



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0917418-4 A2



(22) Data do Depósito: 04/08/2009

(43) Data da Publicação Nacional: 05/01/2021

(54) **Título:** ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA O INIBIDOR DA VIA DO FATOR TECIDUAL (TFPI)

(51) **Int. Cl.:** C07K 16/36; C12P 21/08.

(30) **Prioridade Unionista:** 04/08/2008 US 61/085,980.

(71) **Depositante(es):** BAYER HEALTHCARE LLC.

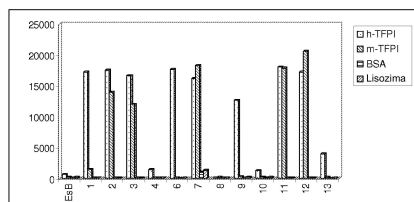
(72) **Inventor(es):** ZHUOZHI WANG; JOHN E. MURPHY; JUNLIANG PAN; HAIYAN JIANG; BING LIU.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2009052702 de 04/08/2009

(87) **Publicação PCT:** WO 2010/017196 de 11/02/2010

(85) **Data da Fase Nacional:** 04/02/2011

(57) **Resumo:** ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA O INIBIDOR DA VIA DO FATOR TECIDUAL (TFPI) A presente invenção refere-se aos anticorpos monoclonais isolados que se ligam ao inibidor da via do fator tecidual humano (TFPI) e às moléculas de ácido nucleico isoladas que os codificam. Composições farmacêuticas que compreendem os anticorpos monoclonais anti-TFPI e métodos para tratar deficiências ou defeitos na coagulação através da administração dos anticorpos também são fornecidos. Também são fornecidos métodos para a produção dos anticorpos.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA O INIBIDOR DA VIA DO FATOR TECIDUAL (TFPI)**".

Submissão da listagem de sequências

5 A listagem de sequências associada a este pedido é depositada em formato eletrônico através do EFS-Web e está aqui incorporada ao relatório descritivo por referência em sua totalidade. O nome do arquivo de texto que contém a listagem de sequências é MSB7329PCT_Sequence_Listing_ST25.

Campo das modalidades

10 São fornecidos anticorpos monoclonais isolados e fragmentos dos mesmos, que se ligam ao inibidor da via do fator tecidual humano (TFPI) e invenções relacionadas.

Antecedentes

15 A coagulação do sangue é um processo pelo qual o sangue forma coágulos estáveis para interromper o sangramento. O processo envolve inúmeras pró-enzimas e pró-cofatores (ou "fatores da coagulação") que estão circulando no sangue. Estas pró-enzimas e pró-cofatores interagem através de várias vias através das quais eles são convertidos, sequencialmente ou simultaneamente, na forma ativada. No fim, o processo resulta na ativação da protrombina em trombina pelo fator X (FXa) ativado na presença de
20 fator Va, cálcio iônico, e plaquetas. A trombina ativada, por sua vez, induz a agregação plaquetária e converte o fibrinogênio em fibrina, que é então ligada de forma cruzada pelo fator XIII ativado (FXIIIa) para formar um coágulo.

O processo que leva à ativação de fator X pode ser executado
25 por duas vias distintas: a via de ativação por contato (anteriormente conhecida como a via intrínseca) e a via do fator tecidual (anteriormente conhecida como a via extrínseca). Anteriormente, acreditava-se que a cascata da coagulação consistia em duas vias de igual importância unidas em uma via comum. Agora se sabe que a via primária para o início da coagulação sanguínea é a via do fator tecidual.
30

O fator X pode ser ativado pelo fator tecidual (TF) em combinação com o fator VII ativado (FVIIa). O complexo do fator VIIa e seu cofator

essencial, TF, é um potente iniciador da cascata da coagulação.

A via do fator tecidual da coagulação é controlada negativamente pelo inibidor da via do fator tecidual ("TFPI"). O TFPI é um inibidor natural da retroalimentação dependente de FXa do complexo FVIIa/TF. Ele é um membro dos inibidores de serina protease multivalentes do tipo Kunitz. Fisiologicamente, o TFPI se liga ao fator X ativado (FXa) para formar um complexo heterodimérico, que interage subsequentemente com o complexo FVIIa/TF para inibir sua atividade encerrando, assim, a via do fator tecidual da coagulação. Em princípio, o bloqueio da atividade de TFPI pode restaurar a atividade de FXa e FVIIa/TF, prolongando, desta forma, a duração da ação da via do fator tecidual e amplificando a geração de FXa, que é o defeito comum na hemofilia A e B.

De fato, algumas evidências experimentais preliminares indicaram que o bloqueio da atividade de TFPI por anticorpos contra TFPI normaliza o tempo de coagulação prolongado ou encurta o tempo de sangramento. Por exemplo, Nordfang *et al.* mostraram que o tempo de protrombina diluída prolongado do plasma na hemofilia foi normalizado após tratamento do plasma com anticorpos contra TFPI (Thromb. Haemost., 1991, 66(4): 464-467). De modo similar, Erhardtsen *et al.* mostraram que o tempo de sangramento em modelo de coelho de hemofilia A foi significativamente encurtado por anticorpos anti-TFPI (Blood Coagulation and Fibrinolysis, 1995, 6: 388-394). Estes estudos sugerem que a inibição de TFPI por anticorpos anti-TFPI pode ser útil para o tratamento de hemofilia A ou B. Apenas o anticorpo policlonal anti-TFPI foi usado nestes estudos.

Com o uso de técnicas de hibridoma, foram preparados e identificados anticorpos monoclonais contra TFPI humano recombinante (rhTFPI). Vide Yang *et al.*, Chin. Med. J., 1998, 111(8): 718-721. O efeito do anticorpo monoclonal sobre o tempo de protrombina diluída (PT) e sobre o tempo de tromboplastina parcial ativada (APTT) foi testado. Os experimentos mostraram que o anticorpo monoclonal anti-TFPI encurtou o tempo de coagulação da tromboplastina diluída de plasma deficiente em fator IX. Sugere-se que a via do fator tecidual desempenha uma importante função não apenas na co-

agulação fisiológica, mas também na hemorragia da hemofilia (Yang *et al.*, Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao, 1997, 22(4): 297-300).

A patente US Nº 7.015.194 para Kjalke *et al.* apresenta composições que compreendem FVIIa e um inibidor de TFPI, incluindo anticorpos policlonais ou monoclonais, ou um fragmento dos mesmos, para o tratamento ou profilaxia de episódios de sangramento ou tratamento de coagulação. O uso desta composição para reduzir o tempo de coagulação em plasma normal de mamífero também é apresentado. Sugere-se, adicionalmente, que um fator VIII ou uma variante do mesmo pode ser incluído na composição apresentada de FVIIa e inibidor de TFPI. Uma combinação de FVIII ou fator IX com anticorpo monoclonal para TFPI não é sugerida.

Além do tratamento para hemofilia, também foi sugerido que os inibidores de TFPI, incluindo anticorpos policlonais ou monoclonais, podem ser usados para tratamento para câncer (vide Patente US nº 5.902.582 para Hung).

Consequentemente, anticorpos específicos para TFPI são necessários para o tratamento de doenças hematológicas e câncer.

Em geral, foram gerados anticorpos terapêuticos para doenças em seres humanos com o uso de engenharia genética para criar anticorpos murinos, quiméricos, humanizados ou completamente humanos. Os anticorpos monoclonais murinos mostraram ter uso limitado como agentes terapêuticos por causa de uma meia-vida sérica curta, incapacidade de desencadear funções efetoras humanas e a produção de anticorpos humanos anti-camundongo. Brekke e Sandlie, "Therapeutic Antibodies for Human Diseases at the Dawn of the Twenty-first Century," *Nature* 2, 53, 52-62 (Jan. 2003). Foi mostrado que anticorpos quiméricos causam respostas humanas anti-anticorpo quimérico. Os anticorpos humanizados também minimizam o componente de camundongo dos anticorpos. Entretanto, um anticorpo completamente humano evita completamente a imunogenicidade associada com os elementos murinos. Desta forma, existe uma necessidade em desenvolver anticorpos completamente humanos para evitar a imunogenicidade associada com outras formas de anticorpos monoclonais geneticamente manipula-

dos. Em particular, o tratamento profilático crônico como seria necessário para o tratamento de hemofilia com um anticorpo monoclonal anti-TFPI tem um alto risco de desenvolvimento de uma resposta imune à terapia se um anticorpo com um componente murino ou origem murina for usado devido à
5 frequente dosagem necessária e à longa duração da terapia. Por exemplo, a terapia com anticorpos para hemofilia A pode exigir dosagens semanais durante todo o tempo de vida de um paciente. Isto seria um desafio contínuo para o sistema imune. Desta forma, existe uma necessidade por um anticorpo completamente humano para terapia com anticorpo para hemofilia e deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação relacionados.
10

Anticorpos terapêuticos foram produzidos através da tecnologia de hibridoma descrita por Koehler e Milstein em "Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity," *Nature* 256, 495-497 (1975). Anticorpos completamente humanos podem, também, ser produzi-
15 dos de forma recombinante em procariotos e eucariotos. A produção recombinante de um anticorpo em uma célula hospedeira, ao invés da produção de hibridoma é preferencial para um anticorpo terapêutico. A produção recombinante tem as vantagens de maior consistência do produto, provavelmente, um maior nível de produção, e fabricação controlada que reduz ou elimina a
20 presença de proteínas derivadas de animais. Por estas razões, é desejável ter um anticorpo monoclonal anti-TFPI produzido de forma recombinante.

SUMÁRIO

São fornecidos anticorpos monoclonais para o inibidor da via do fator tecidual humano (TFPI). Também são fornecidas as moléculas de ácido
25 nucleico isoladas que codificam os mesmos. Composições farmacêuticas que compreendem os anticorpos monoclonais anti-TFPI e métodos de tratamento de deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, como hemofilia A e B também são fornecidos. Também são fornecidos métodos para encurtar o tempo de sangramento pela administração de um anti-
30 corpo monoclonal anti-TFPI a um paciente que precisa do mesmo. Também são fornecidos métodos para produzir um anticorpo monoclonal que se liga ao TFPI humano, de acordo com a presente invenção.

Breve Descrição dos Desenhos

Figura 1: A atividade de ligação de exemplos representativos de Fabs, selecionados a partir de *panning* e seleção, TFPI humano ("h-TFPI") e TFPI de camundongo ("m-TFPI"). Um Fab de controle contra Estradiol-BSA ("EsB") e 12 Fabs (1 a 4 e 6 a 13) selecionados a partir de *panning* de TFPI foram testados. O eixo Y denota as unidades de fluorescência dos resultados de ELISA.

Figura 2: A atividade funcional *in vitro* dose-dependente de quatro anticorpos anti-TFPI representativos (4B7: TP-4B7, 2A8: TP-2A8, 2G6: TP-2G6, 2G7: TP-2G7) obtidos a partir de *panning* e seleção de uma biblioteca de anticorpo humano, conforme mostrado por seu encurtamento do dPT. O experimento envolveu 0,5 ug/mL de mTFPI reforçado em plasma esgotado em TFPI.

Figura 3: A atividade funcional *in vitro* de Fab anti-TFPI, Fab-2A8 (de TP-2A8), como testado no teste ROTEM.

Figura 4: A atividade de ligação dos clones TP-2G6 ("2G6") a TFPI humano e TFPI de camundongo após a conversão em IgG. Δ : ligação de IgG-2G6 a TFPI de camundongo; \square : ligação de IgG-2G6 a TFPI humano; \blacktriangle : ligação da IgG de controle a TFPI de camundongo; \blacksquare : ligação da IgG de controle a IgG humana.

Figura 5: Os anticorpos anti-TFPI TP-2A8 ("2A8"), TP-3G1 ("3G1"), e TP-3C2 ("3C2") encurtaram o tempo de coagulação do sangue total em camundongos com hemofilia A, como testado no teste ROTEM. Cada ponto representa um camundongo com hemofilia A individual.

Figura 6: Alinhamento da sequência de aminoácido entre as cadeias leves variáveis dos anticorpos monoclonais anti-TFPI TP-2A10 (SEQ ID NO: 18), TP-2B1 (SEQ ID NO: 22), TP-2A2 (SEQ ID NO: 2), TP-2G2 (SEQ ID NO: 66), TP-2A5.1 (SEQ ID NO: 6), TP-3A3 (SEQ ID NO: 98), TP-2A8 (SEQ ID NO: 14), TP-2B8 (SEQ ID NO: 34), TP-2G7 (SEQ ID NO: 82), TP-4H8 (SEQ ID NO: 170), TP-2G4 (SEQ ID NO: 70), TP-3F2 (SEQ ID NO: 134), TP-2A6 (SEQ ID NO: 10), TP-3A2 (SEQ ID NO: 94), TP-2C1 (SEQ ID NO: 42), TP-3E1 (SEQ ID NO: 126), TP-3F1 (SEQ ID NO: 130), TP-3D3

(SEQ ID NO: 122), TP-4A7 (SEQ ID NO: 150), TP-4G8 (SEQ ID NO: 166), TP-2B3 (SEQ ID NO: 26), TP-2F9 (SEQ ID NO: 62), TP-2G5 (SEQ ID NO: 74), TP-2G6 (SEQ ID NO: 78), TP-2H10 (SEQ ID NO: 90), TP-2B9 (SEQ ID NO: 38), TP-2C7 (SEQ ID NO: 46), TP-3G3 (SEQ ID NO: 142), TP-3C2 (SEQ ID NO: 114), TP-3B4 (SEQ ID NO: 110), TP-2E5 (SEQ ID NO: 58), TP-3C3 (SEQ ID NO: 118), TP-3G1 (SEQ ID NO: 138), TP-2D7 (SEQ ID NO: 50), TP-4B7 (SEQ ID NO: 158), TP-2E3 (SEQ ID NO: 54), TP-2G9 (SEQ ID NO: 86), TP-3C1 (SEQ ID NO: 86), TP-3A4 (SEQ ID NO: 102), TP-2B4 (SEQ ID NO: 30), TP-3H2 (SEQ ID NO: 146), TP-4A9 (SEQ ID NO: 154), TP-4E8 (SEQ ID NO: 162), e TP-3B3 (SEQ ID NO: 106).

Figura 7: Alinhamento da sequência de aminoácido entre as cadeias pesadas variáveis dos anticorpos monoclonais anti-TFPI TP-2A10 (SEQ ID NO: 20), TP-3B3 (SEQ ID NO: 108), TP-2G4 (SEQ ID NO: 72), TP-2A5.1 (SEQ ID NO: 8), TP-4A9 (SEQ ID NO: 156), TP-2A8 (SEQ ID NO: 16), TP-2B3 (SEQ ID NO: 28), TP-2B9 (SEQ ID NO: 40), TP-2H10 (SEQ ID NO: 92), TP-3B4 (SEQ ID NO: 112), TP-2C7 (SEQ ID NO: 48), TP-2E3 (SEQ ID NO: 56), TP-3C3 (SEQ ID NO: 120), TP-2G5 (SEQ ID NO: 76), TP-4B7 (SEQ ID NO: 160), TP-2G6 (SEQ ID NO: 80), TP-3C2 (SEQ ID NO: 116), TP-2D7 (SEQ ID NO: 52), TP-3G1 (SEQ ID NO: 140), TP-2E5 (SEQ ID NO: 60), TP-2B8 (SEQ ID NO: 36), TP-3F1 (SEQ ID NO: 132), TP-3A3 (SEQ ID NO: 100), TP-4E8 (SEQ ID NO: 164), TP-4A7 (SEQ ID NO: 152), TP-4H8 (SEQ ID NO: 172), TP-2A6 (SEQ ID NO: 12), TP-2C1 (SEQ ID NO: 44), TP-3G3 (SEQ ID NO: 144), TP-2B1 (SEQ ID NO: 24), TP-2G7 (SEQ ID NO: 84), TP-3H2 (SEQ ID NO: 148), TP-2A2 (SEQ ID NO: 4), TP-3E1 (SEQ ID NO: 128), TP-2G2 (SEQ ID NO: 68), TP-3D3 (SEQ ID NO: 124), TP-2G9 (SEQ ID NO: 88), TP-2B4 (SEQ ID NO: 32), TP-3A2 (SEQ ID NO: 96), TP-2F9 (SEQ ID NO: 64), TP-3A4 (SEQ ID NO: 104), TP-3C1 (SEQ ID NO: 136), TP-3F2 (SEQ ID NO: 136), e TP-4G8 (SEQ ID NO: 168).

Figura 8: Gráfico mostrando a taxa de sobrevivência ao longo de 24 horas após transecção da veia da cauda para camundongos tratados com (1) anticorpo anti-TFPI TP-2A8 ("2A8"), (2) 2A8 e fator VIII recombinante, (3) IgG de camundongo, e (4) fator VIII recombinante.

Figura 9: Gráficos mostrando os testes de tempo de coagulação e de tempo para formação de coágulo para camundongos tratados com o anticorpo anti-TFPI TP-2A8 ("2A8"), fator VIIa, e a combinação de 2A8 e fator VIIa.

5 Figura 10: Gráfico mostrando o tempo de coagulação para sangue humano normal tratado com um inibidor de FVIII com o anticorpo anti-TFPI TP-2A8 ("2A8") e o anticorpo anti-TFPI TP-4B7 ("4B7") em comparação ao inibidor de FVIII sozinho.

DESCRIBÇÃO DETALHADA

10 *Definições*

O termo "inibidor da via do fator tecidual" ou "TFPI" para uso na presente invenção refere-se a qualquer variante, isoforma e espécie homóloga do TFPI humano que é naturalmente expressa pelas células. Em uma modalidade preferencial da invenção, a ligação de um anticorpo da invenção
15 ao TFPI reduz o tempo de coagulação do sangue.

Para uso na presente invenção, um "anticorpo" refere-se a um anticorpo inteiro e a qualquer fragmento de ligação ao antígeno (isto é, "porção de ligação ao antígeno") ou cadeia única do mesmo. O termo inclui uma molécula de imunoglobulina de extensão completa (por exemplo, um anticorpo de IgG) de ocorrência natural ou formada por processos normais de recombinação de fragmentos do gene da imunoglobulina, ou uma porção imunologicamente ativa de uma molécula de imunoglobulina, como um
20 fragmento de anticorpo, que retém a atividade de ligação específica. Independentemente da estrutura, um fragmento de anticorpo se liga ao mesmo antígeno reconhecido pelo anticorpo de extensão completa. Por exemplo,
25 um fragmento de anticorpo monoclonal anti-TFPI se liga a um epítipo de TFPI. A função de ligação ao antígeno de um anticorpo pode ser executada por fragmentos de um anticorpo de extensão completa. Exemplos de fragmentos de ligação abrangidos pelo termo "porção de ligação ao antígeno" de
30 um anticorpo incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios V_L, V_H, C_L e C_{H1}; (ii) um fragmento F(ab')₂, um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab ligados por uma liga-

ção de dissulfeto em uma região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que tem os domínios V_H e C_{H1} ; (iv) um fragmento Fv que tem os domínios V_L e V_H de um braço único de um anticorpo, (v) um fragmento dAb (Ward *et al.*, (1989) Nature 341:544-546), que consiste em um domínio V_H ; e (vi) uma região de
5 terminante de complementaridade isolada (CDR). Além disso, embora os dois domínios do fragmento Fv, V_L e V_H , sejam codificados por genes separados, eles podem ser unidos com o uso de métodos recombinantes, por um ligante sintético que permite que eles sejam produzidos como uma cadeia de proteína única na qual as regiões V_L e V_H pareiam para formar moléculas
10 monovalentes (conhecidas como Fv de cadeia única (scFv); vide, por exemplo, Bird *et al.* (1988) Science 242:423-426; e Huston *et al.* (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Estes anticorpos de cadeia única também estão abrangidos pelo termo "porção de ligação ao antígeno" de um anticorpo. Estes fragmentos de anticorpo são obtidos com o uso de técnicas con-
15 vencionais conhecidas dos versados na técnica, e os fragmentos são selecionados quanto a sua utilidade da mesma forma que os anticorpos intactos.

Para uso na presente invenção, os termos "inibe a ligação" e "bloqueia ligação" (por exemplo, com relação à inibição/bloqueio da ligação de ligante de TFPI a TFPI) são usados de maneira intercambiável e abrangem inibição e bloqueio parcial e completo. Inibição e bloqueio também são destinados a incluir qualquer diminuição mensurável na afinidade de ligação de TFPI a um substrato fisiológico quando em contato com um anticorpo anti-TFPI, em comparação ao TFPI não estando em contato com um anticorpo anti-TFPI, por exemplo, o bloqueio da interação de TFPI com o fator Xa ou o
20 bloqueio da interação de um complexo de TFPI-fator Xa com o fator tecidual, fator VIIa ou o complexo de um fator tecidual/fator VIIa em pelo menos cerca de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100%.

Os termos "anticorpo monoclonal" ou "composição de anticorpo monoclonal", para uso na presente invenção, referem-se a uma preparação de moléculas de anticorpo de composição molecular única. Uma composição de anticorpo monoclonal apresenta uma especificidade de ligação única e
30

afinidade por um epítopo particular. Conseqüentemente, o termo "anticorpo monoclonal humano" refere-se a anticorpos que apresentam uma única especificidade de ligação e que têm regiões variáveis e constantes derivadas de sequências de imunoglobulina de linhagem germinativa humana. Os anticorpos humanos da invenção podem incluir resíduos de aminoácido não codificados por sequências de imunoglobulina de linhagem germinativa humana (por exemplo, mutações introduzidas por mutagênese aleatória ou sítio-específica *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*).

Um "anticorpo isolado," para uso na presente invenção, se destina a fazer referência a um anticorpo que é substancialmente isento de outros anticorpos que têm especificidades antigênicas diferentes (por exemplo, um anticorpo isolado que se liga ao TFPI é substancialmente isento de anticorpos que se ligam a antígenos além de TFPI). Um anticorpo isolado que se liga a um epítopo, isoforma ou variante de TFPI humano pode, no entanto, ter reatividade cruzada a outros antígenos relacionados, por exemplo, de outras espécies (por exemplo, homólogos de espécies de TFPI). Além disso, um anticorpo isolado pode ser substancialmente isento de outro material celular e/ou produto químico.

Para uso na presente invenção, "ligação específica" refere-se à ligação do anticorpo a um antígeno predeterminado. Tipicamente, o anticorpo se liga com uma afinidade de pelo menos cerca de 10^5 M^{-1} e se liga ao antígeno predeterminado com uma afinidade mais elevada, por exemplo, pelo menos duas vezes maior que sua afinidade pela ligação a um antígeno irrelevante (por exemplo, BSA, caseína) que não o antígeno predeterminado ou um antígeno intimamente relacionado. As expressões "um anticorpo que reconhece um antígeno" e "um anticorpo específico para um antígeno" são usadas de maneira intercambiável na presente invenção com o termo "um anticorpo que se liga especificamente a um antígeno".

Para uso na presente invenção, o termo "alta afinidade" para uma anticorpo de IgG refere-se a uma afinidade de ligação de pelo menos cerca de 10^7 M^{-1} , em algumas modalidades, pelo menos cerca de 10^8 M^{-1} , em algumas modalidades, pelo menos cerca de 10^9 M^{-1} , 10^{10} M^{-1} , 10^{11} M^{-1} ou mais,

por exemplo, até $10^{13}M^{-1}$ ou mais. Entretanto, a ligação de "alta afinidade" pode variar para outros isotipos de anticorpo. Por exemplo, ligação de "alta afinidade" para um isotipo de IgM refere-se a uma afinidade de ligação de pelo menos cerca de $1,0 \times 10^7M^{-1}$. Para uso na presente invenção, "isotipo" refere-se à classe do anticorpo (por exemplo, IgM ou IgG1) que é codificada pelos genes da região constante da cadeia pesada.

"Região determinante de complementaridade" ou "CDR" refere-se a uma das três regiões hipervariáveis dentro da região variável da cadeia pesada ou da região variável da cadeia leve de uma molécula de anticorpo, que forma a superfície de ligação ao antígeno N-terminal complementar à estrutura tridimensional do antígeno ligado. Iniciando na terminação N de uma cadeia pesada ou leve, estas regiões determinantes de complementaridade são chamadas "CDR1," "CDR2," e "CDR3," respectivamente. As CDRs estão envolvidas na ligação antígeno-anticorpo, e a CDR3 compreende uma região única específica para a ligação antígeno-anticorpo. Um sítio de ligação ao antígeno, portanto, pode incluir seis CDRs, compreendendo as regiões de CDR de cada uma das regiões V da cadeia pesada e da cadeia leve.

Para uso na presente invenção, o termo "substituições conservativas" refere-se a modificações de um polipeptídeo que envolvem a substituição de um ou mais aminoácidos por aminoácidos que possuem propriedades bioquímicas similares que não resultam em perda de uma função biológica ou bioquímica do polipeptídeo. Uma "substituição de aminoácido conservativa" é uma na qual o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido que tem uma cadeia lateral similar. Famílias de resíduos de aminoácido que possuem cadeias laterais similares foram definidas na técnica. Estas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais ácidas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não carregadas (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais não polares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais beta ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aro-

máticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina). Prevê-se que os anticorpos da presente invenção podem ter substituições de aminoácido conservativas e ainda reter atividade.

Para ácidos nucleicos e polipeptídeos, o termo "homologia substancial" indica que dois ácidos nucleicos ou dois polipeptídeos, ou sequências designadas dos mesmos, quando otimamente alinhadas e comparadas, são idênticas, com inserções ou deleções de nucleotídeos ou aminoácidos adequadas, em pelo menos cerca de 80% dos nucleotídeos ou aminoácidos, geralmente pelo menos cerca de 85%, de preferência, cerca de 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, ou 95%, com mais preferência, pelo menos cerca de 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, ou 99,5% dos nucleotídeos ou aminoácidos. Alternativamente, homologia substancial para ácidos nucleicos existe quando os segmentos hibridizarão sob condições de hibridização seletivas ao complemento da fita. A invenção inclui sequências de ácido nucleico e sequências de polipeptídeo que possuem homologia substancial às sequências de ácido nucleico e sequências de aminoácido específicas citadas aqui.

O percentual de identidade entre duas sequências é uma função do número de posições idênticas compartilhadas pelas sequências (isto é, % de homologia = n° de posições idênticas / n° total de posições x 100), levando em consideração o número de lacunas, e o comprimento de cada lacuna, que precisa ser introduzida para alinhamento ótimo das duas sequências. A comparação entre as sequências e a determinação do percentual de identidade entre duas sequências podem ser realizadas com o uso de um algoritmo matemático, como sem limitação, o módulo AlignX[®] de VectorNTI[®] (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA). Para AlignX[®], os parâmetros padrão de alinhamentos múltiplos são: penalidade por abertura de lacuna: 10; penalidade por extensão da lacuna: 0,05; faixa de penalidade por separação de lacuna: 8; % de identidade para impedimento de alinhamento: 40. (detalhes adicionais encontrados em <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/LINNEA-Online-Guides/LINNEA-Communities/Vector-NTI-Community/Sequence-analysis-and-data-management-software-for-PCs/AlignX-Module-for-Vector-NTI->

Advance.reg.us.html).

Outro método para determinação do melhor pareamento global entre uma sequência pesquisada (uma sequência da presente invenção) e uma sequência objeto, também chamado de um alinhamento de sequência global, pode ser determinado com o uso do programa de computador CLUSTALW (Thompson *et al.*, Nucleic Acids Research, 1994, 2(22): 4673-4680), que se baseia no algoritmo de Higgins *et al.*, (Computer Applications in the Biosciences (CABIOS), 1992, 8(2): 189-191). Em um alinhamento de sequência a sequência pesquisada e a objeto são sequências de DNA. O resultado deste alinhamento de sequências global é em percentual de identidade. Os parâmetros preferenciais usados em um alinhamento CLUSTALW de sequências de DNA para calcular a identidade percentual através de alinhamentos em pares são: matriz = IUB, k-tuple = 1, número de diagonais superiores = 5, penalidade por lacuna = 3, penalidade por abertura de lacuna = 10, penalidade por extensão da lacuna = 0,1. Para alinhamentos múltiplos, os seguintes parâmetros de CLUSTALW são preferenciais: penalidade por abertura de lacuna = 10, parâmetro da extensão da lacuna = 0,05; faixa de penalidade por separação de lacuna = 8; % de identidade para impedimento de alinhamento = 40.

Os ácidos nucleicos podem estar presentes em células inteiras, em um lisado celular, ou em uma forma parcialmente purificada ou substancialmente pura. Um ácido nucleico é "isolado" ou "tornado substancialmente puro" quando ele é purificado de outros componentes celulares com os quais ele está normalmente associado no ambiente natural. Para isolar um ácido nucleico, técnicas padrão como as seguintes podem ser usadas: tratamento com agente alcalino/SDS, bandeamento em CsCl, cromatografia em coluna, eletroforese em gel de agarose e outras bem conhecidos na técnica.

Anticorpos monoclonais

Quarenta e quatro anticorpos de ligação a TFPI foram identificados a partir de *panning* e seleção de bibliotecas de anticorpo humano contra TFPI humano. A região variável da cadeia pesada e a região variável da cadeia leve de cada anticorpo monoclonal foram sequenciadas e suas regiões

CDR foram identificadas. Os números identificadores de sequência ("SEQ ID NO") correspondentes a estas regiões de cada anticorpo monoclonal estão resumidos na Tabela 1.

- 5 Tabela 1. Sumário dos números identificadores de sequência ("SEQ ID NO") da região variável da cadeia pesada ("VH") e da região variável da cadeia leve ("VL") de cada anticorpo monoclonal de ligação a TFPI. Os números identificadores de sequência para as regiões CDR ("CDR1," "CDR2," e "CDR3") de cada cadeia pesada e leve também são fornecidos. N.A.: sequência de ácido nucleico; A.A.: sequência de aminoácido.

Clone	VL		VH		VL			VH		
	N.A.	A.A.	N.A.	A.A.	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
TP-2A2	1	2	3	4	173	216	259	302	345	388
TP-2A5.1	5	6	7	8	174	217	260	303	346	389
TP-2A6	9	10	11	12	175	218	261	304	347	390
TP-2A8	13	14	15	16	176	219	262	305	348	391
TP-2A10	17	18	19	20	177	220	263	306	349	392
TP-2B1	21	22	23	24	178	221	264	307	350	393
TP-2B3	25	26	27	28	179	222	265	308	351	394
TP-2B4	29	30	31	32	180	223	266	309	352	395
TP-2B8	33	34	35	36	181	224	267	310	353	396
TP-2B9	37	38	39	40	182	225	268	311	354	397
TP-2C1	41	42	43	44	183	226	269	312	355	398
TP-2C7	45	46	47	48	184	227	270	313	356	399
TP-2D7	49	50	51	52	185	228	271	314	357	400
TP-2E3	53	54	55	56	186	229	272	315	358	401
TP-2E5	57	58	59	60	187	230	273	316	359	402
TP-2F9	61	62	63	64	188	231	274	317	360	403
TP-2G2	65	66	67	68	189	232	275	318	361	404
TP-2G4	69	70	71	72	190	233	276	319	362	405
TP-2G5	73	74	75	76	191	234	277	320	363	406
TP-2G6	77	78	79	80	192	235	278	321	364	407
TP-2G7	81	82	83	84	193	236	279	322	365	408

Clone	VL		VH		VL			VH		
	N.A.	A.A.	N.A.	A.A.	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
TP-2G9	85	86	87	88	194	237	280	323	366	409
TP-2H10	89	90	91	92	195	238	281	324	367	410
TP-3A2	93	94	95	96	196	239	282	325	368	411
TP-3A3	97	98	99	100	197	240	283	326	369	412
TP-3A4	101	102	103	104	198	241	284	327	370	413
TP-3B3	105	106	107	108	199	242	285	328	371	414
TP-3B4	109	110	111	112	200	243	286	329	372	415
TP-3C2	113	114	115	116	201	244	287	330	373	416
TP-3C3	117	118	119	120	202	245	288	331	374	417
TP-3D3	121	122	123	124	203	246	289	332	375	418
TP-3E1	125	126	127	128	204	247	290	333	376	419
TP-3F1	129	130	131	132	205	248	291	334	377	420
TP-3F2	133	134	135	136	206	249	292	335	378	421
TP-3G1	137	138	139	140	207	250	293	336	379	422
TP-3G3	141	142	143	144	208	251	294	337	380	423
TP-3H2	145	146	147	148	209	252	295	338	381	424
TP-4A7	149	150	151	152	210	253	296	339	382	425
TP-4A9	153	154	155	156	211	254	297	340	383	426
TP-4B7	157	158	159	160	212	255	298	341	384	427
TP-4E8	161	162	163	164	213	256	299	342	385	428
TP-4G8	165	166	167	168	214	257	300	343	386	429
TP-4H8	169	170	171	172	215	258	301	344	387	430
TP-3C1	85	86	135	136	194	237	280	335	378	421

Em uma modalidade, é fornecido um anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 388-430. Estas CDR3s são identificadas a partir das cadeias pesadas dos anticorpos identificados durante o *panning* e a seleção. Em uma outra modalidade, o anticorpo compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma se-

quência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387, ou (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344 e uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387.

Em outra modalidade, são fornecidos anticorpos que compartilham uma CDR3 de uma das cadeias leves dos anticorpos identificados durante o *panning* e a seleção. Desta forma, a presente invenção refere-se a um anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301. Em modalidades adicionais, o anticorpo compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258, ou (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215 e uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258.

Em outra modalidade, o anticorpo compreende uma CDR3 de uma cadeia pesada e uma CDR3 de uma cadeia leve dos anticorpos identificados a partir da seleção e *panning*. Desta forma, é fornecido um anticorpo que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 388-430 e uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301. Em uma outra modalidade, o anticorpo compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecio-

nada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387, (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215, e/ou (d) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258.

Em outras modalidades específicas, o anticorpo compreende regiões variáveis das cadeias pesada e leve que compreendem:

(a) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 173, 216 e 259, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 302, 345 e 388;

(b) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 174, 217 e 260, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 303, 346 e 389;

(c) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 175, 218 e 261 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 304, 347 e 390;

(d) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 176, 219 e 262, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 305, 348 e 391;

(e) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 177, 220 e 263 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 306, 349 e 392;

(f) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 178, 221 e 264 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 307, 350 e 393;

(g) uma região variável da cadeia leve que compreende

uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 179, 222 e 265 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 308, 351 e 394;

5 (h) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 180, 223 e 266 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 309, 352 e 395;

10 (i) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 181, 224 e 267 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 310, 353 e 396;

15 (j) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 182, 225 e 268 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 311, 354 e 397;

(k) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 183, 226 e 269 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 312, 355 e 398;

20 (l) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 184, 227 e 270 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 313, 356 e 399;

25 (m) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 185, 228 e 271 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 314, 357 e 400;

30 (n) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 186, 229 e 272 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 315, 358 e 401;

(o) uma região variável da cadeia leve que compreende

uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 187, 230 e 273 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 316, 359 e 402;

5 (p) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 188, 231 e 274 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 317, 360 e 403;

10 (q) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 189, 232 e 275 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 318, 361 e 404;

15 (r) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 190, 233 e 276 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 319, 362 e 405;

(s) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 191, 234 e 277 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 320, 363 e 406;

20 (t) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 192, 235 e 278 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 321, 364 e 407;

25 (u) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 193, 236 e 279 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 322, 365 e 408;

30 (v) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 194, 237 e 280 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 323, 366 e 409;

(w) uma região variável da cadeia leve que compreende

uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 195, 238 e 281 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 324, 367 e 410;

(x) uma região variável da cadeia leve que compreende
5 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 196, 239 e 282 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 325, 368 e 411;

(y) uma região variável da cadeia leve que compreende
10 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 197, 240 e 283 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 326, 369 e 412;

(z) uma região variável da cadeia leve que compreende
15 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 198, 241 e 284 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 327, 370 e 413;

(aa) uma região variável da cadeia leve que compreende
uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 199, 242 e 285 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 328, 371 e 414;

(bb) uma região variável da cadeia leve que compreende
20 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 200, 243 e 286 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 329, 372 e 415;

(cc) uma região variável da cadeia leve que compreende
25 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 201, 244 e 287 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 330, 373 e;

(dd) uma região variável da cadeia leve que compreende
30 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 202, 245 e 288 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 331, 374 e 417;

(ee) uma região variável da cadeia leve que compreende

uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 203, 246 e 289 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 332, 375 e 418;

(ff) uma região variável da cadeia leve que compreende
5 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 204, 247 e 290 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 333, 376 e 419;

(gg) uma região variável da cadeia leve que compreende
10 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 205, 248 e 291 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 334, 377 e 420;

(hh) uma região variável da cadeia leve que compreende
15 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 206, 249 e 292 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 335, 378 e 421;

(ii) uma região variável da cadeia leve que compreende
uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 207, 250 e 293 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 336, 379 e 422;

(jj) uma região variável da cadeia leve que compreende
20 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 208, 251 e 294 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 337, 380 e 423;

(kk) uma região variável da cadeia leve que compreende
25 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 209, 252 e 295 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 338, 381 e 424;

(ll) uma região variável da cadeia leve que compreende
30 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 210, 253 e 296 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 339, 382 e 425;

(mm) uma região variável da cadeia leve que compreende

uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 211, 254 e 297 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 340, 383 e 426;

(nn) uma região variável da cadeia leve que compreende
5 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 212, 255 e 298 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 341, 384 e 427;

(oo) uma região variável da cadeia leve que compreende
10 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 213, 256 e 299 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 342, 385 e 428;

(pp) uma região variável da cadeia leve que compreende
15 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 214, 257 e 300 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 343, 386 e 429;

(qq) uma região variável da cadeia leve que compreende
uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 215, 258 e 301 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 344, 387 e 430; ou

(rr) uma região variável da cadeia leve que compreende
20 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 194, 237 e 280 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 335, 378 e 421.

Em outra modalidade, a invenção refere-se a anticorpos que
25 compreendem:

(a) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 2 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 4;

(b) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência
30 de polipeptídeo da SEQ ID NO: 6 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 8;

(c) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência

de polipeptídeo da SEQ ID NO: 10 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 12;

(d) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 14 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 16;

(e) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 18 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 20;

(f) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 22 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 24;

(g) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 26 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 28;

(h) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 30 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 32;

(i) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 34 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 36;

(j) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 38 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 40;

(k) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 42 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 44;

(l) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 46 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 48;

(m) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 50 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 52;

- (n) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 54 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 56;
- 5 (o) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 58 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 60;
- (p) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 62 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 64;
- 10 (q) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 66 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 68;
- (r) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 70 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 72;
- 15 (s) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 74 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 76;
- (t) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 78 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 80;
- 20 (u) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 82 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 84;
- 25 (v) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 86 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 88;
- (w) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 90 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 92;
- 30 (x) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 94 e uma região variável da cadeia pesada

que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 96;

(y) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 98 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 100;

5 (z) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 102 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 104;

(aa) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 106 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 108;

(bb) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 110 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 112;

15 (cc) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 114 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 116;

(dd) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 118 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 120;

20 (ee) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 122 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 124;

(ff) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 126 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 128;

(gg) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 130 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 132;

30 (hh) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 134 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 136;

(ii) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência

de polipeptídeo da SEQ ID NO: 138 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 140;

(jj) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 142 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 144;

(kk) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 146 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 148;

(ll) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 150 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 152;

(mm) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 154 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 156;

(nn) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 158 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 160;

(oo) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 162 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 164;

(pp) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 166 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 168;

(qq) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 170 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 172; or

(rr) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 86 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 136.

Também é fornecido um anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma região variável da cadeia pesada humana que compreende uma

sequência de aminoácido que tem pelo menos 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 99,5% de identidade a uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas sequências de aminoácido descritas nas SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:108, SEQ ID NO:112, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:132, SEQ ID NO:136, SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:152, SEQ ID NO:156, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:164, SEQ ID NO:168, e SEQ ID NO:172.

Também é fornecido um anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma região variável da cadeia leve humana que compreende uma sequência de aminoácido que tem pelo menos 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 99,5% de identidade a uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas sequências de aminoácido descritas nas SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:110, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:122, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:134, SEQ ID NO:138, SEQ ID NO:142, SEQ ID NO:146, SEQ ID NO:150, SEQ ID NO:154, SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:162, SEQ ID NO:166, e SEQ ID NO:170.

Além de se basear nas descrições de anticorpo com o uso dos identificadores de sequência discutidos acima, algumas modalidades podem, também, ser descritas com relação aos clones de Fab isolados nos experi-

mentos aqui descritos. Em algumas modalidades, os anticorpos recombinantes compreendem as CDR3 de cadeia pesada e/ou leve dos seguintes clones: TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8. Em algumas modalidades, os anticorpos podem compreender, adicionalmente, as CDR2 destes anticorpos e ainda compreender, adicionalmente, as CDR1 destes anticorpos. Em outras modalidades, os anticorpos podem compreender, adicionalmente, qualquer combinação das CDRs.

Consequentemente, em outra modalidade, são fornecidos anticorpos anti-TFPI que compreendem: (1) regiões estruturais de cadeia pesada humana, uma região CDR1 de cadeia pesada humana, uma região CDR2 de cadeia pesada humana, e uma região CDR3 de cadeia pesada humana, em que a região CDR3 de cadeia pesada humana é a CDR3 da cadeia pesada de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8; e (2) regiões estruturais de cadeia leve humana, uma região CDR1 de cadeia leve humana, uma região CDR2 de cadeia leve humana, e uma região CDR3 de cadeia leve humana, em que a região CDR3 de cadeia leve humana é a CDR3 de cadeia leve de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8, em que o anticorpo se liga a TFPI. O anticorpo pode com-

preender, ainda, a CDR2 da cadeia pesada e/ou a CDR2 da cadeia leve de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8. O anticorpo pode compreender, ainda, a CDR1 da cadeia pesada e/ou a CDR1 da cadeia leve de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8.

As regiões CDR1, 2, e/ou 3 dos anticorpos manipulados descritos acima podem compreender a(s) sequência(s) de aminoácido exata(s) de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8 aqui apresentados.

Entretanto, os versados na técnica observarão que algum desvio das sequências de CDR exatas de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8 pode ser possível enquanto ainda se mantém a capacidade do anticorpo se ligar a TFPI de forma eficaz. Consequentemente, em outra modalidade, o anticorpo manipulado pode ser composto de uma ou mais CDRs que são, por exemplo, pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 99,5% idên-

5 ticas a uma ou mais CDRs de TP-2A2, TP-2A5.1, TP-2A6, TP-2A8, TP-2A10, TP-2B1, TP-2B3, TP-2B4, TP-2B8, TP-2B9, TP-2C1, TP-2C7, TP-2D7, TP-2E3, TP-2E5, TP-2F9, TP-2G2, TP-2G4, TP-2G5, TP-2G6, TP-2G7, TP-2G9, TP-2H10, TP-3A2, TP-3A3, TP-3A4, TP-3B3, TP-3B4, TP-3C1, TP-3C2, TP-3C3, TP-3D3, TP-3E1, TP-3F1, TP-3F2, TP-3G1, TP-3G3, TP-3H2, TP-4A7, TP-4A9, TP-4B7, TP-4E8, TP-4G8, ou TP-4H8.

O anticorpo pode ser de qualquer uma das várias classes de anticorpos, como sem limitação um anticorpo de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgA secretória, IgD, e IgE.

10 Em uma modalidade, é fornecido um anticorpo monoclonal completamente humano isolado para o inibidor da via do fator tecidual humano.

Em outra modalidade, é fornecido um anticorpo monoclonal completamente humano isolado para domínio Kunitz 2 do inibidor da via do fator tecidual humano.

15 **Ácidos nucleicos**

Também são fornecidas moléculas de ácido nucleico isoladas que codificam qualquer um dos anticorpos monoclonais descritos acima.

Métodos para preparar anticorpos para TFPI

20 O anticorpo monoclonal pode ser produzido de forma recombinante pela expressão de uma sequência de nucleotídeo que codifica as regiões variáveis do anticorpo monoclonal de acordo com as modalidades da invenção em uma célula hospedeira. Com o auxílio de um vetor de expressão, um ácido nucleico contendo a sequência de nucleotídeo pode ser transfectado e expresso em uma célula hospedeira adequada para a produção.
25 Consequentemente, também é fornecido um método para produzir um anticorpo monoclonal que se liga a TFPI humano, que compreende:

- (a) transfectar uma molécula de ácido nucleico que codifica um anticorpo monoclonal da invenção em uma célula hospedeira,
- (b) cultivar a célula hospedeira de modo a expressar o anticorpo monoclonal na célula hospedeira, e opcionalmente,
- (c) isolar e purificar o anticorpo monoclonal produzido, em que a molécula de ácido nucleico compreende uma sequência

de nucleotídeo que codifica um anticorpo monoclonal da presente invenção.

Em um exemplo, para expressar os anticorpos, ou fragmentos de anticorpo dos mesmos, DNAs codificando cadeias pesada e leve parciais ou de extensão completa obtidos por técnicas de biologia molecular padrão são inseridos em vetores de expressão, de modo que os genes sejam operativamente ligados a sequências de controle transcricional e traducional. Neste contexto, o termo "operativamente ligado" pretende significar que um gene de anticorpo é ligado em um vetor de modo que as sequências de controle transcricional e traducional dentro do vetor cumpram sua função pretendida de regular a transcrição e tradução do gene de anticorpo. Os vetores de expressão e as sequências de controle de expressão são escolhidas para serem compatíveis com a célula hospedeira usada. O gene da cadeia leve do anticorpo e o gene da cadeia pesada do anticorpo podem ser inseridos em vetores separados ou, mais tipicamente, ambos os genes são inseridos no mesmo vetor de expressão. Os genes de anticorpo são inseridos no vetor de expressão por métodos padrão (por exemplo, ligação de sítios de restrição complementares no fragmento do gene do anticorpo e no vetor, ou ligação de extremidade cega caso nenhum sítio de restrição esteja presente). As regiões variáveis das cadeias pesadas e leves dos anticorpos aqui descritos podem ser usadas para criar genes de anticorpo de extensão completa de qualquer isotipo de anticorpo através da inserção das mesmas em vetores de expressão que já codificam as regiões constante da cadeia pesada e constante da cadeia leve do isotipo desejado de modo que o segmento V_H seja operativamente ligado ao(s) segmentos C_H dentro do vetor e o segmento V_L seja operativamente ligado ao segmento C_L dentro do vetor. Adicional ou alternativamente, o vetor de expressão recombinante pode codificar um peptídeo de sinal que facilita a secreção da cadeia de anticorpo a partir de uma célula hospedeira. O gene da cadeia do anticorpo pode ser clonado no vetor de modo que o peptídeo de sinal seja ligado in-frame à terminação amino do gene da cadeia do anticorpo. O peptídeo de sinal pode ser um peptídeo de sinal de imunoglobulina ou um peptídeo de sinal heterólogo (isto é, um peptídeo de sinal de uma proteína não-imunoglobulina).

Além dos genes que codificam a cadeia do anticorpo, os vetores de expressão recombinantes da invenção transportam sequências regulatórias que controlam a expressão dos genes de cadeia do anticorpo em uma célula hospedeira. O termo "sequência regulatória" pretende incluir promotores, intensificadores e outros elementos de controle de expressão (por exemplo, sinais de poliadenilação) que controlam a transcrição ou tradução dos genes da cadeia do anticorpo. Estas sequências regulatórias são descritas, por exemplo, em Goeddel; Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990). Será entendido pelos versados na técnica que o desenho do vetor de expressão, incluindo a seleção de sequências regulatórias pode depender de fatores como a escolha da célula hospedeira a ser transformada, do nível de expressão de proteína desejado, etc. Exemplos de sequências regulatórias para expressão em célula hospedeira de mamífero incluem elementos virais que direcionam altos níveis de expressão de proteína em células de mamífero, tais como promotores e/ou intensificadores derivados de citomegalovírus (CMV), Simian Virus 40 (SV40), adenovírus, (por exemplo, o promotor tardio principal de adenovírus (AdMLP)) e polioma. Alternativamente, sequências regulatórias não virais podem ser usadas, tal como o promotor de ubiquitina ou β -globina.

Além dos genes da cadeia do anticorpo e das sequências regulatórias, os vetores de expressão recombinantes podem transportar sequências adicionais, tais como sequências que regulam a replicação do vetor em células hospedeiras (por exemplo, origens de replicação) e genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável facilita a seleção das células hospedeiras dentro das quais o vetor foi introduzido (vide, por exemplo, Patentes US Nos. 4.399.216, 4.634.665 e 5.179.017, todos por Axel *et al.*). Por exemplo, tipicamente o gene marcador selecionável confere resistência a fármacos, como G418, higromicina ou metotrexato, a uma célula hospedeira na qual o vetor foi introduzido. Exemplos de genes marcadores selecionáveis incluem o gene de diidrofolato redutase (DHFR) (para uso em células hospedeiras dhfr com seleção/amplificação por metotrexato) e o gene neo (para seleção por G418).

Para a expressão das cadeias pesadas e leves, o(s) vetor(es) de expressão(s) que codifica(m) as cadeias pesada e leve é transfectado em uma célula hospedeira por técnicas padrão. As várias formas do termo "transfecção" pretendem abranger uma ampla variedade de técnicas comu-

5 mente usadas para a introdução de DNA exógeno em uma célula hospedeira procariótica ou eucariótica, por exemplo, eletroporação, precipitação com fosfato de cálcio, transfecção com DEAE-dextrano, e similares. Embora seja teoricamente possível expressar os anticorpos da invenção em células hospedeiras procarióticas ou eucarióticas, a expressão dos anticorpos em célu-

10 las eucarióticas e, com a máxima preferência, células hospedeiras de mamífero, é da máxima preferência, porque estas células eucarióticas, e, em particular, células de mamífero, tem maior probabilidade do que as células procarióticas de se agregar e secretar um anticorpo adequadamente enovelado e imunologicamente ativo.

15 Exemplos de células hospedeiras de mamífero para expressar os anticorpos recombinantes da invenção incluem células de ovário de hamster chinês (células CHO) (inclusive células dhfr-CHO, descritas em Urlaub e Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, usadas com um marcador selecionável de DHFR, por exemplo, conforme descrito em R.

20 J. Kaufman e P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), células de mieloma NSO, células COS, células HKB11 e células SP2. Quando os vetores de expressão recombinantes que codificam os genes de anticorpo são introduzidos em células hospedeiras de mamífero, os anticorpos são produzidos pelo cultivo das células hospedeiras durante um período de tempo suficiente para

25 permitir a expressão do anticorpo nas células hospedeiras ou a secreção do anticorpo para o meio de cultura no qual as células hospedeiras são cultivadas. Os anticorpos podem ser recuperados do meio de cultura com o uso de métodos de purificação de proteína padrão, como ultrafiltração, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia de troca iônica e centrifugação.

30 ***Uso de sequências de anticorpo parciais para expressar anticorpos intactos***

Os anticorpos interagem com os antígenos alvo predominantemente

mente através dos resíduos de aminoácido que estão localizados nas seis CDRs das cadeias pesada e leve. Por esta razão, as sequências de aminoácidos dentro das CDRs são mais diversas entre os anticorpos individuais do que as sequências fora das CDRs. Vide, por exemplo, as figuras 6 e 7, nas
5 quais as regiões CDR nas cadeias variáveis leve e pesada, respectivamente, do anticorpo monoclonal de acordo com a presente invenção são identificadas. Pelo fato das sequências da CDR serem responsáveis pela maioria das interações antígeno-anticorpo, é possível expressar anticorpos recombinantes que imitam as propriedades de anticorpos específicos de ocorrência natural pela construção de vetores de expressão que incluem sequências de CDR do anticorpo específico de ocorrência natural enxertado em sequências da estrutura de um anticorpo diferente com propriedades diferentes (vide, por exemplo, Riechmann, L. *et al.*, 1998, *Nature* 332:323-327; Jones, P. *et al.*, 1986, *Nature* 321:522-525; e Queen, C. *et al.*, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:10029-10033). Estas sequências da estrutura podem ser obtidas a partir de bases de dados públicas de DNA que incluem sequências de genes de anticorpos de linhagem germinativa. Estas sequências de linhagem germinativa serão diferentes das sequências gênicas maduras de anticorpos porque elas não incluirão genes variáveis completamente agrupados, que
10 são formados pela união V(D)J durante a maturação das células B. Não é necessário obter a sequência de DNA completa de um anticorpo particular de modo a recriar um anticorpo recombinante intacto que tem propriedades de ligação similares àquelas do anticorpo original (vide WO 99/45962). A sequência parcial das cadeias pesada e leve abrangendo as regiões CDR é tipicamente suficiente para este propósito. A sequência parcial é usada para determinar quais segmentos de genes de união e variáveis da linhagem germinativa contribuíram para os genes variáveis do anticorpo recombinado. A sequência da linhagem germinativa é, então, usada para completar as porções ausentes das regiões variáveis. As sequências líder de cadeia pesada e leve são clivadas durante a maturação da proteína e não contribuem
15 20 25 30 para as propriedades do anticorpo final. Por esse motivo, é necessário usar a sequência líder de linhagem germinativa correspondente para os constru-

tos de expressão. Para adicionar sequências ausentes, as sequências de cDNA clonadas podem ser combinadas com oligonucleotídeos sintéticos por ligação ou por amplificação por PCR. Alternativamente, a região variável completa pode ser sintetizada como um conjunto de oligonucleotídeos curtos e sobrepostos e combinados por amplificação por PCR para criar um clone da região variável inteiramente sintético. Este processo tem certas vantagens, tais como eliminação ou inclusão de sítios de restrição particulares, ou otimização de códon particulares.

As sequências de nucleotídeo dos transcritos de cadeia pesada e leve são usadas para desenhar um conjunto sobreposto de oligonucleotídeos sintéticos para criar sequências V sintéticas com capacidades de codificação de aminoácidos idênticas às sequências naturais. As sequências sintéticas das cadeias pesada e kappa podem diferir das sequências naturais de três formas: séries de bases de nucleotídeos repetidas são interrompidas para facilitar a síntese de oligonucleotídeo e amplificação por PCR; sítios de início de tradução ótimos são incorporados de acordo com as regras de Kozak (Kozak, 1991, J. Biol. Chem. 266:19867-19870); e sítios de HindIII são manipulados à montante dos sítios de início de tradução.

Para ambas as regiões variáveis de cadeia pesada e leve, as sequências das fitas otimizadas codificante e não-codificante correspondente são decompostas em seções de 30 a 50 nucleotídeos, aproximadamente, no ponto médio do oligonucleotídeo não-codificante correspondente. Desta forma, para cada cadeia, os oligonucleotídeos podem ser agrupados em conjuntos de fitas duplas sobrepostas que abrangem segmentos de 150 a 400 nucleotídeos. Os grupos são, então, usados como moldes para produzir produtos de amplificação por PCR de 150 a 400 nucleotídeos. Tipicamente, um único conjunto de oligonucleotídeos da região variável será decomposto em dois conjuntos que são amplificados separadamente para gerar dois produtos de PCR sobrepostos. Estes produtos sobrepostos são, então, combinados por amplificação por PCR para formar a região variável completa. Pode também ser desejável incluir um fragmento sobreposto da região constante da cadeia pesada ou leve na amplificação por PCR para gerar frag-

mentos que pode ser facilmente clonados nos construtos do vetor de expressão.

As regiões variáveis das cadeias pesada e leve são, então, combinadas com sequências clonadas de promotor, início de tradução, região constante, 3' não traduzida, poliadenilação, e término de transcrição, para formar os construtos do vetor de expressão. Os construtos de expressão das cadeias pesada e leve podem ser combinados em um único vetor, cotransfectados, transfectados seriadamente, ou transfectados separadamente em células hospedeiras que são, então, fundidas para formar uma célula hospedeira que expressa ambas as cadeias.

Desta forma, em um outro aspecto, as características estruturais de um anticorpo anti-TFPI humano, por exemplo, TP2A8, TP2G6, TP2G7, TP4B7, etc., são usadas para criar anticorpos anti-TFPI humanos estruturalmente relacionados que retêm a função de ligação a TFPI. Mais especificamente, uma ou mais CDRs das regiões de cadeia pesada e leve especificamente identificadas dos anticorpos monoclonais da invenção podem ser combinadas de forma recombinante com regiões estruturais humanas conhecidas e CDRs para criar anticorpos anti-TFPI humanos manipulados de forma recombinante adicionais da invenção.

Consequentemente, em outra modalidade, é fornecido um método para preparar um anticorpo anti-TFPI que compreende: preparar um anticorpo que compreende (1) regiões estruturais de cadeia pesada humana e CDRs da cadeia pesada humana, em que a CDR3 da cadeia pesada humana compreende uma sequência de aminoácido selecionadas a partir das sequências de aminoácido das SEQ ID NOs: 388-430 e/ou (2) regiões estruturais de cadeia leve humana e CDRs da cadeia leve humana, em que a CDR3 de cadeia leve compreende uma sequência de aminoácido selecionadas a partir das sequências de aminoácido das SEQ ID NOs: 259-301; em que o anticorpo retém a capacidade de se ligar a TFPI. Em outras modalidades, o método é praticado com o uso de outras CDRs da invenção.

Composições farmacêuticas

Também são fornecidas composições farmacêuticas que com-

preendem quantidades terapêuticamente eficazes do anticorpo monoclonal anti-TFPI e um veículo farmacêuticamente aceitável. "Veículo farmacêuticamente aceitável" é uma substância que pode ser adicionada ao ingrediente ativo para ajudar a formular ou estabilizar a preparação e não causa efeitos toxicológicos adversos significativos ao paciente. Exemplos destes veículos são bem conhecidos dos versados na técnica e incluem água, açúcares como maltose ou sacarose, albumina, sais como cloreto de sódio, etc. Outros veículos são descritos, por exemplo, em Remington's Pharmaceutical Sciences por E. W. Martin. Estas composições irão conter uma quantidade terapêuticamente eficaz de pelo menos um anticorpo monoclonal anti-TFPI.

Os veículos farmacêuticamente aceitáveis incluem soluções ou dispersões aquosas estéreis e pós estéreis para preparação extemporânea de soluções ou dispersões injetáveis estéreis. O uso destes meios e agentes para substâncias farmacêuticamente ativas é conhecido na técnica. A composição é formulada, de preferência, para injeção parenteral. A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, lipossomo, ou outra estrutura ordenada adequada para alta concentração de fármaco. O veículo pode ser um solvente ou meio de dispersão contendo, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, e polietileno glicol líquido, e similares), e misturas adequadas dos mesmos. Em alguns casos, ele incluirá agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois como manitol, sorbitol, e cloreto de sódio na composição.

Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas pela incorporação do composto ativo na quantidade necessária em um solvente adequado com um ou uma combinação dos ingredientes enumerados acima, conforme necessário, seguido de esterilização por microfiltração. Geralmente, dispersões são preparadas pela incorporação do composto ativo em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes necessários a partir dos citados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, alguns métodos de preparação são secagem a vácuo e secagem por congelamento (liofilização) que produzem um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente adicional desejava-

do a partir de uma solução anteriormente esterilizada por filtração do mesmo.

Usos farmacêuticos

O anticorpo monoclonal pode ser usado com propósitos terapêuticos para o tratamento de deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação. Por exemplo, os anticorpos monoclonais nas modalidades descritas acima podem ser usados para bloquear a interação de TFPI com FXa, ou para evitar a inibição dependente de TFPI da atividade de TF/FVIIa. Adicionalmente, o anticorpo monoclonal pode, também, ser usado para restaurar a geração direcionada por TF/FVIIa de FXa para contornar a insuficiência de amplificação do FXa dependente de FVIII ou de FIX.

Os anticorpos monoclonais possuem uso terapêutico no tratamento de transtornos da hemostase, como trombocitopenia, transtornos de plaquetas e transtornos de sangramento (por exemplo, hemofilia A e hemofilia B). Estes transtornos podem ser tratados pela administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo monoclonal anti-TFPI a um paciente que precisa do mesmo. Os anticorpos monoclonais também possuem uso terapêutico no tratamento de sangramentos descontrolados em indicações como trauma e derrame hemorrágico. Desta forma, também é fornecido um método para encurtar o tempo de sangramento, que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um anticorpo monoclonal anti-TFPI da invenção a um paciente que precisa do mesmo.

Os anticorpos podem ser usados como monoterapia ou em combinação com outras terapias para atingir um transtorno hemostático. Por exemplo, acredita-se que a coadministração de um ou mais dos anticorpos da invenção com um fator da coagulação, como fator VIIa, fator VIII ou fator IX, seja útil para o tratamento de hemofilia. Em uma modalidade, é fornecido um método para tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar (a) uma primeira quantidade de um anticorpo monoclonal que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano e (b) uma segunda quantidade de fator VIII ou fator IX, em que as ditas primeira e segunda quantidades juntas são eficazes para tratar as ditas deficiências ou defeitos. Em outra modalidade, é fornecido um método para

tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar (a) uma primeira quantidade de um anticorpo monoclonal que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano e (b) uma segunda quantidade de fator VIII ou fator IX, em que as ditas primeira e segunda quantidades juntas são eficazes para tratar as ditas deficiências ou defeitos e em que, adicionalmente, o fator VII não é coadministrado. A invenção inclui, também, uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz da combinação de um anticorpo monoclonal da invenção e fator VIII ou fator IX, em que a composição não contém fator VII. "Fator VII" incluem fator VII e fator VIIa. Estas terapias de combinação provavelmente reduzirão a frequência de infusão necessária do fator de coagulação. Por coadministração ou terapia de combinação entende-se a administração de dois fármacos terapêuticos, cada um formulado separadamente ou formulados juntos em uma composição e, quando formulados separadamente, administrados aproximadamente no mesmo horário ou em um horário diferente, mas ao longo do mesmo período terapêutico.

As composições farmacêuticas podem ser administradas parenteralmente aos indivíduos que possuem hemofilia A ou B a uma dosagem e frequência que pode variar de acordo com a severidade do episódio de sangramento ou, no caso de terapia profilática, pode variar de acordo com a severidade da deficiência de coagulação do paciente.

As composições podem ser administradas aos pacientes em necessidade como um bolus ou por infusão contínua. Por exemplo, uma administração em bolus de um anticorpo da invenção presente como um fragmento Fab pode ser em uma quantidade de 0,0025 a 100 mg/kg de peso corporal, 0,025 a 0,25 mg/kg, 0,010 a 0,10 mg/kg ou 0,10 a 0,50 mg/kg. Para infusão contínua, um anticorpo da invenção presente como um fragmento Fab pode ser administrado a 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal/minuto, 0,0125 a 1,25 mg/kg/min, 0,010 a 0,75 mg/kg/min, 0,010 a 1,0 mg/kg/min, ou 0,10 a 0,50 mg/kg/min, durante um período de 1 a 24 horas, 1 a 12 horas, 2 a 12 horas, 6 a 12 horas, 2 a 8 horas, ou 1 a 2 horas. Para administração de um anticorpo da invenção presente como um anticorpo de extensão comple-

ta (com regiões constantes completas), as quantidades de dosagem podem ser de cerca de 1 a 10 mg/kg de peso corporal, 2 a 8 mg/kg, ou 5 a 6 mg/kg. Estes anticorpos de extensão completa seriam administrados, tipicamente, por infusão durante um período de trinta minutos a três horas. A frequência da administração dependeria da severidade da condição. A frequência poderia variar de três vezes por semana a uma vez a cada duas ou três semanas.

Adicionalmente, as composições podem ser administradas aos pacientes através de injeção subcutânea. Por exemplo, uma dose de 10 a 100 mg de anticorpo anti-TFPI pode ser administrada aos pacientes através de injeção subcutânea semanalmente, a cada duas semanas ou mensalmente.

Para uso na presente invenção, "quantidade terapeuticamente eficaz" significa uma quantidade de um anticorpo monoclonal anti-TFPI ou de uma combinação deste anticorpo com o fator VIII ou o fator IX que é necessária para aumentar de modo eficaz o tempo de coagulação *in vivo* ou causar de outro modo um benefício mensurável *in vivo* a um paciente em necessidade. A quantidade exata dependerá de inúmeros fatores, incluindo, mas não se limitando aos componentes e características físicas da composição terapêutica, população de pacientes pretendida, considerações do paciente individual, e similares, e pode ser facilmente determinada por um versado na técnica.

Exemplos

Materiais e métodos gerais

Exemplo 1. *Panning* e seleção de biblioteca de anticorpo humano contra TFPI humano

Panning de biblioteca de anticorpo humano contra TFPI

Os anticorpos anti-TFPI foram selecionados por *panning* de uma biblioteca combinatória de anticorpo humano apresentada em fago HuCal Gold (Rothe *et al.*, J. Mol. Biol., 2008, 376: 1182-1200) contra TFPI humano (American Diagnostica). Resumidamente, 200 ml de TFPI (5 mg/ml) foram revestidos em placas de 96 poços Maxisorp de um dia para o outro a 4°C e as placas foram, então, bloqueadas com um tampão PBS contendo 5% de

leite. Após as placas serem lavadas com PBS contendo 0,01% de Tween-20 (PBST), uma alíquota da biblioteca combinatória de anticorpo humano foi adicionada aos poços revestidos com TFPI e as placas foram incubadas durante 2 horas. O fago não ligado foi lavado com PBST, e o fago ligado ao antígeno foi eluído com ditiotreitol, infectado e amplificado na cepa TG1 de E. coli. O fago foi recuperado por fago auxiliar para o próximo ciclo de *panning*. No total, três ciclos de *panning* foram conduzidos e os clones dos últimos dois ciclos foram selecionados contra TFPI humano em um ensaio ELISA.

Seleção de clones de anticorpo por ligação ao antígeno em

10 ELISA

Para selecionar os clones de anticorpo que se ligam ao TFPI humano, genes de Fab dos clones dos fagos do segundo e terceiro ciclos de *panning* foram subclonados em um vetor de expressão bacteriano e expressos na cepa TG1 de E. coli. O lisado bacteriano foi adicionado aos poços das placas Maxisorp revestidas com TFPI humano. Após a lavagem, anticorpo de cabra anti-Fab humano conjugado a HRP foi usado como um anticorpo de detecção e as placas foram reveladas pela adição de AmplexRed (Invitrogen) com peróxido de hidrogênio. Um sinal pelo menos cinco vezes maior que o fundo foi considerado positivo. A reatividade cruzada dos anticorpos anti-TFPI humano a TFPI de camundongo foi determinada por um ELISA de ligação a TFPI de camundongo similar. As placas foram revestidas com TFPI de camundongo (R&D System), BSA e lisozima. Os últimos dois antígenos foram usados como controles negativos. Um conjunto representativo dos dados é mostrado na figura 1.

25 Sequências de anticorpos anti-TFPI humano

Após *panning* e seleção da biblioteca de anticorpo humano Hu-Cal Gold contra TFPI, foi feito o sequenciamento de DNA nos clones positivos para o anticorpo, resultando em 44 sequências de anticorpo únicas (Tabela 2). Dentre estas sequências de anticorpo, 29 eram cadeias leves lambda e 15 foram cadeias leves kappa. Nossa análise da região variável das cadeias pesadas revela 28 de VH3, 14 de VH6, 1 de VH1 e 1 de VH5.

Tabela 2. Sequência de peptídeo da região variável de 44 anticorpos anti-

TFPI.

Clone	VL	VH
TP-2A2	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIR- TYVHWYQQKPGQAPVWVYGD SKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSYDSEADSEVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 2)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF SNNAMNWRQAPGKGLEWVSTI- SYDGSNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARQAGGWY- SYTDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 4)
TP-2A5.1	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIPE- KYVHWYQQKPGQAPVLIHGDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSF DAGSYFVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 6)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF SSYGSWWRQAPGKGLEWVSVISGSGSSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARVNISTHFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 8)
TP-2A6	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDKIGS- KYVHWYQQKPGQAPVLIYDSNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYY- CASYSIYSYVWFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 10)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF SRYAMSWWRQAPGKGLEWVSSIISSSE- TYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLMGYGHYPF- DYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 12)
TP-2A8	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDNLRNYYAH- WYQQKPGQAPVWVYDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSWDDGVPVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 14)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF RSYGMSWWRQAPGKGLEWVSSIRGSSSST YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARKYRYWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 16)
TP-2A10	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDKLGKKYVH- WYQQKPGQAPVLIYGD DKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQAWGSISR FVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 18)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF TSYSMNWRQAPGKGLEWVSAI- SYTGSNTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARAF LGYKESYF- DIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 20)
TP-2B1	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDNLGNKYAH- WYQQKPGQAPVLIYD NKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSWTPGSNTM VFGGGTRLTVLGQ (SEQ ID NO: 22)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF SSYSMSWWRQASGKGLEWVSSIKGSGSNT YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARNGGLIDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 24)
TP-2B3	DVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ- NIGSNYLA WYQQKPGQAPRLLIYGA- STRATGVPARFNGSGSGTDFLTISSE- PEDFAVYYCQQLNSIPVTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 26)	QVQLQQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVS SNSAAWG- WIRQSPGRGLEWLGMIYYR SKWYN- SYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARTMSKYGGPGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 28)
TP-2B4	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDALG- TYAYWYQQKPGQAPVLIYGD MNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSYDAGVKPAVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 30)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTF SNYSMTWWRQAPGKGLEWVSGI- SYNGSNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCA- RIYYMNL LAGVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 32)

Clone	VL	VH
TP-2B8	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDNLRGYYAS- WYQQKPGQAPVLVIYEDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQSWDSPYVHVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 34)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS- GYTFTGNSMHWRQAPGGGLEWMMGTIF- PYDGTTKYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY- MELSSLRSEDVAVYYCARGVHSYF- DYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 36)
TP-2B9	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRASQSIR- SYLAWYQQKPGKAPKLLIY- KASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQ PEDFAVYYCHQYSDSPVTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 38)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWG- WIRQSPGRGLEWLGMIYHRKSWYN- DYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA- RYSSIGHMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 40)
TP-2C1	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDSIG- SYYAHWYQQKPGQAPVLVIYYDSKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQAYTGQSISRVFGGGKLTVLGQ (SEQ ID NO: 42)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SPYMSWWRQAPGKGLEWSSISSSSSNT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR EDTAVYYCARGDSYMYDWWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 44)
TP-2C7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRASQ- DIRNNLA- WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFLTISLQPEDFA- VYYCQQRNGFPLTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 46)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWGWIRQSPGRGLEWL- GIIYRSKSWYNHYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARSNWSGYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 48)
TP-2D7	DIVMTQSPLSLPVTPGEPA- SISCRSSQLLHSNGYTYLS- WYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPRFS GSGSGTDFLTKISRVEAEDGVYYCQQYD- NAPITFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 50)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWG- WIRQSPGRGLEWLGIIYRSKSWYN- DYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARFGDTNRNGTDWWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 52)
TP-2E3	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIG- GYNVSWYQQHPGKAPKLMYGV- NYRPSGVSNRFSKSGNTASL- TISGLQAEDEADYYCS- SADKFTMSVFGGGKLTVLGQ (SEQ ID NO: 54)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWG- WIRQSPGRGLEWLGMIYRSKSWYN- DYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARVNQYTSSDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 56)
TP-2E5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTCRASQ- PIYNSLSWYQQKPGKAPKLLIYGVSNLQSG VPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFA- VYYCLQVDNLPITFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 58)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWSWIRQSPGRGLEWLGMI- FYRSKWNNDYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARVNANGYYAVDLWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 60)
TP-2F9	DIVLTQSPATLSLSPGE- RATLSCRASQSVSSQYLA- WYQQKPGQAPRLLIYAAS- SRATGVPARFSGSGSGTDFLTISLQPED- FAVYYCQQDSNLPATFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 62)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF YKYAMHWWRQAPGKGLEWWSGIQYDGSY- SY- TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCA- RYYCKCVDLWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 64)

Clone	VL	VH
TP-2G2	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIRK- FYVHWYQQKPGQAPVLVIYGTNKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQSYDSKFNTVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 66)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYAMNWRQAPGKGLEWV- SAILSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCA- RYPDWGWYTDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 68)
TP-2G4	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDALRKHYVY- WYQQKPGQAPVLVIYGDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQSYDKYPILVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 70)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYAMTWRQAPGKGLEWWSNI- SYSGSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARVGYYYGF- DYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 72)
TP-2G5	DMLTQSPATLSLSPGE- RATLSCRASQNVSSNYLA- WYQQKPGQAPRLLIYDA- SNRATGVPARFSGSGTDFLTISLLE- PEDFAVYYCQQFYDSPQTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 74)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNSAAWS- WIRQSPGRGLEWLGFIYRSKWYN- DYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARHNPDLGFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 76)
TP-2G6	DMLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS- QYVTSSYLA- WYQQKPGQAPRLLIYGSSSRATGVPARFSG SGSGTDFLTISLLEPEDFATYYCQ- QYSSSPITFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 78)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SSSAAWSWIRQSPGRGLEWV- GIYYRSKWYNDYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARHSMVGFVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 80)
TP-2G7	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDNLTGYVYH- WYQQKPGQAPVLVIYGDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQTYDSNNESVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 82)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NSYAMSWWRQAPGKGLEWWSNISSNSNT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYY- CARKGGGEHGFPSDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 84)
TP-2G9	DIALTQPASVSGSPGQSI- TISCTGTSSDLGGFNTVSWYQQHPGKAPKL MIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASL- TISGLQAEDEADYYCQ- SYDLNLLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 86)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NSYAMTWRQAPGKGLEWV- SAIKSDGSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYY- CARNDSGWFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 88)
TP-2H10	DMLTQSPATLSLSPGE- RATLSCRASQSVSSFYLA- WYQQKPGQAPRLLIYGSSSRATGVPARFS GSGSGTDFLTISLLEPEDFATYYCQ- QYDSTPSTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 90)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVS SNGAAWG- WIRQSPGRGLEWLGFIYRRSKWYN- SYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARQDGMGGMDSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 92)
TP-3A2	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIG- SRYAYWYQQKPGQAPVWIYDDSDRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYY- CAAYTFYARTVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 94)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SNYYLSWWRQAPGKGLEWWSGI- SYNGSSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARMWRYSL- GADSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 96)

Clone	VL	VH
TP-3A3	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGS- KYVHWYQQKPGQAPVWVYEDSDRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCQSWDKSEGYVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 98)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NNNAISWWRQAPGKGLEWV- SAINSSSSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYY- CARGHHRGHSWASFIDYWGGGLTVTVSS (SEQ ID NO: 100)
TP-3A4	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDNLRDKYAS- WYQQKPGQAPVLIYYSKSERPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCSSYTLNPNLNYVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 102)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYWMHWRQAPGKGLEWVSSI- SYDSSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCA- RYGMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 104)
TP-3B3	DIELTQPASVSVAPGQTA- RISCSGDNLRSKYAH- WYQQKPGQAPVLIYGDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCYCSAYAMGSSPVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 106)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYGMHWRQAPGKGLEWVSN- SYMGSNTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGLFPGYF- DYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 108)
TP-3B4	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNIS- NYLN- WYQQKPGKAPKLLIYGTSSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQ- QYGNNPTTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 110)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAISGDSVS SNGAAWG- WIRQSPGRGLEWLGHIYRSKWYN- SYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARWGGIHDGDIYFDYWGGGLTVTVSS (SEQ ID NO: 112)
TP-3C1	DIALTQPASVSGSPGQSI- TISCTGTSSDLGGFNTVSWYQQHPGKAPKL MIYSVSSRPSGVSNRFSGSKSGNTASL- TISGLQAEDEADYYCQ- SYDLNLLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 86)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYSMHWRQAPGKGLEWVSGI- SYSSSFYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCA- RALGGVDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 136)
TP-3C2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIT- NYLN- WYQQKPGKAPKLLIYDVSNLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYS- GYPLTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 114)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAISGDSVS SSSAAWS- WIRQSPGRGLEWLGMIYRSKWYN- HYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARGGSGVMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 116)
TP-3C3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIN- PYLN- WYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFA- VYYCQLDNRSITFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 118)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAISGDSVS SNSAAWG- WIRQSPGRGLEWLGVIYRSKWYN- DYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA- RARAKKSGGFDYWGGGLTVTVSS (SEQ ID NO: 120)
TP-3D3	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDSLGSKFAH- WYQQKPGQAPVLIYDDSNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYQCSTYTSRSHSYVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 122)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYASWWRQAPGKGLEWVSGISGDGSNTH YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARYDNFYFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 124)

Clone	VL	VH
TP-3E1	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIG-SYYAYWYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA-DYYCQSYDSTGLLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 126)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-SNYAMTWRQAPGKGLEWWSVISSVGSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY-CARPTKAGRTWWWGPYMDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 128)
TP-3F1	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSY-FASWYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYY-CEGSNVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 130)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK-GSGYSFTDYWIGWRQMPGKGLEWMM-GIIQPSDSDTNYSPSFQGGQVTISADKIS-TAYLQWSSLKASDTAMYY-CARFMWWGKYDSGFDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 132)
TP-3F2	DIELTQPPSVSVAPGQTA-RISCSGDNLPSKSVY-WYQQKPGQAPVLVIYGDNNRPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA-DYYCQSWTSRPMWVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 134)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-SSYSMHWRQAPGKGLEWWSGI-SYSSSFTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA-RALGGGVYDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 136)
TP-3G1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIS-SYLHWYQQKPKGKAPKLLIY-GASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQQNGYPFTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 138)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVSNSSGGWGMWRQSPGRGLEWLGIIYRSK WYNAYAVSVKSRI-TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA-RYLGSNFVYSDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 140)
TP-3G3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQ-NIHSHLNWYQQKPKGKAPKLLIY-DASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFAVYYCQQYYDYPLTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 142)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-SSYSMSWRQAPGKGLEWWSISSSSSNTYYGDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARMHYKGMIDIWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 144)
TP-3H2	DIELTQPPSVSVAPGQTA-RISCSGDKLGKYYAY-WYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA-DYYCSSAAFGSTVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 146)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-NSYMSWRQAPGKGLEWWSNISSSGSNTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVHYGDFWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 148)
TP-4A7	DIELTQPPSVSVAPGQTA-RISCSGDALGSKFAH-WYQQKPGQAPVLVIYDDSERPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA-DYYCQAYDSSLVYVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 150)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-RNYAMNWRQAPGKGLEWWSVISGSSSY-TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARADL-PYMVFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 152)
TP-4A9	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDALG-KYYASWYQQKPGQAPVLVIYGDNRPSGI-PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA-DYYCQSYTTRSLVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 154)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF-SSYGMSWRQAPGKGLEWWSLISGVSSSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSYLGYFDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 156)

Clone	VL	VH
TP-4B7	DIMMTQSPLSLPVTGPEPA- SISCRSSQSLVFS DGNTYLN- WYLQKPGQSPQLLIYKGSNRASGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCQQYD- SYPLTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 158)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVS SNSAAWSWRQSPGRGLEWL- GIIYKRSKWYNDYAVSVKSRI- TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY- CARWHSDDKHGFDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO: 160)
TP-4E8	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDALGSKYVS- WYQQKPGQAPVLVIYGDNKRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCQSYTYSLNQVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 162)	QVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCAASGFTF NDYAMSWWRQAPGKGLEWWSLIESVSSST YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAR- TIGVLWDDWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 164)
TP-4G8	DIELTQPPSVSVAPGQTA- RISCSGDKLGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIY RDTDRPSGIPERFSGSNSGNTATL- TISGTQAEDEADYYCQTY- DYILNVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 166)	QVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCAASGFTF STYAMHWRQAPGKGLEWWSLIESVSSST GYGSFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY- CARNGRKYQMDNWVGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 168)
TP-4H8	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDSIGK- KYVHWYQQKPGQAPVLVIYGDNNRPSGI- PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEA- DYCSTADSVITYKNVFGGGTKLTVLGQ (SEQ ID NO: 170)	QVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCAASGFTF SDHAMHWRQAPGKGLEWWSVIEYSGSKT NYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGDYYPYL- FAIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 172)

Reatividade cruzada a TFPI de camundongo

Os 44 clones de ligação ao TFPI humano acima também foram testados quanto à ligação a TFPI de camundongo em ELISA. Dezenove anticorpos foram observados com reatividade cruzada a TFPI de camundongo.

- 5 Para facilitar o estudo com o uso de modelo de hemofilia de camundongo, nós caracterizamos ainda estes 19 anticorpos, assim como cinco anticorpos que eram específicos para TFPI humano. Um conjunto representativo dos dados é mostrado na figura 1. Nenhum destes anticorpos se ligou a BSA ou lisozima no ELISA.

10 Exemplo 2. Expressão e purificação de anticorpos anti-TFPI

- Os anticorpos anti-TFPI (como fragmentos Fab) foram expressos e purificados a partir da cepa bacteriana TG1. Resumidamente, uma única colônia da cepa bacteriana TG1 contendo o plasmídeo de expressão do anticorpo foi selecionada e cultivada de um dia para o outro em 8 ml de meio 2xYT na presença de 34 mg/ml de cloranfenicol e 1% de glicose. Um volume de 7 ml de cultura foi transferido para 250 ml de meio 2xYT contendo 34 mg/ml de cloranfenicol e 0,1% de glicose. Após 3 horas de incubação, 0,5

mM de IPTG foi adicionado para induzir expressão de Fab. A cultura foi continuada de um dia para o outro a 25 °C. A cultura foi centrifugada para pelotizar as células bacterianas. O pélete foi, então, ressuspensão em um tampão de lise Bug Buster (Novagen). Após a centrifugação, o sobrenadante da lise bacteriana foi filtrado. Os fragmentos Fab foram purificados por afinidade através de uma coluna Ni-NTA (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante.

Exemplo 3. Determinação da EC₅₀ e afinidade de ligação dos anticorpos anti-TFPI

Os anticorpos de Fab purificados foram usados para determinar a EC₅₀ dos anticorpos anti-TFPI contra TFPI humano ou de camundongo. A EC₅₀ foi avaliada em um ELISA, de modo similar ao descrito acima. Os resultados foram analisados com o uso de SoftMax. A afinidade de ligação dos anticorpos anti-TFPI foi determinada em um ensaio Biacore. Resumidamente, o antígeno, TFPI humano ou de camundongo, foi imobilizado nos chips CM5 com o uso do kit de acoplamento de amina (GE HealthCare) de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade de TFPI imobilizado foi ajustada para a massa do antígeno para fornecer aproximadamente 300 RU. Os Fabs do anticorpo foram analisados em fase móvel e pelo menos cinco concentrações diferentes (0,1, 0,4, 1,6, 6,4 e 25 nM) dos anticorpos purificados foram usadas no ensaio Biacore. A cinética e a afinidade de ligação foram calculadas com o uso do programa de avaliação Biacore T100.

Conforme mostrado na Tabela 3, os 24 Fabs anti-TFPI mostraram várias EC₅₀ para TFPI humano (0,09 a 792 nM) e TFPI de camundongo (0,06 a 1035 nM), e a afinidade determinada por Biacore variou de acordo para TFPI humano (1,25 a 1140 nM). No estudo Biacore dos Fabs para TFPI de camundongo, a variação da afinidade foi menor (3,08 a 51,8 nM).

Tabela 3. A atividade de ligação de 24 anticorpos contra TFPI humano ou de camundongo como determinado por ELISA e Biacore (hTFPI: TFPI humano; mTFPI: TFPI de camundongo; Neg: sinal foi menor que duas vezes o fundo; ND, não realizado).

Clones de anticorpo	EC ₅₀ da ligação (nM)		Afinidade (nM)	
	hTFPI	mTFPI	hTFPI	mTFPI
TP-2A2	0,62	1035,88	6,57	29,8
TP-2A5	28,64	14,54	35,4	19,6
TP-2A8	0,09	0,06	1,25	3,08
TP-2B11	11,52	0,52	21,5	16,3
TP-2B3	0,84	20,18	7,40	27,0
TP-2C1	0,40	Neg	2,64	Neg
TP-2C7	0,60	0,60	2,01	9,33
TP-2E5	791,60	202,28	115	25,2
TP-2G5	342,52	871,34	42,1	16,1
TP-2G6	0,48	5,18	5,06	46,1
TP-2G7	23,48	Neg	26,9	Neg
TP-2G9	10,80	194,42	48,5	35,7
TP-2H10	2,18	32,40	10,2	11,5
TP-3A4	42,84	326,58	21,6	23,7
TP-3B4	35,76	34,62	14,1	20,4
TP-3C1	32,80	108,40	21,6	33,6
TP-3C2	59,00	956,68	17,1	28,5
TP-3G1	74,40	8,68	1140	49,1
TP-3G3	33,60	47,06	16,0	25,7
TP-4A9	0,17	117,68	7,60	Neg
TP-4B7	0,74	2,64	15,8	51,8
TP-4E8	36,94	Neg	35,9	ND
TP-4G8	846,92	Neg	25,2	ND
TP-4H8	72,50	Neg	32,2	ND

Exemplo 4. Conversão de Fab anti-TFPI em IgG

Todos os anticorpos anti-TFPI identificados eram Fabs completamente humanos que podem ser convertidos, de forma viável, em IgG humana como agente terapêutico. Neste exemplo, entretanto, os Fabs selecionados foram convertidos em um anticorpo quimérico contendo uma região constante de IgG de camundongo, de modo a serem mais adequados para

teste em um modelo de camundongo. A região variável dos anticorpos selecionados foi enxertada em um vetor de expressão de mamífero contendo as regiões constantes de camundongo. A molécula de IgG completamente montada foi, então, transfectada e expressa em células HKB11 (Mei *et al.*,
5 Mol. Biotechnol., 2006, 34: 165-178). O sobrenadante da cultura foi coletado e concentrado. As moléculas de IgG anti-TFPI foram purificadas por afinidade através de uma coluna de proteína G Hitrap (GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante.

Exemplo 5. Seleção de anticorpos neutralizantes anti-TFPI

10 Os anticorpos neutralizantes anti-TFPI foram selecionados com base na sua inibição da atividade de TFPI sob três condições experimentais. A atividade de TFPI foi medida com o uso do teste de atividade de TFPI ACTICHROME[®] (American Diagnostica Inc., Stamford, CT), um ensaio cromogênico em três estágios para medir a capacidade de TFPI inibir a atividade
15 catalítica do complexo TF/FVIIa para ativar o fator X em fator Xa. A atividade neutralizante do anticorpo anti-TFPI é proporcional à quantidade de geração de FXa restaurado. Na primeira condição, os anticorpos anti-TFPI purificados foram incubados com TFPI recombinante humano ou de camundongo (R&D System) nas concentrações indicadas. Após a incubação, as amostras
20 foram misturadas com TF/FVIIa e FX, e a atividade residual do complexo TF/FVIIa foi, então, medida com o uso de FXa SPECTROZYME[®], um substrato cromogênico de fXa altamente específico. Este substrato foi clivado apenas pelo FXa gerado no ensaio, liberando um cromóforo de p-nitroanilina (pNA), que foi medido a 405 nm. A atividade de TFPI presente na amostra
25 foi interpolada a partir de uma curva padrão construída com o uso de níveis conhecidos de atividade de TFPI. O ensaio foi realizado no modo "end-point". Nas duas outras condições, os anticorpos anti-TFPI foram reforçados em plasma humano normal ou plasma hemofílico A, e a geração de FXa restaurado foi medida.

Exemplo 6. Os anticorpos anti-TFPI encurtam o tempo de coagulação em um teste de tempo de protrombina diluída (dPT)

O teste de dPT foi executado essencialmente conforme descrito

em Welsch *et al.*, *Thrombosis Res.*, 1991, 64(2): 213-222. Resumidamente, plasma humano normal (FACT, George King Biomedical), plasma esgotado em TFPI humano (American Diagnostica) ou plasma hemofílico A (George King Biomedical) foram preparados pela mistura de plasma com 0,1 volume de tampão de controle ou anticorpos anti-TFPI. Após incubação durante 30 min a 25 °C, as amostras de plasma (100 ml) foram combinadas com 200 ml de Simplastina (Biometieux) apropriadamente diluída (diluição de 1:500) como uma fonte de tromboplastina e o tempo de coagulação foi determinado com o uso de um fibrômetro STA4 (Stago). A tromboplastina foi diluída com PBS ou tampão à base de Tris 0,05 M (pH 7,5) contendo 0,1 M de cloreto de sódio, 0,1% de albumina sérica bovina e 20 mM de cloreto de cálcio.

Exemplo 7. Os anticorpos anti-TFPI, sozinhos ou em combinação com fator VIII ou fator IX recombinante, encurtam o tempo de coagulação do sangue em um teste ROTEM

O sistema ROTEM (Pentapharm GmbH) incluiu um instrumento de quatro canais, um computador, padrões de plasma, ativadores e recipientes e pinos descartáveis. Os parâmetros trombelastográficos dos sistemas de hemostase ROTEM incluíram: tempo de coagulação (CT), que reflete o tempo da reação (o tempo necessário para se obter amplitude de 2 mm após o início da coleta de dados) para iniciar a coagulação do sangue; tempo de formação de coágulo (CFT) e o ângulo alfa para refletir a propagação da coagulação, e a amplitude máxima e o módulo elástico máximo para refletir a firmeza do coágulo. No teste ROTEM, 300 ml de sangue total ou plasma fresco citratado foram avaliados. Todos os constituintes foram reconstituídos e misturados de acordo com as instruções do fabricante, com coleta de dados durante o período de tempo necessário para cada sistema. Resumidamente, as amostras foram misturadas por remoção/dispensação de 300 ml de sangue ou plasma com uma pipeta automática em recipientes ROTEM com 20 ml de CaCl₂ (200 mmols) adicionado, seguido imediatamente pela mistura da amostra e início da coleta de dados. Os dados foram coletados durante 2 horas com o uso de um sistema ROTEM controlado por computador (versão do programa 2.96).

Um resultado exemplificador do teste ROTEM na detecção do efeito de anticorpos anti-TFPI em encurtar o tempo de coagulação do sangue é mostrado nas figuras 3 e 5. A figura 3 mostra que TP-2A8-Fab encurtou o tempo de coagulação em plasma hemofílico A humano ou sangue total hemofílico A de camundongo, sozinho ou em combinação com FVIII recombinante, quando o sistema ROTEM foi iniciado com NATEM. A figura 5 mostra que os anticorpos anti-TFPI no formato IgG (TP-2A8, TP-3G1, e TP-3C2) encurtaram os tempos de coagulação em comparação a um anticorpo IgG camundongo de controle negativo. Com base nestes resultados e no conhecimento da técnica, o versado na técnica esperaria que estes anticorpos anti-TFPI também encurtassem o tempo de coagulação em combinação com FIX recombinante em comparação a estes anticorpos sozinhos.

Exemplo 8. Atividade funcional *in vitro* de anticorpos anti-TFPI

Para investigar os anticorpos TFPI no bloqueio da função de TFPI, o teste cromogênico ACTICHROME e tempo de protrombina diluída (dPT) foram usados para testar a atividade funcional dos anticorpos obtidos a partir de *panning* e seleção. Em ambos os testes, um anticorpo monoclonal de rato anti-TFPI (R&D System) foi usado como controle positivo e Fab policlonal humano foi usado como controle negativo. No teste cromogênico, oito dos anticorpos inibiram mais de 50% da atividade de TFPI em comparação ao anticorpo monoclonal de rato (Tabela 4). No teste de dPT, todos estes oito Fabs anti-TFPI mostraram um efeito altamente inibitório, encurtando o tempo de coagulação abaixo de 80 segundos, e quatro dos oito Fabs encurtaram o dPT abaixo de 70 segundos. A dependência da dose de quatro dos clones representativos em encurtar o dPT é mostrada na figura 2. Entretanto, outros Fabs humanos anti-TFPI com baixa ou nenhuma atividade inibitória de TFPI também encurtaram o tempo de coagulação em dPT. Por exemplo, TP-3B4 e TP-2C7, embora mostrando menos que 25% de atividade inibitória, foram capazes encurtar o dPT para menos que 70 segundos. Uma análise de regressão linear simples da atividade inibitória e do dPT sugere uma correlação significativa ($p=0,0095$), mas grande variância (R quadrado = 0,258).

Tabela 4. A atividade funcional *in vitro* dos anticorpos anti-TFPI como de-

terminado por sua atividade de inibição no teste de TFPI humano e no teste de dPT.

Clone	% de inibição da atividade de hTFPI	dPT em plasma com hemoA (seg)
anti-TFPI	100%	63,5
TP-2B3	100%	74,0
TP-4B7	100%	53,9
TP-3G1	93%	75,1
TP-3C2	92%	68,9
TP-2G6	86%	62,8
TP-2A8	100%	57,9
TP-2H10	63%	79,5
TP-2G7	55%	72,2
TP-4G8	39%	73,9
TP-2G5	36%	73,2
TP-2A5	30%	70,8
TP-4E8	29%	71,9
TP-4H8	28%	76,5
TP-3B4	25%	69,1
TP-2A2	23%	70,9
TP-2C1	21%	70,9
TP-3G3	15%	70,7
TP-2E5	0%	79,0
TP-3A4	0%	72,3
TP-3C1	0%	72,3
TP-2B11	0%	82,6
TP-2C7	0%	62,5
TP-2G9	0%	82,7
não tratado	0%	92,9

Um dos Fabs anti-TFPI, Fab-2A8, também foi testado no teste ROTEM no qual plasma humano com hemofilia A com um baixo teor de fator

VIII ou sangue total de camundongo com hemofilia A foi usado. Conforme mostrado na figura 3, em comparação a um anticorpo policlonal de coelho anti-TFPI, o Fab-2A8 mostrou atividade similar em plasma humano com hemofilia A, reduzindo o tempo de coagulação (CT) de 2200 segundos para aproximadamente 1700 segundos. Quando o sangue total de camundongo com hemofilia A foi usado, o anticorpo de controle, anti-TFPI de coelho, encurtou o CT de 2700 segundos para 1000 segundos, enquanto que o Fab-2A8 encurtou o CT de 2650 segundos para 1700 segundos. Estes resultados indicam que o Fab-2A8 pode encurtar significativamente o tempo de coagulação em plasma humano e em sangue de camundongo ($p = 0,03$).

Exemplo 9. Função dos anticorpos anti-TFPI após conversão em IgG quimérica

Testes *in vitro* de geração de fator Xa e de tempo de protrombina diluída indicam que pelo menos seis dos 24 Fabs anti-TFPI, TP-2A8, TP-2B3, TP-2G6, TP-3C2, TP-3G1 e TP-4B7, podiam bloquear a função de TFPI. Para facilitar o estudo *in vivo* com o uso de camundongos com hemofilia A, nós convertimos estes seis Fabs humanos anti-TFPI em IgG quimérica, com o uso do isotipo IgG1 murino. O vetor de expressão de IgG foi transfecado em células HKB11, e o anticorpo expresso foi coletado no sobrenadante da cultura e purificado em coluna de proteína G. Quando um clone representativo, 2G6-Fab, foi convertido em IgG, o 2G6-IgG mostrou um aumento de duas vezes da EC_{50} de ligação a TFPI humano (de 0,48 nM para 0,22 nM) e um aumento de 10 vezes para TFPI de camundongo (de 5,18 nM para 0,51 nM). Os resultados da ligação de IgG-2G6 a TFPI humano e de camundongo são mostrados na figura 4.

Exemplo 10. Efeito sobre a taxa de sobrevivência em modelo de transecção da veia da cauda de camundongo com hemofilia A (HemA)

Um modelo de transecção da veia da cauda de camundongo foi estabelecido para avaliação farmacológica. Este modelo simula a ampla gama de fenótipos de sangramento observados entre indivíduos normais e hemofílicos graves. Para estes estudos, foram usados camundongos machos com hemofilia A (8 semanas de idade e com 20 a 26 gramas). Os ca-

mundongos foram administrados através de infusão na veia da cauda com anticorpo monoclonal anti-TFPI (40 µg/camundongo), sozinho ou junto com um fator da coagulação como FVIII (0,1 IU/camundongo) antes da lesão. 24 horas após a dosagem, a veia esquerda da cauda foi cortada a 2,7 mm da
5 ponta (no diâmetro). A sobrevivência foi observada ao longo de 24 horas após a transecção. Foi demonstrado que a taxa de sobrevivência era dependente da dose com administração de FVIII recombinante (dados não mostrados). Os dados mostrados na figura 8 foram de dois estudos separados (n = 15 e n = 10, respectivamente). Os resultados mostraram que a TP-2A8-IgG prolongou
10 significativamente a sobrevivência de camundongos com hemofilia A em comparação à IgG do camundongo de controle; e, em combinação com FVIII recombinante, apresentaram uma taxa de sobrevivência melhor do que qualquer agente sozinho.

**Exemplo 11. A combinação do anticorpo anti-TFPI com fator
15 VIIa recombinante encurtou ainda mais o tempo de coagulação e o tempo para formação de coágulo**

O efeito combinado do anticorpo anti-TFPI e do FVIIa recombinante (Novo Nordisk) foi avaliado em um sistema ROTEM com o uso de EX-TEM (diluição de 1:1000) e sangue total de camundongo com hemofilia A.
20 As quantidades indicadas de anticorpo anti-TFPI, TP-2A8-IgG ("2A8"), e FVIIa recombinante ("FVIIa"), foram adicionadas em 300 µl de sangue total citratado de camundongo com hemofilia A, e a coagulação do sangue foi iniciada com o uso do sistema EXTEM. A figura 9 mostra que a adição de TP-2A8-IgG ou FVIIa recombinante em sangue total de camundongo com hemofilia A
25 encurtou o tempo de coagulação e o tempo para formação de coágulo, respectivamente. A combinação de TP-2A8-IgG e FVIIa recombinante ("2A8 + FVIIa") encurtou ainda mais o tempo de coagulação e o tempo para formação de coágulo, indicando que a combinação de anticorpo anti-TFPI com FVIIa recombinante é útil no tratamento de pacientes com hemofilia com ou
30 sem inibidores.

Exemplo 12. Os anticorpos anti-TFPI encurtaram o tempo de coagulação em sangue hemofílico humano induzido com inibidor de

FVIII.

Os anticorpos anti-TFPI selecionados, 2A8 e 4B7, também foram testados em um teste ROTEM teste com o uso de anticorpos neutralizantes de FVIII para induzir hemofilia no sangue total extraído de pacientes não-hemofílicos. A figura 10 mostra que o sangue humano normal tem um tempo de coagulação de aproximadamente 1000 segundos. Na presença de anticorpos neutralizantes de FVIII (PAH, 100 micrograma/mL), o tempo de coagulação foi prolongado para aproximadamente 5200 segundos. O tempo de coagulação prolongado foi significativamente encurtado pela adição de um anticorpo anti-TFPI, 2A8 ou 4B7, indicando que o anticorpo anti-TFPI é útil no tratamento de pacientes hemofílicos com inibidores.

Exemplo 13. Os anticorpos anti-TFPI inibitórios se ligam ao domínio Kunitz 2 de TFPI humano

Western blots e ELISA foram usados para determinar qual(is) o(s) domínio(s) de TFPI os anticorpos inibitórios se ligam. TFPI humano de extensão completa recombinante ou domínios de TFPI foram usados para estes estudos. O ELISA foi similar ao Exemplo 3. No Western Blot, TFPI humano ou os domínios foram corridos em um SDS PAGE 4 a 12% de Bis-Tris com tampão de corrida MES (Invitrogen, Carlsbad, CA) e, então, transferidos para uma membrana de celulose. Após incubação com anticorpos inibitórios durante 10 minutos, a membrana foi lavada três vezes com o uso do sistema SNAPid (Millipore, Billerica, MA). Um anticorpo de jumento anti-camundongo conjugado a HRP (Pierce, Rockford, IL) a uma diluição de 1 para 10.000 foi incubado com a membrana durante 10 minutos. Após uma etapa de lavagem similar, a membrana foi revelada com o uso do substrato SuperSignal (Pierce, Rockford, IL). Enquanto o anticorpo antidomínio Kunitz 1 de controle se liga ao TFPI de extensão completa, TFPI truncado e domínios, os anticorpos anti-TFPI inibitórios se ligam apenas ao TFPI contendo o domínio Kunitz 2. Isto indica que a ligação ao domínio Kunitz 2 é necessária para a função inibitória do anticorpo.

Tabela 5. Os domínios ligados pelos anticorpos, como determinado por Western blots e ELISA

	Anti-K1	mIgG	TP-2A8	TP-2B3	TP-2G6	TP-3C2	TP-3G1	TP-4B7
Extensão completa	+	-	+	+	+	+	+	+
K1+K2+K3	+	-	+	+	+	+	+	+
K1+K2	+	-	+	+	+	+	+	+
K1	+	-	-	-	-	-	-	-

Embora a presente invenção tenha sido descrita com relação às modalidades específicas e exemplos, deve-se compreender que várias modificações e alterações podem ser feitas e equivalentes podem ser substituídos sem se afastar do verdadeiro espírito e escopo da invenção. O relatório descritivo e os exemplos devem, conseqüentemente, ser considerados em sentido ilustrativo e não restritivo. Além disso, todos os artigos, livros, pedidos de patente e patentes aqui referidos estão incorporados a título de referência em suas totalidades.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, que compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 388-430.

2. Anticorpo isolado, de acordo com a reivindicação 1, que compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387, ou (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344 e uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387.

3. Anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, que compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301.

4. Anticorpo isolado, de acordo com a reivindicação 3, que compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258, ou (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215 e uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258.

5. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, que compreende, adicionalmente, uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301.

6. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 5, que compreende, adicionalmente, (a) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoá-

cido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 302-344, (b) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 345-387, (c) uma CDR1 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 173-215, e (d) uma CDR2 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 216-258.

7. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, que compreende regiões variáveis das cadeias pesada e leve que compreendem:

(a) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 173, 216 e 259, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 302, 345 e 388;

(b) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 174, 217 e 260, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 303, 346 e 389;

(c) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 175, 218 e 261 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 304, 347 e 390;

(d) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 176, 219 e 262, e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 305, 348 e 391;

(e) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 177, 220 e 263 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 306, 349 e 392;

(f) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 178, 221 e 264 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 307, 350 e 393;

- (g) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 179, 222 e 265 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 308, 351 e 394;
- 5 (h) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 180, 223 e 266 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 309, 352 e 395;
- (i) uma região variável da cadeia leve que compreende
10 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 181, 224 e 267 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 310, 353 e 396;
- (j) uma região variável da cadeia leve que compreende
15 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 182, 225 e 268 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 311, 354 e 397;
- (k) uma região variável da cadeia leve que compreende
20 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 183, 226 e 269 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 312, 355 e 398;
- (l) uma região variável da cadeia leve que compreende
uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 184, 227 e 270 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 313, 356 e 399;
- 25 (m) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 185, 228 e 271 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 314, 357 e 400;
- (n) uma região variável da cadeia leve que compreende
30 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 186, 229 e 272 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 315, 358 e 401;

(o) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 187, 230 e 273 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 316, 359 e 402;

5 (p) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 188, 231 e 274 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 317, 360 e 403;

10 (q) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 189, 232 e 275 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 318, 361 e 404;

15 (r) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 190, 233 e 276 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 319, 362 e 405;

20 (s) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 191, 234 e 277 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 320, 363 e 406;

(t) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 192, 235 e 278 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 321, 364 e 407;

25 (u) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 193, 236 e 279 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 322, 365 e 408;

30 (v) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 194, 237 e 280 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 323, 366 e 409;

(w) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 195, 238 e 281 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 324, 367 e 410;

5 (x) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 196, 239 e 282 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 325, 368 e 411;

(y) uma região variável da cadeia leve que compreende
10 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 197, 240 e 283 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 326, 369 e 412;

(z) uma região variável da cadeia leve que compreende
15 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 198, 241 e 284 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 327, 370 e 413;

(aa) uma região variável da cadeia leve que compreende
20 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 199, 242 e 285 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 328, 371 e 414;

(bb) uma região variável da cadeia leve que compreende
uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 200, 243 e 286 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 329, 372 e 415;

25 (cc) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 201, 244 e 287 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 330, 373 e;

(dd) uma região variável da cadeia leve que compreende
30 uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 202, 245 e 288 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 331, 374 e 417;

(ee) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 203, 246 e 289 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 332, 375 e 418;

5 (ff) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 204, 247 e 290 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 333, 376 e 419;

10 (gg) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 205, 248 e 291 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 334, 377 e 420;

15 (hh) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 206, 249 e 292 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 335, 378 e 421;

20 (ii) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 207, 250 e 293 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 336, 379 e 422;

(jj) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 208, 251 e 294 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 337, 380 e 423;

25 (kk) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 209, 252 e 295 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 338, 381 e 424;

30 (ll) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 210, 253 e 296 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 339, 382 e 425;

(mm) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 211, 254 e 297 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 340, 383 e 426;

5 (nn) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 212, 255 e 298 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 341, 384 e 427;

10 (oo) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 213, 256 e 299 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 342, 385 e 428;

15 (pp) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 214, 257 e 300 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 343, 386 e 429;

20 (qq) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 215, 258 e 301 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 344, 387 e 430; ou

(rr) uma região variável da cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 194, 237 e 280 e uma região variável da cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido que compreende as SEQ ID NOs: 335, 378 e 421.

25 8. Anticorpo monoclonal, de acordo com a reivindicação 1, que compreende:

(a) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 2 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 4;

30 (b) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 6 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 8;

- (c) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 10 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 12;
- 5 (d) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 14 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 16;
- (e) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 18 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 20;
- 10 (f) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 22 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 24;
- (g) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 26 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 28;
- 15 (h) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 30 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 32;
- (i) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 34 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 36;
- 20 (j) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 38 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 40;
- 25 (k) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 42 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 44;
- (l) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 46 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 48;
- 30 (m) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 50 e uma região variável da cadeia pesada

que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 52;

(n) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 54 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 56;

5 (o) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 58 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 60;

(p) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 62 e uma região variável da cadeia pesada
10 que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 64;

(q) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 66 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 68;

(r) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 70 e uma região variável da cadeia pesada
15 que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 72;

(s) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 74 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 76;

20 (t) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 78 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 80;

(u) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 82 e uma região variável da cadeia pesada
25 que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 84;

(v) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 86 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 88;

(w) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 90 e uma região variável da cadeia pesada
30 que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 92;

(x) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência

de polipeptídeo da SEQ ID NO: 94 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 96;

(y) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 98 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 100;

(z) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 102 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 104;

(aa) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 106 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 108;

(bb) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 110 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 112;

(cc) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 114 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 116;

(dd) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 118 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 120;

(ee) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 122 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 124;

(ff) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 126 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 128;

(gg) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 130 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 132;

(hh) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 134 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 136;

- (ii) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 138 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 140;
- (jj) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 142 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 144;
- (kk) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 146 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 148;
- (ll) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 150 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 152;
- (mm) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 154 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 156;
- (nn) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 158 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 160;
- (oo) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 162 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 164;
- (pp) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 166 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 168;
- (qq) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 170 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 172; or
- (rr) uma região variável da cadeia leve que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 86 e uma região variável da cadeia pesada que tem a sequência de polipeptídeo da SEQ ID NO: 136.

9. Anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma região variável

da cadeia pesada humana que compreende uma sequência de aminoácido que tem pelo menos 96% de identidade a uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas sequências de aminoácido descritas nas SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:108, SEQ ID NO:112, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:132, SEQ ID NO:136, SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:152, SEQ ID NO:156, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:164, SEQ ID NO:168, e SEQ ID NO:172.

10. Anticorpo monoclonal isolado que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma região variável da cadeia leve humana que compreende uma sequência de aminoácido que tem pelo menos 97% de identidade a uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas sequências de aminoácido descritas em SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:110, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:122, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:134, SEQ ID NO:138, SEQ ID NO:142, SEQ ID NO:146, SEQ ID NO:150, SEQ ID NO:154, SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:162, SEQ ID NO:166, e SEQ ID NO:170.

11. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ou 10, que é selecionado do grupo que consiste em um anticorpo de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgA secretória, IgD, e IgE.

12. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,

9, 10 ou 11, em que o tempo de coagulação do sangue na presença do anticorpo é reduzido quando medido pelo tempo de protrombina diluída.

13. Anticorpo, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou 11, que é um fragmento de anticorpo ou um anticorpo de cadeia
5 única.

14. Composição farmacêutica, que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz do anticorpo monoclonal como definido na reivindicação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou 13, e um veículo farmacêuticamente aceitável.

10 15. Método para tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 14, a um paciente.

15 16. Método, de acordo com a reivindicação 15, que trata hemofilia A ou B.

17. Método para reduzir o tempo de sangramento, que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 14, a um paciente.

20 18. Método para tratar deficiências genéticas e adquiridas na coagulação, que compreende administrar (a) uma primeira quantidade de um anticorpo monoclonal que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano e (b) uma segunda quantidade de fator VIII ou fator IX, em que as ditas primeira e segunda quantidades juntas são eficazes para tratar as ditas deficiências ou defeitos e em que, adicionalmente, o fator VII não é coadministrado.
25

19. Composição farmacêutica, que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz da combinação de (a) um anticorpo monoclonal como definido na reivindicação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou 13, e (b) fator VIII ou fator IX; em que a composição é isenta de fator VII.

30 20. Método para tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindi-

cação 19, a um paciente em necessidade.

21. Método para reduzir o tempo de sangramento, que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 19, a um paciente.

5 22. Anticorpo monoclonal completamente humano isolado para um inibidor da via do fator tecidual humano.

23. Composição farmacêutica, que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal como definido na reivindicação 22 e um veículo farmacêuticamente aceitável.

10 24. Método para tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 23, a um paciente.

15 25. Método, de acordo com a reivindicação 24, que compreende, adicionalmente, administrar fator VIII ou fator IX.

26. Molécula de ácido nucleico isolada, que codifica um anticorpo que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 388-430.

20 27. Molécula de ácido nucleico isolada, que codifica um anticorpo que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, em que o anticorpo compreende uma CDR3 que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301.

25 28. Método para produzir um anticorpo monoclonal completamente humano que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, que compreende:

(i) transfectar uma sequência de nucleotídeo que codifica o anticorpo monoclonal completamente humano em uma célula hospedeira, e
(ii) cultivar a célula hospedeira de modo a expressar o anticorpo monoclonal.

30

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, em que o anticorpo monoclonal compreende uma CDR3 que compreende uma sequência

de aminoácido selecionada a partir do grupo de sequências que consiste nas SEQ ID NOs: 388-430.

30. Método para produzir um anticorpo monoclonal que se liga ao inibidor da via do fator tecidual humano, que compreende:

5 (i) transfectar uma sequência de nucleotídeo que codifica o anticorpo monoclonal em uma célula hospedeira, e

(ii) cultivar a célula hospedeira de modo a expressar o anticorpo monoclonal,

em que o anticorpo monoclonal compreende uma CDR3 que compreende
10 uma sequência de aminoácido selecionada a partir do grupo de sequências que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301.

31. Método, de acordo com a reivindicação 29, em que o anticorpo monoclonal compreende uma CDR3 de cadeia pesada que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste nas
15 SEQ ID NOs: 388-430 e uma CDR3 de cadeia leve que compreende uma sequência de aminoácido selecionada do grupo de sequências que consiste nas SEQ ID NOs: 259-301.

32. Anticorpo monoclonal completamente humano isolado para o domínio Kunitz 2 do inibidor da via do fator tecidual humano.

20 33. Composição farmacêutica, que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal como definido na reivindicação 32 e um veículo farmacêuticamente aceitável.

34. Método para tratar deficiências ou defeitos genéticos e adquiridos na coagulação, que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 33 a um paciente.
25

35. Método, de acordo com a reivindicação 34, que compreende, adicionalmente, administrar fator VII, fator VIII ou fator IX.

FIG. 1

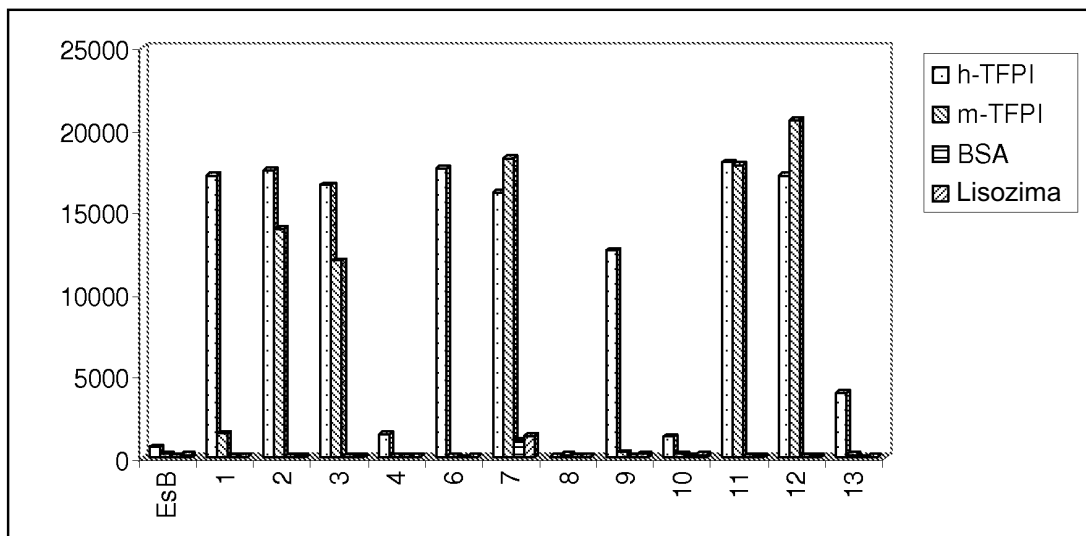


FIG. 2

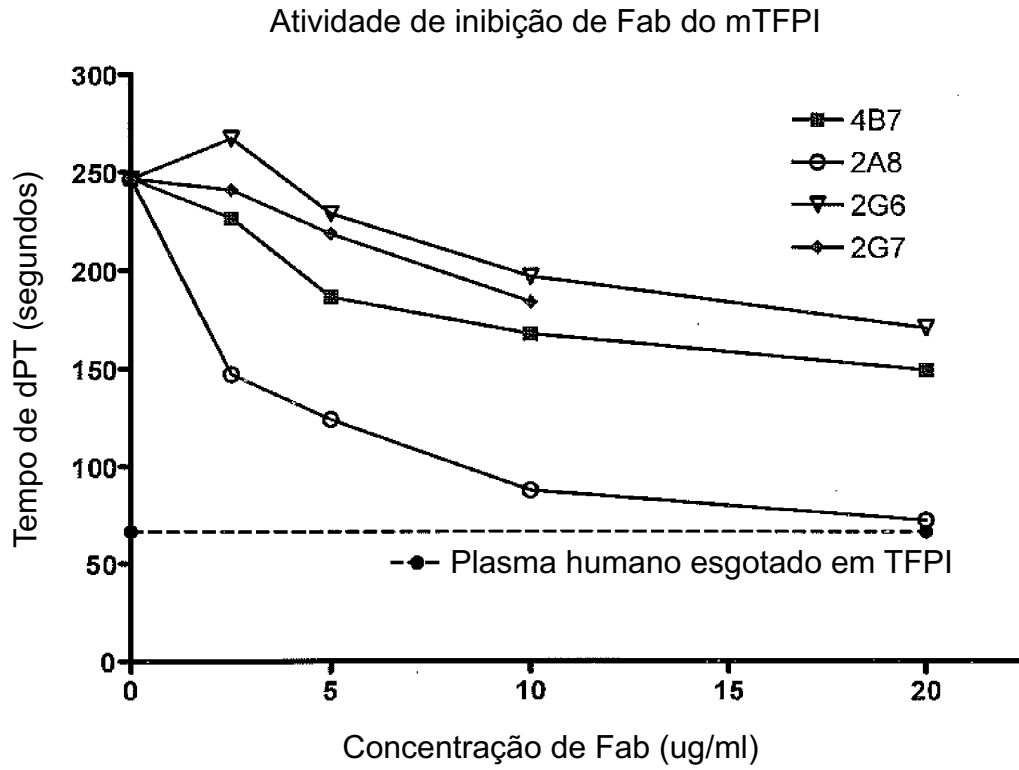


FIG. 3

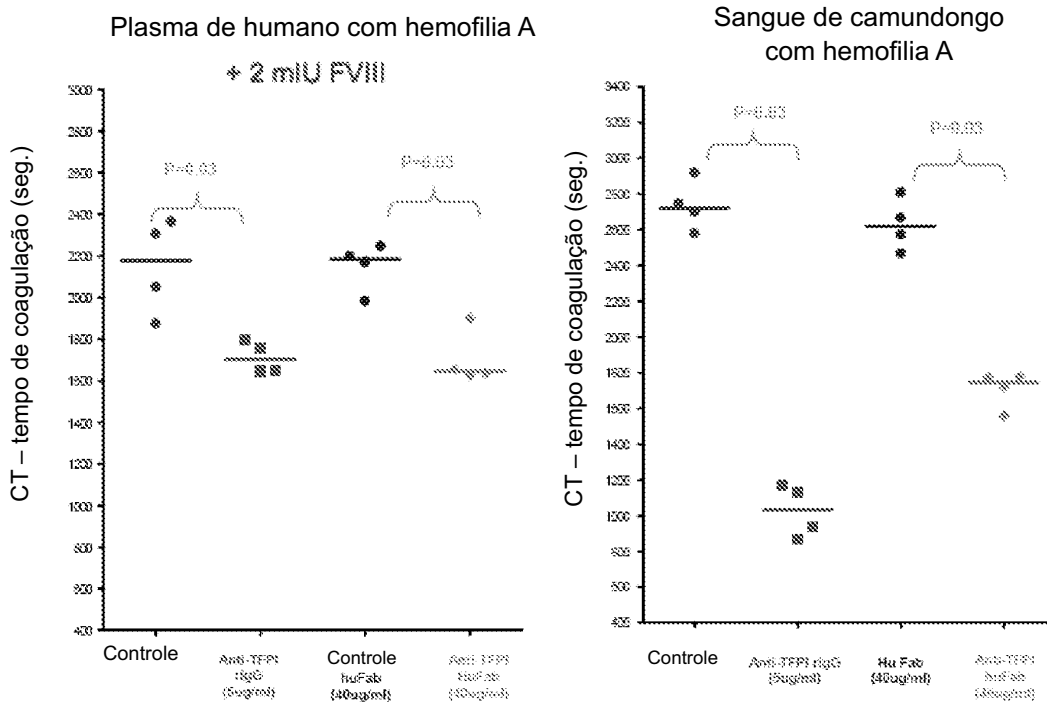


FIG. 4

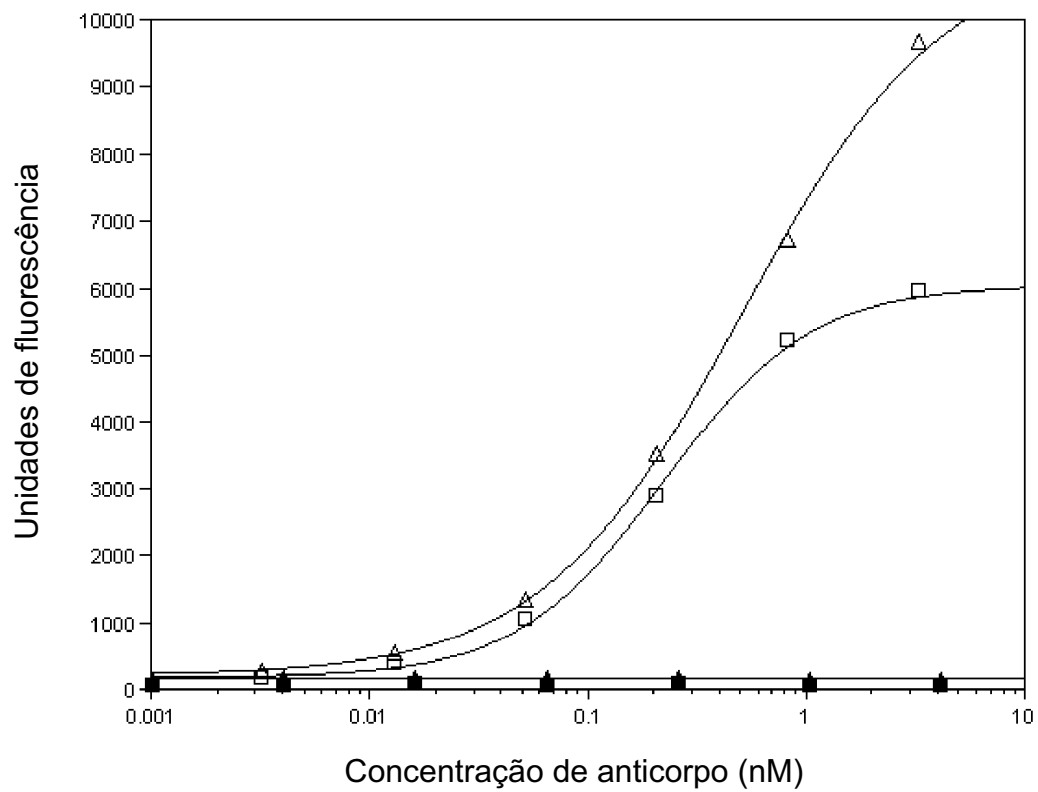


FIG. 5

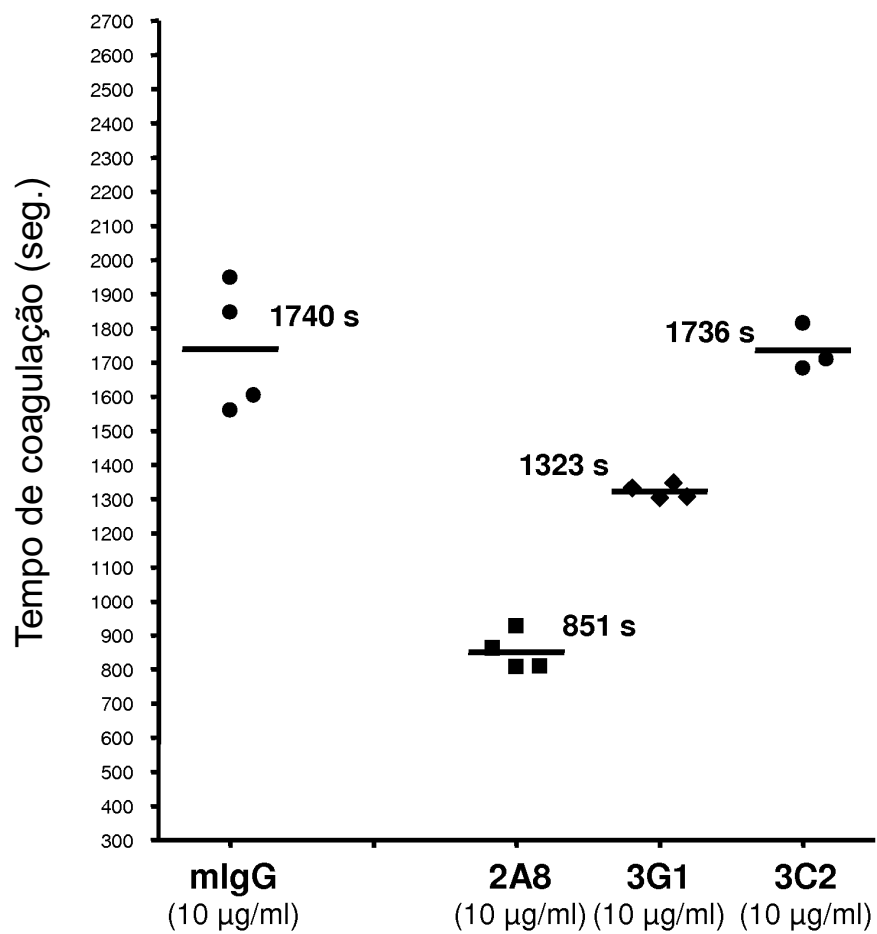


FIG. 6

	CDR1	CDR2	CDR3
TP-2A10	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQAWG--SISRFVPGGGTKLTVLGG		
TP-2B1	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSWTPGS-NIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2A2	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSDSEA-DSEVFGGGTKLTVLGG		
TP-2G2	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYDSK7-N-IVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2A5.1	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSFQD--AGSYFVPGGGTKLTVLGG		
TP-3A3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSWDKS3GVV--PGGGTKLTVLGG		
TP-2A3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSWDDG--VIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2B3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSWD5PY--VIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2G7	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQTYDSNN-BSIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-4H3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSTADSVITVYKIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2G4	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYDRP-YPIVFGGGTKLTVLGG		
TP-3F2	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSWT--SRPVIWFGGGTKLTVLGG		
TP-2A6	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQASYSV-SVW-VFGGGTKLTVLGG		
TP-3A2	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQAAAT-FY-ARTVFGGGTKLTVLGG		
TP-2C1	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQAYTEQS-ISRIVFGGGTKLTVLGG		
TP-3E1	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYD-ST-GLVFGGGTKLTVLGG		
TP-3F1	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQ--GSAVFGGGTKLTVLGG		
TP-3C3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSTYTSRS-ESVFGGGTKLTVLGG		
TP-4A7	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQAYDS-G-LIVFGGGTKLTVLGG		
TP-4G3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQTYD-YILN-VFGGGTKLTVLGG		
TP-2B3	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQLKSP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2F3	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQDNLKSP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2G5	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQFYDSF--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2G6	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQYSSSP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2H10	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQYDSTP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2B9	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQYSDSP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2C7	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQRKCFP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-3G3	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQYDYDZ--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-3C2	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQYCYDZ--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-3B4	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQYQKNEP--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2E5	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQIQVNLK--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-3C3	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQLDKRS--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-3G1	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQQYQCYDZ--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2D7	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQYDQVNA--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-4B7	DIVIQS>PSSLSASVGDVITICRASQNISS-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQYDQVNA--VIFGQGTKVEIKRT		
TP-2E3	DIAIQ->PFSVSGSPQSILISCTQSSDLGEE--YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSSADKFT-MSIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2G9	DIAIQ->PFSVSGSPQSILISCTQSSDLGEE--YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYDIN--NIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-3C1	DIAIQ->PFSVSGSPQSILISCTQSSDLGEE--YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYDIN--NIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-3A4	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSSYTT-NENLIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-2B4	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYDAG-VKIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-3H2	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSSAAFQ--SIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-4A9	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYTTR--SIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-4B3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSYTTR--SIVPFGGGTKLTVLGG		
TP-3B3	DIEIQ->PFSVVAEGQTARISCSCKLGG-----YVHWYQQXPCQAPVLIYGDNRPSGEPDRPSCSNISGNTALITISCTQAEDEADYYCQSSAFAFG--SIVPFGGGTKLTVLGG		

FIG. 7

	CDR1	CDR2	CDR3
TP-2A10	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTTSSYKHWVRQAPGKGLEWVSAISY-IGSNTHYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARAFLG----YKESYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3B3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYGMWVRQAPGKGLEWVSNISY-VGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR---G----LPPCYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2G4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYAKTWVRQAPGKGLEWVSNISY-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARVG-----YYGFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2A5.1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYGSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARVNISS-----THFDIWCQGGLMTVSS		
TP-4A9	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYGMWVRQAPGKGLEWVSLISG-VSSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----SYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2A8	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYGMWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----KYRWFYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B3	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARHMSKYG--G-PGDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B9	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARVSSIC-----HDIWCQGGLMTVSS		
TP-2E10	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARQDGMCG-----KDSIWCQGGLMTVSS		
TP-3B4	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARWGIHD--GDIYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2C7	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARSNWS-----CYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B3	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARVNYI-----SSDIWCQGGLMTVSS		
TP-3C3	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARARAKKS----GGFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2C5	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARINPD-----GFDIWCQGGLMTVSS		
TP-4B7	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARWESDKH----WGFYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2C6	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARISMV-----GFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3C2	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCAR-----GG--S-GVDFIWCQGGLMTVSS		
TP-2D7	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARQDGNR----AGDFIWCQGGLMTVSS		
TP-3G1	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARVLSA----PYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B5	QVQLVQSGPGLVKPQGLTSLCAISGDSVSSNSAANGWIRQSPGRGLEWLGMIYRRSKWNYSYAVSVKSRCTINPDTSKXQPS_CLNSTPDECTAVYYCARVNAK----YAFYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B8	QVQLVQSGAEVKKPQAGVAVKVCXKASC--YPTCNKSKHWVRQAPGKGLEWVGIIFP-YDGTTKYACXPCQVCTMTRDTSLSLAYMELSLRSECTAVYYCARGVLS-----YFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3F1	QVQLVQSGAEVKKPQGSILRSCXGSG--YSPDYWGWVRQAPGKGLEWVGIIFP-SDSDTKYASPCQVCTISADKSLSTAY_CWNSLRAECTAVYYCARVHWG----KYDSGFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3A3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNANA.SWVRQAPGKGLEWVSAIKS-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARQGHK--GHSWAFDIIWCQGGLMTVSS		
TP-4B8	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNDAKSWVRQAPGKGLEWVSLIES-VSSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----TIQV.WDIIWCQGGLMTVSS		
TP-4A7	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNDAKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARAD-----LPIWFDIWCQGGLMTVSS		
TP-4E8	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSDHAKWVRQAPGKGLEWVSVIEY-SGNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARQDY-----YPIVAFIWCQGGLMTVSS		
TP-2A6	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSRYAKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARLH----GIGFYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2C1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSPIYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----GDSYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3G3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----MEYKGFYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARVNG-----GLDIWCQGGLMTVSS		
TP-2G7	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNDAKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARVCG-----GEGFFPFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3E2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNDAKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----VHYG--FDIWCQGGLMTVSS		
TP-2A2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSNAKSWVRQAPGKGLEWVSTISY-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARQAG--GWTYSYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3E1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSYAKTWVRQAPGKGLEWVSVISG-VGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARPTKACRTHWCPYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2G2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYAKWVRQAPGKGLEWVSAIKS-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----YDPCWYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-3D3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYASWVRQAPGKGLEWVSVISG-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARVNI-----FYFDIWCQGGLMTVSS		
TP-2G9	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFNDAKSWVRQAPGKGLEWVSAIKS-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----NDSGFYDIWCQGGLMTVSS		
TP-2B4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSKYMTWVRQAPGKGLEWVSVISG-VGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARIIY-----YMKLAG-WCQGGLMTVSS		
TP-3A2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSKYLSWVRQAPGKGLEWVSVISG-VGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARMM-----RYS.GADSWCQGGLMTVSS		
TP-2F9	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFYKYAKWVRQAPGKGLEWVSVISG-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----YKCYDIWCQGGLMTVSS		
TP-3A4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-DGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCAR-----YGGDYWCQGGLMTVSS		
TP-3C1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARAL-----GGDYWCQGGLMTVSS		
TP-3F2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSSYKSWVRQAPGKGLEWVSVISG-SGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARAL-----GGDYWCQGGLMTVSS		
TP-4G8	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASC--PTFSTYAKWVRQAPGKGLEWVSTISG-YGNSNTYADSVKGRPTISRDNKXNTLY_CYNLRAECTAVYYCARNGR-----KYCQDIIWCQGGLMTVSS		

FIG. 8

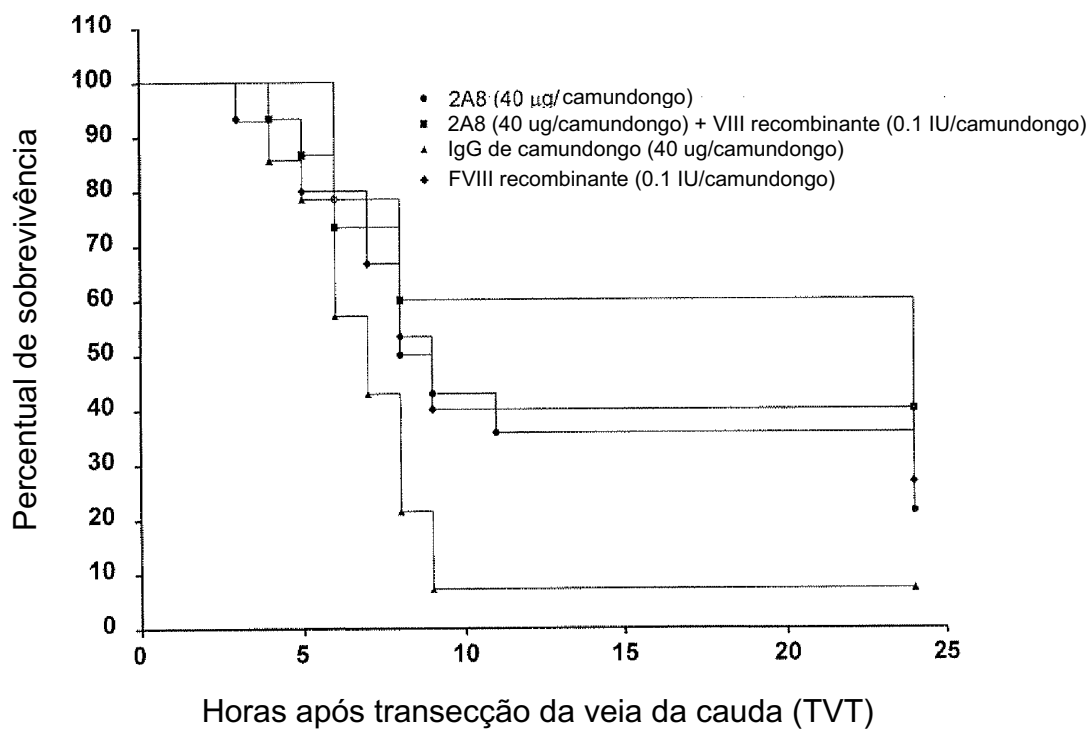


FIG. 9

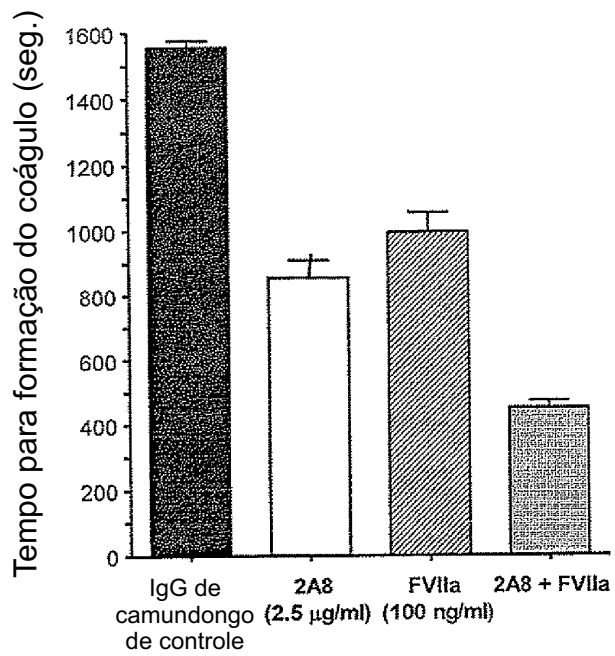
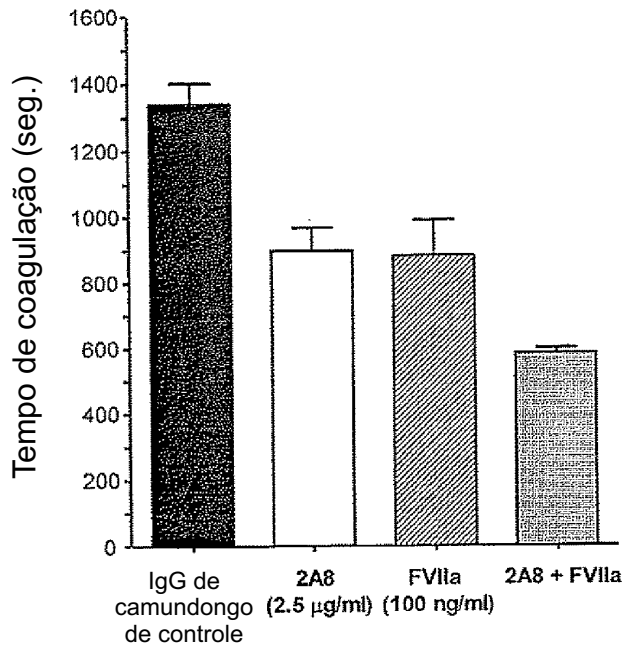
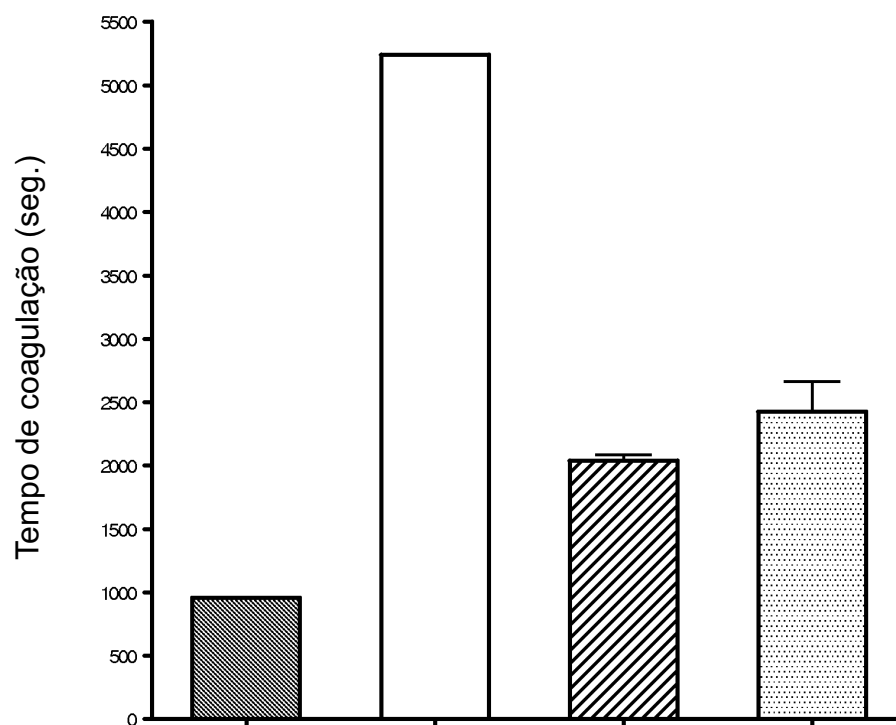


FIG. 10



Inibidor de FVIII	—	+	+	+
Anticorpo anti-TFPI	—	—	2A8	4B7

RESUMO

Patente de invenção: **"ANTICORPOS MONOCLONAIS CONTRA O INIBIDOR DA VIA DO FATOR TECIDUAL (TFPI)"**.

5 A presente invenção refere-se aos anticorpos monoclonais isolados que se ligam ao inibidor da via do fator tecidual humano (TFPI) e às moléculas de ácido nucleico isoladas que os codificam. Composições farmacêuticas que compreendem os anticorpos monoclonais anti-TFPI e métodos para tratar deficiências ou defeitos na coagulação através da administração dos anticorpos também são fornecidos. Também são fornecidos métodos
10 para a produção dos anticorpos.