



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월11일

(11) 등록번호 10-2714760

(24) 등록일자 2024년10월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 14/755 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 14/755 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-7004922(분할)

(22) 출원일자(국제) 2014년06월27일

심사청구일자 2024년03월14일

(85) 번역문제출일자 2024년02월13일

(65) 공개번호 10-2024-0023705

(43) 공개일자 2024년02월22일

(62) 원출원 특허 10-2022-7045978

원출원일자(국제) 2014년06월27일

심사청구일자 2023년01월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/044731

(87) 국제공개번호 WO 2014/210558

국제공개일자 2014년12월31일

(30) 우선권주장

61/840,872 2013년06월28일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Nature Biotech., Vol. 27, No. 12,
pp.1186-1190 (2009. 11. 15.)

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 27 항

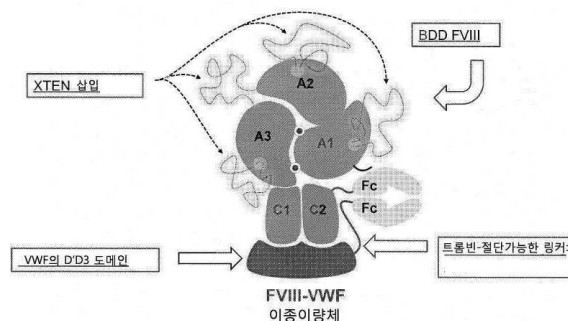
심사관 : 김수진

(54) 발명의 명칭 XTEN을 지닌 트롬빈 절단가능한 링커 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 VWF 링커를 통해 이중 잔기에 융합된 VWF 단백질을 포함하는 키메라 분자를 제공한다. 본 발명은 트롬빈의 존재하에서 절단될 수 있는 효율적인 VWF 링커를 제공한다. 키메라 분자는 FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기를 포함하는 폴리펩타이드를 추가로 포함할 수 있으며, 여기서 VWF 단백질을 포함하는쇄 및 FVIII 단백질을 포함하는쇄는 서로 연합되어 있다. 본 발명은 또한 뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 키메라 단백질을 사용하는 방법을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류
C07K 2319/50 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
미국 특허출원공개공보 US2011/0183907
호(2011.07.28.)
KR1020140115347 A
KR1020150036510 A
US20080146782 A1
US20110183907 A1
US20150266943 A1

명세서

청구범위

청구항 1

지혈 장애(hemostatic disorder)의 치료에 사용하기 위한 약제학적 조성물이며,

상기 약제학적 조성물은 제1 및 제2의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 키메라 분자를 포함하고;

여기서 제1의 폴리펩타이드쇄는 폰 빌레브란트 인자(von Willebrand Factor: VWF) 단백질, 제1의 연장된 재조합 폴리펩타이드(XTEN) 서열, VWF 링커 및 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부를 포함하며;

VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하고, D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VWF 단백질의 D3 도메인은 서열 번호 2의 1099번 및 1142번 잔기에서 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고;

VWF 링커는 서열 번호 16에 상응하는 Glu720 내지 Arg740과 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있으며;

제1의 XTEN 서열은 VWF 단백질을 VWF 링커와 연결시키고, VWF 링커는 제1의 XTEN 서열을 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부에 연결시키고;

제2의 폴리펩타이드쇄는 FVIII 단백질, 제2의 XTEN 서열, 및 제2의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부를 포함하며;

FVIII 단백질은 서열 번호 16의 Ala1 내지 Arg745와 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호 16의 Glu1649 내지 Tyr2332와 동일한 아미노산 서열을 포함하고;

제1 및 제2의 폴리펩타이드쇄는 공유결합에 의해 연합되어 있는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제2의 XTEN 서열이 FVIII 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 연결되어 있거나 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입된 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 적어도 하나의 XTEN 서열이 42개의 아미노산, 72개의 아미노산, 108개의 아미노산, 144개의 아미노산, 180개의 아미노산, 216개의 아미노산, 252개의 아미노산, 288개의 아미노산, 324개의 아미노산, 360개의 아미노산, 396개의 아미노산, 432개의 아미노산, 468개의 아미노산, 504개의 아미노산, 540개의 아미노산, 576개의 아미노산, 612개의 아미노산, 624개의 아미노산, 648개의 아미노산, 684개의 아미노산, 720개의 아미노산, 756개의 아미노산, 792개의 아미노산, 828개의 아미노산, 836개의 아미노산, 864개의 아미노산, 875개의 아미노산, 912개의 아미노산, 923개의 아미노산, 948개의 아미노산, 1044개의 아미노산, 1140개의 아미노산, 1236개의 아미노산, 1318개의 아미노산, 1332개의 아미노산, 1428개의 아미노산, 1524개의 아미노산, 1620개의 아미노산, 1716개의 아미노산, 1812개의 아미노산, 1908개의 아미노산, 또는 2004개의 아미노산을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 적어도 하나의 XTEN 서열이 AE42, AE72, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288 또는 AG144로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 적어도 하나의 XTEN 서열이 서열 번호 39; 서열 번호 40; 서열 번호 47; 서열 번호 45; 서열 번호 44; 서열 번호 41; 서열 번호 48; 서열 번호 46; 서열 번호 44 또는 서열 번호 42로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 VWF 단백질이 서열 번호 2의 1099번 및 1142번 아미노산 잔기에서 시스테인으로부터 알라닌으로의 아미노산 치환을 함유하는 것인 억제학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 VWF 단백질이 A1 VWF 도메인, A2 VWF 도메인, A3 VWF 도메인, D4 VWF 도메인, B1 VWF 도메인, B2 VWF 도메인, B3 VWF 도메인, C1 VWF 도메인, C2 VWF 도메인 또는 CK VWF 도메인을 포함하지 않는 것인 억제학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 VWF 단백질이 VWF의 D' 및 D3 도메인으로 이루어진 것인 억제학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부가 제1의 Fc 영역을 포함하고, 상기 제2의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부가 제2의 Fc 영역을 포함하는 것인 억제학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 제1의 Fc 영역과 제2의 Fc 영역이 동일한 것인 억제학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부 및 상기 제2의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부가 하나 이상의 이황화물 결합에 의해 서로 연합되어 있는 것인 억제학적 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 키메라 분자가 다음 화학식을 포함하는 것인 억제학적 조성물:

V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2);

여기서, V는 VWF 단백질이고;

X1은 제1의 XTEN 서열이며;

L1은 VWF 링커이고;

L2는 임의의 FVIII 링커이며;

H1은 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부이고;

H2는 제2의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부이며;

C는 FVIII 단백질이고;

C(X2)는 제2의 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서 제2의 XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되며;

(-)는 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이고;

(:)는 H1과 H2 사이의 하나 이상의 공유 결합이다.

청구항 13

지혈 장애(hemostatic disorder)의 치료에 사용하기 위한 억제학적 조성물이며,

상기 억제학적 조성물은 제1 및 제2의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 키메라 분자를 포함하고;

여기서 제1의 폴리펩타이드쇄는, N-말단으로부터 C-말단까지, 폰 빌레브란트 인자(von Willebrand Factor: VWF) 단백질, 제1의 연장된 재조합 폴리펩타이드(XTEN) 서열, VWF 링커 및 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부를 포

함하며;

VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하고;

VWF 단백질의 D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하며;

VWF 단백질의 D3 도메인은 서열 번호 2의 1099번 및 1142번 아미노산 잔기에서 시스테인으로부터 알라닌으로의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고;

VWF 링커는 서열 번호 16에 상응하는 Glu720 내지 Arg740과 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있으며;

VWF 링커는 적어도 30개의 아미노산이고;

제1의 XTEN 서열은 VWF 단백질을 VWF 링커와 연결시키고, VWF 링커는 제1의 XTEN 서열을 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부에 연결시키며;

제2의 폴리펩타이드쇄는 FVIII 단백질, FVIII 단백질에 삽입된 제2의 XTEN 서열, 및 FVIII 단백질의 C-말단에 연결되는 제2의 Fc 영역 또는 이의 일부를 포함하고;

FVIII 단백질은 서열 번호 16의 Ala1 내지 Asn745와 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호 16의 Ser1690 내지 Tyr2332와 동일한 아미노산 서열을 포함하며;

제1 및 제2의 폴리펩타이드쇄는 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부와 제2의 Fc 영역 또는 이의 일부 사이의 하나 이상의 이황화물 결합에 의해 연합되어 있는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 VWF 링커는 서열 번호 4와 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 약제학적 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부와 상기 제2의 Fc 영역 또는 이의 일부가 두 개의 이황화물 결합에 의해 연합되어 있는 것인 약제학적 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 지혈 장애가 혈우병 A인 약제학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 지혈 장애가 중증 혈우병 A인 약제학적 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 지혈 장애가 폰 빌레브란트병(von Willebrand disease)인 약제학적 조성물.

청구항 19

키메라 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 세트이며,

상기 폴리뉴클레오타이드 세트는 제1의 폴리뉴클레오타이드 및 제2의 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 제1의 폴리뉴클레오타이드 및 제2의 폴리뉴클레오타이드가 각각 제1의 폴리펩타이드쇄 및 제2의 폴리펩타이드쇄를 암호화하고;

여기서 제1의 폴리펩타이드쇄는 폰 빌레브란트 인자(VWF) 단백질, 제1의 연장된 재조합 폴리펩타이드(XTEN) 서열, VWF 링커 및 제1 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부를 포함하며;

VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하고, D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VWF 단백질의 D3 도메인은 서열 번호 2의 1099번 및 1142번 잔기에서 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고;

VWF 링커는 서열 번호 16에 상응하는 Glu720 내지 Arg740과 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인자 VIII(FVIII)

I)로부터의 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있으며;

제1의 XTEN 서열은 VWF 단백질을 VWF 링커와 연결시키고, VWF 링커는 제1의 XTEN 서열을 제1의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부에 연결시키고;

제2의 폴리펩타이드쇄는 FVIII 단백질, 제2의 XTEN 서열 및 제2의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부를 포함하며;

FVIII 단백질은 서열 번호 16의 Ala1 내지 Asn745와 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호 16의 Glu1649 내지 Tyr2332와 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오타이드 세트.

청구항 20

키메라 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 세트이며,

상기 폴리뉴클레오타이드 세트는 제1의 폴리뉴클레오타이드 및 제2의 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 제1의 폴리뉴클레오타이드 및 제2의 폴리뉴클레오타이드는 각각 제1의 폴리펩타이드쇄 및 제2의 폴리펩타이드쇄를 암호화하고;

여기서 제1의 폴리펩타이드쇄는, N-말단에서 C-말단까지, 폰 빌레브란트 인자(VWF) 단백질, 제1의 연장된 재조합 폴리펩타이드(XTEN) 서열, VWF 링커 및 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부를 포함하며;

VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하고;

VWF 단백질의 D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하며;

VWF 단백질의 D3 도메인은 서열 번호 2의 1099번 및 1142번 아미노산 잔기에서 시스테인으로부터 알라닌으로의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산과 동일한 아미노산 서열을 포함하고;

VWF 링커는 서열 번호 16에 상응하는 Glu720 내지 Arg740과 동일한 아미노산 서열을 포함하는 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있으며;

VWF 링커는 적어도 30개의 아미노산이고;

제1의 XTEN 서열은 VWF 단백질을 VWF 링커와 연결시키고, VWF 링커는 제1의 XTEN 서열을 제1의 Fc 영역 또는 이의 일부에 연결시키며;

제2의 폴리펩타이드쇄는 FVIII 단백질, FVIII 단백질에 삽입된 제2의 XTEN 서열, 및 FVIII 단백질의 C-말단에 연결되는 제2의 Fc 영역 또는 이의 일부를 포함하고;

FVIII 단백질은 서열 번호 16의 Ala1 내지 Asn745와 동일한 서열 및 서열 번호 16의 Ser1690 내지 Tyr2332와 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드 세트.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 쌍을 이룬 염기성 아미노산 절단 효소(Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme: PACE)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 추가로 포함하는 폴리뉴클레오타이드 세트.

청구항 22

제19항 또는 제20항의 폴리뉴클레오타이드 세트를 포함하는 숙주 세포.

청구항 23

제21항의 폴리뉴클레오타이드 세트를 포함하는 숙주 세포.

청구항 24

제22항에 있어서, 포유동물 세포인 숙주 세포.

청구항 25

제24항에 있어서, 포유동물 세포가 HEK293 세포, CHO 세포 및 BHK 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것인

숙주 세포.

청구항 26

제25항에 있어서, HEK293 세포인 숙주 세포.

청구항 27

제26항에 있어서, HEK293F 세포인 숙주 세포.

발명의 설명

배경 기술

- [0001] 해모필라(Haemophilia) A는 응고 인자 VIII(FVIII)를 암호화하는 유전자내의 결함에 의해 유발된 출혈 질환이며 10,000명의 남성 출생시 1 내지 2명에게 영향을 미친다. Graw 등, Nat. Rev. Genet. 6(6): 488-501 (2005). 혈우병 A에 걸린 환자는 정제되거나 재조합적으로 생산된 FVIII의 주입으로 치료할 수 있다. 그러나, 모든 상업적으로 이용가능한 FVIII 생성물은, 반감기가 약 8 내지 12시간이고, 환자에게 빈번한 정맥내 투여를 필요로 한다. [참조: Weiner M.A. and Cairo, M.S., Pediatric Hematology Secrets, Lee, M.T., 12. Disorders of Coagulation, Elsevier Health Sciences, 2001; Lillicrap, D. Thromb. Res. 122 Suppl 4:S2-8 (2008)]. 또한, 다수의 시도가, FVIII 반감기를 연장시키기 위해 노력되어 왔다. 예를 들면, 응고 인자의 반감기를 연장시키기 위한 개발에 있어서의 시도는 페길화(pegylation), 당페길화, 및 알부민과의 접합을 포함한다. [참조: Dumont 등, Blood. 119(13): 3024-3030 (Published online Jan. 13, 2012)]. 그러나, 사용된 단백질 가공에도 불구하고, 현재 개발중인 장기 작용하는 FVIII 생성물은 반감기를 개선시켜 왔으나, 반감기는 전임상 동물 모델에서 - 단지 약 1.5 내지 2배의 개선으로 제한되는 것으로 보고되어 있다. (상기 참조). 일치하는 결과가 사람에서 입증되었는데, 예를 들어, rFVIIIIFc는 혈우병 A 환자에서 ADVATE[®]과 비교하여 ~1.7배까지 반감기를 개선시키는 것으로 보고되었다. (상기 참조). 따라서, 약간의 개선에도 불구하고, 반감기는 다른 $t_{1/2}$ 제한 인자의 존재를 나타낼 수 있다.
- [0002] 투여 스케줄에 의해 유발된 빈번한 투여 및 불편함으로 인하여, 빈번하지 않은 투여를 필요로 하는 FVIII 생성물, 즉, 1.5 내지 2배 반감기 제한보다 긴 반감기를 갖는 FVIII 생성물을 개발할 필요성이 여전히 존재한다.
- [0003] 발명의 간단한 요약
- [0004] 본 발명은 폰 빌레브란트 인자(Von Willebrand Factor: VWF) 단백질, 이중 잔기(H1), XTEN 서열, 및 VWF 단백질과 이중 잔기를 연결시키는 VWF 링커를 포함하는 키메라 분자에 관한 것이며, 여기서 상기 VWF 링커는: (i) 인자 VIII로부터의 a2 영역(FVIII); (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다) (서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트(exosite) 상호작용 모티프(motif)를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 상기 XTEN 서열은 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), VWF 링커, 또는 이의 어떠한 조합에 연결되어 있다. 일 구현예에서, XTEN 서열은 VWF 단백질과 VWF 링커 또는 VWF 링커와 이중 잔기를 연결시킨다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 FVIII 단백질을 포함하는 제2의 폴리펩타이드쇄를 추가로 포함하며, 여기서 제1의 폴리펩타이드쇄 및 제2의 폴리펩타이드쇄는 서로 연합되어 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자내 FVIII 단백질은 추가의 XTEN 서열을 추가로 포함한다. 추가의 XTEN 서열은 FVIII 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 연결될 수 있거나 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입된다. 여전히 다른 구현예에서, 제2의 폴리펩타이드는 제2의 이중 잔기(H2)를 추가로 포함한다.
- [0005] 본 개재내용은 또한 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), 및 VWF 단백질과 이중 잔기(H1)를 연결하는 VWF 링커(linker)를 포함하는 제1의 폴리펩타이드쇄 및 FVIII 단백질 및 XTEN 서열을 포함하는 제2의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 키메라 분자를 포함하며, 여기서, 상기 제1의 폴리펩타이드쇄내 VWF 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서, X는 지방족 아미노산이다) (서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프(exosite interaction motif)를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함하고, 여기서 제1의 폴리펩타이드쇄 및 제2의 폴리펩타이드쇄는 서로 연합되어 있다. 일 구현예에서, XTEN 서열은 FVIII 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 연결되어 있거나 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되어 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 추가의 XTEN 서열을 추가로

포함하고, 이는 VWF 단백질, 이중잔기, VWF 링커, 또는 이의 어떠한 조합에 연결되어 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 제2의 이중 잔기(H2)를 추가로 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, 제2의 이중 잔기는 FVIII 단백질, XTEN 서열, 또는 둘 다에 연결되어 있다.

[0006] 본 개재내용의 키메라 분자의 경우, VWF 단백질, VWF 링커, FVIII 단백질, 또는 키메라 단백질내 어떠한 다른 성분에 연결된 XTEN 서열은 약 42개 아미노산, 약 72개 아미노산, 약 108개 아미노산, 약 144개 아미노산, 약 180개 아미노산, 약 216개 아미노산, 약 252개 아미노산, 약 288개 아미노산, 약 324개 아미노산, 약 360개 아미노산, 약 396개 아미노산, 약 432개 아미노산, 약 468개 아미노산, 약 504개 아미노산, 약 540개 아미노산, 약 576개 아미노산, 약 612개 아미노산, 약 624개 아미노산, 약 648개 아미노산, 약 684개 아미노산, 약 720개 아미노산, 약 756개 아미노산, 약 792개 아미노산, 약 828개 아미노산, 약 836개 아미노산, 약 864개 아미노산, 약 875개 아미노산, 약 912개 아미노산, 약 923개 아미노산, 약 948개 아미노산, 약 1044개 아미노산, 약 1140개 아미노산, 약 1236개 아미노산, 약 1318개 아미노산, 약 1332개 아미노산, 약 1428개 아미노산, 약 1524개 아미노산, 약 1620개 아미노산, 약 1716개 아미노산, 약 1812개 아미노산, 약 1908개 아미노산, 또는 약 2004개 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, XTEN 폴리펩타이드는 AE42, AE72, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288, 또는 AG144로부터 선택된다. 다른 구현예에서, XTEN 폴리펩타이드는 서열 번호 39; 서열 번호 40; 서열 번호 47; 서열 번호 45; 서열 번호 44; 서열 번호 41; 서열 번호 48; 서열 번호 46, 서열 번호 44, 또는 서열 번호 42로부터 선택된다.

[0007] 다른 측면에서, 키메라 분자내 추가의 XTEN 서열은 약 42개 아미노산, 약 72개 아미노산, 약 108개 아미노산, 약 144개 아미노산, 약 180개 아미노산, 약 216개 아미노산, 약 252개 아미노산, 약 288개 아미노산, 약 324개 아미노산, 약 360개 아미노산, 약 396개 아미노산, 약 432개 아미노산, 약 468개 아미노산, 약 504개 아미노산, 약 540개 아미노산, 약 576개 아미노산, 약 612개 아미노산, 약 624개 아미노산, 약 648개 아미노산, 약 684개 아미노산, 약 720개 아미노산, 약 756개 아미노산, 약 792개 아미노산, 약 828개 아미노산, 약 836개 아미노산, 약 864개 아미노산, 약 875개 아미노산, 약 912개 아미노산, 약 923개 아미노산, 약 948개 아미노산, 약 1044개 아미노산, 약 1140개 아미노산, 약 1236개 아미노산, 약 1318개 아미노산, 약 1332개 아미노산, 약 1428개 아미노산, 약 1524개 아미노산, 약 1620개 아미노산, 약 1716개 아미노산, 약 1812개 아미노산, 약 1908개 아미노산, 또는 약 2004개 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, 추가의 XTEN 폴리펩타이드는 AE42, AE72, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288, 또는 AG144로부터 선택된다. 특정의 구현예에서, 추가의 XTEN 폴리펩타이드는 서열 번호 39; 서열 번호 40; 서열 번호 47; 서열 번호 45; 서열 번호 43; 서열 번호 41; 서열 번호 48; 서열 번호 46, 서열 번호 44, or 서열 번호 42로부터 선택된다.

[0008] 일 구현예에서, 키메라 분자내에서 VWF 단백질과 이중 잔기를 연결시키는데 유용한 VWF 링커는 전장의 FVIII에 상응하는 Glu720 내지 Arg740에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a2 영역을 포함하며, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 특수한 구현예에서, a2 영역은 ISDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRFS(서열 번호 4)을 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질 및 이중 잔기를 연결시키는데 유용한 VWF 링커는 전장의 FVIII에 상응하는 Met337 내지 Arg372에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a1 영역을 포함하고, 여기서 a1 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 일부 구현예에서, a1 영역은 ISMKNNEEAEDYDDDLTDEMDVVRFDNDNSPSFIQIRSV(서열 번호 5)를 포함한다.

[0009] 다른 구현예에서, VWF 단백질과 이중 잔기를 연결시키는데 유용한 VWF 링커는 전장의 FVIII에 상응하는 Glu1649 내지 Arg1689에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 100% 동일한 a3 영역을 포함하고, 여기서 상기 a3 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 구체적인 구현예에서, a3 영역은 ISEITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEENQSPRSFQ(서열 번호 6)를 포함한다.

[0010] 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질과 이중 잔기를 연결시키는데 유용한 VWF 링커는 X-V-P-R(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위를 포함하고, 여기서 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프는 S-F-L-L-R-N(서열 번호 7)을 포함한다. 일 구현예에서, PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프는 P, P-N, P-N-D, P-N-D-K(서열 번호 8), P-N-D-K-Y(서열 번호 9), P-N-D-K-Y-E(서열 번호 10), P-N-D-K-Y-E-P(서열 번호 11), P-N-D-K-Y-E-P-F(서열 번호 12), P-N-D-K-Y-E-P-F-W(서열 번호 13), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E(서열 번호 14), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D(서열 번호 20), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E(서열 번호 21), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E(서열 번호 22), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E-S(서열 번호 23), 또는 이의 조합으로부터 선택된 서열을 추가로 포함한다. 다른 구현예에서, 여기서 지방족 아미노산은 글리신, 알라닌, 발린, 루이신, 또는 이소루이신으로부

터 선택된다. 특수한 구현예에서, VWF 링커는 GGLVPRSFLLRNPNDKYEPFWEDEES(서열 번호 24)를 포함한다.

[0011] 특정의 구현예에서, 트롬빈은 트롬빈 절단 부위가 키메라 분자내 VWF 링커에 대해 치환된 경우 트롬빈이 트롬빈 절단 부위를 절단할 수 있는 것보다 더 빠르게 VWF 링커를 절단한다. 다른 구현예에서, 트롬빈은, 트롬빈 절단 부위가 키메라 분자내에서 VWF 링커에 대해 치환되는 경우 트롬빈이 트롬빈 절단 부위를 절단할 수 있는 것 보다 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배 또는 적어도 약 100배로 VWF 링커를 절단한다.

[0012] 일부 구현예에서, VWF 링커는 적어도 약 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 또는 2000개 아미노산의 길이를 갖는 하나 이상의 아미노산을 또한 포함한다. 하나의 예에서, 하나 이상의 아미노산은 gly 펩타이드를 포함한다. 다른 예에서, 하나 이상의 아미노산은 GlyGly를 포함한다. 다른 예에서, 하나 이상의 아미노산은 gly/ser 펩타이드를 포함한다. 일부 예에서, gly/ser 펩타이드는 화학식 $(Gly_4Ser)_n$ 또는 $S(Gly_4Ser)_n$ 를 가지며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 또는 100으로부터 선택된 양의 정수이다. 특정의 예에서, $(Gly_4Ser)_n$ 링커는 $(Gly_4Ser)_3$ (서열 번호 89) 또는 $(Gly_4Ser)_4$ (서열 번호 90)이다.

[0013] 본 발명의 키메라 분자에 유용한 VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함할 수 있고, 여기서 D' 도메인 및 D3 도메인은 FVIII 단백질에 결합할 수 있다. 하나의 구현예에서, VWF 단백질의 D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산에 대해 적어도 약 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질의 D3 도메인은 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산에 대해 적어도 약 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 서열 번호 2의 1099번 잔기, 1142번 잔기, 또는 1099 및 1142번 잔기 둘 다에 상응하는 잔기에서 적어도 하나의 아미노산 치환을 함유한다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질의 서열내에서, 시스테인 이외의 아미노산은 서열 번호 2의 1099번 잔기, 1142번 잔기, 또는 1099번 및 1142번 잔기 둘 다에 상응하는 잔기에 대해 치환된다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질의 서열은 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산을 포함한다. 특정의 구현예에서, VWF 단백질은 VWF의 D1 도메인, D2 도메인, 또는 D1 및 D2 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, VWF 단백질은 A1 도메인, A2 도메인, A3 도메인, D4 도메인, B1 도메인, B2 도메인, B3 도메인, C1 도메인, C2 도메인, CK 도메인, 이의 하나 이상의 단편, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 VWF 도메인을 또한 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은: (1) VWF 또는 이의 단편의 D' 및 D3 도메인; (2) VWF 또는 이의 단편의 D1, D', 및 D3 도메인; (3) VWF 또는 이의 단편의 D2, D', 및 D3 도메인; (4) VWF 또는 이의 단편의 D1, D2, D', 및 D3 도메인; 또는 (5) VWF 또는 이의 단편의 D1, D2, D', D3, 및 A1 도메인으로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질은 VWF의 단일 펩타이드를 추가로 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질은 폐결화되어 있거나, 글리코실화되어 있거나, 헤실화되어 있거나, 폴리실릴화되어 있다. 용어 "폐결화된"은 단백질 상에 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 갖는 것을 말하며, 용어 "글리코실화"는 단백질 상에 글리코실화를 갖는 것을 말하고; 용어 "헤실화된"은 단백질 상에 하이드록시에틸 전분(HES)을 갖는 것을 말하고; 용어 "폴리시알릴화"는 단백질 상에 폴리시알산(PSA)을 갖는 것을 말한다. PEG, HES, 및 PSA의 예는 본원의 어디에서도 나타나 있다.

[0014] 일부 측면에서, VWF 잔기를 통해 VWF 단백질에 융합된 이종 잔기(H1)는 키메라 분자의 반감기를 연장시킬 수 있다. 일 구현예에서, 이종 잔기(H1)는 면역글로불린 고정 영역 또는 이의 일부, 알부민, 알부민-결합 잔기, PAS, HAP, 트랜스페린 또는 이의 단편, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 하이드록시에틸 전분(HES), PSA, 사람 만성 고나도트로핀의 β 소단위의 C-말단 펩타이드(CTP), 또는 이의 어떠한 조합을 포함한다. 다른 구현예에서, 이종 잔기는 FcRn 결합 파트너를 포함한다. 다른 구현예에서, 이종 잔기는 Fc 영역을 포함한다. 다른 구현예에서, 이종 잔기(H1)는 클리어런스 수용체(clearance receptor), 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 상기 클리어런스 수용체는 FVIII 단백질의 FVIII 클리어런스 수용체에 대한 결합을 차단한다. 일부 구현예에서, 여기서, 클리어런스 수용체는 저-밀도 지단백질 수용체-관련된 단백질 1(LRP1) 또는 이의 FVIII-결합 단편이다.

[0015] 일부 구현예에서, 임의의 FVIII 링커를 경유하여 FVIII 단백질에 융합된 제2의 이종 잔기는 면역글로불린 불변 영역(constant region) 또는 이의 부위, 알부민, 알부민-결합 폴리펩타이드, PAS, 사람 만성 고나도트로핀의 β 소단위의 C-말단 펩타이드(CTP), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 하이드록시에틸 전분(HES), 알부민-결합 소 분자, 또는 이의 어떠한 조합을 포함한다. 일 구현예에서, 제2의 이종 잔기(H2)는 FVIII 단백질의 반감기를 연장시킬 수

있다. 다른 구현예에서, 제2의 이중 잔기(H2)는 폴리펩타이드, 비-폴리펩타이드 잔기, 또는 둘 다를 포함한다. 다른 구현예에서, 제2의 이중 잔기(H2)는 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부를 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, 제2의 이중 잔기는 FcRn 결합 파트너를 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, 제2의 이중 잔기는 제2의 Fc 영역을 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 융합된 제1의 이중 잔기 및 임의의 링커를 통해 FVIII 단백질에 융합된 제2의 이중 잔기(여기서, XTEN 서열은 성분 중의 하나에 융합되어 있다)는 서로 연합되어 있다. 일 구현예에서, 제1의 폴리펩타이드와 제2의 폴리펩타이드 사이의 연합은 공유 결합이다. 다른 구현예에서, 제1의 이중 잔기와 제2의 이중 잔기 사이의 연합은 이황화물 결합이다. 다른 구현예에서, 제1의 이중 잔기는 FcRn 결합 파트너이고 제2의 이중 잔기는 FcRn 결합 파트너이다. 여전히 다른 구현예에서, 제1의 이중 잔기는 Fc 영역이고, 제2의 이중 잔기는 Fc 영역이다.

[0017] 특정의 구현예에서, FVIII 단백질은 FVIII 링커에 의해 제2의 이중 잔기에 연결된다. 일 구현예에서, 제2의 링커는 절단가능한 링커이다. 다른 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 링커와 동일하다. 다른 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 링커와는 상이하다.

[0018] 일부 측면에서, 본 발명의 키메라 분자는: (a) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C; (b) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C; (c) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C; (d) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C; (e) V-L1-X1-H1: H2-L2-C(X2); (f) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2); (g) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V; (h) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V; (i) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (j) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (k) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V; 또는 (l) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V로부터 선택된 화학식을 포함하며; 여기서, V는 VWF 단백질이고; L1은 VWF 링커이며; L2는 임의의 FVIII 링커이고; H1은 제1의 이중 잔기이며; H2는 제2의 이중 잔기이고; X1은 XTEN 서열이며; X2는 임의의 XTEN 서열이고; C는 FVIII 단백질이며; C(X2)는 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서, XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되고; (-)은 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이며; (:)는 H1과 H2 사이의 공유 결합이다.

[0019] 다른 측면에서, 키메라 분자는: (a) V-L1-X1-H1: H2-L2-X2-C; (b) V-X1-L1-H1: H2-L2-X2-C; (c) V-L1-X1-H1: H2-X2-L2-C; (d) V-X1-L1-H1: H2-X2-L2-C; (e) V-L1-X1-H1: H2-L2-C(X2); (f) V-X1-L1-H1: H2-L2-C(X2); (g) C-X2-L2-H2: H1-X1-L1-V; (h) C-X2-L2-H2: H1-L1-X1-V; (i) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (j) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (k) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V; 또는 (l) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V로부터 선택된 화학식을 포함하고; 여기서, V는 VWF 단백질이고; L1은 VWF 링커이며; L2는 임의의 FVIII 링커이고; H1은 제1의 이중 잔기이며; H2는 제2의 이중 잔기이고; X1은 임의의 XTEN 서열이며; X2는 XTEN 서열이고; C는 FVIII 단백질이며; C(X2)는 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서, XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되고; (-)은 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이며; (:)는 H1과 H2 사이의 공유 결합이다.

[0020] 본 발명의 키메라 분자에서, VWF 단백질은 내인성 VWF의 FVIII 단백질에 대한 결합을 억제하거나 방지할 수 있다.

[0021] 특정의 측면에서, 키메라 분자내 FVIII 단백질은 제3의 이중 잔기(H3)를 포함할 수 있다. 제3의 이중 잔기(H3)는 XTEN 서열일 수 있다. 다른 측면에서, FVIII 단백질은 제4의 이중 잔기(H4)를 포함한다. 제4의 이중 잔기(H4)는 XTEN 서열일 수 있다. 일부 측면에서, FVIII 단백질은 제5의 이중 잔기(H5)를 포함한다. 제5의 이중 잔기는 XTEN 서열일 수 있다. 다른 측면에서, FVIII 단백질은 제6의 이중 잔기(H6)를 포함한다. 제6의 이중 잔기는 XTEN 서열일 수 있다. 특정의 측면에서, 하나 이상의 제3의 이중 잔기(H3), 제4의 이중 잔기(H4), 제5의 이중 잔기(H5), 및 제6의 이중 잔기(H6)는 키메라 분자의 반감기를 연장시킬 수 있다. 다른 측면에서, 제3의 이중 잔기(H3), 제4의 이중 잔기(H4), 제5의 이중 잔기(H5), 및 제6의 이중 잔기(H6)는 FVIII의 C 말단 또는 N 말단에 연결되거나 FVIII 단백질의 2개의 아미노산 사이에 삽입될 수 있다. 여전히 다른 측면에서, 하나 이상의 제3의 이중 잔기, 제4의 이중 잔기, 제5의 이중 잔기, 및 제6의 이중 잔기는 약 42개 아미노산, 약 72개 아미노산, 약 108개 아미노산, 약 144개 아미노산, 약 180개 아미노산, 약 216개 아미노산, 약 252개 아미노산, 약 288개 아미노산, 약 324개 아미노산, 약 360개 아미노산, 약 396개 아미노산, 약 432개 아미노산, 약 468개 아미노산, 약 504개 아미노산, 약 540개 아미노산, 약 576개 아미노산, 약 612개 아미노산, 약 624개 아미노산, 약 648개 아미노산, 약 684개 아미노산, 약 720개 아미노산, 약 756개 아미노산, 약 792개 아미노산, 약 828개 아미노산, 약 836개 아미노산, 약 864개 아미노산, 약 875개 아미노산, 약 912개 아미노산, 약 923개 아미노산, 약 948개 아미노산, 약 1044개 아미노산, 약 1140개 아미노산, 약 1236개 아미노산, 약 1318개 아미노산, 약 1332개 아미노산, 약 1428개 아미노산, 약 1524개 아미노산, 약 1620개 아미노산, 약 1716개 아미노산, 약 1812개 아미노산, 약 1908개 아미노산, 또는 약 2004개 아미노산 중 하나 이상으로부터 선택된 길이를 포함한다. 예를

들면, 제3의 이중 잔기, 제4의 이중 잔기, 제5의 이중 잔기, 또는 제6의 이중 잔기의 XTEN 서열은 AE42, AE72, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288, 또는 AG144로부터 선택될 수 있다. 보다 구체적으로, XTEN 서열은 서열 번호 39; 서열 번호 40; 서열 번호 47; 서열 번호 45; 서열 번호 43; 서열 번호 41; 서열 번호 48; 서열 번호 46, 서열 번호 44, 또는 서열 번호 42로부터 선택될 수 있다.

[0022] 일부 구현예에서, 키메라 단백질의 반감기는 야생형 FVIII보다 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배 더 길게 연장된다.

[0023] 본 개재내용은 또한 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 세트 또는 이의 상보성 서열을 제공한다. 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트는 또한, PC5 또는 PC7을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 쌍을 포함할 수 있다.

[0024] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트 및 당해 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 세트에 작동적으로 연결된 하나 이상의 프로모터를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트가 또한 포함된다. 일부 구현예에서, 벡터 또는 벡터의 세트는 또한 PC5 또는 PC7을 암호화하는 추가의 폴리뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다.

[0025] 본 발명은 또한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트 또는 벡터 또는 벡터의 세트를 포함하는 숙주 세포를 포함한다. 일 구현예에서, 숙주 세포는 포유동물 세포이다. 다른 구현예에서, 숙주 세포는 HEK293 세포, CHO 세포, 또는 BHK 세포로부터 선택된다.

[0026] 일부 측면에서, 본 발명은 본원에 개재된 키메라 분자, 당해 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트, 당해 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트, 또는 본원에 개재된 숙주 세포, 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 일 구현예에서, 조성물 속의 키메라 분자는 야생형 FVIII 단백질과 비교하여 연장된 반감기를 갖는다. 다른 구현예에서, 조성물 속의 키메라 분자의 반감기는 야생형 FVIII보다 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배로 연장된다.

[0027] 또한 이를 필요로 하는 피검자에게 유효량의 본원에 개재된 키메라 분자, 당해 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트, 본원에 개재된 벡터 또는 벡터의 세트, 본원에 개재된 숙주 세포, 또는 본원에 개재된 조성물을 투여함을 포함하여, 출혈 사건의 빈도 또는 정도를 감소시키는 방법이 포함된다. 본 발명은 또한 유효량의 본원에 개재된 키메라 분자, 당해 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트, 본원에 개재된 벡터 또는 벡터의 세트, 본원에 개재된 숙주 세포, 또는 본원에 개재된 조성물을 투여함을 포함하여, 이를 필요로 하는 피검자에서 출혈 사건의 발생을 예방하는 방법을 포함한다. 일 구현예에서, 출혈 사건은 출혈 응고 질환, 출혈성 관절증, 근육 출혈, 구강 출혈, 출혈, 근육내로의 출혈, 구강 출혈, 외상, 두개 외상(trauma capitis), 위장 출혈, 두개내 출혈, 복부내 출혈, 흉곽내 출혈, 골절, 중추신경계 출혈, 인후후강내 출혈, 복막후 출혈, 장요근 쉬쓰(iliopsoas sheath)내 출혈, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 기인한다. 다른 구현예에서, 본원에 개재된 키메라 분자, 당해 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 세트, 본원에 개재된 벡터 또는 벡터의 세트, 본원에 개재된 숙주 세포, 또는 본원에 개재된 조성물은 국소 투여, 안구내 투여, 비경구 투여, 척추강내 투여, 경막하 투여, 경구 투여, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0028] 본 개재내용은 또한 하나 이상의 숙주 세포를 본원에 개재된 폴리뉴클레오타이드로 또는 본원에 개재된 벡터로 형질감염시키는 단계 및 숙주 세포내에서 키메라 분자를 발현시키는 단계를 포함하여, 키메라 분자를 제조하는 방법을 포함한다. 당해 방법은 키메라 분자를 분리하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 활성은 aPTT 검정 또는 ROTEM 검정에 의해 측정될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 2개의 폴리펩타이드 쌍을 포함하는 키메라 분자(FVIII-XTEN/VWF 이중이량체)의 예시적인 도해를 나타내며 상기 제1의 쌍은 트롬빈 절단가능한 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 융합된 VWF 단백질(예를 들면, VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인)을 포함하며 제2 쌍은 FVIII 링커를 통해 제2의 Fc 영역에 융합된 FVIII 단백질을 포함한다. FVIII 단백질은 FVIII의 다양한 도메인(domain)내 하나 이상의 XTEN을 포함한다.

도 2는 다양한 VWF 작제물을 나타내며, 각각의 작제물은 대조군(즉, VWF-052)을 제외하고는 트롬빈 절단가능한 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 융합된 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함한다. VWF-031은 L-V-P-R(서열 번호 25)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 48개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-034는 288개 아미노산을 갖는 XTEN 서열 및 L-V-P-R(서열 번호 25)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 35개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-035는 L-V-P-R(서열 번호 25)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 73개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-036은 L-V-P-R(서열 번호 25)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 98개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-039는 L-V-P-R(서열 번호 25)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 26개 아미노산의 VWF 링커 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 26개 아미노산의 VWF 링커를 포함한다. VWF-051은 A-L-R-P-R-V-V(서열 번호 26)의 트롬빈 절단 부위를 포함하는 54개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-052는 어떠한 트롬빈 절단 부위(대조군)의 부재하에서 48개 아미노산의 링커를 포함한다. VWF-054는 FVIII으로부터의 a1 영역을 포함하는 40개 아미노산의 VWF 링커를 포함한다. VWF-055는 FVIII으로부터의 a2 영역을 포함하는 34개 아미노산의 VWF 링커를 포함한다. VWF-056은 FVIII으로부터의 a3 영역을 포함하는 46개 아미노산의 VWF 링커를 포함한다.

도 3a는 VWF-Fc 기능 작제물, 즉, VWF-031, VWF-034, VWF-036, VWF-039, VWF-051, 및 VWF-052에 대한 RU의 단위의 포획 밀도의 함수로서 초당 공명 단위(RU/s)의 단위인 트롬빈-매개된 절단의 비율을 나타낸다. 도 3b는 VWF-Fc 융합 작제물, 즉, VWF-031, VWF-034, VWF-036, VWF-051, 및 VWF-052에 대한 RU의 단위의 포획 밀도의 함수로서 초당 공명 단위(RU/s)의 단위인 트롬빈-매개된 절단의 비율을 나타낸다. 이들 실시예에서, 각각의 VWF-Fc 융합 작제물은 다양한 밀도에서 포획되고 후속적으로 고정된 농도의 사람 알파-트롬빈에 노출된다. 도 3a 및 도 3b에서 각각의 곡선의 기울기는 각각의 작제물에 대한 트롬빈 절단에 대한 민감성을 직접적으로 반영한다.

도 4a는 VWF-Fc 기능 작제물, 즉, VWF-054, VWF-055, 및 VWF-056에 대한 RU의 단위의 포획 밀도의 함수로서 초당 공명 단위(RU/s)의 단위인 트롬빈-매개된 절단의 비율을 나타낸다. 도 4b는 VWF-Fc 기능 작제물, 즉, VWF-031, VWF-039, VWF-054, VWF-055, 및 VWF-056에 대한 RU의 단위의 포획 밀도의 함수로서 초당 공명 단위(RU/s)의 단위인 트롬빈-매개된 절단의 비율을 나타낸다. 이들 실시예에서, 각각의 VWF-Fc 융합 작제물은 다양한 밀도에서 포획되고 후속적으로 고정된 농도의 사람 알파-트롬빈에 노출된다. 도 4a 및 도 4b에서 각각의 곡선의 기울기는 각각의 작제물에 대해 트롬빈 절단에 대한 민감성을 직접적으로 반영한다.

도 5는 트롬빈-매개된 절단에 대한 다양한 VWF-Fc 작제물, VWF-031, VWF-034, VWF-036, VWF-039, VWF-051, VWF-052, VWF-054, VWF-055, 및 VWF-056의 민감성을 측정하기 위한 선형 회귀 분석의 결과를 나타낸다. 값은 초의 역수의 단위로 나타내며 도 3 및 도 4에 나타난 곡선의 기울기를 반영한다. 2개의 상이한 작제물의 상대적인 민감성은 이들 각각의 기울기의 몫으로부터 기원한다. 기울기_{VWF-039}/기울기_{VWF-031}는 71이고, 이는, VWF-Fc 융합 작제물 VWF-039가 VWF-031보다 트롬빈-매개된 절단에 대해 71배 더 민감임을 나타낸다. 기울기_{VWF-055}/기울기_{VWF-031}는 65이고, 기울기_{VWF-051}/기울기_{VWF-031}는 1.8이다.

도 6은 전혈 ROTEM 검정에 의해 측정된 HemA 환자에서 다양한 키메라 분자의 응고 시간을 나타낸다. FVII155/VWF-031은 2개의 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 제1 쇄는 Fc 영역에 융합된 BDD FVIII를 포함하고 제2 쇄는 최소의 트롬빈 절단 부위(즉, L-V-P-R (서열 번호 25))를 통해 Fc 영역에 융합된 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함한다. FVII155/VWF-039는 2개의 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 제1 쇄는 Fc 영역에 융합된 BDD FVIII를 포함하고 제2 쇄는 L-V-P-R (서열 번호 25) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 융합된 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함한다. FVII155/VWF-055는 2개의 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 제1 쇄는 Fc 영역에 융합된 BDD FVIII를 포함하고 제2 쇄는 FVIII로부터의 a2 영역을 포함하는 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 융합된 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함한다.

도 7은 대표적인 FVIII-VWF 이중이량체 및 FVIII169, FVIII286, VWF057, VWF059, and VWF062 작제물의 도해를 나타낸다. 예를 들면, FVIII169 작제물은 Fc 영역에 융합된 R1648A 치환을 지닌 B 도메인 결실된 FVIII 단백질을 포함하며, 여기서, XTEN 서열(예를 들면, AE288)은 성숙한 전장의 FVIII (A1-a1-A2-a2-288XTEN-a3-A3-C1-C2-Fc)에 상응하는 745번 아미노산에서 삽입된다. FVIII286 작제물은 Fc 영역에 융합된 R1648 치환을 지닌 B 도메인 결실된 FVIII 단백질을 포함하며, 여기서, XTEN 서열(예를 들면, AE288)은 FVIII 와 Fc (A1-a1-A2-a2-288XTEN-a3-A3-C1-C2-a2-Fc)의 사이에 추가의 a2 영역을 지닌, 성숙한 전장의 FVIII에 상응하는 745번 아미노산에 삽입된다. VWF057은 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 연결된 VWF 단백질의 D'D3 도메인(D'D3 도메인내에 2개의 아미노산 치환, 즉, C336A 및 C379A를 지님)을 포함하는 VWF-Fc 융합 작제물이며, 이는 LVPR 트롬빈 부위("LVPR") 및 GS 링커("GS")를 포함하고, 여기서, XTEN 서열(즉, 144XTEN)은 D'D3 도메인과 VWF 링커(D'D3-

144XTEN-GS+LVPR-Fc) 사이에 삽입된다. VWF059는 VWF 링커로서 산성 영역 2(a2) 영역을 통해 Fc 영역에 연결된 VWF 단백질의 D'D3 도메인(D'D3 도메인내에 2개의 아미노산 치환, 즉, C336A 및 C379A를 지님)을 포함하는 VWF-Fc 융합 작제물이며, 여기서 XTEN 서열은 D'D3 도메인과 VWF 링커 사이에 삽입된다. VWF062는 Fc 영역에 연결된 VWF 단백질의 D'D3 도메인(D'D3 도메인내에 2개의 아미노산 치환, 즉, C336A 및 C379A를 지님)을 포함하는 VWF-Fc 융합 작제물이며, 여기서 XTEN 서열은 D'D3 도메인과 Fc 영역(D'D3-144XTEN-Fc) 사이에 삽입된다.

도 8은 HemA 마우스 꼬리 클립 모델에서 B 도메인 결실된 FVIII("SQ BDD FVIII" 또는 "BDD-rFVIII") 또는 비히클 대조군과 비교하여, FVIII-XTEN-Fc/D'D3-링커-Fc 이중이량체(즉, FVIII169/VWF034, FVIII169/VWF059, 및 FVIII169/VWF057)의 급성 효능을 나타낸다. BDD-rFVIII는 원형으로 나타내는 반면 FVIII169/VWF034는 사각형으로 나타내고, FVIII169/VWF059는 삼각형으로 나타내며, FVIII169/VWF057은 중공 원(hollow circle)으로 나타내고, 비히클은 역전된 삼각형으로 나타낸다. VWF034 는 Fc 영역에 VWF 링커를 통해 융합된 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하는 VWF-Fc 융합 작제물이며, 이는 LVPR을 포함하고, 여기서, XTEN 서열 (즉, 288XTEN)은 D'D3 도메인과 VWF 링커(D'D3-288XTEN-LVPR-Fc) 사이에 삽입된다. FVIII169, VWF059, 및 VWF057의 작제물 세부 사항은 본원의 어느곳에 나타나 있다. 각각의 처리 그룹에서 75 IU/kg의 작제물을 투여한 후 마우스의 중간 혈액 손실(uL)은 수평선으로 나타낸다

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030]

발명의 상세한 설명

[0031]

본 발명은 XTEN 서열 및 이중 잔기, 예를 들면, 반감기를 연장하는 잔기를 지닌 VWF 단백질 또는 FVIII 단백질을 연결하는 트롬빈 절단가능한 링커를 포함하는 키메라 분자에 관한 것이다. 본 발명은 또한 2개의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 키메라 분자를 제공하며, 제1쇄는 이중 잔기에 융합된 VWF 단백질을 포함하고, 제2쇄는 FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기를 포함하며, 여기서 키메라 분자는 제1 또는 제2의 폴리펩타이드쇄내에 XTEN 서열을 포함하고, 여기서 VWF 단백질 또는 FVIII 단백질(또는 둘 다)는 VWF 링커 또는 FVIII 링커(또는 둘 다)를 통해 이중 잔기에 융합된다. 트롬빈 절단가능한 링커(VWF 링커 또는 FVIII 링커)는, 트롬빈이 용이하게 이용가능한 손상 부위에서 트롬빈에 의해 효율적으로 절단될 수 있다. 예시적인 키메라 분자는 본 상세한 설명 및 도면에 설명되어 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 예를 들면, 도 1 내지 7에 설정된 구조를 갖는 키메라 분자에 관한것이다. 다른 구현예에서, 본 발명은 본원에 개재된 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다.

[0032]

명세서 및 특허청구범위의 명확한 이해를 제공하기 위하여, 다음의 정의를 하기 제공한다.

[0033]

1. 정의

[0034]

용어 "단수("a" 또는 "an")의 실체는 하나 이상의 실체를 말하는데; 예를 들면, "뉴클레오타이드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 자체로서, 용어 "하나("a"(또는 "an"))", "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0035]

용어 "약"은 대략, 거의, 주변, 또는 이의 범위를 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 관련하여 사용되는 경우, 이는 설정된 수치의 상 하 경계부를 연장함으로써 당해 범위를 변형시킨다. 일반적으로, 용어 "약"은 기술된 값을 상 하로 10 퍼센트의 변형까지 수치의 상 하를 변형시키기위해 본원에서 사용된다.

[0036]

용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드"는 단수의 핵산 및 다수의 핵산을 포함하는 것으로 의도되며, 분리된 핵산 분자 또는 작제물, 예를 들면, 전령 RNA(mRNA) 또는 플라스미드 DNA(pDNA)를 말한다. 특정의 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 통상의 포스포디에스테르 결합 또는 비-통상적인 결합(예를 들면, 펩타이드 핵산(PNA)에서 발견된 것과 같은 아미드 결합)을 포함한다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 어떠한 하나 이상의 핵산 분절, 예를 들면, DNA 또는 RNA 단편을 말한다. "분리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 의도하며, 이는 이의 천연의 환경으로부터 제거된다. 예를 들면, 벡터내에 함유된 인자 VIII 폴리펩타이드를 암호화하는 재조합체 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 목적을 위해 분리되는 것으로 고려된다. 분리된 폴리뉴클레오타이드의 추가의 예는 이중 숙주 세포 속에 유지된 재조합체 폴리뉴클레오타이드 또는 용액 속에서 다른 폴리뉴클레오타이드로부터 정제된(부분적으로 또는 실질적으로) 재조합체 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 분리된 RNA 분자는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 본 발명에 따른 분리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 또한 합성적으로 생산된 이러한 분자를포함한다. 또한, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 프로모터, 인핸서(enhancer), 리보솜 결합 부위, 또는 전사 종결

시그널과 같은 조절 성분을 포함할 수 있다.

- [0037] 본원에 사용된 것으로서, "암호화 영역" 또는 "암호화 서열"은 아미노산으로 해독가능한 코돈으로 이루어진 폴리뉴클레오타이드의 일부이다. "종결 코돈"(TAG, TGA, 또는 TAA)이 아미노산으로 전형적으로 해독되지 않지만, 이는 암호화 영역의 부분인 것으로 고려될 수 있으나, 어떠한 플랭킹 서열(flanking sequence), 예를 들면, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 터미네이터, 인트론 등은 암호화 영역의 부분이 아니다. 암호화 영역의 경계는 전형적으로 생성되는 폴리펩타이드의 아미노 말단을 암호화하는 5' 말단에서의 출발 코돈, 및 생성되는 폴리펩타이드의 카복실 말단을 암호화하는, 3' 말단에서의 해독 정지 코돈에 의해 결정된다. 본 발명의 2개 이상의 암호화 영역은 단일의 폴리뉴클레오타이드 작제물내, 예를 들면, 단일 벡터 상에, 또는 별개의 폴리뉴클레오타이드 작제물, 예를 들면, 별도의(상이한) 벡터 상에 존재할 수 있다. 이는, 이후에 단일 벡터가 단지 1개의 암호화 영역을 함유할 수 있거나 2개 이상의 암호화 영역을 포함할 수 있음을 수반하는데, 예를 들면, 단일 벡터는 하기 기술된 바와 같이 키메라 분자의 제1의 폴리펩타이드 쇠 및 제2의 폴리펩타이드 쇠를 별도로 암호화할 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터, 폴리뉴클레오타이드, 또는 핵산은 본 발명의 키메라 분자를 암호화하는 핵산에 융합되거나 융합되지 않은 이중 암호화 영역을 암호화할 수 있다. 이중 암호화 영역은 분비성 시그널 펩타이드 또는 이중 기능성 도메인과 같은 특수화된 성분 또는 모티프를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0038] 포유동물 세포에 의해 분비된 특성의 단백질은, 조면 소포체를 가로질러 성장하는 단백질 쇠의 배출이 개시되면 성숙한 단백질로부터 절단되는 분비성 시그널 펩타이드와 연합되어 있다. 당해 분야의 통상의 기술자들은, 단일의 펩타이드가 일반적으로 폴리펩타이드의 N-말단에 융합되어 있으며, 완전하거나 "전장"의 폴리펩타이드로부터 절단되어 분비되거나 "성숙한" 형태의 폴리펩타이드를 생산함을 인지하고 있다. 특성의 구현예에서, 천연의 시그널 펩타이드, 예를 들어, FVIII 시그널 펩타이드 또는 VWF 시그널 펩타이드가 사용되거나, 이와 작동적으로 연합된 폴리펩타이드의 분비를 지시하는 능력을 보유한 이러한 서열의 기능성 유도체가 사용된다. 대안적으로, 이중 포유동물 시그널 펩타이드, 예를 들면, 사람 조직 플라스미노겐 활성화인자(TPA) 또는 마우스 γ -글루쿠로니다제 시그널 펩타이드, 또는 이의 기능성 유도체가 사용될 수 있다.
- [0039] 용어 "하부(downstream)"는 참조 뉴클레오타이드 서열에 대해 3'에 위치하는 뉴클레오타이드 서열을 말한다. 특성의 구현예에서, 하부 뉴클레오타이드 서열은 전사 출발점을 따라가는 서열을 말한다. 예를 들어, 유전자의 해독 개시 코돈은 전사의 출발 부위의 하부에 위치한다.
- [0040] 용어 "상부(upstream)"는 참조 뉴클레오타이드 서열에 대해 5'에 위치하는 뉴클레오타이드 서열을 말한다. 특성의 구현예에서, 상부 뉴클레오타이드 서열은 전사의 암호화 영역 또는 출발점의 5' 부위에 위치하는 서열에 관한 것이다. 예를 들면, 대부분의 프로모터는 전사의 출발 지점의 상부에 위치한다.
- [0041] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "조절 영역"은 암호화 영역의 상부(5' 비-암호화 서열), 내부, 또는 하부(3' 비-암호화 서열)에 위치한 뉴클레오타이드 서열을 말하며, 이는 연합된 암호화 영역의 전사, RNA 프로세싱, 안전성, 또는 해독에 영향을 미친다. 조절 영역은 프로모터, 해독 리더 서열, 인트론, 폴리아데닐화 인지 서열, RNA 프로세싱 부위, 효과기 결합 부위 및 스템-루프 구조(stem-loop structure)를 포함할 수 있다. 암호화 영역이 진행 세포내에서의 발현용으로 의도된 경우, 폴리아데닐화 시그널 및 전사 종결 서열은 일반적으로 암호화 서열에 대해 3'로 위치할 것이다.
- [0042] 유전자 생성물, 예를 들면, 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 암호화 영역에 작동적으로 연합된 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 해독 조절 성분을 포함할 수 있다. 작동가능한 연합에서 유전자 생성물, 예를 들면, 폴리펩타이드에 대한 암호화 영역은 조절 영역(들)의 영향 또는 조절 하에 유전자 생성물을 발현하도록 하는 방식으로 하나 이상의 조절 영역과 연합된다. 예를 들어, 암호화 영역 및 프로모터는, 프로모터 기능의 도입이 암호화 영역에 의해 암호화된 유전자 생성물을 암호화하는 mRNA의 전사를 초래하는 경우, 및 프로모터와 암호화 영역 사이의 연결의 특성이 유전자 생성물의 발현을 지시하거나 전사될 DNA 주형의 능력을 방해하는 프로모터의 능력을 방해하지 않는 경우, "작동적으로 연합되어" 있다. 프로모터 이외의 다른 전사 조절 성분, 예를 들면, 인핸서, 프로모터, 리프레서, 및 전사 종결 시그널은 또한 암호화 영역과 작동적으로 연합되어 유전자 생성물 발현을 지시할 수 있다.
- [0043] 다양한 전사 조절 영역은 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 이들은 사이토메갈로바이러스(인트론-A와 접합된 인터미디이트 얼리 프로모터(immediate early promoter)), 시미안 바이러스 40(얼리 프로모터), 및 레트로바이러스(예: 로우스 사코마 바이러스(Rous sarcoma virus))로부터의 프로모터 및 인핸서 분절과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 척추동물 세포내에서 기능하는 전사 조절 영역을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다른 전사 조절 영역은 액틴, 열 쇼크 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼 γ -글로빈과 같은 척추동물 유전자로부터 기원한

것들, 및 진핵 세포내에서 유전자 발현을 조절할 수 있는 다른 서열을 포함한다. 추가의 적합한 전사 조절 영역은 조직-특이적인 프로모터 및 또한 인핸서 및 림포카인-유도성 프로모터 (예를 들면, 인터페론 또는 인터루킨에 의해 유도가능한 프로모터)를 포함한다.

[0044] 유사하게, 다양한 해독 조절 성분이 당해 분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 이들은 리보소姆 결합 부위, 해독 개시 및 종결 코돈, 및 피코르나바이러스로부터 기원한 성분(특히 내부 리보소姆 도입 부위 또는 CITE 서열로 또한 언급된 IRES)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0045] 본원에 사용된 것으로서 용어 "발현"은, 폴리뉴클레오타이드가 유전자 생성물, 예를 들면, RNA 또는 폴리펩타이드를 생산하는 공정을 말한다. 이는 폴리뉴클레오타이드의 전령 RNA(mRNA), 전달 RNA(tRNA), 소 헤어핀(small hairpin) RNA(shRNA), 소 방해 RNA(siRNA) 또는 어떠한 다른 RNA 생성물로의 전사, 및 mRNA의 폴리펩타이드내로의 해독을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 발현은 "유전자 생성물"을 생산한다. 본원에 사용된 것으로서, 유전자 생성물은 핵산, 예를 들면, 유전자의 전사에 의해 생산된 전령 RNA, 또는 전사체로부터 해독된 폴리펩타이드일 수 있다. 본원에 기술된 유전자 생성물은 전사 후 변형, 예를 들면, 폴리아데닐화 또는 스플라이싱(splicing)을 지닌 핵산, 또는 전사 후 변형, 예를 들면, 다른 단백질 소단위, 또는 단백질분해성 절단과 함께, 메틸화, 글리코실화, 및 지질의 첨가를 추가로 포함한다.

[0046] "벡터"는 핵산의 숙주 세포내로의 클로닝 및/또는 전달을 위한 어떠한 비히클을 말한다. 벡터는, 다른 핵산 분절이 부착하여 부착된 분절의 복제를 가져오도록 할 수 있는 레플리콘(replicon)일 수 있다. "레플리콘"은 생체 내에서 자가 복제 단위로서 기능하는, 즉, 이의 자체 조절하에 복제할 수 있는 어떠한 유전 성분(예를 들면, 플라스미드, 파아지, 코스미드, 염색체, 바이러스)를 말한다. 용어 "벡터"는 시험관내, 생체의 또는 생체내에서 핵산을 세포내로 도입하기 위한 바이러스 및 비바이러스 비히클 둘 다를 포함한다. 예를 들면, 플라스미드, 변형된 진핵 바이러스, 또는 변형된 세균 바이러스를 포함하는, 다수의 벡터가 공지되어 있으며 당해 분야에서 사용되고 있다. 폴리뉴클레오타이드의 적합한 벡터내로의 삽입은 적절한 폴리뉴클레오타이드 단편을 상보성의 점착성 말단(complementary cohesive termini)을 갖는 선택된 벡터내로 연결시킴으로써 달성할 수 있다.

[0047] 벡터는 당해 벡터내로 혼입된 세포의 선택 또는 확인을 제공하는 선택가능한 마커 또는 리포터를 암호화하도록 가공될 수 있다. 선택가능한 마커 또는 리포터의 발현은 벡터 내에 함유된 다른 암호화 영역을 혼입하여 발현하는 숙주 세포를 확인 및/또는 선택하도록 한다. 당해 분야에 공지되고 사용된 선택가능한 마커 유전자의 예는 다음을 포함한다: 암피실린, 스트렙토마이신, 겐타마이신, 가나마이신, 하이그로마이신, 비알라포스 제초제(bialaphos herbicide), 설펜아미드 등; 및 표현형 마커로서 사용된 유전자, 즉, 안토시아닌 조절 유전자, 이소펜타닐 트랜스퍼라제 유전자 등. 당해 분야에 공지되고 사용된 리포터의 예는 다음을 포함한다: 루시퍼라제(Luc), 녹색 형광성 단백질(GFP), 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제(CAT), -갈락토시다제(LacZ), -글루쿠로니다제(Gus), 등. 선택가능한 마커는 또한 리포터인 것으로 고려될 수 있다.

[0048] 용어 "플라스미드"는 세포의 중심 물질대사의 일부가 아니며, 일반적으로 원형의 이분쇄 DNA 분자의 형태인 유전자를 흔히 수반하는 염색체의 성분을 말한다. 이러한 성분은 어느 공급원으로부터도 기원한 이분쇄 또는 이분쇄 DNA 또는 RNA의 자가 복제하는 서열, 계놈 통합 서열, 파아지 또는 뉴클레오타이드 서열, 선형, 환형, 또는 슈퍼코일(supercoiled)일 수 있으며, 여기서 다수의 뉴클레오타이드 서열은 적절한 3' 해독되지 않은 서열과 함께 선택된 유전자 생성물에 대한 프로모터 단편과 DNA 서열을 세포내로 도입시킬 수 있는 유일한 구조물로 결합되거나 조합된다.

[0049] 사용될 수 있는 진핵 세포 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 폭스바이러스, 예를 들면, 박시니아 바이러스 벡터, 마클로바이러스 벡터, 또는 헤르페스바이러스 벡터를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 비-바이러스 벡터는 플라스미드, 리포솜, 전기적으로 하전된 지질(사이토펙틴), DNA-단백질 복합체, 및 생물중합체를 포함한다.

[0050] "클로닝 벡터"는 연속으로 복제하는 핵산의 단위 길이며 다른 핵산 분절이 부착하여 부착된 분절의 복제를 가져오는 플라스미드, 파아지 또는 코스미드와 같은 복제 오리진을 포함하는 "레플리콘"을 말한다. 특정의 클로닝 벡터는 하나의 세포형, 예를 들면, 세균내에서 복제할 수 있고 다른, 예를 들면, 진핵 세포내에서 발현할 수 있다. 클로닝 벡터는 전형적으로 목적인 핵산 서열의 삽입을 위한 벡터 및/또는 하나 이상의 다중 클로닝 부위를 포함하는 세포의 선택에 사용될 수 있는 하나 이상의 서열을 포함한다.

[0051] 용어 "발현 벡터"는 숙주 세포내로 삽입 후 삽입된 핵산 서열의 발현이 가능하도록 설계된 비히클을 말한다. 삽입된 핵산 서열은 위에서 기술한 바와 같은 조절 영역과 작동 가능하게 연합하도록 위치한다.

- [0052] 벡터는 당해 분야에 잘 공지된 방법, 예를 들면, 형질감염, 전기천공, 미세주사, 형질도입, 세포 융합, DEAE 텍스트란, 인산칼슘 침전, 지질감염(리소좀 융합), 유전자 총의 사용, 또는 DNA 벡터 전달인자의 사용에 의해 숙주 세포내로 도입된다.
- [0053] 본원에 사용된 것으로서, "배양" "배양물" 및 "배양하는"은 세포 성장 또는 분열을 허용하는 시험관내 조건하에서 세포를 항온처리하거나 살아있는 상태로 세포를 유지함을 의미한다. 본원에 사용된 것으로서 "배양된 세포"는 시험관내에서 증식되는 세포를 의미한다.
- [0054] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "폴리펩타이드"는 단수의 "폴리펩타이드" 뿐만 아니라 복수의 "폴리펩타이드"를 포함하는 것으로 의도되며, 아마이드 결합(펩타이드 결합으로 또한 공지됨)에 의해 선형 연결된 단량체(아미노산)으로 구성된 분자를 말한다. 용어 "폴리펩타이드"는 2개 이상의 아미노산의 어떠한 쇠 또는 쇠들을 말하며, 생성물의 구체적인 길이를 말하지는 않는다. 따라서, 2개 이상의 아미노산의 쇠 또는 쇠들을 언급하기 위해 사용된 펩타이드, 디펩타이드, 트리펩타이드, 올리고펩타이드, "단백질", "아미노산 쇠", 또는 어떠한 다른 용어는 "폴리펩타이드"의 정의내에 포함되며, 용어 "폴리펩타이드"는 이들 형태 중의 어느 것 대신에 또는 이와 상호교환적으로 사용될 수 있다. 용어 "폴리펩타이드"는 또한 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단 그룹에 의한 유도체화, 단백질분해적 절단, 또는 비-천연적으로 존재하는 아미노산에 의한 변형을 제한없이 포함하는, 폴리펩타이드의 발현 후 변형의 생성물을 말하는 것으로 의도된다. 폴리펩타이드는 천연의 생물학적 공급원으로부터 기원할 수 있거나 재조합체 기술로 생산될 수 있으나, 지정된 핵산 서열로부터 필수적으로 해독되지 않는다. 이는 화학 합성을 포함하는, 어떠한 방식으로든 생성될 수 있다.
- [0055] "분리된 폴리펩타이드 또는 단편, 변이체, 또는 이의 유도체"는 이의 천연 환경(natural milieu)에서 존재하지 않는 폴리펩타이드를 말한다. 특별한 수준의 정제는 요구되지 않는다. 예를 들어, 분리된 폴리펩타이드는 이의 원래의 또는 천연 환경으로부터 단순히 제거될 수 있다. 재조합적으로 생산된 폴리펩타이드 및 숙주 세포내에서 발현된 단백질은 어떠한 적합한 기술에 의해서 별도로, 분획화되거나, 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연의 또는 재조합체 폴리펩타이드와 같이, 본 발명의 목적을 위해 분리되는 것으로 고려된다.
- [0056] 또한 폴리펩타이드의 단편 또는 변이체, 및 이의 어떠한 조합도 본 발명에 포함된다. 본 발명의 폴리펩타이드 결합 도메인 또는 결합 분자를 언급하는 경우 용어 "단편" 또는 "변이체"는 참조 폴리펩타이드의 적어도 일부의 특성(예를 들면, FcRn 결합 도메인 또는 Fc 변이체에 대한 FcRn 결합 친화성, FVIII 변이체에 대한 응고 활성, 또는 VWF 단백질에 대한 FVIII 결합 활성)을 보유한 어떠한 폴리펩타이드도 포함한다. 폴리펩타이드의 단편은 본원의 어디에서 논의된 특이적인 항체 단편 이외에, 단백질분해성 단편, 및 결실 단편을 포함하나, 천연적으로 존재하는 전장의 폴리펩타이드(또는 성숙한 폴리펩타이드)는 포함하지 않는다. 본 발명의 폴리펩타이드 결합 도메인 또는 결합 분자의 변이체는 위에서 논의된 바와 같은 단편, 및 또한 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입으로 인하여 변경된 아미노산 서열을 지닌 폴리펩타이드를 포함한다. 변이체는 천연적으로 또는 비-천연적으로 존재할 수 있다. 비-천연적으로 존재하는 변이체는 당해 분야에 공지된 돌연변이유발 기술을 사용하여 생산할 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환, 결실 또는 첨가를 포함할 수 있다.
- [0057] 본원에 사용된 것으로서 용어 "VWF 단편" 또는 "VWF 단편"은 FVIII와 상호작용하며 전장의 VWF에 의해 FVII에 일반적으로 제공된 적어도 하나 이상의 특성, 예를 들면, FVIIIa으로의 미성숙 활성화를 예방하고/하거나, 미성숙 단백질분해를 방지하고/하거나, 미성숙 정화를 초래할 수 있는 인지질 막과의 연합을 예방하고/하거나, 네이크드(naked) FVIII에 결합할 수 있으나 VWF-결합된 FVII에 결합할 수 없는 FVIII 정화 수용체에 대한 결합을 예방하고/하거나 FVIII 중쇄 및 경쇄 상호작용을 안정화시키는 특성을 보유하는 어떠한 VWF 단편도 의미한다. 특수한 구현예에서, 본원에 사용된 것으로서 "VWF 단편"은 VWF 단백질의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하지만, VWF 단백질의 A1 도메인, A2 도메인, A3 도메인, D4 도메인, B1 도메인, B2 도메인, B3 도메인, C1 도메인, C2 도메인, 및 CK 도메인을 포함하지 않는다.
- [0058] 본원에 사용된 것으로서 용어 "반감기 제한 인자" 또는 "FVIII 반감기 제한 인자"는 야생형 FVIII (예를 들면, ADVATE[®] 또는 REFACTO[®])과 비교하여 FVIII 단백질의 반감기를 1.5배 이하 또는 2배 이하로 방지하는 인자를 나타낸다. 예를 들면, 전장의 또는 성숙한 VWF는 시스템으로부터 정화될 FVIII 및 VWF 복합체를 하나 이상의 VWF 정화 경로에 의해 유도함으로써 FVIII 반감기 제한 인자로서 작용할 수 있다. 하나의 예에서, 내인성 VWF는 FVIII 반감기 제한 인자이다. 다른 예에서, FVIII 단백질에 비-공유결합으로 결합된 전장의 재조합체 VWF 분자는 FVIII-반감기 제한 인자이다.
- [0059] 본원에 사용된 것으로서 용어 "내인성 VWF"는 혈장 속에 천연적으로 존재하는 VWF 분자를 나타낸다. 내인성 VWF

분자는 다량체일 수 있지만, 단량체 또는 이량체일 수 있다. 혈장 속의 내인성 VWF는 FVIII에 결합하여 FVIII과 비-공유결합성 복합체를 형성한다.

- [0060] "보존적 아미노산 치환"은, 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 치환된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 염기성 측쇄(예를 들면, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들면, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않는 극성 측쇄(예를 들면, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들면, 알라닌, 발린, 루이신, 이소루이신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-측쇄된 측쇄(예를 들면, 트레오닌, 발린, 이소루이신) 및 방향족 측쇄(예를 들면, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함하여, 당해 분야에 확인되어 있다. 따라서, 폴리펩타이드내 아미노산이 동일한 측쇄 계열로부터의 다른 아미노산으로 치환되는 경우, 당해 치환은 보존적인 것으로 고려된다. 다른 구현예에서, 아미노산의 스트링(string)은 측쇄 계열 구성원의 순서 및/또는 구성에 있어서 상이한 구조적으로 유사한 스트링으로 보존적으로 치환될 수 있다.
- [0061] 당해 분야에 알려진 바와 같이, 2개의 폴리펩타이드 사이의 "서열 동질성"은 하나의 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 제2의 폴리펩타이드의 서열과 비교함으로써 측정한다. 본원에서 논의하는 경우, 어떠한 특수한 폴리펩타이드가 다른 폴리펩타이드에 대해 적어도 약 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100% 동일한지의 여부는 BESTFIT 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, 유닉스용 버전 8, 제조원: 미국 위스콘신주 53711 매디슨 사이언스 드라이브 575 유니버시티 리서치 파크 소재의 Genetics Computer Group)와 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 당해 분야에 공지된 방법 및 컴퓨터 프로그램/소프트웨어를 사용하여 측정할 수 있다. BESTFIT는 스미쓰(Smith) 및 워터맨(Waterman)의 국소 상동성 알고리즘[참조: Advances in Applied Mathematics 2:482-489 (1981)]을 사용하여 2개의 서열 사이의 상동성의 가장 우수한 분절을 찾는다. 특수한 서열이 예를 들면, 본 발명에 따른 참조 서열과 95% 동일한지를 측정하기 위한 BESTFIT 또는 어떠한 다른 서열 정렬 프로그램을 사용하는 경우, 매개변수가 물론 설정됨으로써 동질성 퍼센트를 참조 폴리펩타이드 서열의 전체 길이에 걸쳐 계산하고 참조 서열내 아미노산의 총 수의 5% 이하의 상동성에 있어서의 갭(gap)을 허용한다.
- [0062] 본원에 사용된 바와 같이, VWF 서열 또는 FVIII 단백질 서열에서 "에 상응하는 아미노산" 또는 "등가의 아미노산"은 제1의 VWF 또는 FVIII 서열과 제2의 VWF 또는 FVIII 서열 사이의 동질성 또는 유사성을 최대화하기 위한 정렬에 의해 확인된다. 제2의 VWF 또는 FVIII 서열에서 등가의 아미노산을 확인하는데 사용된 수는 제1의 VWF 또는 FVIII 서열에서 상응하는 아미노산을 확인하는데 사용된 수를 기본으로 한다.
- [0063] "융합" 또는 "키메라" 분자는 자연에서 천연적으로 연결되지 않는 제2의 아미노산에 연결된 제1의 아미노산 서열을 포함한다. 별도의 단백질에 일반적으로 존재하는 아미노산 서열은 융합 폴리펩타이드 속에서 함께 존재할 수 있거나, 동일한 단백질 속에 일반적으로 존재하는 아미노산 서열은 융합 폴리펩타이드, 예를 들면, 면역글로불린 Fc 도메인이 있는 본 발명의 인자 VIII 도메인의 융합체 속에 새로운 배열로 위치할 수 있다. 융합 단백질은 예를 들면, 화학 합성에 의해, 또는 펩타이드 영역이 요구된 관계로 암호화된 폴리뉴클레오타이드를 생성하여 해독시킴으로써 생성된다. 키메라 단백질은 공유결합성, 비-펩타이드 결합 또는 비-공유 결합과 연관된 제2의 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다.
- [0064] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "반감기"는 생체내에서 특수한 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 말한다. 반감기는, 피검자에게 투여된 양의 1/2이 동물내 순환 및/또는 다른 조직으로부터 정화되는데 요구되는 시간으로 나타낼 수 있다. 제공된 폴리펩타이드의 정화 곡선이 시간의 함수로서 구성되는 경우, 당해 곡선은 일반적으로 신속한 γ -상 및 보다 긴 β -상을 지닌 이상(biphasic)이다. γ -상은 내부-와 외부-혈관 공간 사이에서 투여된 폴리펩타이드의 균형을 전형적으로 나타내며 부분적으로는, 폴리펩타이드의 크기에 의해 측정된다. β -상은 전형적으로 혈관내 공간 속에서의 폴리펩타이드의 이화작용을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본 발명의 키메라 분자는 일상성(monophasic)이므로, 알파 상을 가지지 않지만 단지 단일의 베타 상이다. 따라서, 특정의 구현예에서, 본원에 사용된 것으로서 용어 반감기는 β -상의 폴리펩타이드의 반감기를 말한다. 사람에서 사람 항체의 대표적인 상 반감기는 21일이다.
- [0065] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드에 적용된 것으로서 용어 "이종"은, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드가, 이것이 비교되는 실체의 것으로부터 구별되는 실체로부터 기원함을 의미한다. 따라서, VWF 단백질에 연결된 이종 폴리펩타이드는 VWF 단백질에 연결되고 VWF 단백질의 천연적으로 존재하는 부분이 아닌 폴리펩타이드쇄를 의미한다. 예를 들면, 이종의 폴리뉴클레오타이드 또는 항원은 상이한 종, 개인의 상이한 세포형, 또는 구별되는 개인의 동일하거나 상이한 세포형으로부터 기원할 수 있다.
- [0066] 본원에 사용된 것으로서 용어 "연결된(linked)", "융합된" 또는 "연결된(connected)"은 제2의 아미노산 서열 또

는 뉴클레오타이드 서열에 결합된 (예를 들면, 펩타이드 결합 또는 포스포디에스테르 결합 각각을 통해) 제1의 아미노산 서열 또는 뉴클레오타이드 서열을 말한다. 용어 "공유 연결된" 또는 "공유결합성 연결"은 서로 연결된 2개의 잔기 사이의 공유 결합, 예를 들면, 이황화물 결합, 펩타이드 결합, 또는 하나 이상의 아미노산, 예를 들면, 링커를 말한다. 제1의 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열은 제2의 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열에 직접결합될 수 있거나 달리는 개재 서열(intervening sequence)이 제1 서열을 제2 서열에 결합시킬 수 있다. 용어 "연결된", "융합된", 또는 "연결된"은 C-말단 또는 N-말단에서 제2의 아미노산 서열에 대한 제1의 아미노산 서열의 융합만을 의미하는 것이 아니라, 또한 제1의 전체 아미노산 서열(또는 제2의 아미노산 서열)의 제2의 아미노산 서열(또는 제1의 아미노산 서열 각각)내 어떠한 2개의 아미노산의 삽입을 포함한다. 하나의 구현예에서, 제1의 아미노산 서열은 펩타이드 결합 또는 링커에 의해 제2의 아미노산 서열에 결합될 수 있다. 제1의 뉴클레오타이드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2의 뉴클레오타이드 서열에 결합될 수 있다. 링커는 펩타이드 또는 폴리펩타이드(폴리펩타이드 쇠의 경우) 또는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 쇠(뉴클레오타이드 쇠의 경우) 또는 어떠한 화학적 잔기(폴리펩타이드 및 폴리뉴클레오타이드 쇠 둘 다의 경우)일 수 있다. 공유결합성 연결은 때때로 (-) 또는 하이픈으로 나타낸다.

[0067] 본원에 사용된 것으로서 용어 "와 연합된"은 제1의 아미노산 쇠와 제2의 아미노산 쇠 사이에 형성된 공유결합성 또는 비-공유결합성 결합을 말한다. 하나의 구현예에서, 용어 "와 연합된"은 공유결합성, 비-펩타이드 결합 또는 비-공유결합성 결합을 의미한다. 일부 구현예에서, 당해 연합은 쌍점, 예를 들면, (:)로 나타낸다. 다른 구현예에서, 이는펩타이드 결합을 제외하고 공유결합성 결합을 의미한다. 다른 구현예에서, 본원에 사용된 것으로서 용어 "공유결합적으로 연합된"은, 공유 결합, 예를들면, 이황화물 결합, 펩타이드 결합, 또는 하나 이상의 아미노산(예를 들면, 링커)에 의한 2개의 잔기 사이의 연합을 의미한다. 예를 들면, 아미노산 시스테인은 제2의 시스테인 잔기 상의 이황화물 결합 또는 티올 그룹과의 브릿지를 형성할 수 있는 티올 그룹을 포함한다. 대부분의 천연적으로 존재하는 IgG 분자에서, CH1 및 CL 영역은 이황화물 결합에 의해 연합되어있으며 2개의 중쇄는 카뮈 번호매김 시스템(Kabat numbering system)을 사용하여 239 및 242번에 상응하는 위치(226 또는 229, EU 번호매김 시스템)에서 2개의 이황화물 결합에 의해 연합된다. 공유 결합의 예는 펩타이드 결합, 금속 결합, 수소 결합, 이황화물 결합, 시그마 결합, pi 결합, 델타 결합, 글리코시드 결합, 아그노스틱 결합(agnostic bond), 벤트 결합(bent bond), 쌍극 결합(dipolar bond), Pi 골격, 이중 결합, 삼중 결합, 사중 결합, 오중 결합, 육중 결합, 접합, 하이퍼접합(hyperconjugation), 방향성, 축각성, 또는 항결합(antibonding)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 비-공유결합성 결합의 비-제한적 예는 이온 결합(예를 들면, 양이온-pi 결합 또는 염 결합), 금속 결합, 수소 결합(예를 들면, 이수소 결합, 이수소 복합체, 저-장벽 수소 결합, 또는 대칭 수소 결합), 반데르 바알스 힘(van der Waals force), 런던 분산력(London dispersion force), 기계적 결합, 할로젠 결합, 친금성(aurophilicity), 인터칼레이션(intercalation), 적층(stack), 엔트로피력(entropic force), 또는 화학극성을 포함한다.

[0068] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "절단 부위" 또는 "효소적 절단 부위"는 효소에 의해 인식된 부위를 말한다. 하나의 구현예에서, 폴리펩타이드는 응고 캐스케이드(cascade) 동안에 활성화된 효소에 의해 절단된 효소절단 부위를 가짐으로써, 이러한 부위의 절단은 응고 형성 부위에서 일어난다. 다른 구현예에서, FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기를 연결시키는 FVIII 링커는 절단 부위를 포함할 수 있다. 예시적인 이러한 부위는 예를 들면, 트롬빈, 인자 XIa 또는 인자 Xa에 의해 인식된 것들을 포함한다. 예시적인 FXIa 절단 부위는 예를 들면, TQSFNDFTR (서열 번호 27) 및 SVSQTSLKTR (서열 번호 28)을 포함한다. 예시적인 트롬빈 절단 부위는, 예를 들면, DFLAEGGGVR(서열 번호 29), TTKIKPR(서열 번호 30), LVPRG(서열 번호 31) 및 ALRPR(서열 번호 26의 1 내지 5번 아미노산)을 포함한다. 다른 효소 분해 부위는 당해 분야에 공지되어 있다. 트롬빈에 의해 절단될 수 있는 절단 부위는 "트롬빈 절단 부위"로서 본원에 언급된다.

[0069] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "프로세싱 부위" 또는 "세포내 프로세싱 부위"는 폴리펩타이드의 해독 후 기능하는 효소에 대한 표적인 폴리펩타이드내 효소 절단 부위의 유형을 말한다. 하나의 구현예에서, 이러한 효소는 내강(Golgi lumen)으로부터 경 골지 구획까지의 수송 동안 기능한다. 세포내 프로세싱 효소는 세포로부터 단백질의 분비 전에 폴리펩타이드를 절단한다. 이러한 프로세싱 부위의 예는, 예를 들면, PACE/푸린(여기서, PACE는 쌍을 이룬 염기성 아미노산 절단 효소에 대한 머리글자이다) 계열의 엔도펩티다제를 포함한다. 이들 효소는 골지막에 국재화되어 서열 모티프 Arg-[어떠한 잔기]-(Lys 또는 Arg)-Arg의 카복시 말단 측면에서 단백질을 절단한다. 본원에 사용된 것으로서, "푸린" 계열의 효소는 예를 들면, PCSK1(또한 PC1/Pc3으로서 공지됨), PCSK2(또한 PC2로서 공지됨), PCSK3(또한 푸린 또는 PACE로서 공지됨), PCSK4(또한 PC4로서 공지됨), PCSK5(또한 PC5 또는 PC6로서 공지됨), PCSK6(또한 PACE4로서 공지됨), 또는 PCSK7(또한 PC7/LPC, PC8, 또는 SPC7로서 공지

됨)를 포함한다. 다른 프로세싱 부위는 당해 분야에 공지되어 있다. 본원에 언급된 용어 "프로세싱가능한 링커"는 세포내 프로세싱 부위를 포함하는 링커를 의미한다.

[0070] 용어 "푸린"은 EC 제3.4.21.75호에 상응하는 효소를 말한다. 푸린은 서브틸리신-유사 단백질 전환효소이며, 이는 또한 PACE(쌍을 이룬 염기성 아미노산 절단 효소)(Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme)로 또한 공지되어 있다. 푸린은, 불활성의 전구체 단백질을 생물학적으로 활성인 단백질로 전환시키는 불활성 전구체 단백질의 부분을 결실하고 있다. 이의 세포내 수송 동안, 전구-펩타이드는 골지내에서 푸린 효소에 의해 성숙한 VWF 분자로부터 절단된다.

[0071] 하나 이상의 프로세싱 또는 절단 부위를 포함하는 작제물에서, 이러한 부위는 동일하거나 상이할 수 있는 것으로 이해될 것이다.

[0072] 본원에 사용된 것으로서, 지혈성 질환은 피브리 응괴를 형성하는데 있어서의 손상된 능력 또는 불능으로 인하여, 자발적으로 또는 외상의 결과로서, 출혈 경향성에 의해 특징화되는 유전적으로 유전되거나 후천적인 상태를 의미한다. 이러한 질환의 예는 혈우병을 포함한다. 3개의 주요 형태는 혈우병 A(인자 VIII 결핍증), 혈우병 B(인자 IX 결핍증 또는 "크리스마스병") 및 혈우병 C(인자 XI 결핍증, 약한 출혈 경향성)이다. 다른 지혈성 질환은 예를 들면, 폰 빌레브란트병(von Willebrand disease), 인자 XI 결핍증(PTA 결핍증), 인자 XII 결핍증, 피브리노겐, 프로트롬빈, 인자 V, 인자 VII, 인자 X 또는 인자 XIII에 있어서 결핍증 또는 구조적 비정상, GPIb에 있어서 결함 또는 결핍증을 포함한다. VWF에 대한 수용체인 GPIb는 결함일 수 있으며 주요 응괴 형성(1차 지혈) 및 증가된 출혈 경향성일 수 있으며, 글란즈만(Glanzmann) 및 내겔리(Naegeli)의 혈소판무력증[글란즈만 혈소판무력증(Glanzmann thrombasthenia)]을 초래할 수 있다. 간 부전(급성 및 만성형)에서, 간에 의한 응고 인자의 불충분한 생산이 존재하며; 이는 출혈 위험을 증가시킬 수 있다.

[0073] 본 발명의 키메라 분자는 예방학적으로 사용될 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "예방학적 치료"는 출혈 사건 이전의 분자의 투여를 말한다. 하나의 구현예에서, 일반적인 지혈제를 필요로 하는 피검자는 수술 중이거나, 수술 예정에 있다. 본 발명의 키메라 단백질은 예방제로서 수술 전에 또는 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 키메라 단백질은 수술 동안 또는 후에 투여되어 급성 출혈 사건을 제어할 수 있다. 수술은 간 이식, 간 절제, 치과 수술, 또는 줄기 세포 이식을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0074] 본 발명의 키메라 분자는 또한 요구형(또는 "사건적") 치료를 위해 사용된다. 용어 "요구시 치료" 또는 "사건적 치료"는 출혈을 유발할 수 있는 활성 전에 또는 출혈 사건의증상에 대한 반응시 키메라 분자의 투여를 말한다. 하나의 국면에서, 요구시(사건적) 치료는 손상 후와 같이 출혈이 시작되는 경우, 또는 수술 전과 같이 출혈이 예상되는 경우에 피검자에게 제공될 수 있다. 다른 측면에서, 요구시 치료는 접촉성 스포츠와 같이, 출혈 위험이 증가하는 활동 전에 제공될 수 있다.

[0075] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "급성 출혈"은 직면한 위험에 무관한 출혈 사건을 말한다. 예를 들면, 피검자는 외상, 요독증, 유전성 출혈 질환(예를 들면, 인자 VII 결핍증) 혈소판 질환, 또는 응괴 인자에 대한 항체의 발달에 기인한 내성을 가질 수 있다.

[0076] 본원에 사용된 것으로서, 치료하다, 치료, 치료하는은 예를 들면, 질병 또는 상태의 중증도에 있어서의 감소; 질병 과정의 기간에 있어서의 감소; 질병 또는 상태와 관련된 하나 이상의 증상의 완화; 질병 또는 상태를 필수적으로 치유하지 않고, 질병 또는 상태를 지닌 피검자에 대한 유리한 효과의 제공, 또는 질병 또는 상태와 관련된 하나 이상의 증상의 예방을 말한다. 하나의 구현예에서, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 본 발명의 키메라 분자의 투여에 의해 피검자에서 FVIII 최저 농도(trough level)를 적어도 약 1 IU/dL, 2 IU/dL, 3 IU/dL, 4 IU/dL, 5 IU/dL, 6 IU/dL, 7 IU/dL, 8 IU/dL, 9 IU/dL, 10 IU/dL, 11 IU/dL, 12 IU/dL, 13 IU/dL, 14 IU/dL, 15 IU/dL, 16 IU/dL, 17 IU/dL, 18 IU/dL, 19 IU/dL, 또는 20 IU/dL로 유지함을 의미한다. 다른 구현예에서, '치료하는' 또는 '치료'는 FVIII 최저 수준을 약 1 내지 약 20 IU/dL, 약 2 내지 약 20 IU/dL, 약 3 내지 약 20 IU/dL, 약 4 내지 약 20 IU/dL, 약 5 내지 약 20 IU/dL, 약 6 내지 약 20 IU/dL, 약 7 내지 약 20 IU/dL, 약 8 내지 약 20 IU/dL, 약 9 내지 약 20 IU/dL, 또는 약 10 내지 약 20 IU/dL로 유지함을 의미한다. 질병 또는 상태의 '치료' 또는 '치료하는'은 또한 피검자에서 FVIII 활성을 비-혈우병 피검자에서 FVIII 활성의 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 또는 20%에 필적한 수준에서 유지함을 포함할 수 있다. 치료에 요구되는 최소의 최저 수준은 하나 이상의 공지된 방법으로 측정할 수 있으며 각각의 사람에 대해 조절(증가 또는 감소)할 수 있다.

[0077] II. 키메라 분자

- [0078] 본 발명의 키메라 분자를 설계하여, VWF 단백질 또는 FVIII 단백질이 융합된 다른 잔기로부터 VWF 단백질 또는 FVIII 단백질의 방출을 증진시킨다. 본 발명은 손상 부위에서 신속하고 효율적으로 제거할 수 있는 트롬빈 절단 가능한 링커를 제공한다. 본 발명의 하나의 측면에서, 키메라 분자는 폰 빌레브란트 인자(VWF) 단백질, 이중 잔기(H1), XTEN 서열, 및 VWF 단백질과 이중 잔기를 연결하는 VWF 링커를 포함할 수 있으며, 여기서 VWF 링커는: (i) 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 XTEN 서열은 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), VWF 링커, 또는 이의 어떠한 조합에도 연결된다. 본 발명의 다른 측면에서, 키메라 분자는 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), 및 VWF 단백질과 이중 잔기(H1)를 연결하는 VWF 링커를 포함하는 제1의 폴리펩타이드 쇠 및 FVIII 단백질 및 XTEN 서열을 포함하는 제2의 폴리펩타이드 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 제1 폴리펩타이드 서열내 VWF 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 서로 연합되어 있다.
- [0079] 본 발명의 다른 측면에서, 키메라 분자는 FVIII 링커를 통해 이중 잔기에 융합된 FVIII 단백질을 포함하는 폴리펩타이드 쇠를 포함하며, 여기서 FVIII 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함한다.
- [0080] **II.A. VWF, XTEN, VWF 링커를 지닌 키메라 분자**
- [0081] 본 발명은 VWF 링커를 통해 XTEN 서열에 융합된 VWF 단백질을 포함하는 키메라 분자를 제공하며, 여기서 VWF 링커는 (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함한다.
- [0082] 하나의 구현예에서, 키메라 분자는 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), XTEN 서열, 및 VWF 단백질을 이중 잔기와 연결하는 VWF 링커를 포함하며, 여기서 XTEN 서열은 VWF 단백질과 VWF 링커 사이에 위치하고, 여기서 VWF 링커는 (i) 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함한다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 VWF 단백질, 이중 잔기(H1), XTEN 서열, 및 VWF 단백질과 이중잔기를 연결시키는 VWF 링커를 포함하고, 여기서 XTEN 서열은 VWF 링커와 이중 잔기 사이에 위치하며, 여기서 VWF 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0083] 다른 구현예에서, 키메라 분자는 폴리펩타이드 쇠를 추가로 포함하고, FVIII 단백질을 포함하며, 여기서 제1 쇠는 VWF 단백질을 포함하고 제2 쇠는 서로 연합된 FVIII 단백질을 포함한다. 하나의 예에서, 연합은 공유 결합, 예를 들면, 이황화물 결합, 연합될 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, FVIII 단백질을 포함하는 폴리펩타이드 쇠는 추가의 XTEN 서열을 추가로 포함한다. 추가의 XTEN 서열은 FVIII 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 연결될 수 있거나 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입된다. 여전히 다른 구현예에서, FVIII 단백질을 포함하는 쇠는 제2의 이중 잔기(H2)를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, FVIII 단백질은 FVIII 링커를 통해 제2의 이중 잔기에 융합된다. 특정의 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 단백질과 이중 잔기를 연결하는 VWF 링커와 동일하다. 다른 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 단백질과 이중 잔기를 연결하는 VWF 링커와는 상이하다.
- [0084] 특정의 구현예에서, 키메라 분자는: (i) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C; (ii) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C; (iii) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C; (iv) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C; (v) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2); (vi) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2); (vii) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V; (viii) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V; (ix) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (x) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (xi) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V; 또는 (xii) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V로부터 선택된 화학식을 포함하고; 여기서 V는 VWF 단백질이고; L1은 VWF 링커이며; L2는 임의의 FVIII 링커이고; H1은 제1의 이중 잔기이며; H2는 제2의 이중 잔기이고; X1은 XTEN 서열이며; X2는 임의의 XTEN 서열이고; C는 FVIII 단백질이며; C(X2)는 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서 XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에

삽입되며; (-)는 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이고; (:)는 H1과 H2 사이의 공유 결합이다.

[0085] 일부 구현예에서, 키메라 단백질내 FVIII 단백질은 제3의 이종 잔기(H3)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제4의 이종 잔기(H4)를 포함하며, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제5의 이종 잔기(H5)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제6의 이종 잔기(H6)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 특정의 구현예에서, 하나 이상의 제3의 이종 잔기(H3), 제4의 이종 잔기(H4), 제5의 이종 잔기(H5), 및 제6의 이종 잔기(H6)는 키메라 분자의 반감기를 연장시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제3의 이종 잔기(H3), 제4의 이종 잔기(H4), 제5의 이종 잔기(H5), 및 제6의 이종 잔기(H6)는 FVIII 단백질 C-말단 또는 N-말단에 연결되어 있거나 FVIII 단백질의 2개의 아미노산 사이에 삽입되어 있다.

[0086] II.B. FVIII, XTEN, VWF 단백질, VWF 링커를 지닌 키메라 분자

[0087] 본 발명은 또한 VWF 단백질, 이종 잔기(H1), 및 VWF 단백질과 이종 잔기(H1)를 연결시키는 VWF 링커를 포함하는 제1의 폴리펩타이드 및 FVIII 단백질과 XTEN 서열을 포함하는 제2의 폴리펩타이드를 제공하며, 여기서, 제1의 폴리펩타이드내 VWF 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 폴리펩타이드를 포함하고, 여기서 제1의 폴리펩타이드 쇠 및 제2의 폴리펩타이드 쇠는 서로 연합되어 있다. 하나의 구현예에서, 여기서 XTEN 서열은 FVIII 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 연결되거나 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입된다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 추가의 XTEN 서열을 추가로 포함하고, 이는 VWF 단백질, 이종잔기, VWF 링커, 또는 이의 어떠한 조합에 연결되어 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 제2의 이종 잔기(H2)를 추가로 포함한다. 추가의 구현예에서, 키메라 분자의 제2의 이종 잔기는 FVIII 단백질, XTEN 서열, 또는 둘 다에 연결되어 있다. 여전히 다른 구현예에서, 제2의 이종 잔기는 FVIII 단백질 또는 FVIII 링커를 통해 XTEN 서열에 연결되어 있다. 여전히 다른 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 링커와 동일하다. 일부 구현예에서, FVIII 링커는 VWF 링커와는 상이하다.

[0088] 특정의 구현예에서, 키메라 분자는: (i) V-L1-X1-H1:H2-L2-X2-C; (ii) V-X1-L1-H1:H2-L2-X2-C; (iii) V-L1-X1-H1:H2-X2-L2-C; (iv) V-X1-L1-H1:H2-X2-L2-C; (v) V-L1-X1-H1:H2-L2-C(X2); (vi) V-X1-L1-H1:H2-L2-C(X2); (vii) C-X2-L2-H2:H1-X1-L1-V; (viii) C-X2-L2-H2:H1-L1-X1-V; (ix) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (x) C-L2-X2-H2:H1-L1-X1-V; (xi) C(X2)-L2-H2:H1-X1-L1-V; 또는 (xii) C(X2)-L2-H2:H1-L1-X1-V로부터 선택된 화학식을 포함하고; 여기서 V는 VWF 단백질이고; L1은 VWF 링커이며; L2는 임의의 FVIII 링커이고; H1은 제1의 이종 잔기이며; H2는 제2의 이종 잔기이고; X1은 XTEN 서열이며; X2는 임의의 XTEN 서열이고; C는 FVIII 단백질이며; C(X2)는 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서 XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되며; (-)는 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이고; (:)는 H1과 H2 사이의 공유 결합이다. 하나의 구현예에서, VWF 링커 및 FVIII 링커는 동일할 수 있다. 다른 구현예에서, VWF 링커 및 FVIII 링커는 상이하다.

[0089] 특정의 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제3의 이종 잔기 (H3)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제4의 이종 잔기(H4)를 포함하며, 이는 XTEN 서열이다. 여전히 다른 구현예에서, 키메라 분자의 FVIII 단백질은 제5의 이종 잔기(H5)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, FVIII 단백질은 제6의 이종 잔기(H6)를 포함하고, 이는 XTEN 서열일 수 있다. 특정의 구현예에서, 하나 이상의 제3의 이종 잔기(H3), 제4의 이종 잔기(H4), 제5의 이종 잔기(H5), 및 제6의 이종 잔기(H6)는 키메라 분자의 반감기를 연장시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 제3의 이종 잔기(H3), 제4의 이종 잔기(H4), 제5의 이종 잔기(H5), 및/또는 제6의 이종 잔기(H6)는 FVIII 단백질의 C 말단 또는 N 말단에 연결되거나 FVIII 단백질의 2개의 아미노산 사이에 삽입된다.

[0090] II.C. FVIII, XTEN, 및 FVIII 링커를 지닌 키메라 분자

[0091] 본 발명의 키메라 분자는 FVIII 단백질, XTEN 서열, 및 FVIII 링커에 의해 융합된 이종 잔기를 포함할 수 있으며, 이는 (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함한다. 특정의 구현예에서, 키메라 분자는 2개의 폴리펩타이드 쇠를 포함하고, 제1의 쇠는 FVIII 링커를 통해 제1의 Fc 영역에 융합된 FVIII 링커를 포함하며, 제2의 쇠는 Fc 영역에 융합된 VWF 단백질 (예를 들면, VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인)을 포함하고, 여기서 제1의 폴리펩타이드 쇠내의 FVIII 링커는: (i) FVIII로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3

영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위; 또는 (v) 이의 어떠한 조합을 포함하고, 여기서 제1의 폴리펩타이드쇄 및 제2의 폴리펩타이드쇄는 서로 연합되어 있으며 여기서 XTEN 서열은 제1의 폴리펩타이드(예를 들면, FVIII 단백질의 N 말단 또는 C 말단, 링커, 제1의 Fc 영역 또는 FVIII 단백질내), 제2의 폴리펩타이드(예를 들면 VWF 단백질의 N 말단 또는 C 말단, 또는 Fc 영역 또는 FVIII 단백질내), 또는 둘 다에 연결되어 있다. 구체적인 구현예에서, 제1의 폴리펩타이드쇄내 링커는 FVIII로부터의 a2 영역을 포함한다.

[0092] 특정의 구현예에서, 키메라 분자는 (i) V-L2-X2-H2: H1-L1-X1-C; (ii) V-X2-L2-H2: H1-L1-X1-C; (iii) V-L2-X2-H2: H1-X1-L1-C; (iv) V-X2-L2-H2: H1-X1-L1-C; (v) V-L2-X2-H2: H1-L1-C(X1); (vi) V-X2-L2-H2: H1-L1-C(X1); (vii) C-X1-L1-H1: H2-X2-L2-V; (viii) C-X1-L1-H1: H2-L2-X2-V; (ix) C-L1-X1-H1: H2-L2-X2-V; (x) C-L1-X1-H1: H2-L2-X2-V; (xi) C(X1)-L1-H1: H2-X2-L2-V; 또는 (xii) C(X1)-L1-H1: H2-L2-X2-V로부터 선택된 화학식을 포함하고, 여기서 V는 VWF 단백질이고; L1은 FVIII 링커이며; L2는 임의의 VWF 링커이고; H1은 제1의 이중 잔기이며; H2는 제2의 이중 잔기이고; X1은 임의의 XTEN 서열이며; X2는 임의의 XTEN 서열이고; C는 FVIII 단백질이며; C(X1)은 XTEN 서열에 융합된 FVIII 단백질이고, 여기서 XTEN 서열은 서로 인접한 2개의 FVIII 아미노산 사이에 삽입되며; (-)는 펩타이드 결합 또는 하나 이상의 아미노산이고; (:)는 H1과 H2 사이의 공유 결합이며 여기서 적어도 하나의 XTEN 서열은 키메라 분자내에 존재한다. 하나의 구현예에서, VWF 링커 및 FVIII 링커는 동일하다. 다른 구현예에서, VWF 링커 및 FVIII 링커는 상이하다.

[0093] II.D. 키메라 분자의 성분

[0094] II.C.1. VWF 링커 또는 FVIII 링커

[0095] 본 발명의 키메라 분자에 유용한 VWF 링커 또는 FVIII 링커는 VWF 단백질과 이중 잔기 또는 FVIII 단백질과 이중 잔기를 융합시키는 트롬빈 절단가능한 링커이다. 하나의 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 FVIII의 a1 링커를 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 FVIII의 a2 링커를 포함한다. 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 FVIII의 a3 링커를 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 X-V-P-R(여기서, X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위를 포함한다.

[0096] 하나의 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 Met337 내지 Arg372에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a1 영역을 포함하고, 여기서 a1 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 다른 측면에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 337 내지 372번 아미노산에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a1 영역을 포함하고, 여기서 a1 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 추가의, 예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개 이상의 아미노산을 추가로 포함한다. 특수한 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 ISMKNEEAEDYDDDLTSEMDDVVRFDNDSPSFIQIRSV (서열 번호 5)를 포함한다.

[0097] 일부 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 Glu720 내지 Arg740에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 712 내지 743번 아미노산에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a2 영역을 포함하고, 여기서 a2 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 추가의, 예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개 이상의 아미노산을 추가로 포함한다. 특수한 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 ISDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRFS (서열 번호 4)를 포함한다.

[0098] 특정한 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 Glu1649 내지 Arg1689에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a3 영역을 포함하고, 여기서 a3 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 일부 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 전장의 성숙한 FVIII에 상응하는 1649 내지 1692번 아미노산에 대해 적어도 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 a3 영역을 포함하고, 여기서 a3 영역은 트롬빈에 의해 절단될 수 있다. 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 추가의, 예를 들면, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 10개 이상의 아미노산을 추가로 포함한다. 구체적인 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 ISEITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQ (서열 번호 6)을 포함한다.

[0099] 다른 구현예에서, VWF 링커 또는 FVIII 링커는 X-V-P-R(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 트롬빈 절단 부위를 포함하고 여기서 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프는 S-F-L-L-R-N(서열 번호 7)를 포함한다. 일부 구현예에서, PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프는 P, P-N, P-N-D, P-N-D-K(서열 번호 8), P-N-D-K-Y(서열 번호 9), P-N-D-K-Y-E(서열 번호 10), P-N-D-K-Y-E-P(서열 번호 11), P-N-D-K-Y-E-P-F(서열 번호 12), P-N-D-K-Y-E-P-F-W(서열 번호 13), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E(서열 번호 14), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D(서열 번호 20), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E(서열 번호 21), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E(서열 번호 22), P-N-D-K-Y-E-P-F-W-E-D-E-E-S(서열 번호 23), 또는 이의 어떠한 조합도 포함한다. 다른 구현예에서, X-V-P-R을 포함하는 트롬빈 절단 부위에 대한 지방족 아미노산은 글리신, 알라닌, 발린, 루이신, 또는 이소루이신으로부터 선택된다. 구체적인 구현예에서, 트롬빈 절단 부위는 L-V-P-R을 포함한다. 일부 구현예에서, 트롬빈은, 트롬빈 절단 부위(L-V-P-R)가 VWF 링커 또는 FVIII 링커 각각에 대해 치환되는 경우(즉, PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프의 부재하에) 트롬빈이 트롬빈 절단 부위(예를 들면, L-V-P-R)를 절단하는 것보다 신속하게 VWF 링커 또는 FVIII 링커를 절단한다. 일부 구현예에서, 트롬빈은, 트롬빈 절단 부위(예를 들면, L-V-P-R)가 VWF 링커 또는 FVIII 링커에 대해 치환되는 경우 트롬빈이 트롬빈 절단 부위(예를 들면, L-V-P-R)를 절단할 수 있는 것 보다 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배 또는 적어도 약 100배 더 신속하게 VWF 링커 또는 FVIII 링커를 절단한다.

[0100] 일부 구현예에서, (i) a1 영역, (ii) a2 영역, (iii) a3 영역 또는 (iv) 트롬빈 절단 부위 X-V-P-R 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프를 포함하는 VWF 링커 또는 FVIII 링커는, 길이가 적어도 약 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 또는 2000개 아미노산인 하나 이상의 아미노산을 추가로 포함한다. 하나의 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 gly 펩타이드를 포함한다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 GlyGly를 포함한다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 IleSer을 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 gly/ser 펩타이드를 포함한다. 여전히 다른 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 화학식 $(Gly_4Ser)_n$ 또는 $S(Gly_4Ser)_n$ (여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 또는 100으로부터 선택된 양의 정수이다)의 gly/ser 펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 아미노산은 $(Gly_4Ser)_3$ (서열 번호 89) 또는 $(Gly_4Ser)_4$ (서열 번호 90)을 포함한다.

[0101] II.C.2. VWF 단백질

[0102] VWF(F8VWF로서 또한 공지됨)는 혈액 혈장에 존재하고 내피[바이벨-펠라드 본체(Weibel-Palade bodies)에서], 다형핵 거대세포(혈소판의 ?-과립), 및 내피하층 연결 조직에 존재하는 거대한 다량체성 당단백질이다. 염기성 VWF 단량체는 2813개 아미노산 단백질이다. 모든 단량체는 특수 기능을 지닌 특이 도메인, D'/D3 도메인(이는 인자 VIII에 결합한다), A1 도메인(이는 혈소판 GPIb-수용체, 헤파린, 및/또는 가능하게는 콜라겐에 결합한다), A3 도메인(이는 콜라겐에 결합한다), C1 도메인(여기서 RGD 도메인은 활성화되는 경우 혈소판 인테그린 $\alpha IIb\beta 3$ 에 결합한다), 및 단백질의 C-말단에서 "시스테인 노트("cysteine knot")" 도메인[당해 VWF는 혈소판-기원한 성장 인자(PDGF), 형질전환 성장 인자- β (TGF β) 및 β -사람 만성 고나도트로핀(β HCG)과 공유한다] 다수를 함유한다.

[0103] 본원에 사용된 것으로서 용어 "VWF 단백질"은 내인성 VWF의 FVIII에 대한 결합을 억제할 수 있는, D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하는 전장의 VWF 단백질 또는 기능성 VWF 단편을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 하나의 구현예에서, VWF 단백질은 FVIII에 결합한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 FVIII 상에서 VWF 결합 부위를 차단함으로써 FVIII와 내인성 VWF의 상호작용을 억제한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 VWF 정화 경로(clearance pathway)에 의해 정화되지 않는다. VWF 단백질은 VWF의 이들 활성을 보유하는 유도체, 변이체, 돌연변이체, 또는 유사체를 포함한다.

[0104] 사람 VWF에 대한 2813 단량체 아미노산 서열은 진뱅크(Genbank)에 수탁번호 제 _NP_000543.2_호로 보고되어 있다. 사람 VWF를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 진뱅크에 수탁 번호 제 __NM_000552.3_호로 보고되어 있다. 사람 VWF의 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호 1로 정의된다. 서열 번호 2는 서열 번호 1에 의해 암호화된 아미노산 서열이다. VWF의 각각의 도메인은 표 1에 나열되어 있다.

[0105] 표 1. VWF 서열

VWF 도메인	아미노산 서열		
VWF 시그널 펩타이드 (서열 번호 2 의 1 내지 22 번 아미노산)	1	<u>MIPARFAGVL LALALILPGT LC</u>	22
VWF D1D2 영역 (서열 번호 2 의 23 내지 763 번 아미노산)	23	<u>AEGTRGRS STARCSLFGS</u>	
	51	<u>DFVNTFDGSM</u> <u>YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE</u> <u>FFDIHLEFVNG</u>	
	101	<u>TVTQGDQRRS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI</u> <u>DGSGNFQVLL</u>	
	151	<u>SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS</u> <u>WALSSGEQWC</u>	
	201	<u>ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL</u> <u>VDPEPFVALC</u>	
	251	<u>EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWDHSA</u> <u>CSPVCPAGME</u>	
	301	<u>YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG</u> <u>LCVESTTEPC</u>	
	351	<u>VHSGKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV</u> <u>TGQSHFKSFD</u>	
	401	<u>NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIVTV QCADDRDAVC</u> <u>TRSVTVRLPG</u>	
	451	<u>LHNSLVKLKH GAGVAMDQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV</u> <u>RLSYGEDLQM</u>	
	501	<u>DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG</u> <u>LAEPRVEDFG</u>	
	551	<u>NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP</u> <u>TFEACHRAVS</u>	
	601	<u>PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV</u> <u>AWREPGRCEL</u>	
	651	<u>NCPKGQVYLO CGTPCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCP</u> <u>PGLYMDERGD</u>	
	701	<u>CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM</u> <u>SGVPGSLLPD</u>	
	751	<u>AVLSSPLSHR SKR</u>	763
VWF D' 도메인	764	<u>SLSCRPP MVKLVC PADN LRAEGLECTK</u> <u>TCQNYDLECM</u>	
	801	<u>SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQKEYAPGE</u> <u>TVKIGCNTCV</u>	
	851	<u>CRDRKWNCTD HVCDAT</u>	866
VWF D3 도메인	867	<u>CSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGEQ</u> <u>YVLVDQYCGS</u>	
	901	<u>NPGETFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVITLVE GGEIELFDGE</u> <u>VNVKREMKDE</u>	
	951	<u>THEFVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE</u> <u>KVCGLCGNFD</u>	
	1001	<u>GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD</u> <u>SSPATCHNNI</u>	
	1051	<u>MKQTMVDSSC RILTSDFQD CNKLVDPEPY LDVCIYDTCS</u> <u>CESIGDCACF</u>	
	1101	<u>CDTIAAYAHV CAQHCKVVTW RTATLCPOSC EERNLRENGY</u> <u>ECEWRYNCSA</u>	

[0106]

	1151	PACQVTCQHP EPLACPVQCV EGCHAHCPFG KILDELLQTC VDPEDCEVCE
	1201	VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP
	1240	
VWF A1 도메인	1241	GGLVVPPTDA
	1251	PVSPTTLVVE DISEPPLHDF YCSRLLDLVF LLDGSSRLSE AEFEVLKAFV
	1301	VDMMERLRIS QKWVRVAVVE YHDGSHAYIG LKDRKRPSEL RRIASQVKYA
	1351	GSQVASTSEV LKYTLFQIFS KIDRPEASRI ALLLMASQEP QRMSRNFEVRY
	1401	VQGLKKKKVI VIPVGIGPHA NLKQIRLIEK QAPENKAFVL SSVDELEQQR
	1451	DEIVSYLCDL APEAPPPTLP PDMAQVTVG 1479
	1480	P GLLGVSTLGP KRNSMVLDVA
	1501	FVLEGSDKIG EADFNRSKEF MEEVIQRMDV GQDSIHVTVL QYSYMTVEY
	1551	PFSEAQSKGD ILQVRREIRY QGGNRTNTGL ALRYLSDHSF LVSQGDREQA 1600
	1601	PNLYVMVTGN PASDEIKRLP GDIQVVPIGV GPNANVQELE RIGWPNAPIL
	1651	IQDFETLPRE APDLVLQRC C SGEG LQIPTL SPAPDCSQPL DVILLLDGSS
	1701	SFPASYFDEM KSAKAFISK ANIGPRLTQV SVLQYGSITT IDVPWNVVPE
	1751	KAHLLSLVDV MQREGGPSQI GDALGFAVRY LTSEMHGARP GASKAVVILV
	1801	TDVSVDSVDA AADAARSNRV TVFFIGIGDR YDAAQLRILA GPAGDSNVVK
	1851	LQRIEDLPTM VTGNSFLHK LCSGFVRICM DEDGNEKRPG DVWTLDPDQCH
	1901	TVTCQPDGQT LLKSHRVNCD RGLRPSCFNS QSPVKVEETC GCRWTCPCVC
	1951	TGSSTRHIPT FDGQNFKL TG SCSYVLFQNK EQDLEVILHN GACSPGARQG
	2001	CMKSIEVKHS ALSVEXHSDM ETVVNGRLVS VPYVGGNMEV NVYGAIMHEV
	2051	RFNHLGHIFT FTPQNEFQL QLSFKTFASK TYGLCGICDE NGANDFMLRD
	2101	GTVTTDWKT L VQEWTVQRP G QTCQPILEEQ CLVPDSSHQ VLLLPLFAEC
	2151	HKVLAPATFY AICQQDSCHQ EQVCEVIASY AHLCRTNGVC VDWRTPDFCA
	2201	MSCPPSLVYN HCEHGCFRHC DGNVSSCGDH PSEGCFCPPD KVMLEGSCVP
	2251	EEACTQCIGE DGVQHGFLEA WVPDHQPCQI CTCLSGRKVN CTTQPCPTAK
	2301	APTCGLCEVA RLRQNADQCC PEYECVCDPV SCDLPPVPHC ERGLQPTLTN
	2351	PGECRPNFTC ACRKEECKRV SPPSCPPHRL PTLRKTQCCD EYECACNCVN
	2401	STVSCPLGYL ASTATNDCGC TTTTCLPDKV CVHRSTIYPV GQFWEEGCDV
	2451	CTCTMEDAV MGLRVAQCSQ KPCEDSCRSG FTYVLHEGEC CGRCLPSACE

[0107]

	2501	VVTGSPRGDS QSSWKS VGSQ WASPENPCLI NECVRVKEEV FIQQRNVSCP
	2551	QLEVPVCPSPG FQLSCKTSAC CPSCRCERME ACMLNGTVIG PGKTVMIDVC
	2601	TTCRCMVQVG VISGFKLECR KTTNCPCLG YKEENNTGEC CGRCLPTACT
	2651	IQLRGGQIMT LKRDETLQDG CDTHFCKVNE RGEYFWEKRV TGCPFFDEHK
	2701	CLAEGGKIMK IPGTCCDTCE EPECNDITAR LQYVKVGSCK SEVEVDIHYC
	2751	QGKCASKAMY SIDINDVQDQ CSCCSPTRTE PMQVALHCTN GSVVYHEVLN
	2801	AMECKCSPRK CSK
	뉴클레오타이드 서열 (서열 목록번호: 1)	
전장의 VWF	1	ATGATTCTTG CCAGATTTGC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCCTCATTTT
	51	GCCAGGGACC CTTTGTGCAG AAGGAACTCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
	101	GATGCAGCCT TTTGGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
	151	TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
	201	ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
	251	TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTGTGACA TCCATTTGTT TGTCAATGGT
	301	ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG
	351	GCTGTATCTA GAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT
	401	ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
	451	TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
	501	CTTTGCTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
	551	CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT
	601	GAACGGGCAT CTCCTCCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
	651	GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT
	701	TTGCCCGCTG CCACCCCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT
	751	GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGCG CCTGCCCTGC
	801	CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAATG GTGCTGTACG
	851	GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
	901	TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT
	951	CAATGAAATG TGTCAGGAGC GATGCGTGGA TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
	1001	GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC

[0108]

	1051 GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG
	1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
	1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTC ACTGGTCAAT CCCCTTCAA GAGCTTTGAC
	1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA
	1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTCAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
	1301 ATGACCCGGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCTGGC
	1351 CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA
	1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
	1451 ATACAGTGAC GGCCTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
	1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
	1551 CGGGAAGACC TCGCGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG
	1601 ACTTCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGRAGC CCCCGGTGGA GGAATTCCGG
	1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGAATGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG
	1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCTCC GAGGAGGCGT
	1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCCC ACATTGAGG CCTGCCATCG TGCCGTCAGC
	1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA
	1851 CGGCCGCGAG TGCTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG
	1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG
	1951 AACTGCCCCA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TGCGGGACCC CCTGCAACCT
	2001 GACCTGCCGC TCTCTCTCTT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCCTGCC
	2051 TGGAGGGCTG CTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC
	2101 TGCGTGCCCA AGGCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA
	2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG
	2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC
	2251 GCTGTCCTCA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG
	2301 TCGGCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG
	2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG
	2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCTCTGC CCCCCGGCA TGGTCCGGCA
	2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGAAAGGTG

[0109]

	TCCCTGCTTC CATCAGGGCA
2501	AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA
	TTGGCTGCAA CACTTGTGTC
2551	TGTCGGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC
	CATGTGTGTG ATGCCACGTG
2601	CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC
	CTTCGACGGG CTCAAATACC
2651	TGTTCCCCGG GGAGTGCCAG TACGTTCTGG
	TGCAGGATTA CTGCGGCAGT
2701	AACCCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG
	AATAAGGGAT GCAGCCACCC
2751	CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT
	CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA
2801	TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA
	AGAGGCCCAT GAAGGATGAG
2851	ACTCACTTTG AGGTGGTGGA GTCTGGCCGG
	TACATCATTC TGCTGCTGGG
2901	CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA
	CCTGAGCATC TCCGTGGTCC
2951	TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG
	GCCTGTGTGG GAATTTTGAT
3001	GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC
	AACCTCCAAG TGGAGGAAGA
3051	CCCTGTGGAC TTGGGAACT CCTGGAAAGT
	GAGCTCGCAG TGTGCTGACA
3101	CCAGAAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG
	CCACCTGCCA TAACAACATC
3151	ATGAAGCAGA CGATGGTGGA TTCCTCCTGT
	AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201	CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC
	CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251	GCATTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA
	TTGGGGACTG CGCCTGCTTC
3301	TGCGACACCA TTGCTGCCTA TGCCACGTG
	TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT
3351	GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCCC
	CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401	ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGTGTGAGT
	GGCGCTATAA CAGCTGTGCA
3451	CCTGCCTGTC AAGTCACGTG TCAGCACCCCT
	GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501	GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCCTG
	CCCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551	ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCCTG
	AAGACTGTCC AGTGTGTGAG
3601	GTGGCTGGCC GGCCTTTTGC CTCAGGAAAG
	AAAGTCACCT TGAATCCCAG
3651	TGACCCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG
	TGATGTTGTC AACCTCACCT
3701	GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG GGAGGCCTGG
	TGGTGCCTCC CACAGATGCC
3751	CCGGTGAGCC CCACCACTCT GTATGTGGAG
	GACATCTCGG AACCGCGTT
3801	GCACGATTTT TACTGCAGCA GGCTACTGGA
	CCTGGTCTTC CTGCTGGATG
3851	GCTCCTCCAG GCTGTCCGAG GCTGAGTTTG
	AAGTGCTGAA GGCCTTTGTG

[0110]

	3901 GTGGACATGA TGGAGCGGCT GCGCATCTCC CAGAAGTGGG TCCGCGTGGC
	3951 CGTGGTGGAG TACCACGACG GCTCCCACGC CTACATCGGG CTCAAGGACC
	4001 GGAAGCGACC GTCAGAGCTG CGGCGCATTG CCAGCCAGGT GAAGTATGCG
	4051 GGCAGCCAGG TGGCCTCCAC CAGCGAGGTC TTGAAATACA CACTGTCCA
	4101 AATCTTCAGC AAGATCGACC GCCCTGAAGC CTCCCGCATC GCCCTGCTCC
	4151 TGATGGCCAG CCAGGAGCCC CAACGGATGT CCCGGAACCTT TGTCCGCTAC
	4201 GTCCAGGGCC TGAAGAAGAA GAAGGTCATT GTGATCCCCG TGGGCATTGG
	4251 GCCCCATGCC AACCTCAAGC AGATCCGCCT CATCGAGAAG CAGGCCCTTG
	4301 AGAACAAAGC CTTCGTGCTG AGCAGTGTGG ATGAGCTGGA GCAGCAAAGG
	4351 GACGAGATCG TTAGCTACCT CTGTGACCTT GCCCCGAAG CCCCTCCTCC
	4401 TACTCTGCCC CCCGACATGG CACAAGTCAC TGTGGGCCCG GGGCTCTTGG
	4451 GGGTTTCGAC CCTGGGGCCC AAGAGGAACT CCATGGTTCT GGATGTGGCG
	4501 TTCGTCTCGG AAGGATCGGA CAAAATTGGT GAAGCCGACT TCAACAGGAG
	4551 CAAGGAGTTC ATGGAGGAGG TGATTACGCG GATGGATGTG GGCCAGGACA
	4601 GCATCCACGT CACGGTGCTG CAGTACTCCT ACATGGTGAC CGTGGAGTAC
	4651 CCCTTCAGCG AGGCACAGTC CAAAGGGGAC ATCCTGCAGC GGGTGCGAGA
	4701 GATCCGCTAC CAGGGCGGCA ACAGGACCAA CACTGGGCTG GCCCTGCGGT
	4751 ACCTCTCTGA CCACAGCTTC TTGGTCAGCC AGGGTGACCG GGAGCAGGCG
	4801 CCCAACCTGG TCTACATGGT CACCGGAAAT CCTGCCTCTG ATGAGATCAA
	4851 GAGGCTGCCT GGAGACATCC AGGTGGTGCC CATTGGAGTG GGCCCTAATG
	4901 CCAACGTGCA GGAGCTGGAG AGGATTGGCT GGCCCAATGC CCCTATCCTC
	4951 ATCCAGGACT TTGAGACGCT CCCCCGAGAG GCTCCTGACC TGGTGCTGCA
	5001 GAGGTGCTGC TCCGGAGAGG GGCTGCAGAT CCCCACCTC TCCCCTGCAC
	5051 CTGACTGCAG CCAGCCCCTG GACGTGATCC TTCTCCTGGA TGGCTCCTCC
	5101 AGTTTCCCAG CTTCTTATTT TGATGAAATG AAGAGTTTCG CCAAGGCTTT
	5151 CATTTCAAAA GCCAATATAG GGCTCGTCT CACTCAGGTG TCAGTGCTGC
	5201 AGTATGGAAG CATCACCACC ATTGACGTGC CATGGAACGT GGTCCCGGAG
	5251 AAAGCCCAT TGTGAGCCT TGTGGACGTC ATGCAGCGGG AGGGAGGCC
	5301 CAGCCAAATC GGGGATGCCT TGGGCTTTGC

[0111]

	TGTGCGATAC TTGACTTCAG
5351	AAATGCATGG TGCCAGGCCG GGAGCCTCAA
	AGGCGGTGGT CATCCTGGTC
5401	ACGGACGTCT CTGTGGATTC AGTGGATGCA
	GCAGCTGATG CCGCCAGGTC
5451	CAACAGAGTG ACAGTGTTC CTATTGGAAT
	TGGAGATCGC TACGATGCAG
5501	CCCAGCTACG GATCTTGGCA GGCCCAGCAG
	GCGACTCCAA CGTGGTGAAG
5551	CTCCAGCGAA TCGAAGACCT CCCTACCATG
	GTCACCTTGG GCAATTCCTT
5601	CCTCCACAAA CTGTGCTCTG GATTTGTTAG
	GATTTGCATG GATGAGGATG
5651	GGAATGAGAA GAGGCCCGGG GACGTCTGGA
	CCTTGCCAGA CCAGTGCCAC
5701	ACCGTGACTT GCCAGCCAGA TGGCCAGACC
	TTGCTGAAGA GTCATCGGGT
5751	CAACTGTGAC CGGGGGCTGA GGCCTTCGTG
	CCCTAACAGC CAGTCCCCTG
5801	TTAAAGTGA AGAGACCTGT GGCTGCCGCT
	GGACCTGCCC CTGYGTGTGC
5851	ACAGGCAGCT CCACTCGGCA CATCGTGACC
	TTTGATGGGC AGAATTTCAA
5901	GCTGACTGGC AGCTGTCTT ATGTCCTATT
	TCAAAACAAG GAGCAGGACC
5951	TGGAGGTGAT TCTCCATAAT GGTGCCTGCA
	GCCCTGGAGC AAGGCAGGGC
6001	TGCATGAAAT CCATCGAGGT GAAGCACAGT
	GCCCTCTCCG TCGAGSTGCA
6051	CAGTGACATG GAGGTGACGG TGAATGGGAG
	ACTGGTCTCT GTTCCTTACG
6101	TGGGTGGGAA CATGGAAGTC AACGTTTATG
	GTGCCATCAT GCATGAGGTC
6151	AGATTCAATC ACCTTGGTCA CATCTTCACA
	TTCACTCCAC AAAACAATGA
6201	GTTCCAAC TG CAGCTCAGCC CCAAGACTTT
	TGCTTCAAAG ACGTATGGTC
6251	TGTGTGGGAT CTGTGATGAG AACGGAGCCA
	ATGACTTCAT GCTGAGGGAT
6301	GGCACAGTCA CCACAGACTG GAAAACACTT
	GTTCAGGAAT GGAATGTGCA
6351	GCGGCCAGGG CAGACGTGCC AGCCCATCCT
	GGAGGAGCAG TGTCTTGTC
6401	CCGACAGCTC CCACTGCCAG GTCCTCCTCT
	TACCACTGTT TGCTGAATGC
6451	CACAAGGTCC TGGCTCCAGC CACATTCTAT
	GCCATCTGCC AGCAGGACAG
6501	TTGCCACCAG GAGCAAGTGT GTGAGGTGAT
	CGCCTCTTAT GCCCACCTCT
6551	GTCGGACCAA CGGGGTCTGC GTTGACTGGA
	GGACACCTGA TTTCTGTGCT
6601	ATGTCATGCC CACCATCTCT GGTCTACAAC
	CACTGTGAGC ATGGCTGTCC
6651	CCGGCACTGT GATGGCAACG TGAGCTCCTG
	TGGGGACCAT CCCTCCGAAG
6701	GCTGTTTCTG CCCTCCAGAT AAAGTCATGT
	TGGAAGGCAG CTGTGTCCCT

[0112]

	6751 GAAGAGGCCT GCACTCAGTG CATTGGTGAG GATGGAGTCC AGCACCAGTT
	6801 CCTGGAAGCC TGGGTCCC GG ACCACCAGCC CTGTCCAGATC TGCACATGCC
	6851 TCAGCGGGCG GAAGGTCAAC TGCACAACGC AGCCCTGCCC CACGGCCAAA
	6901 GCTCCCACGT GTGGCCTGTG TGAAGTAGCC CGCCTCCGCC AGAATGCAGA
	6951 CCAGTGTGTC CCCGAGTATG AGTGTGTGTG TGACCCAGTG AGCTGTGACC
	7001 TGCCCCCAGT GCCTCACTGT GAACGTGGCC TCCAGCCAC ACTGACCAAC
	7051 CCTGGCGAGT GCAGACCCAA CTTCACCTGC GCCTGCAGGA AGGAGGAGTG
	7101 CAAAAGAGTG TCCCCACCCT CCTGCCCCC GCACCGTTTG CCCACCCTTC
	7151 GGAAGACCCA GTGCTGTGAT GAGTATGAGT GTGCCTGCAA CTGTGTCAAC
	7201 TCCACAGTGA GCTGTCCCCT TGGGTACTTG GCCTCAACCG CCACCAATGA
	7251 CTGTGGCTGT ACCACAACCA CCTGCCTTCC CGACAAGGTG TGTGTCCACC
	7301 GAAGCACCAT CTACCCTGTG GGCCAGTTCT GGGAGGAGGG CTGCGATGTG
	7351 TGCACCTGCA CCGACATGGA GGATGCCGTG ATGGGCCTCC GCGTGGCCCA
	7401 GTGCTCCAG AAGCCCTGTG AGGACAGCTG TCGGTCGGGC TTCACTTAGC
	7451 TTCTGCATGA AGGCGAGTGC TGTGGAAGGT GCCTGCCATC TGCCCTGTGAG
	7501 GTGGTACTG GCTCACC CGG GGGGACTCC CAGTCTTCTT GGAAGAGTGT
	7551 CGGCTCCAG TGGGCCTCCC CGGAGAACCC CTGCCTCATC AATGAGTGTG
	7601 TCCGAGTGAA GGAGGAGTCT TTTATACAAC AAAGGAACGT CTCCTGCCCC
	7651 CAGCTGGAGG TCCCTGTCTG CCCCTCGGGC TTTCAGCTGA GCTGTAAGAC
	7701 CTCAGCGTGC TGCCCAAGCT GTCGCTGTGA GCGCATGGAG GCCTGCATGC
	7751 TCAATGGCAC TGTCAATTGG CCCGGGAAGA CTGTGATGAT CGATGTGTGC
	7801 ACGACCTGCC GCTGCATGGT GCAGGTGGGG GTCATCTCTG GATTCAAGCT
	7851 GGAGTGCAGG AAGACCACCT GCAACCCCTG CCCCCTGGGT TACAAGGAAG
	7901 AAAATAACAC AGGTGAATGT TGTGGGAGAT GTTTGCCTAC GGCTTGCAAC
	7951 ATTCAGCTAA GAGGAGGACA GATCATGACA CTGAAGCGTG ATGAGACGCT
	8001 CCAGGATGGC TGTGATACTC ACTTCTGCAA GGTCAATGAG AGAGGAGAGT
	8051 ACTTCTGGGA GAAGAGGGTC ACAGGCTGCC CACCCCTTGA TGAACACAAG
	8101 TGTCTTGCTG AGGGAGGTAA AATTATGAAA ATTCCAGGCA CCTGCTGTGA
	8151 CACATGTGAG GAGCCTGAGT GCAACGACAT

[0113]

	CACTGCCAGG CTGCAGTATG
	8201 TCAAGGTGGG AAGCTGTAAG TCTGAAGTAG AGGTGGATAT CCACTACTGC
	8251 CAGGGCAAAT GTGCCAGCAA AGCCATGTAC TCCATTGACA TCAACGATGT
	8301 GCAGGACCAG TGCTCCTGCT GCTCTCCGAC ACGGACGGAG CCCATGCAGG
	8351 TGGCCCTGCA CTGCACCAAT GGCTCTGTTG TGTACCATGA GGTTCTCAAT
	8401 GCCATGGAGT GCAAATGCTC CCCCAGGAAG TGCAGCAAGT GA

[0114]

[0115] 본원에 사용된 것으로서 VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 결합하여 FVIII에 대한 내인성 VWF(전장의 VWF)의 결합을 억제한다. D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하는 VWF 단백질은 A1 도메인, A2 도메인, A3 도메인, D1 도메인, D2 도메인, D4 도메인, B1 도메인, B2 도메인, B3 도메인, C1 도메인, C2 도메인, CK 도메인, , 이의 하나 이상의 단편, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 VWF 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, VWF 단백질은 (1) VWF의 D' 및 D3 도메인 또는 이의 단편; (2) VWF의 D1, D', 및 D3 도메인 또는 이의 단편; (3) VWF의 D2, D', 및 D3 도메인 또는 이의 단편; (4)

VWF의 D1, D2, D', 및 D3 도메인 또는 이의 단편; 또는 (5) VWF의 D1, D2, D', D3, 또는 A1 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진다. 본원에 기술된 VWF 단백질은 VWF 정화 수용체 결합 부위를 함유하지 않는다. 본 발명의 VWF 단백질은 VWF 단백질에 연결되거나 융합된 어떠한 다른 서열도 포함할 수 있다. 예를 들면, 본원에 기술된 VWF 단백질은 시그널 펩타이드를 추가로 포함할 수 있다.

[0116] 하나의 구현예에서, VWF 단백질은 FVIII 단백질에 결합하거나 이와 연합된다. FVIII 단백질에 결합되거나 연합됨으로써, 본 발명의 VWF 단백질은 프로테아제 절단 및 FVIII 활성화로부터 FVIII을 보호하고, FVIII의 중쇄 및 경쇄를 안정화시키고, 스캐진저 수용체에 의한 FVIII의 정화를 방지한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 FVIII 단백질에 결합하거나 이와 연합하거나 인지질 또는 활성화 단백질 C에 대한 FVIII 단백질의 결합을 차단하거나 방지한다. FVIII 단백질과 내인성의 전장의 VWF의 결합을 방지하거나 억제함으로써, 본 발명의 VWF 단백질은 내인성 VWF 정화 수용체에 의한 FVIII의 정화를 감소시킴으로써 FVIII 단백질이 반감기를 연장시킨다. 따라서, FVIII 단백질의 반감기 연장은 VWF 정화 수용체 결합 부위를 결여하는 VWF 단백질과 FVIII 단백질이 연합 및 이에 의한 VWF 정화 수용체 결합 부위를 함유하는 내인성 VWF로부터 FVIII 단백질의 차폐 및/또는 보호에 기인한다. VWF 단백질에 결합하거나 이에 의해 보호된 FVIII 단백질은 FVIII 단백질의 재순환을 허용할 수 있다. 전장의 VWF 분자내 VWF 정화 경로 수용체 결합 부위를 제거함으로써, 본 발명의 FVIII/VWF 이중이량체는 VWF 정화 경로로부터 차폐되어, FVIII 반감기를 추가로 연장시킨다.

[0117] 하나의 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 VWF의 D3 도메인을 포함하고, 여기서 D' 도메인은 서열 번호 2의 764 내지 866번 아미노산에 대해 적어도 약 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 대한 내인성 VWF의 결합을 방지한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하며, 여기서 D3 도메인은 서열 번호 2의 867 내지 1240번 아미노산에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 대한 VWF 결합을 방지한다. 일부 구현예에서, VWF 단백질은 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하며, 이들은 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 대한 내인성 VWF의 결합을 방지한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 서열 번호 2의 23 내지 1240번 아미노산에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 D1, D2, D', 및 D3 도메인을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나 이루어지고, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 대한 VWF 결합을 방지한다. 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질은 이에 연결된 시그널 펩타이드를 추가로 포함한다.

[0118] 일부 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 (1) D'D3 도메인, D1D'D3 도메인, D2D'D3 도메인, 또는 D1D2D'D3 도메인 및 (2) 약 10개 이하의 아미노산(예를 들면, 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산 내지 서열 번호 2의 764 내지 1250번 아미노산으로부터의 어떠한 서열), 약 15개 이상의 아미노산(예를 들면, 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산 내지 서열 번호 2의 764 내지 1255번 아미노산으로부터의 어떠한 서열), 약 20개 이하의 아미노산(예를 들면, 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산 내지 서열 번호 2의 764 내지 1260번 아미노산으로부터의 어떠한 서열), 약 25개 아미노산(예를 들면, 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산 내지 서열 번호 2의 764 내지 1265번 아미노산으로부터의 어떠한 서열), 또는 약 30개 아미노산(예를 들면, 서열 번호 2의 764 내지 1240번 아미노산 내지 서열 번호 2의 764 내지 1260번 아미노산으로부터의 어떠한 서열)로 필수적으로 이루어지거나 이로 이루어진다. 특수한 구현예에서, D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하거나 이로 필수적으로 이루어진 VWF 단백질은 서열 번호 2의 764 내지 1274번 아미노산도 전장의 성숙한 VWF도 아니다. 일부 구현예에서, D1D2 도메인은 D'D3 도메인과 트랜스 배향(in trans)으로 발현된다. 일부 구현예에서, D1D2 도메인은 D'D3 도메인과 시스 배향(in cis)으로 발현된다.

[0119] 다른 구현예에서, D1D2 도메인에 연결된 D'D3 도메인을 포함하는 VWF 단백질은 세포내 프로세싱 부위, 예를 들면, (PACE(푸린) 또는 PC5에 의한 프로세싱 부위)를 추가로 포함함으로써, 발현시 D'D3 도메인으로부터 D1D2 도메인의 절단을 허용한다. 세포내 프로세싱 부위의 비-제한적 예는 본원의 어딘가에 개재되어 있다.

[0120] 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질은 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하지만, (1) 서열 번호 2의 1241 내지 2813번 아미노산, (2) 서열 번호 2의 1270 내지 2813번 아미노산, (3) 서열 번호 2의 1271 내지 2813번 아미노산, (4) 서열 번호 2의 1272 내지 2813번 아미노산, (5) 서열 번호 2의 1273 내지 2813번 아미노산, (6) 서열 번호 2의 1274 내지 2813번 아미노산, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하지 않는다.

[0121] 여전히 다른 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 D' 도메인, D3 도메인, A1 도메인을 포함하거나, 이로 필수적

으로 이루어지거나, 이로 이루어지며, 여기서 아미노산 서열은 서열 번호 2의 764 내지 1479번 아미노산에 대해 적어도 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 여기서 VWF 단백질은 FVIII에 대한 내인성 VWF의 결합을 방지한다. 특수한 구현예에서, VWF 단백질은 서열 번호 2의 764 내지 1274번 아미노산이 아니다.

[0122] 일부 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하나, (1) A1 도메인, (2) A2 도메인, (3) A3 도메인, (4) D4 도메인, (5) B1 도메인, (6) B2 도메인, (7) B3 도메인, (8) C1 도메인, (9) C2 도메인, (10) CK 도메인, (11) CK 도메인 및 C2 도메인, (12) CK 도메인, C2 도메인, 및 C1 도메인, (13) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, (14) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, (15) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, B1 도메인, (16) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, B1 도메인, 및 D4 도메인, (17) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, B1 도메인, D4 도메인, 및 A3 도메인, (18) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, B1 도메인, D4 도메인, A3 도메인, 및 A2 도메인, (19) CK 도메인, C2 도메인, C1 도메인, B3 도메인, B2 도메인, B1 도메인, D4 도메인, A3 도메인, A2 도메인, 및 A1 도메인, 또는 (20) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 적어도 하나의 VWF 도메인을 포함하지 않는다.

[0123] 여전히 다른 구현예에서, VWF 단백질은 D'D3 도메인 및 하나 이상의 도메인 또는 모듈(module)을 포함한다. 이러한 도메인 또는 모듈의 예는 문헌[참조: Zhou 등, Blood published online April 6, 2012: DOI 10.1182/blood-2012-01-405134]에 개재된 도메인 및 모듈을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예를 들면, VWF 단백질은 D'D3 도메인 및 A1 도메인, A2 도메인, A3 도메인, D4N 모듈, VWD4 모듈, C8-4 모듈, TIL-4 모듈, C1 모듈, C2 모듈, C3 모듈, C4 모듈, C5 모듈, C5 모듈, C6 모듈, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 하나 이상의 도메인 또는 모듈을 포함할 수 있다.

[0124] 특정의 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 다량체, 예를 들면, 이량체, 삼량체, 사량체, 오량체, 육량체, 칠량체, 또는 보다 높은 차수의 다량체를 형성한다. 다른 구현예에서, VWF 단백질은 단지 하나의 VWF 단백질을 지닌 단량체이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 하나 이상의 아미노산 치환, 결실, 첨가, 또는 변형을 가질 수 있다. 하나의 구현예에서, VWF 단백질은 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 변형을 포함함으로써, VWF 단백질은 이황화물 결합을 형성할 수 없거나 이량체 또는 다량체를 형성할 수 없다. 다른 구현예에서, 아미노산 치환은 D' 도메인 및 D3 도메인내에 있다. 특수한 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질은 서열 번호 2의 1099번 잔기, 1142번 잔기, 또는 1099번 및 1142번 잔기 둘 다에 상응하는 잔기에서 적어도 하나의 아미노산 치환을 함유한다. 적어도 하나의 아미노산 치환은 야생형 VWF에서 천연적으로 발생하지 않는 어떠한 아미노산일 수 있다. 예를 들어, 아미노산 치환은 시스테인외의 어떠한 아미노산, 예를 들면, 이소루이신, 알라닌, 루이신, 아스파라긴, 라이신, 아스프르트산, 메티오닌, 페닐알라닌, 글루탐산, 트레오닌, 글루타민, 트립토판, 글리신, 발린, 프롤린, 세린, 타이로신, 아르기닌, 또는 히스티딘일 수 있다. 다른 예에서, 아미노산 치환은 다량체를 형성하는 것으로부터 VWF 단백질을 방지하거나 억제하는 하나 이상의 아미노산을 가질 수 있다.

[0125] 일부 구현예에서, VWF 단백질은 VWF의 D'D3 도메인에 상응하는 336번 잔기(서열 번호 2의 1099번 잔기)에서 시스테인으로부터 알라닌으로의 아미노산 치환, 및 VWF의 D'D3 도메인에 상응하는 379번 잔기(서열 번호 2의 1142번 잔기)에서 시스테인으로부터 알라닌으로의 아미노산 치환을 포함한다.

[0126] 특정의 구현예에서, 본원에 유용한 VWF 단백질은 이의 FVIII와의 상호작용을 증진시키기 위해, 예를 들면, FVIII에 대한 친화성을 증진시키기 위해 추가로 변형될 수 있다. 비-제한적인 예로서, VWF 단백질은 서열 번호 2의 764번 아미노산에 상응하는 잔기에서 세린 잔기 및 서열 번호 2의 773번 아미노산에 상응하는 잔기에서 라이신 잔기를 포함한다. 잔기 764 및/또는 773은 FVIII에 대한 VWF 단백질의 결합 친화성에 기여할 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명에 유용한 VWF 단백질은 다른 변형을 지닐 수 있는데, 예를 들어, 단백질은 폐기화되거나, 글리코실화되거나, 해리화되거나 폴리시알릴화될 수 있다.

[0127] II.C.3. 이종 잔기

[0128] VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 또는 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 융합될 수 있는 이종잔기는 이종 폴리펩타이드 또는 이종 비-폴리펩타이드 잔기일 수 있다. 특정의 구현예에서, 이종 잔기는 당해 분야에 공지된 반감기가 연장된 분자이고 폴리펩타이드, 비-폴리펩타이드 잔기, 또는 이들 둘 다의 조합을 포함한다. 이종 폴리펩타이드 잔기는 FVIII 단백질, 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부, 알부민 또는 이의 단편, 알부민 결합 잔기, 트랜스페린 또는 이의 단편, PAS 서열, HAP 서열, 이의 유도체 또는 변이체, 사람 융모성 고나도트로핀의 β 소단위의 C-말단 펩타이드(CTP), 또는 이의 어떠한 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 비-폴리펩타이드

드 결합 잔기는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리시알산, 하이드록시에틸 전분(HES), 이의 유도체, 또는 이의 어떠한 조합을 포함한다. 특징의 구현예에서, 각각 동일하거나 상이한 분자일 수 있는, 1개, 2개, 3개 이상의 이중 잔기가 존재할 수 있다.

[0129] **II.C.3.a 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 부위**

[0130] 면역글로불린 불변 영역은 CH(불변 중쇄) 도메인(CH1, CH2 등)으로 나타낸 도메인으로 이루어진다. 동형, (즉, IgG, IgM, IgA IgD, 또는 IgE)에 따라서, 불변 영역은 3개 또는 4개의 CH 도메인으로 구성될 수 있다. 일부 동형(예를 들면 IgG) 불변 영역은 또한 힌지 영역을 함유한다. [참조: Janeway 등 2001, *Immunobiology*, Garland Publishing, N.Y., N.Y.]

[0131] 본 발명의 키메라 단백질 생산하기 위한 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 다수의 상이한 공급원으로부터 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 사람 면역글로불린으로부터 기원한다. 그러나, 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 예를 들면, 설치류(예를 들면, 마우스, 랫트, 토끼, 기니아 피그) 또는 비-사람 영장류(예를 들면 침팬지, 마카크(macaque)) 종을 포함하는 다른 포유동물 종의 면역글로불린으로부터 기원할 수 있다. 더욱이, 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 IgM, IgG, IgD, IgA and IgE를 포함하는 어떠한 면역글로불린 부류, 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는 어떠한 면역글로불린 동형으로부터 기원할 수 있다. 하나의 구현예에서, 사람 동형 IgG1이 사용된다.

[0132] 다양한 면역글로불린 불변 영역 유전자 서열(예를 들면 사람 불변 영역 유전자 서열)은 공공으로 접근가능한 기탁물의 형태로 이용가능하다. 불변 영역 도메인 서열은 특수한 효과기 기능을 가지거나(또는 특수한 효과기 기능을 결여하거나) 또는 면역원성을 감소시키기 위한 특수한 변형을 가지도록 선택될 수 있다. 항체 및 항체를 암호화하는 유전자의 많은 서열은 발표되어 있으며 적합한 Ig 불변 영역 서열(예를 들면, 힌지, CH2, 및/또는 CH3 서열, 또는 이의 일부)은 당해 분야에 인식된 기술을 사용하여 이들 서열로부터 기원할 수 있다. 앞서의 방법 중 어느 것을 사용하여 획득된 유전 물질은 이후에 변경하거나 합성하여 본 발명의 폴리펩타이드를 획득할 수 있다. 본 발명의 영역은 불변 영역 DNA 서열의 대립형질, 변이체 및 돌연변이를 포함하는 것으로 추가로 인식될 것이다.

[0133] 면역글로불린 고정 영역 또는 이의 일부의 서열은, 예를 들면, 목적인 도메인을 증폭시키기 위해 선택된 폴리머라제 쇠 반응 및 프라이머를 사용하여 클로닝될 수 있다. 항체로부터의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부의 서열을 클로닝하기 위하여, mRNA를 하이브리도마, 비장, 또는 림프 세포로부터 분리하여, DNA내로 역 전사시키고, 항체 유전자를 PCR에 의해 증폭시킬 수 있다. PCR 증폭 방법은 미국 특허 제 4,683,195호; 제4,683,202호; 제4,800,159호; 제4,965,188호; 및 문헌[참조: 예를 들면, "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications" Innis 등 eds., Academic Press, San Diego, CA (1990); Ho 등 1989. *Gene* 77:51; Horton 등 1993. *Methods Enzymol.* 217:270]에 상세히 기술되어 있다.

[0134] 본원에 사용된 면역글로불린 불변 영역은 모든 도메인 및 힌지 영역 또는 이의 일부를 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 CH2 도메인, CH3 도메인, 및 힌지영역, 즉, Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너를 포함한다.

[0135] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "Fc 영역"은 천연의 면역글로불린의 Fc 영역에 상응하는 폴리펩타이드의 일부, 즉, 이의 2개의 중쇄의 각각의 Fc 도메인의 이량체성 연합에 의해 형성된 것으로서 정의된다. 천연의 Fc 영역은 다른 Fc 영역과의 동종이량체를 형성한다.

[0136] 하나의 구현예에서, "Fc 영역"은 파파인 절단 부위의 바로 상부의 힌지 영역(즉, 114번인 중쇄 불변 영역의 제1 잔기로부터 취하여, IgG내 216번 잔기)에서 개시하여 항체의 C-말단에서 종결되는 단일의 면역글로불린 중쇄의 일부를 말한다. 따라서, 완전한 Fc 도메인은 적어도 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함한다.

[0137] 면역글로불린 동형에 따라서, 면역글로불린 불변 영역의 Fc 영역은 CH2, CH3, 및 CH4 도메인, 및 힌지 영역을 포함할 수 있다. 면역글로불린의 Fc 영역을 포함하는 키메라 단백질은 증가된 안전성, 증가된 혈청 반감기(참조: Capon 등, 1989, *Nature* 337:525) 및 신생아 Fc 수용체(FcRn)와 같은 Fc 수용체에 대한 결합을 포함하는 키메라 단백질에 수개의 바람직한 특성을 부여한다(참조: 미국 특허 제 6,086,875호, 제6,485,726호, 제6,030,613호; 제WO 03/077834호; 제US2003-0235536A1호, 이의 전문은 본원에 참조로 포함된다).

[0138] 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부는 FcRn 결합 파트너일 수 있다. FcRn는 성인 내피 조직에서 활성이며 장, 폐 기도, 비강 표면, 질 표면, 결장 및 직장 표면의 내강(lumen)에서 발현된다(참조: 미국 특허 제

6,485,726호). FcRn 결합 파트너는 FcRn에 결합하는 면역글로불린의 일부이다.

- [0139] FcRn 수용체는 사람을 포함하는 수개의 포유동물 종으로부터 분리된다. 사람 FcRn, 원숭이 FcRn, 랫트 FcRn, 및 마우스 FcRn의 서열은 공지되어 있다(참조: Story 등 1994, J. Exp. Med. 180:2377). FcRn 수용체는 비교적 낮은 pH에서 IgG(그러나 IgA, IgM, IgD, 및 IgE와 같은 다른 면역글로불린은 아님)에 결합하여, 내강에서 장막 방향으로 IgG를 경세포적으로 활성적으로 수송한 후 사이질 유액에서 발견되는 비교적 높은 pH에서 IgG를 방출한다. 이는 성인 내피 조직(미국 특허 제 6,485,726호, 제6,030,613호, 제6,086,875호; 제WO 03/077834호; 제US2003-0235536A1호), 예를 들면, 폐 및 장 내피(참조: Israel 등 1997, Immunology 92:69) 신장 근위극 관형 내피(renal tubular epithelium)(참조: Kobayashi 등 2002, Am. J. Physiol. Renal Physiol. 282:F358) 및 비강 내피, 질 표면, 및 담도계 표면에서 발견된다.
- [0140] 본 발명에 유용한 FcRn 결합 파트너는 전체 IgG, IgG의 Fc 단편을 포함하는 FcRn 수용체, 및 FcRn 수용체의 완전한 결합 영역을 포함하는 다른 단편에 의해 특이적으로 결합될 수 있는 분자를 포함한다. FcRn 수용체에 결합하는 IgG의 Fc 부위의 영역은 X-선 결정학을 기본으로 기술되어 있다(참조: Burmeister 등 1994, Nature 372:379). Fc와 FcRn의 주요 접촉 부위는 CH2와 CH3 도메인의 연결부 근처이다. Fc-FcRn은 단일의 Ig 중쇄내에 모두 존재한다. FcRn 결합 파트너는 전체 IgG, IgG의 Fc 단편, 및 FcRn의 완전한 결합 영역을 포함하는 IgG의 다른 단편을 포함한다. 주요 접촉 부위는 CH2 도메인의 248, 250 내지 257, 272, 285, 288, 290, 291, 308 내지 311번 및 314 아미노산 잔기, 및 CH3 도메인의 385 내지 387, 428, 및 433 내지 436번 아미노산 잔기를 포함한다. 면역글로불린 또는 면역글로불린 단편, 또는 영역에 대해 이루어진 참조는 모두 문헌[참조: Kabat 등 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Public Health, Bethesda, Md]를 기본으로 한다.
- [0141] FcRn에 결합된 Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너는 FcRn에 의한 상피 장벽을 가로질러 효과적으로 왕복하여 바람직한 치료학적 분자를 전신계적으로 투여하기 위한 비-침입성 수단을 제공한다. 또한, Fc 영역 또는 FcRn 결합 파트너를 포함하는 융합 단백질은 FcRn을 발현하는 세포에 의해 세포내이입(endocytosis)된다. 그러나, 분해에 대해 표시하는 것 대신에, 이들 융합 단백질은 순환기내로 다시 재순환됨으로써 이들 단백질의 생체내 반감기를 증가시킨다. 특정의 구현예에서, 면역글로불린 불변 영역의 일부는 이황화물 결합 및 다른 비-특이적인 상호작용을 통해 Fc 영역 또는 다른 FcRn 결합 파트너와 전형적으로 연합하여 이량체 및 보다 높은 차수의 다량체를 형성하는 Fc 영역 또는 다른 FcRn 결합 파트너이다.
- [0142] FcRn 결합 파트너 영역은 Fc 영역의 FcRn 수용체에 의해 후속적인 활성적 수송으로 FcRn 수용체에 의해 특이적으로 결합될 수 있는 분자 또는 이의 일부이다. '구체적으로 결합된'은 생리학적 조건하에서 비교적 안정한 복합체를 형성하는 2개의 분자를 말한다. 구체적인 결합은 일반적으로 중간 내지 고 능력의 낮은 친화성을 갖는 비특이적인 결합으로부터 구별되는 것으로서 고 친화성 및 낮은 내지 중간의 능력으로 특징화된다. 전형적으로, 결합은, 친화성 상수 KA 가 $10^6 M^{-1}$ 이상, 또는 $10^8 M^{-1}$ 이상인 경우 특이적인 것으로 고려된다. 경우에 따라, 비-특이적인 결합은 결합 조건을 변화시킴으로써 특이적인 결합에 실질적으로 영향을 미치지 않고 감소될 수 있다. 분자의 농도, 용액의 이온 강도, 온도, 결합에 허여된 시간, 차단제(예를 들면 혈청 알부민, 우유 카제인), 등의 농도와 같은 적절한 결합 조건은 통상의 기술을 사용하여 기술자에 의해 최적화될 수 있다.
- [0143] 미리아드 돌연변이체(Myriad mutant), 단편, 변이체, 및 유도체는 예를 들면, PCT 공보 제 WO 2011/069164 A2호, 제WO 2012/006623 A2호, 제WO 2012/006635 A2호, 또는 제WO 2012/006633 A2호에 기술되어 있으며, 이들 모두는, 이의 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0144] **II.C.3.b. 알부민 또는 이의 단편, 또는 변이체**
- [0145] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 연결된 이중 잔기는 알부민 또는 이의 기능성 단편이다. 일부 구현예에서, VWF 단백질에 융합된 알부민은 FVIII 단백질에 융합된 알부민과 공유결합적으로 연합된다.
- [0146] 이의 전장 형태에서 609개 아미노산의 단백질인, 사람 혈청 알부민(HSA, 또는 HA)은 혈청의 삼투압의 유의적인 비율에 관여하며 또한 내인성 및 외인성 리간드의 담체로서 기능한다. 본원에 사용된 것으로서 용어 "알부민"은 전장의 알부민 또는 이의 기능성 단편, 변이체, 유도체, 또는 유사체를 포함한다. 알부민 또는 이의 단편 또는 변이체의 예는 미국 특허 공보 제 2008/0194481A1호, 제2008/0004206 A1호, 제2008/0161243 A1호, 제2008/0261877 A1호, 또는 제2008/0153751 A1호 또는 PCT 출원 공보 제 2008/033413 A2호, 제2009/058322 A1호, 또는 제2007/021494 A2호에 개제되어 있으며, 이는, 이의 전문이 참조로 본원에 포함된다.

[0147] **II.C.3.c. 알부민 결합 잔기**

[0148] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 연결된 이중 잔기는 알부민 결합 잔기이며, 이는 알부민 결합 펩타이드, 세균 알부민 결합 도메인, 알부민-결합 항체 단편, 또는 이의 어떠한 조합도 포함한다. 예를 들면, 알부민 결합 단백질은 세균 알부민 결합 단백질, 도메인 항체를 포함하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다(참조: 미국 특허 제6,696,245호). 예를 들어, 알부민 결합 단백질은 스트렙토코쿠스 단백질 G 중의 하나와 같은 세균 알부민 결합도메인일 수 있다[참조: König, T. and Skerra, A. (1998) *J. Immunol. Methods* 218, 73-83]. 접합 파트너로서 사용될 수 있는 알부민 결합 펩타이드의 다른 예는 예를 들면, Cys-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Xaa₄-Cys 컨센수스 서열을 갖는 것들이며, 여기서 Xaa₁는 Asp, Asn, Ser, Thr, 또는 Trp이고; Xaa₂는 Asn, Gln이며, H는 Ile, Leu, 또는 Lys이고; Xaa₃은 Ala, Asp, Phe, Trp, 또는 Tyr이며; Xaa₄는 Asp, Gly, Leu, Phe, Ser, 또는 Thr이며, 이는 미국 특허원 제2003/0069395호 또는 덴니스(Dennis) 등의 문헌[참조: Dennis 등 (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 35035-35043]에 기술된 바와 같다.

[0149] **II.C.3.d. PAS 서열**

[0150] 다른 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 링커에 연결된 이중 잔기는 PAS 서열이다. 하나의 구현예에서, 키메라 분자는 VWF 링커를 통해 PAS 서열에 융합된 본원에 기술된 VWF 단백질을 포함한다. 다른 구현예에서, 본 발명의 키메라 분자는 VWF 링커를 통해 PAS 서열에 융합된 VWF 단백질을 포함하는 제1쇄 및 FVIII 단백질과 추가의 임의의 PAS 서열을 포함하는 제2의쇄를 포함하며, 여기서 PAS 서열은 FVIII 단백질에서 VWF 결합 부위를 차폐하거나 보호함으로써, FVIII 단백질과 내인성 VWF의 상호작용을 억제하거나 방지한다. 2개의 PAS 서열은 서로 공유결합으로 연합될 수 있다.

[0151] 본원에 사용된 것으로서 PAS 서열은 주로 알라닌 및 세린 잔기를 포함하거나 주로 알라닌, 세린, 및 프롤린 잔기를 포함하는 아미노산 서열을 의미하고, 당해 아미노산 서열은 생리학적 조건하에서 무작위적인 코일 구조를 형성한다. 따라서, PAS 서열은 빌딩 블록, 아미노산 중합체, 또는 키메라 단백질내 이중 잔기의 일부로서 사용될 수 있는 알라닌, 세린, 및 프롤린으로 필수적으로 이루어지거나 이루어진 서열 카세트이다. 여전히, 숙련가들은, 알라닌, 세린, 및 프롤린 이외의 잔기가 PAS 서열내 약간의 성분으로서 가해지는 경우 무작위적인 코일 구조를 형성할 수 있음을 인지하고 있다. 본원에 사용된 것으로서 용어 "약간의 성분"은, 알라닌, 세린, 및 프롤린 이외의 아미노산이 PAS 서열에서 특정의 정도로, 예를 들면, 약 12% 이하, 즉, PAS 서열의 100개 아미노산 중 약 12개의 아미노산, 약 10% 이하, 즉, PAS 서열의 100개 아미노산 중 약 10개의 아미노산, 약 9% 이하, 즉, 100개 아미노산 중 약 9개의 아미노산, 약 8% 이하, 즉, 100개 아미노산 중 약 8개의 아미노산, 약 6%, 즉, 100개 아미노산 중 약 6개의 아미노산, 약 5%, 즉, 100개 아미노산 중 약 5개의 아미노산, 약 4%, 즉, 100개의 아미노산 중 약 5개의 아미노산, 약 3%, 즉, 100개의 아미노산 중 약 3개의 아미노산, 약 2%, 즉, 100개 아미노산 중 약 2개의 아미노산, 약 1%, 즉, 100개의 아미노산 중 약 1개의 아미노산으로 첨가될 수 있음을 의미한다. 알라닌, 세린 및 프롤린과는 상이한 아미노산은 Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0152] 생리학적 조건하에서, PAS 서열 길이는 무작위적인 코일 구조를 형성함으로써 VWF 인자 또는응고 활성의 단백질에 대해 생체내 및/또는 시험관내 안정성을 중재할 수 있다. 무작위적인 코일 도메인은 자체로서 안정한 구조 또는 기능을 채택하지 않으므로, 이것이 융합된 VWF 단백질 또는 FVIII 단백질에 의해 중재된 생물학적 활성은 필수적으로 보존된다. 다른 구현예에서, 무작위적인 코일 도메인을 형성하는 PAS 서열은 특히 혈액 혈장, 면역원성, 등전점/정전 행위, 세포 표면 수용체 또는 내재화와 관련하여 생물학적으로 불활성이지만, 여전히 생분해성이며, 이는 PEG와 같은 합성 중합체보다 명확한 장점을 제공한다.

[0153] 무작위적인 코일 구조를 형성하는 PAS 서열의 비-제한적 예는 ASPAAPAPASPAAPAPSAPA(서열 번호 32), AAPASPAPAAPSAPAPAAPS(서열 번호 33), APSSPSPAPSSPSPASPSS(서열 번호 34), APSSPSPAPSSPSPASPS(서열 번호 35), SSPSAPSPSSPASPSPPSPA(서열 번호 36), AASPAAPSAPPAASPAAPSAPPA(서열 번호 37) 및 ASAAAPAAASAAAPSAAAA(서열 번호 38) 또는 이의 어떠한 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. PAS 서열의 추가의 예는 예를 들면, 미국 특허 공보 제2010/0292130 A1호 및 PCT 출원 공보 제WO 2008/155134 A1호에 공지되어 있다.

[0154] **II.C.3.e. HAP 서열**

[0155] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 연결된 이중

잔기는 글리신이 풍부한 아미노산 중합체(HAP)이다. HAP 서열은 글리신의 반복된 서열을 포함할 수 있으며, 이는, 길이가 적어도 50개 아미노산, 적어도 100개 아미노산, 120개 아미노산, 140개 아미노산, 160개 아미노산, 180개 아미노산, 200개 아미노산, 250개 아미노산, 300개 아미노산, 350개 아미노산, 400개 아미노산, 450개 아미노산, 또는 500개 아미노산이다. 하나의 구현예에서, HAP 서열은 HAP 서열에 융합되거나 연결된 잔기의 반감기를 연장시킬 수 있다. HAP 서열의 비-제한적인 예는 $(\text{Gly})_n$, $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 또는 $\text{S}(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 을 포함하나, 이에 한정되지 않으며, 여기서, n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20이다. 하나의 구현예에서, n 은 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40이다. 다른 구현예에서, n 은 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 또는 200이다. [참조: 예를 들면, Schlapschy M 등, Protein Eng. Design Selection, 20: 273-284 (2007)].

[0156] **II.C.3.f. 트랜스페린 또는 이의 단편**

[0157] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 연결된 이중 잔기는 트랜스페린 또는 이의 단편이다. 어떠한 트랜스페린도 사용하여 본 발명의 키메라 분자를 제조할 수 있다. 예로서, 야생형 사람 Tf(Tf)는 대략 75Kda(글리코실화에 대해 고려되지 않음)이고, 2개이 주요 도메인, N (약 330개 아미노산) 및 C(약 340개 아미노산)을 지닌 679개 아미노산 단백질이며, 이는 유전자 중복으로부터 기원하는 것으로 여겨진다. [참조: 진뱅크 수탁 번호 제NM001063호, 제XM002793호, 제M12530호, 제XM039845호, 제XM 039847호 및 제S95936호(www.ncbi.nlm.nih.gov/), 이들 모두는, 이의 전문이 본원에 참조로 포함된다]. 트랜스페린은 2개의 도메인, N 도메인 및 C 도메인을 포함한다. N 도메인은 2개의 소도메인, N1 도메인 및 N2 도메인을 포함하며, C 도메인은 2개의 소 도메인, C1 도메인 및 C2 도메인을 포함한다.

[0158] 하나의 구현예에서, 키메라 분자의 트랜스페린 부위는 트랜스페린 스플라이스 변이체를 포함한다. 하나의 예에서, 트랜스페린 스플라이스 변이체는 사람 트랜스페린의 스플라이스 변이체, 예를들면, 진뱅크 수탁 번호 제AAA61140호일 수 있다. 다른 구현예에서, 키메라 분자의 트랜스페린 부위는 트랜스 페린 서열의 하나 이상의 도메인, 예를 들면, N 도메인, C 도메인, N1 도메인, N2 도메인, C1 도메인, C2 도메인 또는 이의 어떠한 조합을 포함한다.

[0159] **II.C.3.g. 중합체, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)**

[0160] 다른 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 부착되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 부착된 이중 잔기는 당해 분야에 공지된 가용성 중합체이며, 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카복시메틸셀룰로즈, 텍스트란, 또는 폴리비닐 알코올을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 가용성 중합체와 같은 이중 잔기는 키메라 분자내에의 어떠한 위치에도 부착될 수 있다.

[0161] 특정의 구현예에서, 키메라 분자는 VWF 잔기를 통해 이중 잔기(예를 들면, Fc 영역)에 융합된 VWF 단백질이며, 여기서 VWF 단백질은 PEG에 추가로 연결된다. 다른 구현예에서, 키메라 분자는 VWF 링커를 통해 Fc 영역에 융합된 VWF 단백질 및 FVIII 단백질을 포함하며, 이는 서로 연합되어 있고, 여기서 FVIII 단백질은 PEG에 연결되어 있다.

[0162] 또한, 폴리펩타이드의 증가된 가용성, 안전성 및 순환 시간, 또는 감소된 면역원성과 같이 추가의 장점을 제공할 수 있는 본 발명의 키메라 분자의 화학적으로 변형된 유도체가 본 발명에 의해 제공된다(참조: 미국 특허 제 4,179,337호). 변형을 위한 화학적 잔기는 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카복시메틸셀룰로즈, 텍스트란, 또는 폴리비닐 알코올을 포함하나, 이에 한정되지 않는 수용성 중합체로부터 선택될 수 있다. 키메라 분자는 분자내 무작위한 위치에서 또는 N- 또는 C-말단에서, 또는 분자내 예정된 위치에서 변형될 수 있으며 1개, 2개, 3개 이상의 부착된 화학적 잔기를 포함할 수 있다.

[0163] 중합체는 어떠한 분자량일 수 있으며, 측쇄되거나 측쇄되지 않을 수 있다. 하나의 구현예에서, 폴리에틸렌 글리콜의 경우, 분자량은 용이한 취급 및 제조를 위해 약 1kDa 내지 약 100kDa이다. 다른 크기가 목적인 프로파일 (예를 들면, 요구되는 지속된 방출 기간, 생물학적 활성에있어서 어떠한 것의 효과, 취급의 용이성, 항원성의 정도 또는 결여 및 단백질 또는 동족체에 대한 폴리에틸렌 글리콜의 다른 공지된 효과)에 따라 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜은, 평균 분자량이 약 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000, 12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35,000, 40,000, 45,000, 50,000, 55,000,

60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000, 또는 100,000kDa일 수 있다.

- [0164] 일부 구현예에서, 폴리에틸렌 글리콜은 측쇄된 구조를 가질 수 있다. 측쇄된 폴리에틸렌 글리콜은 예를 들면, 미국 특허 제5,643,575호; Morpurgo 등, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 56:59-72 (1996); Vorobjev 등, *Nucleosides Nucleotides* 18:2745-2750 (1999); and Caliceti 등, *Bioconj. Chem.* 10:638-646 (1999)에 기술되어 있으며, 이들 각각은, 이의 전문이 본원에 참조로 포함되어 있다.
- [0165] 각각의 키메라 분자에 부착된 폴리에틸렌 글리콜 잔기의 수(즉, 치환 정도)는 또한 변할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폐길화된 단백질은 평균 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 분자에 연결될 수 있다. 유사하게, 단백질 분자당 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 5-7, 6-8, 7-9, 8-10, 9-11, 10-12, 11-13, 12-14, 13-15, 14-16, 15-17, 16-18, 17-19, 또는 18-20개의 폴리에틸렌 글리콜 잔기와 같은 범위내의 평균 치환도. 치환도를 측정하는 방법은, 예를 들면, 문헌[참조: Delgado 등, *Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys.* 9:249-304 (1992)]에 논의되어 있다.
- [0166] 다른 구현예에서, 본 발명에 사용된 FVIII 단백질은 하나 이상의 중합체에 접합된다. 중합체는 수용성일 수 있고 인자 VIII에 또는 인자 VIII에 접합된 다른 잔기에 공유결합적으로 또는 비-공유결합적으로 부착될 수 있다. 중합체의 비-제한적 예는 폴리(알킬렌 옥사이드), 폴리(비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알코올), 폴리옥사졸린, 또는 폴리(아크로일모르폴린)일 수 있다. 추가 유형의 중합체-접합된 FVIII는 미국 특허 제7,199,223호에 논의되어 있다.
- [0167] **II.C.3.h. 하이드록시에틸 전분(HES)**
- [0168] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 단백질에 연결된 이중 잔기는 중합체, 예를 들면, 하이드록시에틸 전분(HES) 또는 이의 유도체이다.
- [0169] 하이드록시에틸 전분(HES)은 천연적으로 존재하는 아밀로펙틴이고 체내에서 알파-아밀라제에 의해 분해된다. HES는 탄수화물 중합체 아밀로펙틴의 치환된 유도체이며, 이는 옥수수 전분 속에 95중량% 이하의 농도로 존재한다. HES는 유리한 생물학적 특성을 나타내며 임상에서 혈액 용적 대체제로서 및 혈액 희석 치료요법에서 사용된다[참조: Sommermeyer 등, *Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987); and Weidler 등, *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 41, 494-498 (1991)].
- [0170] 아밀로펙틴은 글루코즈 잔기를 함유하며, 여기서 주쇄 알파-1,4-글리코시드 결합이 존재하며 측쇄부위에서 알파-1,6-글리코시드 결합이 발견된다. 당해 분자의 물리-화학적 특성은 글리코시드 결합의 유형에 의해 주로 측정된다. 닉(nick)이 있는 알파-1,4-글리코시드 결합으로 인하여, 회전 당 약 6개의 글루코즈-단량체를 지닌 나선 구조가 생산된다. 중합체의 물리-화학적 및 생화학적 특성은 치환을 통해 변형될 수 있다. 하이드록시에틸 그룹의 도입은 알칼리성 하이드록시에틸화를 통해 달성될 수 있다. 반응 조건을 적합하게 함으로써, 하이드록시에틸화에 대하여 비치환 글루코즈 단량체에서 각각의 하이드록실 그룹의 상이한 반응성을 이용할 수 있다. 이러한 사실로 인하여, 숙련가는 치환 양식에 제한된 정도로 영향을 미칠 수 있다.
- [0171] HES는 분자량 분포 및 치환도에 의해 주로 특징화된다. DS로서 나타낸 치환도는 물 치환에 관한 것이며, 기술자에게 공지되어 있다. [참조: 상기 인용된 바와 같은 Sommermeyer 등, *Krankenhauspharmazie*, 8(8), 271-278 (1987), 특히 p. 273].
- [0172] 하나의 구현예에서, 하이드록시에틸 전분은, 평균 분자량(중량 평균)이 1 내지 300kD, 2 내지 200kD, 3 내지 100kD, 또는 4 내지 70kD이다. 하이드록시에틸 전분은, 0.1 내지 3, 바람직하게는 0.1 내지 2, 보다 바람직하게는, 0.1 내지 0.9, 바람직하게는 0.1 내지 0.8의 물 치환도, 및 하이드록시에틸 그룹과 관련하여 2 내지 20의 범위의 C2:C6 치환 사이의 비를 추가로 나타낼 수 있다. 평균 분자량이 약 130kD인 HES의 비-제한적 예는, 평균 치환도가 0.2 내지 0.8, 예를 들면, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 또는 0.8, 바람직하게는 0.4 내지 0.7, 예를 들면, 0.4, 0.5, 0.6, 또는 0.7인 HES이다. 구체적인 구현예에서, 평균 분자량이 약 130kD인 HES는 업자(Fresenius)로부터의 Voluven[®]이다. Voluven[®]은 인공 콜로이드이며, 예를 들면, 저혈량증의 치료요법 및 예방을 위한 치료학적 처방에서 사용된 용적 대체를 위해 사용된다. Voluven[®]의 특징은, 평균 분자량이 130,000+/-20,000D이고, 물 치환도가 0.4이며 C2:C6 비가 약 9:1이다. 다른 구현예에서, 하이드록시에틸 전분의 평균 분자량의 범위는, 예를 들면, 4 내지 70kD 또는 10 내지 70kD 또는 12 내지 70kD 또는 18 내지 70kD 또는 50 내지 70kD 또는 4 내지 50kD 또는 10 내지 50kD 또는 12 내지 50kD 또는 18 내지 50kD 또는 4 내지 18kD 또는 10 내지 18kD 또는 12 내지 18kD 또는 4 내지 12kD 또는 10 내지 12kD 또는 4 내지 10kD이다. 여전히 다른 구현예에

서, 사용된 하이드록시에틸 전분의 평균 분자량은 4kD 이상 및 70kD 이하, 예를 들면, 약 10kD, 또는 9 내지 10kD 또는 10 내지 11kD 또는 9 내지 11kD의 범위, 또는 약 12kD, 또는 11 내지 12kD의 범위) 또는 12 내지 13kD 또는 11 내지 13kD, 또는 약 18kD, 또는 17 내지 18kD 또는 18 내지 19kD 또는 17 내지 19kD의 범위, 또는 약 30kD, 또는 29 내지 30, 30 내지 31kD, 또는 약 50kD의 범위, 또는 49 내지 50kD 또는 50 내지 51kD 또는 49 내지 51kD의 범위이다.

[0173] 특정의 구현예에서, 이중 잔기는, 평균 분자량이 상이하고/하거나 치환도가 상이하고/하거나 C2: C6 치환비가 상이한 하이드록시에틸 전분의 혼합물일 수 있다. 따라서, 평균 분자량이 상이하고 치환도가 상이하며 C2:C6 치환 비가 상이하거나, 평균 분자량이 상이하고 치환도가 상이하며 C2:C6 치환 비가 동일하거나 거의 동일하거나, 평균 분자량의 동일하거나 거의 동일하고 치환도가 상이하며 C2:C6 치환비가 상이하거나, 평균 분자량이 상이하고 치환도가 동일하거나 거의 동일하며 C2:C6 치환비가 동일하거나 거의 동일하거나, 평균 분자량이 동일하거나 거의 동일하고 치환도가 상이하거나 C2:C6 치환비가 동일하거나 거의 동일하거나, 평균 분자량이 동일하거나 거의 동일하고 치환비가 동일하거나 거의 동일하며 C2:C6 치환비가 상이하거나, 평균 분자량이 거의 동일하고 치환도가 거의 동일하며 C2:C6 치환비가 거의 동일한 하이드록시에틸 전분이 혼합물이 사용될 수 있다.

[0174] II.C.3.i. 폴리시알산(PSA)

[0175] 특정의 구현예에서, VWF 링커를 통해 VWF 단백질에 연결되거나 FVIII 링커를 통해 FVIII 링커에 연결된 된 비-폴리펩타이드 이중 잔기는 중합체, 예를 들면, 폴리시알산(PSA) 또는 이의 유도체이다. 폴리시알산(PSA)은 특정의 세균 균주에 의해 및 포유동물내에서 특정의 세포내에서 생산된 시알산의 천연적으로 존재하는 비축쇄된 중합체이다. [참조: Roth J., 등 (1993) in *Polysialic Acid: From Microbes to Man*, eds. Roth J., Rutishauser U., Troy F. A. (Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland), pp 335-348]. 이들은 n=약 80 이상의 시알산 잔기로부터 n=2까지의 다양한 중합화도에서 제한된 산 가수분해에 의해 또는 뉴라미니다제를 사용한 분해에 의해, 또는 중합체의 천연의, 세균적으로 기원한 형태의 분획화에 의해 생산될 수 있다. 상이한 폴리시알산의 조성은 변하여 단독중합체성 형태 즉 *이. 콜라이(E. coli)* 균주 K1 및 신경 세포 부착 분자 (N-CAM)의 배아 형태로 또한 발견된 그룹-B 뇌척수막염 균의 캡슐형 다당류를 포함하는 알파-2,8-연결된 폴리시알산이 존재하도록 한다. 헤테로중합체성 형태는 또한 *이. 콜라이* 균주 K92의 교호하는 알파-2,8 알파-2,9 폴리시알산 및 엔. 메닝기티디스(*N. meningitidis*)의 그룹 C 다당류와 같이 존재한다. 시알산은 또한 엔. 메닝기티디스(*N. meningitidis*)의 그룹 W135 또는 그룹 Y와 같은 시알산 이외의 단량체와의 교호하는 공중합체에서 발견될 수 있다. 포유동물에서 폴리시알산에 대한 수용체가 알려져 있지 않지만, 폴리시알산은 병리학적 세균에 의한 면역 및 보체 시스템의 회피 및 태아 발달 동안 미성숙 뉴우런의 신경교 점착성의 조절을 포함하는 중요한 생물학적 기능을 갖는다(여기서, 중합체는 항-부착성 기능을 갖는다)[참조: Cho and Troy, *P.N.A.S., USA*, 91 (1994) 11427-11431]. *이. 콜라이* 균주 K1의 알파-2,8-연결된 폴리시알산은 또한 '콜로민산'으로 알려져 있으며 본 발명을 예시하는데 사용된다(다양한 길이로). 폴리시알산을 폴리펩타이드에 접착시키거나 접합시키는 다양한 방법은 기술되어 있다(예를 들면, 이의 전문이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 제5,846,951호; 제WO-A-0187922호, 및 제US 2007/0191597 A1호 참조).

[0176] II.C.4. XTEN 서열

[0177] 본원에 사용된 것으로서 "XTEN 서열"은 주로 소 친수성 아미노산으로 구성된, 비-천연적으로 존재하는, 실질적으로 비-반복성 서열을 지닌 연장된 길이의 폴리펩타이드를 말하며, 이의 서열은 생리학적 조건하에서 낮은 정도 또는 2차 또는 3차 구조를 갖는다. 키메라 단백질 파트너, XTEN은 담체로서 제공될 수 있으므로, 본 발명의 VWF 단백질 또는 FVIII 단백질에 연결되어 키메라 단백질을 생성하는 경우, 특정의 바람직한 약력학적, 물리화학적 및 약제학적 특성을 부여한다. 이러한 바람직한 특성은 향상된 약력학적 매개변수 및 용해도 특성을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본원에 사용된 것으로서, "XTEN"은 일본쇄 항체 또는 경쇄 또는 중쇄의 Fc 단편과 같은 항체 또는 항체 단편을 구체적으로 배제한다.

[0178] 일부 구현예에서, 본 발명의 XTEN 서열은 약 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 또는 2000개 이상의 아미노산 잔기를 갖는 펩타이드 또는 폴리펩타이드이다. 특정의 구현예에서, XTEN은 약 20 내지 약 3000개 이상의 아미노산 잔기, 30 내지 약 2500개 이상의 아미노산 잔기, 40 내지 약 2000개 이상의 아미노산 잔기, 50 내지 약 1500개 이상의 아미노산 잔기, 60 내지 약 1000개 이상의 아미노산 잔기, 70 내지 약 900개 이상의 아미노산 잔기, 80 내지 약 800개 이상의 아미노산 잔기, 90 내지 약 700개 이상의 아미노산 잔기, 100 내지 약 600개 이상의 아미노산 잔기, 110 내지 약 500개 이상의 아미노산 잔기, 120 내지 약 400개 이상의 아미노산 잔

기를 지닌 펩타이드 또는 폴리펩타이드이다.

[0179] 본 발명의 XTEN 서열은 9 내지 14개 아미노산 잔기 또는 서열 모티프에 대해 적어도 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열의 하나 이상의 서열 모티프를 포함할 수 있으며, 여기서 당해 모티프는 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E) 및 프롤린(P)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 4 내지 6개 유형의 아미노산을 포함하거나, 이로 필수적으로 이루어지거나, 이로 이루어진다. (참조: US 2010-0239554 A1).

[0180] 일부 구현예에서, XTEN은 비-오버랩핑된 서열 모티프를 포함하여 계열 서열을 생성하며 여기서 서열의 약 80%, 또는 적어도 약 85%, 또는 적어도 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99% 또는 약 100%가 표 2A로부터 선택된 단일의 모티프 계열로부터 선택된 비-오버랩핑 서열의 다중 단위로 이루어진다. 본원에 사용된 것으로서, "계열"은, XTEN이 표 2A로부터의 단일의 모티프 카테로리로부터 단지선택된 모티프; 즉, AD, AE, AF, AG, AM, AQ, BC, 또는 BD XTEN을 가지며, 계열 모티프로부터가 아닌 XTEN내 어떠한 다른 아미노산도 암호화된 뉴클레오타이드에 의한 제한 부위의 혼입, 절단 서열의 혼입을 허용하는 것과 같은, 요구되는 특성을 달성하기 위해, 또는 FVIII 또는 VWF에 대해 보다 우수한 연결을 달성하기 위해 선택된다. XTEN 계열의 일부 구현예에서, XTEN 서열은 AD 모티프 계열, 또는 AE 모티프 계열, 또는 AF 모티프 계열, 또는 AG 모티프 계열, 또는 AM 모티프 계열, 또는 AQ 모티프 계열, 또는 BC 모티프 계열, 또는 BD 모티프 계열의 비-오버랩핑 서열 모티프의 다중 단위를 포함하며, 수득되는 XTEN은 위에서 기술한 상동성 범위를 나타낸다. 다른 구현예에서, XTEN은 표 2A의 2개 이상의 모티프 계열로부터의 모티프 서열의 다중 단위를 포함한다. 이들 서열은 하기에 보다 완전하게 기술된, 총 전하, 친수성, 2차 구조의 결여, 또는 모티프의 아미노산 구성에 의해 부여된 반복성의 결여와 같은 특성을 포함하는 바람직한 물리적/화학적 특징을 달성하기 위해 선택될 수 있다. 당해 단락에 기술된 본원의 위의 구현예에서, XTEN내로 포함된 모티프는 본원에 기술된 방법을 사용하여 선택되고 조립됨으로써 아미노산 잔기가 약 36 내지 약 3000개인 XTEN을 달성할 수 있다.

[0181] 표 2A. 12개 아미노산의 XTEN 서열 모티프 및 모티프 계열

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

- 다양한 순열로 함께 사용되는 경우, 개개의 모티프 서열이

“계열 서열”을 생성하는 것에 주목한다.

[0182] XTEN은 FVIII 또는 VWF 또는 키메라 분자의 어떠한 다른 성분내로의 삽입 또는 이에 대한 연결을 위한 다양한 길이를 가질 수 있다. 하나의 구현예에서, XTEN 서열(들)의 길이는 융합 단백질내에서 달성될 특성 또는 기능을 기본으로 하여 선택된다. 의도된 특성 또는 기능에 따라서, XTEN은 담체로 제공될 수 있는 중간 길이의 서열 또는 보다 긴 서열일 수 있다. 특정의 구현예에서, XTEN은 약 6 내지 약 99개의 아미노산 잔기의 짧은 분절, 약 100 내지 약 399개의 아미노산 잔기의 중간 길이, 및 약 400 내지 약 1000개 및 약 3000개 이하의 아미노산 잔기의 보다 긴 길이를 포함한다. 따라서, FVIII 또는 VWF내로 삽입되거나 연결된 XTEN은, 길이가 약 6, 약 12, 약 36, 약 40, 약 42, 약 72, 약 96, 약 144, 약 288, 약 400, 약 500, 약 576, 약 600, 약 700, 약 800, 약 864, 약 900, 약 1000, 약 1500, 약 2000, 약 2500, 또는 약 3000개 이하인 아미노산 잔기 길이를 가질 수 있다. 다른 구현예에서, XTEN 서열은, 길이가 약 6 내지 약 50, 약 50 내지 약 100, 약 100 내지 150, 약 150 내지 250, 약 250 내지 400, 약 400 내지 약 500, 약 500 내지 약 900, 약 900 내지 1500, 약 1500 내지 2000, 또는 약 2000 내지 약 3000개인 아미노산 잔기이다. FVIII 또는 VWF내로 삽입된 XTEN의 정밀한 길이는 FVIII 또는 VWF의 활성에 역으로 영향을 미치지 않고 변할 수 있다. 하나의 구현예에서, 본원에 사용된 하나 이상의 XTEN은 36개의 아미노산, 42개의 아미노산, 72개의 아미노산, 144개의 아미노산, 288개의 아미노산, 576개의 아미노산, 또는 864개의 아미노산 길이를 가지며 XTEN 계열의 서열; 즉, AD, AE, AF, AG, AM, AQ, BC 또는 BD 중 하나 이상으로부터 선택될 수 있다.

[0184] 일부 구현예에서, 본 발명에 사용된 XTEN 서열은 AE42, AG42, AE48, AM48, AE72, AG72, AE108, AG108, AE144, AF144, AG144, AE180, AG180, AE216, AG216, AE252, AG252, AE288, AG288, AE324, AG324, AE360, AG360, AE396, AG396, AE432, AG432, AE468, AG468, AE504, AG504, AF504, AE540, AG540, AF540, AD576, AE576,

AF576, AG576, AE612, AG612, AE624, AE648, AG648, AG684, AE720, AG720, AE756, AG756, AE792, AG792, AE828, AG828, AD836, AE864, AF864, AG864, AM875, AE912, AM923, AM1318, BC864, BD864, AE948, AE1044, AE1140, AE1236, AE1332, AE1428, AE1524, AE1620, AE1716, AE1812, AE1908, AE2004A, AG948, AG1044, AG1140, AG1236, AG1332, AG1428, AG1524, AG1620, AG1716, AG1812, AG1908, 및 AG2004로 이루어진 그룹으로부터 선택된 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하다. (참조: US 2010-0239554 A1).

[0185] 하나의 구현예에서, XTEN 서열은 AE42, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288, AG144, 및 이의 어떠한 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다. 다른 구현예에서, XTEN 서열은 AE42, AE864, AE576, AE288, AE144, AG864, AG576, AG288, AG144, 및 이의 어떠한 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 구체적인 구현예에서, XTEN 서열은 AE288이다. 본 발명의 특징의 XTEN 서열에 대한 아미노산 서열은 표 2b에 나타나 있다.

[0186] 표 2B. XTEN 서열

XTEN	아미노산 서열
AE42 서열 번호 39	GAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPASS
AE72 서열 번호 40	GAP TSESATPESG PGSEPATSGS ETPGTSESAT PESGPGSEPA TSGSETPGTS ESATPESGPG TSTEPSEGS PGASS
AE144 서열 번호 41	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESA PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP
AG144 서열 번호 42	GTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSST GSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSA STGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSP
AE288 서열 번호 43	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG288 서열 번호 44	PGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSTPSGATGSPGSSPSASTG TGPSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGSSPSAST GTGPSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSTPSGATGSPGSSPSAS TGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGS
AE576 서열 번호 45	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP

[0187]

	AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG576 서열 번호 46	PGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSSTPSGATG SPGSSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTAS SSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTA SSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSG ATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPS GATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPG TSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGASPG PSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGSS TPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGS STPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGS
AE864 서열 번호 47	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAG SPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AG864 서열 번호 48	GASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGS PGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGTPGSGTASS SPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGASPGTSST GSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGSSSTPSGA TGSPGSSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGT ASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSG TASSSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGSSSTPSGATGSPGSSST SGATGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGSSST PSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGAS PGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSPGS STPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPGTPGSGTASSSPGSSSTPSGATGSPG SSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGTPGSGTASSSP GSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGASPGTSSTGS PGSSSTPSGATGSPGSSPSASTGTGPGASPGTSSTGSPGSSPSASTGTGPGTPGSGTASS SPGSSSTPSGATGSPGSSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSP

[0188]

[0189]

사용된 XTEN 성분이 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E) 및 프롤린(P)으로부터 선택된 4, 5 또는 6개 유형의 아미노산으로 이루어진 이의 아미노산의 100% 미만이거나, 표2A로부터의 서열 모티프 또는 표 2B의 XTEN 서열로 이루어진 서열의 100% 미만인 이들 구현예에서, XTEN의 다른 아미노산 잔기는 어떠한 다른 14개의 천연의 L-아미노산으로부터 선택되지만 바람직하게는 친수성 아미노산으로부터 선택됨으로써 XTEN 서열은 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 적어도 약 99%의 친수성 아미노산을 함유한다. 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E) 및 프롤린(P)가 아닌 XTEN 아미노산은 XTEN 서열 전체에 산재되거나, 서열 모티프 내 또는 사이에 위치하거나 하나 이상의 짧은 신장의 XTEN 서열내에 농축되어 예를 들면, XTEN과 다른 성분, 예를 들면, VWF 단백질 사이에 링커를 생성한다. XTEN 성분이 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E) 및 프롤린 이외의 아미노산을 포함하는 경우에, 본원에 개재된 방법에 의해 측정된 것으로서, 약 2% 미만 또는 약 1% 미만의 아미노산이 소수성 잔기이어서 생성되는 서열이 일반적으로 2차 구조를 결실하는, 예를 들면, 2% 이상의 알파 나선 또는 2%의 베타 쉬이트를 가지지 않도록 하는 것이 바람직하다. XTEN의 구조내에서 거의 선호되지 않는 소수성 잔기는 트립토판, 페닐알라닌, 타이로신, 루이신, 이소루이신, 발린, 및 메티오닌을 포함한다. 또한, XTEN 서열을 설계하여 다음의 아미노산을 5% 미만, 4% 미만 또는 3% 미만 또는 2% 미만으로 함유하도록 할 수 있다: 시스테인(이황화물 형성 및 산화를 방지하기 위하여), 메티오닌(산화를 방지하기 위하여), 아스파라긴 및 글루타민(데스아미드화를 방지하기 위하여)

여). 따라서, 일부 구현예에서, 글리신(G), 알라닌(A), 세린(S), 트레오닌(T), 글루타메이트(E) 및 프롤린(P) 이외에 다른 아미노산을 포함하는 XTEN은 초우-파스만 알고리즘에 의해 측정된 것으로서 알파-나선 및 베타-시트에 기여하는 5% 미만의 잔기를 갖는 서열을 가지며 GOR 알고리즘에 의해 측정된 것으로서 적어도 90%, 또는 적어도 약 95% 이상의 무작위적인 코일 형성을 갖는다.

[0190] 추가의 구현예에서, 본 발명에 사용된 XTEN 서열은 물리 또는 화학적 특성, 예를 들면, 본 발명의 키메라 단백질의 약력학에 영향을 미친다. 본 발명에 사용된 XTEN 서열은 다음의 유리한 특성들 중 하나 이상을 나타낼 수 있다: 구조적굴곡성, 향상된 수용성, 고도의 프로테아제 내성, 저 면역원성, 포유동물 수용체에 대한 낮은 결합, 또는 증가된 유체역학적(또는 스트로크(Stoke)) 반경. 구체적인 구현예에서, 본 발명에서 FVIII 단백질에 연결된 XTEN 서열은 보다 긴 말단 반감기 또는 증가된 곡선하 영역(AUC)과 같은 약력학적 특성을 증가시킴으로써, 본원에 기술된 키메라 단백질은 야생형 FVIII와 비교하여 증가된 기간 동안 *생체내에서* 머무른다. 추가의 구현예에서, 본 발명에 사용된 XTEN 서열은 보다 긴 말단 반감기 또는 증가된 곡선하 영역(AUC)과 같은 약력학적 특성을 증가시킴으로써, FVIII 단백질은 야생형 FVIII와 비교하여 증가된 기간 동안 *생체내에서* 머무른다.

[0191] 다양한 방법 및 검정을 사용하여 XTEN 서열을 포함하는 단백질의 물리적/화학적 특성을 측정할 수 있다. 이러한 방법은 분석적 원심분리, EPR, HPLC-이온 교환, HPLC-크기 배제, HPLC-역상, 광 산란 (light scattering), 모세관 전기영동, 원편광 이색성, 차등 주사 열량계, 형광성, HPLC-이온 교환, HPLC-크기 배출, IR, NMR, 라만 분광법(Raman spectroscopy), 굴절률 측정, 및 UV/가시적 분광학을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 추가의 방법은 문헌[참조: Amau 등, *Prot Expr and Purif* 48, 1-13 (2006)]에 개재되어 있다.

[0192] XTEN 서열의 추가의 예는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 미국 특허 공보 제 2010/0239554 A1호, 제 2010/0323956 A1호, 제2011/0046060 A1호, 제2011/0046061 A1호, 제2011/0077199 A1호, 또는 제2011/0172146 A1호, 또는 국제 특허 공보 제WO 2010091122 A1호, 제WO 2010144502 A2호, 제WO 2010144508 A1호, 제WO 2011028228 A1호, 제WO 2011028229 A1호, 제WO 2011028344 A2호, 또는 제WO2013123457 A1호, 또는 국제 특허원 제 PCT/US2013/049989호에 개재되어 있다.

[0193] II.C.5. FVIII 단백질

[0194] 본원에 사용된 것으로서 "FVIII 단백질"은 달리 정의하지 않는 한, 응고에 있어서 이의 정상적인 역할에 있어서의 기능성 FVIII 폴리펩타이드를 의미한다. 용어 FVIII 단백질은 응고 경로에서 전장의 야생형 인자 VIII의 기능을 보유하는 기능성 단편, 변이체, 유사체, 또는 이의 유도체를 포함한다. "FVIII 단백질"은 FVIII 폴리펩타이드(또는 단백질) 또는 FVIII와 상호교환적으로 사용된다. FVIII 기능의 예는 응고를 활성화시키는 능력, 인자 IX에 대한 보조 인자로서 작용하는 능력, 또는 Ca^{2+} 및 인지질의 존재하에서 인자 IX와 함께 테나제 복합체를 형성한 후 인자 X를 활성화된 형태 Xa로 전환시키는 능력을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. FVIII 단백질은 사람, 돼지, 양, 랫트, 또는 쥐 FVIII 단백질일 수 있다. 또한, 사람과 다른 종으로부터의 FVIII 사이의 비교는 기능에 요구되는 것으로 여겨지는 보존된잔기를 확인하여 왔다(참조: Cameron 등, *Thromb. Haemost.* 79:317-22 (1998); US 6,251,632).

[0195] 다수의 시험이 응고 시스템: 활성화된 부분 트롬보플라스틴 시간(aPTT) 시험, 색원체 검정, ROTEM 검정, 프로트롬빈 시간(PT) 시험(또한 INR을 측정하는데 사용됨), 피브리노겐 시험(흔히 클라우스 시험(Clauss method)에 의해), 혈소판 수, 혈소판 기능 시험(흔히 PFA-100에 의해), TCT, 출혈 시간, 혼합 시험(환자의 혈장이 정상 혈장과 혼합되는 경우 비정상성이 교정되는지의 여부), 응고 인자 검정, 항인지질 항체, D-이량체, 유전 시험(예를 들면, 인자 V 라이덴 프로트롬빈 돌연변이(Leiden, prothrombin mutation) G20210A)), 희석된 러셀 사독 시간(dilute Russell's viper venom time: dRVVT), 다양한 혈소판 기능 시험(miscellaneous platelet function test), 혈액 응고 기능항진 (TEG 또는 소노클롯(Sonoclot)), 트롬보엘라스토크메트리(thromboelastometry : TEM[®], 예를 들면, ROTEM[®]), 또는 유글로불린 분해 시험(ELT)을 평가하는데 이용가능하다.

[0196] aPTT 시험은 "고유의"(또한 접촉 활성화 경로로 언급됨) 및 일반적인 응고 경로 둘 다의 효능을 측정하는 수행 지시인자이다. 당해 시험은 시판되는 재조합체 응고 인자, 예를 들면, FVIII 또는 FIX의 응고 활성을 측정하기 위해 일반적으로 사용된다. 이는 프로트롬빈 시간(PT)과 함께 사용되며, 이는 고유의 경로를 측정한다.

[0197] ROTEM 분석은 지혈의 전체 역학: 응고 시간, 응괴 정보, 응괴 안전성 및 분해에 대한 정보를 제공한다. 트롬보엘라스토크메트리(thromboelastometry)에서의 상이한 매개변수는 혈소판 응고 시스템, 혈소판 기능, 섬유소용해(fibrinolysis), 또는 이들 상호작용에 영향을 미치는 많은 인자의 활성에 의존적이다. 당해 검정은 2차 지혈의

완전한 고찰을 제공할 수 있다.

[0198] FVIII 폴리펩타이드 및 폴리뉴클레오타이드 서열은 많은 기능적 단편, 돌연변이체 및 변형된 버전에서와 같이 공지되어 있다. 사람 FVIII 서열(전장)의 예는 서열 번호 16 또는 18에서의 소서열(subsequence)로서 나타나 있다.

[0199] 표 3 전장의 FVIII(밀줄친 FVIII 시그널 펩타이드; FVIII 중쇄는 이중 밀줄쳐져 있다; B 도메인은 이탤릭체이다; 및 FVIII 경쇄는 평문이다)

[0200] 시그널 펩타이드: (서열 번호 15)

[0201] MQIELSTCFFLCLLRFCFS

[0202] 성숙 인자 VIII(서열 번호 16)*

ATRRYYLGAVELSDWYMQSDLGELPVDARFPFPPVPSKSPFNTSVVYKTLFVEFTDHLFNIAPRPPWMLL
GPTIQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYDDQTSORLKEDDKVPFGGSHTYVWQVLKEN
GPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFEDEGKSWHSETKNSL
MQDRDAASARAWPKMHTVNGVYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEI
SPITFLTAOTLLMDLGGFLFCHISSHQHDCMEAYVKVDSCPEEPOLRMKNNEEAEDYDDDLTDSFMDVVR
DDDNPSFIIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLAPODDRSYKSYLNNGPQIRIGRKYKKVRFEMAYT
DEFKTRERATQCHESGILGPLYGEVGDITLLIFKNQASRPYNIYPHGITDVAPLYSRRLPKGVKHLKDFPIL
PGEIEKYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQRGNOIMSDKRNVILF
SVFDENRSWYLTENIQRELNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDF
LSVFFSGYTEFKHKMVEDTLTLPFSGETVFMSENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGDYIE
DSYEDISAYLLSKNNALIEPRSFQNSRHPSTROKQFNATIIIPENDIEKTPWFARHTPMPKIQNVSSDLLM
LLRQSFTHPGLSLSDLQFAKYETFSDDPSGAIDSNNSLSEMTHFRPQLHHSQDMVFTPESGQLRLNEKLG
TTAATELKKLDFKVSSTSNLISTIPSDNLAAGTDNTSSLGPPSPMPVHYDSQLDTTLEFGKKSSPLTESGGPL
SLSEENNDSKLLSEGLMNSQESSWGNVSSSTESGRLFKGKRAHGPALLTKDNALFKVSISSLKTNKTSNNSA
TNRKTHIDGPSLLIENSPSVWQNILESDETFKKVTPLIHDRMLMDKNATALRLNHMSNKTSSKNMEMVQOK
KEGPIPPDAQNPDMSPFKMLFLPESARWIQRTHGKNSLNSGQGPSKQLVSLGPEKSVEGQNFLSEKNKVVV
GKGEFTKDVGLKEMVFPSSRNFLFTNLNHNHNTNQEKKICEETEKKETLIQENVVLPOIHTVTGTKNFM
KNLFLSTRQNVESYDGAAPVLQDFRSLNDSTNRKTHAHFSKKGEEENLEGLGNQTKQIVEKYACTTR
ISPNTSQQNFVTFQSRKALKQFRLPLETELEKRIIVDDTSTQWSKNMKHLTPSTLTQIDYNEKEKGAITS
PLSDCLTRSHSIPQANRSPPLIAKVSSFPSIRPIYLTRVLFQDNSSHLPAASYRKKDSGVQESSHFLQAKK
NNLSLAILTLEMTGDQREVGLSGTSATNSVTYKVENTVLPKPDLPKTSQKVELLPKVHIYQKDLFPETSN
GSPGHLDLVEGSLQGTGAIKWNEANRPGKVPFLRVATESSAKTPSKLLDPLAWDNHYGTQIPKEEWSQE
KSPEKTAFFKKDTILSLNACESNHAIAATNEGQNKPEIEVTWAKQGRTERLCSQNPVPLKRHQREITRTTLQ
SDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVP
QFKKVVVFQEPFDGSGFTQPLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLSYEEEDQRQGA
EPRKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCAWAYFSDVDLEKDVHSLIGLPLLVCHTNTLNPAHGRQVT
VQEPALFTTIFDETAKSCVFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYL
LSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFLV
YSNKQCTPLGMASGHIRDQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIHGIKTQG
ARQKFSSSLYSQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGLMVFFGNVDSSGIKHNIENPPIIARYIRLHPHTYSIS
TLRMLMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQV
DFQKTMKVGTGVTQGVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVKVQGNQDSFTPVVNSLDPLPLLTR
YLRHQPQSVWHQIALRMEVLGCEAQDLY

[0203]

[0204] 표 4. 전장의 FVIII를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(서열 번호 17)*

661					ATG CAAATAGAGC TCTCCACCTG
721	CTTCTTTCTG	TGCCTTTTGC	GATTCTGCTT	TAGTGCCACC	AGAAGATACT ACCTGGGTGC
781	AGTGGAACCTG	TCATGGGACT	ATATGCAAAG	TGATCTCGGT	GAGCTGCCTG TGGACGCAAG
841	ATTTCTCTCT	AGAGTGCCAA	AATCTTTTCC	ATTCAACACC	TCAGTCGTGT ACAAAAAGAC
901	TCTGTTTGTA	GAATTCACGG	ATCACCTTTT	CAACATCGCT	AAGCCAAGGC CACCTCGGAT
961	GGGTCTGCTA	GGTCCTACCA	TCCAGGCTGA	GGTTATGAT	ACAGTGGTCA TTACACTTAA
1021	GAACATGGCT	TCCCATCCTG	TCAGTCTTCA	TGCTGTTGGT	GTATCCTACT GGAAGGCTTC
1081	TGAGGGAGCT	GAATATGATG	ATCAGACCAG	TCAAAGGGAG	AAAGAAGATG ATAAAGTCTT
1141	CCCTGGTGGA	AGCCATACAT	ATGTCTGGCA	GGTCCTGAAA	GAGAATGGTC CAATGGCCTC
1201	TGACCCACTG	TGCCTTACCT	ACTCATATCT	TTCTCATGTG	GACCTGGTAA AAGACTTGAA
1261	TTCAGGCCTC	ATTGGAGCCC	TACTAGTATG	TAGAGAAGGG	AGTCTGGCCA AGGAAAAGAC
1321	ACAGACCTTG	CACAAATTTA	TACTACTTTT	TGCTGTATT	GATGAAGGGA AAAGTTGGCA
1381	CTCAGAAACA	AAGAACTCCT	TGATGCAGGA	TAGGGATGCT	GCATCTGCTC GGGCCTGGCC
1441	TAAATGTCAC	ACAGTCAATG	GTTATGTAAA	CAGGTCTCTG	CCAGGTCTGA TTGGATGCCA
1501	CAGGAAATCA	GTCTATTGGC	ATGTGATTGG	AATGGGCACC	ACTCCTGAAG TGCACCTCAAT
1561	ATTCCTCGAA	GGTCACACAT	TTCTGTGAG	GAACCATCGC	CAGGCGTCTT TGGAAATCTC

[0205]

1621 GCCAATAAAGT TTCCTTACTG CTCAAACACT CTTGATGGAC CTTGGACAGT TTCTACTGTT
 1681 TTGTTCATATC TCTTCCCACC AACATGATGG CATGGAAGCT TATGTCAAAAG TAGACAGCTG
 1741 TCCAGAGGAA CCCCACACTAC GAATGAAAAA TAATGAAGAA GCGGAAGACT ATGATGATGA
 1801 TCTTACTGAT TCTGAAATGG ATGTGGTCAG GTTTGATGAT GACAACTCTC CTTCTTTTAT
 1861 CCAAATTCGC TCAGTTGCCA AGAAGCATCC TAAAACTTGG GTACATTACA TTGCTGCTGA
 1921 AGAGGAGGAC TGGGACTATG CTCCTTAGT CCTCGCCCC GATGACAGAA GTTATAAAG
 1981 TCAATATTG AACAAATGGCC CTCAGCGGAT TGGTAGGAAG TACAAAAAAG TCCGATTTAT
 2041 GGCATACACA GATGAAACCT TTAAGACTCG TGAAGCTATT CAGCATGAAT CAGGAATCTT
 2101 GGGACCTTTA CTTTATGGGG AAGTTGGAGA CACACTGTTG ATTATATTTA AGAATCAAGC
 2161 AAGCAGACCA TATAACATCT ACCCTCACGG AATCACTGAT GTCCGTCCCT TGTATTCAAG
 2221 GAGATTACCA AAAGGTGTAA AACATTTGAA GGATTTTCCA ATTCTGCCAG GAGAAATATT
 2281 CAAATATAAA TGGACAGTGA CTGTAGAAGA TGGGCCAACT AAATCAGATC CTCGGTGCCT
 2341 GACCCGCTAT TACTCTAGTT TCGTTAATAT GGAGAGAGAT CTAGCTTCAG GACTCATTGG
 2401 CCTCTCTCTC ATCTGCTACA AAGAATCTGT AGATCAAAGA GGAAACCAGA TAATGTCAGA
 2461 CAAGAGGAAT GTCATCCTGT TTTCTGTATT TGATGAGAAC CGAAGCTGGT ACCTCACAGA
 2521 GAATATACAA CGTTTCTCC CCAATCCAGC TGGAGTGCAG CTTGAGGATC CAGAGTTCCA
 2581 AGCCTCCAAC ATCATGCACA GCATCAATGG CTATGTTTTT GATAGTTTGC AGTTGTCTAGT
 2641 TTGTTTGCAT TACTGTCAT ACTGGTACAT TCTAAGCATT GGAGCAGAGA CTGACTTCCT
 2701 TTCTGTCTTC TTCTCTGGAT ATACCTTCAA ACACAAAATG GTCTATGAAG ACACACTCAC
 2761 CCTATTCCCA TTCTCAGGAG AAAGTGTCTT CATGTCGATG GAAAACCCAG GTCTATGGAT
 2821 TCTGGGGTGC CACAACCTAG ACTTTCGGAA CAGAGGCATG ACCGCCTTAC TGAAGGTTTC
 2881 TAGTTTGCAT AAGAACTAG GTGATTATTA CGAGGACAGT TATGAAGATA TTTGACATA
 2941 CTTGCTGAGT AAAAACAATG CCATTGAACC AAGAAGCTTC TCCAGAAT CAAGACACCC
 3001 TAGCACTAGG CAAAAGCAAT TTAATGCCAC CACAATTCCA GAAAATGACA TAGAGAAGAC
 3061 TGACCCCTGG TTTGCACACA GAACACCTAT GCCTAAAAA CAAAATGTCT CCTCTAGTGA
 3121 TTTGTTGATG CTCTTGCAG AGAGTCTCT TCCACATGGG CTATCTTAT CTGATCTCCA
 3181 AGAAGCCAAA TATGAGACTT TTTCTGATGA TCCATCACCT GGAGCAATAG ACAGTAATAA
 3241 CAGCCTGTCT GAAATGACAC ACTTCAGGCC ACAGCTCCAT CACAGTGGGG ACATGGTATT
 3301 TACCCCTGAG TCAGGCCTCC AATTAAGATT AAATGAGAAA CTGGGGACAA CTGCAGCAAC
 3361 AGAGTTGAAG AAAGTTGATT TCAAAGTTTC TAGTACATCA AATAATCTGA TTTCAACAAT
 3421 TCCATCAGAC AATTTGGCAG CAGGTACTGA TAATACAAAG TCCTTAGGAC CCCCAAGTAT
 3481 GCCAGTTCAT TATGATAGTC AATTAGATAC CACTCTATTT GGCAAAAAGT CATCTCCCCT
 3541 TACTGAGTCT GGTGGACCTC TGAGCTTGAG TGAAGAAAAA AATGATTCAG AGTTGTTAGA
 3601 ATCAGGTTTA ATGAATAGCC AAGAAAGTTC ATGGGGAAAA AATGTATCGT CAACAGAGAG
 3661 TGGTAGGTTA TTTAAAGGGA AAAGAGCTCA TGGACCTGCT TTGTTGACTA AAGATAATGC
 3721 CTTATTCAAA GTTAGCATCT CTTTGTAAA GACAAACAAA ACTTCCAATA ATTGAGCAAC
 3781 TAATAGAAAG ACTCACATTG ATGGCCCATC ATTATTAATT GAGAATAGTC CATCAGTCTG
 3841 GCAAAATATA TTAGAAAGTG AACTGAGTT TAAAAAAGTG ACACCTTTGA TTCATGACAG
 3901 AATGCTTATG GACAAAAATG CTACAGCTTT GAGGCTAAAT CATATGTCAA ATAAAACCTAC
 3961 TTCATCAAAA AACATGGAAA TGGTCCAACA GAAAAAAGAG GGCCCCATTC CACCAGATGC
 4021 ACAAATCCCA GATATGTCGT TCTTTAAGAT GCTATTCTTG CCAGAATCAG CAAGGTGGAT
 4081 ACAAAGGACT CATGGAAAGA ACTCTCTGAA CTCTGGGCAA GGCCCCAGTC CAAAGCAATT
 4141 AGTATCCTTA GGACCAGAAA AATCTGTGGA AGGTCAGAAT TTCTGTCTG AGAAAAACAA
 4201 AGTGGTAGTA GGAAAGGGTG AATTTACAAA GGACGTAGGA CTCAAAGAGA TGGTTTTTCC
 4261 AAGCAGCAGA AACCTATTTC TTTACTAATT GGATAATTTA CATGAAAATA ATACACACAA
 4321 TCAAGAAAAA AAAATTCAGG AAGAAATAGA AAAGAAGGAA ACATTAATCC AAGAGAATGT
 4381 AGTTTTGCCT CAGATACATA CAGTGACTGG CACTAAGAAT TTCATGAAGA ACCTTTTCTT
 4441 ACTGAGCACT AGGCAAAAATG TAGAAGGTTT ATATGACGGG GCATATGCTC CAGTACTTCA
 4501 AGATTTTATG TCATTTAAATG ATTCAACAAA TAGAACAAA AGAACACACAG CTCATTTCTC
 4561 AAAAAAAGGG GAGGAAGAAA ACTTGAAGG CTTGGGAAAT CAAACCAAGC AAATTGTAGA
 4621 GAAATATGCA TGCACCACAA GGATATCTCC TAATACAAGC CAGCAGAATT TTGTCACGCA
 4681 ACGTAGTAAG AGAGCTTTGA AACAATTGAG ACTCCCACTA GAAGAAACAG AACTTGAAAA
 4741 AAGGATAATT GTGGATGACA CCTCAACCCA GTGGTCCAAA AACATGAAAC ATTTGACCCC
 4801 GAGCACCTC ACACAGATAG ACTACAATGA GAAGGAGAAA GGGGCCATTA CTCAGTCTCC
 4861 CTTATCAGAT TGCTTTACGA GGAGTCATAG CATCCCTCAA GCAATATAGAT CTCATTACC
 4921 CATTGCAAG GTATCATCAT TTCCATCTAT TAGACCTATA TATCTGACCA GGGTCTTATT
 4981 CCAAGACAAC TCTTCTCATC TTCCAGCAGC ATCTTATAGA AAGAAAGATT CTGGGGTCCA

[0206]


```

5041 AGAAAGCAGT CATTCTTAC AAGGAGCCAA AAAAAATAAC CTTTCTTTAG CCATTCTAAC
5101 CTTGGAGATG ACTGGTGATC AAAGAGAGGT TGGCTCCCTG GGGACAAGTG CCACAAATTC
5161 AGTCACATAC AAGAAAGTTG AGAACACGTG TCTCCCGAAA CCAGACTTGC CCAAAACATC
5221 TGGCAAAGTT GAATTGCTTC CAAAAGTTCA CATTATCAG AAGGACCTAT TCCCTACGGA
5281 AACTAGCAAT GGGTCTCTCG GCCATCTGGA TCTCGTGGA GGGAGCCTTC TTCAGGGAAC
5341 AGAGGGAGCG ATTAAGTGGA ATGAAGCAA CAGACCTGGA AAAGTTCCCT TTCTGAGAGT
5401 AGCAACAGAA AGCTCTGCAA AGACTCCCTC CAAGCTATTG GATCCTCTTG CTGGGATAA
5461 CCCTATGGT ACTCAGATAC CAAAAGAAGA GTGGAAATCC CAAGAGAAGT CACCAGAAAA
5521 AACAGCTTTT AAGAAAAAGG ATACCATTTC GTCCCTGAAC GCTTGTGAAA GCAATCATGC
5581 AATAGCAGCA ATAAATGAGG GACAAAATAA GCCCAGAAAT GAAGTCACCT GGGCAAGCA
5641 AGGTAGGACT GAAAGGCTGT GCTCTCAAAA CCCACCAGTC TTGAAACGCC ATCAACGGGA
5701 AATAACTCGT ACTACTCTTC AGTCAGATCA AGAGGAAATT GACTATGATG ATACCATATC
5761 AGTTGAAATG AAGAAGGAAG ATTTTGACAT TTATGATGAG GATGAAAAAT AGAGCCCCCG
5821 CAGCTTTCAA AAGAAAACAC GACACTATTT TATTGCTGCA GTGGAGAGGC TCTGGGATTA
5881 TGGGATGAGT AGCTCCCCAC ATGTTCTAAG AAACAGGGCT CAGAGTGGCA GTGTCCCTCA
5941 GTTCAAGAAA GTTGTTTTC AGGAATTTAC TGATGGCTCC TTTACTCAGC CCTTATACCG
6001 TGGAGAACTA ATGAACATT TGGGACTCCT GGGGCCATAT ATAAGAGCAG AAGTTGAAGA
6061 TAATATCATG ATAACTTTCA GAAATCAGGC CTCTCGTCCC TATTCTTCT ATTCTAGCCT
6121 TATTCTTTAT GAGGAAGATC AGAGGCAAGG AGCAGAACCT AGAAAAAACT TTGTCAAGCC
6181 TAATGAAACC AAAACTTACT TTTGGAAAGT GCAACATCAT ATGGCACCCA CTAAAGATGA
6241 GTTTGACTGC AAAGCCTGGG CTTATTTCTC TGATGTTGAC CTGGAAAAAG ATGTGCACTC
6301 AGGCCTGATT GGACCCCTTC TGGTCTGCCA CACTAACACA CTGAACCTG CTCATGGGAG
6361 ACAAGTGACA GTACAGGAAT TTGCTCTGTT TTTACCATC TTTGATGAGA CCAAAAGCTG
6421 GTACTTCACT GAAAATATGG AAAGAACTG CAGGGCTCCC TGCAATATCC AGATGGAAGA
6481 TCCCACTTTT AAAGAGAATT ATCGCTTCCA TGCAATCAAT GGCTACATAA TGGATACACT
6541 ACCTGGCTTA GTAATGGCTC AGGATCAAAG GATTGATGG TATCTGCTCA GCATGGGCAG
6601 CAATGAAAAC ATCCATTCTA TTCATTTTCA TGGACATGTG TTCCTGTAC GAAAAAAGA
6661 GGAGTATAAA ATGGCACTGT ACAATCTCTA TCCAGGTGTT TTTGAGACAG TGGAAATGTT
6721 ACCATCCAAA GCTGGAATTT GGCGGGTGGA ATGCCTTATT GGCGAGCATC TACATGCTGG
6781 GATGAGCACA CTTTTTCTGG TGTACAGCAA TAAGTGTCAG ACTCCCTGG GAATGGCTTC
6841 TGGACACATT AGAATTTTC AGATTACAGC TTCAGGACAA TATGGACAGT GGGCCCCAAA
6901 GCTGGCCAGA CTTTCTTATT CCGGATCAAT CAATGCCTGG AGCACCAGG AGCCCTTTTC
6961 TTGGATCAAG GTGGATCTGT TGGCACCAAT GATTATTAC GGCATCAAGA CCCAGGGTGC
7021 CCGTCAGAAG TTCTCCAGCC TCTACATCTC TCAGTTTATC ATCATGTATA GTCTTGATGG
7081 GAAGAAGTGG CAGACTTATC GAGGAAATTC CACTGGAACC TTAATGGTCT TCTTTGGCAA
7141 TGTGGATTCA TCTGGGATAA AACACAATAT TTTTAACCTT CCAATTATTG CTCGATACAT
7201 CCGTTTGCAC CCAACTCATT ATAGCATTCG CAGCACTCTT CGCATGGAGT TGATGGGCTG
7261 TGATTTAAAT AGTTGCAGCA TGCCATTGGG AATGGAGAGT AAAGCAATAT CAGATGCACA
7321 GATTACTGCT TCATCTACT TTACCAATAT GTTTGCCACC TGGTCTCCTT CAAAAGCTCG
7381 ACTTCACCTC CAAGGAGGA GTAATGCCTG GAGACCTCAG GTGAATAATC CAAAAGAGTG
7441 GCTGCAAGTG GACTTCCAGA AGACAATGAA AGTCACAGGA GTAACACTC AGGGAGTAAA
7501 ATCTCTGCTT ACCAGCATGT ATGTGAAGGA GTTCTCATC TCCAGCAGTC AAGATGGCCA
7561 TCAGTGGACT CTCTTTTTC AGAATGGCAA AGTAAAGGTT TTTCAAGGAA ATCAAGACTC
7621 CTTACACCT GTGGTGAAC CTCTAGACCC ACCGTTACTG ACTCGCTACC TTCGAATTCA
7681 CCCCAGAGT TGGGTGCACC AGATTGCCCT GAGGATGGAG GTTCTGGGCT GCGAGGCACA
7741 GGACCTCTAC

```

[0207]

[0208] * 밀줄친 핵산은 시그널 펩타이드를 암호화한다.

[0209] FVIII 폴리펩타이드는 전장의 FVIII, N-말단에서 Met가 빠진 완전할 길이의 FVIII, 성숙한 FVIII(시그널 서열 빠짐), N-말단에서 추가의 Met를 지닌 성숙한 FVIII, 및/또는 B 도메인의 완전한 또는 부분 결실이 있는 FVIII를 포함한다. 특징의 구현예에서, FVIII 변이체는, 부분적인 또는 완전한 결실에 상관없이, B 도메인 결실을 포함한다.

[0210] 사람 FVIII 유전자는 포유동물 세포내에서 분리되어 발현된다[참조: Toole, J. J., 등, *Nature* 312:342-347 (1984); Gitschier, J., 등, *Nature* 312:326-330 (1984); Wood, W. I., 등, *Nature* 312:330-337 (1984); Vehar, G. A., 등, *Nature* 312:337-342 (1984); WO 87/04187; WO 88/08035; WO 88/03558; 및 특허 제 4,757,006호]. FVIII 아미노산 서열은 미국 특허 제4,965,199호에 나타낸 바와 같이 cDNA로부터 유추되었다. 또한, 부분적으로 또는 완전한 B-도메인이 결실된 FVIII는 미국 특허 제 4,994,371호 및 제 4,868,112호에 나타낸다. 일부 구현예에서, 사람 FVIII B-도메인은 미국 특허 제5,004,803호에 나타낸 바와 같이 사람 인자 V B-도메인으로 대체된다. 사람 인자 VIII를 암호화하는 cDNA 서열 및 아미노산 서열은 미국 특허 제7,211,559호의 서열 번호 1 및 2에 각각 나타나 있다.

[0211] 돼지 FVIII 서열은 문헌[참조: Toole, J. J., 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:5939-5942 (1986)]에 발표되어 있다. 또한, 돼지 cDNA 라이브러리로부터의 FVIII 서열의 PCR 증폭으로부터 수득된 완전한 돼지 cDNA는 문헌[참조: Healey, J. F., 등, *Blood* 88:4209-4214 (1996)]에 보고되어 있다. 모든 도메인, 모든 소단위, 및 특이적인 아미노산 서열을 지닌 하이브리드 사람/돼지 FVIII은 미국 특허 제5,364,771호(Lollar 및 Runge), 및 제WO 93/20093호에 개제되어 있다. 보다 최근에, 돼지 FVIII의 A1 및 A2 도메인의 뉴클레오타이드 및 상응하는 아미

노산 서열 및 상응하는 사람 도메인이 치환된 돼지 A1 및/또는 A2 도메인과의 키메라 FVIII는 제WO 94/11503호에 보고되었다. 미국 특허 제5,859,204호(Lollar, J. S.)는 또한 돼지 cDNA 및 유추된 아미노산 서열을 개재하고 있다. 미국 특허 제6,458,563호는 B-도메인-결실된 돼지 FVIII를 개재하고 있다.

[0212] 미국 특허 제5,859,204호(Lollar, J. S.)는 감소된 항원성 및 감소된 면역반응성을 지닌 FVIII의 기능성 돌연변이체를 보고하고 있다. 미국 특허 제6,376,463호(Lollar, J. S.)는 또한 감소된 면역반응성을 지닌 FVIII의 돌연변이체를 보고하고 있다. 미국 특허원 공보 제2005/0100990호(Saenko 등)는 FVIII의 A2 도메인내 기능성 돌연변이를 보고하고 있다.

[0213] 하나의 구현예에서, FVIII 단백질(또는 키메라 단백질의 FVIII 부위)은 서열 번호 18의 1 내지 1438번 아미노산의 FVIII 아미노산 서열 또는 서열 번호 16의 1 내지 2332번 아미노산(시그널 펩타이드 없음)에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하며, 여기서 FVIII는 응고 활성을 가지는데, 예를 들면, 보조인자로서 인자 IX를 활성화시켜 인자 X를 활성화된 인자 X로 전환시킨다. FVIII(또는 키메라 단백질의 FVIII 부위)는 서열 번호 18의 1 내지 1438번 아미노산의 FVIII 아미노산 서열 또는 서열 번호 16의 1 내지 2332번 아미노산(시그널 펩타이드 없음)과 동일할 수 있다. FVIII 단백질은 또한 시그널 펩타이드를 포함할 수 있다.

[0214] 본원에 사용된 것으로서 "FVIII의 B-도메인"은 내부 아미노산 서열 동질성 및 단백질분해적 절단 부위, 예를 들면, 전장의 사람 FVIII의 잔기 Ser741 내지 Arg1648번에 의해 정의된 당해 분야에 공지된 B-도메인과 동일하다. 다른 사람 FVIII 도메인은 다음의 아미노산 잔기에 의해 정의된다: A1, 잔기 Ala1 내지 Arg372; A2, 잔기 Ser373 내지 Arg740; A3, 잔기 Ser1690 내지 Asn2019; C1, 잔기 Lys2020 내지 Asn2172; C2, 잔기 Ser2173 내지 Tyr2332. A3-C1-C2 서열은 잔기 Ser1690 내지 Tyr2332를 포함한다. 나머지 서열, 잔기 Glu1649 내지 Arg1689는 일반적으로 a3 산성 영역으로 언급된다. 돼지, 마우스 및 개 FVIII에 대한 B-도메인을 포함하는, 모든 도메인에 대한 경계부의 위치는 당해 분야에 또한 공지되어 있다. 하나의 구현예에서, FVIII의 B 도메인은 결실되어 있다 ("B-도메인-결실된 인자 VIII" 또는 "BDD FVIII"). BDD FVIII의 예는 REFACTO[®] (재조합체 BDD FVIII)이며, 이는 표 5의 서열의 인자 VIII 부위와 동일한 서열을 갖는다. (BDD FVIII 중쇄는 이중 밑줄쳐져 있고; B 도메인은 이탤릭체이며; BDD FVIII 경쇄는 평서문이다).

[0215] 표 5. BDD FVIII(서열 번호 18)

ATRRYYLGAVELSDWYDMQSDLGELPVDARFPVRPKSFPPNTSVVYKKTLEFVEFTDHLFNIAKPRPPWMLL
GPTIQAEVYDVTVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYDDQTSOREKEDDKVFPFGSHTYVWQVLKEN
GPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTTLHKFILLFAVDEGKSWHSETKNSL
MODRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRASLEI
SPITFLTAQTLLMDLGGFLLFCHISSHHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVR
DDNNSPSEFIQIRSAVKHKPKTWVHYIAAEEDWDYAPLVLPAPDDRSYKSOYLNNGPQIRGRKYKKVRFMAYT
DETEKTREAIQHESGILGPLLYGEVGDTLIIIFKNOASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPIL
PGEIFKYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFEVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQRGNQIMSDKRNVL
SVFDENRSWYLTENIQRFLEPNPAGVOLEDPEFOASNIMHSINGYVFDLSLSVCLHEVAYWYILSIGACTDF
LSVFFSGYTFKHKMYEDTLTLFPFSGETVFMSENPGLWILGCHNSDFNRGMTALLKVSSCDKNTGDIYE
DSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPVVKRHRQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEENQ
SPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVPPQFKKVVVFQEFDTGDSFTQPLYRGELNEHLGL
LGPYIRAEVEDNIMVTFNRQASRPYSFYSSLISYEEQRRQGAEPKRFVKNPNETKTYFWKVQHMAPTKDEF
DCKAWAYFSDVDLEKDVHSGSLIGPLLVCHTNTLNPAGHRQVTVQEFALFFTI FDETKSWYFTENMERNCRAP
CNIQMEDPTFKENYRFHAIINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMA
LYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFLVYSNKCQTPLGMA SGHIRDFQITASGQYGQW
APKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGN
STGTLMVFFGNVDSSGIKHNIFNPPIIARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQI

[0216] TASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTSMYVKFLI
[0217] SSSQDGHQWTLFFQNGKVKVFQGNQDSFTPVVNSLDPELLTRYLRIHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY

[0218] 표 6. BDD FVIII를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(서열 번호 19)*

	A TGCAATAGA GCTCTCCACC TGCTTCTTTC					
661						
721	TGTGCCTTTT	GCGATTCTGC	TTTAGTGCCA	CCAGAAGATA	CTACCTGGGT	GCAGTGGAAC
781	TGTCATGGGA	CTATATGCAA	AGTGATCTCG	GTGAGCTGCC	TGTGGACGCA	AGATTTCTCT
841	CTAGAGTGCC	AAAATCTTTT	CCATTCAACA	CCTCAGTCTG	GTACAAAAAG	ACTCTGTTTG
901	TAGAATTCAC	GGATCACCTT	TTCAACATCG	CTAAGCCAAG	GCCACCCTGG	ATGGGTCTGC
961	TAGGTCCTAC	CATCCAGGCT	GAGGTTTATG	ATACAGTGGT	CATTACACTT	AAGAACATGG
1021	CTTCCCATCC	TGTCAGTCTT	CATGCTGTTG	GTGTATCCTA	CTGGAAAGCT	TCTGAGGGAG
1081	CTGAATATGA	TGATCAGACC	AGTCAAAGGG	AGAAAGAAGA	TGATAAAGTC	TTCCCTGGTG
1141	GAAGCCATAC	ATATGTCTGG	CAGGTCCTGA	AAGAGAATGG	TCCAATGGCC	TCTGACCCAC
1201	TGTGCCTTAC	CTACTCATAT	CTTTCTCATG	TGGACCTGGT	AAAAGACTTG	AATTCAGGCC
1261	TCATTGGAGC	CCTACTAGTA	TGTAGAGAAG	GGAGTCTGGC	CAAGGAAAAG	ACACAGACCT
1321	TGCACAAATT	TATACTACTT	TTTGCTGTAT	TTGATGAAGG	GAAAAGTTGG	CAGTCAGAAA
1381	CAAAGAACTC	CTTGATGCAG	GATAGGGATG	CTGCATCTGC	TCGGGCCTGG	CCTAAAATGC
1441	ACACAGTCAA	TGGTTATGTA	AACAGGTCTC	TGCCAGGTCT	GATTGGATGC	CACAGGAAAT
1501	CAGTCTATTG	GCATGTGATT	GGAATGGGCA	CCACTCCTGA	AGTGCCTCA	ATATTCTCTG
1561	AAGGTCACAC	ATTTCTTGTG	AGGAACCATC	GCCAGGCGTC	CTTGGAAATC	TCGCCAATAA
1621	CTTTCTCTTAC	TGCTCAAACA	CTCTTGATGG	ACCTTGACAC	GTTTCTACTG	TTTTGTCTATA
1681	TCTCTTCCCA	CCAACATGAT	GGCATGGAAG	CTTATGTCAA	AGTAGACAGC	TGTCCAGAGG
1741	AACCCCAACT	ACGAATGAAA	AATAATGAAG	AAGCGGAAGA	CTATGATGAT	GATCTTACTG
1801	ATTCTGAAAT	GGATGTGGTC	AGGTTTGATG	ATGACAACCT	TCCTTCTTTT	ATCCAAATTC
1861	GCTCAGTTGC	CAAGAAGCAT	CCTAAAACCT	GGGTACATTA	CATTGCTGCT	GAGAGGAGG
1921	ACTGGGACTA	TGCTCCCTTA	GTCTCGCCCC	CCGATGACAG	AAGTTATAAA	AGTCAATATT
1981	TGAACAAATG	CCCTCAGCGG	ATTGCTAGGA	AGTACAAAAA	AGTCCGATTT	ATGGCATACA
2041	CAGATGAAAC	CTTTAAGACT	CGTGAAGCTA	TTCAGCATGA	ATCAGGAATC	TTGGGACCTT
2101	TACTTTATAG	GGAAGTTGGA	GACACACTGT	TGATTATATT	TAAGAATCAA	GCAAGCAGAC
2161	CATATAACAT	CTACCCTCAC	GGAATCACTG	ATGTCCGTCC	TTTGTATTCA	AGGAGATTAC
2221	CAAAGGTGT	AAAACATTTG	AAGGATTTTC	CAATTCTGCC	AGGAGAAATA	TTCAAATATA
2281	AATGGACAGT	GACTGTAGAA	GATGGGCCAA	CTAAATCAGA	TCCTCGGTGC	CTGACCCGCT
2341	ATTACTCTAG	TTTCGTTAAT	ATGGAGAGAG	ATCTAGCTTC	AGGACTCATT	GGCCCTCTCC
2401	TCATCTGCTA	CAAAGAATCT	GATAGTCAAA	GAGGAAACCA	GATAATGTCA	GACAAGAGGA
2461	ATGTATCTCT	GTTTCTCTGA	TTTGATGAGA	ACCGAAGCTG	GTACCTCACA	GAGAATATAC
2521	AACGCTTTCT	CCCCAATCCX	GCTGGAGTGC	AGCTTGAGGA	TCCAGAGTTC	CAAGCCTCCA
2581	ACATCATGCA	CAGCATCAAT	GGCTATGTTT	TTGATAGTTT	GCAGTTGTCA	GTTTGTGTTG
2641	ATGAGGTGGC	ATACTGGTAC	ATTCTAAGCA	TTGGAGCACA	GACTGACTTC	CTTCTGTCTC
2701	TCTTCTCTCG	ATATACCTTC	AAACACAAAA	TGGTCTATGA	AGACACACTC	ACCCTATTCC
2761	CATTCTCAGG	AGAAACTGTC	TTCATGTCGA	TGGAAAACCC	AGGTCTATGG	ATTCTGGGGT
2821	GCCACAACCT	AGACTTTCGG	AACAGAGGCA	TGACCGCCTT	ACTGAAGGTT	TCTAGTTGTG
2881	ACAAGAACAC	TGGTGATTAT	TACGAGGACA	GTTATGAAGA	TATTTTCAGC	TACTTGCTGA
2941	GTAAAAACAA	TGCCATTGAA	CCAAGAAGCT	TCTCTCAAAA	CCCACCAGTC	TTGAAACGCC
3001	ATCAACGGGA	AATAACTCGT	ACTACTCTTC	AGTCAGATCA	AGAGGAAATT	GACTATGATG
3061	ATACCATATC	AGTTGAAATG	AAGAAGGAAG	ATTTTGACAT	TTATGATGAG	GATGAAAATC
3121	AGAGCCCCCG	CAGCTTTTCA	AAGAAAACAC	GACACTATTT	TATTGCTGCA	GTGGAGAGGC
3181	TCTGGGATTA	TGGGATGAGT	AGCTCCCCAC	ATGTTCTAAG	AAACAGGGCT	CAGAGTGGCA
3241	GTGTCCCTCA	GTTCAAGAAA	GTTGTTTTC	AGGAATTTAC	TGATGGCTCC	TTTACTCAGC
3301	CCTTATACCG	TGGAGAACTA	AATGAACATT	TGGGACTCCT	GGGGCCATAT	ATAAGAGCAG
3361	AAGTTGAAGA	TAATATCATG	GTAACCTTCA	GAAATCAGGC	CTCTCGTCCC	TATTCCTTCT
3421	ATTCTAGCCT	TATTTCTTAT	GAGGAAGATC	AGAGGCAAGG	AGCAGAACCT	AGAAAAAACT
3481	TTGTCAAGCC	TAATGAAACC	AAAACCTTACT	TTTGAAAGT	GCAACATCAT	ATGGCACCCA
3541	CTAAAGATGA	GTTTGACTGC	AAAGCCTGGG	CTTATTTCTC	TGATGTTGAC	CTGGAAAAAG
3601	ATGTGCACTC	AGGCCTGATT	GGACCCCTTC	TGGTCTGCCA	CACATAACACA	CTGAACCCCTG
3661	CTCATGGGAG	ACAAGTGACA	GTACAGGAAT	TTGCTCTGTT	TTTCACCATC	TTTGATGAGA
3721	CCAAAAGCTG	GTACTTCACT	GAAAATATGG	AAAGAAACTG	CAGGGCTCCC	TGCAATATCC

[0219]


```

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

```

[0220]

[0221]

* 밑줄친 핵산은 시그널 펩타이드를 암호화한다.

[0222]

"B-도메인 기원한 FVIII"은 완전하거나 부분적인 결실을 지닐 수 있으며 이는 미국 특허 제 6,316,226호, 제 6,346,513호, 제7,041,635호, 제5,789,203호, 제6,060,447호, 제5,595,886호, 제6,228,620호, 제5,972,885호, 제6,048,720호, 제5,543,502호, 제5,610,278호, 제5,171,844호, 제5,112,950호, 제4,868,112호, 및 제 6,458,563호에 개재되어 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 B-도메인-결실된 FVIII 서열은 미국 특허 제 6,316,226호(또는 미국 특허 제6,346,513호)의 컬럼 4, 4행 내지 컬럼 5, 28행 및 실시예 1 내지 5에 개재되어 있다. 다른 구현예에서, B-도메인 결실된 인자 VIII은 S743/Q1638 B-도메인 결실된 인자 VIII(SQ BDD FVIII) (예를 들면, 744번 아미노산 내지 1637번 아미노산으로부터의 결실을 지닌 인자 VIII, 예를 들면, 서열 번호 16의 1 내지 743번 아미노산 및 1638번 내지 2332번 아미노산을 지닌 인자 VIII, 즉, 서열 번호 18)이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 B-도메인-결실된 FVIII은 미국 특허 제5,789,203호(또는 제US 6,060,447호, 제US 5,595,886호, 및 제US 6,228,620호)의 컬럼 2, 26 내지 51행 및 실시예 5 내지 8에 개재된 결실을 갖는다. 일부 구현예에서, B-도메인 결실된 인자 VIII은 미국 특허 제5,972,885호의 컬럼 1, 25행 내지 컬럼 2, 40행; 미국 특허 제6,048,720호의 컬럼 6, 1 내지 22행 및 실시예 1; 미국 특허 제5,543,502호의 컬럼 2, 17 내지 46행; 미국 특허 제5,171,844호의 컬럼 4, 22행 내지 컬럼 5, 36행; 미국 특허 제5,112,950호의 컬럼 2, 55 내지 68행, 도 2, 및 실시예 1; 미국 특허 제4,868,112호의 컬럼 2, 2행 내지 컬럼 19, 21행 및 표 2; 미국 특허 제7,041,635호의 컬럼 2, 1행 내지 컬럼 3, 19행, 컬럼 3, 40행 내지 컬럼 4, 67행, 컬럼 7, 43행 내지 컬럼 8, 26행, 및 컬럼 11, 5행 내지 컬럼 13, 39행; 또는 미국 특허 제6,458,563호의 컬럼 4, 25 내지 53행에 기술된 결실을 갖는다.

[0223]

일부 구현예에서, B-도메인 결실된 FVIII은 대부분의 B 도메인의 결실을 갖지만, 제WO 91/09122호에 개재된 바와 같이, 주요 해독 생성물의 2개의 폴리펩타이드쇄내로의 생체내 단백질분해 프로세싱에 필수적인 B 도메인의 아미노-말단 서열을 여전히 함유한다. 일부 구현예에서, B-도메인-결실된 FVIII은 747 내지 1638번 아미노산의 결실, 즉, B 도메인의 실질적으로 완전한 결실로 작제된다. [참조: Hoebe R.C., 등 *J. Biol. Chem.* 265 (13): 7318-7323 (1990)]. B-도메인-결실된 인자 VIII은 FVIII의 771 내지 1666번 아미노산 또는 868 내지 1562번 아미노산의 결실을 함유할 수 있다. [참조: Meulien P., 등 *Protein Eng.* 2(4): 301-6 (1988)]. 본 발명의 일부인 추가의 B 도메인 결실은 982 내지 1562번 또는 760 내지 1639번 아미노산의 결실[참조: Toole 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1986) 83, 5939-5942], 797 내지 1562번 아미노산의 결실[참조: Eaton, 등 *Biochemistry* (1986) 25:8343-8347], 741 내지 1646번 아미노산의 결실[참조: Kaufman (PCT 공개된 특허원 제 WO 87/04187호)], 747 내지 1560번 아미노산[참조: Sarver, 등, *DNA* (1987) 6:553-564], 741 내지 1648번 아미노산[참조: Pasek (PCT 출원 제88/00831호)], 또는 816 내지 1598번 또는 741 내지 1648번[참조: Lagner (Behring Inst. Mitt. (1988) No 82:16-25, EP 295597)]의 결실을 포함한다. 다른 구현예에서, BDD FVIII은 하나 이상의 N-연결된 글리코시드화 부위를 보유하는 B-도메인의 단편, 예를 들면, 전장의 FVIII 서열의 아미노산 서열에 상응하는 757, 784, 828, 900, 963, 또는 임의로 943번 잔기를 함유하는 FVIII 폴리펩타이드를 포함한다. B-도메인 단편의 예는 문헌[참조: Miao, H.Z., 등, *Blood* 103(a): 3412-3419 (2004), Kasuda, A,

등, *J. Thromb. Haemost.* 6: 1352-1359 (2008), 및 Pipe, S.W., 등, *J. Thromb. Haemost.* 9: 2235-2242 (2011)]에 개재된 바와 같은 B-도메인의 226번 아미노산 또는 163번 아미노산 (즉, B 도메인의 첫번째 226개 아미노산 또는 163개 아미노산은 보유되어 있다)을 포함한다. 일부 구현예에서, 부분 B-도메인을 지닌 FVIII은 FVIII198이다. FVIII198은 일본쇄 FVIIIIFc 분자-226N6을 함유하는 부분 B-도메인이다. 226은 FVIII B-도메인의 N-말단 226개 아미노산을 나타내고, N6은 B-도메인에서 N-글리코시드화 부위를 나타낸다. 여전히 다른 구현예에서, BDD FVIII은 309번 잔기에서 점 돌연변이(Phe로부터 Ser으로)를 추가로 포함함으로써 BDD FVIII 단백질의 발현을 증진시킨다. 참조: Miao, H.Z., 등, *Blood* 103(a): 3412-3419 (2004). 여전히 다른 구현예에서, BDD FVIII은 B-도메인의 부위를 함유하지만, 하나 이상의 푸린 절단부위 (예를 들면, Arg1313 및 Arg 1648)를 함유하지 않는 FVIII 폴리펩타이드를 포함한다. [참조: Pipe, S.W., 등, *J. Thromb. Haemost.* 9: 2235-2242 (2011)]. 앞서의 결실 각각은 어떠한 FVIII 서열에서도 이루어질 수 있다.

[0224] 본 발명에 유용한 FVIII 단백질은 FVIII 응고 활성화에 영향을 미치지 않는, 하나 이상의 추가의 이종 서열 또는 이에 화학적 또는 물리적 변형을 지닌 FVIII을 포함할 수 있다. 이러한 이종 서열 또는 화학적 또는 물리적 변형은 FVIII 단백질의 C-말단 또는 N-말단에 융합되거나 FVIII 단백질의 2개의 아미노산 잔기 사이에 삽입될 수 있다. FVIII 단백질내 이러한 삽입은 FVIII 응고 활성화 또는 FVIII 기능에 영향을 미치지 않는다. 하나의 구현예에서, 삽입은 FVIII 단백질의 약력학적 특성(예를 들면, 반감기)를 개선시킨다. 다른 구현예에서, 삽입은 2, 3, 4, 5, 또는 6개 이상의 부위일 수 있다.

[0225] 하나의 구현예에서, FVIII은 1648번 아미노산(전장의 인자 VIII 또는 서열 번호 16), 754번 아미노산 754(S743/Q1638 B-도메인 결실된 인자 VIII 또는 서열 번호 16)에서 아르기닌, 또는 상응하는 아르기닌 잔기(다른 변이체에서) 이후에 우측으로 절단됨으로써, 중쇄 및 경쇄를 생성한다. 다른 구현예에서, FVIII은 금속 이온-매개된 비-공유결합성 결합에 의해 연결되거나 연합된, 중쇄 및 경쇄를 포함한다.

[0226] 다른 구현예에서, FVIII은 1648번 아미노산(전장의 FVIII 또는 서열 번호 16), 754번 아미노산 754(S743/Q1638 B-도메인 결실된 인자 FVIII 또는 서열 번호 18)에서 아르기닌, 또는 상응하는 아르기닌 잔기(다른 변이체에서) 이후에 우측으로 절단되지 않은 일본쇄 FVIII이다. 일본쇄 FVIII은 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, 아미노산 치환은 1648번 잔기, 1645번 잔기, 또는 전장의 성숙한 인자 VIII 폴리펩타이드(서열 번호 16) 둘 다 또는 754번 잔기, 751번 잔기, 또는 SQ BDD 인자 VIII(서열 번호 18) 둘 다에 상응하는 잔기에 있다. 아미노산 치환은 아르기닌 이외의 어떠한 아미노산, 예를 들면, 이소류이신, 류이신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판, 발린, 알라닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 프롤린, 셀레노시스테인, 세린, 타이로신, 히스티딘, 오르니틴, 피롤리신, 또는 타우린일 수 있다.

[0227] FVIII은 트롬빈으로 절단된 후 FVIIIa로서 활성화되어, 활성화된 인자 IX(FIXa)에 대한 보조인자로서 추가로 제공될 수 있다. 그리고 활성화된 FIX는 활성화된 FVIII와 함께 Xase 복합체를 형성하고 인자 X를 활성화된 인자 X(FIXa)로 전환시킨다. 활성화를 위해, FVIII는 372, 740, 및 1689번(B-도메인 결실된 FVIII 서열에서 372, 740, 및 795번 아미노산에 상응) 아미노산에서 3개의 아르기닌 잔기 이후에 트롬빈에 의해 절단되며, 당해 절단은 50kDa A1, 43kDa A2, 및 73kDa A3-C1-C2 쇄를 갖는 FVIIIa를 생성한다. 하나의 구현예에서, 본 발명에 유용한 FVIII 단백질은 비-활성 FVIII이다. 다른 구현예에서, FVIII 단백질은 활성화된 FVIII이다.

[0228] VWF 단백질에 연결되거나 연합된 FVIII 폴리펩타이드는 서열 번호 16 또는 서열 번호 18에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하며, 여기서 당해 서열은 FVIII 응고 활성을 지니는데, 예를 들면, 보조인자로서 인자 IX를 활성화시켜 인자 X를 활성화된 인자 X(FIXa)로 전환시킨다.

[0229] 일부 구현예에서, FVIII 단백질은 FVIII 단백질의 C-말단 또는 N-말단에 융합된 또는 FVIII 단백질내 2개의 인접한 아미노산 사이에 삽입된 하나 이상의 이종 잔기를 추가로 포함한다. 다른 구현예에서, 이종 잔기는 적어도 약 50개 아미노산, 적어도 약 100개 아미노산, 적어도 약 150개 아미노산, 적어도 약 200개 아미노산, 적어도 약 250개 아미노산, 적어도 약 300개 아미노산, 적어도 약 350개 아미노산, 적어도 약 400개 아미노산, 적어도 약 450개 아미노산, 적어도 약 500개 아미노산, 적어도 약 550개 아미노산, 적어도 약 600개 아미노산, 적어도 약 650개 아미노산, 적어도 약 700개 아미노산, 적어도 약 750개 아미노산, 적어도 약 800개 아미노산, 적어도 약 850개 아미노산, 적어도 약 900개 아미노산, 적어도 약 950개 아미노산, 또는 적어도 약 1000개 아미노산의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 단백질의 반감기는 야생형 FVIII보다 적어도 약 1.5배, 적어도 약 2배, 적어도 약 2.5배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배 더 길게 연장된다.

- [0230] 다른 예시적인 FVIII 변이체는 또한 2013년 1월 17일자로 발표된 미국 공보 제US2013/0017997호, 2013년 8월 22일자로 발표된 국제 공보 제WO 2013/122617호, 또는 2014년 1월 16일자로 발표된 국제 공보 제WO 2014/011819호, 또는 국제 공보 제WO2013123457 A1호, 또는 국제 출원 제PCT/US2013/049989호에 개재되어 있다.
- [0231] **III. 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 및 제조 방법**
- [0232] 또한 본원에서는 본원에 기술된 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. VWF 단백질이 VWF 링커를 통해 FVIII 단백질 및 이중 잔기 및 단일 폴리펩타이드 쇠로서 키메라 단백질내 XTEN 서열에 연결되는 경우, 본 발명은 단일의 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 단일의 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 키메라 단백질이 제1 및 제2의 폴리펩타이드 쇠들을 포함하고, 상기 제1 폴리펩타이드 쇠는 VWF 링커를 통해 VWF 단백질, XTEN 서열, 및 제1의 이중 잔기(예를 들면, 제1의 Fc 영역)를 포함하며, 상기 제2의 폴리펩타이드 쇠는 FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기(예를 들면 제2의 Fc 영역)를 포함하는 경우, 폴리뉴클레오타이드는 제1의 뉴클레오타이드 영역 및 제2의 뉴클레오타이드 영역을 포함할 수 있다. 하나의 측면에서, 제1의 뉴클레오타이드 영역 및 제2의 뉴클레오타이드 영역은 동일한 폴리뉴클레오타이드 상에 있다. 다른 측면에서, 제1의 뉴클레오타이드 영역 및 제2의 뉴클레오타이드 영역은 2개의 상이한 폴리뉴클레오타이드(예를 들면, 상이한 벡터) 상에 있다. 특정의 구현예에서, 본 발명은 제1의 뉴클레오타이드 쇠 및 제2의 뉴클레오타이드 쇠를 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 세트에 관한 것이며, 여기서 상기 제1의 뉴클레오타이드 쇠는 VWF 단백질, XTEN 서열, VWF 링커, 및 키메라 단백질의 이중 잔기를 암호화하고 제2의 뉴클레오타이드 쇠는 FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기를 암호화한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 제1의 뉴클레오타이드 쇠 및 제2의 뉴클레오타이드 쇠의 세트에 관한 것이며, 여기서, 상기 제1의 뉴클레오타이드 쇠는 VWF 단백질, 및 키메라 단백질의 이중 잔기를 암호화하고 제2의 뉴클레오타이드 쇠는 FVIII 링커를 통해 제2의 이중 잔기에 융합된 FVIII 단백질을 암호화하고, 여기서 적어도 하나의 XTEN 서열은 키메라 단백질에 융합된다. 다른 구현예에서, 본 발명은 제1의 뉴클레오타이드 쇠 및 제2의 뉴클레오타이드 쇠를 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 세트에 관한 것이며, 여기서 제1의 뉴클레오타이드 쇠는 VWF 단백질, VWF 링커, 및 키메라 단백질이 이중 잔기를 암호화하고, 제2의 뉴클레오타이드 쇠는 FVIII 단백질, FVIII 링커, 및 제2의 이중 잔기를 암호화하며, 여기서 적어도 하나의 XTEN 서열은 키메라 단백질에 융합된다.
- [0233] 다른 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드의 세트는 단백질 전환효소(protein convertase)를 암호화하는 추가의 뉴클레오타이드 쇠(예를 들면, 키메라 폴리펩타이드가 단일의 폴리뉴클레오타이드 쇠에 의해 암호화된 경우 제2의 뉴클레오타이드 쇠 또는 키메라 단백질이 제2의 폴리뉴클레오타이드 쇠에 의해 암호화된 경우 제3의 뉴클레오타이드 쇠)를 추가로 포함한다. 단백질 전환효소는 전구단백질 전환효소 서브틸리신/켁신(kexin) 제5형(PCSK5 또는 PC5), 전구단백질 전환효소 서브틸리신/켁신 제7형(PCSK7 또는 PC5), 효모 Kex 2, 전구단백질 전환효소 서브틸리신/켁신 제3형(PACE 또는 PCSK3), 또는 2개 이상의 이의 조합으로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 단백질 전환효소는 PACE, PC5, 또는 PC7이다. 구체적인 구현예에서, 단백질 전환효소는 PC5 또는 PC7이다. 본원에 참조로 포함된 국제 출원 제PCT/US2011/043568호를 참조한다. 다른 구현예에서, 단백질 전환효소는 PACE/푸린이다.
- [0234] 특정의 구현예에서, 본 발명은 VWF 링커를 통해 제1의 이중 잔기에 융합된 VWF의 D' 도메인 및 D3 도메인을 포함하는 VWF 단백질을 암호화하는 제1의 뉴클레오타이드 서열, FVIII 단백질 및 제2의 이중 잔기를 암호화하는 제2의 뉴클레오타이드 서열, 및 VWF의 D1 도메인 및 D2 도메인을 암호화하는 제3의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 세트를 포함하며 여기서 XTEN 서열은 제1쇄 또는 제2 쇠 내에 존재한다. 당해 구현예에서, D1 도메인 및 D2 도메인은 별도로 발현되어(VWF 단백질의 D'D3 도메인에 연결되지 않는다) 적절한 이황화물 결합 형성 및 D'D3 도메인의 폴딩이 이루어지도록 한다. D1D2 도메인 발현은 시스 또는 트랜스일 수 있다.
- [0235] 본원에 사용된 것으로서, 발현 벡터는 삽입된 암호화 서열의 전사 및 해독에 필요한 요소를 함유하는 어떠한 핵산 작제물도 말하거나, RNA 바이러스 벡터의 경우에, 적절한 숙주 세포 내로 도입되는 경우, 복제 및 해독에 필수적인 성분을 말한다. 발현 벡터는 플라스미드, 파아지미드, 바이러스, 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.
- [0236] 본 발명의 발현 벡터는 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함할 것이다.
- [0237] 하나의 구현예에서, 키메라 분자에 대한 암호화 서열은 발현 조절 서열에 작동적으로 연결되어 있다. 본원에 사용된 것으로서, 2개의 핵산 서열은, 각각의 성분 핵산 서열이 이의 기능성을 보유하도록 허용하는 방식으로 공유 연결되는 경우 작동적으로 연결되어 있다. 암호화 서열 및 유전자 발현 조절 서열은, 이들이 유전자 발현 조절 서열의 영향 또는 제어하에 암호화 서열의 발현 또는 전사 및/또는 해독이 일어나도록 하는 방식으로 공유결합으로 연결되어 있는 경우 작동적으로 연결된 것으로 일컬어진다. 2개의 DNA 서열은, 5' 유전자 발현 서열내

프로모터의 도입이 암호화 서열의 전사를 생성하고 2개의 서열 사이의 연결의 특성이 (1) 골격-쉬프트(frame-shift) 돌연변이의 도입을 생성하지 않거나, (2) 프로모터 영역의 능력을 방해하여 암호화 서열의 전사를 지지하지 않거나, (3) 상응하는 RNA 전사체가 단백질로 해독되도록 하는 능력을 방해하지 않는 경우, 작동적으로 연결된 것으로 일컬어진다. 따라서, 유전자 발현 서열은, 당해 유전자 발현 서열이 이러한 암호화 핵산 서열의 전사에 영향을 미쳐 수득되는 전사체가 바람직한 단백질 또는 폴리펩타이드로 해독되는 경우 암호화 핵산 서열에 작동적으로 연결될 수 있다.

[0238] 본원에 사용된 것으로서, 유전자 발현 조절 서열은, 이것이 작동적으로 연결된 암호화 핵산의 효율적인 전사 및 해독을 촉진하는, 프로모터 서열 또는 프로모터-인핸서 조합과 같은 어떠한 조절 뉴클레오타이드 서열이다. 유전자 발현 조절 서열은, 예를 들면, 구성적 또는 유도성 프로모터와 같은 포유동물 또는 바이러스 프로모터일 수 있다. 구성적 포유동물 프로모터는 다음의 유전자에 대한 프로모터를 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 하이폭산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제(HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴 프로모터, 및 다른 구성적 프로모터. 진핵 세포내에서 구성적으로 기능하는 예시적인 바이러스 프로모터는, 예를 들면, 사이토메갈로바이러스(CMV), 시미안 바이러스(예를 들면, SV40), 파필로마 바이러스, 아데노바이러스, 사람 면역결핍성 바이러스(HIV), 로우스 사코마 바이러스(Rous sarcoma virus), 사이토메갈로바이러스, 몰로니 백혈병 바이러스의 긴 말단 반복체(LTR), 및 다른 레트로바이러스, 및 헤르페스 단성 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터를 포함한다. 다른 구성적 프로모터는 당해 분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 본 발명의 유전자 발현서열로서 유용한 프로모터는 또한 유도성 프로모터를 포함한다. 유도성 프로모터는 유도제의 존재하에서 발현된다. 예를 들면, 메탈로티오네인 프로모터는 특정의 금속 이온의 존재하에서 전사 및 해독을 촉진하도록 유도된다. 다른 유도성 프로모터는 당해 분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0239] 일반적으로, 유전자 발현 조절 서열은 필요할 경우, 전사 및 해독 각각의 개시에 포함된 5' 비-전사 및 5' 비-해독 서열, 예를 들면, TATA 박스, 캡핑 서열, CAAT 서열 등을 포함할 것이다. 특히, 이러한 5' 비-전사 서열은 작동적으로 결합된 암호화 핵산의 전사 조절을 위한 프로모터 서열을 포함하는 프로모터 영역을 포함할 것이다. 유전자 발현 서열은 바람직하게는 인핸서 서열 또는 상부 활성인자 서열을 임의로 포함한다.

[0240] 바이러스 벡터는 다음의 바이러스로부터의 핵산 서열을 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 레트로바이러스, 예를 들면, 몰로니 쥐 백혈병 바이러스, 하비 쥐 육종 바이러스(Harvey murine sarcoma virus), 쥐 유방 종양 바이러스, 및 로우스 육종 바이러스; 아데노바이러스, 아데노-관련된 바이러스; SV40-형 바이러스; 폴리오마바이러스; 엡슈타인-바르 바이러스(Epstein-Barr virus); 파필로마 바이러스(papilloma virus); 헤르페스 바이러스(herpes virus); 박시니아 바이러스(vaccinia virus); 폴리오 바이러스(polio virus); 및 레트로바이러스와 같은 RNA 바이러스. 당해 분야에 잘 공지된 다른 바이러스도 용이하게 사용할 수 있다. 특정의 바이러스 벡터는 비-세포변성 진핵세포 바이러스를 기본으로 하며, 여기서 비-필수 유전자는 목적한 유전자로 대체된다. 비-세포변성 바이러스는 레트로바이러스를 포함하며, 이의 생명 주기는 게놈성 바이러스 RNA의 DNA로의 역 전사와 숙주 세포 DNA내로 후속적인 전구바이러스 통합을 포함한다. 레트로바이러스는 사람 유전자 치료요법 시도용으로 입증되어 왔다. 복제-결핍성인(즉, 바람직한 단백질의 합성을 지지할 수 있지만, 감염성 입자의 제조는 불가능한) 레트로바이러스가 가장 유용하다. 이러한 유전적으로 변경된 레트로바이러스 발현 벡터는 생체내에서 유전자의 고-효율성 형질변환에 대해 일반적인 활용을 갖는다. 복제-결핍성 레트로바이러스를 생산하기 위한 표준 프로토콜(외인성 유전 물질의 플라스미드 내로의 혼입, 패키징 세포주의 플라스미드를 사용한 형질감염, 재조합체 레트로바이러스의 패키징 세포주에 의한 생산, 조직 배양 배지로부터 바이러스 입자의 수집, 및 바이러스 입자를 사용한 표적 세포의 감염)은 문헌[참조: Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W.H. Freeman Co., New York (1990) and Murry, E. J., Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991)]에 제공된다.

[0241] 하나의 구현예에서, 바이러스는 아데노-관련 바이러스, 이-본쇄(double-stranded) DNA 바이러스이다. 아데노-관련 바이러스는 복제-결핍성으로 가공될 수 있으며 광범위한 세포형 및 종을 감염시킬 수 있다. 이는 또한 열 및 지질 용매 안정성; 다양한 계통의 세포내에서 고 형질도입 빈도; 조혈 세포의 포함; 및 슈퍼감염(superinfection) 역제의 결여와 같은 장점을 지니므로써 다중 계열의 형질도입을 허용한다. 전하는 바에 따르면, 아데노-관련 바이러스는 부위-특이적인 방식으로 사람 세포 DNA내로 통합됨으로써, 삽입 돌연변이유발의 가능성 및 레트로바이러스 감염의 삽입된 유전자 발현 특징의 가변성을 최소화시킬 수 있다. 또한, 야생형 아데노-관련 바이러스 감염은 선택적인 압력의 부재하에서 100회 이상의 계대배양을 위한 조직 배양물 속에서 수반되면, 이는, 아데노바이러스-관련 바이러스 게놈 통합이 비교적 안정적인 현상임을 내포한다. 아데노-관련 바이러스는 또한 염색체의 양식으로 기능할 수 있다.

- [0242] 다른 벡터는 플라스미드 벡터를 포함한다. 플라스미드 벡터는 당해 분야에 집중적으로 기술되어 있으며, 당해 분야의 숙련자에게 잘-공지되어 있다[참조: 예를 들면, Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989]. 지난 수년내에, 플라스미드 벡터는 숙주 계통 내에서 복제하고 숙주 계통 내로 통합하는 것이 불가능하므로 *생체내에서* 유전자를 세포로 전달하는데 특히 유리한 것으로 밝혀졌다. 그러나, 숙주 세포와 혼화성인 프로모터를 갖는 이들 플라스미드는 플라스미드내에서 작동적으로 암호화된 유전자로부터 펩타이드를 발현할 수 있다. 상업적인 공급업자로부터 이용가능한 일부 일반적으로 사용된 플라스미드는 pBR322, pUC18, pUC19, 다양한 pcDNA 플라스미드, pRC/CMV, 다양한 pCMV 플라스미드, pSV40, 및 pBlueScript를 포함한다. 특수한 플라스미드의 추가의 예는 pcDNA3.1, 카탈로그 번호 V79020; pcDNA3.1/하이드로, 카탈로그 번호 V87020; pcDNA4/myc-His, 카탈로그 번호 V86320; 및 pBudCE4.1, 카탈로그 번호 V53220를 포함하며, 모두는 Invitrogen(캘리포니아주 칼사바드 소재)으로부터 시판된다. 다른 플라스미드는 당해 분야의 통상의 기술자에게 잘 공지되어 있다. 또한, 플라스미드는 DNA의 특수 단편을 제거하고/하거나 첨가하는 표준분자 생물학 기술을 사용하여 통상적으로 설계할 수 있다.
- [0243] 본 발명의 단백질을 생산하는데 사용될 수 있는 하나의 곤충 발현 시스템에서, *오토그라파칼라포니카* (*Autographa californica*) 핵 다한증 바이러스(polyhidrosis virus)(AcNPV)가 외부 유전자를 발현하기 위한 벡터로서 사용된다. 바이러스는 *스포도프테라 프루기페르다*(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 암호화 서열은 바이러스의 비-필수 영역(예를 들면, 폴리헤드론 유전자)내로 클로닝되어 ACNPV 프로모터(예를 들면, 폴리헤드론 프로모터)의 조절 하에 위치할 수 있다. 암호화 서열의 성공적인 삽입은 폴리헤드론 유전자의 불활성화 및 폐쇄되지 않은 재조합체바이러스(즉, 폴리헤드론 유전자에 의해 암호화된 단백질성 외피를 결여한 바이러스)의 생산을 초래할 것이다. 이후에, 이들 재조합체 바이러스를 사용하여 삽입된 유전자가 발현된 *스포도프테라 프루기페르다*(*Spodoptera frugiperda*)를 세포내에서 감염시킨다. (참조: 예를 들면, Smith 등 (1983) *J Virol* 46:584; 미국 특허 제 4,215,051호). 이러한 발현의 추가의 예는 문헌[참조: Ausubel 등, eds. (1989) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 2, Greene Publish. Assoc. & Wiley Interscience]에서 찾을 수 있다.
- [0244] 본 발명의 단백질을 발현시키는데 사용될 수 있는 다른 시스템은 글루타민 신테타제 유전자 발현시스템이며, 이는 "GS 발현 시스템"(제조원: 영국 버크셔 소재의 Lonza Biologics PLC)으로 언급된다. 당해 발현 시스템은 미국 특허 제5,981,216호에 상세히 기술되어 있다.
- [0245] 포유동물 숙주 세포에서, 다수의 바이러스계 발현 시스템을 이용할 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우에, 암호화 서열은 아데노바이러스 전사/해독 조절 복합체, 예를 들면, 레이트 프로모터(late promoter) 및 3부분(tripartite) 리더 서열에 연결될 수 있다. 당해 키메라 유전자는 이후에 *시험관내* 또는 *생체내* 재조합체 의해 아데노바이러스 계통내에서 삽입될 수 있다. 바이러스 계통의 비-필수적인 영역(예를 들면, 영역 E1 또는 E3)내에서의 삽입은 감염된 숙주내에서 생존하고 펩타이드를 발현할 수 있는 재조합체 바이러스를 생성할 것이다. [참조: 예를 들면, Logan & Shenk (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3655]. 대안적으로, 박시니아 7.5 K 프로모터를 사용할 수 있다. [참조: 예를 들면, Mackett 등 (1982) *Proc Natl Acad Sci USA* 79:7415; Mackett 등 (1984) *J Virol* 49:857; Panicali 등 (1982) *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4927].
- [0246] 생산 효율을 증가시키기 위하여, 폴리뉴클레오타이드를 효소 절단 부위에 의해 분리된 본 발명의 단백질의 다중 단위를 암호화하도록 설계할 수 있다. 수득되는 폴리펩타이드는 폴리펩타이드 단위를 회수하기 위하여 절단될 수 있다(예를 들면, 적절한 효소를 사용한 처리에 의함). 이는 단일 프로모터에 의해 구동된 폴리펩타이드의 수율을 증가시킬 수 있다. 적절한 바이러스 발현 시스템내에서 사용되는 경우, mRNA에 의해 암호화된 각각의 폴리펩타이드의 해독은 전사체내에서; 예를 들면, 내부 리보솜 도입 부위, IRES에 의해 내부적으로 지시된다. 따라서, 폴리스트론성 작제물은 궁극적으로 다수의 개개 폴리펩타이드의 해독을 지시하는, 단일의 거대한 폴리스트론성 mRNA의 전사를 지시한다. 이러한 시도는 다중단백질의 생산 및 효소적 프로세싱을 제거하고 단일의 프로모터에 의해 구동된 폴리펩타이드의 수율을 유의적으로 증가시킬 수 있다.
- [0247] 형질전환에 사용된 벡터는 일반적으로 선택가능한 마커를 함유함으로써 형질전환체를 확인할 수 있을 것이다. 세균 시스템에서, 이는 암피실린 또는 가나마이신과 같은 항생제 내성 유전자를 포함할 수 있다. 배양된 포유동물 세포내에서 사용하기 위한 선택가능한 마커는 네오마이신, 하이드로마이신, 및 메토텍세이트와 같은 약물에 대해 내성을 부여하는 유전자를 포함한다. 선택가능한 마커는 증폭가능하고 선택가능한 마커일 수 있다. 하나의 증폭가능하고 선택가능한 마커는 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 유전자이다. [참조: Simonsen C C 등 (1983) *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2495-9]. 선택가능한 마커는 문헌[참조: Thilly (1986) *Mammalian Cell Technology*, Butterworth Publishers, Stoneham, Mass.]에서 고찰가능하며, 선택가능한 마커의 선택은 당해 분

야의 통상의 기술 수준 내에 있다.

- [0248] 선택가능한 마커는, 목적 유전자와 동시에 별도의 플라스미드 상에서 세포내로 도입될 수 있거나, 이들은 동일한 플라스미드에서 도입될 수 있다. 동일한 플라스미드에서, 선택가능한 마커 및 목적 유전자는 상이한 프로모터 또는 동일한 프로모터의 조절하에 있을 수 있으며, 상이한 프로모터 배열은 디시스트론성 메시지를 생산한다. 이러한 유형의 작제물은 당해 분야에 공지되어 있다(예를 들면, 미국 특허 제 4,713,339호).
- [0249] 발현 벡터는 재조합적으로 생산된 단백질의 용이한 정제를 허용하는 태그(tag)를 암호화할 수 있다. 예는 벡터 pUR278(참조: Ruther 등 (1983) *EMBO J* 2:1791)를 포함하나, 이에 한정되지 않으며, 여기서 발현될 단백질에 대한 암호화 서열은 lac z 암호화 영역과 프레임내에서 벡터내로 연결됨으로써 태그화된 융합 단백질이 생산된다; pGEX 벡터를 사용하여 글루타티온 S-트랜스퍼라제(GST) 태그를 지닌 본 발명의 단백질을 발현할 수 있다. 이들 단백질은 일반적으로 가용성이며 글루타티온-아گار로스 비드에 대한 흡수에 이어 유리 글루타티온의 존재하에서 용출에 의해 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. 벡터는 정제 후 태그의 용이한 제거를 위해 절단 부위(트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 또는 PreScission ProteaseTM (제조원: 뉴저지주 피팩 소재의 Pharmacia)를 포함한다.
- [0250] 발현 벡터 또는 이후의 벡터는 적합한 표적 세포내로 형질감염되거나 공-형질감염되며, 이들은 폴리펩타이드를 발현할 것이다. 당해 분야에 공지된 형질감염 기술은 인산칼슘 침전(참조: Wigler 등 (1978) *Cell* 14:725), 전기천공(electroporation)(참조: Neumann 등 (1982) *EMBO J* 1:841), 및 리포솜-계 시약을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다양한 숙주-발현 벡터 시스템을 이용하여 원핵 및 진핵 세포 둘 다를 포함하는 본원에 기술된 단백질을 발현할 수 있다. 이들은 적절한 암호화 서열을 함유하는 재조합체 박테리오파아지 DNA 또는 플라스미드 DNA 발현 벡터로 형질감염된 세균(예를 들면, *이. 콜라이*); 적절한 암호화 서열을 함유하는 재조합체 효모 또는 진균 발현 벡터로 형질전환된 효모 또는 섬유상 진균; 적절한 암호화 서열을 함유하는 재조합체 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 바콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합체 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 칼리플라워 모자이크 바이러스(cauliflower mosaic virus) 또는 토마토 모자이크 바이러스 또는 담배 모자이크 바이러스)로 감염되거나 적절한 암호화 서열을 함유하는 재조합체 플라스미드 발현 벡터(예를 들면, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포(예를 들면, HEK 293, CHO, Cos, HeLa, HKB11, 및 BHK 세포)를 포함하는 동물 세포 시스템을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0251] 하나의 구현예에서, 숙주 세포는 진핵 세포이다. 본원에 사용된 것으로서, 진핵 세포는 명확한 핵을 갖는 어떠한 동물 또는 식물 세포를 말한다. 동물의 진핵 세포는 척추동물, 예를 들면, 포유동물의 세포 및 무척추동물의 세포, 예를 들면, 곤충을 포함한다. 식물의 진핵 세포는 제한없이, 효모 세포를 구체적으로 포함할 수 있다. 진핵 세포는 원핵 세포, 예를 들면, 세균과 구별된다.
- [0252] 특정의 구현예에서, 진핵 세포는 포유동물 세포이다. 포유동물 세포는 포유동물로부터 기원한 특정 세포이다. 포유동물 세포는 구체적으로 포유동물 세포주를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 하나의 구현예에서, 포유동물 세포는 사람 세포이다. 다른 구현예에서, 포유동물 세포는 HEK 293 세포이며, 이는 사람 배아 신장 세포주이다. HEK 293 세포는 버지니아주 마나사스 소재의 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection)으로부터 CRL-1533로서 및 Invitrogen(캘리포니아주 칼스바드 소재)으로부터 293-H 세포(카탈로그 번호 11631-017) 또는 293-F 세포(카탈로그 번호 11625-019)로서 이용가능하다. 일부 구현예에서, 포유동물 세포는 PER.C6[®] 세포이며, 이는 망막으로부터 기원한 사람세포주이다. PER.C6[®] 세포는 Crucell(네덜란드 라이덴 소재)로부터 이용가능하다. 다른 구현예에서, 포유동물 세포는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포이다. CHO 세포는 버지니아주 마나사스 소재의 아메리칸 타입 컬처 컬렉션으로부터 이용가능하다 (예를 들면, CHO-K1; CCL-61). 여전히 다른 구현예에서, 포유동물 세포는 아기 햄스터 신장(BHK) 세포이다. BHK 세포는 버지니아주 마나사스 소재의 아메리칸 타입 컬처 컬렉션으로부터 이용가능하다 (예를 들면, CRL-1632). 일부 구현예에서, 포유동물 세포는 HKB11 세포이며, 이는 HEK293 세포 및 사람 B 세포주의하이브리드 세포이다 [참조: Mei 등, *Mol. Biotechnol.* 34(2): 165-78 (2006)].
- [0253] 하나의 구현예에서, 본 발명의 VWF 단백질, VWF 링커, 이중 잔기(smoiety) 또는 키메라 단백질을 암호화하는 플라스미드는 선택가능한 마커, 예를 들면, 제오신 내성을 추가로 포함하며, 키메라 단백질의 생산을 위해 HEK 293 세포내로 형질감염된다.
- [0254] 여전히 다른 구현예에서, 형질감염된 세포는 안정하게 형질감염된다. 이들 세포는 당해 분야의 숙련가에게 공지된 통상의 기술을 사용하여, 안정한 세포로서 선택되고유지될 수 있다.

- [0255] 단백질의 DNA 작제물을 함유하는 숙주 세포는 적절한 성장 배지 속에서 성장한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "적절한 성장 배지"는 세포의 성장에 요구되는 영양소를 함유하는 배지를 의미한다. 세포 성장에 요구되는 영양소는 탄소원, 질소원, 필수 아미노산, 비타민, 무기질, 및 성장인자를 포함할 수 있다. 임의로, 배지는 하나 이상의 선택 인자를 함유할 수 있다. 임의로, 배지는 소 송아지 혈청 또는 태아 송아지 혈청(FCS)을 함유할 수 있다. 하나의 구현예에서, 배지는 IgG를 실질적으로 함유하지 않는다. 성장 배지는 일반적으로 예를 들면, DNA 작제물 상에서 선택가능한 마커에 의해 보충되거나 DNA 작제물과 함께 동시-형질감염된 필수 영양소 속에서 약물 선택 또는 결핍증에 의해 DNA 작제물을 함유하는 세포에 대해 일반적으로 선택될 것이다. 배양된 포유동물 세포는 일반적으로 혈청-함유 또는 혈청-비함유 배지(예를 들면, MEM, DMEM, DMEM/F12) 속에서 성장한다. 하나의 구현예에서, 배지는 CD293(제조원: 캘리포니아주 칼스바드 소재의 Invitrogen)이다. 다른 구현예에서, 배지는 CD17(캘리포니아주 칼스바드 소재의 Invitrogen)이다. 사용된 특수 세포주에 적절한 배지의 선택은 당해 분야의 통상의 기술자의 수준 내에 있다.
- [0256] 본원에 기술된 바와 같은 키메라 분자의 2개의 폴리펩타이드 쇄를 동시-발현시키기 위하여, 숙주세포는 쇄 둘다의 발현을 허용하는 조건하에서 배양한다. 본원에 사용된 것으로서, 배양은 살아있는 세포를 시험관내에서 적어도 정의된 시간 동안 유지하는 것을 말한다. 유지는 살아있는 세포의 집단에 있어서의 증가일 수 있으나, 포함하는 것을 필요로 하진 않는다. 예를 들면, 배양물 속에서 유지된 세포는 집단 속에서 정적이지만, 바람직한 생성물, 예를 들면, 재조합체 단백질 또는 재조합체 융합 단백질을 생산할 수 있다. 진핵 세포를 배양하는데 적합한 조건은 당해 분야에 잘 공지되어 있으며 배양 배지, 배지 보충물, 온도, pH, 산소 포화 등의 적절한 선택을 포함한다. 시판 목적을 위해서, 배양은 진탕기 플라스크, 롤러 병(roller bottle), 중공 섬유 생물반응기(hollow fiber bioreactor), 교반-탱크 생물반응기, 에어리프트 생물반응기(airlift bioreactor), 웨이브 생물반응기(Wave bioreactor), 및 기타를 포함하는 확장 규모의 시스템의 어떠한 다양한 유형의 사용을 포함할 수 있다.
- [0257] 세포 배양 조건은 또한 키메라 분자내 제1 쇄 및 제2 쇄의 연합을 허용하도록 선택된다. 키메라 분자의 발현을 허용하는 조건은 비타민 K의 공급원의 존재를 포함할 수 있다. 예를 들면, 하나의 구현예에서, 안정하게 형질감염된 HEK 293 세포는 4mM 글루타민이 보충된 CD293 배지(제조원: 캘리포니아주 칼스바드 소재의 Invitrogen) 또는 OptiCHO 배지(제조원: 캘리포니아주 칼스바드 소재의 Invitrogen) 속에서 배양된다.
- [0258] 하나의 측면에서, 본 발명은 a) 숙주 세포를 키메라 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 형질감염시키는 단계 및 b) 숙주 세포를 배양 배지 속에서 키메라 분자를 발현시키는데 적합한 조건 하에서 배양시키는 단계(여기서 키메라 분자가 발현된다)를 포함하는 키메라 분자의 발현, 제조, 또는 생산 방법에 관한 것이다.
- [0259] 추가의 구현예에서, 키메라 분자를 함유하는 단백질 생성물은 배지내로 분리된다. 배지는 세포로부터 분리되어, 농축되고, 여과된 후, 2개 또는 3개의 친화성 컬럼, 예를 들면, 단백질 A 컬럼 및 1개 또는 2개의 이온 교환 컬럼 위에 통과한다.
- [0260] 특정의 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 방법에 의해 생산된 키메라 폴리펩타이드에 관한 것이다.
- [0261] 시험관내 생산은 본 발명의 목적인 변경된 폴리펩타이드를 다량으로 제공하기 위한 규모-확장을 허용한다. 조직 배양 조건하에서 포유동물 세포 배양을 위한 기술은 당해 분야에 공지되어 있으며 예를 들면 에어리프트 반응기 속에서 또는 연속 교반기 반응기 속에서 균질한 현탁액 배양물, 또는 예를 들면 동공 섬유, 미세캡셀 속에, 아가로즈 미세비드 또는 세라믹 카트릿지 위에 고정시키거나 인트랩(entrap)시키는 것을 포함한다. 필요한 경우 및/또는 바람직하게는, 폴리펩타이드의 용액은 통상의 크로마토그래피 방법, 예를 들면, 이온-교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC, DEAE-셀룰로즈 위에서의 크로마토그래피 또는 친화성 크로마토그래피)에 의해 정제될 수 있다.
- [0262] 본 발명은 또한 제1의 이중 잔기에 융합된 VWF 단백질 및 XTEN 서열 및 제2의 이중 잔기에 융합된 FVIII 단백질을 포함하는 키메라 FVIII 단백질의 FVIII 활성을 증진시키는 방법을 포함하며, 당해 방법은 VWF 링커를 VWF 단백질과 제1이 이중 잔기 사이에 삽입시킴을 포함하고, 여기서, VWF 링커는 (i) 인자 VIII(FVIII)로부터의 a2 영역; (ii) FVIII로부터의 a1 영역; (iii) FVIII로부터의 a3 영역; (iv) X-V-P-R(여기서 X는 지방족 아미노산이다)(서열 번호 3) 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프; 또는 (v) 이의 어떠한 조합으로부터 선택된 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, FVIII 활성은 aPTT 검정 또는 ROTEM 검정으로 측정한다.
- [0263] **IV. 약제학적 조성물**
- [0264] 본 발명의 키메라 분자를 함유하는 조성물은 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 함유할 수 있다. 예를 들면,

이들은 작용 부위로 직접 전달하도록 설계된 제제로 활성 화합물의 프로세싱을 촉진하는 부형제 및/또는 보조제를 함유할 수 있다.

- [0265] 약제학적 조성물은 거환 주사(bolus injection)에 의한 비경구 투여(즉, 정맥내, 피하, 또는 근육내)용으로 제형화될 수 있다. 주사용 제형은 단위 용량형, 예를 들면, 첨가된 방부제가 들어있는 앰플 또는 다중투여량 용기로 제공될 수 있다. 조성물은 현탁제, 액제, 또는 오일 또는 수성 비히클중 유제와 같은 형태를 취할 수 있으며 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형 제제를 함유한다. 대안적으로, 활성 성분은 적합한 비히클, 예를 들면, 발열질이 유리된 물과 함께 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.
- [0266] 비경구 투여용으로 적합한 제형은 또한 수용성 형태, 예를 들면, 수용성 염 속의 활성 화합물의 수용액을 포함한다. 또한, 적절한 오일 주사 현탁액으로서의 활성 화합물의 현탁액을 투여할 수 있다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 지방 오일, 예를 들면, 참깨 오일, 또는 합성 지방산 에스테르, 예를 들면, 올레이트 또는 트리글리세라이드를 포함한다. 수성 주사 현탁액은 예를 들면, 나트륨 카복시메틸 셀룰로즈, 소르비톨 및 텍스트란을 포함하는 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수 있다. 임의로, 현탁액은 또한 안정화제를 함유할 수 있다. 리포솜은 또한 세포 또는 사이질 공간내로 본 발명의 분자를 봉입(encapsulate)하기 위해 사용될 수 있다. 예시적인 약제학적으로 허용되는 담체는 생리학적으로 혼용성인 용매, 분산 매질, 피복제, 항세균 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제, 물, 염수, 인산염 완충된 염수, 텍스트로즈, 글리세롤, 에탄올 등이다. 일부 구현예에서, 조성물은 등장성 제제, 예를 들면, 슈가, 만니톨, 소르비톨과 같은 다가알코올, 또는 염화나트륨을 포함한다. 다른 구현예에서, 화합물은 습윤제와 같은 약제학적으로 허용되는 물질 또는 활성 성분의 반감기 또는 효능을 향상시키는 습윤제 또는 유화제, 방부제 또는 완충제와 같은 미량의 보조 물질을 포함한다.
- [0267] 본 발명의 조성물은 예를 들면, 액체(예를 들면, 주사가능하고 주입가능한 액체), 분산제, 현탁제, 반-고체 및 고체 용량형을 포함하는 다양한 형태일 수 있다. 바람직한 형태는 투여 방식 및 치료학적 적용에 의존한다.
- [0268] 조성물은 액제, 미세 유제, 현탁제, 리포솜, 또는 고 약물 농도에 적합한 다른 주문된 구조로서 제형화될 수 있다. 멸균 주사가능한 액제는 요구량의 활성 성분을 필요한 경우 상기 나열한 성분 중 하나 또는 조합이 들어 있는 적절한 용매 속에 포함시킨 후, 여과된 멸균에 의해 제조할 수 있다. 일반적으로, 분산제는 활성 성분을 염기성 분산 매질 및 상기 나열된 것들로부터의 요구되는 다른 성분들을 함유하는 멸균 비히클 속에 혼입시켜 제조한다. 멸균 주사가능한 액제를 제조하기 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분 및 앞서 멸균-여과된 용액으로부터의 추가의 바람직한 성분의 분말을 수득하는 진공 건조 및 동결-건조이다. 용액의 적절한 유동성은, 예를 들면, 레시틴과 같은 피복제를 사용하고, 분산제의 경우에 요구되는 입자 크기를 유지하며 표면활성제를 사용함으로써 유지할 수 있다. 주사가능한 조성물의 연장된 흡수는 조성물 속에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 가져올 수 있다.
- [0269] 활성 성분은, 방출이 조절된 제형 또는 장치를 사용하여 제형화할 수 있다. 이러한 제형 및 장치의 예는 이식체, 경피 패취, 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 포함한다. 생분해가능하고, 생체적합한 중합체, 예를 들면, 에틸렌 비닐 아세테이트, 다가무수물, 폴리글리콜산, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 이러한 제형 및 장치의 제조 방법은 당해 분야에 공지되어 있다(참조: 예를 들면, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978).
- [0270] 주사가능한 데포트(depot) 제형은 폴리락타이드-폴리글리콜라이드와 같은 생분해가능한 중합체속에 약물의 미세 봉입된 매트릭스를 형성함으로써 제조할 수 있다. 중합체에 대한 약물의 비, 및 사용된 중합체의 특성에 따라서, 약물 방출 속도가 조절될 수 있다. 다른 예시적인 생분해가능한 중합체는 폴리오르토에스테르 및 다가무수물이다. 데포트 주사가능한 제형은 또한 약물을 리포솜 또는 미세봉입체 속에 인트랩시켜 제조할 수 있다.
- [0271] 보충적인 활성 화합물을 조성물 내로 혼입할 수 있다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 키메라 분자는 다른 응고 인자, 또는 이의 변이체, 단편, 유사체 또는 유도체와 함께 제형화된다. 예를 들면, 응고 인자는 인자 V, 인자 VII, 인자 VIII, 인자 IX, 인자 X, 인자 XI, 인자 XII, 인자 XIII, 프로트롬빈, 피브리노, 폰 빌레브란트 인자 또는 제조합체 가용성 조직 인자(rsTF) 또는 앞서의 어떠한 것의 활성화된 형태를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 지혈제의 응고 인자는 또한 항-섬유소용해성 약물, 예를 들면, 엽실론-아미노-카프로산, 트란엑삼산을 포함할 수 있다.
- [0272] 약물 요법은 최적의 바람직한 반응을 제공하도록 조절할 수 있다. 예를 들면, 단일의 거환이 투여될 수 있으며, 수개의 분할된 투여량을 시간에 걸쳐 투여할 수 있거나, 투여량을 치료학적 상태의 지혈에 의해 나타난 바와 같이 비례적으로 감소시키거나 증가시킬 수 있다. 용량의 투여 및 균일성의 용이함을 위하여 비경구 조성물을 용

량 단위로 제형화하는 것이 유리하다. [참조: *예를 들면*, Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., Easton, Pa. 1980)].

- [0273] 활성 화합물 외에, 액체 용량형은 물, 에틸 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일, 글리세롤, 테트라하이드로프루피알 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 및 소르비탄의 지방산 에스테르와 같은 불활성 성분을 함유할 수 있다.
- [0274] 적합한 약제학적 담체의 비-제한적 예는 또한 문헌[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences by E. W. Martin.]에 기술되어 있다. 부형제의 일부 예는 전분, 글루코즈, 락토즈, 슈크로즈, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 조성물은 또한 pH 완충 시약, 및 습윤제 또는 유화제를 함유할 수 있다.
- [0275] 경구 투여용으로, 약제학적 조성물은 통상의 수단으로 제조된 정제 또는 캡슐제의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 또한 액체, 예를 들면, 시럽제 또는 현탁제로서 제조될 수 있다. 액체는 현탁화제(*예를 들면*, 소르비톨 시럽, 셀룰로즈 유도체 또는 수소화된 식용 지방), 유화제(레시틴 또는 아카시아), 비-수성 비히클(*예를 들면*, 아몬드 오일, 오일성 에스테르, 에틸 알코올, 또는 분획화된 야채 오일), 및 방부제(*예를 들면*, 메틸 또는 프로필- p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산)을 포함할 수 있다. 제제는 또한 풍미제, 착색제 및 감미제를 포함할 수 있다. 대안적으로, 조성물은 물 또는 다른 적합한 비히클과 함께 구성하기 위한 무수 제품으로서 제공될 수 있다.
- [0276] 볼내 투여용으로, 조성물은 통상의 프로토콜에 따라서 정제 또는 로젠지제의 형태를 취할 수 있다.
- [0277] 흡입에 의한 투여를 위해, 본 발명에 따라 사용하기 위한 화합물은 부형제의 존재 또는 부재하에 분무된 에어로졸 또는 가압 팩 또는 네불라이저(nebulizer)로부터의 에어로졸 분무의 형태로, 임의로 추진제, *예를 들면*, 디클로로디플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로메탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 가스와 함께 편리하게 전달된다. 가압된 에어로졸의 경우에 용량 단위는 계량된 양을 전달하기 위해 밸브를 제공함으로써 측정할 수 있다. *예를 들면*, 흡입기 또는 취입기에서 사용하기 위한 젤라틴의 캡셀 및 카트릿지는 화합물의 분말 혼합물 및 락토즈 또는 전분과 같은 적합한 분말 기재를 함유하여 제형화될 수 있다.
- [0278] 약제학적 조성물은 또한 *예를 들면*, 코코아 버터 또는 다른 글리세라이드와 같은 통상의좌제 기재를 함유하는, 좌제 또는 보류 관장제(retention enema)로서 직장 투여용으로 제형화될 수 있다.

[0279] V. 유전자 치료요법

- [0280] 본 발명의 키메라 분자는 *생체내에서* 포유동물 속에서, *예를 들면*, 사람 환자속에서, 출혈 응고 질환, 관절혈증, 근육 출혈, 구강 출혈, 근육내로의 출혈, 구강 출혈, 외상, 두부 외상, 위장 출혈, 두개내 출혈, 복부내 출혈, 흉내 출혈, 골절, 중추 신경계 출혈, 인두후강내 출혈, 복막후 공간내 출혈, 또는 장요근집(iliopsoas sheath)내 출혈로부터 선택된 출혈 질병 또는 질환의 치료가 치료학적으로 유리할 수 있는 유전자 치료요법 시도를 사용하여 생산할 수 있다. 하나의 구현예에서, 출혈 질병 또는 질환은 혈우병이다. 다른 구현예에서, 출혈 질병 또는 질환은 혈우병 A이다. 이는 적합한 발현 조절 서열에 작동적으로 연결된 적합한 키메라 분자를 암호화하는 핵산의 투여를 포함한다. 특정의 구현예에서, 이들 서열은 바이러스 벡터내로 혼입된다. 이러한 유전자 치료요법을 위해 적합한 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스벡터, 바큘로바이러스 벡터, 엡슈타인 바르 바이러스 벡터, 파포바바이러스 벡터, 박시니아 바이러스 벡터, 헤르페스 단성 바이러스 벡터, 및 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터를 포함한다. 바이러스 벡터는 복제-결핍성 바이러스 벡터일 수 있다. 다른 구현예에서, 아데노바이러스 벡터는 이의 E1 유전자 또는 E3 유전자에 결실을 갖는다. 아데노바이러스 벡터를 사용하는 경우, 포유동물은 선택가능한 마커 유전자를 암호화하는 핵산에 노출되지 않을 수 있다. 다른 구현예에서, 서열은 당해 분야의 숙련가에게 공지된 비-바이러스 벡터내로 혼입될 수 있다.

[0281] VI. 키메라 단백질을 사용하는 방법

- [0282] 본 발명은 또한 본 발명의 키메라 분자를 사용하여 이를 필요로 하는 피검자에서 출혈 사건의 빈도 또는 정도를 감소시키는 방법을 제공한다. 예시적인 방법은 이를 필요로 하는 피검자에게 치료학적 유효량의 본 발명의 키메라 분자를 투여함을 포함한다. 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 분자를 사용하여 이를 필요로 하는 피검자에서 출혈사건의 발생을 방지하는 방법을 포함한다. 다른 측면에서, 본 발명의 재조합체 단백질을 암호화하는 DNA를 포함하는 조성물은 이를 필요로 하는 피검자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 특정의 측면에서, 본 발명의 키메라 분자를 발현하는 세포는 이를 필요로 하는 피검자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 특정의 측면에

서, 약제학적 조성물은 (i) 키메라 분자, (ii) 키메라 분자를 암호화하는 분리된 핵산, (iii) 키메라 분자를 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터, (iv) 키메라 분자를 암호화하는 분리된 핵산 및/또는 키메라 분자를 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 세포, 또는 (v) 이의 조합을 포함하며, 약제학적 조성물은 허용되는 부형제 또는 담체를 추가로 포함한다.

[0283] 출혈 사건은 출혈 응고 질환으로부터 유발되거나 기원할 수 있다. 혈액 응고 질환은 또한 응고 장애로 언급될 수 있다. 하나의 예에서, 현재의 기재내용의 약제학적 조성물로 치료될 수 있는 혈액 응고 질환은 혈우병 또는 폰 빌레블란드 질병(vWD)이다. 다른 예에서, 본 발명의 약제학적 조성물로 치료될 수 있는 혈액 응고 질환은 혈우병 A이다.

[0284] 일부 구현예에서, 출혈 상태와 관련된 출혈 유형은 관절혈증, 근육 출혈, 구강 출혈, 출혈, 근육내로의 출혈, 구강 출혈, 외상, 두부 외상, 위장 출혈, 두개내 출혈, 복부내 출혈, 흉내 출혈, 골절, 중추 신경계 출혈, 인두 후강내 출혈, 복막후 공간내 출혈, 또는 장요근집내 출혈, 또는 이의 어떠한 조합으로부터 선택된다.

[0285] 다른 구현예에서, 출혈 상태로 고생하는 피검자는 예를 들면, 외과적 예방 또는 수술 전후 관리를 포함하는 수술 치료가 요구된다. 하나의 예에서, 수술은 소수술 및 대수술로부터 선택된다. 예시적인 수술 과정은 발치술, 편도선 절제술, 서혜부 헤르니아 절제술, 윤활막 절제술, 개두술, 골접합술, 외상 수술, 두개골내부 수술, 복부내 수술, 흉내 수술, 관절 대체술(예를 들면, 슬관절 치환술, 고관절 대체술 등), 심장 수술, 및 제왕절개 수술을 포함한다.

[0286] 다른 예에서, 피검자는 인자 IX와 병존적으로 치료된다. 본 발명의 화합물은 FIXa를 활성화할 수 있으므로, 이들을 사용하여 피검자에게 FIXa를 투여하기 전에 FIXa 폴리펩타이드를 예비-활성화시킬 수 있다.

[0287] 본 발명의 방법은 예방학적 치료 또는 주문형 치료(on-demand treatment)가 요구되는 피검자에서 실시될 수 있다.

[0288] 본 발명의 키메라 분자를 포함하는 약제학적 조성물은 예를 들면, 국소(예를 들면, 경피 또는 안구), 경구, 불내, 비강, 질내, 직장 또는 비경구 투여를 포함하는 어떠한 적절한 투여 방식을 위해 제형화될 수 있다.

[0289] 본원에 사용된 것으로서 용어 비경구는 피하, 피내, 정맥내(예를 들면, 정맥내), 근육내, 척수, 두개내, 척추강내, 안내, 눈주위, 안와내, 활막내 및 복강내 주사, 및 어떠한 유사한 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 조성물은 예를 들면, 현탁제, 유제, 지속된 방출 제형, 크림제, 젤제 또는 산제일 수 있다. 조성물은 통상의 결합제 및, 트리글리세라이드와 같은 담체와 함께 좌제로서 제형화될 수 있다.

[0290] 본 발명이 본원에 상세히 기술되어 있으므로, 본 발명을 단지 나열할 목적이며 본 발명을 한정하는 것으로 의도되지 않는, 본원에 포함된, 다음의 실시예를 참조로 본 발명이 보다 명확하게 이해될 것이다. 본원에 언급된 모든 특허 및 공보는 참조로 표현하여 포함된다.

[0291] 실시예

[0292] 실시예 전체에서, 달리 기술하지 않는 한 다음의 물질 및 방법이 사용되었다.

[0293] 물질 및 방법

[0294] 일반적으로, 본 발명의 실시는, 달리 나타내지 않는 한, 화학, 생물리학, 분자생물학, 제조합체 DNA 기술, 면역학(특히, 예를 들면, 항체 기술), 및 전기영동에서 표준 기술을 사용한다. [참조: 예를 들면, Sambrook, Fritsch and Maniatis, Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Antibody Engineering Protocols (Methods in Molecular Biology), 510, Paul, S., Humana Pr (1996); Antibody Engineering: A Practical Approach (Practical Approach Series, 169), McCafferty, Ed., Irl Pr (1996); Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow 등, CS.H.L. Press, Pub. (1999); and Current Protocols in Molecular Biology, eds. Ausubel 등, John Wiley & Sons (1992)].

[0295] 실시예 1. 다양한 VWF 작제물의 트롬빈-매개된 D'D3 방출의 평가

[0296] 당해 실시예는 도 2에 언급한 다양한 VWF 작제물의 37° C에서 트롬빈-매개된 D'D3 방출의 역학을 평가한다. 바이오코어(Biocompare) 실험을 VWF의 D'D3 도메인과 Fc 사이에 상이한 트롬빈 절단가능한 링커를 함유하는 VWF-Fc 작제물을 사용하여 수행하였다. 궁극적인 목표는 본원에 기술된 바와 같이 FVIII-VWF 이중이량체에 대한 VWF-Fc 트롬빈 분해로부터 수집된 정보를 적용하는 것이다. 모든 VWF-D'D3 작제물을 칩 위에서 수행하여 100 내지 700 RU 범위의 단백질의 포획 밀도를 달성하였다. VWF 작제물을 칩 위에서 포획한 후, 5U/ml의 트롬빈을 표면 위에

서 5분 동안 주사하였다. Fc는 칩에 결합되어 남은 반면, 절단가능한 작제물내 D'D3는 방출된다. 속도(RU/s) 대 포획 밀도(RU)를 도 3 및 4에 플롯팅하였다. 분해 속도는 포획 밀도와 비례하는 반면 각각의 작제물에 대해 트롬빈 절단에 대한 민감성의 척도를 제공하였다.

[0297] 도 3은, 예측된 것으로서 VWF-052(이는 링커 영역내에서 트롬빈 절단 부위를 가지지 않는다)가트롬빈에 의해 절단되지 않음을 나타낸다. VWF-039(PAR1 부위를 지닌 LVPR)는 FVIII 절단 속도와 비교가능하다(데이터는 나타내지 않음). 따라서, VWF-039는 Fc로부터 완전한 D'D3 방출에 대한 벤치 마크로서 제공되었다. VWF-039와 관련하여 다양한 VWF-Fc 농도의 기울기의 비율을 사용하여 트롬빈 절단의 효능을측정하였다. VWF-039(PAR1 부위를 갖는 LVPR)는 트롬빈으로 VWF-031(LVPR)보다 대략 70 내지 80배 빠르게 절단된다. VWF-51(ALRPRV)은 VWF-031(LVPR)보다 1.8배 신속하게 절단된다. LVPR 부위를 따라 288 XTEN을 함유하는 VWF-034는 VWF-031과 비교하여 보다 느린 절단을 나타내었다.

[0298] VWF-Fc 작제물은 또한 링커 영역내에서 FVIII 단백질의 상이한 산성 영역(a1, a2 및 a3)을 도입함으로써 제조하였다. D'D3과 Fc 영역 사이에 a2 영역을 함유하는 VWF-055는 VWF-039 작제물과 유사한 트롬빈절단을 나타내었다. 도 4에 나타난 바와 같이, VWF-054(a1 영역) 및 VWF-056(a3 영역)은 ~ 5-배 감소된 트롬빈절단을 나타내었다.

[0299] 도 5는 상이한 VWF 작제물에 대한 트롬빈 절단 곡선의 기울기 값을 나타낸다. 이들 결과로부터 FVIII의 산성 영역 2(a2)는 보다 높은 효율적인 트롬빈 절단 부위인 것으로 여겨지며 본원에 기술된 바와 같이 FVIII-VWF 이중이량체내에 혼입되었다.

[0300] 실시예 2. HemA 환자 전혈 ROTEM 검정을 사용한 FVIII/VWFD'D3 이중이량체의 지혈 효능의 평가

[0301] 상이한 트롬빈 절단가능한 링커를 함유하는 FVIII/VWFD'D3 이중이량체를 혈우병에서 이들의 효능에 대해 HemA 공여자 전혈 ROTEM(회전 트롬보엘라스토크메트리(rotational thromboelastometry)) 검정에서 평가하였다. 전혈 시료를 심각한 혈우병 A 출혈 질환을 지닌 공여자로부터 항-응고제로서 시트르산나트륨과함께 수집하였다. 출혈 시료 수집 40분 후, 상이한 트롬빈 절단가능한 링커 - FVIII155/VWF031 (48aa, LVPR 부위), FVIII155/VWF039 (26aa, LVPR+PAR1 부위), FVIII155/VWF055 (34aa, FVIII로부터의 a2) 를 함유하는 FVIII/VWFD'D3 이중이량체 변이체를 전혈 시료 속으로 희석시켜 FVIII 색원체 검정에 의해 측정된 것으로서 정상치의 100%, 30%, 10%, 및 3%에서의 최종 농도로 희석시켰다. FVIII/VWFD'D3 이중이량체의 첨가 직후, ROTEM 반응을 CaCl₂를 첨가하여 개시하였다. 응고 시간(시험의 개시로부터 2mm 진폭에 이르는 시간)을 장치로 기록하고 시료중 FVIII 농도에 대해 플롯팅하였다(도 6). 보다 강력한 FVIII/VWFD'D3 이중이량체는 보다 신속한 응고 과정을 유도하며, 따라서 덜 강력한 FVIII/VWFD'D3 이중이량체와 비교하여 보다 짧은 응고 시간을 생성하는 것으로 가설화하였다. 도 6에 나타난 바와 같이, FVIII/VWF039 이중이량체가 첨가된 시료는 시험한 모든 농도에서 보다 짧은 응고 시간을 가졌으며, FVIII/VWF031 이중이량체가 첨가된 시료는 모든 농도에서 가장 긴 응고 시간을 가졌다. FVIII155/VWF055 이중이량체가 첨가된 시료에 대한 응고 시간은 중간이다. 따라서, 지혈 효능의 순위는 FVIII155/VWF039 > FVIII155/VWF055 > FVIII155/VWF031이다. 3개 분자들 사이에 유일한 차이는 VWF 단백질과 Fc 영역 사이의 트롬빈 절단가능한 링커이므로, 결과는, LVPR 부위 및 PAR1 엑소사이트 상호작용 모티프 및 FVIII의 a2 영역을 함유하는 링커가 LVPR 부위 단독보다 더 잘 작동함을 나타낸다.

[0302] 실시예 3. FVIII/VWF 이중이량체의 활성의 평가

[0303] FVIII-XTEN/VWF 이중이량체 작제물을 HEK293F 세포내에서 3개의 플라스미드: 제2 발현 FVIII-XTEN-Fc, 제2 발현 VWF-XTEN-Fc 및 제3 발현 PACE를 사용하여 형질감염시켰다. 폴리에틸렌이민 (PEI) 표준 프로토콜을 형질감염에 사용하였고 형질감염 5일 후, 조직 배양 배지를 수거하였다. FVIII-VWF 이중이량체의 다양한 조합을 배지로부터 정제하였다. 정제된 단백질의 활성을 표준 프로토콜을 사용하여 색원체성(2 단계) 및 aPTT(1 단계) 응고 검정 둘 다에서 시험하였다. FVIII와 Fc 사이 또는 D'D3와 Fc 사이에 FVIII의 산성 영역 2 (a2)의 도입(도 7a 및 도 7에서 나타난 바와 같음)은 도 7c에서 나타난 바와 같이, FVIII-VWF 이중이량체의 aPTT 활성을 개선시켰다. 예를 들면, FVIII169/VWF059 이중이량체는 D'D3-Fc 링커 영역에서 a2 트롬빈 절단 부위를 가지며 도 7c에 나타난 바와 같이 D'D3Fc 링커내 LVPR 트롬빈 부위를 함유하는, FVIII169/VWF057보다 더 우수한 aPTT 활성을 갖는다.

[0304] 유사하게, FVIII와 Fc 사이의 a2 영역의 혼입은 표 7B에 나타난 바와 같이, FVIII286/VWF059와 FVIII286/VWF062 사이의 aPTT 비에 대한 개원된 색원체성에 의해 입증되는 바와 같이 이중이량체의 1단계 응고 활성을 증가시켰다.

표 7A

서열 번호	작제물	FVIII & Fc (aa) 사이의 링커 길이	링커내 트롬빈 부위
1	FVIII169	-	없음
2	FVIII286	32	FVIII-a2
서열 번호	작제물	D'D3 와 Fc(aa) 사이의 링커 길이	링커내 트롬빈 부위
1	VWF057	144AE XTEN+ 35+ LVPR	LVPR
2	VWF059	144AE XTEN+ 32	FVIII-a2
3	VWF062	144AE XTEN	없음

표 7b

작제물	색원체성/aPTT 비
FVIII169/VWF057	2.51
FVIII169/VWF059	1.67
FVIII169/VWF062	2.7
FVIII286/VWF059	0.69
FVIII286/VWF062	0.83

표 7c

작제물	크로모(Chromo) 특이 활성(IU/pmol)	aPTT 특이 활성(IU/pmol)
FVIII169/VWF057	1.60	0.65
FVIII169/VWF059	1.60	0.90
FVIII169/VWF062	0.87	0.32
FVIII286/VWF059	1.35	1.96
FVIII286/VWF062	1.08	1.33

[0305]

[0306]

[0307]

[0308]

[0309]

[0310]

실시예 4: HemA 마우스 꼬리 클립 출혈 모델에서 FVIII-XTEN-Fc/D'D3-XTEN-Fc 이중이량체의 급성 효능

상이한 트롬빈 절단가능한 링커를 함유하는 이중이량체의 급성 효능을 HemA 마우스 꼬리 클립출혈 모델을 사용하여 평가하였다.

8-12주령의 수컷 HemA 마우스를 5개의 처리 그룹으로 무작위처리하고, SQ BDD-FVIII, rFVIII169/VWF034, rFVIII169/VWF057, rFVIII169/VWF059 또는 비히클 용액의 단일 정맥내 투여로 각각 처리하였다. FVIII(50 내지 100%의 정상 FVIII 혈장 수준을 재구성하기 위하여)의 사건 치료를 모사하기 위하여, 선택된 FVIII 치료 투여량은 FVIII aPTT 활성에 의해 측정된 것으로서 75 IU/kg 이다. 당해 투여량 수준에서, 모든 시험하는 FVIII 변이체는 투여 후 5분째에 정상의 쥐 혈장 FVIII 활성의 약 70%를 재구성할 것이다.

꼬리 클립 과정은 다음과 같이 수행하였다. 요약하면, 마우스를 50mg/kg의 케타민/0.5mg/kg의 텍스메테토미딘 콕테일로 꼬리 손상 전에 마취시키고 37 °C의 가열 패드에 두어 체온을 유지시켰다. 마우스의 꼬리를 이후에 37 °C의 염수 속에 10분 동안 침지시켜 즉 정맥을 팽창시켰다. 정맥 회색 후, FVIII 변이체 또는 비히클 용액을 꼬리 정맥을 통해 주사하고 꼬리의 5mm 먼 곳을 투여 5분 후 직선 칼날 #11 메스(scalpel)를 사용하여 절단하였다. 출혈되는 혈액을 13ml의 37 °C 염수내로 30분 동안 수집하고 혈액 손실 용적을 혈액수집 튜브의 중량 변화로 측정하였다: 혈액 손실 용적 = (수집 튜브 말기 중량 - 초기 중량 + 0.10) ml. 통계적 분석을 t 시험 [콜모고로브-그미로브 시험(Kolmogorov-Smirnov test)] 및 일월변량분석(one way ANOVA)[크루스칼-발리스 시험(KRUSKAL-Wallis test), 시험 후: 둔스 다중 비교 시험(Dunns multiple comparison test)]를 사용하여 수행하였다.

연구에서 각각의 개별 동물로부터의 혈액 손실 용적을 도 8에 플롯팅하였다. 혈액 손실 용적에 있어서 유의적인 감소가 비히클 처리된 동물과 비교하여 모든 FVIII 치료 그룹에서 관찰되었다($p < 0.05$, 표 8). 유사한 혈액 손실 감소를 BDD-FVIII 처리와 비교하여 모든 이중이량체 처리 그룹으로부터 관찰되었으며($p > 0.5$, 표 8), 이는,

이종이량체 분자가 요구된 처리에서 SQ BDD-FVIII와 같이 강력하게 효율적일 수 있음을 제안한다.

표 8: 콜모고로브-스미르노프 시험(Kolmogorov-Smirnov test)의 P 값

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

pSYN VWF057 뉴클레오타이드 서열(링커내 LVPR 트롬빈 부위를 지닌 VWF D'D3-Fc)(서열 번호 79)

```

1    ATGATTCTCTG CCAGATTTGC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCCTCATTTT
51   GCCAGGGACC CTTTGTGCAG AAGGAACTCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
101  GATGCAGCCT TTTCGGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
151  TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
201  ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
251  TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTGTGACA TCCATTGTGT TGTCAATGGT
301  ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG
351  GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT
401  ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
451  TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
501  CTTTGTCTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
551  CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT
601  GAACGGGCAT CTCCTCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
651  GCAGAGGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT
701  TTGCCCCTG CCACCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT
751  GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGCG CCTGCCCTGC
801  CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CCTGTGCCCA GGAGGGAATG GTGCTGTACG
851  GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
901  TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT
951  CAATGAAATG TGTCAGGAGC GATGCGTGGA TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
1001 GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC
1051 GTGCATTCCT GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG
1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTC ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC
1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA
1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTCAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCTGGG

```


1351 CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA
1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
1451 ATACAGTGAC GGCCTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
1551 CGGGAAGACC TCGGGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG
1601 ACTTCCCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGAATTCTGGG
1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGACTGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG
1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCTCC GAGGAGGCGT
1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCC ACATTTCAGG CCTGCCATCG TGCCGTCAGC
1801 CCGCTGCCCT ACCTGCCGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA
1851 CGGCCGCGAG TGCTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCTGCG
1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG
1951 AACTGCCCCA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TGCGGGACCC CCTGCAACCT
2001 GACCTGCCCG TCTCTCTCTT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCTGCC
2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC
2101 TGCGTGCCCA AGGCCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA
2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG
2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC
2251 GCTGTCTCA GCAGTCCCC GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG
2301 TCGGCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAACT CTGCGGGCTG
2351 AAGGGCTCGA GTGTACAAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG
2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCCTGTC CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA
2451 TGAGAACAGA TGTGTGCCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA
2501 AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC
2551 TGTCGGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG
2601 CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTGACGGG CTCAAATACC
2651 TGTTCGCCCG GCGTGGCCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT
2701 AACCCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC
2751 CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA
2801 TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG
2851 ACTCACTTTG AGGTGGTGGA GTCTGGCCGG TACATCATTC TGCTGTGGG
2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACGCCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC
2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGAT
3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA
3051 CCCTGTGGAC TTTGGGAACT CCTGGAAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA
3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCTTG CCACCTGCCA TAACAACATC
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGA TTCTCTCTGT AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201 CTTCACGAGC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251 GCATTTACGA CACCTGTCTC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCAATC
3301 TGCGACACCA TTGCTGCCTA TGCCACGTG TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GGCCTATAA CAGCTGTGCA
3451 CCTGCCTGTC AAGTCACGTG TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCACTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551 ATGAGCTTTT GCGACCTGTC GTTGACCTTG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG
3601 GTGGCTGGCC GCGTTTTGTG CTCAGGAAAG AAAGTCACTT TGAATCCCAG
3651 TGACCCCTGAG CACTGCCAGA TTGCCCCTG TGATGTGTG AACCTCACCT
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CGCCAACATC AGAGAGCGCC
3751 ACCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTCCGAAAC
3801 GCCAGGCACA AGTGAGTCTG CAACTCCCGA GTCCGGACCT GGCTCCGAGC
3851 CTGCCACTAG CCGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCCGAGAG CGCTACACCA
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG
3951 CAGCCCAGCC GGCTCTCCTA CATCCACGGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG
4001 CCACCCCGGA GTGAGGGCCA GGATCTGAAC CCGCTACCTC AGGCAGTGAG
4051 ACGCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGGC CAGGGAGCCC
4101 TGCTGGATCT CTTACGTCCA CTGAGGAAGG GTCACCAGCG GGCTCGCCCA
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGAGCGGCG GTGGAGGATC CCGTGGCGGG

[0315]

4201 GGATCCGGTG GCGGGGGATC CGGTGGCGGG GGATCCGGTG GCGGGGGATC
4251 CCGTGGCGGG GGATCCCTGG TCCCCGGGG CAGCGGAGGC GACAAAACCTC
4301 ACACATGCCC ACCGTGCCCA GCTCCAGAAC TCCTGGGCGG ACCGTCACTC
4351 TTCTCTCTCC CCCCCAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC
4401 TGAGGTACAC TGCGTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA
4451 AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG
4501 CCGCGGGAGG AGCAGTACAA CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC
4551 CGTCTGCAC CAGGACTGGC TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT
4601 CCAACAAGC CCTCCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA
4651 GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGATGA
4701 GCTGACCAAG AACAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC
4751 CCAGCGACAT GCCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC
4801 TACAAGACCA CGCTCCCGT GTTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCTA
4851 CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT
4901 CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC
4951 CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA ATGA

[0316]

[0317]

pSYN VWF057 단백질 서열(링커내에 LVPR 트롬빈 부위를 지닌 VWF D'D3-Fc): 짧은 밀줄은링커 영역을 함유하는

트롬빈 절단가능한 LVPR을 나타낸다(서열 번호 80)

1	MIPARFAGVL	LALALILPGT	LCAEGTRGRS	STARCSLFGS	DFVNTFDGSM
51	YSFAGYCSYL	LAGGCQKRSF	SIIGDFQNGK	RVSLSVYLGE	FFDIHLFVNG
101	TVTQGDQRV	MPYASKGLYL	ETEAGYYKLS	GEAYGFVARI	DGSGNFQVLL
151	SDRYFNKTCG	LCGNFNIFAE	DDFMTQEGTL	TSDPYDFANS	WALSSGEQWC
201	ERASPPSSSC	NISSGEMQKG	LWEQCQLLKS	TSVFARCHPL	VDPEPFVALC
251	EKTLCECAGG	LECACPALLE	YARTCAQEGM	VLYGWDHSA	CSPVCPAGME
301	YRQCVSPCAR	TCQSLHINEM	CQERCVDGCS	CPEGQLLDEG	LCVESTECPC
351	VHSGKRYPPG	TSLSRDCNTC	ICRNSQWICS	NEECPGECLV	TGQSHFKSFD
401	NRYFTFSGIC	QYLLARDCQD	HSFSIVIETV	QCADDRDAVC	TRSVTVRLPG
451	LHNSLVKLKH	GAGVAMDGQD	IQLPLLKGD	RIQHTVTASV	RLSYGEDLQM
501	DWDGRGRLLV	KLSPVYAGKT	CGLCGNYNGN	QGDDFLTPSG	LAEPREDFG
551	NAWKLHGDCQ	DLQKQHSDFC	ALNPRMTRFS	EEACAVLTSP	TFEACHRAVS
601	PLPYLRNCRY	DVCSGSDGRE	CLCGALASYA	AACAGRGVRV	AWREPGRCCL
651	NCPKGQVYLQ	CGTPCNLTCT	SLSYPDDECN	EACLEGCFCP	PGLYMDERGD
701	CVPKACQPCY	YDGEIFQPED	IFSDHHTMCY	CEDGFMHCTM	SGVPGSLLPD
751	AVLSSPLSHR	SKRSLSCRPP	MVKLVCPADN	LRAEGLECTK	TCQNYDLECM
801	SMGCVSGCLC	PPGMVRHENR	CVALERCPCF	HQKEYAPGE	TVKIGCNTCV
851	CRDRKWNCTD	AVCDATCSTI	GMAHYLTFDG	LKYLFPGEQ	YVLVQDYCGS
901	NPGTFRILVG	NKGCSHPSVK	CKKRVFILVE	GGEIELFDGE	VNVKRPMDKE
951	THFEVVESGR	YIILLGLKAL	SVVWDRHLSI	SVVLKQTYQE	KVCGLCGNFD
1001	GIQNDLTSS	NLQVEEDPVD	FGNSWKVSSQ	CADTRKVPLD	SSPATCHNNI
1051	MKQTMVDSSC	RILTSDVFQD	CNKLVDPEPY	LDVCIYDTCS	CESIGDCAAF
1101	CDTIAAYAHV	CAQHGVVVTW	RTATLCPQSC	EERNLRENGY	EAEWRYNSCA
1151	PACQVTCQHP	EPLACPVQCV	EGCHAHCPPG	KILDELLQTC	VDPEDCPVCE
1201	VAGRRFASGK	KVTLNPSDPE	HCQICHCDVV	NLTCEACQEP	ISGAPTSESA
1251	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	GSEPATSGSE	TPGTSESATP
1301	ESGPGTSTEP	SEGSAPGSPA	GSPTSTEEGT	SESATPESGP	GSEPATSGSE
1351	TPGTSESATP	ESGPGSPAGS	PTSTEEGSPA	GSPTSTEEGA	<u>SSGGGSGGG</u>
1401	<u>GSGGGSGGG</u>	<u>GSGGGSGGG</u>	<u>GSGGGSLVP</u>	<u>RGSGGDKTHT</u>	<u>CPPCPAPELL</u>
1451	GGPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	NWYVDGVEVH
1501	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN	KALPAPIEKT
1551	ISKAKGQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG
1601	QPENNYKTP	PVLDSGDSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNNH
1651	YTQKSLSLSP	GK*			

[0318]

[0319]

pSYN VWF059 뉴클레오타이드 서열(링커내에 산성 영역 2(a2) 트롬빈 부위를 지닌 VWF D'D3-Fc)(서열 번호 81)

```

1   ATGATTCCTG CCAGATTGTC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCTTCATTTT
51  GCCAGGGACC CTTTGTGCAG AAGGAACCTG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
101 GATGCAGCCT TTTTCGGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
151 TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
201 ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
251 TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTGTGACA TCCATTTGTT TGTCAATGGT
301 ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG
351 GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT
401 ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
451 TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
501 CTTTGTCTGA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
551 CTTATGACTT TGCCAACCTA TGGGCTCTGA GCAGTGAGGA ACAGTGGTGT
601 GAACGGGCAT CTCCTCCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
651 GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT
701 TTGCCCGCTG CCACCCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT
751 GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGGC CCTGCCCTGC
801 CCTCTGGAG TACGCCCCGA CCTGTGCCCC GGAGGGAATG GTGCTGTACG
851 GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGACGCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
901 TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT
951 CAATGAAATG TGTCAAGAGC GATGCGTGGA TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
1001 GACAGCTCCT GGATGAAGGC CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC
1051 GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG
1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
1151 GTCCAGGGGA GTGCCCTTGT ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC
1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCGGGA
1251 TTGCCAGGAC CACTCCTTCT CCATTGTCAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCTGGC
1351 CTGCAACAAC GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA
1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
1451 ATACAGTGAC GGCCTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
1551 CGGGAAGACC TGCGGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG
1601 ACTTCTTAC CCCCTCTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGAATTCTGG
1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGAATGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG
1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCTCC GAGGAGGCGT
1751 GCGCGGTCTT GACGTCCCCC ACATTGAGG CCGCCATCG TGCCGTGAGC
1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCCGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA
1851 CGGCCGCGAG TGCTGTGTGC GCGCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG
1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG
1951 AACTGCCCCG AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TGCGGGACCC CCTGCAACCT
2001 GACCTGCCGC TCTCTCTCTT ACCCGGATGA GGAATGCAAT GAGGCCTGCC
2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC
2101 TGCGTGCCCC AGGCCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA
2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG
2201 GCTTCATGCA CTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCCTGAC
2251 GCTGTCCCTA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG
2301 TCGGCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG
2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG
2401 AGCATGGGCT GTGTCTCTGG CTGCCCTGTC CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA
2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA
2501 AGGAGTATGC CCCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTTGTGTC
2551 TGTCGGGACC GGAAGTGGAA CTGCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG
2601 CTCCACGATC GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTGACGGG CTCAAATACC
2651 TGTTCCCCGG GAGTGCCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT
2701 AACCTTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC

```

[0320]

```

2751 CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA
2801 TTAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG
2851 ACTACTTTG AGGTGGTGGA GTCTGGCCGG TACATCATTC TGCTGCTGGG
2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC
2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGAT
3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA
3051 CCCTGTGGAC TTTGGGAACCT CCTGGAAGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA
3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGA TTCCTCCTGT AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201 CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251 GCATTACGA CACCTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCATTC
3301 TGCCACACCA TTGCTGCCTA TGCCACGTG TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATTGTGCCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GGCGCTATAA CAGCTGTGCA
3451 CCTGCCTGTC AAGTCACGTG TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCCTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551 ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCTG AAGACTGTCT AGTGTGTGAG
3601 GTGGCTGGCC GCGTTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTCACCT TGAATCCCAG
3651 TGACCCTGAG CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTTGTC AACCTCACCT
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CGCCAACATC AGAGAGCGCC
3751 ACCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTGCGAAAC
3801 GCCAGGCACA AGTGAGTCTG CAACTCCCGA GTCCCGACCT GGCTCCGAGC
3851 CTGCCACTAG CCGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCCGAGAG CGCTACACCA
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG
3951 CAGCCAGGCC GGCTCTCCTA CATCCACGGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG
4001 CCACCCCGGA GTCAGGGCCA GGATCTGAAC CCGTACCTC AGGCAGTGAG
4051 ACGCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGG CAGGGAGCCC
4101 TGCTGGATCT CTTACGTCCA CTGAGGAAGG GTCACCAGCG GGCTCGCCCA
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGATATCTG ACAAGAACAC TGGTGATTAT
4201 TACGAGGACA GTTATGAAGA TATTTAGCA TACTTGCTGA GTAAAAACAA
4251 TGCCATTGAA CCAAGAAGCT TCTCTGACAA AACTCACACA TGCCACCCGT
4301 GCCCAGCTCC AGAAGTCTG GCGCGACCGT CAGTCTTCCT CTCCCCCCA
4351 AAACCAAGG ACACCCCTCAT GATCTCCCGG ACCCTGAGG TCACATGCGT
4401 GGTGGTGGAC GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAGTTT AACTGGTACG
4451 TGGACGCGCT GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG
4501 TACAACAGCA CGTACCGTGT GGTGAGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA
4551 CTGGCTGAAT GGCAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC
4601 CAGCCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAAGGGCA GCCCCGAGAA
4651 CCACAGGTGT ACACCTGCC CCCATCCCGG GATGAGCTGA CCAAGAACCA
4701 GGTGAGCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCAGC GACATCGCCG
4751 TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT
4801 CCCGTGTTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCTACAGCA AGCTCACCGT
4851 GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC
4901 ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCTCCG
4951 GGTAAATGA

```

[0321]

[0322] pSYN VWF059 단백질 서열(링커내에 LVPR 트롬빈 부위를 지닌 VWF D'D3-Fc)-짧은 필줄부위는 a2 영역(SEQ ID NO: 82)을 나타낸다.

```

1 MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFNNTFDGSM
51 YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101 TVTQGDQRV MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DGSGNFQVLL
151 SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201 ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC
251 EKTLCCEAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWDHSA CSPVCPAGME
301 YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTTEPC
351 VHSGKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TQSHFKSFD
401 NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG

```

[0323]

451 LHNSLVKLKH GAGVAMDGQD IQLPLLKGD L RIQHTVTASV RLSYGEDLQM
 501 DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG
 551 NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
 601 PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL
 651 NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCT SLSYFDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD
 701 CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
 751 AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM
 801 SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
 851 CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS
 901 NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRP MKDE
 951 THFEVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
 1001 GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI
 1051 MKQTMVDSSC RILTS DVFQD CNKLVDP EPEY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
 1101 CDTIAAYAHV CAQHGVVTVW RTATLC PQSC EERNLRENGY BAEWRYNSCA
 1151 PACQVTCQHP EPLACPVCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
 1201 VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGAPTESA
 1251 TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP
 1301 ESGPGTSTEP SEGSA PGSPA GSPTSTE EGT SESATPESGP GSEPATSGSE
 1351 TPGTSESATP ESGPGSPAGS PTSTE EGTSPA GSPTSTE EGA SISDKNTGDY
 1401 YEDSYEDISA YLLSKNNAIE PRSFSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP
 1451 KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
 1501 YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE
 1551 PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP
 1601 PVLDS DGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
 1651 GK*

[0324]

[0325]

pSYN VWF062 뉴클레오타이드 서열(링커내 트롬빈 부위가 없는 VWF D'D3-Fc)(서열 번호 83)

1 ATGATTCTCTG CCAGATTGTC CGGGGTGCTG CTTGCTCTGG CCCTCATTTT
 51 GCCAGGGACC CTTTGTGTCAG AAGGAAC TCG CGGCAGGTCA TCCACGGCCC
 101 GATGCAGCCT TTTCCGAAGT GACTTCGTCA ACACCTTTGA TGGGAGCATG
 151 TACAGCTTTG CGGGATACTG CAGTTACCTC CTGGCAGGGG GCTGCCAGAA
 201 ACGCTCCTTC TCGATTATTG GGGACTTCCA GAATGGCAAG AGAGTGAGCC
 251 TCTCCGTGTA TCTTGGGGAA TTTTGTGACA TCCATTGTGT TGTCAATGGT
 301 ACCGTGACAC AGGGGGACCA AAGAGTCTCC ATGCCCTATG CCTCCAAAGG
 351 GCTGTATCTA GAAACTGAGG CTGGGTACTA CAAGCTGTCC GGTGAGGCCT
 401 ATGGCTTTGT GGCCAGGATC GATGGCAGCG GCAACTTTCA AGTCCTGCTG
 451 TCAGACAGAT ACTTCAACAA GACCTGCGGG CTGTGTGGCA ACTTTAACAT
 501 CTTTGTGCTGAA GATGACTTTA TGACCCAAGA AGGGACCTTG ACCTCGGACC
 551 CTTATGACTT TGCCAACTCA TGGGCTCTGA GCAGTGGAGA ACAGTGGTGT
 601 GAACGGGCAT CTCCTCCAG CAGCTCATGC AACATCTCCT CTGGGGAAAT
 651 GCAGAAGGGC CTGTGGGAGC AGTGCCAGCT TCTGAAGAGC ACCTCGGTGT
 701 TTGCCCCTG CACCCCTCTG GTGGACCCCG AGCCTTTTGT GGCCCTGTGT
 751 GAGAAGACTT TGTGTGAGTG TGCTGGGGGG CTGGAGTGCG CCTGCCCTGC
 801 CCTCCTGGAG TACGCCCGGA CTTGTGCCCC GGAGGGAATG GTGCTGTACG
 851 GCTGGACCGA CCACAGCGCG TGCAGCCAG TGTGCCCTGC TGGTATGGAG
 901 TATAGGCAGT GTGTGTCCCC TTGCGCCAGG ACCTGCCAGA GCCTGCACAT
 951 CAATGAAATG TGTCAAGAGC GATGCGTGGA TGGCTGCAGC TGCCCTGAGG
 1001 GACAGCTCCT GAAATGAAGG CTCTGCGTGG AGAGCACCGA GTGTCCCTGC
 1051 GTGCATTCCG GAAAGCGCTA CCCTCCCGGC ACCTCCCTCT CTCGAGACTG
 1101 CAACACCTGC ATTTGCCGAA ACAGCCAGTG GATCTGCAGC AATGAAGAAT
 1151 GTCCAGGGGA GTGCCTTGTC ACTGGTCAAT CCCACTTCAA GAGCTTTGAC
 1201 AACAGATACT TCACCTTCAG TGGGATCTGC CAGTACCTGC TGGCCCCGGA
 1251 TTGCCAGGAC CACTCTTCT CCATTGTTCAT TGAGACTGTC CAGTGTGCTG
 1301 ATGACCGCGA CGCTGTGTGC ACCCGCTCCG TCACCGTCCG GCTGCCTGGC
 1351 CTGCACAACA GCCTTGTGAA ACTGAAGCAT GGGGCAGGAG TTGCCATGGA

[0326]

1401 TGGCCAGGAC ATCCAGCTCC CCTCCTGAA AGGTGACCTC CGCATCCAGC
1451 ATACAGTGAC GGCCTCCGTG CGCCTCAGCT ACGGGGAGGA CCTGCAGATG
1501 GACTGGGATG GCCGCGGGAG GCTGCTGGTG AAGCTGTCCC CCGTCTATGC
1551 CGGGAAGACG TCGCGCCTGT GTGGGAATTA CAATGGCAAC CAGGGCGACG
1601 ACTTCCTTAC CTCTCTTGGG CTGGCGGAGC CCCGGGTGGA GGACTTCGGG
1651 AACGCCTGGA AGCTGCACGG GGAATGCCAG GACCTGCAGA AGCAGCACAG
1701 CGATCCCTGC GCCCTCAACC CGCGCATGAC CAGGTTCTCC GAGGAGGCGT
1751 CGCGGTCCTT GACGTCCCCC ACATTCGAGG CCTGCCATCG TGCCGTCAGC
1801 CCGCTGCCCT ACCTGCGGAA CTGCGGCTAC GACGTGTGCT CCTGCTCGGA
1851 CGGCCGCGAG TGCTGTGCG GCGCCCTGGC CAGCTATGCC GCGGCCTGCG
1901 CGGGGAGAGG CGTGCGCGTC GCGTGGCGCG AGCCAGGCCG CTGTGAGCTG
1951 AACTGCCCCA AAGGCCAGGT GTACCTGCAG TGCGGGACCC CCTGCAACCT
2001 GACCTGCGCT CTCTCTCTT ACCCGATGA GGAATGCAAT GAGGCTGCCC
2051 TGGAGGGCTG CTTCTGCCCC CCAGGGCTCT ACATGGATGA GAGGGGGGAC
2101 TGCGTGCCCA AGGCCCAGTG CCCCTGTTAC TATGACGGTG AGATCTTCCA
2151 GCCAGAAGAC ATCTTCTCAG ACCATCACAC CATGTGCTAC TGTGAGGATG
2201 GCTTCATGCT GTGTACCATG AGTGGAGTCC CCGGAAGCTT GCTGCTGAC
2251 GCTGTCTCTA GCAGTCCCCT GTCTCATCGC AGCAAAAGGA GCCTATCCTG
2301 TCGGCCCCC ATGGTCAAGC TGGTGTGTCC CGCTGACAAC CTGCGGGCTG
2351 AAGGGCTCGA GTGTACCAA ACGTGCCAGA ACTATGACCT GGAGTGCATG
2401 AGCATGGGCT GGATCTCTGG CTGCTCTGCG CCCCCGGGCA TGGTCCGGCA
2451 TGAGAACAGA TGTGTGGCCC TGGAAAGGTG TCCCTGCTTC CATCAGGGCA
2501 AGGAGTATGC CCTGGAGAA ACAGTGAAGA TTGGCTGCAA CACTGTGTGTC
2551 TGTCGGGACC GGAAGTGGAA CTCACAGAC CATGTGTGTG ATGCCACGTG
2601 CTGCACGATG GGCATGGCCC ACTACCTCAC CTTGCGGGG CTCAAAATACC
2651 TGTTCCCCCG GGAGTGCCAG TACGTTCTGG TGCAGGATTA CTGCGGCAGT
2701 AACCCTGGGA CCTTTCGGAT CCTAGTGGGG AATAAGGGAT GCAGCCACCC
2751 CTCAGTGAAA TGCAAGAAAC GGGTCACCAT CCTGGTGGAG GGAGGAGAGA
2801 TTGAGCTGTT TGACGGGGAG GTGAATGTGA AGAGGCCCAT GAAGGATGAG
2851 ACTCACTTTG AGGTGGTGGA GTCTGGCCGG TACATCATTC TGCTGCTGGG
2901 CAAAGCCCTC TCCGTGGTCT GGGACCGCCA CCTGAGCATC TCCGTGGTCC
2951 TGAAGCAGAC ATACCAGGAG AAAGTGTGTG GCCTGTGTGG GAATTTTGAT
3001 GGCATCCAGA ACAATGACCT CACCAGCAGC AACCTCCAAG TGGAGGAAGA
3051 CCTGTGTGTC TTTGGGAACCT CCTGGAAGGT GAGCTCGCAG TGTGCTGACA
3101 CCAGAAAAGT GCCTCTGGAC TCATCCCCTG CCACCTGCCA TAACAACATC
3151 ATGAAGCAGA CGATGGTGGA TTCCTCCTGT AGAATCCTTA CCAGTGACGT
3201 CTTCCAGGAC TGCAACAAGC TGGTGGACCC CGAGCCATAT CTGGATGTCT
3251 GCATTTAGCA CACTGCTCC TGTGAGTCCA TTGGGGACTG CGCCGCATTC
3301 TGCGACACCA TTGCTGCCTA TGCCACGTG TGTGCCCAGC ATGGCAAGGT
3351 GGTGACCTGG AGGACGGCCA CATGTGCCCC CCAGAGCTGC GAGGAGAGGA
3401 ATCTCCGGGA GAACGGGTAT GAGGCTGAGT GGCCTATAA CAGCTGTGCA
3451 CCTGCCTGTC AAGTCCAGT TCAGCACCTT GAGCCACTGG CCTGCCCTGT
3501 GCAGTGTGTG GAGGGCTGCC ATGCCCCTG CCCTCCAGGG AAAATCCTGG
3551 ATGAGCTTTT GCAGACCTGC GTTGACCTCG AAGACTGTCC AGTGTGTGAG
3601 GTGGCTGGCC GGCCTTTTGC CTCAGGAAAG AAAGTCACCT TGAATCCCAG
3651 TGACCCTAGC CACTGCCAGA TTTGCCACTG TGATGTTGTC AACCTCACCT
3701 GTGAAGCCTG CCAGGAGCCG ATATCGGGCG CGCCAACATC AGAGAGCGCC
3751 ACCCTGAAA GTGGTCCCGG GAGCGAGCCA GCCACATCTG GGTGCGAAAC
3801 GCCAGGCACA AGTGAGTCTG CAACTCCCGA GTCCGGACCT GGCTCCGAGC
3851 CTGCCACTAG CGCTCCGAG ACTCCGGGAA CTTCCGAGAG CGCTACACCA
3901 GAAAGCGGAC CCGGAACCAG TACCGAACCT AGCGAGGGCT CTGCTCCGGG
3951 CAGCCAGGCC GGCTCTCCTA CATCCACGGA GGAGGGCACT TCCGAATCCG
4001 CCACCCCGGA GTCAGGGCCA GGATCTGAAC CCGTACCTC AGGCAGTGAG
4051 ACCCAGGAA CGAGCGAGTC CGCTACACCG GAGAGTGGGC CAGGGAGCCC
4101 TGCTGGATCT CTTACGTCCA CTGAGGAAGG GTCAACAGCG GGCTCGCCCA
4151 CCAGCACTGA AGAAGGTGCC TCGAGCGACA AACTCACAC ATGCCACCCG
4201 TGCCAGCTC CAGAACTCTT GGGCGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCC

[0327]

4251 AAAACCCAAG GACACCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACATGCG
4301 TGGTGGTGGA CGTGAGCCAC GAAGACCTTG AGGTCAAGTT CAAGTGGTAC
4351 GTGGACGGCG TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAGGCCG GGGAGGAGCA
4401 GTACAACAGC ACGTACCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTC CTGCACCAGG
4451 ACTGGCTGAA TGGCAAGGAG TACAAGTGCA AGGTCTCCAA CAAAGCCCTC
4501 CCAGCCCCCA TCGAGAAAAC CATCTCCAAA GCCAAAGGGC AGCCCCGAGA
4551 ACCACAGGTG TACACCTTGC CCCCATCCG GGATGAGCTG ACCAAGAACC
4601 AGGTACAGCT GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTATCCCAG CGACATCGCC
4651 GTGGAGTGGG AGAGCAATGG GCAGCCGAG AACAACATA AGACCACGCC
4701 TCCCGTGTG GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTTACAGC AAGCTACCCG
4751 TGGACAAGAG CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATG
4801 CATGAGGCTC TGCACAACCA CTACACGCAG AAGAGCCTCT CCCTGTCTCC
4851 GGGTAAATGA

[0328]

[0329] pSYN VWF062 단백질 서열(링커내에 트롬빈 부위가 없는 VWF D'D3-Fc)(서열 번호 84)

```

1      MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFNNTFDGSM
51     YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101    TVTQGDQORVS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DSGGNFQVLL
151    SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201    ERASPFSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC
251    EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTDHSA CSPVCPAGME
301    YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTECPC
351    VHSGKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TGQSHFKSFD
401    NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG
451    LHNSLVKLKH GAGVAMDQD IQLPLLKGD LRIQHTVTASV RLSYGEDLQM
501    DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG
551    NAWKLHGDCQ DLQKQHS DPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
601    PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCCL
651    NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCT SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD
701    CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
751    AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVC PADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM
801    SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
851    CRDRKWNCTD HVC DATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGE CQ YVLVQDYCGS
901    NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTLIVE GGEIELFDGE VNVKRP MKDE
951    THFEVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
1001   GIQNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI
1051   MKQTMVDSSC RILTS DVFQD CNKLVDP EPY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
1101   CDTIAAYAHV CAQH GKVV TW RTATLCPQSC EERNLRENGY EAEWRYN SCA
1151   PACQVTCQHP EPLACP VQCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
1201   VAGRRFASGK KVT LNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGAPTSESA
1251   TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP
1301   ESGPGTSTEP SEG SAPGSPA GSPTSTEEGT SESATPESGP GSEPATSGSE
1351   TPGTSESATP ESGPGSPAGS PTSTEEGSPA GSPTSTEEGA SSDKTHTCPP
1401   CPAPELLGGP SVFLFPKPK DTL MISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY
1451   VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL
1501   PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA
1551   VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM
1601   HEALHNHYTQ KSLSLSPGK*

```

[0330]

[0331] pSYN FVIII 286 뉴클레오타이드 서열(FVIII와 Fc 사이에 a2 영역이 있는 FVIII-Fc) (서열 번호 85)

[0332] 1 ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG

```

51      CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG
101     ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCCT
151     CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA
201     GACTCTGTGT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA
251     GGGCCACCTG GATGGGTCTG CTAGGTCTTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT
301     GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT
351     TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG
401     ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT
451     GGAAGCCATA CATATGTCCT GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC
501     CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG
551     TAAAGACTTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA
601     GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT
651     TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAGAAGT
701     CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG
751     CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG
801     CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG
851     AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT
901     CGCCAGGCTA GCTTGGAAT CTGCCCAATA ACTTTCTTTA CTGCTCAAAAC
951     ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC
1001    ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG
1051    GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA
1101    TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAAC
1151    CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT
1201    TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT
1251    AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG
1301    GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATA
1351    ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT
1401    CTTGGGACCT TTACTTTATG GGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT
1451    TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCCTA CGGAATCACT
1501    GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CAAAAGAGTG TAAACATTT
1551    GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG
1601    TGA CTGTAGTA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC
1651    TATTACTCTA GTTTCGTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT
1701    TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGATAGTCAA AGAGGAAACC
1751    AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG
1801    AACCAGAGCT GGTACCTCAC AGAGAAATATA CAACGCTTTC TCCCAATCC
1851    AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC
1901    ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTGTTG
1951    CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGAGGAC AGACTGACTT
2001    CCTTCTGTCT TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG
2051    AAGACACACT CACCCATATC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCTG
2101    ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCCAACT CAGACTTTCG
2151    GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA
2201    CTGTTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG
2251    AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCTCAA ACGGCGCGCC
2301    AGGTACCTCA GAGTCTGCTA CCCCCGAGTC AGGGCCAGGA TCAGAGCCAG
2351    CCACCTCCGG GTCTGAGACA CCCGGGACTT CCGAGAGTGC CACCCCTGAG
2401    TCCGGACCCG GGTCCGAGCC CGCCACTTCC GGCTCCGAAA CTCCCGGCAC
2451    AAGCGAGAGC GCTACCCAG AGTCAGGACC AGGAACATCT ACAGAGCCCT
2501    CTGAAGGCTC CGCTCCAGGG TCCCAGCCG GCAGTCCCAC TAGCACCAG
2551    GAGGGAACCT CTGAAAGCGC CACACCCGAA TCAGGGCCAG GGTCTGAGCC
2601    TGCTACCAGC GGCAGCGAGA CACCAGGCAT CTCTGAGTCC GCCACACCAG
2651    AGTCCGAGCC CGGATCTCCC GCTGGGAGCC CCACCTCCAC TGAGGAGGGA
2701    TCTCTGCTG GCTCTCCAAC ATCTACTGAG GAAGGTACCT CAACCGAGCC
2751    ATCCGAGGGA TCAGCTCCCG GCACCTCAGA GTCCGCAACC CCGGAGTCTG
2801    GACCCGGAAC TTCCGAAAGT GCCACACCAG AGTCCGTCC CCGGACTTCA
2851    GAATCAGCAA CACCCGAGTC CGGCCCTGGG TCTGAACCCG CCACAAGTGG

```

[0333]

2901 TAGTGAGACA CCAGGATCAG AACCTGCTAC CTCAGGGTCA GAGACACCCG
 2951 GATCTCCGGC AGGCTCACC AACTCCACTG AGGAGGGCAC CAGCACAGAA
 3001 CCAAGCGAGG GCTCCGCACC CGGAACAAGC ACTGAACCCA GTGAGGGTTC
 3051 AGCACCCGGC TCTGAGCCGG CCACAAGTGG CAGTGAGACA CCGGGCACTT
 3101 CAGAGAGTGC CACCCCGAG AGTGGCCAG GCAC TAGTAC CGAGCCCTCT
 3151 GAAGGCAGTG CGCCAGCCTC GAGCCACCA GTCTTGAAAC GCCATCAAGC
 3201 TGAAATAACT CGTACTACTC TTCAGTCAGA TCAAGAGGAA ATCGATTATG
 3251 ATGATACCAT ATCAGTTGAA ATGAAGAAGG AAGATTTTGA CATTTATGAT
 3301 GAGGATGAAA ATCAGAGCCC CCGCAGCTTT CAAAAGAAAA CACGACACTA
 3351 TTTTATTGCT GCAGTGGAGA GGCTCTGGGA TTATGGGATG AGTAGCTCCC
 3401 CACATGTTCT AAGAAACAGG GCTCAGAGTG GCAGTGTCCC TCAGTTCAAG
 3451 AAAGTTGTTT TCCAGGAATT TACTGATGGC TCCTTTACTC AGCCCTTATA
 3501 CCGTGGAGAA CTAAATGAAC ATTGGGACT CCTGGGGCCA TATATAAGAG
 3551 CAGAAGTTGA AGATAATATC ATGGTAACTT TCAGAAATCA GGCTCTCGT
 3601 CCCTATTCTT TCTATTCTAG CCTTATTCTT TATGAGGAAG ATCAGAGGCA
 3651 AGGAGCAGAA CCTAGAAAAA ACTTTGTCAA GCCTAATGAA ACCAAACATT
 3701 ACTTTTGAA AGTGCAACAT CATATGGCAC CCACATAAGA TGAGTTGAC
 3751 TGCAAAGCTT GGGCTTATTT CTCTGATGTT GACCTGGAAA AAGATGTGCA
 3801 CTCAGGCCCT ATTGGACCCC TTCTGGTCTG CCACACTAAC ACACTGAACC
 3851 CTGCTCATGG GAGACAAGTG ACAGTACAGG AATTGTCTCT GTTTTTCACC
 3901 ATCTTTGATG AGACCAAAAG CTGGTACTTC ACTGAAAATA TGGAAAGAAA
 3951 CTGCAGGGCT CCCTGCAATA TCCAGATGGA AGATCCCACT TTTAAAGAGA
 4001 ATTATCGCTT CCATGCAATC AATGGCTACA TAATGGATAC ACTACCTGGC
 4051 TTAGTAATTG CTCAGGATCA AAGGATTCTG TGGTATCTGC TCAGCATGGG
 4101 CAGCAATGAA AACATCCATT CTATTCATTT CAGTGGACAT GTGTTCACTG
 4151 TACGAAAAAA AGAGGAGTAT AAAATGGCAC TGTAACAATCT CTATCCAGGT
 4201 GTTTTGTAGA CAGTGGAAAT GTTACCATTCC AAAGCTGGAA TTTGGCGGGT
 4251 GGAATGCCTT ATTGGCGAGC ATCTACATGC TGGGATGAGC ACACCTTTTC
 4301 TGGTGTACAG CAATAAGTGT CAGACTCCCC TGGGAATGGC TTCTGGACAC
 4351 ATTAGAGATT TTCAGATTAC AGCTTCAGGA CAATATGGAC AGTGGGCCCC
 4401 AAAGCTGGCC AGACTTCATT ATTCCGGATC AATCAATGCC TGGAGCACCA
 4451 AGGAGCCCTT TTCTTGGATC AAGGTGGATC TGTTGGCACC AATGATTATT
 4501 CACGGCATCA AGACCCAGGG TGCCCGTCAG AAGTTCTCCA GCCTCTACAT
 4551 CTCTCAGTTT ATCATCATGT ATAGTCTTGA TGGGAGAAG TGGCAGACTT
 4601 ATCGAGGAAA TTCCACTGGA ACCTTAATGG TCTTCTTTGG CAATGTGGAT
 4651 TCATCTGGGA TAAACACAA TATTTTAAAC CCTCCAATTA TTGCTCGATA
 4701 CATCCGTFTG CACCAACTC ATTATAGCAT TCGCAGCACT CTTCGCATGG
 4751 AGTTGATGGG CTGTGATTTA AATAGTTGCA GCATGCCATT GGGAATGGAG
 4801 AGTAAAGCAA TATCAGATGC ACAGATTACT GCTTCATCTC ACTTTACCAA
 4851 TATGTTTGCC ACCTGGTCTC CTCAAAGC TCGACTTCAC CTCCAAGGGA
 4901 GGAGTAATGC CTGGAGACCT CAGGTGAATA ATCCAAAAGA GTGGCTGCAA
 4951 GTGGACTTCC AGAAGACAAT GAAAGTCACA GGAGTAACCT CTCAGGGAGT
 5001 AAAATCTCTG CTTACCAGCA TGTATGTGAA GGAGTTCCTC ATCTCCAGCA
 5051 GTCAGATGCG CCATCAGTGG ACTCTCTTTT TTCAGAATGG CAAAGTAAAG
 5101 GTTTTTCAGG GAAATCAAGA CTCCTTCACA CCTGTGGTGA ACTCTCTAGA
 5151 CCCACCGTTA CTGACTCGCT ACCTTCGAAT TCACCCCCAG AGTTGGGTGC
 5201 ACCAGATTGC CCTGAGGATG GAGGTTCTGG GCTGCGAGGC ACAGGACCTC
 5251 TACGACAAGA AACTGTGTGA TTATTACGAG GACAGTTATG AAGATATTTT
 5301 AGCATACTTG CTGAGTAAAA ACAATGCCAT TGAACCAAGA AGCTTCTCTG
 5351 ACAAAACCTA CACATGCCCA CCGTGCCAG CTCCAGAACT CCTGGGCGGA
 5401 CCGTCAGTCT TCCTCTTCCC CCCAAAACCC AAGGACACCC TCATGATCTC
 5451 CCGGACCCCT GAGGTCACAT GCGTGGTGGT GGACGTGAGC CACGAAGACC
 5501 CTGAGGTCAA GTTCAACTGG TACGTGGACG GCGTGGAGGT GCATAATGCC
 5551 AAGACAAAGC CGCGGGAGGA GCAGTACAAC AGCACGTACC GTGTGGTCAG
 5601 CGTCTCTACC GTCTTGACAC AGGACTGGCT GAATGGCAAG GAGTACAAGT
 5651 GCAAGGTCTC CAACAAAGCC CTCCCAGCCC CCATCGAGAA AACCATCTCC
 5701 AAAGCCAAAG GGCAGCCCCG AGAACCACAG GTGTACACCC TGCCCCCATC

[0334]

5751 CCGGATGAG CTGACCAAGA ACCAGGTCAG CCTGACCTGC CTGGTCAAAG
 5801 GCTTCTATCC CAGCGACATC GCCGTGGAGT GGGAGAGCAA TGGGCAGCCG
 5851 GAGAACAACT ACAAGACCAC GCCTCCCGTG TTGGAATCCG ACGGCTCCCT
 5901 CTTCCTCTAC AGCAAGCTCA CCGTGGACAA GAGCAGGTGG CAGCAGGGGA
 5951 ACGTCTTCTC ATGCTCCGTG ATGCATGAGG CTCTGCACAA CCACTACACG
 6001 CAGAAGAGCC TCTCCCTGTC TCCGGGTAAA TGA

[0335]

[0336]

pSYN FVIII 286 단백질 서열(FVIII와 Fc 사이에 추가의 a2 영역을 지닌 FVIII-Fc; 굵은 글씨 및 밑줄로 나타냄)(서열 번호 86)

```

1   ATRRYYLGA V ELSWDYMQSD LGELPVDARF PPRVPKSFPP NTSVVYKKT L
51  FVEFTDHLFN IAKPRPPWMG LLGPTIQAEV YDTVITLKN MASHPVS LHA
101 VGVSYWKASE GA EYDDQTSQ REKEDDKVFP GGSHTYVWQV LKENGPMASD
151 PLCLTYSYLS HVDLVKDLNS GLIGALLVCR EGSLAKEKTQ TLHKFILLFA
201 VFDEGKSWHS ETKNLSMQDR DAASARAWPK MHTVNGYVNR SLPGLIGCHR
251 KSVYWHVIGM GTTPEVHSIF LEGHTFLVRN HRQASLEISP ITFLTAQTL L
301 MDLGQFLLFC HISSHQHDCM EAYVKVDSCP EEPQLRMKN EEAEDYDDDL
351 TDSEMDVVR F DDDNSPSFIQ IRSVAKKHPK TWVHYIAAEE EDWDYAPLVL
401 APDDRSYKSQ YLNNGPQRIG RKYKKVRFMA YTDETFKTRE AIQHESGILG
451 PLLYGEVGD T LLIIIFKNQAS RPYNIYPHGI TDVRPLYSRR LPKGVKHLKD
501 FPILPGEIFK YKWTVTVEDG PTKSDPRCLT RYYSSFVNME RDLASGLIGP
551 LLICYKESVD QRGNQIMSDK RNVILFSVFD ENRSWYLTEN IQRFLPNPAG
601 VQLEDPEFQA SNIMHSINGY VFDSLQLSVC LHEVAYWYIL SIGAQTDFLS
651 VFFSGYT FKH KMYEDTLTL FPFSGETVFM SMENPGLWIL GCHNSDFRNR
701 GMTALLKVSS CDKNTGDYYE DSYEDISAYL LSKNNAIEPR SFSQNGAPGT
751 SESATPESGP GSEPATSGSE TPGTSESATP ESGPGSEPAT SGSETPGTSE
801 SATPESGPGT STEPESGSAP GSPAGSPTST EEGTSESATP ESGPGSEPAT
851 SGSETPGTSE SATPESGPGS PAGSPTSTEE GSPAGSPTST EEGTSTEPSE
901 GSAPGTSESA TPESGPGTSE SATPESGPGT SESATPESGP GSEPATSGSE
951 TPGSEPATSG SETPGSPAGS PTSTEEGTST EPSEGSAPGT STEPSEGSAP
1001 GSEPATSGSE TPGTSESATP ESGPGTSTEP SEGSAPASSP PVLKRHQAEI
1051 TRTTLQSQQE EIDYDDTISV EMKKEDFDIY DEDENQSPRS FQKKTRHYFI
1101 AAVERLWDYG MSSSPHVL RN RAQSGSV PQF KKVVFQEFTD GSFTQPLYRG
1151 ELNEHLGLLG PYIRAEVEDN IMVTFRNQAS RPYSFYSSLX SYEEDQRQGA
1201 EPRKNFVKPN ETKTYFWXVQ HHMAPTKDEF DCKAWAYFSD VDLEKDVHSG
1251 LIGPLLVC HT NTLNPAHGRQ VTVQEFALFF TIFDETKSWY FTE NMERNCR
1301 APCNIQMEDP TFKENYRPHA INGYIMDTLP GLVMAQDQRI RWYLLSMGSN
1351 ENIHSIHFSG HVFTVRKKEE YKMALYNLYP GVFETVEMLP SKAGIWRVEC
1401 LIGEHLHAGM STLFLVYSNK CQTPLGMASG HIRDFQITAS GQYGQWAPKL
1451 ARLHYSGSIN AWSTKEPFSW IKVDLLAPMI IHGIKTQGAR QKFSSLYISQ
1501 FIIMYSLD GK KWQTYRGNST GTLMVFFGNV DSSGIKHNI F NPPIIARYIR
1551 LHPTHYSIRS TLRMELMGCD LNSCSMPLGM ESKAISDAQI TASSYFTNMF
1601 ATWSPSKARL HLQGRSNAWR PQVNNPKEWL QVDFQKTMKV TGVTTQGVKS
1651 LLTSMYVKEF LISSSQDGHQ WTLFFQNGKV KVFQGNQDSF TPVNSLDPP
1701 LLTRYLRIRHP QSWVHQIALR MEVLGCEAQD LYDKNTGDYY EDSYEDISAY
1751 LLSKNNAIEP RSFSDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT
1801 PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL
1851 TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD
1901 ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSDGSFFL
1951 YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNNY TQKSLSLSPG K*

```

[0337]

[0338] FVIII 169 뉴클레오타이드 서열(서열 번호 87)

```

1   ATGCA AATAG AGCTC TCCAC CTGCT TCTTT CTGTG CCTTT TGCGA TTCTG
51  CTTTA GTGCC ACCAG AAGAT ACTAC CTGGG TGCAG TGGAA CTGTC ATGGG
101 ACTAT ATGCA AAGTG ATCTC GGTGA GCTGC CTGTG GACGC AAGAT TTCCT

```

[0339]


```

151 CCTAG AGTGC CAAAA TCTTT TCCAT TCAAC ACCTC AGTCG TGTAC AAAAA
201 GACTC TGTTT GTAGA ATTCA CGGAT CACCT TTTCA ACATC GCTAA GCCAA
251 GGCCA CCGTG GATGG GTCTG CTAGG TCCTA CCATC CAGGC TGAGG TTTAT
301 GATAC AGTGG TCATT ACACT TAAGA ACATG GCTTC CCATC CTGTC AGTCT
351 TCATG CTGTT GGTGT ATCCT ACTGG AAAGC TTCTG AGGGA GCTGA ATATG
401 ATGAT CAGAC CAGTC AAAGG GAGAA AGAAG ATGAT AAAGT CTTCC CTGGT
451 GGAAG CCATA CATAT GTCTG GCAGG TCCTG AAAGA GAATG GTCCA ATGGC
501 CTCTG ACCCA CTGTG CCTTA CCTAC TCATA TCTTT CTCAT GTGGA CTGG
551 TAAAA GACTT GAATT CAGGC CTCAT TGGAG CCTA CTAGT ATGTA GAGAA
601 GGGAG TCTGG CCAAG GAAAA GACAC AGACC TTGCA CAAAT TTATA CTACT
651 TTTTG TTGTA TTTGA TGAAG GGAAA AGTTG GCACT CAGAA ACAA GAACT
701 CCTTG ATGCA GGATA GGGAT GCTGC ATCTG CTCGG GCCTG GCCTA AAATG
751 CACAC AGTCA ATGGT TATGT AAACA GGTCT CTGCC AGGTC TGATT GGATG
801 CCACA GGAAA TCAGT CTATT GGCAT GTGAT TGGAA TGGGC ACCAC TCCTG
851 AAGTG CACTC AATAT TCCTC GAAGG TCACA CATTT CTTGT GAGGA ACCAT
901 CGCCA GGCTA GCTTG GAAAT CTCGC CAATA ACTTT CCTTA CTGCT CAAAC
951 ACTCT TGATG GACCT TGGAC AGTTT CTACT GTTTT GTCAT ATCTC TTCCC
1001 ACCAA CATGA TGGCA TGGAA GCTTA TGTCA AAGTA GACAG CTGTC CAGAG
1051 GAACC CCAAC TACGA ATGAA AAATA ATGAA GAAGC GGAAG ACTAT GATGA
1101 TGATC TTACT GATTG TGAAG TGGAT GTGGT CAGGT TTGAT GATGA CAACT
1151 CTCTT TCCTT TATCC AAATT CGCTC AGTTG CCAAG AAGCA TCCTA AAACCT
1201 TGGGT ACATT ACATT GCTGC TGAAG AGGAG GACTG GGACT ATGCT CCCTT
1251 AGTCC TCGCC CCCGA TGACA GAAGT TATAA AAGTC AATAT TTGAA CAATG
1301 GCCCT CAGCG GATTG GTAGG AAGTA CAAAA AAGTC CGATT TATGG CATAC
1351 ACAGA TGAAA CCTTT AAGAC TCGTG AAGCT ATTCA GCATG AATCA GGAAT
1401 CTTGG GACCT TTACT TTATG GGGAA GTTGG AGACA CACTG TTGAT TATAT
1451 TTAAG AATCA AGCAA GCAGA CCATA TAACA TCTAC CCTCA CGGAA TCACT
1501 GATGT CCGTC CTTTG TATTC AAGGA GATTA CCAAA AGGTG TAAAA CATTT
1551 GAAGG ATTTT CCAAT TCTGC CAGGA GAAAT ATTCA AATAT AAATG GACAG
1601 TGACT GTAGA AGATG GGCCA ACTAA ATCAG ATCCT CGGTG CCTGA CCGGC
1651 TATTA CTCTA GTTTC GTTAA TATGG AGAGA GATCT AGCTT CAGGA CTCAT
1701 TGGCC CTCTC CTCAT CTGCT ACAA GAATC TGTA AGAGG AAACC
1751 AGATA ATGTC AGACA AGAGG AATGT CATCC TGTTC TCTGT ATTTG ATGAG
1801 AACC GAGCT GGTAC CTCAC AGAGA ATATA CAACG CTTTC TCCCC AATCC
1851 AGCTG GAGTG CAGCT TGAGG ATCCA GAGTT CCAAG CCTCC AACAT CATGC
1901 ACAGC ATCAA TGGCT ATGTT TTTGA TAGTT TGCAG TTGTC AGTTT GTTTG
1951 CATGA GGTGG CATA CAGTA CATTC TAAGC ATTGG AGCAC AGACT GACTT
2001 CCTTT CTGTC TTCTT CTCTG GATAT ACCTT CAAAC ACAA ATGGT CTATG
2051 AAGAC AACT CACCC TATTC CCATT CTCAG GAGAA ACTGT CTTCA TGTCG
2101 ATGGA AAACC CAGGT CTATG GATTC TGGGG TGCCA CAACT CAGAC TTTCG
2151 GAACA GAGGC ATGAC CGCCT TACTG AAGGT TTCTA GTTGT GACAA GAACA
2201 CTGGT GATTA TTACG AGGAC AGTTA TGAAG ATATT TCAGC ATACT TGCTG
2251 AGTAA AAACA ATGCC ATTGA ACCAA GAAGC TTCTC TCAAA ACGGC GCGCC
2301 AGGTA CCTCA GAGTC TGCTA CCCCC GAGTC AGGGC CAGGA TCAGA GCCAG
2351 CCACC TCCGG GTCTG AGACA CCGG GACTT CCGAG AGTGC CACCC CTGAG
2401 TCCGG ACCCG GGTCC GAGCC CGCCA CTTC GGCTC CGAAA CTCCC GGCAC
2451 AAGCG AGAGC GCTAC CCCAG AGTCA GGACC AGGAA CATCT ACAGA GCCCT
2501 CTGAA GGCTC CGCTC CAGGG TCCCC AGCCG GCAGT CCCAC TAGCA CCGAG
2551 GAGGG AACCT CTGAA AGCGC CACAC CCGAA TCAGG GCCAG GGTCT GAGCC
2601 TGCTA CCAGC GGCAG CGAGA CACCA GGCAC CTCTG AGTCC GCCAC ACCAG
2651 AGTCC GGACC CGGAT CTCCC GCTGG GAGCC CCACC TCCAC TGAGG AGGGA
2701 TCTCC TGCTG GCTCT CCAAC ATCTA CTGAG GAAGG TACCT CAACC GAGCC
2751 ATCCG AGGGA TCAGC TCCCC GCACC TCAGA GTCGG CAACC CCGGA GTCTG
2801 GACCC GGAAC TTCCG AAAGT GCCAC ACCAG AGTCC GGTCC CGGGA CTTC
2851 GAATC AGCAA CACCC GAGTC CGGCC CTGGG TCTGA ACCCG CCACA AGTGG
2901 TAGTG AGACA CCAGG ATCAG AACCT GCTAC CTCAG GGTCA GAGAC ACCCG
2951 GATCT CCGGC AGGCT CACCA ACCTC CACTG AGGAG GGCAC CAGCA CAGAA

```

[0340]

3001 CCAAG CGAGG GCTCC GCACC CGGAA CAAGC ACTGA ACCCA GTGAG GGTTC
3051 AGCAC CCGGC TCTGA GCCGG CCACA AGTGG CAGTG AGACA CCCGG CACTT
3101 CAGAG AGTGC CACCC CCGAG AGTGG CCCAG GCACT AGTAC CGAGC CCTCT
3151 GAAGG CAGTG CGCCA GCCTC GAGCC CACCA GTCTT GAAAC GCCAT CAAGC
3201 TGAAA TAACT CGTAC TACTC TTCAG TCAGA TCAAG AGGAA ATCGA TTATG
3251 ATGAT ACCAT ATCAG TTGAA ATGAA GAAGG AAGAT TTTGA CATTT ATGAT
3301 GAGGA TGAAA ATCAG AGCCC CCGCA GCTTT CAAAA GAAAA CACGA CACTA
3351 TTTTA TTGCT GCAGT GGAGA GGCTC TGGGA TTATG GGATG AGTAG CTCCC
3401 CACAT GTTCT AAGAA ACAGG GCTCA GAGTG GCAGT GTCCC TCAGT TCAAG
3451 AAAGT TGTTT TCCAG GAAAT TACTG ATGGC TCCTT TACTC AGCCC TTATA
3501 CCGTG GAGAA CTAAA TGAAC ATTTG GGACT CCTGG GGCCA TATAT AAGAG
3551 CAGAA GTTGA AGATA ATATC ATGGT AACTT TCAGA AATCA GGCCT CTCGT
3601 CCCTA TTCTT TCTAT TCTAG CCTTA TTCTT TATGA GGAAG ATCAG AGGCA
3651 AGGAG CAGAA CCTAG AAAAA ACTTT GTCAA GCCTA ATGAA ACCAA AACTT
3701 ACTTT TGAAA AGTGC AACAT CATAT GGCAC CCACT AAAGA TGAGT TTGAC
3751 TGCAA AGCCT GGGCT TATTT CTCTG ATGTT GACCT GGAAG AAGAT GTGCA
3801 CTCAG GCCTG ATTGG ACCCC TTCTG GTCTG CCACA CTAAC ACACT GAACC
3851 CTGCT CATGG GAGAC AAGTG ACAGT ACAGG AATTT GCTCT GTTTT TCACC
3901 ATCTT TGATT GAGC AAAAG CTGGT ACTTC ACTGA AAATA TGGAA AGAAA
3951 CTGCA GGGCT CCCTG CAATA TCCAG ATGGA AGATC CCACT TTTAA AGAGA
4001 ATTAT CGCTT CCATG CAATC AATGG CTACA TAATG GATAC ACTAC CTGGC
4051 TTAGT AATGG TCTAG GATCA AAGGA TTCGA TGGTA TCTGC TCAGC ATGGG
4101 CAGCA ATGAA AACAT CCATT CTATT CATTT CAGTG GACAT GTGTT CACTG
4151 TACGA AAAAA AGAGG AGTAT AAAAT GGCAC TGTAC AATCT CTATC CAGGT
4201 GTTTT TGAGA CAGTG GAAAT GTTAC CATCC AAAGC TGGAA TTTGG CGGGT
4251 GGAAT GCCTT ATTGG CGAGC ATCTA CATGC TGGGA TGAGC ACACT TTTTC
4301 TGGTG TACAG CAATA AGTGT CAGAC TCCCC TGGGA ATGGC TTCTG GACAC
4351 ATTAG AGATT TTCAG ATTAC AGCTT CAGGA CAATA TGGAC AGTGG GCCCC
4401 AAAGC TGGCC AGACT TCATT ATTCC GGATC AATCA ATGCC TGGAG CACCA
4451 AGGAG CCCTT TTCTT GGATC AAGGT GGATC TGTTG GCACC AATGA TTATT
4501 CACGG CATCA AGACC CAGGG TGCCC GTGAC AAGTT CTCCA GCCTC TACAT
4551 CTCTC AGTTT ATCAT CATGT ATAGT CTTGA TGGGA AGAAG TGGCA GACTT
4601 ATCGA GGAAG TTCCA CTGGA ACCTT AATGG TCTTC TTTGG CAATG TGGAT
4651 TCATT TGGGA TAAAA CACAA TATTT TTAAC CCTCC AATTA TTGCT CGATA
4701 CATCC GTTTG CACCC AACTC ATTAT AGCAT TCGCA GCACT CTTCC CATGG
4751 AGTTG ATGGG CTGTG ATTTA AATAG TTGCA GCATG CCATT GGGAA TGGAG
4801 AGTAA AGCAA TATCA GATGC ACAGA TTACT GCTTC ATCCT ACTTT ACCAA
4851 TATGT TTGCC ACCTG GTCTC CTTCA AAAGC TCGAC TTCAC CTCCA AGGGA
4901 GGAGT AATGC CTGGA GACCT CAGGT GAATA ATCCA AAAGA GTGGC TGCAA
4951 GTGGA CTTCC AGAAG ACAAT GAAAG TCACA GGAGT AACTA CTCAG GGAGT
5001 AAAAT CTCTG CTTAC CAGCA TGTAT GTGAA GGAGT TCCTC ATCTC CAGCA
5051 GTCAA GATGG CCATC AGTGG ACTCT CTTTT TTCAG AATGG CAAAG TAAAG
5101 GTTTT TCAGG GAAAT CAAGA CTCCT TCACA CCTGT GGTGA ACTCT CTAGA
5151 CCCAC CGTTA CTGAC TCGCT ACCTT CGAAT TCACC CCCAG AGTTG GGTGC
5201 ACCAG ATTGC CCTGA GGATG GAGGT TCTGG GCTGC GAGGC ACAGG ACCTC
5251 TACGA CAAAA CTCAC ACATG CCCAC CGTGC CCAGC TCCAG AACTC CTGGG
5301 CGGAC CGTCA GTCTT CCTCT TCCCC CCAAA ACCCA AGGAC ACCCT CATGA
5351 TCTCC CGGAC CCCTG AGGTC ACATG CGTGG TGGTG GACGT GAGCC ACGAA
5401 GACCC TGAGG TCAAG TTCAA CTGGT ACGTG GACGG CGTGG AGGTG CATAA
5451 TGCCA AGACA AAGCC GCGGG AGGAG CAGTA CAACA GCAGC TACCG TGTGG
5501 TCAGC GTCCT CACCG TCCTG CACCA GGACT GGCTG AATGG CAAGG AGTAC
5551 AAGTG CAAGG TCTCC AACAA AGCCC TCCCA GCCCC CATCG AGAAA ACCAT
5601 CTCCA AAGCC AAAGG GCAGC CCCGA GAACC ACAGG TGTAC ACCCT GCCCC
5651 CATCC CGGGA TGAGC TGACC AAGAA CCAGG TCAGC CTGAC CTGCC TGGTC
5701 AAAGG CTCTT ATCCC AGCGA CATCG CCGTG GAGTG GGAGA GCAAT GGGCA
5751 GCCGG AGAAC AACTA CAAGA CCACG CCTCC CGTGT TGGAC TCCGA CGGCT
5801 CCTTC TTGCT CTACA GCAAG CTCAC CGTGG ACAAG AGCAG GTGGC AGCAG

5851 GGGAA CGTCT TCTCA TGCTC CGTGA TGCAT GAGGC TCTGC ACAAC CACTA
5901 CACGC AGAAG AGCCT CTCCC TGTCT CCGGG TAAAT GA

[0344] FVIII 169 단백질 서열(서열 번호 88)

```

1      MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP
51     PRVPKSFPPN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY
101    DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG
151    GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE
201    GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM
251    HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH
301    RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE
351    EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT
401    WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY
451    TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDIT LIIFKNQASR PYNIPHGIT
501    DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR
551    YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE
601    NRSWYL TENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL
651    HEVAYWYILS IGAQTDPLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFM
701    MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYIED SYEDISAYLL
751    SKNAIEPRS FSQNGAPGTS ESATPESGPG SEPATSGSET PGTSSESATPE
801    SGPGSEPATS GSETPGTSES ATPESGPGTS TEPSEGSAPG SPAGSPTSTE
851    EGTSESATPE SGPGSEPATS GSETPGTSES ATPESGPGSP AGSPTSTEEG
901    SPAGSPTSTE EGTSTEPSEG SAPGTSESAT PESGPGTSES ATPESGPGTS
951    ESATPESGPG SEPATSGSET PGSEPATSGS ETPGSPAGSP TSTEEGTSTE
1001   PSEGSAPGTS TEPSEGSAPG SEPATSGSET PGTSSESATPE SGPSTSTEPS
1051   EGSA PASSPP VLKRHQAEIT RTTLQSDQEE IDYDDTISVE MKKEDFDIYD
1101   EDENQSPRSF QKKTRHYFIA AVERLWDYGM SSSPHVLNR AQS GSV PQFK
1151   KVVQEFTDQ SFTQPLYRGE LNEHLGLLGP YIRAEVEDNI MVTFRNQASR
1201   PYSFYSSLIS YEEDQRQGA PRKNFVKPNE TKTYFWKVQH HMAPTKDEFD
1251   IKAWAYFSDV DLEKDVHSG LIGPLLVCHTN TLNPAHQGV TVQEFALFFT
1301   IFDETKSWYF TENMERNCRA PCNIQMEDPT FKENYRFHAI NGYIMDTLPG
1351   LVMAQDQRI R WYLLSMGSNE NIHSIHFSGH VFTVRKKEEY KMALYNLYPG
1401   VFETVEMLPS KAGIWRVECL IGEHLHAGMS TLFLVYSNKC QTPLGMASGH
1451   IRDFQITASG QYGQWAPKLA RLHYSGSINA WSTKEPFSWI KVDLLAPMII
1501   HGIKTQGARQ KFSSLYISQF IIMYSLDGKK WQTYRGNSTG TLMVFFGNVD
1551   SSGIKHNIFN PPIIARYIRL HPTHYSIEST LRMELMGCDL NSCSMPLGME
1601   SKAISDAQIT ASSYFTNMFA TWSPSKARLH LQGRSNAWRP QVNNPKEWLQ
1651   VDFQKTMKVT GVTQTQGVKSL LTSMYVKEFL ISSSQDGHQW TLFFQNGKVK
1701   VFQGNQDSFT PVVNSLDPPL LTRYLRHPQ SWVHQIALRM EVLGCEAQDL
1751   YDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTSEV TCVVVDVSHE
1801   DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
1851   KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV
1901   KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
1951   GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

```

[0345]

[0346] VWF034 뉴클레오타이드 서열(서열 번호 91)

```

1      ATGAT TCCTG CCAGA TFTGC CGGGG TGCTG CTGTC TCTGG CCCTC ATTTT
51     GCCAG GGACC CTTTG TGCAG AAGGA ACTCG CGGCA GGTCA TCCAC GGCCC
101    GATGC AGCCT TTTTC GAAGT GACTT CGTCA ACACC TTTGA TGGGA GCATG
151    TACAG CTTTG CGGGA TACTG CAGTT ACCTC CTGGC AGGGG GCTGC CAGAA
201    ACGCT CCTTC TCGAT TATTG GGGAC TTCCA GAATG GCAAG AGAGT GAGCC
251    TCTCC GTGTA TCTTG GGGAA TTTT TGACA TCCAT TTGTT TGTC A ATGGT
301    ACCGT GACAC AGGGG GACCA AAGAG TCTCC ATGCC CTATG CCTCC AAAGG
351    GCTGT ATCTA GAAAC TGAGG CTGGG TACTA CAAGC TGTC GGTGA GGCCT
401    ATGGC TTTGT GGCCA GGATC GATGG CAGCG GCAAC TTTCA AGTCC TGCTG

```

[0347]

451 TCAGA CAGAT ACTTC AACAA GACCT GCGGG CTGTG TGGCA ACTTT AACAT
 501 CTTTG CTGAA GATGA CTTTA TGACC CAAGA AGGGA CCTTG ACCTC GGACC
 551 CTTAT GACTT TGCCA ACTCA TGGGC TCTGA GCAGT GGAGA ACAGT GGTGT
 601 GAACG GGCAT CTCCT CCCAG CAGCT CATGC AACAT CTCCT CTGGG GAAAT
 651 GCAGA AGGGC CTGTG GGAGC AGTGC CAGCT TCTGA AGAGC ACCTC GGTGT
 701 TTGCC CGCTG CCACC CTCTG GTGGA CCCC GAGCT TTTGT GGCCC TGTGT
 751 GAGAA GACTT TGTGT GAGTG TGCTG GGGGG CTGGA GTGCG CCTGC CCTGC
 801 CCTCC TGGAG TACGC CCGGA CCTGT GCCCA GGAGG GAATG GTGCT GTACG
 851 GCTGG ACCGA CCACA GCGCG TGCAG CCCAG TGTGC CCTGC TGGTA TGGAG
 901 TATAG GCAGT GTGTG TCCCC TTGCG CCAGG ACCTG CCAGA GCCTG CACAT
 951 CAATG AAATG TGTCA GGAGC GATGC GTGGA TGGCT GCAGC TGCCC TGAGG
 1001 GACAG CTCCT GGATG AAGGC CTCTG CGTGG AGAGC ACCGA GTGTC CCTGC
 1051 GTGCA TTCCG GAAAG CGCTA CCCTC CCGGC ACCTC CCTCT CTCGA GACTG
 1101 CAACA CTGCG ATTTG CCGAA ACAGC CAGTG GATCT GCAGC AATGA AGAAT
 1151 GTCCA GGGGA GTGCC TTGTC ACTGG TCAAT CCCAC TTCAA GAGCT TTGAC
 1201 AACAG ATACT TCACC TTGAG TGGGA TCTGC CAGTA CCTGC TGGCC CGGGA
 1251 TTGCC AGGAC CACTC CTTCT CCATT GTCAT TGAGA CTGTC CAGTG TGCTG
 1301 ATGAC CGCGA CGCTG TGTGC ACCCG CTCCTG TCACC GTCCG GCTGC CTGGC
 1351 CTGCA CAACA GCCTT GTGAA ACTGA AGCAT GGGGC AGGAG TTGCC ATGGA
 1401 TGGCC AGGAC ATCCA GCTCC CCCTC CTGAA AGGTG ACCTC CGCAT CCAGC
 1451 ATACA GTGAC GGCCT CCGTG CGCCT CAGCT ACGGG GAGGA CTGCG AGATG
 1501 CAGTG GGATG GCCCG GGGAG GCTGC TGGTG AAGCT GTCCC CCGTC TATGC
 1551 CGGGA AGACC TGCGG CCTGT GTGGG AATTA CAATG GCAAC CAGGG CGACG
 1601 ACTTC CTTAC CCCCT CTGGG CTGGC GGAGC CCGG GTGGA GGAAT TCGGG
 1651 AACGC CTGGA AGCTG CACGG GGACT GCCAG GACCT GCAGA AGCAG CACAG
 1701 CGATC CCTGC GGCCT CAACC CGCGC ATGAC CAGGT TCTCC GAGGA GCGGT
 1751 GCGCG GTCCCT GACGT CCCCC ACATT CGAGG CCTGC CATCG TGCCG TCAGC
 1801 CCGCT GCCCT ACCTG CGGAA CTGCC GCTAC GACGT GTGCT CCTGC TCGGA
 1851 CGGCC GCGAG TGCCCT GTGCG GCGCC CTGGC CAGCT ATGCC GCGGC CTGCG
 1901 CGGGG AGAGG CGTGC GCGTC GCGTG GCGCG AGCCA GGCCG CTGTG AGCTG
 1951 AACTG CCCGA AAGGC CAGGT GTACC TGCAG TGCGG GACCC CCTGC AACCT
 2001 GACCT GCCCG TCTCT CTCTT ACCCG GATGA GGAAT GCAAT GAGGC CTGCC
 2051 TGGAG GGGTG CTTCT GCCCC CCAGG GCTCT ACATG GATGA GAGGG GGGAC
 2101 TGCGT GCGCA AGGCC CAGTG CCCC GTTAC TATGA CGGTG AGATC TTCCA
 2151 GCCAG AAGAC ATCTT CTGAG ACCAT CACAC CATGT GCTAC TGTGA GGATG
 2201 GCTTC ATGCA CTGTA CCATG AGTGG AGTCC CCGGA AGCTT GCTGC CTGAC
 2251 GCTGT CCTCA GCAGT CCCC GTCTC ATCGC AGCAA AAGGA GCCTA TCCTG
 2301 TCGGC CCCCC ATGGT CAAGC TGGTG TGTCC CGCTG ACAAC CTGCG GGCTG
 2351 AAGGG CTGCA GTGTA CAAAA ACGTG CCAGA ACTAT GACCT GGAGT GCATG
 2401 AGCAT GGGCT GTGTC TCTGG CTGCC CCCCC GGGCA TGGTC CGGCA
 2451 TGAGA ACAGA TGTGT GGCCC TGGAA AGGTG TCCCT GCTTC CATCA GGGCA
 2501 AGGAG TATGC CCCTG GAGAA ACAGT GAAGA TTGGC TGCAA CACTT GTGTC
 2551 TGTCG GGACC GGAAG TGGAA CTGCA CAGAC CATGT GTGTG ATGCC ACGTG
 2601 CTCCA CGATC GGCAT GGCCC ACTAC CTCAC CTTG ACGGG CTCAA ATACC
 2651 TGTTC CCCGG GGAGT GCCAG TACGT TCTGG TGCAG GATTA CTGCG GCAGT
 2701 AACCC TGGGA CCTTT CGGAT CCTAG TGGGG AATAA GGGAT GCAGC CACCC
 2751 CTCAG TGAAA TGCAA GAAAC GGGTC ACCAT CCTGG TGGAG GGAGG AGAGA
 2801 TTGAG CTGTT TGACG GGGAG GTGAA TGTGA AGAGG CCCAT GAAGG ATGAG
 2851 ACTCA CTTTG AGGTG GTGGA GTCTG GCCGG TACAT CATTC TGCTG CTGGG
 2901 CAAAG CCCTC TCCGT GGTCT GGGAC CGCCA CCTGA GCATC TCCGT GGTCC
 2951 TGAAG CAGAC ATACC AGGAG AAAGT GTGTG GCCTG TGTGG GAATT TTGAT
 3001 GGCAT CCAGA ACAAT GACCT CACCA GCAGC AACCT CCAAG TGGAG GAAGA
 3051 CCCTG TGGAC TTTGG GAACT CCTGG AAAGT GAGCT CGCAG TGTGC TGACA
 3101 CCAGA AAAGT GCCTC TGGAC TCATC CCCTG CCACC TGCCA TAACA ACATC
 3151 ATGAA GCAGA CGATG GTGGA TTCTT CCTGT AGAAT CCTTA CCAGT GACGT
 3201 CTTCC AGGAC TGCAA CAAGC TGGTG GACCC CGAGC CATAT CTGGA TGTCT
 3251 GCATT TAGCA CACCT GCTCC TGTGA GTCCA TTGGG GACTG CGCCG CATTG

[0348]

3301 TGC GA CACCA TTGCT GCCTA TGCCC ACGTG TGTGC CCAGC ATGGC AAGGT
3351 GGTGA CCTGG AGGAC GGCCA CATTG TGCCC CCAGA GCTGC GAGGA GAGGA
3401 ATCTC CGGGA GAACG GGTAT GAGGC TGAGT GGCGC TATAA CAGCT GTGCA
3451 CCTGC CTGTC AAGTC ACGTG TCAGC ACCCT GAGCC ACTGG CCTGC CCTGT
3501 GCAGT GTGTG GAGGG CTGCC ATGCC CACTG CCTC CAGGG AAAAT CCTGG
3551 ATGAG CTTTT GCAGA CCTGC GTTGA CCCTG AAGAC TGTCC AGTGT GTGAG
3601 GTGGC TGGCC GGCCT TTTGC CTCAG GAAAG AAAGT CACCT TGAAT CCCAG
3651 TGACC CTGAG CACTG CCAGA TTGTC CACTG TGATG TTGTC AACCT CACCT
3701 GTGAA GCCTG CCAGG AGCCG ATATC GGGTA CCTCA GAGTC TGCTA CCCCC
3751 GAGTC AGGGC CAGGA TCAGA GCCAG CCACC TCCGG GTCTG AGACA CCGCG
3801 GACTT CCGAG AGTGC CACCC CTGAG TCCGG ACCCG GGTCC GAGCC CGCCA
3851 CTTCC GGCTC CGAAA CTCCC GGCAC AAGCG AGAGC GCTAC CCCAG AGTCA
3901 GGACC AGGAA CATCT ACAGA GCCCT CTGAA GGCTC CGCTC CAGGG TCCCC
3951 AGCCG GCAGT CCCAC TAGCA CCGAG GAGGG AACCT CTGAA AGCGC CACAC
4001 CCGAA TCAGG GCCAG GGTCT GAGCC TGCTA CCAGC GGCAG CGAGA CACCA
4051 GGCAC CTCTG AGTCC GCCAC ACCAG AGTCC GGACC CGGAT CTCCC GCTGG
4101 GAGCC CCACC TCCAC TGAGG AGGGA TCTCC TGCTG GCTCT CCAAC ATCTA
4151 CTGAG GAAGG TACCT CAACC GAGCC ATCCG AGGGA TCAGC TCCCG GCACC
4201 TCAGA GTCCG CAACC CCGGA GTCTG GACCC GGAAC TCCCG AAAGT GCCAC
4251 ACCAG AGTCC GGTCC CGGGA CTCTA GAATC AGCAA CACCC GAGTC CGGCC
4301 CTGGG TCTGA ACCCG CCACA AGTGG TAGTG AGACA CCAGG ATCAG AACCT
4351 GCTAC CTCAG GGTCA GAGAC ACCCG GATCT CCGGC AGGCT CACCA ACCTC
4401 CACTG AGGAG GGCAC CAGCA CAGAA CCAAG CGAGG GCTCC GCACC CGGAA
4451 CAAGC ACTGA ACCCA GTGAG GGTTC AGCAC CCGGC TCTGA GCCCG CCACA
4501 AGTGG CAGTG AGACA CCCGG CACTT CAGAG AGTGC CACCC CCGAG AGTGG
4551 CCCAG GCACT AGTAC CGAGC CCTCT GAAGG CAGTG CGCCA GATTC TGGCG
4601 GTGGA GGTTC CGGTG GCGGG GGATC CGGTG GCGGG GGATC CGGTG GCGGG
4651 GGATC CGGTG GCGGG GGATC CCTGG TCCCC CCGGG CAGCG GAGGC GACAA
4701 AACTC ACACA TGCCC ACCGT GCCCA GCTCC AGAAC TCCTG GCGGG ACCGT
4751 CAGTC TTCCT CTTC CCCCC AAACC CAAGG ACACC CTCAT GATCT CCCGG
4801 ACCCC TGAGG TCACA TGCGT GGTGG TGGAC GTGAG CCACG AAGAC CCTGA
4851 GGTCA AGTTC AACTG GTACG TGGAC GGCCT GGAGG TGCAT AATGC CAAGA
4901 CAAAG CCGGG GGAGG AGCAG TACAA CAGCA CGTAC CGTGT GGTCA GCGTC
4951 CTCAC CGTCC TGAC CAGGA CTGGC TGAAT GGCAA GGAGT ACAAG TGCAA
5001 GGTCT CCAAC AAAGC CCTCC CAGCC CCCAT CGAGA AAACC ATCTC CAAAG
5051 CCAAA GGGCA GCCCC GAGAA CCACA GGTGT ACACC CTGCC CCCAT CCCGG
5101 GATGA GCTGA CCAAG AACCA GGTCA GCCTG ACCTG CCTGG TCAAA GGCTT
5151 CTATC CCAGC GACAT CGCCG TGGAG TGGGA GAGCA ATGGG CAGCC GGAGA
5201 ACAAC TACAA GACCA CGCCT CCCGT GTTGG ACTCC GACGG CTCCT TCTTC
5251 CTCTA CAGCA AGCTC ACCGT GGACA AGAGC AGGTG GCAGC AGGGG AACGT
5301 CTTCT CATGC TCCGT GATGC ATGAG GCTCT GCACA ACCAC TACAC GCAGA
5351 AGAGC CTCTC CCTGT CTCCG GGTAA ATGA

[0349]

[0350]

VWF034 단백질 서열(서열 번호 92)

1 MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNTFDGSM
51 YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG
101 TVTQGDQRV MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DSGNFFQVLL
151 SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC
201 ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC
251 EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWDHSA CSPVCPAGME
301 YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTECPC
351 VHS GKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TGQSHFKSFD
401 NRYFTFSGIC QYLLARDQD HSFSIVIE TV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG
451 LHNSLVKLKH GAGVAMDQD IQLPLLKGD L RIQHTVTASV RLSYGEDLQM

[0351]


```

501   DWDGRGRLLV KLSVPYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG
551   NAWKLHGDCQ DLQKQHSDDPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS
601   PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL
651   NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCT SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD
701   CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD
751   AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM
801   SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV
851   CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS
901   NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRPMKDE
951   THFEVVESGR YIILLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD
1001  GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTKKVPLD SSPATCHNNI
1051  MKQTMVDSSC RILTSDFQD CNKLVDPEPY LDVCIYDTCS CESIGDCAAF
1101  CDTIAAYAHV CAQHGVVTVW RTATLCPQSC EERNLRENGY EAEWRYNSCA
1151  PACQVTCQHP EPLACPVCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE
1201  VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP ISGTSESATP
1251  ESGPGSEPAT SGSETPGTSE SATPESGPGS EPATSGSETP GTSESATPES
1301  GPGTSTEPSE GSAPGSPAGS PTSTEEGTSE SATPESGPGS EPATSGSETP
1351  GTSESATPES GPGSPAGSPT STEEGSPAGS PTSTEEGTST EPSEGSAPGT
1401  SESATPESGP GTSESATPES GPGTSESATP ESGPGSEPAT SGSETPGSEP
1451  ATSGSETPGS PAGSPTSTEE GTSTEPSEGS APGTSTEPSE GSAPGSEPAT
1501  SGSETPGTSE SATPESGPGT STEPSEGSAP DIGGGGGSGG GGSIVPRGSG
1551  GDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE
1601  DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
1651  KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV
1701  KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
1751  GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK*

```

[0352]

[0353]

구체적인 구현예의 앞서의 기술은 본 발명의 일반적인 특성을 충분히 나타내므로, 다른 것은 당해 분야의 기술 내 지식을 적용함으로써, 본 발명의 일반적인 개념으로부터 벗어남이 없이, 과도한 실험없이도, 구체적인 구현예와 같은 다양한 적용에 대해 용이하게 개질시키고/시키거나 조정할 수 있다. 따라서, 이러한 조정 및 변형은 본원에 나타난 교시 및 안내를 기본으로 하여, 개제된 구현예의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본원의 어법 또는 학술용어는 설명의 목적이며 제한하는 것이 아니므로, 본 명세서의 학술용어 또는 어법은 교시 및 안내의 측면에서 숙련가에 의해 해석되어야 함이 이해되어야 한다.

[0354]

본 발명의 다른 실시예는 본원에서 개시된 본 발명의 명세서와 실시의 고려로부터 기술 분야에서의 당업자에게 명백할 것이다. 명세서 및 실시예는 예시로서만 고려되며, 본 발명의 실제 영역 및 취지는 다음의 특허청구범위에 의해 나타나는 것으로 의도된다.

[0355]

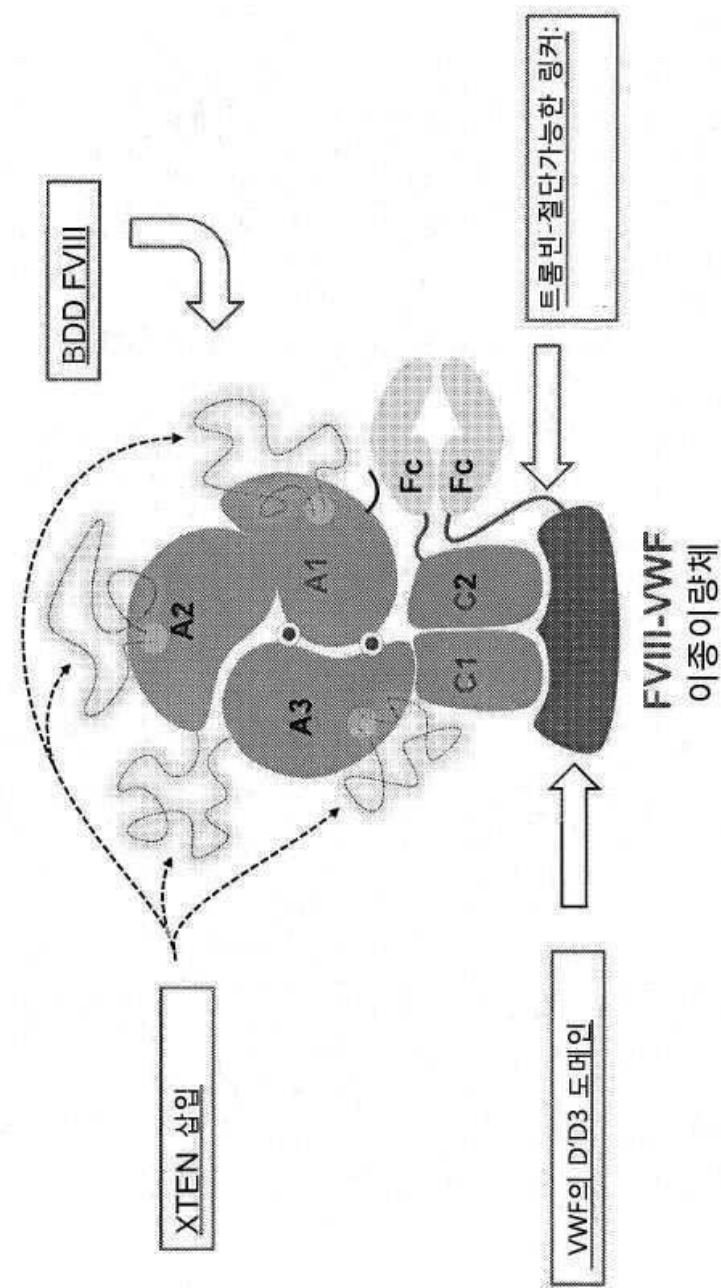
본원에 인용된 모든 특허 및 공보는, 이의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0356]

본 출원은 2013년 6월 28일자로 출원된 미국 가특허원 제61/840,872호의 우선권의 이익을 청구한다. 상기 출원의 내용은, 이의 전문이 참조로 포함된다.

도면

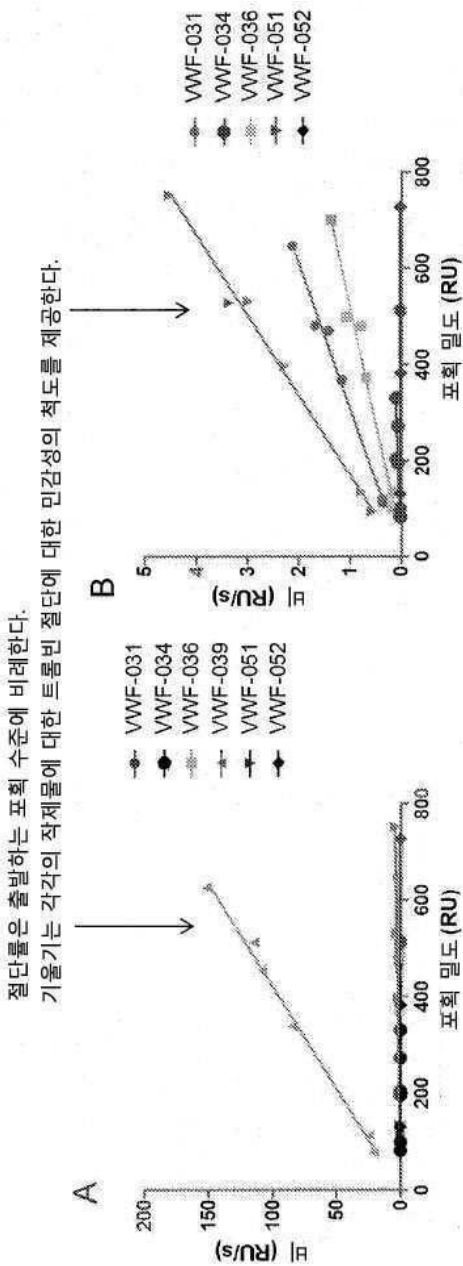
도면1



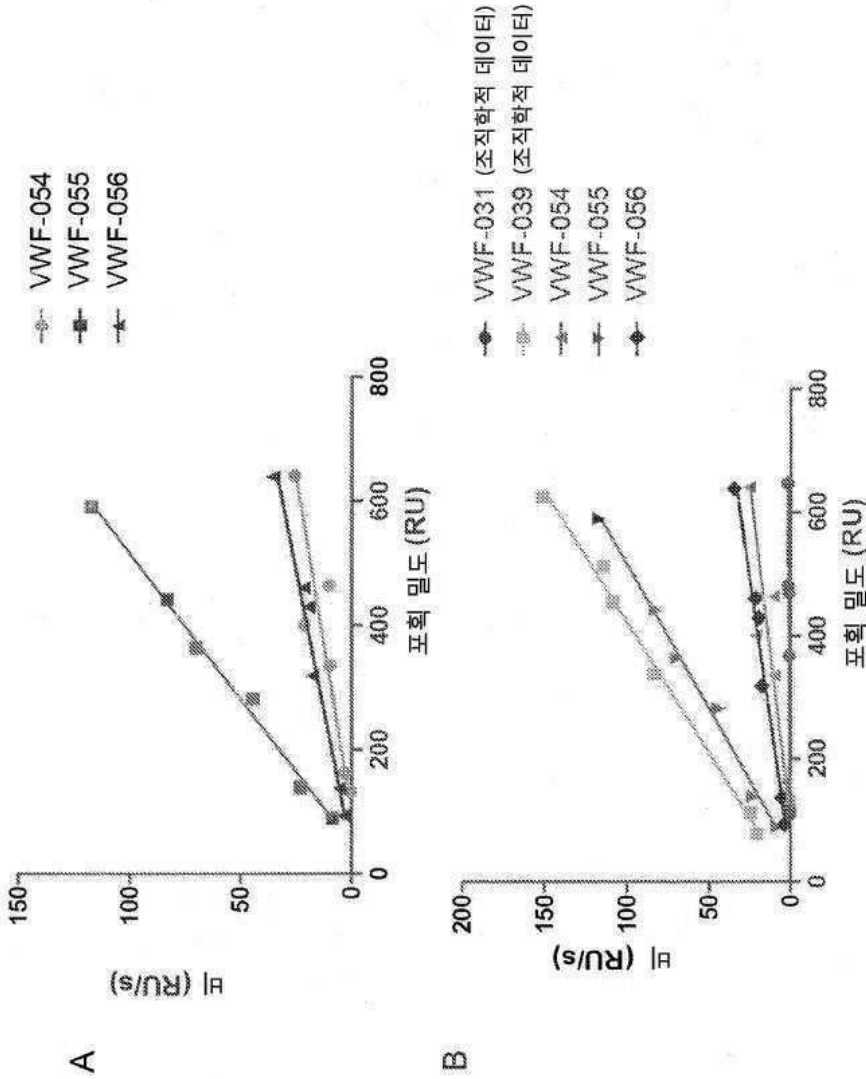
도면2

작제물	VWF-D'D3와 Fc 사이의 링커의 유형 및 길이
VWF-031	48aa (LVPR 부위)
VWF-034	288 XTEN+ 35aa (LVPR 부위)
VWF-035	73aa (LVPR 부위)
VWF-036	98aa (LVPR 부위)
VWF-039	26aa (LVPR+PAR1 부위)
VWF-051	54aa (ALRPRV 부위)
VWF-052	48aa (트롬빈 부위 번호)
VWF-054	40aa (FVIII로부터의 a1 거의 없음)
VWF-055	34aa (FVIII로부터의 a2 거의 없음)
VWF-056	46aa (FVIII로부터의 a3 거의 없음)

도면3



도면4

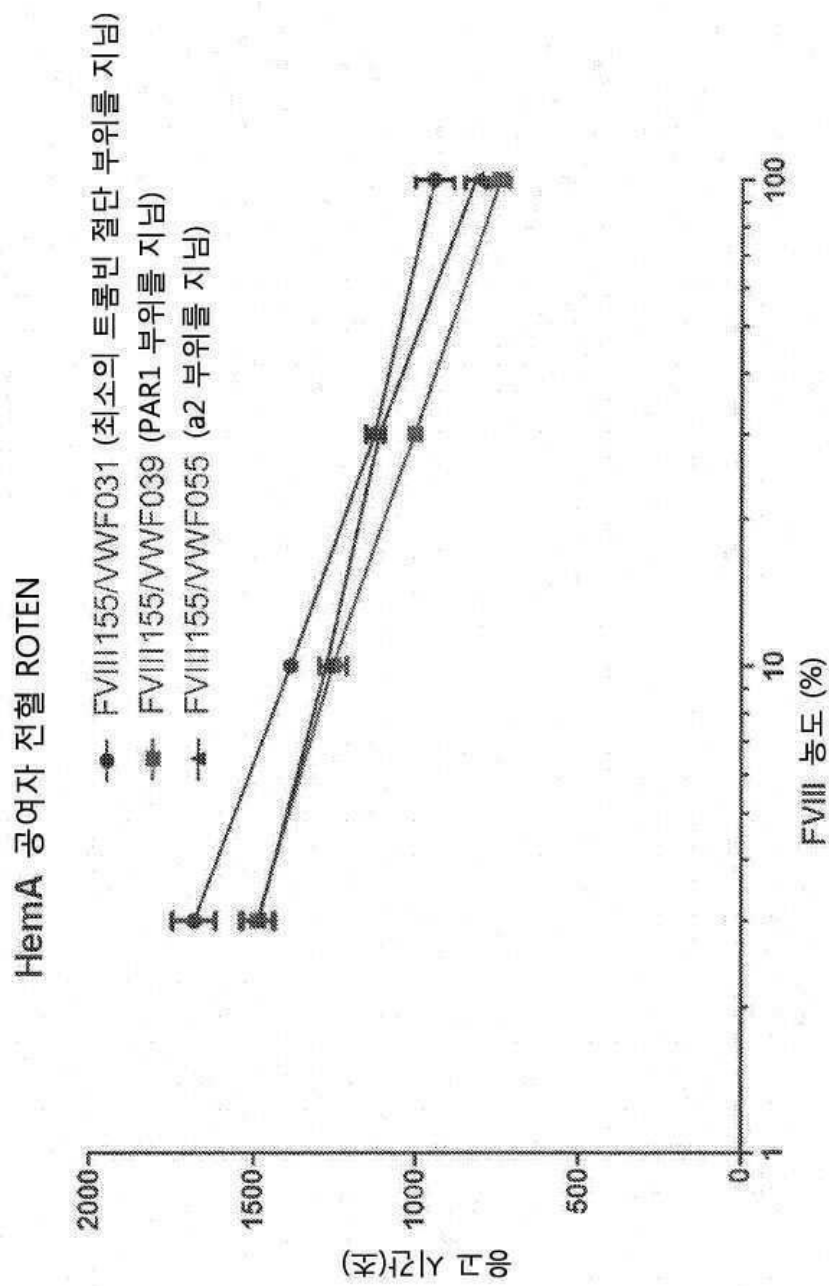


도면5

작제물	기울기(1/s)
VWF-031	$3.32 \times 10^{-3} \pm 0.16 \times 10^{-3}$
VWF-034	$0.31 \times 10^{-3} \pm 0.085 \times 10^{-3}$
VWF-036	$2.06 \times 10^{-3} \pm 0.18 \times 10^{-3}$
VWF-039	$235.4 \times 10^{-3} \pm 9.1 \times 10^{-3}$
VWF-051	$6.00 \times 10^{-3} \pm 0.27 \times 10^{-3}$
VWF-052	$0.02 \times 10^{-3} \pm 0.006 \times 10^{-3}$
VWF-054	$46.35 \times 10^{-3} \pm 11.53 \times 10^{-3}$
VWF-055	$213.5 \times 10^{-3} \pm 8.5 \times 10^{-3}$
VWF-056	$55.6 \times 10^{-3} \pm 4.5 \times 10^{-3}$

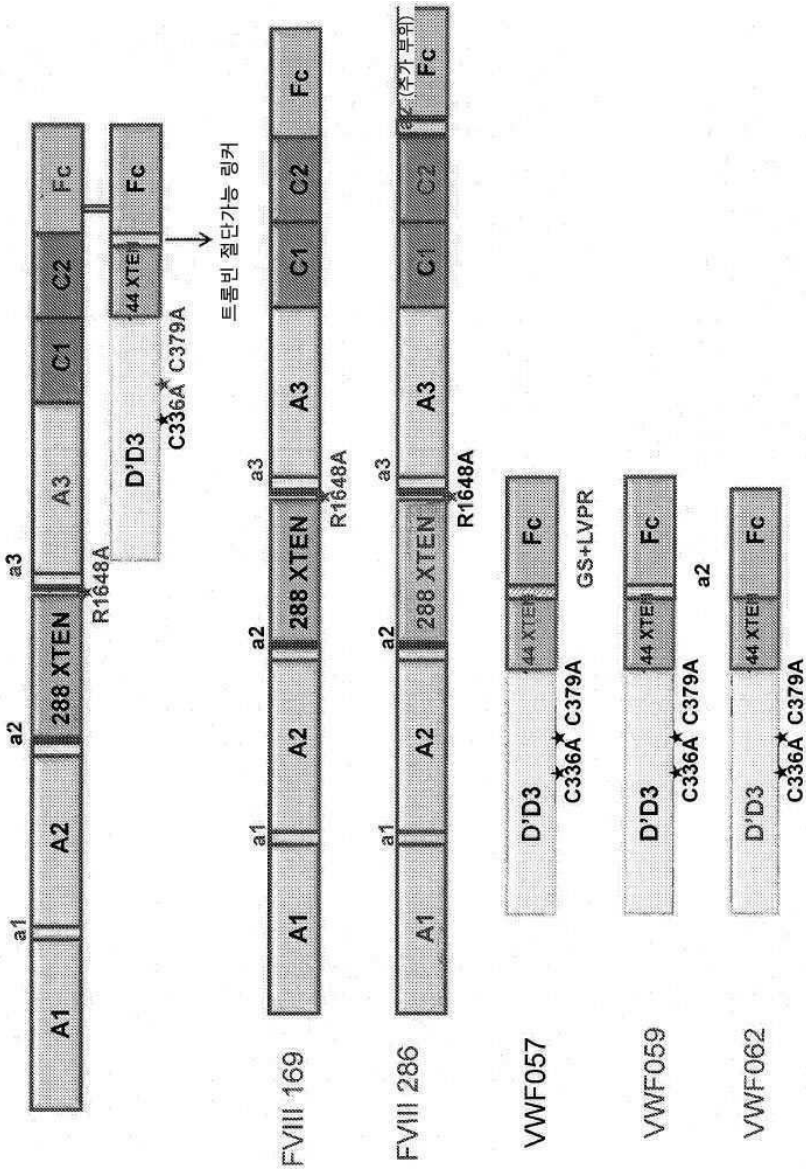
기울기 $\frac{VWF-039}{VWF-031} = 71$
기울기 $\frac{VWF-055}{VWF-031} = 65$
기울기 $\frac{VWF-051}{VWF-031} = 1.8$

도면6

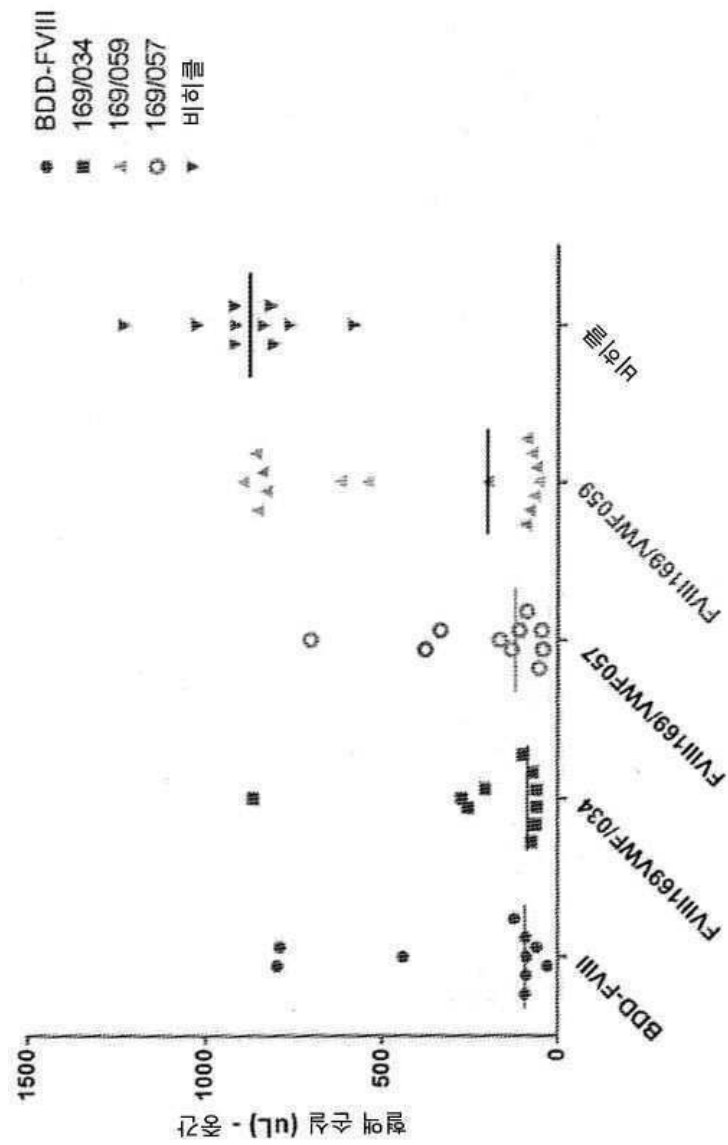


도면7

대표적인 FVIII-VWF 이중이량체의 막대 그래프



도면8



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Biogen IDEC MA INC.

<120> THROMBIN CLEAVABLE LINKER WITH XTEN AND ITS USES THEREOF

<130> 2159.420PC01

<140> To be assigned

<141> 2014-06-27

<150> 61/840,872

<151> 2013-06-28

<160> 92

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8442

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc      60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcagggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt      120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc      180

ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggactttca gaatggcaag      240
agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt      300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta      360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc      420
gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaaca gacctgcggg      480
ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg      540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaaga acagtgggtgt      600

gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc      660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcggtgt ttgcccgctg ccacctctg      720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg      780
ctggagtgcg cctgccctgc cctctggag tacgcccgga cctgtgccca ggagggaatg      840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag      900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg      960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgcctgagg gacagctcct ggatgaaggc      1020

ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc      1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc      1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggtcaat ccacttcaa gagctttgac      1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac      1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgga cgctgtgtgc      1320
acccgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat      1380
ggggcaggag ttgcatgga tggccaggac atccagctcc ccctcctgaa aggtgacctc      1440

cgcatccagc atacagtgac ggcctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg      1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc      1560

```


tcgggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg	1620
ctggcrgagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtccccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgtgccct acctgcggaa ctgccgctac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860
tgctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc	1920
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag	1980
tcggggacc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat	2040
gaggcctgcc tggagggtctg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac	2100
tcgtgcccc agggccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac	2160
atcttctcag accatcacac catgtgtctac tgtgaggatg gcttcatgca ctgtaccatg	2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcacct gtctcatcgc	2280
agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgtcc cgctgacaac	2340
ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcagt	2400
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggctccggca tgagaacaga	2460
tgtgtggccc tggaaagggtg tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa	2520
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac	2580
catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgac ggcatggccc actacctcac cttcgacggg	2640
ctcaataacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt	2700
aacctggga cctttcgat cctagtgggg aataagggt gcagccacc ctcagtga	2760
tgcaaaagac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag	2820
gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg	2880
tacatcattc tgctgtcggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc	2940
tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat	3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac	3060
tttggaact cctggaaagt gagctgcag tgtgtgaca ccagaaaagt gcctctggac	3120
tcatccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttctctctgt	3180
agaatcctta ccagtgcgt cttccaggac tgcaacaagc tggtggaacc cgagccatat	3240
ctggatgtct gcatttacga cacctgtcc tgtgagtcca ttggggactg cgctgtctc	3300
tgcgacacca ttgtgccta tgcccacgtg tgtgccagc atggcaaggt ggtgacctgg	3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat	3420

gagtgtgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacccct 3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg 3540

aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag 3600
gtggctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag 3660
cactgccaga ttgccactg tgatgttgc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg 3720
ggaggcctgg tggtgccctc cacagatgcc ccggtgagcc ccaccactct gtatgtggag 3780
gacatctcgg aaccgccgtt gcacgatttc tactgcagca ggctactgga cctggctctc 3840
ctgctggatg gctcctccag gctgtccgag gctgagtgtg aagtgtgaa ggcctttgtg 3900
gtggacatga tggagcggct gcgcatctcc cagaagtggg tccgcgtggc cgtgggtggag 3960

taccacgacg gctcccacgc ctacatcggg ctcaaggacc ggaagcgacc gtcagagctg 4020
cggcgcatgg ccagccaggt gaagtatcgc ggcagccagg tggcctccac cagcgaggtc 4080
ttgaaataca cactgttcca aatcttcagc aagatcgacc gccctgaagc ctcccgcatc 4140
gccctgctcc tgatggccag ccaggagccc caacggatgt cccggaactt tgtccgctac 4200
gtccagggcc tgaagaagaa gaaggtcatt gtgatcccg tgggcattgg gcccctatgcc 4260
aacctcaagc agatccgct catcgagaag caggccctg agaacaaggc cttcgtgctg 4320
agcagtgtgg atgagctgga gcagcaaagg gacgagatcg ttagctacct ctgtgacctt 4380

gccctgaag cccctctcc tactctgcc cccgacatgg cacaagtcac tgtgggcccg 4440
gggctcttgg gggtttcgac cctggggccc aagaggaact ccatggttct ggatgtggcg 4500
ttcgtcctgg aaggatcgga caaatitgt gaagccgact tcaacaggag caaggagttc 4560
atggaggagg tgattcagcg gatggatgtg ggccaggaca gcatccacgt cacggtgctg 4620
cagtactcct acatggtgac cgtggagtac cccttcagcg aggcacagtc caaaggggac 4680
atcctgcagc gggtgcgaga gatccgctac caggcgaggc acaggaccaa cactgggctg 4740
gccctgcggt acctctctga ccacagcttc ttggtcagcc agggtagccg ggagcaggcg 4800

cccaacctgg tctacatggt caccggaaat cctgcctctg atgagatcaa gaggtgcct 4860
ggagacatcc aggtggtgcc cattggagtg ggccctaata ccaacgtgca ggagctggag 4920
aggattggct ggcccaatgc ccctatctc atccaggact ttgagacgt cccccgagag 4980
gctctgacc tgggtgctga gaggtgctgc tccggagagg ggctgcagat cccaccctc 5040
tccctgcac ctgactgcag ccagccctg gacgtgatcc ttctcctgga tggctcctcc 5100
agtttcccag cttcttattt tgatgaaatg aagagtttcg ccaaggcttt catttcaaaa 5160

gccaatatag ggccctcgtct cactcagggtg tcagtgtctgc agtatggaag catcaccacc 5220

attgacgtgc catggaacgt ggtcccggag aaagcccatt tgctgagcct tgtggacgtc 5280

atgcagcggg agggaggccc cagccaaatc ggggatgcct tgggctttgc tgtgcgatac 5340

ttgacttcag aaatgcatgg tgccaggccg ggagcctcaa aggcgggtggt catcctggtc 5400

acggacgtct ctgtggattc agtggatgca gcagctgatg ccgccaggtc caacagagtg 5460

acagtgttcc ctattggaat tggagatgcg tacgatgcag cccagctacg gatcttggca 5520

ggcccagcag gcgactccaa cgtggtgaag ctccagcgaa tcgaagacct ccctaccatg 5580

gtcaccttgg gcaattcctt cctccacaaa ctgtgctctg gatttgttag gatttgcattg 5640

gatgaggatg ggaatgagaa gagggccggg gacgtctgga ccttgccaga ccagtgccac 5700

accgtgactt gccagccaga tggccagacc ttgctgaaga gtcacgagg caactgtgac 5760

cgggggctga ggccctcgtg ccctaacagc cagtccctg ttaaagtgga agagacctgt 5820

ggctgccgtt ggacctgccc ctgygtgtgc acaggcagct ccactcggca catcgtgacc 5880

tttgatgggc agaatttcaa gctgactggc agctgttctt atgtcctatt tcaaaacaag 5940

gagcaggacc tggaggatg tctccataat ggtgcctgca gccctggagc aaggcagggc 6000

tgcataaat ccatcgaggt gaagcacagt gccctctccg tcgagstgca cagtgcattg 6060

gaggtgacgg tgaatgggag actggtctct gttecttacg tgggtgggaa catggaagtc 6120

aacgtttatg gtgccatcat gcatgaggtc agattcaatc accttggtca catcttcaca 6180

ttcactccac aaaaacaatg gttccaactg cagctcagcc ccaagacttt tgcttcaaag 6240

acgtatggtc tgtgtgggat ctgtgatgag aacggagcca atgacttcat gctgagggat 6300

ggcacagtca ccacagactg gaaaacactt gttcaggaat ggactgtgca gcggccaggg 6360

cagacgtgcc agcccatctt ggaggagcag tgtcttgtcc ccgacagctc ccactgccag 6420

gtctctctct taccactgtt tgctgaatgc cacaaggtcc tggtccagc cacattctat 6480

gccatctgcc agcaggacag ttgccaccag gagcaagtgt gtgaggatg cgcctcttat 6540

gcccacctct gtcggaccaa cggggtctgc gttgactgga ggacacctga ttctgtgtct 6600

atgtcatgcc caccatctct ggtctacaac cactgtgagc atggctgtcc ccggcactgt 6660

gatggcaacg tgagctcctg tggggacat cctccgaag gctgtttctg cctccagat 6720

aaagtcatgt tggaggagc ctgtgtccct gaaggagcct gcactcagt cattggtgag 6780

gatggagtcc agcaccagtt cctggaagcc tgggtcccgg accaccagcc ctgtcagatc 6840

tgcacatgcc tcagcgggag gaaggtcaac tgcacaacgc agccctgccc cagggccaaa 6900

gctccacgt gtggcctgtg tgaagtagcc cgcctccgcc agaatgcaga ccagtgtgtc 6960
 cccgagtatg agtgtgtgtg tgaccacgtg agctgtgacc tgccccagt gcctcactgt 7020
 gaacgtggcc tccagccac actgaccaac cctggcgagt gcagacccaa cttcacctgc 7080
 gcctgcagga aggaggagtg caaaagagtg tccccacct cctgcccccc gcaccgtttg 7140
 cccaccttc ggaagaccca gtgctgtgat gagtatgagt gtgcctgcaa ctgtgtcaac 7200
 tccacagtga gctgtccct tgggtacttg gcctcaaccg ccaccaatga ctgtggctgt 7260
 accacaacca cctgccttc cgacaagggtg tgtgtccacc gaagcaccat ctaccctgtg 7320

 ggccagtctt gggaggagg ctgcgatgtg tgcacctgca ccgacatgga ggatgccgtg 7380
 atgggcctcc gcgtggccca gtgtctccag aagccctgtg aggacagctg tcggtcgggc 7440
 ttcacttacg ttctgcatga aggcgagtgc tgtggaaggt gcctgccatc tgcctgtgag 7500
 gtggtgactg gctcacgcg gggggactcc cagtcttctt ggaagagtgt cggtcccg 7560
 tgggcctccc cggagaacct ctgcctcatc aatgagtgtg tccgagtga ggaggaggtc 7620
 tttatacaac aaaggaacgt ctctgcccc cagctggagg tccctgtctg cccctcgggc 7680
 tttcagctga gctgtaagac ctacgcgtgc tgcccaagct gtcgctgtga gcgcatggag 7740

 gcctgcatgc tcaatggcac tgtcattggg cccgggaaga ctgtgatgat cgatgtgtgc 7800
 acgacctgcc gctgcatggt gcaggtgggg gtcatctctg gattcaagct ggagtgcagg 7860
 aagaccacct gcaaccctg cccctgggt tacaaggaag aaaataacac aggtgaatgt 7920
 tgtgggagat gtttgcctac ggcttgacc attcagctaa gaggaggaca gatcatgaca 7980
 ctgaagcgtg atgagacgt ccaggatggc tgtgatactc acttctgcaa ggtcaatgag 8040
 agaggagagt acttctggga gaagagggtc acaggctgcc caccctttga tgaacacaag 8100
 tgtcttgctg agggaggtaa aattatgaaa attccaggca cctgctgtga cacatgtgag 8160

 gagcctgagt gcaacgacat cactgccagg ctgcagtatg tcaaggtggg aagctgtaag 8220
 tctgaagtag aggtggatat ccactactgc cagggcaa atgtgccagca agccatgtac 8280
 tccattgaca tcaacgatgt gcaggaccag tgctcctgct gctctccgac acggacggag 8340
 cccatgcagg tggccctgca ctgcaccaat ggtctgtttg tgtaccatga ggttctcaat 8400
 gccatggagt gcaaatgctc cccaggaag tgcagcaagt ga 8442

 <210> 2
 <211> 2813
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2016)..(2016)

<223> where Xaa can be any amino acid other than cysteine

<400> 2

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr

20 25 30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly

35 40 45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly

50 55 60

Cys Gln Lys Arg Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe Gln Asn Gly Lys

65 70 75 80

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu

85 90 95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro

100 105 110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys

115 120 125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly

130 135 140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser

195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln

210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu

225 230 235 240
 Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu
 245 250 255

 Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala
 260 265 270
 Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His
 275 280 285
 Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys
 290 295 300
 Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met
 305 310 315 320

 Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu
 325 330 335
 Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His
 340 345 350
 Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn
 355 360 365
 Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys
 370 375 380

 Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp
 385 390 395 400
 Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg
 405 410 415
 Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys
 420 425 430
 Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu
 435 440 445

 Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val
 450 455 460
 Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu
 465 470 475 480

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met

725	730	735
His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val		
740	745	750
Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg		
755	760	765
Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu		
770	775	780
Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met		
785	790	795
Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg		
805	810	815
His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln		
820	825	830
Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr		
835	840	845
Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp		
850	855	860
Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly		
865	870	875
Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp		
885	890	895
Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys		
900	905	910
Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu		
915	920	925
Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys		
930	935	940
Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg		
945	950	955
Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg		
965	970	975

His	Leu	Ser	Ile	Ser	Val	Val	Leu	Lys	Gln	Thr	Tyr	Gln	Glu	Lys	Val
980						985						990			
Cys	Gly	Leu	Cys	Gly	Asn	Phe	Asp	Gly	Ile	Gln	Asn	Asn	Asp	Leu	Thr
995						1000						1005			
Ser	Ser	Asn	Leu	Gln	Val	Glu	Glu	Asp	Pro	Val	Asp	Phe	Gly	Asn	
1010						1015						1020			
Ser	Trp	Lys	Val	Ser	Ser	Gln	Cys	Ala	Asp	Thr	Arg	Lys	Val	Pro	
1025						1030						1035			
Leu	Asp	Ser	Ser	Pro	Ala	Thr	Cys	His	Asn	Asn	Ile	Met	Lys	Gln	
1040						1045						1050			
Thr	Met	Val	Asp	Ser	Ser	Cys	Arg	Ile	Leu	Thr	Ser	Asp	Val	Phe	
1055						1060						1065			
Gln	Asp	Cys	Asn	Lys	Leu	Val	Asp	Pro	Glu	Pro	Tyr	Leu	Asp	Val	
1070						1075						1080			
Cys	Ile	Tyr	Asp	Thr	Cys	Ser	Cys	Glu	Ser	Ile	Gly	Asp	Cys	Ala	
1085						1090						1095			
Cys	Phe	Cys	Asp	Thr	Ile	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Val	Cys	Ala	Gln	
1100						1105						1110			
His	Gly	Lys	Val	Val	Thr	Trp	Arg	Thr	Ala	Thr	Leu	Cys	Pro	Gln	
1115						1120						1125			
Ser	Cys	Glu	Glu	Arg	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Gly	Tyr	Glu	Cys	Glu	
1130						1135						1140			
Trp	Arg	Tyr	Asn	Ser	Cys	Ala	Pro	Ala	Cys	Gln	Val	Thr	Cys	Gln	
1145						1150						1155			
His	Pro	Glu	Pro	Leu	Ala	Cys	Pro	Val	Gln	Cys	Val	Glu	Gly	Cys	
1160						1165						1170			
His	Ala	His	Cys	Pro	Pro	Gly	Lys	Ile	Leu	Asp	Glu	Leu	Leu	Gln	
1175						1180						1185			
Thr	Cys	Val	Asp	Pro	Glu	Asp	Cys	Pro	Val	Cys	Glu	Val	Ala	Gly	
1190						1195						1200			
Arg	Arg	Phe	Ala	Ser	Gly	Lys	Lys	Val	Thr	Leu	Asn	Pro	Ser	Asp	

1205	1210	1215
Pro Glu His Cys Gln Ile Cys	His Cys Asp Val Val	Asn Leu Thr
1220	1225	1230
Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro	Gly Gly Leu Val Val	Pro Pro Thr
1235	1240	1245
Asp Ala Pro Val Ser Pro Thr	Thr Leu Tyr Val Glu	Asp Ile Ser
1250	1255	1260
Glu Pro Pro Leu His Asp Phe	Tyr Cys Ser Arg Leu	Leu Asp Leu
1265	1270	1275
Val Phe Leu Leu Asp Gly Ser	Ser Arg Leu Ser Glu	Ala Glu Phe
1280	1285	1290
Glu Val Leu Lys Ala Phe Val	Val Asp Met Met Glu	Arg Leu Arg
1295	1300	1305
Ile Ser Gln Lys Trp Val Arg	Val Ala Val Val Glu	Tyr His Asp
1310	1315	1320
Gly Ser His Ala Tyr Ile Gly	Leu Lys Asp Arg Lys	Arg Pro Ser
1325	1330	1335
Glu Leu Arg Arg Ile Ala Ser	Gln Val Lys Tyr Ala	Gly Ser Gln
1340	1345	1350
Val Ala Ser Thr Ser Glu Val	Leu Lys Tyr Thr Leu	Phe Gln Ile
1355	1360	1365
Phe Ser Lys Ile Asp Arg Pro	Glu Ala Ser Arg Ile	Ala Leu Leu
1370	1375	1380
Leu Met Ala Ser Gln Glu Pro	Gln Arg Met Ser Arg	Asn Phe Val
1385	1390	1395
Arg Tyr Val Gln Gly Leu Lys	Lys Lys Lys Val Ile	Val Ile Pro
1400	1405	1410
Val Gly Ile Gly Pro His Ala	Asn Leu Lys Gln Ile	Arg Leu Ile
1415	1420	1425
Glu Lys Gln Ala Pro Glu Asn	Lys Ala Phe Val Leu	Ser Ser Val
1430	1435	1440

Asp Glu	Leu Glu	Gln Gln	Arg	Asp Glu	Ile Val	Ser	Tyr	Leu	Cys
1445			1450				1455		
Asp Leu	Ala Pro	Glu Ala	Pro	Pro Pro	Thr Leu	Pro	Pro	Asp	Met
1460			1465				1470		
Ala Gln	Val Thr	Val Gly	Pro	Gly Leu	Leu Gly	Val	Ser	Thr	Leu
1475			1480				1485		
Gly Pro	Lys Arg	Asn Ser	Met	Val Leu	Asp Val	Ala	Phe	Val	Leu
1490			1495				1500		
Glu Gly	Ser Asp	Lys Ile	Gly	Glu Ala	Asp Phe	Asn	Arg	Ser	Lys
1505			1510				1515		
Glu Phe	Met Glu	Glu Val	Ile	Gln Arg	Met Asp	Val	Gly	Gln	Asp
1520			1525				1530		
Ser Ile	His Val	Thr Val	Leu	Gln Tyr	Ser Tyr	Met	Val	Thr	Val
1535			1540				1545		
Glu Tyr	Pro Phe	Ser Glu	Ala	Gln Ser	Lys Gly	Asp	Ile	Leu	Gln
1550			1555				1560		
Arg Val	Arg Glu	Ile Arg	Tyr	Gln Gly	Gly Asn	Arg	Thr	Asn	Thr
1565			1570				1575		
Gly Leu	Ala Leu	Arg Tyr	Leu	Ser Asp	His Ser	Phe	Leu	Val	Ser
1580			1585				1590		
Gln Gly	Asp Arg	Glu Gln	Ala	Pro Asn	Leu Val	Tyr	Met	Val	Thr
1595			1600				1605		
Gly Asn	Pro Ala	Ser Asp	Glu	Ile Lys	Arg Leu	Pro	Gly	Asp	Ile
1610			1615				1620		
Gln Val	Val Pro	Ile Gly	Val	Gly Pro	Asn Ala	Asn	Val	Gln	Glu
1625			1630				1635		
Leu Glu	Arg Ile	Gly Trp	Pro	Asn Ala	Pro Ile	Leu	Ile	Gln	Asp
1640			1645				1650		
Phe Glu	Thr Leu	Pro Arg	Glu	Ala Pro	Asp Leu	Val	Leu	Gln	Arg
1655			1660				1665		
Cys Cys	Ser Gly	Glu Gly	Leu	Gln Ile	Pro Thr	Leu	Ser	Pro	Ala

1670	1675	1680
Pro Asp Cys Ser Gln Pro Leu Asp Val Ile Leu Leu Leu Asp Gly		
1685	1690	1695
Ser Ser Ser Phe Pro Ala Ser Tyr Phe Asp Glu Met Lys Ser Phe		
1700	1705	1710
Ala Lys Ala Phe Ile Ser Lys Ala Asn Ile Gly Pro Arg Leu Thr		
1715	1720	1725
Gln Val Ser Val Leu Gln Tyr Gly Ser Ile Thr Thr Ile Asp Val		
1730	1735	1740
Pro Trp Asn Val Val Pro Glu Lys Ala His Leu Leu Ser Leu Val		
1745	1750	1755
Asp Val Met Gln Arg Glu Gly Gly Pro Ser Gln Ile Gly Asp Ala		
1760	1765	1770
Leu Gly Phe Ala Val Arg Tyr Leu Thr Ser Glu Met His Gly Ala		
1775	1780	1785
Arg Pro Gly Ala Ser Lys Ala Val Val Ile Leu Val Thr Asp Val		
1790	1795	1800
Ser Val Asp Ser Val Asp Ala Ala Ala Asp Ala Ala Arg Ser Asn		
1805	1810	1815
Arg Val Thr Val Phe Pro Ile Gly Ile Gly Asp Arg Tyr Asp Ala		
1820	1825	1830
Ala Gln Leu Arg Ile Leu Ala Gly Pro Ala Gly Asp Ser Asn Val		
1835	1840	1845
Val Lys Leu Gln Arg Ile Glu Asp Leu Pro Thr Met Val Thr Leu		
1850	1855	1860
Gly Asn Ser Phe Leu His Lys Leu Cys Ser Gly Phe Val Arg Ile		
1865	1870	1875
Cys Met Asp Glu Asp Gly Asn Glu Lys Arg Pro Gly Asp Val Trp		
1880	1885	1890
Thr Leu Pro Asp Gln Cys His Thr Val Thr Cys Gln Pro Asp Gly		
1895	1900	1905

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Asp Ser Ser His Cys Gln Val Leu Leu Leu Pro Leu Phe Ala

2135	2140	2145
Glu Cys His Lys Val Leu Ala	Pro Ala Thr Phe Tyr	Ala Ile Cys
2150	2155	2160
Gln Gln Asp Ser Cys His Gln	Glu Gln Val Cys Glu	Val Ile Ala
2165	2170	2175
Ser Tyr Ala His Leu Cys Arg	Thr Asn Gly Val Cys	Val Asp Trp
2180	2185	2190
Arg Thr Pro Asp Phe Cys Ala	Met Ser Cys Pro Pro	Ser Leu Val
2195	2200	2205
Tyr Asn His Cys Glu His Gly	Cys Pro Arg His Cys	Asp Gly Asn
2210	2215	2220
Val Ser Ser Cys Gly Asp His	Pro Ser Glu Gly Cys	Phe Cys Pro
2225	2230	2235
Pro Asp Lys Val Met Leu Glu	Gly Ser Cys Val Pro	Glu Glu Ala
2240	2245	2250
Cys Thr Gln Cys Ile Gly Glu	Asp Gly Val Gln His	Gln Phe Leu
2255	2260	2265
Glu Ala Trp Val Pro Asp His	Gln Pro Cys Gln Ile	Cys Thr Cys
2270	2275	2280
Leu Ser Gly Arg Lys Val Asn	Cys Thr Thr Gln Pro	Cys Pro Thr
2285	2290	2295
Ala Lys Ala Pro Thr Cys Gly	Leu Cys Glu Val Ala	Arg Leu Arg
2300	2305	2310
Gln Asn Ala Asp Gln Cys Cys	Pro Glu Tyr Glu Cys	Val Cys Asp
2315	2320	2325
Pro Val Ser Cys Asp Leu Pro	Pro Val Pro His Cys	Glu Arg Gly
2330	2335	2340
Leu Gln Pro Thr Leu Thr Asn	Pro Gly Glu Cys Arg	Pro Asn Phe
2345	2350	2355
Thr Cys Ala Cys Arg Lys Glu	Glu Cys Lys Arg Val	Ser Pro Pro
2360	2365	2370

Ser Cys	Pro Pro His Arg Leu	Pro Thr Leu Arg Lys	Thr Gln Cys
2375	2380	2385	
Cys Asp	Glu Tyr Glu Cys Ala	Cys Asn Cys Val Asn	Ser Thr Val
2390	2395	2400	
Ser Cys	Pro Leu Gly Tyr Leu	Ala Ser Thr Ala Thr	Asn Asp Cys
2405	2410	2415	
Gly Cys	Thr Thr Thr Thr Cys	Leu Pro Asp Lys Val	Cys Val His
2420	2425	2430	
Arg Ser	Thr Ile Tyr Pro Val	Gly Gln Phe Trp Glu	Glu Gly Cys
2435	2440	2445	
Asp Val	Cys Thr Cys Thr Asp	Met Glu Asp Ala Val	Met Gly Leu
2450	2455	2460	
Arg Val	Ala Gln Cys Ser Gln	Lys Pro Cys Glu Asp	Ser Cys Arg
2465	2470	2475	
Ser Gly	Phe Thr Tyr Val Leu	His Glu Gly Glu Cys	Cys Gly Arg
2480	2485	2490	
Cys Leu	Pro Ser Ala Cys Glu	Val Val Thr Gly Ser	Pro Arg Gly
2495	2500	2505	
Asp Ser	Gln Ser Ser Trp Lys	Ser Val Gly Ser Gln	Trp Ala Ser
2510	2515	2520	
Pro Glu	Asn Pro Cys Leu Ile	Asn Glu Cys Val Arg	Val Lys Glu
2525	2530	2535	
Glu Val	Phe Ile Gln Gln Arg	Asn Val Ser Cys Pro	Gln Leu Glu
2540	2545	2550	
Val Pro	Val Cys Pro Ser Gly	Phe Gln Leu Ser Cys	Lys Thr Ser
2555	2560	2565	
Ala Cys	Cys Pro Ser Cys Arg	Cys Glu Arg Met Glu	Ala Cys Met
2570	2575	2580	
Leu Asn	Gly Thr Val Ile Gly	Pro Gly Lys Thr Val	Met Ile Asp
2585	2590	2595	
Val Cys	Thr Thr Cys Arg Cys	Met Val Gln Val Gly	Val Ile Ser

2600	2605	2610
Gly Phe Lys Leu Glu Cys Arg	Lys Thr Thr Cys Asn	Pro Cys Pro
2615	2620	2625
Leu Gly Tyr Lys Glu Glu Asn	Asn Thr Gly Glu Cys	Cys Gly Arg
2630	2635	2640
Cys Leu Pro Thr Ala Cys Thr	Ile Gln Leu Arg Gly	Gly Gln Ile
2645	2650	2655
Met Thr Leu Lys Arg Asp Glu	Thr Leu Gln Asp Gly	Cys Asp Thr
2660	2665	2670
His Phe Cys Lys Val Asn Glu	Arg Gly Glu Tyr Phe	Trp Glu Lys
2675	2680	2685
Arg Val Thr Gly Cys Pro Pro	Phe Asp Glu His Lys	Cys Leu Ala
2690	2695	2700
Glu Gly Gly Lys Ile Met Lys	Ile Pro Gly Thr Cys	Cys Asp Thr
2705	2710	2715
Cys Glu Glu Pro Glu Cys Asn	Asp Ile Thr Ala Arg	Leu Gln Tyr
2720	2725	2730
Val Lys Val Gly Ser Cys Lys	Ser Glu Val Glu Val	Asp Ile His
2735	2740	2745
Tyr Cys Gln Gly Lys Cys Ala	Ser Lys Ala Met Tyr	Ser Ile Asp
2750	2755	2760
Ile Asn Asp Val Gln Asp Gln	Cys Ser Cys Cys Ser	Pro Thr Arg
2765	2770	2775
Thr Glu Pro Met Gln Val Ala	Leu His Cys Thr Asn	Gly Ser Val
2780	2785	2790
Val Tyr His Glu Val Leu Asn	Ala Met Glu Cys Lys	Cys Ser Pro
2795	2800	2805
Arg Lys Cys Ser Lys		
2810		
<210>	3	
<211>	4	
<212>	PRT	

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Thrombin cleavage site

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> where X is an aliphatic amino acid

<400> 3

Xaa Val Pro Arg

1

<210> 4

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> a2 region

<400> 4

Ile Ser Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp

1 5 10 15

Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser

20 25 30

Phe Ser

<210> 5

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> a1 region

<400> 5

Ile Ser Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu

1 5 10 15

Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro

20 25 30

Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val

35 40

<210> 6

<211> 46

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> a3 region

<400> 6

Ile Ser Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile

1 5 10 15

Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp

20 25 30

Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln

35 40 45

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 7

Ser Phe Leu Leu Arg Asn

1 5

<210> 8

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 8

Pro Asn Asp Lys

1

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 9

Pro Asn Asp Lys Tyr

1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 10

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu

1 5

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 11

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro

1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 12

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400>

> 13

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 14

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu

1 5 10

<210> 15

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal Peptide

<400> 15

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe

1 5 10 15

Cys Phe Ser

<210> 16

<211> 2332

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys

35 40 45

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

50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val

65	70					75					80					
Tyr	Asp	Thr	Val	Val	Ile	Thr	Leu	Lys	Asn	Met	Ala	Ser	His	Pro	Val	
85					90					95						
Ser	Leu	His	Ala	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Trp	Lys	Ala	Ser	Glu	Gly	Ala	
100					105					110						
Glu	Tyr	Asp	Asp	Gln	Thr	Ser	Gln	Arg	Glu	Lys	Glu	Asp	Asp	Lys	Val	
115					120					125						
Phe	Pro	Gly	Gly	Ser	His	Thr	Tyr	Val	Trp	Gln	Val	Leu	Lys	Glu	Asn	
130					135					140						
Gly	Pro	Met	Ala	Ser	Asp	Pro	Leu	Cys	Leu	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Ser	
145					150					155					160	
His	Val	Asp	Leu	Val	Lys	Asp	Leu	Asn	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Ala	Leu	
165					170					175						
Leu	Val	Cys	Arg	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Glu	Lys	Thr	Gln	Thr	Leu	
180					185					190						
His	Lys	Phe	Ile	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	Phe	Asp	Glu	Gly	Lys	Ser	Trp	
195					200					205						
His	Ser	Glu	Thr	Lys	Asn	Ser	Leu	Met	Gln	Asp	Arg	Asp	Ala	Ala	Ser	
210					215					220						
Ala	Arg	Ala	Trp	Pro	Lys	Met	His	Thr	Val	Asn	Gly	Tyr	Val	Asn	Arg	
225					230					235					240	
Ser	Leu	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Cys	His	Arg	Lys	Ser	Val	Tyr	Trp	His	
245					250					255						
Val	Ile	Gly	Met	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	Val	His	Ser	Ile	Phe	Leu	Glu	
260					265					270						
Gly	His	Thr	Phe	Leu	Val	Arg	Asn	His	Arg	Gln	Ala	Ser	Leu	Glu	Ile	
275					280					285						
Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Gly	
290					295					300						
Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	Ser	His	Gln	His	Asp	Gly	Met	
305					310					315					320	

Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg
 325 330 335
 Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp
 340 345 350
 Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe
 355 360 365
 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His
 370 375 380
 Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu
 385 390 395 400
 Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro
 405 410 415
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr
 420 425 430
 Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile
 435 440 445
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile
 450 455 460
 Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile
 465 470 475 480
 Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys
 485 490 495
 His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp
 545 550 555 560
 Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe

565 570 575
 Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln
 580 585 590
 Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe
 595 600 605
 Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser
 610 615 620
 Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu

 625 630 635 640
 Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr
 645 650 655
 Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro
 660 665 670
 Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp
 675 680 685
 Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala

 690 695 700
 Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu
 705 710 715 720
 Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala
 725 730 735
 Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg
 740 745 750
 Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys

 755 760 765
 Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn
 770 775 780
 Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro
 785 790 795 800
 His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe
 805 810 815

Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser

820 825 830

Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val

835 840 845

Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly

850 855 860

Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser

865 870 875 880

Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala

885 890 895

Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His

900 905 910

Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro

915 920 925

Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp

930 935 940

Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp

945 950 955 960

Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys

965 970 975

Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys

980 985 990

Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala

995 1000 1005

Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu

1010 1015 1020

Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu

1025 1030 1035

Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp

1040 1045 1050

Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr

1055	1060	1065
Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu	Met Val Gln Gln Lys	Lys Glu Gly
1070	1075	1080
Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln	Asn Pro Asp Met Ser	Phe Phe Lys
1085	1090	1095
Met Leu Phe Leu Pro Glu Ser	Ala Arg Trp Ile Gln	Arg Thr His
1100	1105	1110
Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser	Gly Gln Gly Pro Ser	Pro Lys Gln
1115	1120	1125
Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu	Lys Ser Val Glu Gly	Gln Asn Phe
1130	1135	1140
Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val	Val Val Gly Lys Gly	Glu Phe Thr
1145	1150	1155
Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu	Met Val Phe Pro Ser	Ser Arg Asn
1160	1165	1170
Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp	Asn Leu His Glu Asn	Asn Thr His
1175	1180	1185
Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln	Glu Glu Ile Glu Lys	Lys Glu Thr
1190	1195	1200
Leu Ile Gln Glu Asn Val Val	Leu Pro Gln Ile His	Thr Val Thr
1205	1210	1215
Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys	Asn Leu Phe Leu Leu	Ser Thr Arg
1220	1225	1230
Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr	Asp Gly Ala Tyr Ala	Pro Val Leu
1235	1240	1245
Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn	Asp Ser Thr Asn Arg	Thr Lys Lys
1250	1255	1260
His Thr Ala His Phe Ser Lys	Lys Gly Glu Glu Glu	Asn Leu Glu
1265	1270	1275
Gly Leu Gly Asn Gln Thr Lys	Gln Ile Val Glu Lys	Tyr Ala Cys
1280	1285	1290

Thr Thr Arg Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr		
1295	1300	1305
Gln Arg Ser Lys Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu		
1310	1315	1320
Glu Thr Glu Leu Glu Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr		
1325	1330	1335
Gln Trp Ser Lys Asn Met Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr		
1340	1345	1350
Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser		
1355	1360	1365
Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser Ile Pro Gln Ala		
1370	1375	1380
Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser Ser Phe Pro Ser		
1385	1390	1395
Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe Gln Asp Asn Ser		
1400	1405	1410
Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys Asp Ser Gly Val		
1415	1420	1425
Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys Asn Asn Leu		
1430	1435	1440
Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln Arg Glu		
1445	1450	1455
Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr Lys		
1460	1465	1470
Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr		
1475	1480	1485
Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys		
1490	1495	1500
Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu		
1505	1510	1515
Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile		

1520	1525	1530
Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg	Pro Gly Lys Val Pro	Phe Leu Arg
1535	1540	1545
Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala	Lys Thr Pro Ser Lys	Leu Leu Asp
1550	1555	1560
Pro Leu Ala Trp Asp Asn His	Tyr Gly Thr Gln Ile	Pro Lys Glu
1565	1570	1575
Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys	Ser Pro Glu Lys Thr	Ala Phe Lys
1580	1585	1590
Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser	Leu Asn Ala Cys Glu	Ser Asn His
1595	1600	1605
Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu	Gly Gln Asn Lys Pro	Glu Ile Glu
1610	1615	1620
Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly	Arg Thr Glu Arg Leu	Cys Ser Gln
1625	1630	1635
Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg	His Gln Arg Glu Ile	Thr Arg Thr
1640	1645	1650
Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu	Glu Ile Asp Tyr Asp	Asp Thr Ile
1655	1660	1665
Ser Val Glu Met Lys Lys Glu	Asp Phe Asp Ile Tyr	Asp Glu Asp
1670	1675	1680
Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser	Phe Gln Lys Lys Thr	Arg His Tyr
1685	1690	1695
Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg	Leu Trp Asp Tyr Gly	Met Ser Ser
1700	1705	1710
Ser Pro His Val Leu Arg Asn	Arg Ala Gln Ser Gly	Ser Val Pro
1715	1720	1725
Gln Phe Lys Lys Val Val Phe	Gln Glu Phe Thr Asp	Gly Ser Phe
1730	1735	1740
Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly	Glu Leu Asn Glu His	Leu Gly Leu
1745	1750	1755

Leu Gly	Pro Tyr	Ile Arg	Ala Glu	Val Glu	Asp Asn	Ile Met	Val
1760			1765			1770	
Thr Phe	Arg Asn	Gln Ala	Ser Arg	Pro Tyr	Ser Phe	Tyr Ser	Ser
1775			1780			1785	
Leu Ile	Ser Tyr	Glu Glu	Asp Gln	Arg Gln	Gly Ala	Glu Pro	Arg
1790			1795			1800	
Lys Asn	Phe Val	Lys Pro	Asn Glu	Thr Lys	Thr Tyr	Phe Trp	Lys
1805			1810			1815	
Val Gln	His His	Met Ala	Pro Thr	Lys Asp	Glu Phe	Asp Cys	Lys
1820			1825			1830	
Ala Trp	Ala Tyr	Phe Ser	Asp Val	Asp Leu	Glu Lys	Asp Val	His
1835			1840			1845	
Ser Gly	Leu Ile	Gly Pro	Leu Leu	Val Cys	His Thr	Asn Thr	Leu
1850			1855			1860	
Asn Pro	Ala His	Gly Arg	Gln Val	Thr Val	Gln Glu	Phe Ala	Leu
1865			1870			1875	
Phe Phe	Thr Ile	Phe Asp	Glu Thr	Lys Ser	Trp Tyr	Phe Thr	Glu
1880			1885			1890	
Asn Met	Glu Arg	Asn Cys	Arg Ala	Pro Cys	Asn Ile	Gln Met	Glu
1895			1900			1905	
Asp Pro	Thr Phe	Lys Glu	Asn Tyr	Arg Phe	His Ala	Ile Asn	Gly
1910			1915			1920	
Tyr Ile	Met Asp	Thr Leu	Pro Gly	Leu Val	Met Ala	Gln Asp	Gln
1925			1930			1935	
Arg Ile	Arg Trp	Tyr Leu	Leu Ser	Met Gly	Ser Asn	Glu Asn	Ile
1940			1945			1950	
His Ser	Ile His	Phe Ser	Gly His	Val Phe	Thr Val	Arg Lys	Lys
1955			1960			1965	
Glu Glu	Tyr Lys	Met Ala	Leu Tyr	Asn Leu	Tyr Pro	Gly Val	Phe
1970			1975			1980	
Glu Thr	Val Glu	Met Leu	Pro Ser	Lys Ala	Gly Ile	Trp Arg	Val

1985	1990	1995
Glu Cys Leu Ile Gly Glu His	Leu His Ala Gly Met	Ser Thr Leu
2000	2005	2010
Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys	Cys Gln Thr Pro Leu	Gly Met Ala
2015	2020	2025
Ser Gly His Ile Arg Asp Phe	Gln Ile Thr Ala Ser	Gly Gln Tyr
2030	2035	2040
Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu	Ala Arg Leu His Tyr	Ser Gly Ser
2045	2050	2055
Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys	Glu Pro Phe Ser Trp	Ile Lys Val
2060	2065	2070
Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile	Ile His Gly Ile Lys	Thr Gln Gly
2075	2080	2085
Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser	Leu Tyr Ile Ser Gln	Phe Ile Ile
2090	2095	2100
Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys	Lys Trp Gln Thr Tyr	Arg Gly Asn
2105	2110	2115
Ser Thr Gly Thr Leu Met Val	Phe Phe Gly Asn Val	Asp Ser Ser
2120	2125	2130
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe	Asn Pro Pro Ile Ile	Ala Arg Tyr
2135	2140	2145
Ile Arg Leu His Pro Thr His	Tyr Ser Ile Arg Ser	Thr Leu Arg
2150	2155	2160
Met Glu Leu Met Gly Cys Asp	Leu Asn Ser Cys Ser	Met Pro Leu
2165	2170	2175
Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile	Ser Asp Ala Gln Ile	Thr Ala Ser
2180	2185	2190
Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe	Ala Thr Trp Ser Pro	Ser Lys Ala
2195	2200	2205
Arg Leu His Leu Gln Gly Arg	Ser Asn Ala Trp Arg	Pro Gln Val
2210	2215	2220

Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met
 2225 2230 2235
 Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr
 2240 2245 2250
 Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly
 2255 2260 2265
 His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe

2270 2275 2280
 Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp
 2285 2290 2295
 Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp
 2300 2305 2310
 Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala
 2315 2320 2325

Gln Asp Leu Tyr
 2330

<210> 17

<211

> 7053

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc	60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc	120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac	180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttaacatc	240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat	300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt	360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg	420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggg ggaagccata catatgtctg gcaggctctg	480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgacca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat	540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa	600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta	660

ttt gatgaag ggaaaagt tg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat	720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct	780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc	840
accactcctg aagtgcactc aatatccctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacat	900
cgccaggcgt ccttggaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg	960
gaccttgac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacaatga tggcatggaa	1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa	1080
gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat	1140
gatgacaact ctcttctctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact	1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc	1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gatttgtagg	1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct	1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg	1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctacctca cggaatcact	1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaagggtg taaaacattt gaaggatttt	1560
ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca	1620
actaaatcag atcctcgggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga	1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc ttagatcaa	1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag	1800
aaccgaagct ggiacctcac agagaatata caacgctttc tcccaatcc agctggagtg	1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagatcaa tggctatgtt	1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc	1980
attggagcac agactgactt cttttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa	2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg	2100
atggaaaacc caggctctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc	2160
atgaccgct tactgaaggt ttctagtgtg gacaagaaca ctggtgatta ttacaggac	2220
agttatgaag atatttcagc atacttctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc	2280
ttctccaga attcaagaca ccctagcact aggcaaaagc aatttaatgc caccacaatt	2340
ccagaaaatg acatagagaa gactgacctt tggtttgcac acagaacacc tatgcctaaa	2400

atacaaaatg tctcctctag tgatttgttg atgctcttgc gacagagtcc tactccacat 2460

 gggctatcct tatctgatct ccaagaagcc aaatatgaga ctttttctga tgatccatca 2520
 cctggagcaa tagacagtaa taacagcctg tctgaaatga cacacttcag gccacagctc 2580
 catcacagtg gggacatggt atttaccctt gagtccaggcc tccaattaag attaaatgag 2640
 aaactgggga caactgcagc aacagagttg aagaaaacttg atttcaaagt ttctagtaca 2700
 tcaaataatc tgatttcaac aattccatca gacaatttgg cagcaggtac tgataataca 2760
 agttccttag gacccccaag tatgccagtt cattatgata gtcaattaga taccactcta 2820
 ttggcaaaa agtcatctcc ccttactgag tctggtggac ctctgagctt gagtgaagaa 2880

 aataatgatt caaagtgttt agaatcaggt ttaatgaata gccaaagaaag ttcattgggga 2940
 aaaaatgtat cgtcaacaga gagtggtagg ttattttaaag ggaaaagagc tcatggacct 3000
 gctttgttga ctaaagataa tgccttattc aaagttagca tctctttgtt aaagacaaac 3060
 aaaacttcca ataattcagc aactaataga aagactcaca ttgatggccc atcattatta 3120
 attgagaata gtccatcagt ctggcaaaat atattagaaa gtgacactga gtttaaaaaa 3180
 gtgacacctt tgattcatga cagaatgctt atggacaaaa atgctacagc tttagaggcta 3240
 aatcatatgt caaataaaac tacttcatca aaaaacatgg aaatggtcca acagaaaaaa 3300

 gagggcccca ttccaccaga tgcacaaaat ccagatatgt cgttctttaa gatgctattc 3360
 ttgccagaat cagcaagggtg gatacaaagg actcatggaa agaactctct gaactctggg 3420
 caaggcccca gtccaaagca attagtatcc ttaggaccag aaaaatctgt ggaaggtcag 3480
 aatttcttgt ctgagaaaaa caaagtggta gtaggaaagg gtgaatttac aaaggacgta 3540
 ggactcaaag agatggtttt tccaagcagc agaaacctat ttcttactaa cttaggataat 3600
 ttacatgaaa ataatacaca caatcaagaa aaaaaaatc aggaagaaat agaaaagaag 3660
 gaaacattaa tccaagagaa tgtagttttg cctcagatac atacagtgcac tggcactaag 3720

 aatttcatga agaacctttt cttactgagc actaggcaaa atgtagaagg ttcatatgac 3780
 ggggcatatg ctccagtact tcaagatttt aggtcattaa atgattcaac aaatagaaca 3840
 aagaaacaca cagctcatct ctcaaaaaaa ggggaggaag aaaacttgga aggcttggga 3900
 aatcaaacca agcaaattgt agagaaatat gcatgcacca caaggataac tcctaataca 3960
 agccagcaga attttgtcac gcaacgtagt aagagagctt tgaaacaatt cagactccca 4020
 ctagaagaaa cagaacttga aaaaaggata attgtggatg acacctcaac ccagtgggtcc 4080
 aaaaacatga aacatttgac cccgagcacc ctcacacaga tagactacaa tgagaaggag 4140

aaaggggcca ttactcagtc tcccttatca gattgcctta cgaggagtca tagcatccct	4200
caagcaaata gatctccatt acccattgca aaggtatcat catttccatc tattagacct	4260
atatactga ccagggtcct attccaagac aactcttctc atcttccagc agcatcttat	4320
agaaagaaag attctgggggt ccaagaaagc agtcatttct tacaaggagc caaaaaaat	4380
aacctttctt tagccattct aaccttgag atgactggtg atcaaagaga ggttggtcc	4440
ctggggacaa gtgccacaaa ttcagtcaca tacaagaaag ttgagaacac tgttctcccg	4500
aaaccagact tgcccaaac atctggcaaa gttgaattgc ttccaaaagt tcacatttat	4560
cagaaggacc tattccctac ggaaactagc aatgggtctc ctggccatct ggatctctgtg	4620
gaaggagacc ttcttcaggg aacagaggga gcgattaagt ggaatgaagc aaacagacct	4680
ggaaaagtgc ctttctgag agtagcaaca gaaagctctg caaagactcc ctccaagcta	4740
ttggatctct ttgcttggga taaccactat ggtactcaga taccaaaaga agagtggaaa	4800
tccaagaga agtcaccaga aaaaacagct ttaagaaaa aggataccat ttgtccctg	4860
aacgcttggt aaagcaatca tgcaatagca gcaataatg agggacaaaa taagcccgaa	4920
atagaagtca cctgggcaaa gcaaggtagg actgaaaggc tgtgctctca aaaccacca	4980
gtcttgaaac gccatcaacg ggaaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa	5040
attgactatg atgataccat atcagttgaa atgaagaagg aagattttga catttatgat	5100
gagatgaaa atcagagccc ccgcagcttt caaaagaaaa cacgacacta ttttattgct	5160
gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg	5220
gctcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgttt tccaggaatt tactgatggc	5280
tcctttactc agcccttata ccgtggagaa ctaaatgaac atttgggact cctggggcca	5340
tatataagag cagaagtga agataatatc atggtaactt tcagaaatca ggcctctcgt	5400
ccctattcct tctattctag ccttatttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa	5460
cctagaaaa actttgtcaa gcctaataa accaaaactt acttttgaa agtgcaacat	5520
catatggcac cactaaaga tgagtttgac tgcaaagcct gggcttattt ctctgatgtt	5580
gacctggaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctgggtctg ccacactaac	5640
acactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gttttcacc	5700
atctttgatg agacaaaaag ctgggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt	5760
ccctgcaata tccagatgga agatccact tttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc	5820
aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctcaggatca aaggattcga	5880
tggtatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat	5940
gtgttactg tacgaaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt	6000

gtttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa tttggcgggt ggaatgcctt 6060
attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acactttttc tgggttacag caataagtgt 6120
cagactcccc tgggaatggc ttctggacac attagagatt ttcagattac agcttcagga 6180
caatatggac agtgggcccc aaagctggcc agacttcatt attccgcatc aatcaatgcc 6240

tggagcacca aggagccctt ttcttggatc aaggtggatc tgttggcacc aatgattatt 6300
cacggcatca agacccaggg tgcccgtcag aagtcttcca gcctctacat ctctcagttt 6360
atcatcatgt atagtcttga tgggaagaag tggcagactt atcgaggaaa ttccactgga 6420
accttaatgg tcttcttttg caatgtggat tcatctggga taaaacacaa tatttttaac 6480
cctccaatta ttgctcgata catccgtttg cacccaactc attatagcat tcgcagcact 6540
cttcgcatgg agttgatggg ctgtgattta aatagttgca gcatgccatt gggaatggag 6600
agtaaagcaa tatcagatgc acagattact gcttcacect actttaccaa tatgtttgcc 6660

acctggtctc cticaaaagc tcgacttcac ctccaaggga ggagtaatgc ctggagacct 6720
caggtgaata atccaaaaga gtggctgcaa gtggacttcc agaagacaat gaaagtcaca 6780
ggagtaacta ctcaggaggt aaaatctctg cttaccagca tgtatgtgaa ggagttcctc 6840
atctccagca gtcaagatgg ccatcagtgg actctctttt ttcagaatgg caaagtaaag 6900
gtttttcagg gaaatcaaga ctcttcaca cctgtgtgta actctctaga cccaccgtta 6960
ctgactcgct accttcgaat tcacccccag agttgggtgc accagattgc cctgaggatg 7020
gaggttctgg gctgcgagge acaggacctc tac 7053

<210> 18

<211> 1438

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> B-domain-deleted FVIII

<400> 18

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys

35 40 45

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

50	55	60	
Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val			
65	70	75	80
Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val			
	85	90	95
Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala			
	100	105	110
Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val			
	115	120	125
Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn			
	130	135	140
Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser			
145	150	155	160
His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu			
	165	170	175
Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu			
	180	185	190
His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp			
	195	200	205
His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser			
	210	215	220
Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg			
225	230	235	240
Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His			
	245	250	255
Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu			
	260	265	270
Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile			
	275	280	285
Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly			
	290	295	300

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met
 305 310 315 320
 Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg
 325 330 335
 Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp
 340 345 350
 Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe
 355 360 365

 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His
 370 375 380
 Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu
 385 390 395 400
 Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro
 405 410 415
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr
 420 425 430

 Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile
 435 440 445
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile
 450 455 460
 Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile
 465 470 475 480
 Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys
 485 490 495

 His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp

545	550								555								560										
Gln	Arg	Gly	Asn	Gln	Ile	Met	Ser	Asp	Lys	Arg	Asn	Val	Ile	Leu	Phe												
				565								570								575							
Ser	Val	Phe	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Trp	Tyr	Leu	Thr	Glu	Asn	Ile	Gln												
				580								585								590							
Arg	Phe	Leu	Pro	Asn	Pro	Ala	Gly	Val	Gln	Leu	Glu	Asp	Pro	Glu	Phe												
				595								600								605							
Gln	Ala	Ser	Asn	Ile	Met	His	Ser	Ile	Asn	Gly	Tyr	Val	Phe	Asp	Ser												
				610								615								620							
Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	His	Glu	Val	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Ile	Leu												
625								630								635								640			
Ser	Ile	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Phe	Leu	Ser	Val	Phe	Phe	Ser	Gly	Tyr												
				645								650								655							
Thr	Phe	Lys	His	Lys	Met	Val	Tyr	Glu	Asp	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Pro												
				660								665								670							
Phe	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Phe	Met	Ser	Met	Glu	Asn	Pro	Gly	Leu	Trp												
				675								680								685							
Ile	Leu	Gly	Cys	His	Asn	Ser	Asp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Met	Thr	Ala												
690								695								700											
Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Ser	Cys	Asp	Lys	Asn	Thr	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Glu												
705								710								715								720			
Asp	Ser	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Leu	Leu	Ser	Lys	Asn	Asn	Ala												
				725								730								735							
Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ser	Gln	Asn	Pro	Pro	Val	Leu	Lys	Arg	His												
				740								745								750							
Gln	Arg	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ile												
				755								760								765							
Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile	Ser	Val	Glu	Met	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Asp												
				770								775								780							
Ile	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu	Asn	Gln	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Gln	Lys	Lys												
785								790								795								800			

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met

1040	1045	1050
Gly Ser Asn Glu Asn Ile His	Ser Ile His Phe Ser	Gly His Val
1055	1060	1065
Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu	Glu Tyr Lys Met Ala	Leu Tyr Asn
1070	1075	1080
Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu	Thr Val Glu Met Leu	Pro Ser Lys
1085	1090	1095
Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu	Cys Leu Ile Gly Glu	His Leu His
1100	1105	1110
Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe	Leu Val Tyr Ser Asn	Lys Cys Gln
1115	1120	1125
Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser	Gly His Ile Arg Asp	Phe Gln Ile
1130	1135	1140
Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly	Gln Trp Ala Pro Lys	Leu Ala Arg
1145	1150	1155
Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile	Asn Ala Trp Ser Thr	Lys Glu Pro
1160	1165	1170
Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp	Leu Leu Ala Pro Met	Ile Ile His
1175	1180	1185
Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala	Arg Gln Lys Phe Ser	Ser Leu Tyr
1190	1195	1200
Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met	Tyr Ser Leu Asp Gly	Lys Lys Trp
1205	1210	1215
Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser	Thr Gly Thr Leu Met	Val Phe Phe
1220	1225	1230
Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly	Ile Lys His Asn Ile	Phe Asn Pro
1235	1240	1245
Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile	Arg Leu His Pro Thr	His Tyr Ser
1250	1255	1260
Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met	Glu Leu Met Gly Cys	Asp Leu Asn
1265	1270	1275

Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp

1280 1285 1290

Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr

1295 1300 1305

Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn

1310 1315 1320

Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val

1325 1330 1335

Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly

1340 1345 1350

Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile

1355 1360 1365

Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn

1370 1375 1380

Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro

1385 1390 1395

Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg

1400 1405 1410

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

1415 1420 1425

Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr

1430 1435

<210> 19

<211> 4371

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> B-domain-deleted FVIII

<400> 19

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60

accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120

ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180

acctcagtcg tgiacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240

gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300

gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360

ggtgtatcct aciggaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420

gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480

aaagagaatg gtccaatggc ctctgacceca ctgtgcctta cctactcata tttttctcat 540

gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa 600

gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgcgtga 660

tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720

gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780

ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840

accactcctg aagtgcactc aatatctctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacat 900

cgccaggcgt ccttggaat ctgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960

gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacaatga tggcatggaa 1020

gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080

gaagcggag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140

gatgacaact ctcttctctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200

tgggtacatt acattgtctg tgaagaggag gactgggact atgtctcctt agtcctcgcc 1260

cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320

aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380

attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440

ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500

gatgtccgtc ctttgtatc aaggagatta ccaaaagggtg taaaacattt gaaggatttt 1560

ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620

actaaatcag atcctcgggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680

gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc ttagatcaa 1740

agaggaaacc agataatgtc agacaaggagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800

aaccgaagct ggiacctcac agagaatata caacgctttc tcccaatcc agctggagtg 1860

cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920

tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc	1980
attggagcac agactgactt ctttctgtc ttcttctctg gataacacaa	2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg	2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc	2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggigatta ttacaggac	2220
agttatgaag atatttcagc atacttctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc	2280
ttctctcaaa acccaccagt cttgaaacgc catcaacggg aaataactcg tactactctt	2340
cagtcagatc aagaggaaat tgactatgat gataccatat cagttgaaat gaagaaggaa	2400
gattttgaca ttatgatga ggatgaaaat cagagccccc gcagctttca aaagaaaaca	2460
cgacactatt ttattgctgc agtggagagg ctctgggatt atgggatgag tagctcccca	2520
catgttctaa gaaacagggc tcagagtggc agtgtccctc agttcaagaa agttgttttc	2580
caggaattta ctgatggctc ctttactcag cccttatacc gtggagaact aaatgaacat	2640
ttgggactcc tggggccata tataagagca gaagttgaag ataatatcat ggtaactttc	2700
agaaatcagg cctctcgctc ctattccttc tattctagcc ttatttctta tgaggaagat	2760
cagaggcaag gagcagaacc tagaaaaaac ttgtcaagc ctaatgaaac caaaacttac	2820
ttttggaaag tgcaacatca tatggcacc actaaagatg agtttgactg caaagcctgg	2880
gcttatttct ctgatgtga cctggaaaaa gatgtgcact caggcctgat tggaccctt	2940
ctggtctgcc aactaacac actgaacct gctcatggga gacaagtac agtacaggaa	3000
tttgctctgt tttcaccat ctttgatgag accaaaagct ggtacttcac tgaaaatatg	3060
gaaagaaact gcagggtcc ctgcaatc cagatggaag atcccactt taaagagaat	3120
tatcgcttc atgcaatcaa tggctacata atggatacac tacctggctt agtaatggct	3180
caggatcaaa ggattcgatg gtatctgtc agcatgggca gcaatgaaaa catccattct	3240
attcatttca gtggacatgt gttcactgta cgaaaaaaag aggagtataa aatggcactg	3300
tacaatctct atccaggtgt ttttgagaca gtggaaatgt taccatcaa agctggaatt	3360
tggcgggtgg aatgccttat tggcgagcat ctacatgctg ggatgagcac acttttctg	3420
gtgtacagca ataagtgtca gactccctg ggaatggctt ctggacacat tagagatttt	3480
cagattacag cttcaggaca atatggacag tgggccccaa agctggccag acttcattat	3540
tccggatcaa tcaatgcctg gagcaccaag gagccctttt cttggatcaa ggtggatctg	3600
ttggcaccaa tgattattca cggcatcaag acccaggtg cccgtcagaa gttctccagc	3660
ctctacatct ctcagtttat catcatgtat agtcttgatg ggaagaagtg gcagacttat	3720
cgaggaaatt cactggaac cttaatggtc ttctttggca atgtggattc atctgggata	3780

aaacacaata tttttaaccc tccaattatt gctcgatata tccgtttgca cccaactcat 3840
 tatagcattc gcagcactct tcgcatggag ttgatgggct gtgatttaaa tagttgcagc 3900
 atgccattgg gaatggagag taaagcaata tcagatgcac agattactgc ttcacacctac 3960
 tttaaccaata tgtttgccac ctggctctcct tcaaaagctc gacttcacct ccaaggagg 4020

agtaatgcct ggagacctca ggtgaataat ccaaaagagt ggctgcaagt ggacttccag 4080
 aagacaatga aagtcacagg agtaactact cagggagtaa aatctctgct taccagcatg 4140
 tatgtgaagg agttcctcat ctccagcagc caagatggcc atcagtggac tctctttttt 4200
 cagaatggca aagtaaaggt ttttcaggga aatcaagact ccttcacacc tgtggtgaac 4260
 tctctagacc caccgttact gactcgctac cttcgaattc acccccagag ttgggtgcac 4320
 cagattgccc tgaggatgga ggttctgggc tgcgaggcac aggacctcta c 4371

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 20

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp

1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 21

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 22

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu

1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAR1 exosite interaction motif

<400> 23

Pro Asn Asp Lys Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu Ser

1 5 10

<210> 24

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF linker

<400> 24

Gly Gly Leu Val Pro Arg Ser Phe Leu Leu Arg Asn Pro Asn Asp Lys

1 5 10 15

Tyr Glu Pro Phe Trp Glu Asp Glu Glu Ser

20 25

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Thrombin cleavage site

<400> 25

Leu Val Pro Arg

1

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Thrombin cleavage site

<400> 26

Ala Leu Arg Pro Arg Val Val

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FXIa cleavage site

<400>

> 27

Thr Gln Ser Phe Asn Asp Phe Thr Arg

1 5

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FXIa cleavage site

<400> 28

Ser Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg

1 5 10

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Thrombin cleavage site

<400> 29

Asp Phe Leu Ala Glu Gly Gly Gly Val Arg

1 5 10

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Thrombin cleavage site

<400> 30

Thr Thr Lys Ile Lys Pro Arg

1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Thrombin cleavage site

<400> 31

Leu Val Pro Arg Gly

1 5

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 32

Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala

20

<210> 33

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 33

Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser

20

<210> 34

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 34

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Ser Pro Ser Ser

20

<210> 35

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 35

Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Ser Pro Ser

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 36

Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro

1 5 10 15

Ser Ser Pro Ala

20

<210> 37

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 37

Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro

1 5 10 15

Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala

20

<210> 38

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAS sequence

<400> 38

Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro

1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala

20

<210> 39

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE42

<400> 39

Gly Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly

1 5 10 15

Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala

20 25 30

Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Ala Ser Ser

35 40

<210> 40

<211> 78

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE72

<400> 40

Gly Ala Pro Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser

1 5 10 15

Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala
 20 25 30
 Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu
 35 40 45

Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr
 50 55 60
 Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ala Ser Ser
 65 70 75

<210> 41

<211> 143

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE144

<400> 41

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

20 25 30
 Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu
 35 40 45

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro
 50 55 60
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly
 65 70 75 80

Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro

85 90 95
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu
 100 105 110

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

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

<210> 42

<211> 144

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AG144

<400> 42

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr

1 5 10 15

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr

20 25 30

Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro

35 40 45

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro

50 55 60

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala

65 70 75 80

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro

85 90 95

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro

100 105 110

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala

115 120 125

Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro

130 135 140

<210> 43

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE288

<400> 43

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

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

275 280 285

<210> 44

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AG288

<400> 44

Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser

1 5 10 15

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr

20 25 30

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser

35 40 45

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser

50 55 60

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr

65 70 75 80

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser

85 90 95

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser

100 105 110

Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser

115 120 125

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser

130 135 140

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser

145 150 155 160

Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser

165 170 175

Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly

180 185 190

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

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly
210 215 220

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

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

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

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

<210> 45

<211> 576

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE576

<400> 45

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala
 100 105 110
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 115 120 125
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 130 135 140
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala

 145 150 155 160
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
 165 170 175
 Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 180 185 190
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr
 195 200 205
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

 210 215 220
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro
 225 230 235 240
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr
 245 250 255
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 260 265 270
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

 275 280 285
 Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu
 290 295 300
 Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro
 325 330 335
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr

340 345 350
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
 355 360 365
 Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 370 375 380
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr
 385 390 395 400
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr

405 410 415
 Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 420 425 430
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro
 435 440 445
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 450 455 460
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro

465 470 475 480
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr
 485 490 495
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 500 505 510
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu
 515 520 525
 Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala

530 535 540
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 545 550 555 560
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 565 570 575

<210> 46
 <211> 576
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AG576

<400> 46

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly
210 215 220

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser
 225 230 235 240
 Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro
 245 250 255
 Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly
 260 265 270

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser
 275 280 285
 Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser
 290 295 300
 Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser
 305 310 315 320
 Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser
 325 330 335

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser
 340 345 350
 Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser
 355 360 365
 Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser
 370 375 380
 Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro
 385 390 395 400

Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly
 405 410 415
 Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser
 420 425 430
 Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro
 435 440 445
 Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly
 450 455 460

Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser

465 470 475 480
Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser
 485 490 495
Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser
 500 505 510
Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser
 515 520 525

Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser
 530 535 540
Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser
545 550 555 560
Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser
 565 570 575

<210> 47

<211> 864

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AE864

<400> 47

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu

1 5 10 15
Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
 20 25 30
Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu
 35 40 45
Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr
 50 55 60
Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

65 70 75 80
Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro
 85 90 95
Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala

100 105 110
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 115 120 125
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro

 130 135 140
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala
 145 150 155 160
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
 165 170 175
 Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 180 185 190
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr

 195 200 205
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 210 215 220
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro
 225 230 235 240
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr
 245 250 255
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

 260 265 270
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro
 275 280 285
 Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu
 290 295 300
 Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

 325 330 335
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr
 340 345 350

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
 355 360 365
 Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 370 375 380
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr

 385 390 395 400
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr
 405 410 415
 Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 420 425 430
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro
 435 440 445
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

 450 455 460
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro
 465 470 475 480
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr
 485 490 495
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 500 505 510
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

 515 520 525
 Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala
 530 535 540
 Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 545 550 555 560
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 565 570 575
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro

 580 585 590
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

595 600 605
 Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro
 610 615 620
 Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr
 625 630 635 640
 Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr

 645 650 655
 Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro
 660 665 670
 Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu
 675 680 685
 Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr
 690 695 700
 Ser Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

 705 710 715 720
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu
 725 730 735
 Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
 740 745 750
 Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro
 755 760 765
 Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro

 770 775 780
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr
 785 790 795 800
 Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro
 805 810 815
 Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro
 820 825 830
 Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

 835 840 845

Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro

850

855

860

<210> 48

<211> 864

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN AG864

<400> 48

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro

1

5

10

15

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr

20

25

30

Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro

35

40

45

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro

50

55

60

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser

65

70

75

80

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro

85

90

95

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly

100

105

110

Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser

115

120

125

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro

130

135

140

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr

145

150

155

160

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser

165

170

175

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro

180

185

190

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro
290 295 300

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
305 310 315 320

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
325 330 335

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Thr Pro Gly
340 345 350

Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
355 360 365

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
370 375 380

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr
385 390 395 400

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala
405 410 415

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
420 425 430

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr

435 440 445
 Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala
 450 455 460
 Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro
 465 470 475 480

 Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro
 485 490 495
 Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
 500 505 510
 Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro
 515 520 525
 Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro
 530 535 540

 Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
 545 550 555 560
 Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
 565 570 575
 Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr
 580 585 590
 Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala
 595 600 605

 Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro
 610 615 620
 Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr
 625 630 635 640
 Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala
 645 650 655
 Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro
 660 665 670

 Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro
 675 680 685

Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala
690 695 700

Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro
705 710 715 720

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ser Ser Pro
725 730 735

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
740 745 750

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
755 760 765

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro
770 775 780

Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser
785 790 795 800

Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro
805 810 815

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ser Thr
820 825 830

Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala
835 840 845

Thr Gly Ser Pro Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro
850 855 860

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AD

<400> 49

Gly Glu Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Glu Ser

1 5 10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AD

<400> 50

Gly Ser Glu Gly Ser Ser Gly Pro Gly Glu Ser Ser

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AD

<400> 51

Gly Ser Ser Glu Ser Gly Ser Ser Glu Gly Gly Pro

1 5 10

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AD

<400> 52

Gly Ser Gly Gly Glu Pro Ser Glu Ser Gly Ser Ser

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AE, AM

<400> 53

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu

1 5 10

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AE, AM, AQ

<400> 54

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro

1 5 10

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AE, AM, AQ

<400> 55

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro

1 5 10

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> XTEN Motif Family AE, AM, AQ

<400> 56

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro

1 5 10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AF, AM

<400> 57

Gly Ser Thr Ser Glu Ser Pro Ser Gly Thr Ala Pro

1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AF, AM

<400> 58

Gly Thr Ser Thr Pro Glu Ser Gly Ser Ala Ser Pro

1 5 10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AF, AM

<400> 59

Gly Thr Ser Pro Ser Gly Glu Ser Ser Thr Ala Pro

1 5 10

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AF, AM

<400> 60

Gly Ser Thr Ser Ser Thr Ala Glu Ser Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 61

<211> 12

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AG, AM

<400> 61

Gly Thr Pro Gly Ser Gly Thr Ala Ser Ser Ser Pro

1 5 10

<210> 62

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AG, AM

<400> 62

Gly Ser Ser Thr Pro Ser Gly Ala Thr Gly Ser Pro

1 5 10

<210> 63

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AG, AM

<400> 63

Gly Ser Ser Pro Ser Ala Ser Thr Gly Thr Gly Pro

1 5 10

<210> 64

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AG, AM

<400> 64

Gly Ala Ser Pro Gly Thr Ser Ser Thr Gly Ser Pro

1 5 10

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 65

Gly Glu Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Ser Glu

1 5 10

<210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 66

Gly Thr Gly Glu Pro Ser Ser Thr Pro Ala Ser Glu

1 5 10

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 67

Gly Ser Gly Pro Ser Thr Glu Ser Ala Pro Thr Glu

1 5 10

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 68

Gly Ser Glu Thr Pro Ser Gly Pro Ser Glu Thr Ala

1 5 10

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 69

Gly Pro Ser Glu Thr Ser Thr Ser Glu Pro Gly Ala

1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family AQ

<400> 70

Gly Ser Pro Ser Glu Pro Thr Glu Gly Thr Ser Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BC

<400> 71

Gly Ser Gly Ala Ser Glu Pro Thr Ser Thr Glu Pro

1 5 10

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BC

<400> 72

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Thr Glu Pro Ser

1 5 10

<210> 73

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BC

<400> 73

Gly Thr Ser Glu Pro Ser Thr Ser Glu Pro Gly Ala

1 5 10

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BC

<400> 74

Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Pro Gly Ser Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BD

<400> 75

Gly Ser Thr Ala Gly Ser Glu Thr Ser Thr Glu Ala

1 5 10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BD

<400> 76

Gly Ser Glu Thr Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Ala

1 5 10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BD

<400> 77

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Ser Glu Ser Gly Ala

1 5 10

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> XTEN Motif Family BD

<400> 78

Gly Thr Ser Thr Glu Ala Ser Glu Gly Ser Ala Ser

1 5 10

<210> 79

<211> 4974

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF057 (VWF D'D3-Fc with LVPR thrombin site in the linker)

<400> 79

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg cccatctttt gccagggacc	60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcagggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt	120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc	180
ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag	240
agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg	480
ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtgaga acagtgggtg	600
gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgtg ccacctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgccctgc cctctggag tacgcccgga cctgtgccca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag	900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgcctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcacga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgga cgctgtgtgc	1320
acctgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc cctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcatccagc atacagtac ggcctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgccgctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680

gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc 1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc 1800
ccgctgccct acctgcggaa ctgccgtac gacgtgtgct cctgctcgga cggcccgag 1860
tgctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc 1920

gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag 1980
tgccggacc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat 2040
gaggcctgcc tggagggtctg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac 2100
tgctgcccc aggccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac 2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcacgca ctgtaccatg 2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcacct gtctcatcgc 2280
agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgtc cgtgacaac 2340

ctgcgggctg aagggtctga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcacg 2400
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggctccgca tgagaacaga 2460
tgtgtggccc tggaaaagggt tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580
catgtgtgtg atccacgtg ctccacgac ggcatggccc actacctcac cttcgacggg 2640
ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700
aacctggga ccttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtga 2760

tgcaagaaac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820
gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtgggtga gtctggccgg 2880
tacatcattc tctgtctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcacc 2940
tccgtggtec tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060
tttgggaact cctggaaagt gagctgcag tgtgtgaca ccagaaaagt gcctctggac 3120
tcacccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatggtgga ttcctcctgt 3180

agaatcctta ccagtacgt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacc cgagccatat 3240
ctggatgtct gcatttacga cacctgtctc tgtgagtcca ttggggactg cgcgcattc 3300
tgcgacacca ttgtgccta tgcccacgtg tgtgcccagc atggcaaggt ggtgacctgg 3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat 3420
gaggctgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcaccct 3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg 3540

aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag 3600

 gttgctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag 3660
 cactgccaga ttgccactg tgatgttgc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg 3720
 atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtggccccgg gagcgagcca 3780
 gccacatctg ggtcggaaac gccaggcaca agtgagtctg caactcccga gtccggacct 3840
 ggctccgagc ctgccactag cggctccgag actccgggaa cttccgagag cgctacacca 3900
 gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcaggggct ctgctccggg cagcccagcc 3960
 ggctctcta catccacgga ggagggcact tccgaatccg ccaccccgga gtcagggcca 4020

 ggatctgaac ccgtacctc aggcagttag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg 4080
 gagagtgggc caggagagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg 4140
 ggctcgccca ccagcaatga agaaggtgcc tcgagcggcg gtggaggatc cggctggcggg 4200
 ggatccggtg gcgggggatc cggctggcggg ggatccggtg gcgggggatc cggctggcggg 4260
 ggatccctgg tccccgggg cagcggaggc gacaaaactc acacatgcc accgtgccca 4320
 gctccagaac tctgggagg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 4380
 ctcagtatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 4440

 cctgaggtea agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 4500
 ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 4560
 caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 4620
 cccatcgaga aaacatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 4680
 ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtaaaa 4740
 ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 4800
 tacaagacca cgcctccgt gttggactcc gacggctcct tcttctcta cagcaagctc 4860

 accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 4920
 gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atga 4974

 <210> 80
 <211> 1662
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VWF057 (VWF D'D3-Fc with LVPR thrombin site linker)
 <400> 80
 Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15
 Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr
 20 25 30

 Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly
 35 40 45
 Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly
 50 55 60
 Cys Gln Lys Arg Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe Gln Asn Gly Lys
 65 70 75 80
 Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu
 85 90 95

 Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro
 100 105 110
 Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys
 115 120 125
 Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly
 130 135 140
 Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly
 145 150 155 160

 Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln
 165 170 175
 Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala
 180 185 190
 Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser
 195 200 205
 Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln
 210 215 220

 Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu
 225 230 235 240
 Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu
 245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala
 260 265 270
 Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His
 275 280 285

 Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys
 290 295 300
 Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met
 305 310 315 320
 Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu
 325 330 335
 Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His
 340 345 350

 Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn
 355 360 365
 Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys
 370 375 380
 Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp
 385 390 395 400
 Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg
 405 410 415

 Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys
 420 425 430
 Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu
 435 440 445
 Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val
 450 455 460
 Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu
 465 470 475 480

 Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu
 485 490 495
 Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu

500	505	510	
Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn			
515	520	525	
Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro			
530	535	540	
Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln			
545	550	555	560
Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met			
565	570	575	
Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe			
580	585	590	
Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys			
595	600	605	
Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly			
610	615	620	
Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val			
625	630	635	640
Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln			
645	650	655	
Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu			
660	665	670	
Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe			
675	680	685	
Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys			
690	695	700	
Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp			
705	710	715	720
Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met			
725	730	735	
His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val			
740	745	750	

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg
755 760 765
Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu
770 775 780
Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met
785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg
805 810 815
His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln
820 825 830
Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr
835 840 845
Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp
850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly
865 870 875 880
Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp
885 890 895
Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys
900 905 910
Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu
915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys
930 935 940
Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg
945 950 955 960
Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg
965 970 975
His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val
980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr

995	1000	1005
Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn		
1010	1015	1020
Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro		
1025	1030	1035
Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln		
1040	1045	1050
Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe		
1055	1060	1065
Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val		
1070	1075	1080
Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala		
1085	1090	1095
Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln		
1100	1105	1110
His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln		
1115	1120	1125
Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu		
1130	1135	1140
Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln		
1145	1150	1155
His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys		
1160	1165	1170
His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln		
1175	1180	1185
Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly		
1190	1195	1200
Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp		
1205	1210	1215
Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr		
1220	1225	1230

Cys Glu	Ala Cys	Gln Glu	Pro Ile	Ser Gly	Ala Pro	Thr Ser	Glu
1235			1240				1245
Ser Ala	Thr Pro	Glu Ser	Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser
1250			1255				1260
Gly Ser	Glu Thr	Pro Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser
1265			1270				1275
Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser Glu	Thr Pro	Gly
1280			1285				1290
Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Thr Ser	Thr
1295			1300				1305
Glu Pro	Ser Glu	Gly Ser	Ala Pro	Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro
1310			1315				1320
Thr Ser	Thr Glu	Glu Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser
1325			1330				1335
Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser Glu	Thr Pro	Gly
1340			1345				1350
Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Ser Pro	Ala
1355			1360				1365
Gly Ser	Pro Thr	Ser Thr	Glu Glu	Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro
1370			1375				1380
Thr Ser	Thr Glu	Glu Gly	Ala Ser	Ser Gly	Gly Gly	Gly Gly	Ser Gly
1385			1390				1395
Gly Gly	Gly Ser	Gly Gly	Gly Gly	Ser Gly	Gly Gly	Gly Gly	Ser Gly
1400			1405				1410
Gly Gly	Gly Ser	Gly Gly	Gly Gly	Ser Gly	Gly Gly	Gly Gly	Ser Leu
1415			1420				1425
Val Pro	Arg Gly	Ser Gly	Gly Asp	Lys Thr	His Thr	Cys Pro	Pro
1430			1435				1440
Cys Pro	Ala Pro	Glu Leu	Leu Gly	Gly Pro	Ser Val	Phe Leu	Phe
1445			1450				1455
Pro Pro	Lys Pro	Lys Asp	Thr Leu	Met Ile	Ser Arg	Thr Pro	Glu

1460	1465	1470
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val		
1475	1480	1485
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
1490	1495	1500
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
1505	1510	1515
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
1520	1525	1530
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
1535	1540	1545
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
1550	1555	1560
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
1565	1570	1575
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
1580	1585	1590
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
1595	1600	1605
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
1610	1615	1620
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
1625	1630	1635
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
1640	1645	1650
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
1655	1660	
<210> 81		
<211> 4959		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		

<220><223> VWF059 (VWF D'D3-Fc with acidic region thombin site in the linker)

<400> 81

atgattcctg ccagatttgc cgggggtgctg cttgctctgg cccatatttt gccagggacc	60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcagggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt	120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc	180
ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag	240
agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaaca gacctgcggg	480
ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtgaga acagtgggtg	600
gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgctg ccacctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgccctgc cctctggag tacgcccgga cctgtgcca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag	900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgcctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcacga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta ccctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccaggga gtgccttgtc actggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggacttgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgga cgctgtgtgc	1320
acccgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc cctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattccagc atacagtac ggcctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgccgctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680

gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc 1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc 1800
ccgctgccct acctgcggaa ctgccgtac gacgtgtgct cctgctcgga cgcccgag 1860
tgctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc 1920

gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag 1980
tgccggaccc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat 2040
gaggcctgcc tggagggtctg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac 2100
tgctgcccc aggccagtg cccctgttac tatgacgtg agatcttcca gccagaagac 2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcacgca ctgtaccatg 2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcacct gtctcatcgc 2280
agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgtc cgtgacaac 2340

ctgcgggctg aagggtctga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcacg 2400
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggccggca tgagaacaga 2460
tgtgtggccc tggaaaggctg tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580
catgtgtgtg atccacgtg ctccacgac ggcatggccc actacctcac cttcgacggg 2640
ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt 2700
aacctggga ccttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtga 2760

tgcaagaaac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820
gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtgggtga gtctggccgg 2880
tacatcattc tctgtctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc 2940
tccgtggtec tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060
tttgggaact cctggaaagt gagctgcag tgtgtgaca ccagaaaagt gcctctggac 3120
tcacccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatgggtga ttcctcctgt 3180

agaatcctta ccagtacgt cttccaggac tgcaacaagc tggtgaccc cgagccatat 3240
ctggaatgtc gcatctacga cacctgtctc tgtgagtcca ttggggactg cgccgcatc 3300
tgcgacacca ttgtgccta tgcccacgtg tgtgccagc atggcaaggt ggtgacctgg 3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat 3420
gaggtgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagccacct 3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg 3540

aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag 3600

 gttgctggcc ggcgttttgc ctcaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag 3660
 cactgccaga ttgcccactg tgatgttgc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg 3720
 atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtggccccgg gagcgagcca 3780
 gccacatctg ggtcggaac gccaggcaca agtgagtctg caactcccga gtccggacct 3840
 ggctccgagc ctgccactag cggctccgag actccgggaa cttccgagag cgctacacca 3900
 gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcaggggct ctgctccggg cagcccagcc 3960
 ggctctcta catccacgga ggagggcact tccgaatccg ccaccccgga gtcagggcca 4020

 ggatctgaac ccgtacctc aggcagttag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg 4080
 gagagtgggc caggagagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg 4140
 ggctcggcca ccagcaatga agaagtgcc tcgatatctg acaagaacac tgggtattat 4200
 tacgaggaca gttatgaaga tatttcagca tacttgctga gtaaaaaca tgccattgaa 4260
 ccaagaagct tctctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccgctcc agaactcctg 4320
 ggccggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctccggg 4380
 acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 4440

 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 4500
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 4560
 ggcaaggagt acaagtgcac ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 4620
 atctccaaag ccaaagggca gcccggagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 4680
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 4740
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccagcct 4800
 cccgtgttgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 4860

 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 4920
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 4959

 <210> 82
 <211> 1652
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> VWF059 (VWF D'D3-Fc with LVPR thrombin site in the linker)
 <400> 82
 Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1	5	10	15
Leu Pro Gly Thr	Leu Cys Ala Glu Gly Thr	Arg Gly Arg Ser	Ser Thr
20	25	30	
Ala Arg Cys Ser	Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val	Asn Thr Phe Asp Gly	
35	40	45	
Ser Met Tyr Ser	Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr	Leu Leu Ala Gly Gly	
50	55	60	
Cys Gln Lys Arg	Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe	Gln Asn Gly Lys	
65	70	75	80
Arg Val Ser Leu	Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe	Asp Ile His Leu	
85	90	95	
Phe Val Asn Gly	Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg	Val Ser Met Pro	
100	105	110	
Tyr Ala Ser Lys	Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala	Gly Tyr Tyr Lys	
115	120	125	
Leu Ser Gly Glu	Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg	Ile Asp Gly Ser Gly	
130	135	140	
Asn Phe Gln Val	Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe	Asn Lys Thr Cys Gly	
145	150	155	160
Leu Cys Gly Asn	Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp	Asp Phe Met Thr Gln	
165	170	175	
Glu Gly Thr Leu	Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe	Ala Asn Ser Trp Ala	
180	185	190	
Leu Ser Ser Gly	Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala	Ser Pro Pro Ser Ser	
195	200	205	
Ser Cys Asn Ile	Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys	Gly Leu Trp Glu Gln	
210	215	220	
Cys Gln Leu Leu	Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala	Arg Cys His Pro Leu	
225	230	235	240
Val Asp Pro Glu	Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu	Lys Thr Leu Cys Glu	
245	250	255	

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala
 260 265 270
 Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His
 275 280 285

 Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys
 290 295 300
 Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met
 305 310 315 320
 Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu
 325 330 335
 Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His
 340 345 350

 Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn
 355 360 365
 Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys
 370 375 380
 Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp
 385 390 395 400
 Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg
 405 410 415

 Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys
 420 425 430
 Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu
 435 440 445
 Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val
 450 455 460
 Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu
 465 470 475 480

 Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu
 485 490 495
 Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu

500	505	510	
Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn			
515	520	525	
Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly Leu Ala Glu Pro			
530	535	540	
Arg Val Glu Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His Gly Asp Cys Gln			
545	550	555	560
Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu Asn Pro Arg Met			
565	570	575	
Thr Arg Phe Ser Glu Glu Ala Cys Ala Val Leu Thr Ser Pro Thr Phe			
580	585	590	
Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr Leu Arg Asn Cys			
595	600	605	
Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu Cys Leu Cys Gly			
610	615	620	
Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val			
625	630	635	640
Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln			
645	650	655	
Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu			
660	665	670	
Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe			
675	680	685	
Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys			
690	695	700	
Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp			
705	710	715	720
Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met			
725	730	735	
His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val			
740	745	750	

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg
755 760 765
Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu
770 775 780
Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met
785 790 795 800

Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg
805 810 815
His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln
820 825 830
Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr
835 840 845
Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp
850 855 860

Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly
865 870 875 880
Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp
885 890 895
Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys
900 905 910
Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu
915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys
930 935 940
Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg
945 950 955 960
Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg
965 970 975
His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val
980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr

995	1000	1005
Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn		
1010	1015	1020
Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro		
1025	1030	1035
Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln		
1040	1045	1050
Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe		
1055	1060	1065
Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val		
1070	1075	1080
Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala		
1085	1090	1095
Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln		
1100	1105	1110
His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln		
1115	1120	1125
Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Ala Glu		
1130	1135	1140
Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys Gln		
1145	1150	1155
His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys		
1160	1165	1170
His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln		
1175	1180	1185
Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly		
1190	1195	1200
Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp		
1205	1210	1215
Pro Glu His Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr		
1220	1225	1230

Cys Glu	Ala Cys	Gln Glu	Pro Ile	Ser Gly	Ala Pro	Thr Ser	Glu
1235			1240				1245
Ser Ala	Thr Pro	Glu Ser	Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser
1250			1255				1260
Gly Ser	Glu Thr	Pro Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser
1265			1270				1275
Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser Glu	Thr Pro	Gly
1280			1285				1290
Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Thr Ser	Thr
1295			1300				1305
Glu Pro	Ser Glu	Gly Ser	Ala Pro	Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro
1310			1315				1320
Thr Ser	Thr Glu	Glu Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser
1325			1330				1335
Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser Glu	Thr Pro	Gly
1340			1345				1350
Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Ser Pro	Ala
1355			1360				1365
Gly Ser	Pro Thr	Ser Thr	Glu Glu	Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro
1370			1375				1380
Thr Ser	Thr Glu	Glu Gly	Ala Ser	Ile Ser	Asp Lys	Asn Thr	Gly
1385			1390				1395
Asp Tyr	Tyr Glu	Asp Ser	Tyr Glu	Asp Ile	Ser Ala	Tyr Leu	Leu
1400			1405				1410
Ser Lys	Asn Asn	Ala Ile	Glu Pro	Arg Ser	Phe Ser	Asp Lys	Thr
1415			1420				1425
His Thr	Cys Pro	Pro Cys	Pro Ala	Pro Glu	Leu Leu	Gly Gly	Pro
1430			1435				1440
Ser Val	Phe Leu	Phe Pro	Pro Lys	Pro Lys	Asp Thr	Leu Met	Ile
1445			1450				1455
Ser Arg	Thr Pro	Glu Val	Thr Cys	Val Val	Val Asp	Val Ser	His

1460	1465	1470
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
1475	1480	1485
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
1490	1495	1500
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
1505	1510	1515
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu		
1520	1525	1530
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
1535	1540	1545
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu		
1550	1555	1560
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
1565	1570	1575
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
1580	1585	1590
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
1595	1600	1605
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
1610	1615	1620
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
1625	1630	1635
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
1640	1645	1650

<210> 83

<211> 4860

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF062 (VWF D'D3-Fc with no thrombin site in the linker)

<400> 83

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg cctcatttt gccagggacc	60
ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt	120
gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc	180
ctggcagggg gctgccagaa acgctccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag	240
agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt	300
accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta	360
gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc	420
gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaacaa gacctgcggg	480
ctgtgtggca accttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg	540
acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtggtgt	600
gaacgggcat ctctccag cagctcatgc aacatctct ctggggaaat gcagaagggc	660
ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcggtgt ttgcccgtg ccacctctg	720
gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg	780
ctggagtgcg cctgcccgc cctctggag tacgcccga cctgtgcca ggagggaatg	840
gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatggag	900
tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg	960
tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgccctgagg gacagctcct ggatgaaggc	1020
ctctgcgtgg agagcaccga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta cctcccggc	1080
acctccctct ctcgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc	1140
aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggtcaat cccacttcaa gagctttgac	1200
aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac	1260
cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgga cgctgtgtgc	1320
acccgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat	1380
ggggcaggag ttgcatgga tggccaggac atccagctcc cctcctgaa aggtgacctc	1440
cgcattccagc atacagtac ggccctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg	1500
gactgggatg gccgcgggag gctgctggtg aagctgtccc ccgtctatgc cgggaagacc	1560
tgccgcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg	1620
ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag	1680
gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gcctcaacc cgcgcatgac caggttctcc	1740
gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc	1800
ccgtgccct acctgcggaa ctgccgtac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag	1860

tgccgtgtgcg gcgcccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc	1920
gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag	1980
tcggggaccc cctgcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat	2040
gaggcctgcc tggagggtcg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac	2100
tcgtgcccc agggccagtg cccctgttac tatgacgtg agatcttcca gccagaagac	2160
atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtgaggatg gcttcacgca ctgtaccatg	2220
agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcacct gtctcatcgc	2280
agcaaaagga gcctatcctg tcggcccccc atggtcaagc tgggtgtgtcc cgtgacaac	2340
ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcacg	2400
agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggtcggca tgagaacaga	2460
tgtgtggccc tggaaagggt tccctgcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa	2520
acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tctcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac	2580
catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgatc ggcatggccc actacctcac cttcgacggg	2640
ctcaaatacc tgttccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcggcagt	2700
aaccttggga ccttcggat cctagtgggg aataagggt gcagccacc ctcagtga	2760
tgcaaaaaac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag	2820
gtgaatgtga agaggcccat gaaggatgag actcactttg aggtgggtga gtctggccgg	2880
tacatcattc tctgtctggg caaagccctc tccgtgtgtc gggaccgcca cctgagcatc	2940
tccgtggtec tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat	3000
ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac	3060
tttgggaact cctggaaagt gagctgcag tgtgtgaca ccagaaaagt gcctctggac	3120
tcacccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatgggtga ttcctcctgt	3180
agaatcctta ccagtacgt cttccaggac tgcaacaagc tgggtggacc cgagccatat	3240
ctggatgtct gcatttacga cacctgctcc tgtgagtcca ttggggactg cgccgattc	3300
tcgacacca ttgtgccta tgcccacgtg tgtgccagc atggcaaggt ggtgacctgg	3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat	3420
gaggctgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtacgtg tcagaccct	3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg	3540
aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag	3600

gtggctggcc ggcgttttgc ctacaggaaaag aaagtcacct tgaatcccag tgaccctgag 3660

cactgccaga ttgcccactg tgatgttgtc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg 3720

atatcgggcg cgccaacatc agagagcgcc acccctgaaa gtggtcccg gagcgagcca 3780

gccacatctg ggtcggaaac gccaggcaca agtgagtctg caactccga gtccggacct 3840

ggctccgagc ctgccactag cggctccgag actccgggaa cttccgagag cgctacacca 3900

gaaagcggac ccggaaccag taccgaacct agcgagggt ctgctccggg cagcccagcc 3960

ggctctccta catccacgga ggagggcact tccgaatccg ccaccccgga gtcagggccca 4020

ggatctgaac ccgtacctc aggcagttag acgccaggaa cgagcgagtc cgctacaccg 4080

gagagtgggc caggagagccc tgctggatct cctacgtcca ctgaggaagg gtcaccagcg 4140

ggctcgccca ccagcactga agaaggtgcc tcgagcgaca aaactcacac atgcccaccg 4200

tgcccagctc cagaactcct gggcggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 4260

gacacctca tgatctccc gaccttgag gtcacatcg tggtggtgga cgtgagccac 4320

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 4380

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 4440

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctcaa caaagccctc 4500

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 4560

tacacctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg 4620

gtcaaaggct tctatccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 4680

aacaactaca agaccacgcc tcccggttg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 4740

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag cagggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 4800

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 4860

<210> 84

<211> 1619

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF062 (VWF D'D3-Fc with no thrombin site in the linker)

<400> 84

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr

20 25 30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly
35 40 45
Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly
50 55 60
Cys Gln Lys Arg Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe Gln Asn Gly Lys
65 70 75 80
Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu
85 90 95
Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro
100 105 110
Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys
115 120 125
Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly
130 135 140
Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly
145 150 155 160
Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln
165 170 175
Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala
180 185 190
Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser
195 200 205
Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln
210 215 220
Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu
225 230 235 240
Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu
245 250 255
Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala
260 265 270
Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His

275 280 285
 Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys
 290 295 300
 Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met

 305 310 315 320
 Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu
 325 330 335
 Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His
 340 345 350
 Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn
 355 360 365
 Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys

 370 375 380
 Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp
 385 390 395 400
 Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr Leu Leu Ala Arg
 405 410 415
 Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Glu Thr Val Gln Cys
 420 425 430
 Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val Thr Val Arg Leu

 435 440 445
 Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His Gly Ala Gly Val
 450 455 460
 Ala Met Asp Gly Gln Asp Ile Gln Leu Pro Leu Leu Lys Gly Asp Leu
 465 470 475 480
 Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu Ser Tyr Gly Glu
 485 490 495
 Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu Leu Val Lys Leu

 500 505 510
 Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys Gly Asn Tyr Asn
 515 520 525

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

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

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

565 570 575

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

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

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

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val

625 630 635 640

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

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

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

Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys

690 695 700

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

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

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

Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg

755 760 765

Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu

770 775 780
 Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met
 785 790 795 800
 Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg
 805 810 815
 His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln

 820 825 830
 Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr
 835 840 845
 Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp
 850 855 860
 Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly
 865 870 875 880
 Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp

 885 890 895
 Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys
 900 905 910
 Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu
 915 920 925
 Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys
 930 935 940
 Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg

 945 950 955 960
 Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg
 965 970 975
 His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val
 980 985 990
 Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr
 995 1000 1005
 Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn

 1010 1015 1020

Ser Trp	Lys Val Ser Ser Gln	Cys Ala Asp Thr Arg	Lys Val Pro
1025	1030	1035	
Leu Asp	Ser Ser Pro Ala Thr	Cys His Asn Asn Ile	Met Lys Gln
1040	1045	1050	
Thr Met	Val Asp Ser Ser Cys	Arg Ile Leu Thr Ser	Asp Val Phe
1055	1060	1065	
Gln Asp	Cys Asn Lys Leu Val	Asp Pro Glu Pro Tyr	Leu Asp Val
1070	1075	1080	
Cys Ile	Tyr Asp Thr Cys Ser	Cys Glu Ser Ile Gly	Asp Cys Ala
1085	1090	1095	
Ala Phe	Cys Asp Thr Ile Ala	Ala Tyr Ala His Val	Cys Ala Gln
1100	1105	1110	
His Gly	Lys Val Val Thr Trp	Arg Thr Ala Thr Leu	Cys Pro Gln
1115	1120	1125	
Ser Cys	Glu Glu Arg Asn Leu	Arg Glu Asn Gly Tyr	Glu Ala Glu
1130	1135	1140	
Trp Arg	Tyr Asn Ser Cys Ala	Pro Ala Cys Gln Val	Thr Cys Gln
1145	1150	1155	
His Pro	Glu Pro Leu Ala Cys	Pro Val Gln Cys Val	Glu Gly Cys
1160	1165	1170	
His Ala	His Cys Pro Pro Gly	Lys Ile Leu Asp Glu	Leu Leu Gln
1175	1180	1185	
Thr Cys	Val Asp Pro Glu Asp	Cys Pro Val Cys Glu	Val Ala Gly
1190	1195	1200	
Arg Arg	Phe Ala Ser Gly Lys	Lys Val Thr Leu Asn	Pro Ser Asp
1205	1210	1215	
Pro Glu	His Cys Gln Ile Cys	His Cys Asp Val Val	Asn Leu Thr
1220	1225	1230	
Cys Glu	Ala Cys Gln Glu Pro	Ile Ser Gly Ala Pro	Thr Ser Glu
1235	1240	1245	
Ser Ala	Thr Pro Glu Ser Gly	Pro Gly Ser Glu Pro	Ala Thr Ser

1250	1255	1260
Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr	Ser Glu Ser Ala Thr	Pro Glu Ser
1265	1270	1275
Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala	Thr Ser Gly Ser Glu	Thr Pro Gly
1280	1285	1290
Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro	Glu Ser Gly Pro Gly	Thr Ser Thr
1295	1300	1305
Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala	Pro Gly Ser Pro Ala	Gly Ser Pro

1310	1315	1320
Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr	Ser Glu Ser Ala Thr	Pro Glu Ser
1325	1330	1335
Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala	Thr Ser Gly Ser Glu	Thr Pro Gly
1340	1345	1350
Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro	Glu Ser Gly Pro Gly	Ser Pro Ala
1355	1360	1365
Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu	Glu Gly Ser Pro Ala	Gly Ser Pro

1370	1375	1380
Thr Ser Thr Glu Glu Gly Ala	Ser Ser Asp Lys Thr	His Thr Cys
1385	1390	1395
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu	Leu Leu Gly Gly Pro	Ser Val Phe
1400	1405	1410
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	Asp Thr Leu Met Ile	Ser Arg Thr
1415	1420	1425
Pro Glu Val Thr Cys Val Val	Val Asp Val Ser His	Glu Asp Pro

1430	1435	1440
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr	Val Asp Gly Val Glu	Val His Asn
1445	1450	1455
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	Glu Gln Tyr Asn Ser	Thr Tyr Arg
1460	1465	1470
Val Val Ser Val Leu Thr Val	Leu His Gln Asp Trp	Leu Asn Gly
1475	1480	1485

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

1490 1495 1500

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

1505 1510 1515

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn

1520 1525 1530

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

1535 1540 1545

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

1550 1555 1560

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

1565 1570 1575

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

1580 1585 1590

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

1595 1600 1605

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

1610 1615

<210> 85

<211> 6033

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> FVIII 286 (FVIII-Fc with additional a2 region in between FVIII and Fc)

<400> 85

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60

accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120

ggtagactgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180

acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240

gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300

gatacagtggt tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcattgctgtt 360

ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
 gagaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
 aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
 gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa 600
 gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
 ttgatgaag ggaaaagtig gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720

 gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggctct 780
 ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
 accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaacat 900
 cgccaggcta gcttggaat ctgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
 gacctggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacaatga tggcatggaa 1020
 gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080
 gaagcgaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140

 gatgacaact ctcttctctt tatecaaatt cgtcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
 tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
 cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320
 aagtacaaaa aagtcgatt tatggcatac acagatgaaa ctttaagac tcgtgaagct 1380
 attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
 ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctacctca cggaatcact 1500
 gatgtccgtc ctttgatttc aaggagatta ccaaaagggtg taaaacattt gaaggatttt 1560

 ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
 actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
 gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
 agaggaaacc agataatgtc agacaaggag aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800
 aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgcttcc tcccgaatcc agctggagtg 1860
 cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
 tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980

 attggagcac agactgactt cttttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040
 atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaactgt cttcatgtcg 2100
 atggaaaacc caggctctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
 atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacaggac 2220

agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
 ttctctcaaa acggcgcgcc aggtacctca gagtctgcta ccccgagtc agggccagga 2340
 tcagagccag ccacctccgg gtctgagaca cccgggactt ccgagagtgc caccctgag 2400

 tccggacccg ggtccgagcc cgccacttcc ggctccgaaa ctcccggcac aagcgagagc 2460
 gctaccccg agtcaggacc aggaacatct acagagccct ctgaaggctc cgctccaggg 2520
 tccccagccg gcagtcacc tagcaccgag gaggaacct ctgaaagcgc cacaccgaa 2580
 tcagggccag ggtctgagcc tgctaccagc ggccagcgaga caccaggcac ctctgagtcc 2640
 gccacaccag agtccgagcc cggatctccc gctgggagcc ccacctccac tgaggaggga 2700
 tctctgctg gctctccaac atctactgag gaaggtagct caaccgagcc atccgaggga 2760
 tcagctcccg gcacctcaga gtcggcaacc ccggagtctg gaccggaac ttccgaaagt 2820

 gccacaccag agtccggtcc cgggacttca gaatcagcaa caccgagtc cggccctggg 2880
 tctgaacccg ccacaagtgg tagtgagaca ccaggatcag aacctgctac ctgagggtca 2940
 gagacacccg gatctccggc aggtcacca acctccactg aggagggcac cagcacagaa 3000
 ccaagcgagg gctccgcacc cggaacaagc actgaacca gtgagggttc agcaccggc 3060
 tctgagccgg ccacaagtgg cagttagaca cccggcactt cagagagtgc ccccccgag 3120
 agtggcccag gcaactagac cgagccctct gaaggcagtg cgccagctc gagcccacca 3180
 gtcttgaaac gccatcaagc tgaaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa 3240

 atcgattatg atgataccat atcagttgaa atgaagaagg aagattttga catttatgat 3300
 gaggatgaaa atcagagccc ccgcagcttt caaaagaaaa cagcacta tttattgct 3360
 gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg 3420
 gctcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgttt tccaggaatt tactgatggc 3480
 tcctttactc agcccttata ccgtggagaa ctaaatgaac atttgggact cctggggcca 3540
 tatataagag cagaagttga agataatatc atggtaactt tcagaaatca ggcctctcgt 3600
 ccctattcct tctattctag ccttatttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa 3660

 cctagaaaaa actttgtcaa gcctaataa accaaaaactt acttttgaa agtgcaacat 3720
 catatggcac ccactaaaga tgagtttgac tgcaaagcct gggcttattt ctctgatgtt 3780
 gacctggaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctggctcg ccactaac 3840
 acactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gttttcacc 3900
 atctttgatg agacaaaag ctggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt 3960
 ccctgcaata tccagatgga agatccact tttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc 4020

aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctcaggatca aaggattcga	4080
tggtatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat	4140
gtgttcactg tacgaaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt	4200
gtttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa tttggcgggt ggaatgcctt	4260
attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acactttttc tgggttacag caataagtgt	4320
cagactcccc tgggaatggc ttctggacac attagagatt ttcagattac agcttcagga	4380
caatatggac agtgggcccc aaagctggcc agacttcatt attccggtc aatcaatgcc	4440
tggagcacca aggagccctt ttcttggatc aaggtggatc tgttggcacc aatgattatt	4500
cacggcatca agacccaggg tgcccgtcag aagttctcca gccctacat ctctcagttt	4560
atcatcatgt atagtcttga tgggaagaag tggcagactt atcgaggaaa ttccactgga	4620
accttaatgg tcttctttgg caatgtggat tcatctggga taaaacacaa tatttttaac	4680
cctccaatta ttgctcgata catccgtttg cacccaactc attatagcat tcgcagcact	4740
cttcgcatgg agttgatggg ctgtgattta aatagttgca gcatgccatt gggaatggag	4800
agtaaagcaa tatcagatgc acagattact gcttcactct actttaccaa tatgtttgcc	4860
acctgggtctc ctcaaaaagc tcgacttcac ctccaaggga ggaglaatgc ctggagacct	4920
caggtgaata atccaaaaga gtggctgcaa gtggacttcc agaagacaat gaaagtcaca	4980
ggagtaacta ctcagggagt aaaatctctg cttaccagca tgtatgtgaa ggagtctctc	5040
atctccagca gtcaagatgg ccatcagtgg actctctttt ttcagaatgg caaagtaaag	5100
gtttttcagg gaaatcaaga ctcttcaca cctgtggtga actctctaga cccaccgtta	5160
ctgactcgct accttcgaat tcacccccag agttgggtgc accagattgc cctgaggatg	5220
gaggttctgg gctgcgaggc acaggacctc tacgacaaga acactggtga ttattacgag	5280
gacagttatg aagatatttc agcatacttg ctgagtaaaa acaatgccat tgaaccaaga	5340
agcttctctg acaaaactca cacatgcca cgtgcccag ctccagaact cctgggcgga	5400
ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt	5460
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg	5520
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	5580
agcacgtacc gtgtggtcag gctctcacc gtctgcacc aggactggtt gaatggcaag	5640
gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aacctctcc	5700
aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag	5760

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 5820
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 5880
 ttggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 5940
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 6000
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 6033

<210> 86

<211> 1991

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FVIII 286 (FVIII-Fc with additional a2 region in between FVIII

and Fc)

<400> 86

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys

35 40 45

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

50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala

100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val

115 120 125

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

130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser

145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro

405	410	415	
Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr			
420	425	430	
Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile			
435	440	445	
Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile			
450	455	460	
Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile			
465	470	475	480
Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys			
485	490	495	
His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys			
500	505	510	
Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys			
515	520	525	
Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala			
530	535	540	
Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp			
545	550	555	560
Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe			
565	570	575	
Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln			
580	585	590	
Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe			
595	600	605	
Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser			
610	615	620	
Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu			
625	630	635	640
Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr			
645	650	655	

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

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

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

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

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

Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Gly Ala Pro Gly Thr Ser Glu
740 745 750

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly
755 760 765

Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro
770 775 780

Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu
785 790 795 800

Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu
805 810 815

Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu
820 825 830

Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro
835 840 845

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro
850 855 860

Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu
865 870 875 880

Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr
885 890 895

Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro

900	905	910
Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro		
915	920	925
Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro		
930	935	940
Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly		
945	950	955
		960

Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu		
965	970	975
Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Thr		
980	985	990
Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly		
995	1000	1005
Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly		
1010	1015	1020

Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Ala Ser		
1025	1030	1035
Ser Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Ala Glu Ile Thr Arg Thr		
1040	1045	1050
Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile		
1055	1060	1065
Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp		
1070	1075	1080

Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr		
1085	1090	1095
Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser		
1100	1105	1110
Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro		
1115	1120	1125
Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe		
1130	1135	1140

Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Glu	Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu
1145						1150					1155			
Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu	Val	Glu	Asp	Asn	Ile	Met	Val
1160						1165					1170			
Thr	Phe	Arg	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ser	Ser
1175						1180					1185			
Leu	Ile	Ser	Tyr	Glu	Glu	Asp	Gln	Arg	Gln	Gly	Ala	Glu	Pro	Arg
1190						1195					1200			
Lys	Asn	Phe	Val	Lys	Pro	Asn	Glu	Thr	Lys	Thr	Tyr	Phe	Trp	Lys
1205						1210					1215			
Val	Gln	His	His	Met	Ala	Pro	Thr	Lys	Asp	Glu	Phe	Asp	Cys	Lys
1220						1225					1230			
Ala	Trp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Asp	Val	Asp	Leu	Glu	Lys	Asp	Val	His
1235						1240					1245			
Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Val	Cys	His	Thr	Asn	Thr	Leu
1250						1255					1260			
Asn	Pro	Ala	His	Gly	Arg	Gln	Val	Thr	Val	Gln	Glu	Phe	Ala	Leu
1265						1270					1275			
Phe	Phe	Thr	Ile	Phe	Asp	Glu	Thr	Lys	Ser	Trp	Tyr	Phe	Thr	Glu
1280						1285					1290			
Asn	Met	Glu	Arg	Asn	Cys	Arg	Ala	Pro	Cys	Asn	Ile	Gln	Met	Glu
1295						1300					1305			
Asp	Pro	Thr	Phe	Lys	Glu	Asn	Tyr	Arg	Phe	His	Ala	Ile	Asn	Gly
1310						1315					1320			
Tyr	Ile	Met	Asp	Thr	Leu	Pro	Gly	Leu	Val	Met	Ala	Gln	Asp	Gln
1325						1330					1335			
Arg	Ile	Arg	Trp	Tyr	Leu	Leu	Ser	Met	Gly	Ser	Asn	Glu	Asn	Ile
1340						1345					1350			
His	Ser	Ile	His	Phe	Ser	Gly	His	Val	Phe	Thr	Val	Arg	Lys	Lys
1355						1360					1365			
Glu	Glu	Tyr	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Pro	Gly	Val	Phe

1370	1375	1380
Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val		
1385	1390	1395
Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu		
1400	1405	1410
Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala		
1415	1420	1425
Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr		
1430	1435	1440
Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser		
1445	1450	1455
Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val		
1460	1465	1470
Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly		
1475	1480	1485
Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile		
1490	1495	1500
Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn		
1505	1510	1515
Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser		
1520	1525	1530
Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr		
1535	1540	1545
Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg		
1550	1555	1560
Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu		
1565	1570	1575
Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser		
1580	1585	1590
Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala		
1595	1600	1605

Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val
1610 1615 1620

Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met
1625 1630 1635

Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr
1640 1645 1650

Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly
1655 1660 1665

His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe
1670 1675 1680

Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp
1685 1690 1695

Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp
1700 1705 1710

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala
1715 1720 1725

Gln Asp Leu Tyr Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser
1730 1735 1740

Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile
1745 1750 1755

Glu Pro Arg Ser Phe Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1760 1765 1770

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
1775 1780 1785

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
1790 1795 1800

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
1805 1810 1815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
1820 1825 1830

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

1835 1840 1845
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
1850 1855 1860

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
1865 1870 1875
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
1880 1885 1890
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
1895 1900 1905
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
1910 1915 1920

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
1925 1930 1935
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
1940 1945 1950
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
1955 1960 1965
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
1970 1975 1980

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1985 1990

<210> 87

<211> 5937

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> FVIII 169

<400> 87

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc	60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc	120
ggtagactgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac	180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttaacatc	240

gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300

gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360

ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420

gagaaagaag atgataaagt cttccctggg ggaagccata catagtgtctg gcaggctctg 480

aaagagaatg gtccaatggc ctctgacca ctgtgccctta cctactcata tctttctcat 540

gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcatggag ccctactagt atgtagagaa 600

gggagtctgg ccaaggaana gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660

tttgatgaag ggaaaagtg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720

gctgcatctg ctggggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780

ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840

accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca ctttcttgt gaggaacct 900

cgccaggcta gcttggaat ctgcctaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960

gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacaatga tggcatggaa 1020

gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaacccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080

gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140

gatgacaact ctcttccctt tatccaaatt cgtcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200

tgggtacatt acattgtctg tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260

cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gatttgtagg 1320

aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa ctttaagac tcgtgaagct 1380

attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440

ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctacctca cggaatcact 1500

gatgtccgtc ctttgatctc aaggagatta ccaaaagggtg taaaacattt gaaggatttt 1560

ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620

actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680

gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc ttagatcaa 1740

agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800

aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgtttc tcccaatcc agctggagtg 1860

cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920

tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980

atgggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa	2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg	2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc	2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagtgtg gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac	2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc	2280
ttctctcaaa acggcgcgcc aggtacctca gagtctgcta ccccgagtc agggccagga	2340
tcagagccag ccacctccgg gtctgagaca cccgggactt ccgagagtgc caccctgag	2400
tcgggacccg ggtccgagcc cgccacttcc ggctccgaaa ctcccggcac aagcgagagc	2460
gtaccccag agtcaggacc aggaacatct acagagccct ctgaaggctc cgctccaggg	2520
tccccagccg gcagtcacc tagcaccgag gagggaaact ctgaaagcgc cacaccgaa	2580
tcagggccag ggtctgagcc tgctaccagc ggcagcgaga caccaggcac ctctgagtc	2640
gccacaccag agtccggacc cggatctccc gctgggagcc ccactccac tgaggaggga	2700
tctctgctg gctctcaac atctactgag gaaggtacct caaccgagcc atccgaggga	2760
tcagctcccg gcacctcaga gtcggcaacc ccggagtctg gaccgggaac ttccgaaagt	2820
gccacaccag agtccggtcc cgggacttca gaatcagcaa caccgagtc cggccctggg	2880
tctgaaccg ccacaagtgg tagtgagaca ccaggatcag aacctgtac ctcagggtca	2940
gagacaccg gatctccggc aggtcacca acctccactg aggagggcac cagcacagaa	3000
ccaagcgagg gctccgacc cggaacaagc actgaacca gtgagggttc agcaccggc	3060
tctgagccg ccacaagtgg cagtgagaca cccggcactt cagagagtgc ccccccgag	3120
agtggccag gcactaglac cgagccctct gaaggcagtg cgccagctc gagccacca	3180
gtcttgaac gccatcaagc tgaaataact cgtactactc ttcagtcaga tcaagaggaa	3240
atcgattatg atgataccat atcagttgaa atgaagaagg aagattttga catttatgat	3300
gaggatgaaa atcagagccc ccgagcttt caaaagaaaa cagcacta tttattgct	3360
gcagtggaga ggctctggga ttatgggatg agtagctccc cacatgttct aagaaacagg	3420
gtcagagtg gcagtgtccc tcagttcaag aaagttgttt tccaggaatt tactgatggc	3480
tcctttactc agcccttata ccgtggagaa ctaaatgaac atttgggact cctggggcca	3540
tatataagag cagaagtga agataatc atggtaactt tcagaaatca ggcctctcgt	3600
ccctattcct tctattctag cttattttct tatgaggaag atcagaggca aggagcagaa	3660
ctagaaaaa actttgtcaa gcctaataa accaaaactt acttttgaa agtgcaacat	3720
catatggcac cactaaaga tgagtttgac tgcaagcct gggttattt ctctgatgtt	3780
gacctggaaa aagatgtgca ctcaggcctg attggacccc ttctggtctg ccactaac	3840

acactgaacc ctgctcatgg gagacaagtg acagtacagg aatttgctct gtttttcacc	3900
atctttgatg agaccaaag ctggtacttc actgaaaata tggaaagaaa ctgcagggt	3960
ccctgcaata tccagatgga agatcccact tttaaagaga attatcgctt ccatgcaatc	4020
aatggctaca taatggatac actacctggc ttagtaatgg ctgaggatca aaggattcga	4080
tggtatctgc tcagcatggg cagcaatgaa aacatccatt ctattcattt cagtggacat	4140
gtgttcactg tacgaaaaaa agaggagtat aaaatggcac tgtacaatct ctatccaggt	4200
gtttttgaga cagtggaaat gttaccatcc aaagctggaa tttggcgggt ggaatgcctt	4260
attggcgagc atctacatgc tgggatgagc acactttttc tggtgtacag caataagtgt	4320
cagactcccc tgggaatggc ttctggacac attagagatt ttcagattac agcttcagga	4380
caatatggac agtgggcccc aaagctggcc agacttcatt attccggatc aatcaatgcc	4440
tggagcacca aggagccctt ttcttggatc aaggtggatc tgttggcacc aatgattatt	4500
cacggcatca agaccagggt tgcccgtcag aagtcttcca gcctctacat ctctcagttt	4560
atcatcatgt atagtcttga tgggaagaag tggcagactt atcgaggaaa ttccactgga	4620
accttaatgg tcttctttgg caatgtggat tcatctggga taaaacacaa tatttttaac	4680
cctccaatta ttgctcgata catccgtttg caccctaactc attatagcat tcgcagcact	4740
cttcgcatgg agttgatggg ctgtgattta aatagttgca gcatgccatt ggaatggag	4800
agtaaagcaa tatcagatgc acagattact gcttcactct actttaccaa tatgtttgcc	4860
acctggtctc ctcaaaagc tcgacttcac ctccaaggga ggaglaatgc ctggagacct	4920
caggtgaata atccaaaaga gtggctgcaa gtggacttcc agaagacaat gaaagtcaca	4980
ggagtaacta ctcaggaggt aaaatctctg cttaccagca tgtatgtgaa ggagtctctc	5040
atctccagca gtcaagatgg ccatcagtgg actctctttt ttcagaatgg caaagtaaag	5100
gtttttcagg gaaatcaaga ctctttcaca cctgtggtga actctctaga cccaccgtta	5160
ctgactcgct accttcgaat tcacccccag agttgggtgc accagattgc cctgaggatg	5220
gaggttctgg gctgcgaggc acaggacctc tacgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc	5280
ccagctccag aactcctggg cggaccgtca gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac	5340
acctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa	5400
gacctgagg tcaagttcaa ctggctactg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	5460
aagcccgagg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg	5520
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca	5580
gccccatcg agaaaacct ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac	5640
acctgcccc catcccgga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc	5700

aaaggtctct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 5760

aactacaaga ccacgcctcc cgtgttggac tccgacggct ccttcttctt ctacagcaag 5820

ctcacgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 5880

gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 5937

<210> 88

<211> 1978

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FVIII 169

<400> 88

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe

1 5 10 15

Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser

20 25 30

Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg

35 40 45

Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val

50 55 60

Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile

65 70 75 80

Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln

85 90 95

Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser

100 105 110

His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser

115 120 125

Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp

130 135 140

Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu

145 150 155 160

Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser

165	170	175	
Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile			
180	185	190	
Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr			
195	200	205	
Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly			
210	215	220	
Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp			
225	230	235	240
Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr			
245	250	255	
Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val			
260	265	270	
Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile			
275	280	285	
Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser			
290	295	300	
Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met			
305	310	315	320
Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His			
325	330	335	
Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro			
340	345	350	
Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp			
355	360	365	
Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser			
370	375	380	
Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr			
385	390	395	400
Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro			
405	410	415	

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn
 420 425 430
 Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met
 435 440 445
 Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu
 450 455 460
 Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu

 465 470 475 480
 Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro
 485 490 495
 His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys
 500 505 510
 Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe
 515 520 525
 Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp

 530 535 540
 Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg
 545 550 555 560
 Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu
 565 570 575
 Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val
 580 585 590
 Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu

 595 600 605
 Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp
 610 615 620
 Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val
 625 630 635 640
 Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp
 645 650 655
 Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe

660	665	670	
Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr			
675	680	685	
Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro			
690	695	700	
Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly			
705	710	715	720
Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp			
725	730	735	
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys			
740	745	750	
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Gly Ala Pro Gly			
755	760	765	
Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala			
770	775	780	
Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu			
785	790	795	800
Ser Gly Pro Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly			
805	810	815	
Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu			
820	825	830	
Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser			
835	840	845	
Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly			
850	855	860	
Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser			
865	870	875	880
Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser			
885	890	895	
Thr Glu Glu Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly			
900	905	910	

Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Thr Ser Glu Ser

915 920 925

Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu

930 935 940

Ser Gly Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly

945 950 955 960

Ser Glu Pro Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Glu Pro Ala

965 970 975

Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser

980 985 990

Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly

995 1000 1005

Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Glu Pro

1010 1015 1020

Ala Thr Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr

1025 1030 1035

Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser

1040 1045 1050

Ala Pro Ala Ser Ser Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Ala Glu

1055 1060 1065

Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr

1070 1075 1080

Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile

1085 1090 1095

Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys

1100 1105 1110

Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr

1115 1120 1125

Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser

1130 1135 1140

Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr

1145 1150 1155
 Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu

1160 1165 1170
 His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp

1175 1180 1185
 Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser

1190 1195 1200
 Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly

1205 1210 1215
 Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr

1220 1225 1230
 Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu

1235 1240 1245
 Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu

1250 1255 1260
 Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His

1265 1270 1275
 Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln

1280 1285 1290
 Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp

1295 1300 1305
 Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn

1310 1315 1320
 Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His

1325 1330 1335
 Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met

1340 1345 1350
 Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser

1355 1360 1365
 Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr

1370 1375 1380

Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr	Lys Met Ala Leu Tyr	Asn Leu Tyr
1385	1390	1395
Pro Gly Val Phe Glu Thr Val	Glu Met Leu Pro Ser	Lys Ala Gly
1400	1405	1410
Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu	Ile Gly Glu His Leu	His Ala Gly
1415	1420	1425
Met Ser Thr Leu Phe Leu Val	Tyr Ser Asn Lys Cys	Gln Thr Pro
1430	1435	1440
Leu Gly Met Ala Ser Gly His	Ile Arg Asp Phe Gln	Ile Thr Ala
1445	1450	1455
Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp	Ala Pro Lys Leu Ala	Arg Leu His
1460	1465	1470
Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala	Trp Ser Thr Lys Glu	Pro Phe Ser
1475	1480	1485
Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu	Ala Pro Met Ile Ile	His Gly Ile
1490	1495	1500
Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln	Lys Phe Ser Ser Leu	Tyr Ile Ser
1505	1510	1515
Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser	Leu Asp Gly Lys Lys	Trp Gln Thr
1520	1525	1530
Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly	Thr Leu Met Val Phe	Phe Gly Asn
1535	1540	1545
Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys	His Asn Ile Phe Asn	Pro Pro Ile
1550	1555	1560
Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu	His Pro Thr His Tyr	Ser Ile Arg
1565	1570	1575
Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu	Met Gly Cys Asp Leu	Asn Ser Cys
1580	1585	1590
Ser Met Pro Leu Gly Met Glu	Ser Lys Ala Ile Ser	Asp Ala Gln
1595	1600	1605
Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe	Thr Asn Met Phe Ala	Thr Trp Ser

1610	1615	1620
Pro Ser Lys Ala Arg Leu His	Leu Gln Gly Arg Ser	Asn Ala Trp
1625	1630	1635
Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro	Lys Glu Trp Leu Gln	Val Asp Phe

1640	1645	1650
Gln Lys Thr Met Lys Val Thr	Gly Val Thr Thr Gln	Gly Val Lys
1655	1660	1665
Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr	Val Lys Glu Phe Leu	Ile Ser Ser
1670	1675	1680
Ser Gln Asp Gly His Gln Trp	Thr Leu Phe Phe Gln	Asn Gly Lys
1685	1690	1695
Val Lys Val Phe Gln Gly Asn	Gln Asp Ser Phe Thr	Pro Val Val

1700	1705	1710
Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu	Leu Thr Arg Tyr Leu	Arg Ile His
1715	1720	1725
Pro Gln Ser Trp Val His Gln	Ile Ala Leu Arg Met	Glu Val Leu
1730	1735	1740
Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu	Tyr Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro
1745	1750	1755
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu	Leu Gly Gly Pro Ser	Val Phe Leu

1760	1765	1770
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile Ser	Arg Thr Pro
1775	1780	1785
Glu Val Thr Cys Val Val Val	Asp Val Ser His Glu	Asp Pro Glu
1790	1795	1800
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val	Asp Gly Val Glu Val	His Asn Ala
1805	1810	1815
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu	Gln Tyr Asn Ser Thr	Tyr Arg Val

1820	1825	1830
Val Ser Val Leu Thr Val Leu	His Gln Asp Trp Leu	Asn Gly Lys
1835	1840	1845

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
1850 1855 1860

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
1865 1870 1875

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
1880 1885 1890

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
1895 1900 1905

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
1910 1915 1920

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
1925 1930 1935

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
1940 1945 1950

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
1955 1960 1965

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1970 1975

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly/Ser linker

<400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 90

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly/Ser linker

<400> 90

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 91

<211> 5379

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF034

<400> 91

atgattcctg ccagatttgc cggggtgctg cttgctctgg ccctcatttt gccagggacc 60

ctttgtgcag aaggaactcg cggcaggtca tccacggccc gatgcagcct tttcggaagt 120

gacttcgtca acacctttga tgggagcatg tacagctttg cgggatactg cagttacctc 180

ctggcagggg gctgccagaa acgtcccttc tcgattattg gggacttcca gaatggcaag 240

agagtgagcc tctccgtgta tcttggggaa ttttttgaca tccatttgtt tgtcaatggt 300

accgtgacac agggggacca aagagtctcc atgccctatg cctccaaagg gctgtatcta 360

gaaactgagg ctgggtacta caagctgtcc ggtgaggcct atggctttgt ggccaggatc 420

gatggcagcg gcaactttca agtctctgtg tcagacagat acttcaaca gacctgcggg 480

ctgtgtggca actttaacat ctttctgtaa gatgacttta tgaccaaga agggaccttg 540

acctcggacc cttatgactt tgccaactca tgggctctga gcagtggaga acagtgggtg 600

gaacgggcat ctctcccag cagctcatgc aacatctcct ctggggaaat gcagaagggc 660

ctgtgggagc agtgccagct tctgaagagc acctcgggtg ttgcccgtg ccacctctg 720

gtggaccccg agccttttgt ggccctgtgt gagaagactt tgtgtgagtg tgctgggggg 780

ctggagtgcg cctgccctgc cctctggag tacgcccgga cctgtgccca ggagggaatg 840

gtgctgtacg gctggaccga ccacagcgcg tgcagcccag tgtgccctgc tggatatggag 900

tataggcagt gtgtgtcccc ttgcgccagg acctgccaga gcctgcacat caatgaaatg 960

tgtcaggagc gatgcgtgga tggctgcagc tgccctgagg gacagtcct ggatgaaggc 1020

ctctgcgtgg agagcacga gtgtccctgc gtgcattccg gaaagcgcta cctcccggc 1080

acctccctct ctgagactg caacacctgc atttgccgaa acagccagtg gatctgcagc 1140

aatgaagaat gtccagggga gtgccttgtc actggtcaat cccacttcaa gagctttgac 1200

aacagatact tcaccttcag tgggatctgc cagtacctgc tggcccggga ttgccaggac 1260

cactccttct ccattgtcat tgagactgtc cagtgtgctg atgaccgca cgctgtgtgc 1320

acccgctccg tcaccgtccg gctgcctggc ctgcacaaca gccttgtgaa actgaagcat 1380

 ggggcaggag ttgccatgga tggccaggac atccagctcc ccctcctgaa aggtgacctc 1440
 cgcatccagc atacagtac ggccctccgtg cgcctcagct acggggagga cctgcagatg 1500
 gactgggatg gccgcgggag gctgctgggtg aagctgtccc cgtctatgc cgggaagacc 1560
 tgcggcctgt gtgggaatta caatggcaac cagggcgacg acttccttac cccctctggg 1620
 ctggcggagc cccgggtgga ggacttcggg aacgcctgga agctgcacgg ggactgccag 1680
 gacctgcaga agcagcacag cgatccctgc gccctcaacc cgcgcatgac caggttctcc 1740
 gaggaggcgt gcgcggtcct gacgtcccc acattcgagg cctgccatcg tgccgtcagc 1800

 ccgctgccct acctgcggaa ctgccgctac gacgtgtgct cctgctcgga cggccgcgag 1860
 tgcctgtgcg gcgccctggc cagctatgcc gcggcctgcg cggggagagg cgtgcgcgtc 1920
 gcgtggcgcg agccaggccg ctgtgagctg aactgcccga aaggccaggt gtacctgcag 1980
 tgcgggaccc ctigcaacct gacctgccgc tctctctctt acccgatga ggaatgcaat 2040
 gaggcctgcc tggagggtcg cttctgcccc ccagggtctt acatggatga gaggggggac 2100
 tgcgtgcccc aggccagtg cccctgttac tatgacggtg agatcttcca gccagaagac 2160
 atcttctcag accatcacac catgtgctac tgtaggatg gcttcatgca ctgtaccatg 2220

 agtggagtcc ccggaagctt gctgcctgac gctgtcctca gcagtcacct gtctcatcgc 2280
 agcaaaagga gcctatcctg tcggccccc atggtcaagc tgggtgtgct cgctgacaac 2340
 ctgcgggctg aagggtcga gtgtacaaa acgtgccaga actatgacct ggagtgcag 2400
 agcatgggct gtgtctctgg ctgcctctgc cccccgggca tggtcggca tgagaacaga 2460
 tgtgtggccc tggaaagggtg tcctgtcttc catcagggca aggagtatgc ccctggagaa 2520
 acagtgaaga ttggctgcaa cacttgtgtc tgtcgggacc ggaagtggaa ctgcacagac 2580
 catgtgtgtg atgccacgtg ctccacgatc ggcatggccc actacctcac cttcgacggg 2640

 ctcaaatacc tggtccccgg ggagtgccag tacgttctgg tgcaggatta ctgcgacgt 2700
 aacctggga ctttcggat cctagtgggg aataagggat gcagccacc ctcagtga 2760
 tgcaagaaac gggtcacat cctggtggag ggaggagaga ttgagctgtt tgacggggag 2820
 gigaatgtga agaggccat gaaggatgag actcactttg aggtggtgga gtctggccgg 2880
 tacatcattc tctgtctggg caaagccctc tccgtggtct gggaccgcca cctgagcatc 2940
 tccgtggtcc tgaagcagac ataccaggag aaagtgtgtg gcctgtgtgg gaattttgat 3000
 ggcatccaga acaatgacct caccagcagc aacctccaag tggaggaaga ccctgtggac 3060

tttgggaact cctggaaagt gagctcgag tgtgctgaca ccagaaaagt gcctctggac	3120
tcattccctg ccacctgcca taacaacatc atgaagcaga cgatgggtgga ttctctctgt	3180
agaatcctta ccagtgcgt cttccaggac tgcaacaagc tggaggaccc cgagccatat	3240
ctggatgtct gcatttacga caccigtctc tgtgagtgca ttggggactg cgccgcattc	3300
tgcgacacca ttgctgccta tgcccactg tgtgccagc atggcaaggt ggtgacctgg	3360
aggacggcca cattgtgccc ccagagctgc gaggagagga atctccggga gaacgggtat	3420
gaggctgagt ggcgctataa cagctgtgca cctgcctgtc aagtcacgtg tcagcacct	3480
gagccactgg cctgccctgt gcagtgtgtg gagggctgcc atgccactg ccctccaggg	3540
aaaatcctgg atgagctttt gcagacctgc gttgacctg aagactgtcc agtgtgtgag	3600
gtggctggcc ggcgttttgc ctccaggaaag aaagtcacct tgaatcccag tgacctgag	3660
cactgccaga ttgccactg tgatgtgtc aacctcacct gtgaagcctg ccaggagccg	3720
atatcgggta cctcagagtc tgctaccccc gagtccgggc caggatcaga gccagccacc	3780
tccgggtctg agacaccgg gacttccgag agtgccacc ctgagtcgg acccggtcc	3840
gagcccgcca cttccggctc cgaaactccc ggcacaagcg agagcgctac ccagagtgca	3900
ggaccaggaa catctacaga gccctctgaa ggctccgctc cagggtcccc agccggcagt	3960
cccactagca ccgaggaggg aacctctgaa agcgccacac ccgaatcagg gccagggtct	4020
gagcctgcta ccagcgagc cgagacacca ggccacctg agtccgccac accagagtc	4080
ggaccggat ctcccgctgg gagccccacc tccactgagg agggatctcc tgctggctct	4140
ccaacatcta ctgaggaagg tacctcaacc gagccatccg agggatcagc tcccggcacc	4200
tcagagtcgg caaccccgga gtctggaccc ggaacttccg aaagtgccac accagagtc	4260
ggtcccgga cttcagaatc agcaacacc gagtccggcc ctgggtctga acccgccaca	4320
agtggtagtg agacaccagg atcagaacct gctacctcag ggtcagagac acccgatct	4380
ccggcaggct caccaacctc cactgaggag ggcaccagca cagaaccaag cgagggtcc	4440
gcaccggaa caagcactga acccagtgag ggttcagcac ccggctctga gccggccaca	4500
agtggcagtg agacaccgg cacttcagag agtgccacc ccgagagtgg ccaggcact	4560
agtaccgagc cctctgaagg cagtgcgcca gattctggcg gtggaggttc cggtagcg	4620
ggatccggtg gcgggggac cggtagcggg ggatccggtg gcgggggac cctggtcccc	4680
cggggcagcg gaggcgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagctcc agaactcctg	4740
ggcggaccgt cagtttctt cttccccca aaaccaagg acacctcat gatctccgg	4800
accttgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccagc aagacctga ggtcaagttc	4860
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	4920

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 4980
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 5040
 atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 5100
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 5160

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 5220
 cccgtgttgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 5280
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 5340
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga 5379

<210> 92

<211> 1778

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VWF034

<400> 92

Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr

20 25 30

Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly

35 40 45

Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly

50 55 60

Cys Gln Lys Arg Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe Gln Asn Gly Lys

65 70 75 80

Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu

85 90 95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro

100 105 110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys

115 120 125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly

130	135	140	
Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly			
145	150	155	160
Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln			
	165	170	175
Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala			
	180	185	190
Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser			
195	200	205	
Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln			
210	215	220	
Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu			
225	230	235	240
Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu			
	245	250	255
Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala			
260	265	270	
Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His			
275	280	285	
Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys			
290	295	300	
Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met			
305	310	315	320
Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu			
	325	330	335
Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His			
340	345	350	
Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn			
355	360	365	
Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys			
370	375	380	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Leu Ala Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg Val

625 630 635 640
 Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly Gln
 645 650 655

 Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser Leu
 660 665 670
 Ser Tyr Pro Asp Glu Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys Phe
 675 680 685
 Cys Pro Pro Gly Leu Tyr Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys
 690 695 700
 Ala Gln Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp
 705 710 715 720

 Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met
 725 730 735
 His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val
 740 745 750
 Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg
 755 760 765
 Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu
 770 775 780

 Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met
 785 790 795 800
 Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg
 805 810 815
 His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln
 820 825 830
 Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr
 835 840 845

 Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp
 850 855 860
 Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly
 865 870 875 880

Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp

885 890 895

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

900 905 910

Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu

915 920 925

Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys

930 935 940

Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg

945 950 955 960

Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg

965 970 975

His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val

980 985 990

Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr

995 1000 1005

Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn

1010 1015 1020

Ser Trp Lys Val Ser Ser Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro

1025 1030 1035

Leu Asp Ser Ser Pro Ala Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln

1040 1045 1050

Thr Met Val Asp Ser Ser Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe

1055 1060 1065

Gln Asp Cys Asn Lys Leu Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val

1070 1075 1080

Cys Ile Tyr Asp Thr Cys Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala

1085 1090 1095

Ala Phe Cys Asp Thr Ile Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln

1100 1105 1110

His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln

1115	1120	1125
Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu	Arg Glu Asn Gly Tyr	Glu Ala Glu
1130	1135	1140
Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala	Pro Ala Cys Gln Val	Thr Cys Gln
1145	1150	1155
His Pro Glu Pro Leu Ala Cys	Pro Val Gln Cys Val	Glu Gly Cys
1160	1165	1170
His Ala His Cys Pro Pro Gly	Lys Ile Leu Asp Glu	Leu Leu Gln
1175	1180	1185
Thr Cys Val Asp Pro Glu Asp	Cys Pro Val Cys Glu	Val Ala Gly
1190	1195	1200
Arg Arg Phe Ala Ser Gly Lys	Lys Val Thr Leu Asn	Pro Ser Asp
1205	1210	1215
Pro Glu His Cys Gln Ile Cys	His Cys Asp Val Val	Asn Leu Thr
1220	1225	1230
Cys Glu Ala Cys Gln Glu Pro	Ile Ser Gly Thr Ser	Glu Ser Ala
1235	1240	1245
Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly	Ser Glu Pro Ala Thr	Ser Gly Ser
1250	1255	1260
Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu	Ser Ala Thr Pro Glu	Ser Gly Pro
1265	1270	1275
Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser	Gly Ser Glu Thr Pro	Gly Thr Ser
1280	1285	1290
Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser	Gly Pro Gly Thr Ser	Thr Glu Pro
1295	1300	1305
Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly	Ser Pro Ala Gly Ser	Pro Thr Ser
1310	1315	1320
Thr Glu Glu Gly Thr Ser Glu	Ser Ala Thr Pro Glu	Ser Gly Pro
1325	1330	1335
Gly Ser Glu Pro Ala Thr Ser	Gly Ser Glu Thr Pro	Gly Thr Ser
1340	1345	1350

Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Ser Pro	Ala Gly	Ser
1355			1360			1365	
Pro Thr	Ser Thr	Glu Glu	Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro Thr	Ser
1370			1375			1380	
Thr Glu	Glu Gly	Thr Ser	Thr Glu	Pro Ser	Glu Gly	Ser Ala	Pro
1385			1390			1395	
Gly Thr	Ser Glu	Ser Ala	Thr Pro	Glu Ser	Gly Pro	Gly Thr	Ser
1400			1405			1410	
Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala
1415			1420			1425	
Thr Pro	Glu Ser	Gly Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser
1430			1435			1440	
Glu Thr	Pro Gly	Ser Glu	Pro Ala	Thr Ser	Gly Ser	Glu Thr	Pro
1445			1450			1455	
Gly Ser	Pro Ala	Gly Ser	Pro Thr	Ser Thr	Glu Glu	Gly Thr	Ser
1460			1465			1470	
Thr Glu	Pro Ser	Glu Gly	Ser Ala	Pro Gly	Thr Ser	Thr Glu	Pro
1475			1480			1485	
Ser Glu	Gly Ser	Ala Pro	Gly Ser	Glu Pro	Ala Thr	Ser Gly	Ser
1490			1495			1500	
Glu Thr	Pro Gly	Thr Ser	Glu Ser	Ala Thr	Pro Glu	Ser Gly	Pro
1505			1510			1515	
Gly Thr	Ser Thr	Glu Pro	Ser Glu	Gly Ser	Ala Pro	Asp Ile	Gly
1520			1525			1530	
Gly Gly	Gly Gly	Ser Gly	Gly Gly	Gly Gly	Ser Leu	Val Pro	Arg Gly
1535			1540			1545	
Ser Gly	Gly Asp	Lys Thr	His Thr	Cys Pro	Pro Cys	Pro Ala	Pro
1550			1555			1560	
Glu Leu	Leu Gly	Gly Pro	Ser Val	Phe Leu	Phe Pro	Pro Lys	Pro
1565			1570			1575	

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

1580	1585	1590
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
1595	1600	1605
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg		
1610	1615	1620
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
1625	1630	1635
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
1640	1645	1650
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
1655	1660	1665
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
1670	1675	1680
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
1685	1690	1695
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
1700	1705	1710
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
1715	1720	1725
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
1730	1735	1740
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
1745	1750	1755
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
1760	1765	1770
Leu Ser Pro Gly Lys		
1775		