Ser Tyr Phe Asp Glu Met Lys Ser Phe  
 1700 1705 1710

Ala Lys Ala Phe Ile Ser Lys Ala Asn Ile Gly Pro Arg Leu Thr  
 1715 1720 1725

Gln Val Ser Val Leu Gln Tyr Gly Ser Ile Thr Thr Ile Asp Val  
 1730 1735 1740

Pro Trp Asn Val Val Pro Glu Lys Ala His Leu Leu Ser Leu Val  
 1745 1750 1755

Asp Val Met Gln Arg Glu Gly Gly Pro Ser Gln Ile Gly Asp Ala  
 1760 1765 1770

Leu Gly Phe Ala Val Arg Tyr Leu Thr Ser Glu Met His Gly Ala  
 1775 1780 1785

Arg Pro Gly Ala Ser Lys Ala Val Val Ile Leu Val Thr Asp Val  
 1790 1795 1800

Ser Val Asp Ser Val Asp Ala Ala Ala Asp Ala Ala Arg Ser Asn  
 1805 1810 1815

Arg Val Thr Val Phe Pro Ile Gly Ile Gly Asp Arg Tyr Asp Ala  
 1820 1825 1830



Ala Gln Leu Arg Ile Leu Ala Gly Pro Ala Gly Asp Ser Asn Val  
 1835 1840 1845

Val Lys Leu Gln Arg Ile Glu Asp Leu Pro Thr Met Val Thr Leu  
 1850 1855 1860

Gly Asn Ser Phe Leu His Lys Leu Cys Ser Gly Phe Val Arg Ile  
 1865 1870 1875

Cys Met Asp Glu Asp Gly Asn Glu Lys Arg Pro Gly Asp Val Trp  
 1880 1885 1890

Thr Leu Pro Asp Gln Cys His Thr Val Thr Cys Gln Pro Asp Gly  
 1895 1900 1905

Gln Thr Leu Leu Lys Ser His Arg Val Asn Cys Asp Arg Gly Leu  
 1910 1915 1920

Arg Pro Ser Cys Pro Asn Ser Gln Ser Pro Val Lys Val Glu Glu  
 1925 1930 1935

Thr Cys Gly Cys Arg Trp Thr Cys Pro Cys Val Cys Thr Gly Ser  
 1940 1945 1950

Ser Thr Arg His Ile Val Thr Phe Asp Gly Gln Asn Phe Lys Leu  
 1955 1960 1965

Thr Gly Ser Cys Ser Tyr Val Leu Phe Gln Asn Lys Glu Gln Asp  
 1970 1975 1980

Leu Glu Val Ile Leu His Asn Gly Ala Cys Ser Pro Gly Ala Arg  
 1985 1990 1995

Gln Gly Cys Met Lys Ser Ile Glu Val Lys His Ser Ala Leu Ser  
 2000 2005 2010

Val Glu Xaa His Ser Asp Met Glu Val Thr Val Asn Gly Arg Leu  
 2015 2020 2025

Val Ser Val Pro Tyr Val Gly Gly Asn Met Glu Val Asn Val Tyr  
 2030 2035 2040

Gly Ala Ile Met His Glu Val Arg Phe Asn His Leu Gly His Ile  
 2045 2050 2055

Phe Thr Phe Thr Pro Gln Asn Asn Glu Phe Gln Leu Gln Leu Ser  
 2060 2065 2070

Pro Lys Thr Phe Ala Ser Lys Thr Tyr Gly Leu Cys Gly Ile Cys  
 2075 2080 2085

Asp Glu Asn Gly Ala Asn Asp Phe Met Leu Arg Asp Gly Thr Val  
 2090 2095 2100

Thr Thr Asp Trp Lys Thr Leu Val Gln Glu Trp Thr Val Gln Arg  
 2105 2110 2115

Pro Gly Gln Thr Cys Gln Pro Ile Leu Glu Glu Gln Cys Leu Val  
 2120 2125 2130

Pro Asp Ser Ser His Cys Gln Val Leu Leu Leu Pro Leu Phe Ala  
 2135 2140 2145

Glu Cys His Lys Val Leu Ala Pro Ala Thr Phe Tyr Ala Ile Cys  
 2150 2155 2160



Gln Gln Asp Ser Cys His Gln Glu Gln Val Cys Glu Val Ile Ala  
 2165 2170 2175

Ser Tyr Ala His Leu Cys Arg Thr Asn Gly Val Cys Val Asp Trp  
 2180 2185 2190

Arg Thr Pro Asp Phe Cys Ala Met Ser Cys Pro Pro Ser Leu Val  
 2195 2200 2205

Tyr Asn His Cys Glu His Gly Cys Pro Arg His Cys Asp Gly Asn  
 2210 2215 2220

Val Ser Ser Cys Gly Asp His Pro Ser Glu Gly Cys Phe Cys Pro  
 2225 2230 2235

Pro Asp Lys Val Met Leu Glu Gly Ser Cys Val Pro Glu Glu Ala  
 2240 2245 2250

Cys Thr Gln Cys Ile Gly Glu Asp Gly Val Gln His Gln Phe Leu  
 2255 2260 2265

Glu Ala Trp Val Pro Asp His Gln Pro Cys Gln Ile Cys Thr Cys  
 2270 2275 2280

Leu Ser Gly Arg Lys Val Asn Cys Thr Thr Gln Pro Cys Pro Thr  
 2285 2290 2295

Ala Lys Ala Pro Thr Cys Gly Leu Cys Glu Val Ala Arg Leu Arg  
 2300 2305 2310

Gln Asn Ala Asp Gln Cys Cys Pro Glu Tyr Glu Cys Val Cys Asp  
 2315 2320 2325

Pro Val Ser Cys Asp Leu Pro Pro Val Pro His Cys Glu Arg Gly  
 2330 2335 2340

Leu Gln Pro Thr Leu Thr Asn Pro Gly Glu Cys Arg Pro Asn Phe  
 2345 2350 2355

Thr Cys Ala Cys Arg Lys Glu Glu Cys Lys Arg Val Ser Pro Pro  
 2360 2365 2370

Ser Cys Pro Pro His Arg Leu Pro Thr Leu Arg Lys Thr Gln Cys  
 2375 2380 2385

Cys Asp Glu Tyr Glu Cys Ala Cys Asn Cys Val Asn Ser Thr Val  
 2390 2395 2400

Ser Cys Pro Leu Gly Tyr Leu Ala Ser Thr Ala Thr Asn Asp Cys  
 2405 2410 2415

Gly Cys Thr Thr Thr Thr Cys Leu Pro Asp Lys Val Cys Val His  
 2420 2425 2430

Arg Ser Thr Ile Tyr Pro Val Gly Gln Phe Trp Glu Glu Gly Cys  
 2435 2440 2445

Asp Val Cys Thr Cys Thr Asp Met Glu Asp Ala Val Met Gly Leu  
 2450 2455 2460

Arg Val Ala Gln Cys Ser Gln Lys Pro Cys Glu Asp Ser Cys Arg  
 2465 2470 2475

Ser Gly Phe Thr Tyr Val Leu His Glu Gly Glu Cys Cys Gly Arg  
 2480 2485 2490



Cys Leu Pro Ser Ala Cys Glu Val Val Thr Gly Ser Pro Arg Gly  
 2495 2500 2505

Asp Ser Gln Ser Ser Trp Lys Ser Val Gly Ser Gln Trp Ala Ser  
 2510 2515 2520

Pro Glu Asn Pro Cys Leu Ile Asn Glu Cys Val Arg Val Lys Glu  
 2525 2530 2535

Glu Val Phe Ile Gln Gln Arg Asn Val Ser Cys Pro Gln Leu Glu  
 2540 2545 2550

Val Pro Val Cys Pro Ser Gly Phe Gln Leu Ser Cys Lys Thr Ser  
 2555 2560 2565

Ala Cys Cys Pro Ser Cys Arg Cys Glu Arg Met Glu Ala Cys Met  
 2570 2575 2580

Leu Asn Gly Thr Val Ile Gly Pro Gly Lys Thr Val Met Ile Asp  
 2585 2590 2595

Val Cys Thr Thr Cys Arg Cys Met Val Gln Val Gly Val Ile Ser  
 2600 2605 2610

Gly Phe Lys Leu Glu Cys Arg Lys Thr Thr Cys Asn Pro Cys Pro  
 2615 2620 2625

Leu Gly Tyr Lys Glu Glu Asn Asn Thr Gly Glu Cys Cys Gly Arg  
 2630 2635 2640

Cys Leu Pro Thr Ala Cys Thr Ile Gln Leu Arg Gly Gly Gln Ile  
 2645 2650 2655

Met Thr Leu Lys Arg Asp Glu Thr Leu Gln Asp Gly Cys Asp Thr  
 2660 2665 2670

His Phe Cys Lys Val Asn Glu Arg Gly Glu Tyr Phe Trp Glu Lys  
 2675 2680 2685

Arg Val Thr Gly Cys Pro Pro Phe Asp Glu His Lys Cys Leu Ala  
 2690 2695 2700

Glu Gly Gly Lys Ile Met Lys Ile Pro Gly Thr Cys Cys Asp Thr  
 2705 2710 2715

Cys Glu Glu Pro Glu Cys Asn Asp Ile Thr Ala Arg Leu Gln Tyr  
 2720 2725 2730

Val Lys Val Gly Ser Cys Lys Ser Glu Val Glu Val Asp Ile His  
 2735 2740 2745

Tyr Cys Gln Gly Lys Cys Ala Ser Lys Ala Met Tyr Ser Ile Asp  
 2750 2755 2760

Ile Asn Asp Val Gln Asp Gln Cys Ser Cys Cys Ser Pro Thr Arg  
 2765 2770 2775

Thr Glu Pro Met Gln Val Ala Leu His Cys Thr Asn Gly Ser Val  
 2780 2785 2790

Val Tyr His Glu Val Leu Asn Ala Met Glu Cys Lys Cys Ser Pro  
 2795 2800 2805

Arg Lys Cys Ser Lys  
 2810



<210> 3  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 凝血酶裂解位點

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)  
<223> 其中 X 為脂族胺基酸

<400> 3

Xaa Val Pro Arg  
1

<210> 4  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> a2 區域

<400> 4

Ile Ser Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp  
1                    5                    10                    15

Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser  
                  20                    25                    30

Phe Ser

<210> 5  
<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> a1 区域

<400> 5

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

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

Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val  
          35                   40

<210> 6

<211> 46

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> a3 区域

<400> 6

Ile Ser Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile  
1                   5                   10                   15

Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp  
                  20                   25                   30

Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln  
          35                   40                   45

<210> 7

<211> 6



<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 7

Ser Phe Leu Leu Arg Asn  
1 5

<210> 8  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 8

Pro Asn Asp Lys  
1

<210> 9  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 9

Pro Asn Asp Lys Tyr  
1 5

<210> 10  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 10

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu

1                    5

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 11

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro

1                    5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 12

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe

1                    5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>



<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 13

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp  
1                   5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 14

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu  
1                   5                   10

<210> 15

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 信號肽

<400> 15

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
1                   5                   10                   15

Cys Phe Ser

<210> 16

<211> 2332

<212> PRT

<213> 智人

&lt;400&gt; 16

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr  
 1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys  
 35 40 45

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro  
 50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val  
 65 70 75 80

Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val  
 85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala  
 100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val  
 115 120 125

Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn  
 130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser  
 145 150 155 160

His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu



	165		170		175
Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu					
	180		185		190
His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp					
	195		200		205
His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser					
	210		215		220
Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg					
225		230		235	240
Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His					
	245		250		255
Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu					
	260		265		270
Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile					
	275		280		285
Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly					
	290		295		300
Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met					
305		310		315	320
Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg					
	325		330		335
Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp					

340 345 350  
Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
355 360 365  
Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His  
370 375 380  
Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
385 390 395 400  
Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
405 410 415  
Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
420 425 430  
Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
435 440 445  
Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile  
450 455 460  
Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
465 470 475 480  
Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
485 490 495  
His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
500 505 510  
Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys



515	520	525
Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala		
530	535	540
Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp		
545	550	555
Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe		
565	570	575
Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln		
580	585	590
Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe		
595	600	605
Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser		
610	615	620
Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu		
625	630	635
Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr		
645	650	655
Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro		
660	665	670
Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp		
675	680	685
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala		

690	695	700																	
Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Ser	Cys	Asp	Lys	Asn	Thr	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Glu				
705					710					715					720				
Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Leu	Leu	Ser	Lys	Asn	Asn	Ala				
			725						730						735				
Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ser	Gln	Asn	Ser	Arg	His	Pro	Ser	Thr	Arg				
			740					745						750					
Gln	Lys	Gln	Phe	Asn	Ala	Thr	Thr	Ile	Pro	Glu	Asn	Asp	Ile	Glu	Lys				
		755						760						765					
Thr	Asp	Pro	Trp	Phe	Ala	His	Arg	Thr	Pro	Met	Pro	Lys	Ile	Gln	Asn				
770						775					780								
Val	Ser	Ser	Ser	Asp	Leu	Leu	Met	Leu	Leu	Arg	Gln	Ser	Pro	Thr	Pro				
785					790					795					800				
His	Gly	Leu	Ser	Leu	Ser	Asp	Leu	Gln	Glu	Ala	Lys	Tyr	Glu	Thr	Phe				
			805						810						815				
Ser	Asp	Asp	Pro	Ser	Pro	Gly	Ala	Ile	Asp	Ser	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser				
			820						825						830				
Glu	Met	Thr	His	Phe	Arg	Pro	Gln	Leu	His	His	Ser	Gly	Asp	Met	Val				
		835						840						845					
Phe	Thr	Pro	Glu	Ser	Gly	Leu	Gln	Leu	Arg	Leu	Asn	Glu	Lys	Leu	Gly				
850						855									860				
Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	Lys	Leu	Asp	Phe	Lys	Val	Ser	Ser				



865		870		875		880
Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala						
		885		890		895
Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His						
		900		905		910
Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro						
		915		920		925
Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp						
		930		935		940
Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp						
		945		950		955
				955		960
Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys						
		965		970		975
Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys						
		980		985		990
Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala						
		995		1000		1005
Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu						
		1010		1015		1020
Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu						
		1025		1030		1035
Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp						

1040		1045		1050
Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr				
1055		1060		1065
Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly				
1070		1075		1080
Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys				
1085		1090		1095
Met Leu Phe Leu Pro Glu Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His				
1100		1105		1110
Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln				
1115		1120		1125
Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe				
1130		1135		1140
Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val Gly Lys Gly Glu Phe Thr				
1145		1150		1155
Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe Pro Ser Ser Arg Asn				
1160		1165		1170
Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu Asn Asn Thr His				
1175		1180		1185
Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys Lys Glu Thr				
1190		1195		1200
Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile His Thr Val Thr				



1205		1210		1215
Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr Arg				
1220		1225		1230
Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Asp Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu				
1235		1240		1245
Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys				
1250		1255		1260
His Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu				
1265		1270		1275
Gly Leu Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys				
1280		1285		1290
Thr Thr Arg Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr				
1295		1300		1305
Gln Arg Ser Lys Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu				
1310		1315		1320
Glu Thr Glu Leu Glu Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr				
1325		1330		1335
Gln Trp Ser Lys Asn Met Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr				
1340		1345		1350
Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser				
1355		1360		1365
Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser Ile Pro Gln Ala				

1370		1375		1380
Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser Ser Phe Pro Ser				
1385		1390		1395
Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe Gln Asp Asn Ser				
1400		1405		1410
Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys Asp Ser Gly Val				
1415		1420		1425
Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys Asn Asn Leu				
1430		1435		1440
Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln Arg Glu				
1445		1450		1455
Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr Lys				
1460		1465		1470
Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr				
1475		1480		1485
Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys				
1490		1495		1500
Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu				
1505		1510		1515
Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile				
1520		1525		1530
Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg				



1535		1540		1545
Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp				
1550		1555		1560
Pro Leu Ala Trp Asp Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu				
1565		1570		1575
Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys				
1580		1585		1590
Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His				
1595		1600		1605
Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu				
1610		1615		1620
Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr Glu Arg Leu Cys Ser Gln				
1625		1630		1635
Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr				
1640		1645		1650
Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile				
1655		1660		1665
Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp				
1670		1675		1680
Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr				
1685		1690		1695
Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser				

1700		1705		1710
Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro				
1715		1720		1725
Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe				
1730		1735		1740
Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu				
1745		1750		1755
Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val				
1760		1765		1770
Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser				
1775		1780		1785
Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg				
1790		1795		1800
Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys				
1805		1810		1815
Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys				
1820		1825		1830
Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His				
1835		1840		1845
Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu				
1850		1855		1860
Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu				



1865	1870	1875
Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu 1880	1885	1890
Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu 1895	1900	1905
Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly 1910	1915	1920
Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln 1925	1930	1935
Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile 1940	1945	1950
His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys 1955	1960	1965
Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe 1970	1975	1980
Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val 1985	1990	1995
Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu 2000	2005	2010
Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala 2015	2020	2025
Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr		

2030		2035		2040
Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser				
2045		2050		2055
Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val				
2060		2065		2070
Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly				
2075		2080		2085
Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile				
2090		2095		2100
Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn				
2105		2110		2115
Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser				
2120		2125		2130
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr				
2135		2140		2145
Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg				
2150		2155		2160
Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu				
2165		2170		2175
Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser				
2180		2185		2190
Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala				



2195	2200	2205
Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val		
2210	2215	2220
Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met		
2225	2230	2235
Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr		
2240	2245	2250
Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly		
2255	2260	2265
His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe		
2270	2275	2280
Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp		
2285	2290	2295
Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp		
2300	2305	2310
Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala		
2315	2320	2325
Gln Asp Leu Tyr		
2330		

<210> 17  
 <211> 7053  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 17  
 atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60  
 accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120  
 ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttctt cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180  
 acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240  
 gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300  
 gatacagtg tcatcact taagaacatg gcttcccac ctgtcagctc tcatgctggt 360  
 ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420  
 gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480  
 aaagagaatg gtccaatggc ctctgacca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540  
 gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa 600  
 gggagtctgg ccaaggaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660  
 tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact cttgatgca ggatagggat 720  
 gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780  
 ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840  
 accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacat 900  
 cgccaggcgt ccttggaat ctgcccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960  
 gaccttgac agtttctact gttttgcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020  
 gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080  
 gaagcggag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140  
 gatgacaact ctcttctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200  
 tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260  
 cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320



aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac togtgaagct 1380  
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440  
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500  
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560  
ccaattctgc caggagaaat attcaaataa aatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620  
actaaatcag atcctcgggtg cctgaccgcg tattactcta gtttcgtaa tatggagaga 1680  
gatctagctt caggactcat tggcctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740  
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800  
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgcttc tcccaatcc agctggagtg 1860  
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatggt 1920  
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980  
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040  
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100  
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160  
atgaccgctt tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220  
agttatgaag atatttcagc atacttctg agtaaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280  
ttctcccaga attcaagaca ccctagcact aggcaaaagc aatttaatgc caccacaatt 2340  
ccagaaaatg acatagagaa gactgacctt tggtttgac acagaacacc tatgcctaaa 2400  
atacaaaatg tctcctctag tgatttggtg atgctcttgc gacagagtcc tactccacat 2460  
gggctatcct tatctgatct ccaagaagcc aatatgaga cttttctga tgatccatca 2520  
cctggagcaa tagacagtaa taacagcctg tctgaaatga cacacttcag gccacagctc 2580  
catcacagtg gggacatggt atttaccctt gagtcaggcc tccaattaag attaaatgag 2640

aaactgggga caactgcagc aacagagttg aagaaacttg atttcaaagt ttctagtaca	2700
tcaaataate tgatttcaac aattccatca gacaatttgg cagcaggtac tgataataca	2760
agttccttag gaccccccaag tatgccagtt cattatgata gtcaattaga taccactcta	2820
tttggcaaaa agtcatctcc cttactgag tctgggtggac ctctgagctt gagtgaagaa	2880
aataatgatt caaagttggtt agaatcaggt ttaatgaata gccaaagaaag ttcattgggga	2940
aaaaatgtat cgtcaacaga gagtggtagg ttatttaaag ggaaaagagc tcatggacct	3000
gctttgttga ctaaagataa tgccttattc aaagttagca tctctttggt aaagacaaac	3060
aaaacttcca ataattcagc aactaataga aagactcaca ttgatggccc atcattatta	3120
attgagaata gtccatcagt ctggcaaaat atattagaaa gtgacactga gtttaaaaaa	3180
gtgacacctt tgattcatga cagaatgctt atggacaaaa atgctacagc tttgaggcta	3240
aatcatatgt caataaaac tacttcatca aaaaacatgg aaatggtcca acagaaaaaa	3300
gagggcccca ttccaccaga tgcacaaaat ccagatatgt cgttctttaa gatgctattc	3360
ttgccagaat cagcaaggtg gatacaaagg actcatggaa agaactctct gaactctggg	3420
caaggcccca gtccaaagca attagtatcc ttaggaccag aaaaatctgt ggaaggtcag	3480
aatttcttgt ctgagaaaaa caaagtggta gtaggaaagg gtgaatttac aaaggacgta	3540
ggactcaaag agatggtttt tccaagcagc agaaacctat ttcttactaa cttggataat	3600
ttacatgaaa ataatacaca caatcaagaa aaaaaattc aggaagaaat agaaaagaag	3660
gaaacattaa tccaagagaa tgtagttttg cctcagatac atacagtac tggcactaag	3720
aatttcatga agaacctttt ctactgagc actaggcaaa atgtagaagg ttcatatgac	3780
ggggcatatg ctccagtact tcaagatttt aggtcattaa atgattcaac aatagaaca	3840
aagaaacaca cagctcattt ctcaaaaaaa ggggaggaag aaaacttga aggcttggga	3900
aatcaaacca agcaaattgt agagaaatat gcatgcacca caaggatata tcctaataca	3960



agccagcaga attttgtcac gcaacgtagt aagagagctt tgaacaatt cagactccca 4020  
 ctagaagaaa cagaacttga aaaaaggata attgtggatg acacctcaac ccagtggctc 4080  
 aaaaacatga aacatttgac cccgagcacc ctcacacaga tagactacaa tgagaaggag 4140  
 aaaggggcca ttactcagtc tcccttatca gattgcetta cgaggagtca tagcatcctt 4200  
 caagcaaata gatctccatt acccattgca aaggtatcat catttccatc tattagacct 4260  
 atatatctga ccagggtcct attccaagac aactcttctc atcttccagc agcatcttat 4320  
 agaaagaaag attctggggt ccaagaaagc agtcatttct tacaaggagc caaaaaaat 4380  
 aacctttctt tagccattct aaccttggag atgactggtg atcaaagaga ggttggctcc 4440  
 ctggggacaa gtgccacaaa ttcagtcaca tacaagaaag ttgagaacac tgttctcccg 4500  
 aaaccagact tgcccaaac atctggcaaa gttgaattgc ttccaaaagt tcacatttat 4560  
 cagaaggacc tattccctac ggaaactagc aatgggtctc ctggccatct ggatctcgtg 4620  
 gaaggagcc ttcttcaggg aacagaggga gcgattaagt ggaatgaagc aaacagacct 4680  
 ggaaaagttc cttttctgag agtagcaaca gaaagctctg caaagactcc ctccaagcta 4740  
 ttggatcctc ttgcttggga taaccactat ggtactcaga taccaaaaga agagtggaaa 4800  
 tccaagaga agtcaccaga aaaaacagct titaagaaaa aggataccat tttgtccctg 4860  
 aacgcttgtg aaagcaatca tgcaatagca gcaataaatg aggacaaaa taagcccga 4920  
 atagaagtca cctgggcaaa gcaaggtagg actgaaagge tgtgctctca aaaccacca 4980  
 gtcttgaac gccatcaacg ggaaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa 5040  
 attgactatg atgataccat atcagttgaa atgaagaag aagatthtga catttatgat 5100  
 gaggatgaaa atcagagccc ccgcagcttt caaaagaaaa cacgacacta tttattgct 5160  
 gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg 5220  
 gctcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgtht tccaggaatt tactgatggc 5280

tcctttactc agcccttata ccgtaggagaa ctaaataaac atttgggact cctggggcca	5340
tatataagag cagaagtga agataatata atggtaactt tcagaaatca ggcctctcgt	5400
ccctattcct tctattctag ccttatttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa	5460
cctagaaaaa actttgtcaa gcctaataaa accaaaaactt acttttgaa agtgcaacat	5520
catatggcac ccaactaaaga tgagtttgac tgcaaaacct gggcttattt ctctgatggt	5580
gacctgaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctggctctg ccacactaac	5640
aaactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gttttcacc	5700
atctttgatg agacccaaaag ctggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt	5760
ccctgcaata tccagatgga agatcccact tttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc	5820
aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctcaggatca aaggattcga	5880
tggtatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat	5940
gtgttactg tacgaaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt	6000
gtttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa tttggcgggt ggaatgcctt	6060
attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acacttttctc tgggtgtacag caataagtgt	6120
cagactcccc tgggaatggc ttctggacac attagagatt ttcagattac agcttcagga	6180
caatatggac agtgggcccc aaagctggcc agacttcatt attccggatc aatcaatgcc	6240
tggagacca aggagccctt ttcttgatc aaggtggatc tgttggcacc aatgattatt	6300
caeggcatca agaccaggg tgcccgtcag aagttctcca gcctctacat ctctcagttt	6360
atcatcatgt atagtcttga tgggaagaag tggcagactt atcagagaaa ttccactgga	6420
accttaatgg tcttctttgg caatgtggat tcatctggga taaaacacaa tatttttaac	6480
cctccaatta ttgctcgata catccgtttg cacccaactc attatagcat tgcagcact	6540
cttcgcatgg agttgatggg ctgtgattta aatagttgca gcatgccatt gggaatggag	6600



agtaaagcaa tatcagatgc acagattact gttcatcct actttaccaa tatgtttgcc 6660  
 acctggtctc cttcaaaagc tcgacttcac ctccaaggga ggagtaatgc ctggagacct 6720  
 caggtgaata atccaaaaga gtggctgcaa gtggacttcc agaagacaat gaaagtcaca 6780  
 ggagtaacta ctcagggagt aaaatctctg cttaccagca tgtatgtgaa ggagttcctc 6840  
 atctccagca gtcaagatgg ccatcagtgg actctctttt ttcagaatgg caaagtaaag 6900  
 gtttttcagg gaaatcaaga ctccttcaca cctgtggtga actctctaga cccaccgta 6960  
 ctgactcgtc accttcgaat tcacccccag agttgggtgc accagattgc cctgaggatg 7020  
 gaggttctgg gctgagaggc acaggacctc tac 7053

<210> 18  
 <211> 1438  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> B 結構域缺失之 FVIII

<400> 18

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr  
 1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys  
 35 40 45

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro  
 50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val  
65 70 75 80

Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val  
85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala  
100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val  
115 120 125

Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn  
130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser  
145 150 155 160

His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu  
165 170 175

Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu  
180 185 190

His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp  
195 200 205

His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser  
210 215 220

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg  
225 230 235 240



Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His  
 245 250 255

Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu  
 260 265 270

Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile  
 275 280 285

Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly  
 290 295 300

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met  
 305 310 315 320

Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg  
 325 330 335

Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp  
 340 345 350

Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
 355 360 365

Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His  
 370 375 380

Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
 385 390 395 400

Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
 420 425 430

Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
 435 440 445

Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile  
 450 455 460

Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
 465 470 475 480

Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
 485 490 495

His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
 500 505 510

Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys  
 515 520 525

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala  
 530 535 540

Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp  
 545 550 555 560

Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe  
 565 570 575

Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln  
 580 585 590



Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe  
 595 600 605

Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser  
 610 615 620

Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu  
 625 630 635 640

Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr  
 645 650 655

Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro  
 660 665 670

Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp  
 675 680 685

Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala  
 690 695 700

Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu  
 705 710 715 720

Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala  
 725 730 735

Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His  
 740 745 750

Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile  
 755 760 765

Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp  
 770 775 780

Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys  
 785 790 795 800

Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly  
 805 810 815

Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser  
 820 825 830

Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser  
 835 840 845

Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu  
 850 855 860

Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr  
 865 870 875 880

Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile  
 885 890 895

Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe  
 900 905 910

Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His  
 915 920 925

Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe  
 930 935 940



Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro  
 945 950 955 960

Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln  
 965 970 975

Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr  
 980 985 990

Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro  
 995 1000 1005

Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg  
 1010 1015 1020

Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu  
 1025 1030 1035

Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met  
 1040 1045 1050

Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val  
 1055 1060 1065

Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn  
 1070 1075 1080

Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys  
 1085 1090 1095

Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His  
 1100 1105 1110

Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln  
 1115 1120 1125

Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile  
 1130 1135 1140

Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg  
 1145 1150 1155

Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro  
 1160 1165 1170

Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His  
 1175 1180 1185

Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr  
 1190 1195 1200

Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp  
 1205 1210 1215

Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe  
 1220 1225 1230

Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro  
 1235 1240 1245

Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser  
 1250 1255 1260

Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn  
 1265 1270 1275



Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp  
 1280 1285 1290

Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr  
 1295 1300 1305

Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn  
 1310 1315 1320

Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val  
 1325 1330 1335

Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly  
 1340 1345 1350

Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile  
 1355 1360 1365

Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn  
 1370 1375 1380

Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro  
 1385 1390 1395

Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg  
 1400 1405 1410

Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu  
 1415 1420 1425

Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr  
 1430 1435

<210> 19

<211> 4371

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> B結構域缺失之 FVIII

<400> 19

```

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc      60
accagaagat actacctggg tgcagtgga  ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc      120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttctt cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac      180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc      240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccagge tgaggtttat      300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctggt      360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgagggg gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg      420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggg ggaagccata catatgtctg gcaggctctg      480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgacca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat      540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa      600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta      660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat      720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct      780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc      840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca ctttcttgt gaggaacct      900
cgccaggcgt ccttggaat ctgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg      960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacaatga tggcatggaa     1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa     1080

```



gaagcggag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140  
 gatgacaact ctcttccctt tatccaaatt cgetcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200  
 tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgetccctt agtcctcgcc 1260  
 cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320  
 aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380  
 attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440  
 ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctacctca cggaatcaact 1500  
 gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560  
 ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620  
 actaaatcag atcctcggtg cctgaccgcg tattactcta gtttcgtaa tatggagaga 1680  
 gatctagctt caggactcat tggcctctc ctcatctgct acaaagaatc thtagatcaa 1740  
 agaggaaacc agataatgic agacaagagg aatgcatcc tgttttctgt attttagatgag 1800  
 aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgcttc tcccaatcc agctggagtg 1860  
 cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatggt 1920  
 tttgatagtt tgcagttgic agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980  
 attggagcac agactgactt cctttctgic ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040  
 atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100  
 atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160  
 atgaccgect tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220  
 agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280  
 ttctctcaaa acccaccagt cttgaaacgc catcaacggg aaataactcg tactactctt 2340  
 cagtcagatc aagaggaaat tgactatgat gataccatat cagttgaaat gaagaaggaa 2400

gattttgaca tttatgatga ggatgaaaat cagagccccc gcagctttca aaagaaaaca	2460
cgacactatt ttattgctgc agtggagagg ctctgggatt atgggatgag tagctcccca	2520
catgttctaa gaaacagggc tcagagtggc agtgtccctc agttcaagaa agttgttttc	2580
caggaattta ctgatggctc ctttactcag cccttatacc gtggagaact aaatgaacat	2640
ttgggactcc tggggccata tataagagca gaagtgaag ataatatcat ggtaactttc	2700
agaaatcagg cctctcgtcc ctattccttc tattctagcc ttatttctta tgaggaagat	2760
cagaggcaag gagcagaacc tagaaaaaac tttgtcaagc ctaatgaaac caaaacttac	2820
ttttggaaag tgcaacatca tatggcacc ctaaaagatg agtttgactg caaagcctgg	2880
gcttatttct ctgatgttga cctggaaaaa gatgtgcaact caggcctgat tggaccctt	2940
ctggtctgcc aactaacac actgaaccct gctcatggga gacaagtgac agtacaggaa	3000
tttgcctgt tttcaccat ctttgatgag accaaaagct ggtacttcac tgaaaatag	3060
gaaagaaact gcagggtcc ctgcaatata cagatggaag atcccacttt taaagagaat	3120
tatcgcttcc atgcaatcaa tggctacata atggatacac tacctggctt agtaatggct	3180
caggatcaaa ggattcgatg gtatctgctc agcatgggca gcaatgaaaa catccattct	3240
attcatttca gtggacatgt gttcactgta cgaaaaaaag aggagtataa aatggcactg	3300
tacaatctct atccaggtgt ttttgagaca gtggaaatgt taccatccaa agctggaatt	3360
tggcgggtgg aatgccttat tggcgagcat ctacatgctg ggatgagcac actttttctg	3420
gtgtacagca ataagtgtca gactccctg ggaatggctt ctggacacat tagagatttt	3480
cagattacag cttcaggaca atatggacag tgggccccaa agctggccag acttcattat	3540
tccgatcaa tcaatgcctg gagcaccaag gagccctttt cttggatcaa ggtggatctg	3600
ttggcaccaa tgattattca cggcatcaag acccaggtg cccgtcagaa gttctccagc	3660
ctctacatct ctcagtttat catcatgtat agtcttgatg ggaagaagtg gcagacttat	3720



cgaggaaatt ccaactggaac cttaatggtc ttctttggca atgtggattc atctgggata 3780  
 aaacacaata tttttaaccc tccaattatt gctcgataca tccgtttgca cccaactcat 3840  
 tatagcattc gcagcactct tcgcatggag ttgatgggct gtgatttaa tagttgcagc 3900  
 atgccattgg gaatggagag taaagcaata tcagatgcac agattactgc ttcacccac 3960  
 tttaccaata tgtttgccac ctggtctcct tcaaaagctc gacttcacct ccaagggagg 4020  
 agtaatgcct ggagacctca ggtgaataat ccaaaagagt ggctgcaagt ggacttccag 4080  
 aagacaatga aagtcacagg agtaactact caggagtaa aatctctget taccagcatg 4140  
 tatgtgaagg agttcctcat ctccagcagt caagatggcc atcagtgac tctctttttt 4200  
 cagaatggca aagtaaaggt ttttcaggga aatcaagact cttcacacc tgtggtgaac 4260  
 tctctagacc caccgttact gactcgctac cttegaatte acccccagag ttgggtgcac 4320  
 cagattgccc tgaggatgga ggttctgggc tgcgaggcac aggaccteta c 4371

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 20

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp  
 1                    5                    10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 21

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu  
1                   5                   10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 22

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu  
1                   5                   10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAR1 外位點相互作用基元

<400> 23

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu Ser  
1                   5                   10

<210> 24

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF 連接子



<400> 24

Gly Gly Leu Val Pro Arg Ser Phe Leu Leu Arg Asn Pro Asn Asp Lys  
1                    5                    10                    15

Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu Ser  
                  20                    25

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 凝血酶裂解位點

<400> 25

Leu Val Pro Arg  
1

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 凝血酶裂解位點

<400> 26

Ala Leu Arg Pro Arg Val Val  
1                    5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FXIa 裂解位點

<400> 27

Thr Gln Ser Phe Asn Asp Phe Thr Arg  
1 5

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FXIa 裂解位點

<400> 28

Ser Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg  
1 5 10

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 凝血酶裂解位點

<400> 29

Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly Gly Val Arg  
1 5 10

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 凝血酶裂解位點



<400> 30

Thr Thr Lys Ile Lys Pro Arg  
1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 凝血酶裂解位點

<400> 31

Leu Val Pro Arg Gly  
1 5

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAS 序列

<400> 32

Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro  
1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala  
20

<210> 33

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAS 序列

<400> 33

Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro  
1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser  
20

<210> 34

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAS 序列

<400> 34

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala  
1 5 10 15

Ser Pro Ser Ser  
20

<210> 35

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PAS 序列

<400> 35

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala  
1 5 10 15



Ser Pro Ser

<210> 36  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> PAS 序列

<400> 36

Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro  
 1                    5                    10                    15

Ser Ser Pro Ala  
                   20

<210> 37  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> PAS 序列

<400> 37

Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro  
 1                    5                    10                    15

Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala  
                   20

<210> 38  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> PAS 序列

<400> 38

Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro  
1                   5                   10                   15

Ser Ala Ala Ala  
                  20

<210> 39

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN AE42

<400> 39

Gly Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly  
1                   5                   10                   15

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala  
                  20                   25                   30

Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Ala Ser Ser  
                  35                   40

<210> 40

<211> 78

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN AE72

<400> 40

Gly Ala Pro Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala  
20 25 30

Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu  
35 40 45

Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr  
50 55 60

Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ala Ser Ser  
65 70 75

<210> 41

<211> 143

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN AE144

<400> 41

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu  
1 5 10 15

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
20 25 30

Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
35 40 45



Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro  
 50 55 60

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
 65 70 75 80

Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 85 90 95

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu  
 100 105 110

Ser Ala Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser  
 115 120 125

Glu Thr Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 130 135 140

- <210> 42
- <211> 144
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> XTEN AG144

<400> 42

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 1 5 10 15

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr  
 20 25 30

Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro  
 35 40 45

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro  
50 55 60

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala  
65 70 75 80

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro  
85 90 95

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro  
100 105 110

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala  
115 120 125

Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
130 135 140

- <210> 43
- <211> 288
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> XTEN AE288

<400> 43

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
1 5 10 15

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
20 25 30

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 35 40 45

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 50 55 60

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 65 70 75 80

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 85 90 95

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu  
 100 105 110

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 115 120 125

Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 130 135 140

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu  
 145 150 155 160

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 165 170 175

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 180 185 190

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro  
 195 200 205



Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 210 215 220

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 225 230 235 240

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro  
 245 250 255

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 260 265 270

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 275 280 285

<210> 44

<211> 288

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN AG288

<400> 44

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser  
 1 5 10 15

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr  
 20 25 30

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
 35 40 45

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser  
 50 55 60

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr  
 65 70 75 80

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
 85 90 95

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 100 105 110

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser  
 115 120 125

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 130 135 140

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser  
 145 150 155 160

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser  
 165 170 175

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly  
 180 185 190

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser  
 195 200 205

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly  
 210 215 220

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly  
 225 230 235 240

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 245 250 255

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr  
 260 265 270

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
 275 280 285

- <210> 45
- <211> 576
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> XTEN AE576

<400> 45

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu  
 1 5 10 15

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 20 25 30

Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 35 40 45

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 50 55 60

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 65 70 75 80



Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 85 90 95

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala  
 100 105 110

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 115 120 125

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 130 135 140

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala  
 145 150 155 160

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 165 170 175

Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 180 185 190

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 195 200 205

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 210 215 220

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 225 230 235 240

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 245 250 255

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 260 265 270

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 275 280 285

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu  
 290 295 300

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
 305 310 315 320

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 325 330 335

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 340 345 350

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 355 360 365

Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 370 375 380

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 385 390 395 400

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 405 410 415

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 420 425 430

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
 435 440 445

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 450 455 460

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 465 470 475 480

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 485 490 495

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 500 505 510

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 515 520 525

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala  
 530 535 540

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 545 550 555 560

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 565 570 575

- <210> 46
- <211> 576
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> XTEN AG576



&lt;400&gt; 46

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser  
 1 5 10 15

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser  
 20 25 30

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly  
 35 40 45

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 50 55 60

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser  
 65 70 75 80

Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 85 90 95

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro  
 100 105 110

Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser  
 115 120 125

Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 130 135 140

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 145 150 155 160

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr  
 165 170 175

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 180 185 190

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser  
 195 200 205

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly  
 210 215 220

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
 225 230 235 240

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro  
 245 250 255

Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly  
 260 265 270

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
 275 280 285

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 290 295 300

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser  
 305 310 315 320

Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 325 330 335

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser  
 340 345 350

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser  
355 360 365

Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
370 375 380

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro  
385 390 395 400

Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly  
405 410 415

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser  
420 425 430

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro  
435 440 445

Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly  
450 455 460

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser  
465 470 475 480

Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser  
485 490 495

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser  
500 505 510

Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser  
515 520 525



Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser  
 530 535 540

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser  
 545 550 555 560

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser  
 565 570 575

<210> 47

<211> 864

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN AE864

<400> 47

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu  
 1 5 10 15

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 20 25 30

Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 35 40 45

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 50 55 60

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 65 70 75 80

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 85 90 95

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala  
 100 105 110

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 115 120 125

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 130 135 140

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala  
 145 150 155 160

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 165 170 175

Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 180 185 190

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 195 200 205

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 210 215 220

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 225 230 235 240

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 245 250 255

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 260 265 270

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 275 280 285

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu  
 290 295 300

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
 305 310 315 320

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 325 330 335

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 340 345 350

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
 355 360 365

Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 370 375 380

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
 385 390 395 400

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 405 410 415

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 420 425 430



Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
 435 440 445

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 450 455 460

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 465 470 475 480

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 485 490 495

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 500 505 510

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 515 520 525

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala  
 530 535 540

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 545 550 555 560

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 565 570 575

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
 580 585 590

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 595 600 605

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 610 615 620

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 625 630 635 640

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 645 650 655

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 660 665 670

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu  
 675 680 685

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
 690 695 700

Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
 705 710 715 720

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu  
 725 730 735

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
 740 745 750

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 755 760 765

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro  
 770 775 780

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr  
785 790 795 800

Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
805 810 815

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro  
820 825 830

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
835 840 845

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
850 855 860

<210> 48  
<211> 864  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN AG864

<400> 48

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro  
1 5 10 15

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr  
20 25 30

Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro  
35 40 45

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro  
50 55 60



Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
65 70 75 80

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro  
85 90 95

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly  
100 105 110

Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
115 120 125

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
130 135 140

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
145 150 155 160

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
165 170 175

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro  
180 185 190

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro  
195 200 205

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr  
210 215 220

Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
225 230 235 240

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro  
 245 250 255

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 260 265 270

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 275 280 285

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro  
 290 295 300

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 305 310 315 320

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 325 330 335

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly  
 340 345 350

Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 355 360 365

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 370 375 380

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 385 390 395 400

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala  
 405 410 415

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 420 425 430

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 435 440 445

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala  
 450 455 460

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
 465 470 475 480

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro  
 485 490 495

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 500 505 510

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro  
 515 520 525

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro  
 530 535 540

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 545 550 555 560

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 565 570 575

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 580 585 590



Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala  
 595 600 605

Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
 610 615 620

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 625 630 635 640

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala  
 645 650 655

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro  
 660 665 670

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro  
 675 680 685

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala  
 690 695 700

Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
 705 710 715 720

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro  
 725 730 735

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 740 745 750

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 755 760 765

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro  
 770 775 780

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser  
 785 790 795 800

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro  
 805 810 815

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr  
 820 825 830

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala  
 835 840 845

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
 850 855 860

<210> 49  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AD

<400> 49

Gly Glu Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Glu Ser  
 1 5 10

<210> 50  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列





<223> XTEN 基元家族 AE、AM

<400> 53

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
1                    5                    10

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AE、AM、AQ

<400> 54

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
1                    5                    10

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AE、AM、AQ

<400> 55

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
1                    5                    10

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AE、AM、AQ

<400> 56

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
1                   5                   10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AF、AM

<400> 57

Gly Ser Thr Ser Glu Ser Pro Ser Gly Thr Ala Pro  
1                   5                   10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AF、AM

<400> 58

Gly Thr Ser Thr Pro Glu Ser Gly Ser Ala Ser Pro  
1                   5                   10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 AF、AM

<400> 59

Gly Thr Ser Pro Ser Gly Glu Ser Ser Thr Ala Pro  
 1                    5                    10

<210> 60  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AF、AM

<400> 60

Gly Ser Thr Ser Ser Thr Ala Glu Ser Pro Gly Pro  
 1                    5                    10

<210> 61  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AG、AM

<400> 61

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro  
 1                    5                    10

<210> 62  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AG、AM

<400> 62

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro  
 1                    5                    10



<210> 63  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AG、AM

<400> 63

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro  
1                    5                    10

<210> 64  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AG、AM

<400> 64

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro  
1                    5                    10

<210> 65  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 65

Gly Glu Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Ser Glu  
1                    5                    10

<210> 66  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 66

Gly Thr Gly Glu Pro Ser Ser Thr Pro Ala Ser Glu  
1                   5                   10

<210> 67  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 67

Gly Ser Gly Pro Ser Thr Glu Ser Ala Pro Thr Glu  
1                   5                   10

<210> 68  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 68

Gly Ser Glu Thr Pro Ser Gly Pro Ser Glu Thr Ala  
1                   5                   10

<210> 69  
<211> 12

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 69

Gly Pro Ser Glu Thr Ser Thr Ser Glu Pro Gly Ala  
 1                    5                    10

<210> 70  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 AQ

<400> 70

Gly Ser Pro Ser Glu Pro Thr Glu Gly Thr Ser Ala  
 1                    5                    10

<210> 71  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> XTEN 基元家族 BC

<400> 71

Gly Ser Gly Ala Ser Glu Pro Thr Ser Thr Glu Pro  
 1                    5                    10

<210> 72  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列



<220>

<223> XTEN 基元家族 BC

<400> 72

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Thr Glu Pro Ser  
1                   5                   10

<210> 73

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BC

<400> 73

Gly Thr Ser Glu Pro Ser Thr Ser Glu Pro Gly Ala  
1                   5                   10

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BC

<400> 74

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Pro Gly Ser Ala  
1                   5                   10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BD

<400> 75

Gly Ser Thr Ala Gly Ser Glu Thr Ser Thr Glu Ala  
1                    5                    10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BD

<400> 76

Gly Ser Glu Thr Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Ala  
1                    5                    10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BD

<400> 77

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Ser Glu Ser Gly Ala  
1                    5                    10

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> XTEN 基元家族 BD

<400> 78

Gly Thr Ser Thr Glu Ala Ser Glu Gly Ser Ala Ser  
 1                    5                    10

<210> 79

<211> 4974

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF057 (連接子中具有 LVPR 凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 79

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc 60

ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt 120

gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc 180

ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag 240

agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttggt tgtcaatggt 300

accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgcctatg cctccaaagg gctgtatcta 360

gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc 420

gatggcagcg gcaactttca agtcctgctg tcagacagat acttcaaaa gacctgcggg 480

ctgtgtggca actttaacat ctttgctgaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg 540

acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg 600

gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctctt ctggggaaat gcagaagggc 660

ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgtg ccacctctg 720

gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg 780

ctggagtgcg cctgccctgc cctcctggag tacgccgga cctgtgcca ggagggaatg 840

gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggtatggag 900



tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgccctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcacctcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgic cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc	1320
accgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc ccctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattccagc atacagtgac ggctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac ccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgctgccct acctgcggaa ctgccgctac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860
tgccctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgic	1920
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag	1980
tgcgggacct cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat	2040
gaggcctgcc tggagggtg cttctgcccc ccagggtct acatggatga gaggggggac	2100
tgcggtccca aggcccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac	2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtacctg	2220

agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcccct gtctcatcgc 2280  
 agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgtcc cgctgacaac 2340  
 ctgcgggctg aagggtcga gtgtaccaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcattg 2400  
 agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggtcggca tgagaacaga 2460  
 tgtgtggccc tggaaagggt tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520  
 acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580  
 catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgatc ggcatggccc actacctcac ctctgacggg 2640  
 ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700  
 aaccctggga cctttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcaagtaaa 2760  
 tgcaagaaac gggtcacat cctgggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820  
 gtgaatgtga agaggccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg 2880  
 tacatcattc tgctgctggg caaagcctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcattc 2940  
 tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000  
 ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060  
 tttgggaact cctggaaagt gagctcgcag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac 3120  
 tcatcccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctctctgt 3180  
 agaatcctta ccagtgcagt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacc cgagccatat 3240  
 ctggatgtct gcatttacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgccgattc 3300  
 tgcgacacca ttgctgcta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg 3360  
 aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat 3420  
 gaggtgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacct 3480  
 gagccactgg cctgcctgtg gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg 3540

aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgaccctg aagactgtcc agtgtgtgag	3600
gtggctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgaccctgag	3660
cactgccaga ttgcccactg tgatgttgtc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg	3720
atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtgggtcccgg gagcgagcca	3780
gccacatctg ggtcggaaac gccaggcaca agtgagtctg caactcccga gtccggacct	3840
ggctccgagc ctgcccactag cggctccgag actccgggaa cttccgagag cgctacacca	3900
gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcgagggtc ctgctccggg cagcccagcc	3960
ggctctccta catccacgga ggagggcact tccgaatccg ccaccccgga gtcagggcca	4020
ggatctgaac ccgctacctc aggcagtgag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg	4080
gagagtgggc cagggagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg	4140
ggctcgccca ccagcactga agaaggtgcc tcgagcggcg gtggaggatc cgggtggcggg	4200
ggatccggtg gcgggggatc cgggtggcggg ggatccggtg gcgggggatc cgggtggcggg	4260
ggatccctgg tccccgggg cagcggaggc gacaaaactc acacatgccc accgtgccc	4320
gctccagaac tcctgggagg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc	4380
ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac	4440
cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag	4500
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac	4560
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc	4620
cccacgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc	4680
ctgccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtea gcctgacctg cctgggtcaa	4740
ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac	4800
tacaagacca cgctcccgt gttggactcc gacggctcct tcttcteta cagcaagctc	4860



accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 4920

gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 4974

<210> 80

<211> 1662

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF057 (連接子中具有 LVPR 凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 80

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile  
1                    5                    10                    15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr  
                  20                    25                    30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly  
                  35                    40                    45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly  
                  50                    55                    60

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

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu  
                  85                    90                    95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro  
                  100                    105                    110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys  
 115 120 125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly  
 130 135 140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly  
 145 150 155 160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln  
 165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala  
 180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser  
 195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln  
 210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu  
 225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu  
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala  
 260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His  
 275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys  
 290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met  
 305 310 315 320

Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu  
 325 330 335

Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His  
 340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn  
 355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys  
 370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp  
 385 390 395 400

Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg  
 405 410 415

Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys  
 420 425 430

Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu  
 435 440 445

Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val  
 450 455 460



Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu  
 465 470 475 480

Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu  
 485 490 495

Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu  
 500 505 510

Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn  
 515 520 525

Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro  
 530 535 540

Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln  
 545 550 555 560

Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met  
 565 570 575

Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe  
 580 585 590

Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys  
 595 600 605

Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly  
 610 615 620

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val  
 625 630 635 640

Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln  
 645 650 655

Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu  
 660 665 670

Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe  
 675 680 685

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys  
 690 695 700

Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp  
 705 710 715 720

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met  
 725 730 735

His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val  
 740 745 750

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg  
 755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu  
 770 775 780

Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met  
 785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg  
 805 810 815

His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln  
 820 825 830

Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr  
 835 840 845

Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp  
 850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly  
 865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp  
 885 890 895

Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys  
 900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu  
 915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys  
 930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg  
 945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg  
 965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val  
 980 985 990



Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr  
 995 1000 1005

Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn  
 1010 1015 1020

Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro  
 1025 1030 1035

Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln  
 1040 1045 1050

Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe  
 1055 1060 1065

Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val  
 1070 1075 1080

Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala  
 1085 1090 1095

Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln  
 1100 1105 1110

His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln  
 1115 1120 1125

Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu  
 1130 1135 1140

Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln  
 1145 1150 1155

His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys  
 1160 1165 1170

His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln  
 1175 1180 1185

Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly  
 1190 1195 1200

Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp  
 1205 1210 1215

Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr  
 1220 1225 1230

Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro Ile Ser Gly Ala Pro Thr Ser Glu  
 1235 1240 1245

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser  
 1250 1255 1260

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1265 1270 1275

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 1280 1285 1290

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 1295 1300 1305

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
 1310 1315 1320

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
1325 1330 1335

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
1340 1345 1350

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala  
1355 1360 1365

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
1370 1375 1380

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ala Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1385 1390 1395

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1400 1405 1410

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu  
1415 1420 1425

Val Pro Arg Gly Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro  
1430 1435 1440

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
1445 1450 1455

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
1460 1465 1470

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
1475 1480 1485



Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 1490 1495 1500

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 1505 1510 1515

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 1520 1525 1530

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 1535 1540 1545

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 1550 1555 1560

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val  
 1565 1570 1575

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 1580 1585 1590

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 1595 1600 1605

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 1610 1615 1620

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 1625 1630 1635

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 1640 1645 1650

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 1655 1660

<210> 81

<211> 4959

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF059 (連接子中具有酸性區域凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 81

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc 60

ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt 120

gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc 180

ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag 240

agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt 300

accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta 360

gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc 420

gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg 480

ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg 540

acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg 600

gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc 660

ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgctg ccaccctctg 720

gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg 780

ctggagtgcg cctgccctgc cctcctggag tacgcccgga cctgtgccca ggagggaatg 840

gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgcctgc tggtatggag 900

tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg 960

tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgcctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgctgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagegcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctgagactg caacacctgc attgcccga acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggatcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcacctcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc	1320
accgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc ccctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcatccagc atacagtgc ggcctccgtg cgctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgagc acttccttac ccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgtgccct acctgcggaa ctgccctac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860
tgctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc	1920
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag	1980
tgccggacc cctgcaacct gacctgccg tctctctctt acccgatga ggaatgcaat	2040
gaggcctgcc tggagggtg cttctgcccc ccaggctct acatggatga gaggggggac	2100
tgctgcccc aggcccagt cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac	2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtacctg	2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcccct gtctcatcgc	2280



agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgcc cgctgacaac 2340  
 ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcattg 2400  
 agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggccggca tgagaacaga 2460  
 tgtgtggccc tggaaaggct tcctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520  
 acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580  
 catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgac gccatggccc actacctcac cttcgacggg 2640  
 ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700  
 aaccctggga cctttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcaagtaaa 2760  
 tgcaagaaac gggcaccat cctggtggag ggaggagaga ttgagctggt tgacggggag 2820  
 gtgaatgtga agaggccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg 2880  
 tacatcattc tgctgctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcacc 2940  
 tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000  
 ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060  
 tttgggaact cctggaaagt gagctgcag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac 3120  
 tcatcccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctcctgt 3180  
 agaatcctta ccagtgcctt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacc cgagccatat 3240  
 ctggatgtct gcattacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgccgcattc 3300  
 tgcgacacca ttgtgecta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg 3360  
 aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat 3420  
 gaggctgagt ggcgtataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacct 3480  
 gagccactgg cctgcctgtg gcagtgtgtg gagggctgac atgcccactg ccctccaggg 3540  
 aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag 3600

gtggctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgaccctgag	3660
cactgccaga tttgccactg tgatgttgtc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg	3720
atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtgggccgg gagcgagcca	3780
gccacatctg ggtcggaaac gccaggcaca agtgagtctg caactcccga gtccggacct	3840
ggctccgagc ctgccactag cggctccgag actccgggaa cttccgagag cgctacacca	3900
gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcgaggget ctgctccggg cagcccagcc	3960
ggctctccta catccacgga ggagggcact tccgaatccg ccaccccgga gtcaggcca	4020
ggatctgaac ccgctacctc aggcaagtgag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg	4080
gagagtgggc cagggagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg	4140
ggctcgcca ccagcactga agaaggtgcc tcgatatctg acaagaacac tggtgattat	4200
tacgaggaca gttatgaaga tatttcagca tacttgctga gtaaaaacaa tgccattgaa	4260
ccaagaagct tctctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagctcc agaactcctg	4320
ggcggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg	4380
accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	4440
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	4500
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	4560
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	4620
atctccaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	4680
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgectgg tcaaaggctt ctatcccagc	4740
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	4800
cccgtgttg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	4860
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	4920

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata

4959

<210> 82

<211> 1652

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF059 (連接子中具有 LVPR 凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 82

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile  
1                   5                   10                   15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr  
                  20                   25                   30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly  
          35                   40                   45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly  
  50                   55                   60

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

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu  
                  85                   90                   95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro  
                  100                   105                   110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys  
          115                   120                   125



Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly  
 130 135 140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly  
 145 150 155 160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln  
 165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala  
 180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser  
 195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln  
 210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu  
 225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu  
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala  
 260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His  
 275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys  
 290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met  
 305 310 315 320

Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu  
 325 330 335

Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His  
 340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn  
 355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys  
 370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp  
 385 390 395 400

Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg  
 405 410 415

Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys  
 420 425 430

Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu  
 435 440 445

Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val  
 450 455 460

Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu  
 465 470 475 480

Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu  
 485 490 495

Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu  
 500 505 510

Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn  
 515 520 525

Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro  
 530 535 540

Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln  
 545 550 555 560

Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met  
 565 570 575

Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe  
 580 585 590

Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys  
 595 600 605

Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly  
 610 615 620

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val  
 625 630 635 640

Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln  
 645 650 655



Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu  
 660 665 670

Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe  
 675 680 685

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys  
 690 695 700

Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp  
 705 710 715 720

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met  
 725 730 735

His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val  
 740 745 750

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg  
 755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu  
 770 775 780

Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met  
 785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg  
 805 810 815

His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln  
 820 825 830

Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr  
 835 840 845

Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp  
 850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly  
 865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp  
 885 890 895

Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys  
 900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu  
 915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys  
 930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg  
 945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg  
 965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val  
 980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr  
 995 1000 1005

Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn  
 1010 1015 1020

Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro  
 1025 1030 1035

Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln  
 1040 1045 1050

Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe  
 1055 1060 1065

Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val  
 1070 1075 1080

Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala  
 1085 1090 1095

Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln  
 1100 1105 1110

His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln  
 1115 1120 1125

Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu  
 1130 1135 1140

Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln  
 1145 1150 1155

His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys  
 1160 1165 1170



His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln  
 1175 1180 1185

Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly  
 1190 1195 1200

Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp  
 1205 1210 1215

Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr  
 1220 1225 1230

Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro Ile Ser Gly Ala Pro Thr Ser Glu  
 1235 1240 1245

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser  
 1250 1255 1260

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1265 1270 1275

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 1280 1285 1290

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 1295 1300 1305

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
 1310 1315 1320

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1325 1330 1335

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 1340 1345 1350

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala  
 1355 1360 1365

Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
 1370 1375 1380

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ala Ser Ile Ser Asp Lys Asn Thr Gly  
 1385 1390 1395

Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu  
 1400 1405 1410

Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Asp Lys Thr  
 1415 1420 1425

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 1430 1435 1440

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 1445 1450 1455

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 1460 1465 1470

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 1475 1480 1485

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser  
 1490 1495 1500

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 1505 1510 1515

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu  
 1520 1525 1530

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 1535 1540 1545

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 1550 1555 1560

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 1565 1570 1575

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 1580 1585 1590

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 1595 1600 1605

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 1610 1615 1620

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 1625 1630 1635

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 1640 1645 1650

<210> 83

<211> 4860



<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF062 (連接子中不具有凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 83

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc	60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtea tccaaggccc gatgcagcct tttcggaagt	120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc	180
ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag	240
agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtctgtctg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg	480
ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg	600
gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgtg ccaccctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgccctgc cctcctggag tacgcccga cctgtgcca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag	900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgccctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140

aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggteaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc	1320
accgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgcatgga tggccaggac atccagctcc cctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattcagc atacagtgac ggctccgtg gcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aagcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgctgcctt acctgcggaa ctgccgtac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860
tgcctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc	1920
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag	1980
tgcgggacc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat	2040
gaggcctgcc tggagggtg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac	2100
tgcgtgcccaggccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac	2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtaccatg	2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcccct gtctcatcgc	2280
agcaaaagga gcctatcctg tcggcccccc atggtcaagc tgggtgtgccc cgtgacaac	2340
ctgcgggctg aagggtctga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcattg	2400
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggctccgca tgagaacaga	2460

tgtgtggccc tggaaaggtg tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa	2520
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac	2580
catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgata ggcatggccc actacctcac cttegacggg	2640
ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgtttctgg tgcaggatta ctgcggcagt	2700
aaccctggga cctttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtgaaa	2760
tgcaagaaac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag	2820
gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg	2880
tacatcattc tgctgctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc	2940
tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat	3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac	3060
tttgggaact cctggaaagt gagctcgcag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac	3120
tcatcccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctctctgt	3180
agaatcetta ccagtgacgt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacce cgagccatat	3240
ctggatgtct gcatttacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgccgcattc	3300
tgcgacacca ttgctgccta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg	3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat	3420
gaggctgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacct	3480
gagccactgg cctgcctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgcccactg cctccaggg	3540
aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag	3600
gtggctggcc ggcgttttgc ctgaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag	3660
cactgccaga tttgccactg tgatgttgc aacctacct gtgaagcctg ccaggagccg	3720
atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtggtcccgg gagcgagcca	3780



gccacatctg ggtcggaaac gccaggcaca agtgagtctg caactcccga gtccggacct 3840  
 ggctccgagc ctgccactag cggctccgag actccgggaa ctccgagag cgctacacca 3900  
 gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcgagggtct ctgctccggg cagcccagcc 3960  
 ggctctccta catccacgga ggagggcaact tccgaatccg ccaccccgga gtcagggcca 4020  
 ggatctgaac ccgctacctc aggcagtgag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg 4080  
 gagagtgggc cagggagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg 4140  
 ggctcgccca ccagcactga agaaggtgcc tcgagcgaca aaactcacac atgcccaccg 4200  
 tgcccagctc cagaactcct gggcggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag 4260  
 gacaccctca tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac 4320  
 gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 4380  
 acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 4440  
 ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagcctc 4500  
 ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 4560  
 tacaccctgc cccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgctg 4620  
 gtcaaaggct tctatcccag cgacatgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 4680  
 aacaactaca agaccacgcc tcccgtgttg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 4740  
 aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 4800  
 catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct cctgtctcc gggtaaata 4860

<210> 84

<211> 1619

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF062 (連接子中不具有凝血酶位點之 VWF D' D3-Fc)

<400> 84

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile  
1                   5                   10                   15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr  
                  20                   25                   30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly  
          35                   40                   45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly  
      50                   55                   60

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

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu  
                  85                   90                   95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro  
                  100                   105                   110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys  
          115                   120                   125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly  
      130                   135                   140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly  
145                   150                   155                   160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln  
 165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala  
 180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser  
 195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln  
 210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu  
 225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu  
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala  
 260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His  
 275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys  
 290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met  
 305 310 315 320

Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu  
 325 330 335



Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His  
 340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn  
 355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys  
 370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp  
 385 390 395 400

Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg  
 405 410 415

Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys  
 420 425 430

Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu  
 435 440 445

Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val  
 450 455 460

Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu  
 465 470 475 480

Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu  
 485 490 495

Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu  
 500 505 510

Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn  
 515 520 525

Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro  
 530 535 540

Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln  
 545 550 555 560

Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met  
 565 570 575

Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe  
 580 585 590

Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys  
 595 600 605

Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly  
 610 615 620

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val  
 625 630 635 640

Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln  
 645 650 655

Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu  
 660 665 670

Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe  
 675 680 685

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys  
 690 695 700

Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp  
 705 710 715 720

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met  
 725 730 735

His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val  
 740 745 750

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg  
 755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu  
 770 775 780

Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met  
 785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg  
 805 810 815

His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln  
 820 825 830

Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr  
 835 840 845

Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp  
 850 855 860



Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly  
865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp  
885 890 895

Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys  
900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu  
915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys  
930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg  
945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg  
965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val  
980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr  
995 1000 1005

Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn  
1010 1015 1020

Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro  
1025 1030 1035

Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln  
 1040 1045 1050

Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe  
 1055 1060 1065

Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val  
 1070 1075 1080

Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala  
 1085 1090 1095

Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln  
 1100 1105 1110

His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln  
 1115 1120 1125

Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu  
 1130 1135 1140

Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln  
 1145 1150 1155

His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys  
 1160 1165 1170

His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln  
 1175 1180 1185

Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly  
 1190 1195 1200

Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp  
 1205 1210 1215

Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr  
 1220 1225 1230

Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro Ile Ser Gly Ala Pro Thr Ser Glu  
 1235 1240 1245

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser  
 1250 1255 1260

Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1265 1270 1275

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 1280 1285 1290

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr  
 1295 1300 1305

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
 1310 1315 1320

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1325 1330 1335

Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 1340 1345 1350

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala  
 1355 1360 1365



Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro  
 1370 1375 1380

Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ala Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys  
 1385 1390 1395

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 1400 1405 1410

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 1415 1420 1425

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 1430 1435 1440

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 1445 1450 1455

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 1460 1465 1470

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 1475 1480 1485

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 1490 1495 1500

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 1505 1510 1515

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn  
 1520 1525 1530

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 1535 1540 1545

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 1550 1555 1560

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 1565 1570 1575

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 1580 1585 1590

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 1595 1600 1605

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 1610 1615

<210> 85

<211> 6033

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> FVIII 286 (在 FVIII 與 Fc 之間具有另一 a2 區域之 FVIII-Fc)

<400> 85

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60

accagaagat actacctggg tgcagtgga ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120

ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180

acctcagtcg tgtacaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240

gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccagge tgaggtttat 300

gatacagtg tcatcact taagaacatg gcttccatc ctgtcagtet tcatgctggt 360

ggtgtatcct actggaaagc ttctgagga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420  
 gagaaagaag atgataaagt cttccctggg ggaagccata catatgtctg gcaggctctg 480  
 aaagagaatg gtccaatggc ctctgacca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540  
 gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa 600  
 gggagtctgg ccaaggaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660  
 tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720  
 gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780  
 ctgccaggtc tgattggatg ccacagaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840  
 accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacct 900  
 cgccaggcta gcttggaat ctgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960  
 gaccttgac agtttctact gttttgtcat atctctccc accaacatga tggcatggaa 1020  
 gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080  
 gaagcggag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140  
 gatgacaact ctcttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200  
 tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260  
 cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320  
 aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380  
 attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440  
 ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500  
 gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaagtg taaaacattt gaaggatttt 1560  
 ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620  
 actaaatcag atcctcggtg cctgaccgcg tattacteta gtttcgtaa tatggagaga 1680



gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa	1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag	1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tcccaatcc agctggagtg	1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatggt	1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgttg catgaggtgg catactggta cattctaage	1980
attggagcac agactgactt cttttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa	2040
atggtctatg aagacacact caccctatc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg	2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagagge	2160
atgaccgct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac	2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaage	2280
ttctctcaa acggcgcgcc aggtacctca gactctgcta ccccgagtc agggccagga	2340
tcagagccag ccacctccgg gtctgagaca cccgggactt ccgagagtgc caccctgag	2400
tccggaccg ggtccgagcc cgccacttcc ggtccgaaa ctcccggcac aagcgagagc	2460
gctaccccag agtcaggacc aggaacatct acagagccct ctgaaggctc cgctccaggg	2520
tcccagccg gcagtccac tagcaccgag gagggaacct ctgaaagcgc cacacccgaa	2580
tcagggccag ggtctgagcc tgctaccagc ggcagcgaga caccaggcac ctctgagtcc	2640
gccacaccag agtccggacc cggatctccc gctgggagcc ccacctccac tgaggagggg	2700
tctctgctg gctctccaac atctactgag gaaggtacct caaccgagcc atccgagggg	2760
tcagctcccg gcacctcaga gtcggcaacc ccggagtctg gaccgggaaac ttccgaaagt	2820
gccacaccag agtccggacc cgggacttca gaatcagcaa cacccgagtc cggccctggg	2880
tctgaaccg ccacaagtgg tagtgagaca ccaggatcag aacctgctac ctcagggtca	2940
gagacaccg gatctccggc aggetcacca acctccactg aggagggcac cagcacagaa	3000

ccaagcgagg gctccgcacc cggaacaagc actgaacca gtgagggttc agcaccggc 3060  
 tctgagccgg ccacaagtgg cagtgagaca cccggcactt cagagagtgc caccgccgag 3120  
 agtggcccag gcactagtac cgagccctct gaaggcagtg cgccagcctc gagcccacca 3180  
 gtcttgaac gccatcaagc tgaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa 3240  
 atcgattatg atgataccat atcagttgaa atgaagaagg aagattttga catttatgat 3300  
 gaggatgaaa atcagagccc ccgcagcttt caaaagaaaa cacgacacta ttttattgct 3360  
 gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg 3420  
 gctcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgttt tccaggaatt tactgatggc 3480  
 tcctttactc agcccttata ccgtggagaa ctaaataaac atttgggact cctggggcca 3540  
 tatataagag cagaagtga agataatata atggtaactt tcagaaatca ggctctcgt 3600  
 ccctattcct tctattctag ccttatttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa 3660  
 cctagaaaaa actttgtcaa gcctaataaa accaaaactt acttttgaa agtgcaacat 3720  
 catatggcac ccactaaaga tgagtttgac tgcaaagcct gggcttattt ctctgatgtt 3780  
 gacctgaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctggtctg ccacactaac 3840  
 aactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gttttcacc 3900  
 atctttgatg agacaaaag ctggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt 3960  
 ccctgcaata tccagatgga agatcccact ttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc 4020  
 aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctcaggatca aaggattcga 4080  
 tggatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat 4140  
 gtgttactg tacgaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt 4200  
 gttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa ttggcgggt ggaatgcctt 4260  
 attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acacttttct tgggtgtacag caataagtgt 4320

cagactcccc	tgggaatggc	ttctggacac	attagagatt	ttcagattac	agcttcagga	4380
caatatggac	agtgggcccc	aaagctggcc	agacttcatt	attccggatc	aatcaatgcc	4440
tggagcacca	aggagccctt	ttcttggatc	aaggtggatc	tgttggcacc	aatgattatt	4500
cacggcatca	agaccaggg	tgcccgtcag	aagtctcca	gcctctacat	ctctcagttt	4560
atcatcatgt	atagtcttga	tgggaagaag	tggcagactt	atcgaggaaa	ttccactgga	4620
accttaatgg	tcttctttgg	caatgtggat	tcctctggga	taaaacacaa	tatttttaac	4680
cctccaatta	ttgctcgata	catccgtttg	caccaactc	attatagcat	tcgcagcact	4740
cttcgcatgg	agttgatggg	ctgtgattta	aatagttgca	gcatgccatt	gggaatggag	4800
agtaaagcaa	tatcagatgc	acagattact	gcttcatcct	actttaccaa	tatgtttgcc	4860
acctggtctc	cttcaaaagc	tcgacttcac	ctccaagggg	ggagtaatgc	ctggagacct	4920
caggtgaata	atccaaaaga	gtggctgcaa	gtggacttcc	agaagacaat	gaaagtcaca	4980
ggagtaacta	ctcagggagt	aaaatctctg	cttaccagca	tgtatgtgaa	ggagttcctc	5040
atctccagca	gtcaagatgg	ccatcagtgg	actctctttt	ttcagaatgg	caaagtaaag	5100
gtttttcagg	gaaatcaaga	ctccttcaca	cctgtggatg	actctctaga	cccaccgtta	5160
ctgactegct	accttcgaat	tcacccccag	agttgggtgc	accagattgc	cctgaggatg	5220
gaggttctgg	gctgcgaggc	acaggacctc	tacgacaaga	acactgggtg	ttattacgag	5280
gacagttatg	aagatatttc	agcatacttg	ctgagtaaaa	acaatgcat	tgaaccaaga	5340
agcttctctg	acaaaactca	cacatgccca	ccgtgccag	ctccagaact	cctgggcgga	5400
ccgtcagtct	tcctcttccc	cccaaaacc	aaggacacc	tcatgatctc	ccgaccct	5460
gaggtcacat	gcgtgggtgt	ggacgtgagc	cacgaagacc	ctgaggtcaa	gttcaactgg	5520
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcataatgcc	aagacaaagc	cgcgaggagga	gcagtacaac	5580
agcacgtacc	gtgtggtcag	cgctctcacc	gtcctgcacc	aggactggct	gaatggcaag	5640



gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 5700  
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 5760  
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 5820  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gectcccgtg 5880  
 ttggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 5940  
 cagcagggga acgtettctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 6000  
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 6033

<210> 86  
 <211> 1991  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> FVIII 286 (在 FVIII 與 Fc 之間具有另一 a2 區域之 FVIII-Fc)

<400> 86

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr  
 1                    5                    10                    15

Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro  
                   20                    25                    30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys  
                   35                    40                    45

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro  
                   50                    55                    60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val  
 65                    70                    75                    80

Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val  
85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala  
100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val  
115 120 125

Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn  
130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser  
145 150 155 160

His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu  
165 170 175

Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu  
180 185 190

His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp  
195 200 205

His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser  
210 215 220

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg  
225 230 235 240

Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His  
245 250 255

Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu  
 260 265 270

Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile  
 275 280 285

Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly  
 290 295 300

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met  
 305 310 315 320

Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg  
 325 330 335

Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp  
 340 345 350

Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
 355 360 365

Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His  
 370 375 380

Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
 385 390 395 400

Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
 420 425 430



Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
 435 440 445

Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile  
 450 455 460

Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
 465 470 475 480

Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
 485 490 495

His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
 500 505 510

Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys  
 515 520 525

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala  
 530 535 540

Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp  
 545 550 555 560

Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe  
 565 570 575

Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln  
 580 585 590

Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe  
 595 600 605

Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser  
 610 615 620

Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu  
 625 630 635 640

Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr  
 645 650 655

Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro  
 660 665 670

Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp  
 675 680 685

Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala  
 690 695 700

Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu  
 705 710 715 720

Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala  
 725 730 735

Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Gly Ala Pro Gly Thr Ser Glu  
 740 745 750

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
 755 760 765

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 770 775 780

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu  
785 790 795 800

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu  
805 810 815

Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
820 825 830

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
835 840 845

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
850 855 860

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
865 870 875 880

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr  
885 890 895

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro  
900 905 910

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
915 920 925

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro  
930 935 940

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
945 950 955 960



Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu  
                           965                          970                          975

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr  
                           980                          985                          990

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly  
                           995                          1000                          1005

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly  
           1010                          1015                          1020

Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Ala Ser  
           1025                          1030                          1035

Ser Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Ala Glu Ile Thr Arg Thr  
           1040                          1045                          1050

Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile  
           1055                          1060                          1065

Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp  
           1070                          1075                          1080

Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr  
           1085                          1090                          1095

Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser  
           1100                          1105                          1110

Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro  
           1115                          1120                          1125

Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe  
 1130 1135 1140

Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu  
 1145 1150 1155

Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val  
 1160 1165 1170

Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser  
 1175 1180 1185

Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg  
 1190 1195 1200

Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys  
 1205 1210 1215

Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys  
 1220 1225 1230

Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His  
 1235 1240 1245

Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu  
 1250 1255 1260

Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu  
 1265 1270 1275

Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu  
 1280 1285 1290

Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu  
 1295 1300 1305

Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly  
 1310 1315 1320

Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln  
 1325 1330 1335

Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile  
 1340 1345 1350

His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys  
 1355 1360 1365

Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe  
 1370 1375 1380

Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val  
 1385 1390 1395

Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu  
 1400 1405 1410

Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala  
 1415 1420 1425

Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr  
 1430 1435 1440

Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser  
 1445 1450 1455



Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 1460 1465 1470

Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly  
 1475 1480 1485

Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile  
 1490 1495 1500

Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn  
 1505 1510 1515

Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser  
 1520 1525 1530

Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr  
 1535 1540 1545

Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg  
 1550 1555 1560

Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu  
 1565 1570 1575

Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser  
 1580 1585 1590

Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala  
 1595 1600 1605

Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val  
 1610 1615 1620

Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met  
 1625 1630 1635

Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr  
 1640 1645 1650

Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly  
 1655 1660 1665

His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe  
 1670 1675 1680

Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp  
 1685 1690 1695

Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
 1700 1705 1710

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala  
 1715 1720 1725

Gln Asp Leu Tyr Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser  
 1730 1735 1740

Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile  
 1745 1750 1755

Glu Pro Arg Ser Phe Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 1760 1765 1770

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 1775 1780 1785

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 1790 1795 1800

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 1805 1810 1815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 1820 1825 1830

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 1835 1840 1845

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 1850 1855 1860

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 1865 1870 1875

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 1880 1885 1890

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 1895 1900 1905

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 1910 1915 1920

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 1925 1930 1935

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 1940 1945 1950



Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 1955 1960 1965

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 1970 1975 1980

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 1985 1990

<210> 87  
 <211> 5937  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> FVIII 169

<400> 87  
 atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60  
 accagaagat actacctggg tgcagtgga ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120  
 ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttctt cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180  
 acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240  
 gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccagge tgaggtttat 300  
 gatacagtg tcatcact taagaacatg gttcccac ctgtcagctt tcatgctgtt 360  
 ggtgtatcct actggaaage ttctgaggga gctgaatag atgatcagac cagtcaaagg 420  
 gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480  
 aaagagaatg gtccaatggt ctctgacca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540  
 gtggacctgg taaaagactt gaattcagge ctattggag ccctactagt atgtagagaa 600  
 gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660

tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggataggat	720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct	780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc	840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacct	900
cgccaggcta gcttggaaat ctgccaata actttcctta ctgctcaaac actcctgatg	960
gaccttgac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa	1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa	1080
gaagcggag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat	1140
gatgacaact ctcttcctt tatccaaatt cgtcagttg ccaagaagca tcctaaaact	1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctcctt agtcctcgcc	1260
ccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg	1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct	1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg	1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctacctca cggaatcact	1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta caaaaggtg taaaacattt gaaggatttt	1560
ccaattctgc caggagaaat attcaatat aatggacag tgactgtaga agatgggcca	1620
actaaatcag atcctcggtg cctgaccgc tattactcta gtttcgtaa tatggagaga	1680
gatctagctt caggactcat tggcctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa	1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag	1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgtttc tcccaatcc agctggagtg	1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagatcaa tggctatggt	1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc	1980

attggagcac agactgactt cttttctgtc ttctttctctg gatatacctt caaacacaaa	2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg	2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc	2160
atgaccgect tactgaaggt ttctagtgtg gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac	2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc	2280
ttctctcaaa acggcgcgcc aggtacctca gagtctgcta cccccgagtc agggccagga	2340
tcagagccag ccacctccgg gtctgagaca cccgggactt ccgagagtgc caccctgag	2400
tccggaccg ggtccgagcc cgccacttcc ggctccgaaa ctcccggcac aagcgagagc	2460
gctaccccag agtcaggacc aggaacatct acagagccct ctgaaggctc cgctccaggg	2520
tcccagccg gcagtccac tagcaccgag gagggaacct ctgaaagcgc cacacccgaa	2580
tcagggccag ggtctgagcc tgctaccagc ggcagcgaga caccaggcac ctctgagtcc	2640
gccacaccag agtccggacc cggatctccc gctgggagcc ccacctccac tgaggaggga	2700
tctctgtctg gctctccaac atctactgag gaaggtacct caaccgagcc atccgaggga	2760
tcagctccg gcacctcaga gtcggcaacc ccggagtctg gaccgggaac ttccgaaagt	2820
gccacaccag agtccggacc cgggacttca gaatcagcaa caccgagtc cggccctggg	2880
tctgaaccg ccacaagtgg tagtgagaca ccaggatcag aacctgctac ctgagggtca	2940
gagacaccg gatctccggc aggctcacca acctccactg aggagggcac cagcacagaa	3000
ccaagcgagg gctccgcacc cggaacaagc actgaacca gtgagggttc agcaccggc	3060
tctgagccg ccacaagtgg cagtgagaca cccggcactt cagagagtgc caccctcgag	3120
agtggcccag gcactagtac cgagccctct gaaggcagtg cgccagcctc gagcccacca	3180
gtcttgaac gccatcaagc tgaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa	3240
atcgattatg atgataccat atcagttgaa atgaagaagg aagattttga catttatgat	3300



gaggatgaaa atcagagccc cgcagcttt caaaagaaaa cagcacta ttttattgct 3360  
gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg 3420  
gctcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgttt tccaggaatt tactgatggc 3480  
tctttactc agcccttata ccgtggagaa ctaaataaac atttgggact cctggggcca 3540  
tatataagag cagaagttga agataatata atggtaactt tcagaaatca ggctctctgt 3600  
ccctattcct tctattctag ccttatttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa 3660  
cctagaaaaa actttgtcaa gcctaataaa accaaaactt acttttggaa agtgcaacat 3720  
catatggcac ccactaaaga tgagtttgac tgcaaagcct gggcttattt ctctgatgtt 3780  
gacctgaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctggctctg ccacactaac 3840  
aactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gtttttacc 3900  
atctttgatg agaccaaag ctggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt 3960  
ccctgcaata tccagatgga agatcccact ttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc 4020  
aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctcaggatca aaggattcga 4080  
tggtatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat 4140  
gtgttactg tacgaaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt 4200  
gttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa tttggcgggt ggaatgcctt 4260  
attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acacttttct tgggtgtacag caataagtgt 4320  
cagactcccc tgggaatggc ttctggacac attagagatt ttcagattac agcttcagga 4380  
caatatggac agtgggcccc aaagctggcc agacttcatt attccggatc aatcaatgcc 4440  
tggagcacca aggagccctt ttcttggatc aaggtggatc tgttggcacc aatgattatt 4500  
cacggcatca agaccaggg tgcccgtcag aagttctcca gcctctacat ctctcagttt 4560  
atcatcatgt atagtcttga tgggaagaag tggcagactt atcgaggaaa ttccactgga 4620

accttaatgg tcttctttgg caatgtggat tcatctggga taaaacacaa tatttttaac	4680
cctccaatta ttgctcgata catccgtttg cacccaactc attatagcat tcgcagcact	4740
cttcgcatgg agttgatggg ctgtgattta aatagttgca gcatgccatt gggaatggag	4800
agtaaagcaa tatcagatgc acagattact gcttcatcct actttaccaa tatgtttgcc	4860
acctggtctc cttcaaaagc tcgacttcac ctccaagggg ggagtaatgc ctggagacct	4920
caggtgaata atccaaaaga gtggctgcaa gtggacttcc agaagacaat gaaagtcaca	4980
ggagtaacta ctcagggagt aaaatctctg cttaccagca tgtatgtgaa ggagttcctc	5040
atctccagca gtcaagatgg ccatcagtgg actctctttt ttcagaatgg caaagtaaag	5100
gtttttcagg gaaatcaaga ctcttcaca cctgtgggta actctctaga cccaccgtta	5160
ctgactcgct accttcgaat tcacccccag agttgggtgc accagattgc cctgaggatg	5220
gaggttctgg gctgcgaggc acaggacctc tacgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc	5280
ccagctccag aactcctggg cggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac	5340
acctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa	5400
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	5460
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct caccgtcctg	5520
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacaa agccctccca	5580
gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac	5640
acctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc	5700
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gactgggaga gcaatgggca gccggagaac	5760
aactacaaga ccacgcctcc cgtgttggac tccgacggct ccttcttct ctacagcaag	5820
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat	5880
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga	5937

<210> 88  
 <211> 1978  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> FVIII 169

<400> 88

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe  
 1                   5                   10                   15

Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser  
                  20                   25                   30

Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg  
                  35                   40                   45

Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val  
                  50                   55                   60

Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile  
 65                   70                   75                   80

Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln  
                  85                   90                   95

Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser  
                  100                   105                   110

His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser  
                  115                   120                   125



Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp  
 130 135 140

Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu  
 145 150 155 160

Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser  
 165 170 175

Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile  
 180 185 190

Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr  
 195 200 205

Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly  
 210 215 220

Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp  
 225 230 235 240

Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr  
 245 250 255

Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val  
 260 265 270

Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile  
 275 280 285

Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser  
 290 295 300

Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met  
 305 310 315 320

Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His  
 325 330 335

Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro  
 340 345 350

Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp  
 355 360 365

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser  
 370 375 380

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr  
 385 390 395 400

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro  
 405 410 415

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn  
 420 425 430

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met  
 435 440 445

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu  
 450 455 460

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu  
 465 470 475 480

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro  
 485 490 495

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys  
 500 505 510

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe  
 515 520 525

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp  
 530 535 540

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg  
 545 550 555 560

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu  
 565 570 575

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val  
 580 585 590

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu  
 595 600 605

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp  
 610 615 620

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val  
 625 630 635 640

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp  
 645 650 655



Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe  
 660 665 670

Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr  
 675 680 685

Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro  
 690 695 700

Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly  
 705 710 715 720

Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp  
 725 730 735

Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys  
 740 745 750

Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Gly Ala Pro Gly  
 755 760 765

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala  
 770 775 780

Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu  
 785 790 795 800

Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly  
 805 810 815

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu  
 820 825 830

Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser  
 835 840 845

Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly  
 850 855 860

Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser  
 865 870 875 880

Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser  
 885 890 895

Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly  
 900 905 910

Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser  
 915 920 925

Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu  
 930 935 940

Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly  
 945 950 955 960

Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala  
 965 970 975

Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser  
 980 985 990

Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly  
 995 1000 1005

Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro  
 1010 1015 1020

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr  
 1025 1030 1035

Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser  
 1040 1045 1050

Ala Pro Ala Ser Ser Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Ala Glu  
 1055 1060 1065

Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr  
 1070 1075 1080

Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile  
 1085 1090 1095

Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys  
 1100 1105 1110

Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr  
 1115 1120 1125

Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser  
 1130 1135 1140

Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr  
 1145 1150 1155

Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu  
 1160 1165 1170



His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp  
 1175 1180 1185

Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser  
 1190 1195 1200

Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly  
 1205 1210 1215

Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr  
 1220 1225 1230

Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu  
 1235 1240 1245

Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu  
 1250 1255 1260

Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His  
 1265 1270 1275

Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln  
 1280 1285 1290

Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp  
 1295 1300 1305

Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn  
 1310 1315 1320

Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His  
 1325 1330 1335

Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met  
 1340 1345 1350

Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser  
 1355 1360 1365

Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr  
 1370 1375 1380

Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr  
 1385 1390 1395

Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly  
 1400 1405 1410

Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly  
 1415 1420 1425

Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro  
 1430 1435 1440

Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala  
 1445 1450 1455

Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His  
 1460 1465 1470

Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser  
 1475 1480 1485

Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile  
 1490 1495 1500

Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser  
 1505 1510 1515

Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr  
 1520 1525 1530

Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn  
 1535 1540 1545

Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile  
 1550 1555 1560

Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg  
 1565 1570 1575

Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys  
 1580 1585 1590

Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln  
 1595 1600 1605

Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser  
 1610 1615 1620

Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp  
 1625 1630 1635

Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe  
 1640 1645 1650

Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys  
 1655 1660 1665



Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser  
 1670 1675 1680

Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys  
 1685 1690 1695

Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val  
 1700 1705 1710

Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His  
 1715 1720 1725

Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu  
 1730 1735 1740

Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 1745 1750 1755

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 1760 1765 1770

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 1775 1780 1785

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 1790 1795 1800

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 1805 1810 1815

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 1820 1825 1830

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 1835 1840 1845

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 1850 1855 1860

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 1865 1870 1875

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln  
 1880 1885 1890

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 1895 1900 1905

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 1910 1915 1920

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 1925 1930 1935

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 1940 1945 1950

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 1955 1960 1965

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 1970 1975

<210> 89  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>

<223> Gly/Ser 連接子

<400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1                    5                    10                    15

<210> 90

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Gly/Ser 連接子

<400> 90

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1                    5                    10                    15

Gly Gly Gly Ser  
                   20

<210> 91

<211> 5379

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF034

<400> 91

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc            60

ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt            120

gacttcgtca acaccttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc            180

ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag            240



agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtcctgtctg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg	480
ctgtgtggca actttaacat ctttgtctgaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg	600
gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgctg ccaccctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgccctgc cctcctggag tacgcccgga cctgtgcca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggtatggag	900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgccctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgcgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actgggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc	1320
acccgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc ccctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattccagc atacagtgac ggctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctgggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560

tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg 1620  
ctggcgggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag 1680  
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc 1740  
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcage 1800  
ccgctgccct acctgcgga ctgccgtac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag 1860  
tgccctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc 1920  
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag 1980  
tgcgggacc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat 2040  
gaggcctgcc tggagggtg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac 2100  
tgcggtccca aggcccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac 2160  
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtaccatg 2220  
agtggagtcc ccggaagett gctgcctgac gctgtcctca gcagtcccc gtctcatgcg 2280  
agcaaaagga gcctatcctg tcggcccccc atggtcaagc tgggtgtgtcc cgctgacaac 2340  
ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcattg 2400  
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggtcgggca tgagaacaga 2460  
tgtgtggccc tggaaaggtg tccctgctc catcagggca aggagtatgc cctggagaa 2520  
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtegggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580  
catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgatc ggcattggccc actacctcac ctctgacggg 2640  
ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700  
aacctggga ctttctggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtgaaa 2760  
tgcaagaaac gggtcacat cctgggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820  
gtgaatgtga agaggccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg 2880

tacatcattc tgetgctggg caaagecctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc	2940
tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat	3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac	3060
tttgggaact cctggaaagt gagctcgcag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac	3120
tcacccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctctctgt	3180
agaatcctta ccagtgcgt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacce cgagccatat	3240
ctggatgtct gcatttacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgccgcattc	3300
tgcgacacca ttgctgcta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg	3360
aggacggcca cattgtgcc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat	3420
gaggctgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacct	3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg	3540
aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag	3600
gtggctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag	3660
cactgccaga ttgccactg tgatgtgtc aacctacct gtgaagcctg ccaggagccg	3720
atatcgggta cctcagagtc tgetaccccc gagtcagggc caggatcaga gccagccacc	3780
tccgggtctg agacaccgg gacttccgag agtgccaccc ctgagtccgg acccgggtcc	3840
gagcccgcca cttccggctc cgaaactccc ggcacaagcg agagcgctac ccagagtca	3900
ggaccaggaa catctacaga gccctctgaa ggctccgctc cagggtcccc agccggcagt	3960
cccactagca ccgaggagg aacctctgaa agcgccacac ccgaatcagg gccagggtct	4020
gagcctgcta ccagcggcag cgagacacca ggcacctctg agtccgccac accagagtcc	4080
ggaccgggat ctcccgtgg gagccccacc tccactgagg agggatctcc tgctggctct	4140
ccaacatcta ctgaggaagg tacctcaacc gagccatccg agggatcagc tcccggcacc	4200



tcagagtcgg caaccccgga gtctggacce ggaacttccg aaagtgccac accagagtcc	4260
ggteccggga cttcagaatc agcaacacce gagtccggcc ctgggtetga acccgccaca	4320
agtggtagtg agacaccagg atcagaacct gctacctcag ggtcagagac acccggatct	4380
ccggcaggct caccaacctc cactgaggag ggcaccagca cagaaccaag cgagggtcc	4440
gcacccggaa caagcactga acccagtgag ggttcagcac ccggctctga gccggccaca	4500
agtggcagtg agacaccgg cacttcagag agtgccacce ccgagagtgg cccaggcact	4560
agtaccgagc cctctgaagg cagtgcgcca gattctggcg gtggaggttc cgggtggcggg	4620
ggatccggtg gcgggggatc cgggtggcggg ggatccggtg gcgggggatc cctgggtccc	4680
cggggcagcg gaggcgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagctcc agaactcctg	4740
ggcggaccgt cagtcttctt ctteccccc aacccaagg acaccctcat gatctccgg	4800
accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	4860
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	4920
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	4980
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	5040
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	5100
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc	5160
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	5220
cccgtgttg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	5280
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	5340
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga	5379

<210> 92

<211> 1778

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VWF034

<400> 92

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile  
1                   5                   10                   15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr  
                  20                   25                   30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly  
          35                   40                   45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly  
          50                   55                   60

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

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu  
                  85                   90                   95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro  
                  100                   105                   110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys  
          115                   120                   125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly  
          130                   135                   140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly  
 145 150 155 160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln  
 165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala  
 180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser  
 195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln  
 210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu  
 225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu  
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala  
 260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His  
 275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys  
 290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met  
 305 310 315 320



Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu  
 325 330 335

Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His  
 340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn  
 355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys  
 370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp  
 385 390 395 400

Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg  
 405 410 415

Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys  
 420 425 430

Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu  
 435 440 445

Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val  
 450 455 460

Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu  
 465 470 475 480

Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu  
 485 490 495

Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu  
 500 505 510

Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn  
 515 520 525

Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro  
 530 535 540

Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln  
 545 550 555 560

Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met  
 565 570 575

Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe  
 580 585 590

Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys  
 595 600 605

Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly  
 610 615 620

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val  
 625 630 635 640

Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln  
 645 650 655

Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu  
 660 665 670

Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe  
 675 680 685

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys  
 690 695 700

Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp  
 705 710 715 720

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met  
 725 730 735

His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val  
 740 745 750

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg  
 755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu  
 770 775 780

Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met  
 785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg  
 805 810 815

His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln  
 820 825 830

Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr  
 835 840 845



Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp  
 850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly  
 865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp  
 885 890 895

Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys  
 900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu  
 915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys  
 930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg  
 945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg  
 965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val  
 980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr  
 995 1000 1005

Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn  
 1010 1015 1020

Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro  
 1025 1030 1035

Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln  
 1040 1045 1050

Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe  
 1055 1060 1065

Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val  
 1070 1075 1080

Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala  
 1085 1090 1095

Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln  
 1100 1105 1110

His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln  
 1115 1120 1125

Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu  
 1130 1135 1140

Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln  
 1145 1150 1155

His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys  
 1160 1165 1170

His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln  
 1175 1180 1185

Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly  
 1190 1195 1200

Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp  
 1205 1210 1215

Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr  
 1220 1225 1230

Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro Ile Ser Gly Thr Ser Glu Ser Ala  
 1235 1240 1245

Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser  
 1250 1255 1260

Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 1265 1270 1275

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser  
 1280 1285 1290

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro  
 1295 1300 1305

Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser  
 1310 1315 1320

Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 1325 1330 1335

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser  
 1340 1345 1350



Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser  
 1355 1360 1365

Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser  
 1370 1375 1380

Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro  
 1385 1390 1395

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser  
 1400 1405 1410

Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala  
 1415 1420 1425

Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser  
 1430 1435 1440

Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro  
 1445 1450 1455

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser  
 1460 1465 1470

Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro  
 1475 1480 1485

Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser  
 1490 1495 1500

Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro  
 1505 1510 1515

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Asp Ile Gly  
 1520 1525 1530

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Val Pro Arg Gly  
 1535 1540 1545

Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 1550 1555 1560

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 1565 1570 1575

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 1580 1585 1590

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 1595 1600 1605

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 1610 1615 1620

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 1625 1630 1635

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 1640 1645 1650

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 1655 1660 1665

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 1670 1675 1680

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 1685 1690 1695

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 1700 1705 1710

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 1715 1720 1725

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 1730 1735 1740

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 1745 1750 1755

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 1760 1765 1770

Leu Ser Pro Gly Lys  
 1775



## 申請專利範圍

1. 一種嵌合分子，其包含第一多肽鏈和第二多肽鏈，該第一多肽鏈包含含有D'結構域及D3結構域之VWF蛋白、第一FcRn結合搭配物、異源部分(H1)及連接該VWF蛋白與該異源部分(H1)之VWF連接子，該第二多肽鏈包含FVIII蛋白、第二FcRn搭配物及第一XTEN序列，其中該第一多肽鏈中的該VWF連接子包含：

- i. 來自FVIII之a2區域；
- ii. 來自FVIII之a1區域；
- iii. 來自FVIII之a3區域；
- iv. 包含X-V-P-R (SEQ ID NO: 3)之凝血酶裂解位點及PAR1外位點相互作用基元，其中X為脂族胺基酸；或
- v. 其任何組合，

且其中該第一多肽與該第二多肽係以共價鍵彼此締合。

2. 如申請專利範圍第1項之嵌合分子，其進一步包含含有FVIII蛋白之第二多肽鏈，其中該第一多肽與該第二多肽係彼此締合。

3. 如申請專利範圍第1或2項之嵌合分子，其中該XTEN序列連接至FVIII蛋白之N端或C端或者插入彼此相鄰之兩個FVIII胺基酸之間。

4. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之嵌合分子，其中該異源部分(H1)包含第二XTEN序列，其連接至該VWF蛋白、該異源部分、該VWF連接子或其任何組合。

5. 如申請專利範圍第1至4項中任一項之嵌合分子，

其中該第一或第二XTEN序列係選自AE42、AE72、AE864、AE576、AE288、AE144、AG864、AG576、AG288或AG144。

6. 如申請專利範圍第1至5項中任一項之嵌合分子，其中該第一或第二XTEN序列係選自SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 42。

7. 如申請專利範圍第1至6項中任一項之嵌合分子，其中該VWF蛋白之該D'結構域包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸764至866具至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的胺基酸序列。

8. 如申請專利範圍第1至7項中任一項之嵌合分子，其中該VWF蛋白之該D3結構域包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸867至1240具至少約90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的胺基酸序列。

9. 如申請專利範圍第1至8項中任一項之嵌合分子，其中該VWF蛋白在對應於SEQ ID NO: 2之殘基1099、殘基1142、或殘基1099與1142之殘基處含有至少一個胺基酸取代。

10. 如申請專利範圍第1至9項中任一項之嵌合分子，其中在該VWF蛋白之序列中，以除半胱胺酸之外的胺基酸取代對應於SEQ ID NO: 2之殘基1099、殘基1142、或殘基1099與1142二者之殘基。

11. 如申請專利範圍第1至10項中任一項之嵌合分子，其中該VWF蛋白進一步包含VWF之D1結構域、D2結構域、或D1及D2結構域。

12. 如申請專利範圍第1至11項中任一項之嵌合分子，其係經聚乙二醇化、糖基化、羥乙基澱粉化(hesylated)或聚唾液酸化。

13. 如申請專利範圍第1至12項中任一項之嵌合分子，其中該FcRn搭配物包含Fc區。

14. 一種聚核苷酸或一組聚核苷酸，其編碼如申請專利範圍第1至13項中任一項之嵌合分子或其互補序列。

15. 如申請專利範圍第14項之聚核苷酸或一組聚核苷酸，其進一步包含編碼PC5或PC7或PACE/FURIN之聚核苷酸鏈。

16. 一種載體或一組載體，其包含如申請專利範圍第14或15項之聚核苷酸或一組聚核苷酸及一或多個可操作地連接至該聚核苷酸或該組聚核苷酸之啟動子。

17. 一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第14或15項之聚核苷酸或一組聚核苷酸或如申請專利範圍第16項之載體或一組載體。

18. 如申請專利範圍第17項之宿主細胞，其係哺乳動物細胞。

19. 如申請專利範圍第18項之宿主細胞，其中該哺乳動物細胞係選自HEK293細胞、CHO細胞或BHK細胞。

20. 一種醫藥組合物，其包含如申請專利範圍第1至



13項中任一項之嵌合分子，及醫藥學上可接受之載劑。

21. 一種如申請專利範圍第1至13項中任一項之嵌合蛋白於製造藥物之用途，該藥物用於降低有需要之個體的出血事件之頻率或程度，其包括施用有效量之如申請專利範圍第1至13項中任一項之嵌合分子、如申請專利範圍第14或15項之聚核苷酸、如申請專利範圍第16項之載體、如申請專利範圍第17至19項中任一項之宿主細胞、或如申請專利範圍第20項之組合物。

22. 如申請專利範圍第21項之用途，其中該出血事件係來自出血凝血障礙、關節積血、肌肉出血、口腔出血、溢血、溢血進入肌肉、口腔溢血、創傷、創傷性頭癱、胃腸道出血、顱內溢血、腹內溢血、胸內溢血、骨折、中樞神經系統出血、咽後間隙出血、腹膜後間隙出血、髂腰肌鞘中出血，或其任何組合。

23. 如申請專利範圍第21或22項之用途，其中該藥物係藉由選自局部施用、眼內施用、非經腸施用、鞘內施用、硬膜下施用、經口施用或其任何組合之途徑施用。

24. 一種製備嵌合分子之方法，其包括使用如申請專利範圍第14或15項之聚核苷酸或一組聚核苷酸或如申請專利範圍第16項之載體或一組載體轉染一或多個宿主細胞且在該宿主細胞中表現該嵌合分子。



圖式

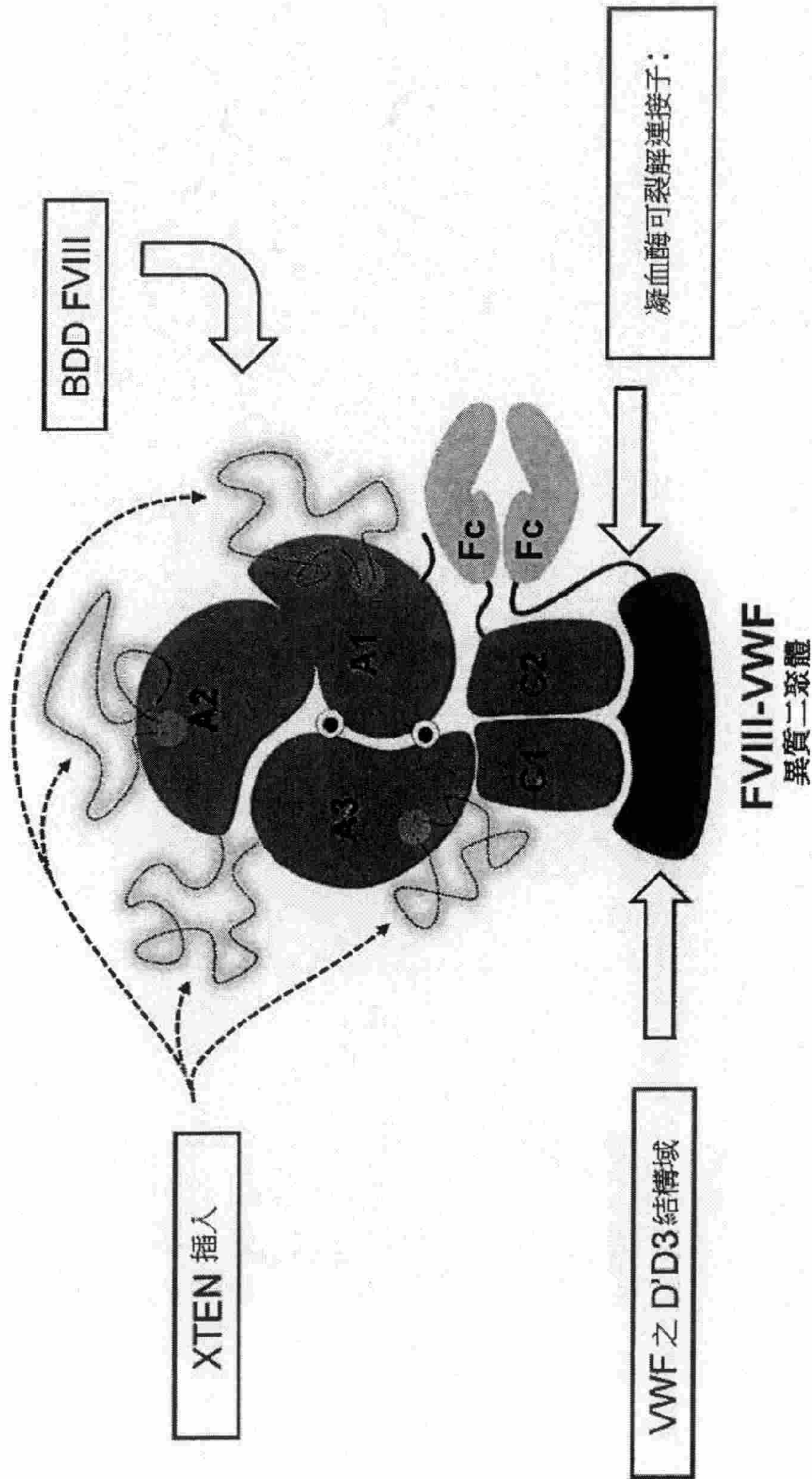


圖 1



構築體	VWF-D'D3 與 Fc 之間之連接子的類型及長度
VWF-031	48aa (LVPR )
VWF-034	288 XTEN+ 35aa (LVPR 位點)
VWF-035	73aa (LVPR 位點)
VWF-036	98aa (LVPR 位點)
VWF-039	26aa (LVPR+PAR1位點)
VWF-051	54aa (ALRPRVV 位點)
VWF-052	48aa (無凝血酶位點)
VWF-054	40aa (來自FVIII之小 a1)
VWF-055	34aa (來自FVIII之小 a2)
VWF-056	46aa (來自FVIII之小 a3)

圖 2



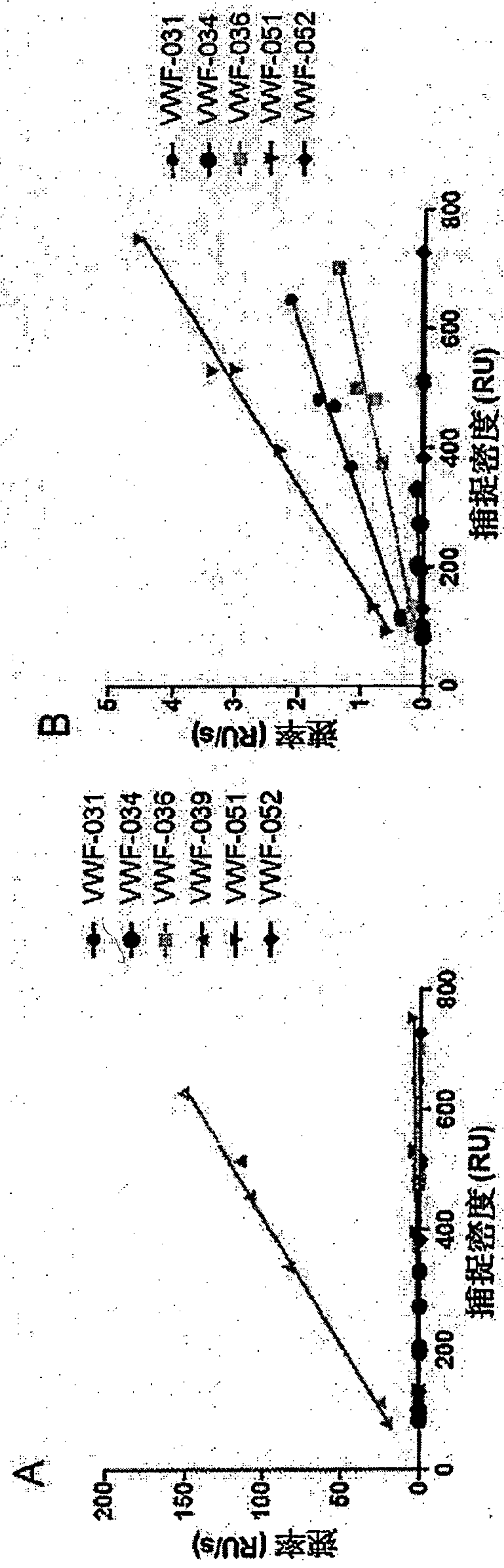


圖 3

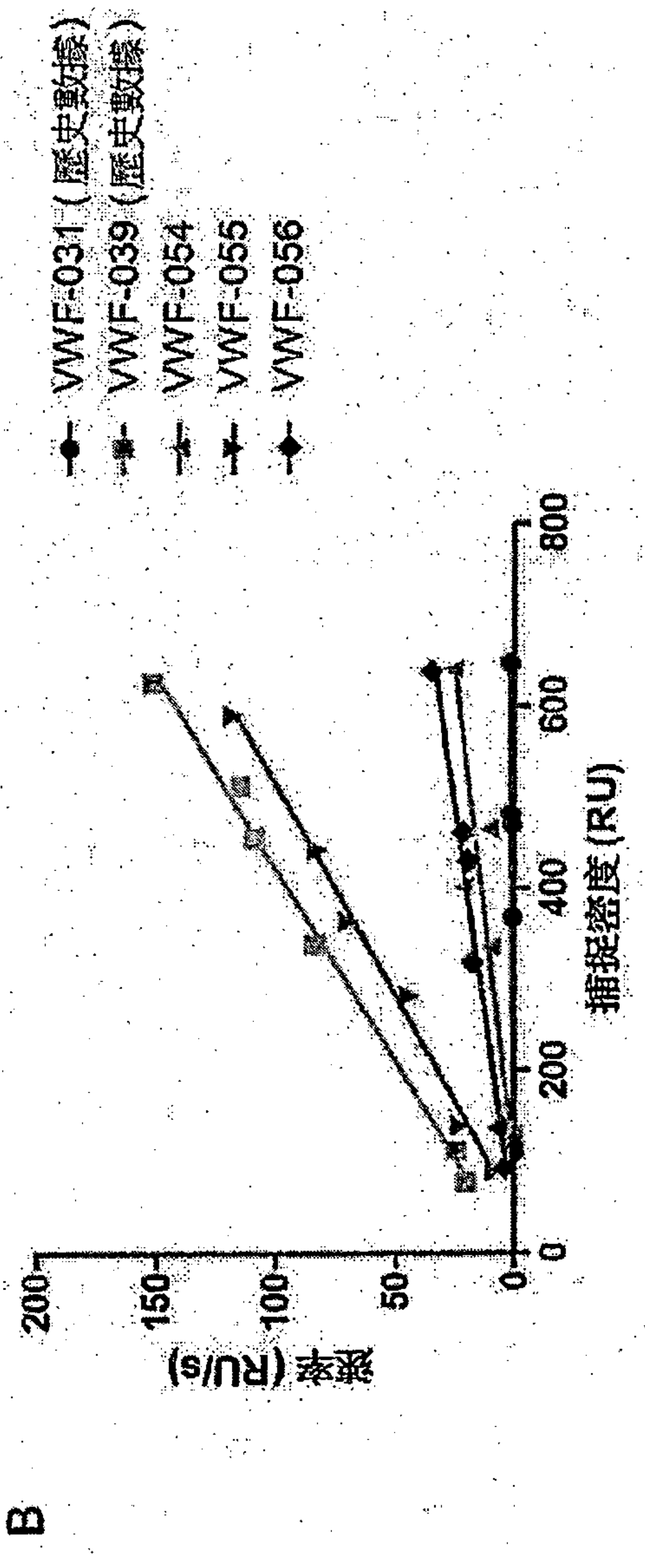
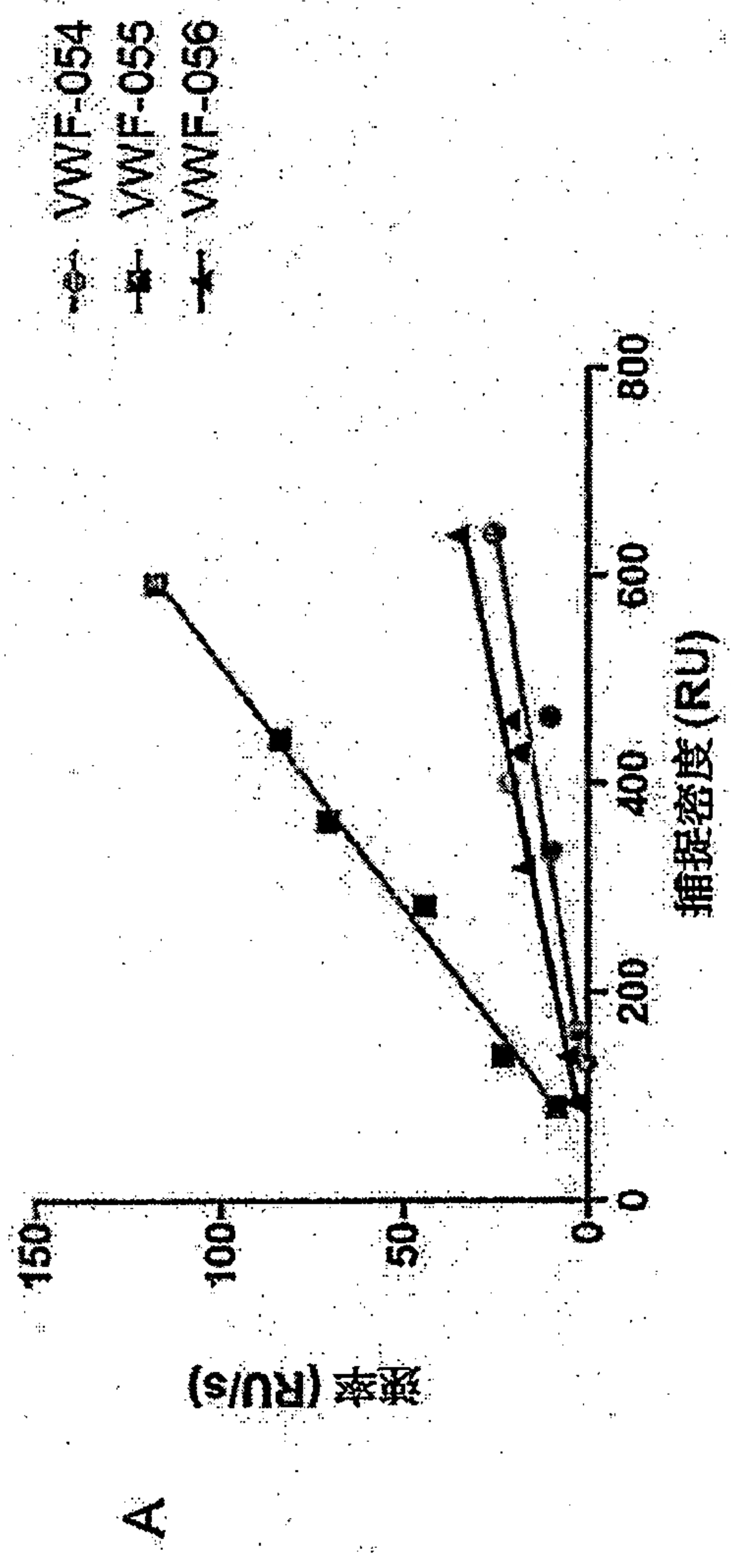


圖 4



構架體	斜率 (1/s)
VWF-031	$3.32 \times 10^{-3} \pm 0.16 \times 10^{-3}$
VWF-034	$0.31 \times 10^{-3} \pm 0.085 \times 10^{-3}$
VWF-036	$2.06 \times 10^{-3} \pm 0.18 \times 10^{-3}$
VWF-039	$235.4 \times 10^{-3} \pm 9.1 \times 10^{-3}$
VWF-051	$6.00 \times 10^{-3} \pm 0.27 \times 10^{-3}$
VWF-052	$0.02 \times 10^{-3} \pm 0.006 \times 10^{-3}$
VWF-054	$46.35 \times 10^{-3} \pm 11.53 \times 10^{-3}$
VWF-055	$213.5 \times 10^{-3} \pm 8.5 \times 10^{-3}$
VWF-056	$55.6 \times 10^{-3} \pm 4.5 \times 10^{-3}$

斜率 VWF-039/斜率 VWF-031 = 71  
 斜率 VWF-055/斜率 VWF-031 = 65  
 斜率 VWF-051/斜率 VWF-031 = 1.8

圖 5



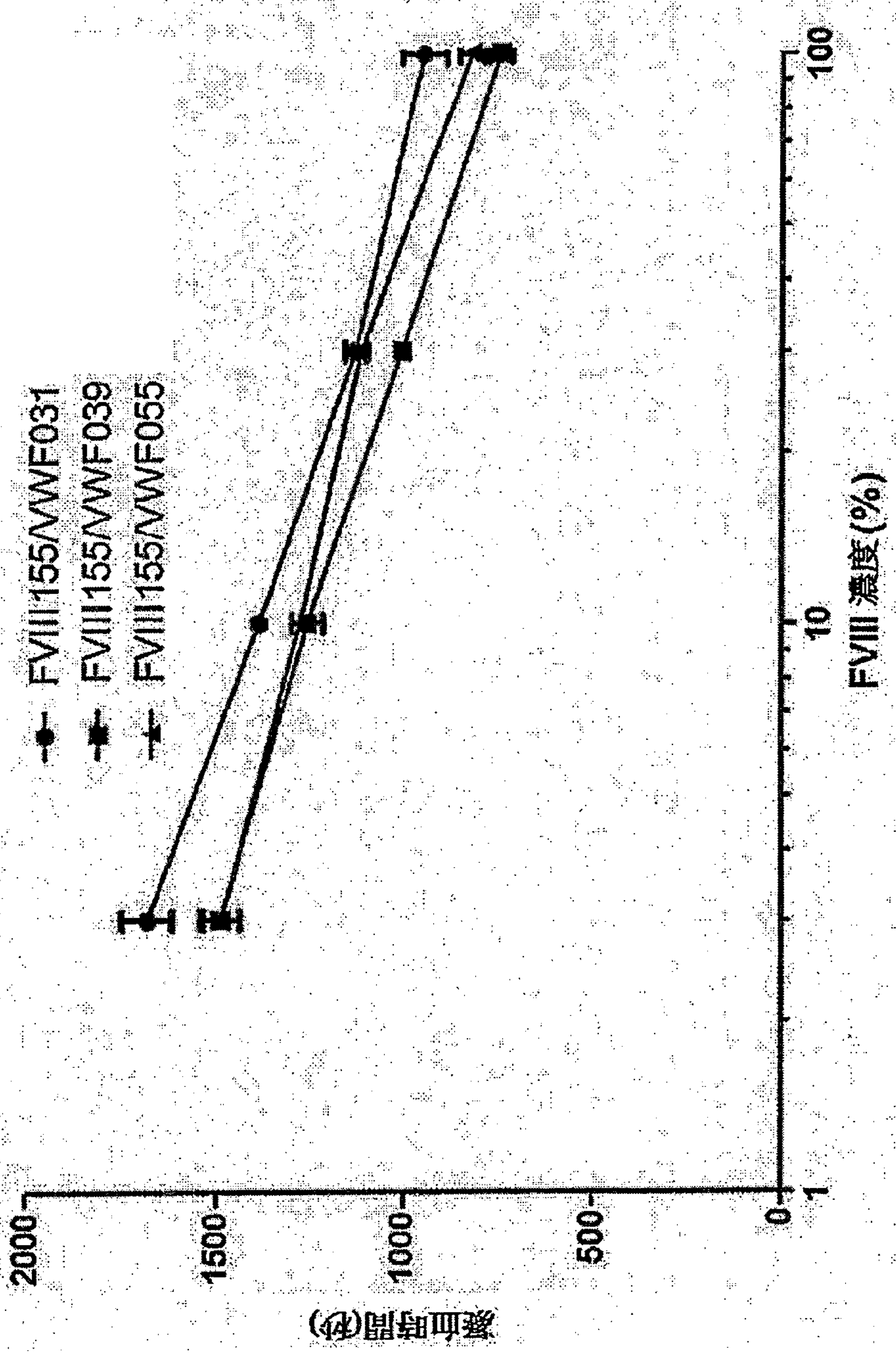


圖 6



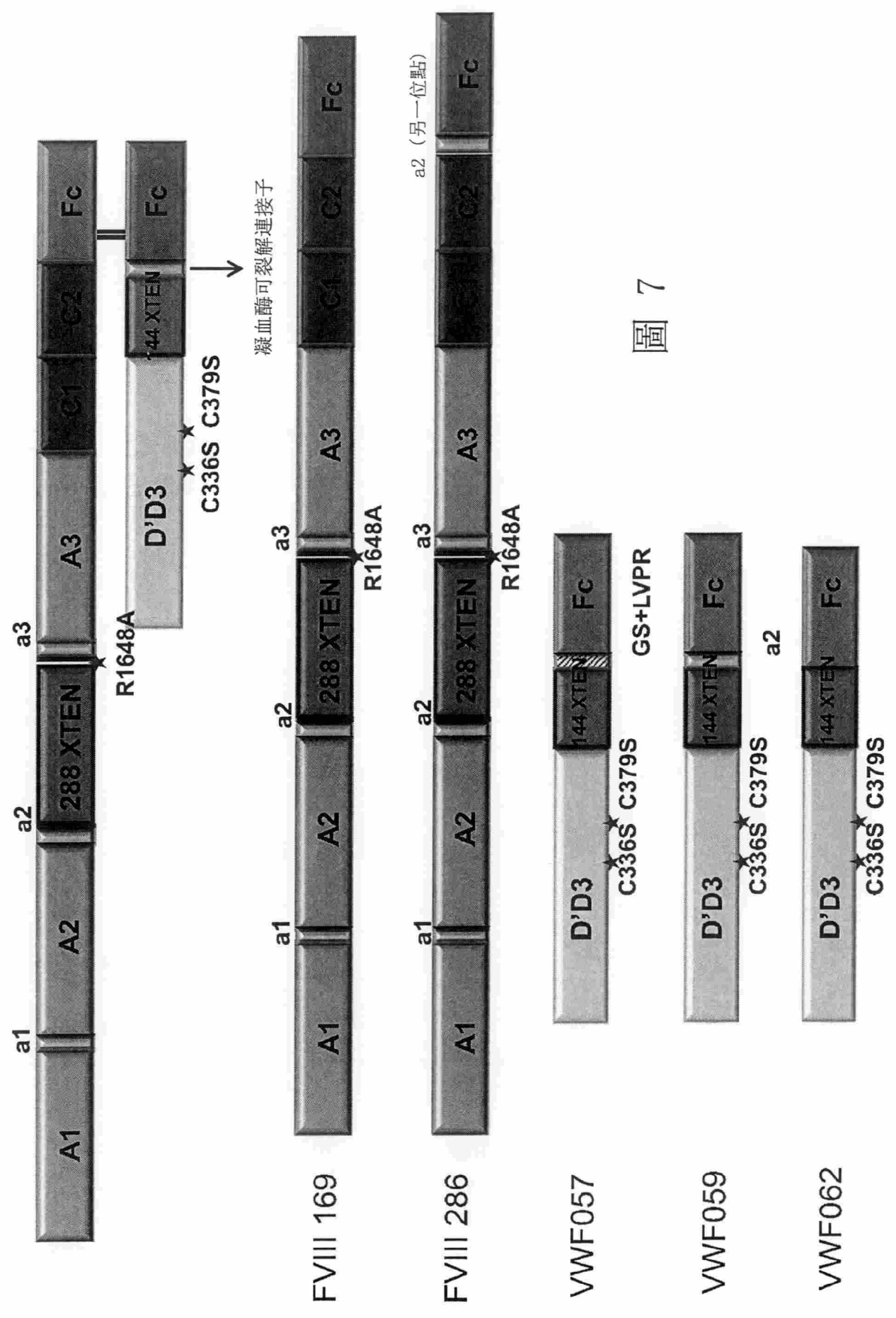
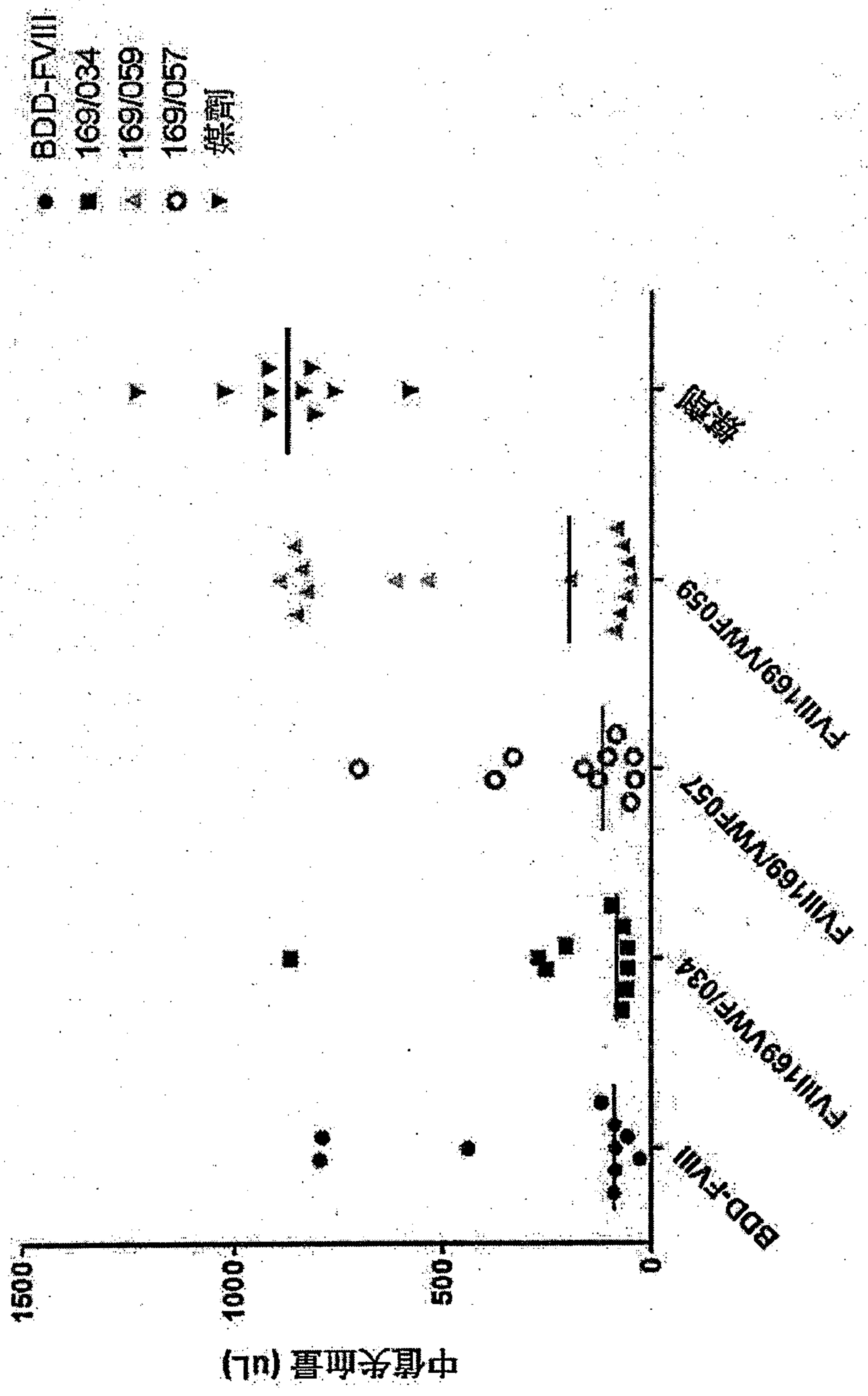


圖 7





8 圖