



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201521761 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：103109012

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 13 日

(51)Int. Cl. : *A61K38/37 (2006.01)*

A61P7/04 (2006.01)

(30)優先權：2013/03/15 美國

61/799,495

2013/08/23 美國

61/869,191

(71)申請人：拜耳保健有限責任公司(美國) BAYER HEALTHCARE LLC (US)

美國

(72)發明人：汪 德潛 WANG, DEQIAN (US) ; 馬欣翰 MA, XINGHANG (CN) ; 茲維科瓦 奈利 TSVETKOVA, NELLY (US)

(74)代理人：林秋琴；陳彥希

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：74 項 圖式數：20 共 83 頁

(54)名稱

重組體 F V I I I 調配物

RECOMBINANT FVIII FORMULATIONS

(57)摘要

本發明係提供液體和凍乾的 rFVIII 調配物，包括全長 rFVIII(FL-rFVIII)調配物、B-區刪除 rFVIII (BDD-rFVIII)調配物以及 BDD-rFVIII 突變型(BDD-rVIII 突變型)調配物。亦提供液體和凍乾的 PEG 化 rFVIII(PEG-rFVIII)調配物，包括 PEG 化全長 rFVIII(PEG-FL-rFVIII)調配物、PEG 化 B-區刪除 rFVIII(PEG-BDD-rFVIII)調配物以及 PEG 化 BDD-rFVIII 突變型(PEG-BDD-rVIII 突變型)調配物。

Provided are liquid and lyophilized rFVIII formulations, including full-length rFVIII (FL-rFVIII) formulations, B-domain deleted rFVIII (BDD-rFVIII) formulations, and BDD-rFVIII mutant (BDD-rVIII mutant) formulations. Also provided are liquid and lyophilized PEGylated rFVIII (PEG-rFVIII) formulations, including PEGylated full-length rFVIII (PEG-FL-rFVIII) formulations, PEGylated B-domain deleted rFVIII (PEG-BDD-rFVIII) formulations, and PEGylated BDD-rFVIII mutant (PEG-BDD-rFVIII mutant) formulations.

發明摘要

※ 申請案號：103109012

※ 申請日：103.3.13

※IPC 分類：

A61K 38/37 (2006.01)

A61P 7/4 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

重組體 FVIII 調配物

RECOMBINANT FVIII FORMULATIONS

【中文】

本發明係提供液體和凍乾的 rFVIII 調配物，包括全長 rFVIII(FL-rFVIII)調配物、B-區刪除 rFVIII (BDD-rFVIII)調配物以及 BDD-rFVIII 突變型(BDD-rVIII 突變型)調配物。亦提供液體和凍乾的 PEG 化 rFVIII (PEG-rFVIII)調配物，包括 PEG 化全長 rFVIII(PEG-FL-rFVIII)調配物、PEG 化 B-區刪除 rFVIII(PEG-BDD-rFVIII)調配物以及 PEG 化 BDD-rFVIII 突變型(PEG-BDD-rVIII 突變型)調配物。

【英文】

Provided are liquid and lyophilized rFVIII formulations, including full-length rFVIII (FL-rFVIII) formulations, B-domain deleted rFVIII (BDD-rFVIII) formulations, and BDD-rFVIII mutant (BDD-rVIII mutant) formulations. Also provided are liquid and lyophilized PEGylated rFVIII (PEG-rFVIII) formulations, including PEGylated full-length rFVIII (PEG-FL-rFVIII) formulations, PEGylated B-domain deleted rFVIII (PEG-BDD-rFVIII) formulations, and PEGylated BDD-rFVIII mutant (PEG-BDD-rFVIII mutant) formulations.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

重組體 FVIII 調配物

RECOMBINANT FVIII FORMULATIONS

【技術領域】

【0001】 本揭示文係提供液體和凍乾的rFVIII調配物，包括全長rFVIII(FL-rFVIII)調配物、B-區刪除的rFVIII(BDD-rFVIII)調配物以及BDD-rFVIII突變型(BDD-rVIII突變型)調配物。亦提供液體和凍乾的PEG化rFVIII調配物(PEG-rFVIII)，包括PEG化全長rFVIII(PEG-FL-rFVIII)調配物、PEG化B-區刪除的rFVIII(PEG-BDD-rFVIII)調配物以及PEG化BDD-rFVIII突變型(PEG-BDD-rVIII突變型)調配物。如文中所述，BDD-rFVIII突變型係在BDD-rFVIII的胺基酸序列內包括一或多個半胱胺酸取代。

【先前技術】

【0002】 A型血友病係由凝血因子 VIII (FVIII)缺陷所造成。其治療包括靜脈內注射重組的人類 FVIII(rFVIII)。由於 rFVIII 之循環半衰期短，需要頻繁注射。注射係因應出血事件需求而投予，或一週投予數次作為預防性治療。需要頻繁注射影響病患的生活品質。PEG 化已顯示增加蛋白治療劑之半衰期。PEG 化為長鏈聚乙二醇(PEG)分子與蛋白之共價連結。

【0003】 美國專利第 5,763,401 號揭示了穩定、無白蛋白、凍乾的長鏈重組 FVIII (FL-rFVIII)調配物。美國專利第 7,632,921 號揭示了 FVIII 突變型，包括 B-區刪除的 FVIII (BDD-rFVIII)、BDD-rFVIII 突變型和半胱胺酸加強的 FVIII 突變型，其係與一或多個生物相容的聚合物例如聚乙二醇共價結合。Mei 等人, *Blood* 116:270 (2010)揭示了帶有導入特別接合聚乙二醇之表面暴露半胱胺酸的 FVIII 突變型。各此等參考文獻其全文係以引用的方式併入本文中。

【發明內容】

【0004】 本揭示文係提供液體和凍乾的 rFVIII 調配物，包括全長 rFVIII(FL-rFVIII)調配物、B-區刪除的 rFVIII(BDD-rFVIII)調配物以及 BDD-rFVIII 突變型(BDD-rVIII 突變型)調配物。亦提供液體和凍乾的 PEG 化 rFVIII 調配物(PEG-rFVIII)，包括 PEG 化全長 rFVIII(PEG-FL-rFVIII)調配物、PEG 化 B-區刪除的 rFVIII(PEG-BDD-rFVIII)調配物以及 PEG 化 BDD-rFVIII 突變型(PEG-BDD-rVIII 突變型)調配物。如文中所述，BDD-rFVIII 突變型係在 BDD-rFVIII 的胺基酸序列內包括一或多個半胱胺酸取代。

【0005】 在特定的方面，本揭示文係提供 rFVIII 調配物，包括 FL-rFVIII 調配物、BDD-rFVIII 調配物和 BDD-rFVIII 突變型調配物，以及 PEG-rFVIII 調配物，包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG-BDD-rVIII 突變型調配物，該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括：

- (a) 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
- (b) 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
- (c) 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM，至約 10 mM，至約 15 mM 氯化鈣；
- (d) 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
- (e) 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
- (f) 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 由 FL-rFVIII、BDD-rFVIII 和 BDD-rFVIII-突變型選出之 rFVIII，或由 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型選出之 PEG-rFVIII；

其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

【0006】 在其他方面，本揭示文係提供 rFVIII 調配物，包括 FL-rFVIII 調配物、BDD-rFVIII 調配物和 BDD-rFVIII 突變型調配物，以及 PEG-rFVIII

調配物，包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG-BDD-rVIII 突變型調配物，該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括：

- (a) 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
- (b) 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
- (c) 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM，至約 10 mM，至約 15 mM 氯化鈣；
- (d) 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
- (e) 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
- (f) 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 由 FL-rFVIII、BDD-rFVIII 和 BDD-rFVIII-突變型選出之 rFVIII，或由 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型選出之 PEG-rFVIII；

其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

【0007】 在另外方面，本揭示文係提供 rFVIII 調配物，包括 FL-rFVIII 調配物，以及 PEG-rFVIII 調配物，包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG-BDD-rVIII 突變型調配物，該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括：

- (a) 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
- (b) 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
- (c) 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
- (d) 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
- (e) 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；

(f) 從約 0 mM 至約 50 mM, 或約 100 mM, 或約 150 mM, 或約 293 mM, 或約 400 mM 甘胺酸; 及

(g) 從約 0.1 µg/ml 至約 300 µg/ml, 或約 1.0 µg/ml 至約 200 µg/ml, 或約 10 µg/ml 至約 125 µg/ml 之選自 FL-rFVIII 的 rFVIII, 或選自 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型之 PEG-rFVIII;

其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5, 或約 pH 7.0, 或約 pH 7.5 之 pH。

【0008】 又在另外方面, 本揭示文係提供 rFVIII 調配物, 包括 FL-rFVIII 調配物, 以及 PEG-rFVIII 調配物, 包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG-BDD-rVIII 突變型調配物, 該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括:

(a) 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS;

(b) 從約 0 mM 至約 29 mM, 或約 34 mM, 或約 58 mM, 或約 100 mM, 或約 300 mM 的糖或糖醇;

(c) 從約 1 mM 至約 2 mM, 至約 2.5 mM, 至約 5 mM 氯化鈣;

(d) 從約 0 mM 至約 10 mM, 或約 20 mM, 或約 30 mM, 或約 40 mM, 或約 50 mM 氯化鈉;

(e) 從約 20 ppm 至約 50 ppm, 或約 80 ppm, 或約 100 ppm, 或約 120 ppm, 或約 200 ppm 的非離子界面活性劑;

(f) 從約 0 mM 至約 50 mM, 或約 100 mM, 或約 150 mM, 或約 293 mM, 或約 400 mM 甘胺酸; 及

(g) 從約 0.1 µg/ml 至約 300 µg/ml, 或約 1.0 µg/ml 至約 200 µg/ml, 或約 10 µg/ml 至約 125 µg/ml 由 FL-rFVIII 選出之 rFVIII, 或由 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型選出之 PEG-rFVIII;

其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5, 或約 pH 7.0, 或約 pH 7.5 之 pH。

【圖式簡單說明】

【0009】 熟習技術者應了解，下文所描述之圖式，僅作為說明之目的。這些圖式並不希望以任何方式限制文中所提供的揭示文範圍或申請專利範圍。

【0010】 圖 1 為顯示帶有雙硫鍵之 BDD-rFVIII 突變型於包括氯化鈉濃度增加之緩衝液中的相對濁度之圖形。濁度係以 A_{340nm} 所測量。除了氯化鈉之外，此緩衝液係包括 20 mM 組胺酸、2.5 mM 氯化鈣 29 mM 蔗糖、293 mM 甘胺酸和 80 ppm 聚山梨醇酯 80。

【0011】 圖 2 為顯示 BDD-rFVIII 突變型於包括聚山梨醇酯 80 濃度增加之緩衝液中的相對濁度之圖形。濁度係以 A_{340nm} 所測量。除了聚山梨醇酯 80 之外，此緩衝液係包括 20 mM 組胺酸、30 mM 氯化鈉、2.5 mM 氯化鈣、29 mM 蔗糖和 293 mM 甘胺酸。

【0012】 圖 3 為顯示 BDD-rFVIII 突變型於包括 HSA 濃度增加之緩衝液中的相對濁度之圖形。濁度係以 A_{340nm} 所測量。此緩衝液包括 20 mM 組胺酸、30 mM 氯化鈉、2.5 mM 氯化鈣、29 mM 蔗糖、293 mM 甘胺酸和 80 ppm 聚山梨醇酯 80。

【0013】 圖 4 為顯示 BDD-rFVIII 突變型於包括濃度增加的氯化鈉與聚山梨醇酯 80 和 HSA 組合之緩衝液中的相對濁度之圖形。濁度係以 A_{340nm} 所測量。除了氯化鈉、HSA 和聚山梨醇酯 80 之外，此緩衝液係包括 20 mM 組胺酸、2.5 mM 氯化鈣、29 mM 蔗糖和 293 mM 甘胺酸。

【0014】 圖 5 係顯示帶有雙硫鍵之 BDD-rFVIII 突變型於添加賦形劑之前和之後溶液中之澄清度變化，由左至右：(1)賦形劑組合物(HSA、氯化鈉和聚山梨醇酯 80)，(2)HSA，(3)氯化鈉，(4)聚山梨醇酯 80 和(5)添加 HSA、聚山梨醇酯 80 和氯化鈉之前。

【0015】 圖 6 為顯示全長 FVIII 於組胺酸、MOPS 和 TEA 緩衝液中在 40°C 儲存 7 天期間之液體安定性的圖形。

【0016】 圖 7 為顯示 MOPS 和組胺酸緩衝液中 rFVIII 安定性之圖形。

【0017】 圖 8 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之結構圖形。由 A3 區伸出的鏈係代表 PEG 分子。

【0018】 圖 9 為顯示氯化鈉對於 PEG 化 BDD-rFVIII 在 23°C 儲存 6 天期間之效力恢復效應之圖形。

【0019】 圖 10 為顯示氯化鈉對於未 PEG 化 BDD-rFVIII 在 23°C 儲存 6 天期間之效力恢復效應之圖形。

【0020】 圖 11 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 於 25 mM、55 mM、75 mM、125 mM 和 200 mM NaCl/MOPS 緩衝液中之吸收度圖形。

【0021】 圖 12 為顯示未 PEG 化 BDD-rFVIII 於 25 mM、55 mM、75 mM、125 mM 和 200 mM NaCl/MOPS 緩衝液中之吸收度圖形。

【0022】 圖 13 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之平台調配物於 26 週後的正常化效力趨勢之圖形。

【0023】 圖 14 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之修飾的平台調配物於 26 週後的正常化效力趨勢之圖形。

【0024】 圖 15 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之蔗糖調配物於 26 週後的正常化效力趨勢之圖形。

【0025】 圖 16 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之海藻糖調配物於 26 週後的正常化效力趨勢之圖形。

【0026】 圖 17 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之平台調配物至高 30 週的正常化效力趨勢之圖形。

【0027】 圖 18 為顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 之平台調配物至高 13 週的正常化效力趨勢之圖形。

【0028】 圖 19 為 BDD-rFVIII 之胺基酸序列。

【0029】 圖 20 為 FL-rFVIII 之胺基酸序列。

【實施方式】

【0030】 如上所述，本揭示文係提供液體和凍乾的rFVIII調配物，包括全長rFVIII(FL-rFVIII)調配物、B-區刪除的rFVIII(BDD-rFVIII)調配物以及BDD-rFVIII突變型(BDD-rVIII突變型)調配物。亦提供液體和凍乾的PEG化rFVIII調配物(PEG-rFVIII)，包括PEG化全長rFVIII(PEG-FL-rFVIII)調配物、PEG化B-區刪除rFVIII(PEG-BDD-rFVIII)調配物以及PEG化BDD-rFVIII突變

型(PEG-BDD-rFVIII突變型)調配物。如文中所述，BDD-rFVIII突變型係在BDD-rFVIII的胺基酸序列內包括一或多個半胱胺酸取代。文中所述的調配物包括一或多種醫藥上可接受的賦形劑或安定劑，且係以適合的pH和適合供活體內給藥之滲透壓包含在緩衝媒劑中。

【0031】 就闡釋本說明書之目的，係應用下列定義。就下列所述的任何定義與任何其他文件(包括以引用的方式併入本文中之任何文件)的字詞用法有衝突之情況下，除非另有清楚地指出相反的意義(例如最初使用此術語的文件中)，否則就闡述本說明書及其所連結的申請專利範圍之目的，應以下述的定義為主。

【0032】 若適當時，使用單數之術語亦包括多數且反之亦然。除非另有說明，或其中明顯地「一或多個」之用法為不適當的，否則文中「一」之用法係指「一或多個」。除非另有說明，否則「或」係指「及/或」。「包括」、「包含」、「含有」之用法可相互交換且不希望受限。術語「例如」亦不希望受限。例如，術語「包括」應係指「包括，但不限於」。再者，當一或多個實施例之說明使用「包含」時，熟習本項技術者應了解，在某些特定的情況下，該一或多個實施例可使用「基本上包括」及/或「包括」之語言替代描述。

【0033】 如文中所用，術語「大約」係指所提供的單位值之 $\pm 10\%$ 。如文中所用，術語「實質上」係指展現所指特性或性質之整體或大約程度的質性狀況。因為許多影響生物和化學組成物及物質之試驗、生產及儲存的變數，及因為用於生物和化學組成物及物質之試驗、生產及儲存的儀器和設備之固有錯誤，生物技術之一般技術者應了解生物和化學現象很少(若有)達到或避免絕對結果。因此術語實質上用於文中係擷取許多生物和化學現象中固有之可能缺乏的完整性。

【0034】 目前所揭示的FVIII調配物，包括FL-rFVIII調配物、BDD-rFVIII調配物和BDD-rFVIII突變型調配物，以及PEG-rFVIII調配物，包括PEG-FL-rFVIII調配物、PEG-BDD-rFVIII調配物和PEG-BDD-rFVIII突變型調配物，其中該rFVIII和PEG-rFVIII調配物係包括：(a)從約0 mM至約20 mM或約50 mM組胺酸；(b)從約0 mM至約29 mM，或約34 mM，或約58 mM，或約100 mM，或約300 mM的糖或糖醇；(c)從約1 mM至約2 mM，至約2.5 mM，

至約5 mM，至約10 mM，至約15 mM氯化鈣；(d)從約100 mM至約150 mM，或約200 mM，或約220 mM，或約250 mM氯化鈉；(e)從約20 ppm至約50 ppm，或約80 ppm，或約100 ppm，或約120 ppm，或約200 ppm的非離子界面活性劑；及(f)從約0.1 µg/ml至約300 µg/ml，或約1.0 µg/ml至約200 µg/ml，或約10 µg/ml至約125 µg/ml由FL-rFVIII、BDD-rFVIII和BDD-rFVIII-突變型選出之rFVIII，或由PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII和PEG BDD-rFVIII-突變型選出之PEG-rFVIII；其中該rFVIII調配物具有從約pH 6.0至約pH 6.5，或約pH 7.0，或約pH 7.5之pH。

【0035】 在特定方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM組胺酸，約29 mM的糖或糖醇，約10 mM氯化鈣，約220 mM氯化鈉和約100 ppm非離子界面活性劑。

【0036】 亦提供rFVIII調配物，包括FL-rFVIII調配物、BDD-rFVIII調配物和BDD-rFVIII突變型調配物，以及PEG-rFVIII調配物，包括PEG-FL-rFVIII調配物、PEG-BDD-rFVIII調配物和PEG-BDD-rFVIII突變型調配物，該rFVIII和PEG-rFVIII調配物係包括：(a)從約0 mM至約20 mM或約50 mM MOPS；(b)從約0 mM至約29 mM，或約34 mM，或約58 mM，或約100 mM，或約300 mM的糖或糖醇；(c)從約1 mM至約2 mM，至約2.5 mM，至約5 mM，至約10 mM，至約15 mM氯化鈣；(d)從約100 mM至約150 mM，或約200 mM，或約220 mM，或約250 mM氯化鈉；(e)從約20 ppm至約50 ppm，或約80 ppm，或約100 ppm，或約120 ppm，或約200 ppm的非離子界面活性劑；及(f)從約0.1 µg/ml至約300 µg/ml，或約1.0 µg/ml至約200 µg/ml，或約10 µg/ml至約125 µg/ml由FL-rFVIII、BDD-rFVIII和BDD-rFVIII-突變型選出之rFVIII，或由PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII和PEG BDD-rFVIII-突變型選出之PEG-rFVIII；其中該rFVIII調配物具有從約pH 6.0至約pH 6.5，或約pH 7.0，或約pH 7.5之pH。

【0037】 在某些方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM MOPS，約29 mM的糖或糖醇，約10 mM氯化鈣，約220 mM氯化鈉和約100 ppm非離子界面活性劑。

【0038】 另外提供rFVIII調配物，包括FL-rFVIII調配物，以及PEG-rFVIII調配物，包括PEG-FL-rFVIII調配物、PEG-BDD-rFVIII調配物和

PEG-BDD-rVIII突變型調配物，該rFVIII和PEG-rFVIII調配物係包括：(a)從約0 mM至約20 mM或約50 mM組胺酸；(b)從約0 mM至約29 mM，或約34 mM，或約58 mM，或約100 mM，或約300 mM的糖或糖醇；(c)從約1 mM至約2 mM，至約2.5 mM，至約5 mM氯化鈣；(d)從約0 mM至約10 mM，或約20 mM，或約30 mM，或約40 mM，或約50 mM氯化鈉；(e)從約20 ppm至約50 ppm，或約80 ppm，或約100 ppm，或約120 ppm，或約200 ppm的非離子界面活性劑；(f)從約0 mM至約50 mM，或約100 mM，或約150 mM，或約293 mM，或約400 mM甘胺酸；及(g)從約0.1 µg/ml至約300 µg/ml，或約1.0 µg/ml至約200 µg/ml，或約10 µg/ml至約125 µg/ml由FL-rFVIII選出之rFVIII，或由PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII和PEG BDD-rFVIII-突變型選出之PEG-rFVIII；其中該rFVIII調配物具有從約pH 6.0至約pH 6.5，或約pH 7.0，或約pH 7.5之pH。

【0039】 在特定的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM組胺酸，約29 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約30 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約293 mM甘胺酸和約50 µg/ml FL-rFVIII；其中該FL-rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0040】 在其他方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM組胺酸，約37 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約30 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約346 mM甘胺酸及約50 µg/ml FL-rFVIII；其中該FL-rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0041】 在另外方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM組胺酸，從約100 mM至約300 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約0 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約0 mM甘胺酸和約14 µg/ml FL-rFVIII；其中該FL-rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0042】 又在另外的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括由蔗糖和海藻糖選出之糖或糖醇。

【0043】 又在另外的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括由聚山梨醇酯20和聚山梨醇酯80選出之非離子界面活性劑。

【0044】 又進一步提供rFVIII調配物，包括FL-rFVIII調配物，以及PEG-rFVIII調配物，包括PEG-FL-rFVIII調配物、PEG-BDD-rFVIII調配物和

PEG-BDD-rVIII突變型調配物，該rFVIII和PEG-rFVIII調配物係包括：(a)從約0 mM至約20 mM或約50 mM MOPS；(b)從約0 mM至約29 mM，或約34 mM，或約58 mM，或約100 mM，或約300 mM的糖或糖醇；(c)從約1 mM，至約2 mM，至約2.5 mM，至約5 mM氯化鈣；(d)從約0 mM至約10 mM，或約20 mM，或約30 mM，或約40 mM，或約50 mM氯化鈉；(e)從約20 ppm至約50 ppm，或約80 ppm，或約100 ppm，或約120 ppm，或約200 ppm的非離子界面活性劑；(f)從約0 mM至約50 mM，或約100 mM，或約150 mM，或約293 mM，或約400 mM甘胺酸；及(g)從約0.1 µg/ml至約300 µg/ml，或約1.0 µg/ml至約200 µg/ml，或約10 µg/ml至約125 µg/ml由FL-rFVIII選出之rFVIII，或由PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII和PEG BDD-rFVIII-突變型選出之PEG-rFVIII；其中該rFVIII調配物具有從約pH 6.0至約pH 6.5，或約pH 7.0，或約pH 7.5之pH。

【0045】 在特定的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM MOPS，約29 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約30 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約293 mM甘胺酸和約50 µg/ml FL-rFVIII；其中該rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0046】 在其他的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM MOPS，約37 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約30 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約346 mM甘胺酸和約50 µg/ml FL-rFVIII；其中該FL-rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0047】 在另外的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括約20 mM MOPS，從約100 mM至約300 mM的糖或糖醇，約2.5 mM氯化鈣，約0 mM氯化鈉，約80 ppm的非離子界面活性劑，約0 mM甘胺酸和約14 µg/ml FL-rFVIII；其中該FL-rFVIII調配物具有從約pH 6.5至約pH 7.0之pH。

【0048】 又在另外的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括由蔗糖和海藻糖選出之糖或糖醇。

【0049】 又在另外的方面，這些rFVIII調配物和PEG-rFVIII調配物係包括由聚山梨醇酯20和聚山梨醇酯80選出之非離子界面活性劑。

【0050】 在這些調配物中，組胺酸和MOPS為緩衝劑，其可用於使調配物pH維持在從約pH 6.0至約pH 7.5，或從約pH 6.5至約pH 7.0，例如約pH 6.0，約pH 6.5，約pH 7.0，或約pH 7.5。

【0051】 糖或糖醇，例如甘露醇、右旋糖、葡萄糖、海藻糖及/或蔗糖，係分開或組合使用，作為液體調配物以及凍乾期間之防凍保護劑及作為安定劑。

【0052】 如文中所用，術語「滲透壓」係指溶質濃度之測量，係定義為每公斤(kg)溶液之溶質的滲透壓莫耳數。所欲的滲透壓之程度可藉由添加一或多種安定劑，例如糖或糖醇，包括甘露醇、右旋糖、葡萄糖、海藻糖及/或蔗糖來達成。適合提供滲透壓之另外的安定劑係描述於參考文獻中，例如 Pharmaceutical Excipients手冊(第四版, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, Science & Practice Publishers)或Remingtons: The Science and Practice of Pharmacy (第九版, Mack Publishing Company)。文中所述的調配物具有範圍從約240 mOsm/kg至約450 mOsm/kg，或約750 mOsm/kg，或約1000 mOsm/kg，或從約270 mOsm/kg至約425 mOsm/kg，或從約300 mOsm/kg至約410 mOsm/kg之滲透壓。

【0053】 如文中所用，術語「界面活性劑」包括「非離子界面活性劑」，例如聚山梨醇酯，包括聚山梨醇酯20及聚山梨醇酯80；泊洛沙姆(poloxamer)，包括泊洛沙姆184和188；pluronic®多醇；及其他乙烯/聚丙烯嵌段聚合物。非離子界面活性劑係於處理和儲存期間，藉由降低界面的交互作用和避免蛋白被吸收，使rFVIII安定。使用非離子界面活性劑使調配物得以暴露於剪應力和表面應力而不會造成rFVIII變性。文中所揭示的調配物包括具有一或多種非離子界面活性劑之調配物，文中作為示例之調配係具有聚山梨醇酯，例如聚山梨醇酯20(Tween® 20)或聚山梨醇酯80(Tween® 80)，其係以20 ppm至200 ppm內的範圍存在調配物中。

【0054】 在本揭示文之特定方面，包含rFVIII和BDD-rFVIII之調配物，包括包含PEG化rFVIII和BDD-rFVIII之調配物以及包含其突變變體之調配物，可根據本項技術中已知的方法凍乾。例如，美國專利第5,399,670和5,763,401號(以引用的方式併入本文中)描述了製造溶解度增加之凍乾的VIII因子調配物之方法，該方法可應用於將文中所述的調配物凍乾。表1提供了

用於凍乾示例的rFVIII和BDD-rFVIII調配物(包括PEG化rFVIII和BDD-rFVIII調配物)之程序參數。凍乾程序具有一冷凍期、第一乾燥期和第二乾燥期。在冷凍期中，具有一個退火步驟。

表1

用於凍乾示例的rFVIII 和 BDD-rFVIII 調配物之程序參數

程序參數	對照參數設定點	1X平台限制s		1.25X 平台限制	1.5X平台限制	
		下限	上限	上限	下限	上限
冷凍速率(°C/min)	0.3	0.2	0.4	0.4	0.1	0.5
冷凍溫度(°C)	-45	-48	-41	-42	-50	-40
退火升溫速率(°C/min)	0.2	0.15	0.28	0.25	0.1	0.3
退火溫度(°C)	-20	-23	-16	-17	-25	-15
退火冷卻速率(°C/min)	0.25	0.2	0.33	0.3	0.15	0.35
最終冷凍溫度(°C)	-45	-48	-41	-42	-50	-40
第一乾燥升溫速率(°C/min)	0.3	0.2	0.44	0.4	0.1	0.5
第一次乾燥溫度(°C)	-5	-8	-1	-2	-10	0
第二次乾燥升溫速率(°C/min)	0.1	0.05	0.17	0.15	0.01	0.2
第一次乾燥溫度(°C)	25	22	29	28	20	30
第一次乾燥/第二次乾燥之室壓(mTorr)	100	50	150	162	25	175

【0055】 如文中所用，術語「生物相容的聚合物」包括聚環氧烷，例如(不限於)聚乙二醇(PEG)、聚葡萄糖、多聚唾液酸(colominic acid)或其他碳水化合物基底聚合物、胺基酸聚合物、生物素衍生物、聚乙烯醇(PVA)、聚羧酸、聚乙烯吡咯酮、聚乙烯馬來酸酐共聚物、聚苯乙烯蘋果酸酐共聚物、聚噁唑啉、聚丙烯醯嗎福啉、肝素、白蛋白、纖維素、幾丁聚糖之水解物、



澱粉例如羥乙基澱粉和羥丙基澱粉、肝糖、瓊脂及其衍生物、關華豆膠、普魯蘭多糖(pullulan)、菊糖、三仙膠、角叉菜膠、果膠、海藻酸水解物、其他的生物聚合物及任何其同等物。較佳的為聚乙二醇，及又更佳的為甲氧基聚乙二醇(mPEG)。其他可用的聚烯烴二醇化合物為聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)、PEG-縮水甘油醚(Epoxy-PEG)、PEG-氧代羰基咪唑(CDI-PEG)、支鏈聚乙二醇、直鏈聚乙二醇、叉型聚乙二醇和多臂或「超支鏈」聚乙二醇(星型-PEG)。

【0056】 如文中所用，術語「聚乙二醇」或「PEG」係交換使用並包括任何水溶性聚(環氧乙烷)。PEG 包括下列結構「 $-(OCH_2CH_2)_n-$ 」，其中(n)為 2 至 4000。如文中所用，依照末端的氧是否被取代，PEG 亦包括「 $-CH_2CH_2-O(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-$ 」和「 $-(OCH_2CH_2)_nO-$ 」。術語「PEG」包括具有各種末端或「封端(end capping)」基團，例如(不限於)羥基或 C_{1-20} 烷氧基基團。術語「PEG」亦指包括大多數，亦即大於 50%的 $-OCH_2CH_2-$ 重複亞單元之聚合物。有關特定的形式，PEG 可為任何數目之各種分子量，以及結構或幾何形狀，例如支鏈、直鏈、叉型和多功能型。如文中所用，術語「PEG 化」係指一種藉此將聚乙二醇(PEG)與一分子(例如蛋白)共價連接之方法。當一功能基，例如生物相容的聚合物係描述為經活化時，則此功能基團可容易地與另外分子上的親電子體或親核體反應。

【0057】 用於文中所揭示的接合物中之生物相容性聚合物可為任何上文所論述之聚合物。生物相容的聚合物係經選擇以提供所欲的改良藥物動力學。例如，聚合物的密度、大小和結構係經選擇以改善具有 FVIII 活性之多肽的循環半衰期，或在無不可接受的活性降低下，降低多肽的抗原性。聚合物可包括 PEG。例如，聚合物可為帶有封端基團之末端封蓋的聚乙二醇，例如羥基、烷氧基、經取代烷氧基、烯氧基、經取代烯氧基、炔氧基、經取代炔氧基、醯氧基和經取代醯氧基。另外，聚合物可包括甲氧基聚乙二醇，例如具有大小範圍從 3 kD 至 100 kD，及更佳地 5 kD 至 64 kD，或 5 kD 至 43 kD 之甲氧基聚乙二醇。

【0058】 聚合物可具有一個反應性基團。例如，聚合物可具有一硫氫基反應基團，其可與功能性 VIII 因子多肽上的游離半胱胺酸反應，形成一共價鏈結。此硫氫基反應基團包括硫醇、三氟甲磺酸酯、三氟乙磺酸酯、

氮呔、環氧乙烷、S-吡啶基或馬來醯亞胺基團。聚合物可為直鏈並在一末端包括一「封蓋」，其對硫氫基(例如甲氧基)和在另一端的硫氫反應性基團並無強烈的反應性。此接合物可包括具有大小範圍從 5 kD 至 64 kD 之 PEG-馬來醯亞胺。

【0059】 如文中所用，全長 FVIII (rFVIII)係指凝血因子 VIII (FVIII)，其係由肝臟所合成並釋放於血液中的糖蛋白。在循環的血液中，其係與溫韋伯氏因子(von Willebrand factor)(vWF, 亦稱為 VIII-相關抗原因子)結合，形成一穩定的複合物。在被凝血酶活化時，其從複合物解離，與凝血級聯中其他的凝血因子相互作用，最後使得血栓形成。雖然等位基因變體為可能的，但人類全長的 FVIII 係具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列。

【0060】 如文中所用，「功能性 VIII 因子多肽」係指能於活體內或活體外修正人類 VIII 因子缺陷(其特徵為，例如血友病)之功能性多肽或多肽之組合。VIII 因子在自然狀態下具有多重降解或處理形式。如文中所示，此等為經蛋白分解由前驅物(一種單鏈蛋白)所衍生。功能性 VIII 因子多肽包括此單鏈蛋白且亦供給具有修正人類 VIII 因子缺陷之生物活性的各種降解產物。可能有等位基因變體存在。功能性 VIII 因子多肽包括所有此等等位基因變體、糖基化版本、VIII 因子所產生的修飾和片段，只要其包括人類 VIII 因子之功能性片段，以及基本、特有的人類 VIII 因子功能活性同樣仍未受影響。該等具有必要功能活性之 VIII 因子的衍生物可容易地藉由文中所述的明確活體外試驗來鑑別。再者，功能性 VIII 因子多肽在 IXa 因子、鈣和磷脂質的存在下能分析 X 因子轉變成 Xa 因子，以及修正由患有 A 型血友病個體所衍生的血漿之凝血缺陷。從文中人類 VIII 因子胺基酸序列及其功能區之序列的揭示內容，熟習本項技術者應可明瞭可經由 DNA 之限制酶切或蛋白分解或其他人類 VIII 因子蛋白之降解所衍生的片段。

【0061】 如文中所用，B-區刪除的 rFVIII (BDD-rFVIII)其特徵為具有包括，除了 14 個胺基酸外，刪除所有 FVIII 之 B 區的胺基酸序列。B 區的前 4 個胺基酸(SFSQ, SEQ ID NO: 1)係與 B 區的最後 10 個殘基(NPPVLKRHR, SEQ ID NO: 2)相連接。Lind 等人 *Eur. J. Biochem.* 232:19-27 (1995)。用於文中的 BDD-rFVIII 具有之 SEQ ID NO: 3 胺基酸序列。

【0062】 如文中所用，術語「rFVIII 突變型」和「BDD rFVIII 突變型」分別係指 rFVIII 和 BDD rFVIII 之基因工程蛋白變體，其係由實驗室針對蛋白或多肽引發突變所產生。其係假設，任何功能性 VIII 因子多肽可在預定的位置突變，及然後根據本發明方法於該位置與一生物可相容的聚合物共價連接。可使用的多肽包括(不限於)具有如 SEQ ID NO: 4 所示之胺基酸序列的全長 VIII 因子，及具有如 SEQ ID NO: 3 所示之胺基酸序列的 BDD rFVIII。

【0063】 編碼具有 FVIII 活性之多肽的核苷酸序列之定位突變可藉由本項技術已知的方法來引發。此等方法包括在選擇供聚合物共價連接之位置導入半胱胺酸密碼子之突變。其可使用市售的定位突變套組，例如 Stratagene cQuickChange.TM. II 定位突變套組、Clontech Transformer 定位突變套組編號 K1600-1、Invitrogen GenTaylor 定位突變系統編號 12397014、Promega Altered Sites II 活體外突變系統套組編號 Q6210 或 Takara Mirus Bio LA PCR 突變套組編號 TAK RR016 來進行。

【0064】 文中所述的接合物可藉由先將功能性 FVIII 多肽表面上一或多個胺基酸之密碼子以半胱胺酸之密碼子取代，於一重組的表現系統中產生半胱胺酸突變型，將此突變型與半胱胺酸-專一性聚合物試劑反應並將突變蛋白純化，加以製備。在此系統中，在半胱胺酸位置加入聚合物可經由聚合物上的馬來醯亞胺活性功能基來進行。

【0065】 所用的硫氫基反應性聚合物之量應至少與欲衍生化之半胱胺酸的莫耳量等莫耳且較佳地係以過量存在。可使用 5-倍或 10-倍莫耳過量之硫氫反應性聚合物。可用於共價連結之其他條件係在本項技術之技術中。

【0066】 文中所揭示的 rFVIII 和 BDD-rFVIII 突變型係以本項技術習用的方式來命名。用於命名突變型之習用法係以如 SEQ ID NO: 4 所提供之成熟、全長的 VIII 因子的胺基酸序列為基礎。作為一分泌性蛋白，FVIII 係包括在轉譯過程期間經蛋白分解裂解之訊號序列。在移除此 19 個胺基酸的訊號序列後，此分泌的 FVIII 產物之第一個胺基酸為丙胺酸。

【0067】 如習用和文中所用，當指出 BDD rFVIII 中突變的胺基酸時，此突變的胺基酸係以其在全長 FVIII 之序列中的位置來命名。例如，

BDD rFVIII 突變型可包括 K1808C 胺基酸取代，其中在類似全長序列中 1808 之位置的離胺酸(K)，係被取代成半胱胺酸(C)。

【0068】 供聚合物(例如，PEG)共價結合之預定義位置可選自暴露於不涉及 FVIII 活性或涉及其他活體內穩定 FVIII 機制(例如，與 vWF 結合)之 rFVIII 或 BDD rFVIII 多肽表面的位置。此等位置亦為從該等已知涉及藉此使 FVIII 失活或從循環中清除之機制中選出的最佳位置。以半胱胺酸取代一胺基酸之位置包括(a)低密度脂蛋白相關蛋白，(b)肝素硫酸蛋白聚糖，(c)低密度脂蛋白受體，及/或(d) VIII 因子抑制抗體之結合位置上或鄰近其結合位置的胺基酸殘基。「結合位置上或鄰近結合位置」係指足夠靠近結合位置使得與此位置共價連結之生物相容的聚合物能造成結合位置之位阻。例如，此一位置預期係在 20°A 的結合位置之內。

【0069】 生物相容的聚合物可在或接近(a)如前面所定義之 VIII 因子清除受體，(b)能降解 VIII 因子之蛋白酶的結合位置及/或(c)VIII 因子抑制抗體的結合位置之胺基酸殘基上與功能性 VIII 因子多肽共價連結。此蛋白酶可為活化的 C 蛋白 (APC)。生物可相容的聚合物可在功能性 VIII 因子多肽上的預定義位置共價連結，使得結合低密度脂蛋白受體相關蛋白與此多肽的結合係低於未接合時的多肽，且較佳地係大於不到 2 倍。生物可相容的聚合物可在功能性 VIII 因子多肽上的預定義位置共價連結，使得結合肝素硫酸蛋白多糖與此多肽的結合係低於未接合時的多肽，且較佳地係大於不到 2 倍。生物可相容的聚合物可在功能性 VIII 因子多肽上的預定義位置共價連結，使得 VIII 因子抑制抗體與此多肽的結合係低於未接合時的多肽。生物可相容的聚合物可在功能性 VIII 因子多肽上的預定義位置共價連結，使得結合低密度脂蛋白受體與此多肽的結合係低於未接合時的多肽。生物可相容的聚合物可在功能性 VIII 因子多肽上的預定義位置共價連結，使得血漿蛋白酶降解此多肽係低於未接合時的多肽。

【0070】 生物可相容的聚合物可於一或多個 VIII 因子的 81、129、377、378、468、487、491、504、556、570、711、1648、1795、1796、1803、1804、1808、1810、1864、1903、1911、2091、2118 和 2284 胺基酸位置，與 rFVIII 或 BDD rFVIII 多肽或其突變變體共價連結。另外，生物可相容的聚合物可於一或多個 VIII 因子的 377、378、468、491、504、556、1795、

1796、1803、1804、1808、1810、1864、1903、1911 和 2284 胺基酸位置，與 rFVIII 或 BDD rFVIII 多肽或其突變變體共價連結；或於一或多個 VIII 因子的 377、378、468、491、504、556 和 711 胺基酸位置，與此多肽共價連結；或與一或多個 81、129、377、378、468、487、491、504、556、570、711、1648、1795、1796、1803、1804、1808、1810、1864、1903、1911、2091、2118 和 2284 的 VIII 因子胺基酸位置；或與一或多個 VIII 因子的 81、129、377、378、468、487、491、504、556、570、711、1648、1795、1796、1803、1804、1808、1810、1864、1903、1911、2091、2118 和 2284 胺基酸位置；或與一或多個 377、378、468、491、504、556 和 711 位置，共價連結。

【0071】 生物可相容的聚合物可於 129、491、1804 及/或 1808 之胺基酸位置與 B-區刪除的 rFVIII 共價連結。在功能性 VIII 因子多肽上的一或多個此位置，較佳地一或二個，可為供聚合物連結之預定義位置。在特定的實施例中，此多肽係經單-PEG 化或二 PEG 化。

【0072】 文中所述的 rFVIII 和 BDD rFVIII 接合物可藉由讓編碼功能性 VIII 因子多肽的核苷酸序列產生突變，於預定義的位置將編碼序列以半胱胺酸殘基取代來製造；表現此突變的核苷酸序列，產生半胱胺酸加強突變型；將此突變型純化；將突變型與生物可相容的聚合物(例如 PEG)反應，其中此聚合物係經活化以實質上僅減少半胱胺酸殘基，與多肽反應，使得接合物形成；並將此接合物純化。

【0073】 VIII 因子突變型之定位 PEG 化亦可藉由：(a)表現一定位 VIII 因子突變型，其中該突變型具有一半胱胺酸取代 VIII 因子突變型之暴露表面上的一胺基酸殘基且該半胱胺酸為封蓋的；(b)將此胱胺酸突變型與還原劑在溫和還原此半胱胺酸突變型及釋放封蓋之條件下接觸；(c)從半胱胺酸突變型移除此封蓋及還原劑；及(d)移除還原劑後，以包括硫氫基團偶合基團之 PEG，於得以產生 PEG 化 VIII 因子突變蛋白之條件下處理半胱胺酸突變型。PEG 的硫氫基團偶合基團係由下列組成之群中選出：硫醇、三氟甲磺酸酯、三氟乙磺酸酯、氮吡、環氧乙烷、S-吡啶基和馬來醯亞胺基團，較佳為馬來醯亞胺。

【0074】 本發明亦提供於一病患中治療 A 型血友病之方法，其包括投予該病患一治療上有效量之一或多種文中所述的調配物。這些調配物可經由靜脈注射、皮下注射或經由連續輸注投予病患。

【0075】 在特定方面係提供於一病患中治療 A 型血友病之方法，其包括投予該病患一治療上有效量之 rFVIII 調配物，包括 FL-rFVIII 調配物、BDD-rFVIII 調配物和 BDD-rFVIII-突變型調配物，以及 PEG-rFVIII 調配物，包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，而該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括：(a)從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；(b)從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；(c)從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM，至約 10 mM，至約 15 mM 氯化鈣；(d)從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；(e) 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及(f)從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 由 FL-rFVIII、BDD-rFVIII 和 BDD-rFVIII-突變型選出之 rFVIII，或由 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型選出之 PEG-rFVIII；其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

【0076】 亦提供於一病患中治療 A 型血友病之方法，其包括投予該病患一治療上有效量之 rFVIII 調配物，包括 FL-rFVIII 調配物，以及 PEG-rFVIII 調配物，包括 PEG-FL-rFVIII 調配物、PEG-BDD-rFVIII 調配物和 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，而該 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物係包括：(a)從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；(b)從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；(c)從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；(d)從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；(e)從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；(f)從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及(g) 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$

至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 由 FL-rFVIII 選出之 rFVIII，或由 PEG-FL-rFVIII、PEG-BDD-rFVIII 和 PEG BDD-rFVIII-突變型選出之 PEG-rFVIII；其中該 rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

【0077】 如文中所用，術語「治療上有效量」之 rFVIII 調配物或 PEG 化 rFVIII 調配物係指於一給藥療法中提供治療效用之調配物的量。因為其低黏度，本文所揭示的 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物可方便地經由，例如超過濾和無菌過濾處理，並可經由注射，包括靜脈注射、皮下注射和連續輸注投予病患。

【0001】 再者，因為其具有範圍從約 240 mOsm/kg 至約 450 mOsm/kg，或約 750 mOsm/kg，或約 1000 mOsm/kg，或從約 270 mOsm/kg 至約 425 mOsm/kg，或從約 300 mOsm/kg 至約 410 mOsm/kg，或從約 300 mmol/kg 至約 410 mmol/kg 之滲透壓，本文所揭示的 rFVIII 和 PEG-rFVIII 調配物降低組織傷害或其他不利的生理效應，而增加了有利的病患耐受性和病患遵從性。

【0078】 本揭示文之態樣可根據下列實例進一步了解，其不應解釋為在任何方面限制本教導文之範圍。

實例

實例 1

氯化鈉、聚山梨醇酯 80 和人類血清白蛋白對 BDD-rFVIII 蛋白溶解度和安定性之效應

氯化鈉之效應

【0059】 進行一研究用以測定當 BDD-rFVIII 突變型放入組胺酸緩衝液時所觀察到的沉澱是否會逆轉。此緩衝溶液係包括 20 mM 組胺酸，30 mM 氯化鈉、2.5 mM 氯化鈣、29 mM 蔗糖、293 mM 甘胺酸和 80 ppm 聚山梨醇酯 80。此研究的目標係開發一使 BDD-rFVIII 突變型穩定之調配物。就一般常用的增溶劑和安定劑，例如氯化鈉、聚山梨醇酯 80 和人類血清白蛋白 (HSA)，針對增加突變型的溶解度或藉由降低蛋白聚集改善安定性進行測試。此研究確立，當氯化鈉濃度增加時，包括此突變型之溶液的濁度降低，

其顯示氯化鈉逆轉了沉澱過程。以 $A_{340\text{ nm}}$ 測量為基礎，當氯化鈉濃度為 176 mM 或更高時，混濁的溶液轉為澄清溶液且濁度從 0.169 降至 0.029(大於 80%)(圖 1)。這些結果驗證了氯化鈉為一 BDD-rFVIII 突變型之有效安定劑並可逆轉其沉澱作用。

【0060】 總言之，較高的氯化鈉濃度改善了 BDD-rFVIII 突變型的溶解度。

表 2

全長 rFVIII 和 BDD-rFVIII 突變型之調配物組成

組成物	BDD-rFVIII 突變型	全長 rFVIII
氯化鈉(mM)	220	30
蔗糖(mM)	29	29
組胺酸(mM)	20	20
甘胺酸(mM)	293	293
氯化鈣(mM)	2.5	2.5
聚山梨醇酯 80 (ppm)	80	80

實例 2

經由隨機離胺酸偶合之 rFVIII PEG 化的調配物開發

【0061】 使用隨機離胺酸偶合將 PEG 聚合物與全長 rFVIII 和 BDD-rFVIII 接合。在此類型的偶合中，反應性基團主要為蛋白中 N-端的胺或離胺酸之 ϵ -胺基基團。因此，調配物中任何其他一級或二級胺基團可能會干擾反應。因為全長和 BDD-rFVIII 調配物係包括胺基酸，例如甘胺酸和組胺酸，因此新的調配物開發係針對這些分子之 PEG 化。當使用甘胺酸作為全長 rFVIII 調配物中之增積劑且在 PEG 化期間可能被消除時，組胺酸係作為緩衝劑組份且需要以另一種緩衝劑取代。

【0062】 適合的緩衝系統係符合下列標準：(1)其在 pH 6-7 時提供緩衝能力；(2)不會與氯化鈣(一種重要的 rFVIII 安定劑)形成可溶性複合物或螯合物；及(3)不包括一級或二級胺基團。

【0063】 rFVIII 之隨機 PEG 化可考慮數種常用的緩衝劑。如表 3 所示，僅選擇二種緩衝系統：三乙醇胺(TEA)和 3-[N-嗎福啉基]丙磺酸(MOPS)做進一步研究。

表 3

考慮用於 *rFVIII* 之隨機 PEG 化的緩衝劑

pH 7 之緩衝劑	Ca ²⁺ ppt.	Ca ²⁺ 螯合	胺基團	冷凍期間的 pH 變化
檸檬酸鹽		X		
磷酸鹽	X			X
組胺酸			X	
TRIS			X	
碳酸鹽	X			
三乙醇胺(TEA)				
MOPS 或 MOPSO				
HEPES			X	

【0064】 就此研究，係將全長的 *rFVIII* 就表 4 所列之調配物進行透析。將三種調配物中透析的 *rFVIII* 置於 40°C 於加速條件確立安定性，及結果係如圖 6 和 7 所示。

表 4

評估 *rFVIII* 之隨機 PEG 化的緩衝劑

	NaCl (mM)	CaCl ₂ (mM)	Tween 80 (ppm)	甘胺酸 (mM)	蔗糖 (mM)	疊氮鈉 (%)	緩衝劑 (20mM)
1	30	2.5	80	--	29	0.05	TEA
2	30	2.5	80	--	29	0.05	MOPS
3	30	2.5	80	293	29	0.05	組胺酸

實例 3

rFVIII 之 PEG 化

【0065】 如上所論述，由於其聚集之傾向，BDD-*rFVIII* 遭遇調配物挑戰。因此，設計一 PEG 化 *rFVIII* 之調配物的目標之一係確定其溶液中的穩定性。用於 PEG 化 BDD-*rFVIII* 之操作調配物係包括 200 mM 氯化鈉、20 mM MOPS、10 mM CaCl₂、100 ppm 聚山梨醇酯 80 和 29 mM 蔗糖。200 mM 氯化鈉將使冷凍-乾燥期間遭受困難。因此，以 50 至 250 mM 範圍內的氯化鈉濃度為依據，評估 PEG 化 BDD-*rFVIII* 之溶解度和效力。因為 PEG 化 *rFVIII*

分子比 BDD-rFVIII 更具親水性，因此將 rFVIII 保留在溶液中之最適合的氯化鈉濃度應為 200 mM 以下。

【0066】 用於此研究之緩衝液組成物係如表 5 所示且數據係彙整於圖 9 和 10 中。在包括 50-150 mM 氯化鈉之調配物中，於 23°C 儲存 6 天期間，PEG 化 BDD-rFVIII 保留 87%以上的效力。在相同調配物中，於 23°C 儲存 6 天期間，未 PEG 化 BDD-rFVIII 保留 70%的效力。二種分子在研究期間仍為可溶的，肉眼偵查並無沉澱或乳白色。這些數據和早先的數據顯示，100 mM 氯化鈉可用於進一步的調配物開發。

表 5

用於評估氯化鈉效應之調配物的組成

MOPS (mM)	NaCl (mM)	CaCl2 (mM)	聚山梨醇酯 80 (ppm)	蔗糖 (mM)
20	250	10	100	29
20	200	10	100	29
20	150	10	100	29
20	100	10	100	29
20	50	10	100	29
20	25	10	100	29
20	0	10	100	29

【0067】 評估氯化鈉對 PEG 化和未 PEG 化 BDD-rFVIII 之溶解度和聚集作用之效應。

【0068】 圖 11 係顯示 PEG 化 BDD-rFVIII 於包括 25 mM、55 mM、75 mM、125 mM 和 200 mM 氯化鈉之 MOPS 緩衝液中的 UV 吸收度。UV 吸收度結果顯示，在所有試驗的氯化鈉濃度中，並無 PEG 化 BDD-rFVIII 之散射，其顯示無聚集作用。相反的，於 25 mM、55 mM 和 75 mM 氯化鈉時，未 PEG 化-rFVIII 於顯現大量的散射(圖 12)，最可能係由於可溶性聚集物形成。當氯化鈉濃度增加到 125 mM 和 200 mM 時，無觀察到散射。因此，結論出較高的濃度防止聚集物形成。

實例 4

開發 PEG 化 BDD-rFVIII 之冷凍乾燥調配物

【0069】 以 PEG 化 BDD-rFVIII 篩選四種候選調配物。目標為評估凍乾藥物產品於這些調配中的穩定性及選擇領導穩定性研究之調配物。所篩選的調配物為(1)全長 rFVIII 之平台調配物，(2)相較於平台調配物，包括固體含量增加之修飾的平台調配物，(3)蔗糖調備物，及(4)海藻糖調配物。後二種調配物係對凍乾的藥物產品提供非晶基質。

【0070】 於三個儲存溫度(5°C、25°C 和 40°C)評估穩定性。表 6 係顯示用於穩定性評估之 PEG 化 BDD-rFVIII 的調配物組成。

【0071】 蔗糖和甘胺酸之濃度由在平台調配物中之 29 mM 和 293 mM 增加至修飾平台調配物中之 38 mM 和 346 mM。加入另外的固體以增進冷凍乾燥餅之機械強度及改善最終藥物產品之外觀。

表 6

用於穩定性評估之 PEG 化 BDD-rFVIII 的調配物組成¹

組成	平台調配物	修飾的平台調配物	蔗糖調配物	海藻糖調配物
氯化鈣	2.5 mM	2.5 mM	2.5 mM	2.5 mM
氯化鈉	30 mM	30 mM	X	X
組胺酸	20 mM	20 mM	20 mM	20 mM
甘胺酸	293 mM	346 mM	X	X
聚山梨醇酯 80	80 ppm	80 ppm	80 ppm	80 ppm
蔗糖	29 mM	38 mM	0.234 mM	X
海藻糖	X	X	X	0.211 mM

1：對所有的調配物 pH = 6.8

【0072】 相較於其他二種調配物，蔗糖和海藻糖調配物係設計用於提供替代基質。由於氯化鈉和甘胺酸之存在作為結構安定劑和增積劑，在冷凍乾燥時，平台調配物和修飾的平台調配物形成一晶體基質。蔗糖和海藻

糖的濃度分別增加至 234 mM 和 211 mM，代替包括氯化鈉和甘胺酸。由此產生冷凍乾燥藥物產品之非晶基質。

【0073】 各四種候選調配之安定性計畫係設定高達 26 週的期間。藉由效力、含水率和總蛋白來評估安定性。四種候選調配物之效力恢復數據係彙整於圖 13-16 中。

【0074】 數據係顯示預期範圍內之四種調配物以卡爾費修(Karl Fischer)所作之效力恢復、水含量，及以 SEC-HPLC 所作之聚集物百分比和產物相關的雜質(於 26 週測試)。

【0075】 以平台調配物和修飾平台調配物進一步評估 PEG 化 BDD-rFVIII 之安定性(參見表 6 修飾平台調配物組成)。以試驗室規模製備二種藥物產品批件並於 5°C 和 25°C 和 40°C 觀察安定性。使用產色分析之效力，SEC-HPLC 之聚集百分比和總蛋白，及卡爾費修之濕度進行藥物產品安定性評估。

【0076】 這些數據顯示二種調配物之藥物產品安定性相當。平台調配物之研究係持續至 30 週，而修飾的平台調配物係在 3 個月時終止(圖 17 和 18)。

參考文獻

1. Roberts, M.J. ; Bentley, M.D. and Harris, J.M. Chemistry for peptide and protein PEGylation. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002, 54, 459-476
2. Björkman, S and Berntorp, E. Pharmacokinetics of coagulation factors. *Clinical Pharmacokinetics* 2001 40, 815-832
3. Mei, B., Pan, C., Jiang, H., Tjiandra, H., Strauss, J., Chen, Y., Liu, T., Zhang, X., Severs, J., Newgren, J., Chen, J., Gu, J.M., Subramanyam, B., Fournel, M.A., Pierce, J.F., Murphy, J.E. Rational design of a fully active, long-acting PEGylated VIII 因子 for hemophilia A treatment. *Blood* 2010, 116, 270-279

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表

<110> 拜耳保健有限責任公司
Bayer Healthcare LLC

<120> 重組體FVIII調配物

<130> 17207.0008USP1

<140> US 61/799,495
<141> 2013-03-15

<140> US 61/869,191
<141> 2013-08-23

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VIII因子(FVIII)B區的前4個胺基酸

<400> 1

Ser Phe Ser Gln
1

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VIII因子(FVIII)B區的後10個胺基酸

<400> 2

Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg
1 5 10

<210> 3
<211> 1457
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B區刪除的人類VIII因子

103202-序列表

<400> 3

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



103202-序列表

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

103202-序列表

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



103202-序列表

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 Pro Pro Val Leu
755 760 765

Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln
770 775 780

Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu
785 790 795 800

Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe
805 810 815

Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp
820 825 830

Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln
835 840 845

Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr
850 855 860

Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His
865 870 875 880

103202-序列表

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile
885 890 895

Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser
900 905 910

Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg
915 920 925

Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val
930 935 940

Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp
945 950 955 960

Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu
965 970 975

Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His
980 985 990

Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe
995 1000 1005

Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn
1010 1015 1020

Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys
1025 1030 1035

Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr
1040 1045 1050

Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr
1055 1060 1065

Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe
1070 1075 1080

Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met

103202-序列表

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

103202-序列表

Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys
1295 1300 1305

Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn
1310 1315 1320

Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln
1325 1330 1335

Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu
1340 1345 1350

Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val
1355 1360 1365

Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys
1370 1375 1380

Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu
1385 1390 1395

Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp
1400 1405 1410

Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr
1415 1420 1425

Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala
1430 1435 1440

Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450 1455

<210> 4
<211> 2351
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

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

103202-序列表

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 Val 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

103202-序列表

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

103202-序列表

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

103202-序列表

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
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 Ser Arg His Pro		
755	760	765
Ser Thr Arg Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp		
770	775	780
Ile Glu Lys Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys		
785	790	800
Ile Gln Asn Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser		
805	810	815
Pro Thr Pro His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr		
820	825	830
Glu Thr Phe Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn		
835	840	845
Ser Leu Ser Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly		
850	855	860
Asp Met Val Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu		
865	870	875
Lys Leu Gly Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys		
885	890	895

103202-序列表

Val Ser Ser Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn
900 905 910

Leu Ala Ala Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met
915 920 925

Pro Val His Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys
930 935 940

Ser Ser Pro Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu
945 950 955 960

Asn Asn Asp Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu
965 970 975

Ser Ser Trp Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe
980 985 990

Lys Gly Lys Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala
995 1000 1005

Leu Phe Lys Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser
1010 1015 1020

Asn Asn Ser Ala Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser
1025 1030 1035

Leu Leu Ile Glu Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu
1040 1045 1050

Ser Asp Thr Glu Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg
1055 1060 1065

Met Leu Met Asp Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met
1070 1075 1080

Ser Asn Lys Thr Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu Met Val Gln Gln
1085 1090 1095

Lys Lys Glu Gly Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln Asn Pro Asp Met
1100 1105 1110

103202-序列表

Ser	Phe	Phe	Lys	Met	Leu	Phe	Leu	Pro	Glu	Ser	Ala	Arg	Trp	Ile
1115						1120					1125			
Gln	Arg	Thr	His	Gly	Lys	Asn	Ser	Leu	Asn	Ser	Gly	Gln	Gly	Pro
1130						1135					1140			
Ser	Pro	Lys	Gln	Leu	Val	Ser	Leu	Gly	Pro	Glu	Lys	Ser	Val	Glu
1145						1150					1155			
Gly	Gln	Asn	Phe	Leu	Ser	Glu	Lys	Asn	Lys	Val	Val	Val	Gly	Lys
1160						1165					1170			
Gly	Glu	Phe	Thr	Lys	Asp	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Met	Val	Phe	Pro
1175						1180					1185			
Ser	Ser	Arg	Asn	Leu	Phe	Leu	Thr	Asn	Leu	Asp	Asn	Leu	His	Glu
1190						1195					1200			
Asn	Asn	Thr	His	Asn	Gln	Glu	Lys	Lys	Ile	Gln	Glu	Glu	Ile	Glu
1205						1210					1215			
Lys	Lys	Glu	Thr	Leu	Ile	Gln	Glu	Asn	Val	Val	Leu	Pro	Gln	Ile
1220						1225					1230			
His	Thr	Val	Thr	Gly	Thr	Lys	Asn	Phe	Met	Lys	Asn	Leu	Phe	Leu
1235						1240					1245			
Leu	Ser	Thr	Arg	Gln	Asn	Val	Glu	Gly	Ser	Tyr	Glu	Gly	Ala	Tyr
1250						1255					1260			
Ala	Pro	Val	Leu	Gln	Asp	Phe	Arg	Ser	Leu	Asn	Asp	Ser	Thr	Asn
1265						1270					1275			
Arg	Thr	Lys	Lys	His	Thr	Ala	His	Phe	Ser	Lys	Lys	Gly	Glu	Glu
1280						1285					1290			
Glu	Asn	Leu	Glu	Gly	Leu	Gly	Asn	Gln	Thr	Lys	Gln	Ile	Val	Glu
1295						1300					1305			
Lys	Tyr	Ala	Cys	Thr	Thr	Arg	Ile	Ser	Pro	Asn	Thr	Ser	Gln	Gln
1310						1315					1320			

103202-序列表

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

103202-序列表

1520	1525	1530
Pro Gly His Leu Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr	1535	1540
Glu Gly Ala Ile Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val	1545	1550
Pro Phe Leu Arg Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser	1555	1560
Lys Leu Leu Asp Pro Leu Ala Trp Asp Asn His Tyr Gly Thr Gln	1565	1570
Ile Pro Lys Glu Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys Ser Pro Glu Lys	1575	1580
Thr Ala Phe Lys Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser Leu Asn Ala Cys	1585	1590
Glu Ser Asn His Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gln Asn Lys	1595	1600
Pro Glu Ile Glu Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr Glu Arg	1605	1610
Leu Cys Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg Glu	1615	1620
Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr	1625	1630
Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile	1635	1640
Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys	1645	1650
Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr	1655	1660

103202-序列表

Gly	Met	Ser	Ser	Ser	Pro	His	Val	Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Gln	Ser
1730						1735					1740			
Gly	Ser	Val	Pro	Gln	Phe	Lys	Lys	Val	Val	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr
1745						1750					1755			
Asp	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Glu	Leu	Asn	Glu
1760						1765					1770			
His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu	Val	Glu	Asp
1775						1780					1785			
Asn	Ile	Met	Val	Thr	Phe	Arg	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Ser
1790						1795					1800			
Phe	Tyr	Ser	Ser	Leu	Ile	Ser	Tyr	Glu	Glu	Asp	Gln	Arg	Gln	Gly
1805						1810					1815			
Ala	Glu	Pro	Arg	Lys	Asn	Phe	Val	Lys	Pro	Asn	Glu	Thr	Lys	Thr
1820						1825					1830			
Tyr	Phe	Trp	Lys	Val	Gln	His	His	Met	Ala	Pro	Thr	Lys	Asp	Glu
1835						1840					1845			
Phe	Asp	Cys	Lys	Ala	Trp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Asp	Val	Asp	Leu	Glu
1850						1855					1860			
Lys	Asp	Val	His	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu	Val	Cys	His
1865						1870					1875			
Thr	Asn	Thr	Leu	Asn	Pro	Ala	His	Gly	Arg	Gln	Val	Thr	Val	Gln
1880						1885					1890			
Glu	Phe	Ala	Leu	Phe	Phe	Thr	Ile	Phe	Asp	Glu	Thr	Lys	Ser	Trp
1895						1900					1905			
Tyr	Phe	Thr	Glu	Asn	Met	Glu	Arg	Asn	Cys	Arg	Ala	Pro	Cys	Asn
1910						1915					1920			
Ile	Gln	Met	Glu	Asp	Pro	Thr	Phe	Lys	Glu	Asn	Tyr	Arg	Phe	His
1925						1930					1935			

103202-序列表

Ala	Ile	Asn	Gly	Tyr	Ile	Met	Asp	Thr	Leu	Pro	Gly	Leu	Val	Met
1940						1945					1950			
Ala	Gln	Asp	Gln	Arg	Ile	Arg	Trp	Tyr	Leu	Leu	Ser	Met	Gly	Ser
1955						1960					1965			
Asn	Glu	Asn	Ile	His	Ser	Ile	His	Phe	Ser	Gly	His	Val	Phe	Thr
1970						1975					1980			
Val	Arg	Lys	Lys	Glu	Glu	Tyr	Lys	Met	Ala	Leu	Tyr	Asn	Leu	Tyr
1985						1990					1995			
Pro	Gly	Val	Phe	Glu	Thr	Val	Glu	Met	Leu	Pro	Ser	Lys	Ala	Gly
2000						2005					2010			
Ile	Trp	Arg	Val	Glu	Cys	Leu	Ile	Gly	Glu	His	Leu	His	Ala	Gly
2015						2020					2025			
Met	Ser	Thr	Leu	Phe	Leu	Val	Tyr	Ser	Asn	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro
2030						2035					2040			
Leu	Gly	Met	Ala	Ser	Gly	His	Ile	Arg	Asp	Phe	Gln	Ile	Thr	Ala
2045						2050					2055			
Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Gln	Trp	Ala	Pro	Lys	Leu	Ala	Arg	Leu	His
2060						2065					2070			
Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Asn	Ala	Trp	Ser	Thr	Lys	Glu	Pro	Phe	Ser
2075						2080					2085			
Trp	Ile	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Ile	Ile	His	Gly	Ile
2090						2095					2100			
Lys	Thr	Gln	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	Tyr	Ile	Ser
2105						2110					2115			
Gln	Phe	Ile	Ile	Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	Lys	Trp	Gln	Thr
2120						2125					2130			
Tyr	Arg	Gly	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	Met	Val	Phe	Phe	Gly	Asn
2135						2140					2145			

103202-序列表

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

2345

2350

103202-序列表

申請專利範圍

1. 一種全長的 rFVIII (FL-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
2. 如請求項 1 之 FL-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
3. 一種 B-區刪除的 rFVIII (BDD-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及

- f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 BDD-rFVIII；
- 其中該 BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
4. 如請求項 3 之 BDD-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
5. 一種 B-區刪除的 rFVIII 突變型(BDD-rFVIII-突變型)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 BDD-rFVIII-突變型；
- 其中該 BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
6. 如請求項 5 之 BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
7. 一種 PEG 化全長 rFVIII(PEG FL-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；

- d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG FL-rFVIII；
- 其中該 PEG FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7 之 pH。
8. 如請求項 7 之 PEG FL-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
 9. 一種 PEG 化 B-區刪除的 rFVIII (PEG-BDD-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-BDD-rFVIII；其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
 10. 如請求項 9 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
 11. 一種 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；

- b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG BDD-rFVIII-突變型；
- 其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

12. 如請求項 11 之 FL-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。

13. 一種全長 rFVIII (FL-rFVIII) 調配物，係包括：

- a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
- b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
- c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
- d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
- e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；and
- f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 FL-rFVIII；

其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

14. 如請求項 13 之 FL-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
15. 一種 B-區刪除的 rFVIII (BDD-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 BDD-rFVIII；其中該 BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
16. 如請求項 15 之 BDD-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
17. 一種 B-區刪除的 rFVIII 突變型(BDD-rFVIII-突變型)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及

- f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，
或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 BDD-rFVIII-突變型；
其中該 BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約
pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
18. 如請求項 17 之 BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括：約 20 mM MOPS，
約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100
ppm 非離子界面活性劑。
19. 一種 PEG 化全長 rFVIII (PEG FL-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，
或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，
或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250
mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120
ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，
或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG FL-rFVIII；
其中該 PEG FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH
7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
20. 如請求項 19 之 PEG FL-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM MOPS，約
29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm
非離子界面活性劑。
21. 一種 PEG 化 B-區刪除的 rFVIII (PEG-BDD-rFVIII)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，
或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，
或約 15 mM 氯化鈣；

- d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-BDD-rFVIII；
- 其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
22. 如請求項 21 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括：約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。
 23. 一種 PEG 化 B-區刪除的 rFVIII-突變型(PEG BDD-rFVIII-突變型)調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，或約 2.5 mM，或約 5 mM，或約 10 mM，或約 15 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 100 mM 至約 150 mM，或約 200 mM，或約 220 mM，或約 250 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；及
 - f. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或從約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
 24. 如請求項 23 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括：約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 10 mM 氯化鈣，約 220 mM 氯化鈉和約 100 ppm 非離子界面活性劑。

25. 一種 FL-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
 - g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
26. 如請求項 25 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
27. 如請求項 25 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
28. 如請求項 25 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
29. 如請求項 25-28 任一項中之 FL-rFVIII 調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。

30. 如請求項 25-28 任一項中之 FL-rFVIII 調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
31. 一種 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
 - g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-FL-rFVIII；其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
32. 如請求項 31 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-FL-rFVIII；其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
33. 如請求項 31 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-FL-rFVIII；其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
34. 如請求項 31 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$

PEG-FL-rFVIII; 其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。

35. 如請求項 31-34 任一項中之 PEG-FL-rFVIII 調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
36. 如請求項 31-34 任一項中之 PEG-FL-rFVIII 調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
37. 一種 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
 - g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-BDD-rFVIII；其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
38. 如請求項 37 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-BDD-rFVIII；其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
39. 如請求項 37 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$

PEG-BDD-rFVIII；其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。

40. 如請求項 37 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 μ g/ml PEG-BDD-rFVIII；其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
41. 如請求項 37-40 任一項中之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
42. 如請求項 37-40 任一項中之 PEG-BDD-rFVIII 調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
43. 一種 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM 組胺酸；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
 - g. 從約 0.1 μ g/ml 至約 300 μ g/ml，或約 1.0 μ g/ml 至約 200 μ g/ml，或約 10 μ g/ml 至約 125 μ g/ml 的 PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
44. 如請求項 43 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 μ g/ml PEG

BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。

45. 如請求項 43 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
46. 如請求項 43 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM 組胺酸，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
47. 如請求項 43-46 任一項中之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
48. 如請求項 43-46 任一項中之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
49. 一種 FL-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
 - g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 FL-rFVIII；

其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

50. 如請求項 49 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
51. 如請求項 49 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
52. 如請求項 49 之 FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ FL-rFVIII；其中該 FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
53. 如請求項 49-52 任一項中之 FL-rFVIII 調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
54. 如請求項 49-52 任一項中之 FL-rFVIII 調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
55. 一種 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
 - f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及

- g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-FL-rFVIII；
其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。
56. 如請求項 55 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-FL-rFVIII；
其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
57. 如請求項 55 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-FL-rFVIII；
其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
58. 如請求項 55 之 PEG-FL-rFVIII 調配物，係包括約 20 mM MOPS，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ PEG-FL-rFVIII；其中該 PEG-FL-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
59. 如請求項 55-58 任一項中之 PEG-FL-rFVIII 調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
60. 如請求項 55-58 任一項中之 PEG-FL-rFVIII 調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
61. 一種 PEG-BDD-rFVIII 調配物，係包括：
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS；
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM，或約 34 mM，或約 58 mM，或約 100 mM，或約 300 mM 的糖或糖醇；
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM，至約 2.5 mM，至約 5 mM 氯化鈣；
 - d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
 - e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；

- f. 從約 0 mM 至約 50 mM, 或約 100 mM, 或約 150 mM, 或約 293 mM, 或約 400 mM 甘胺酸; 及
 - g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$, 或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$, 或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG-BDD-rFVIII;
其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5, 或約 pH 7.0, 或約 pH 7.5 之 pH。
62. 如請求項 61 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物, 係包括約 20 mM MOPS, 約 29 mM 的糖或糖醇, 約 2.5 mM 氯化鈣, 約 30 mM 氯化鈉, 約 80 ppm 的非離子界面活性劑, 約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-BDD-rFVIII; 其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
 63. 如請求項 61 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物, 係包括約 20 mM MOPS, 約 37 mM 的糖或糖醇, 約 2.5 mM 氯化鈣, 約 30 mM 氯化鈉, 約 80 ppm 的非離子界面活性劑, 約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG-BDD-rFVIII; 其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
 64. 如請求項 61 之 PEG-BDD-rFVIII 調配物, 係包括約 20 mM MOPS, 從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇, 約 2.5 mM 氯化鈣, 約 0 mM 氯化鈉, 約 80 ppm 的非離子界面活性劑, 約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ PEG-BDD-rFVIII; 其中該 PEG-BDD-rFVIII 調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0。
 65. 如請求項 61-64 任一項中之 PEG-BDD-rFVIII 調配物, 其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
 66. 如請求項 61-64 任一項中之 PEG-BDD-rFVIII 調配物, 其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。
 67. 一種 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物, 係包括:
 - a. 從約 0 mM 至約 20 mM 或約 50 mM MOPS;
 - b. 從約 0 mM 至約 29 mM, 或約 34 mM, 或約 58 mM, 或約 100 mM, 或約 300 mM 的糖或糖醇;
 - c. 從約 1 mM 至約 2 mM, 至約 2.5 mM, 至約 5 mM 氯化鈣;

- d. 從約 0 mM 至約 10 mM，或約 20 mM，或約 30 mM，或約 40 mM，或約 50 mM 氯化鈉；
- e. 從約 20 ppm 至約 50 ppm，或約 80 ppm，或約 100 ppm，或約 120 ppm，或約 200 ppm 的非離子界面活性劑；
- f. 從約 0 mM 至約 50 mM，或約 100 mM，或約 150 mM，或約 293 mM，或約 400 mM 甘胺酸；及
- g. 從約 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 至約 300 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 至約 200 $\mu\text{g/ml}$ ，或約 10 $\mu\text{g/ml}$ 至約 125 $\mu\text{g/ml}$ 的 PEG BDD-rFVIII-突變型；

其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.0 至約 pH 6.5，或約 pH 7.0，或約 pH 7.5 之 pH。

- 68. 如請求項 67 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 29 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 293 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
- 69. 如請求項 67 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM MOPS，約 37 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 30 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 346 mM 甘胺酸和約 50 $\mu\text{g/ml}$ PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
- 70. 如請求項 67 之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，係包括約 20 mM MOPS，從約 100 mM 至約 300 mM 的糖或糖醇，約 2.5 mM 氯化鈣，約 0 mM 氯化鈉，約 80 ppm 的非離子界面活性劑，約 0 mM 甘胺酸和約 14 $\mu\text{g/ml}$ PEG BDD-rFVIII-突變型；其中該 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物具有從約 pH 6.5 至約 pH 7.0 之 pH。
- 71. 如請求項 67-70 任一項中之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，其中該糖或糖醇係由蔗糖和海藻糖組成之群中選出。
- 72. 如請求項 67-70 任一項中之 PEG BDD-rFVIII-突變型調配物，其中該非離子界面活性劑係由聚山梨醇酯 20 和聚山梨醇酯 80 組成之群中選出。

73. 一種於一病患中治療 A 型血友病之方法，該方法包括投予該病患一治療上有效量之如請求項 1-12 及 25-48 任一項中之調配物。
74. 如請求項 73 之方法，其中該調配物係以靜脈內、皮下或以連續輸注來給藥。

圖式

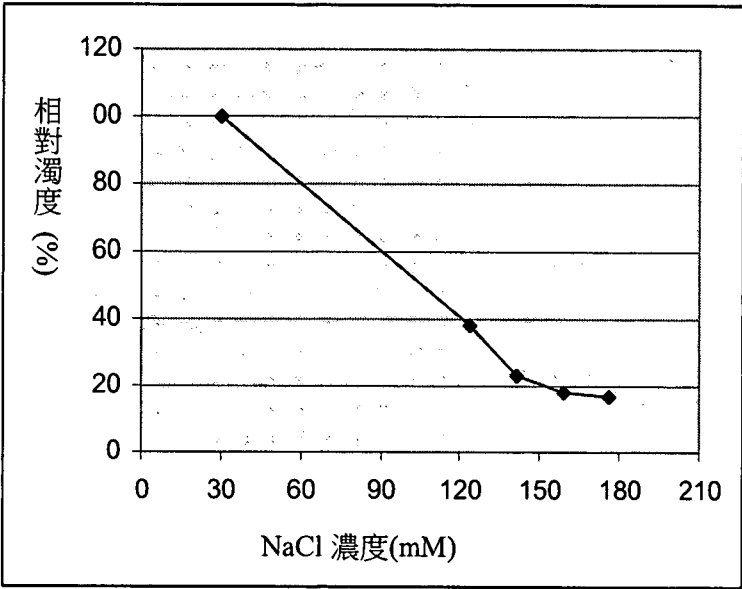


圖 1

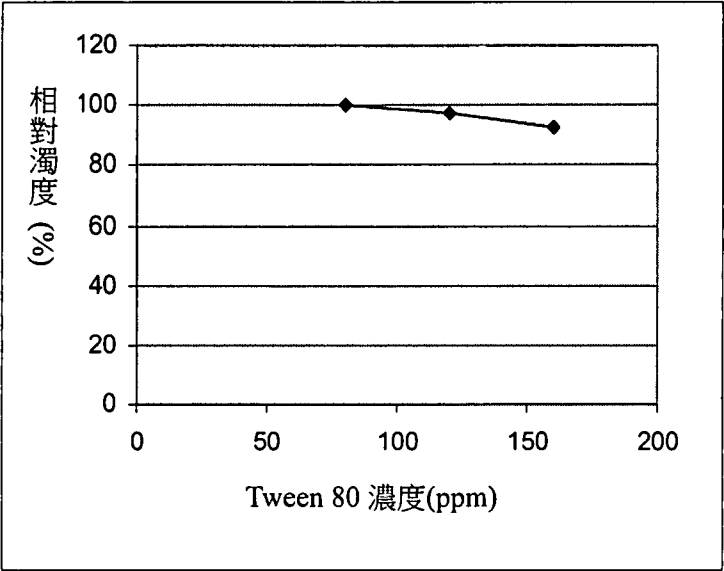


圖 2

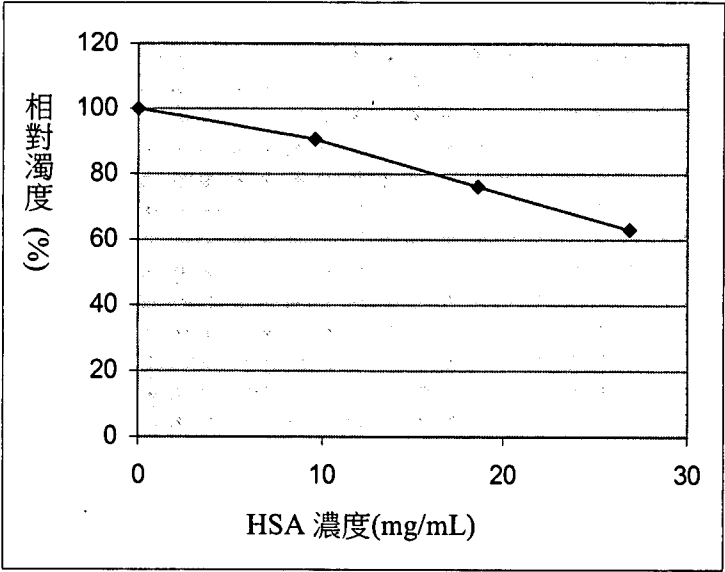


圖 3

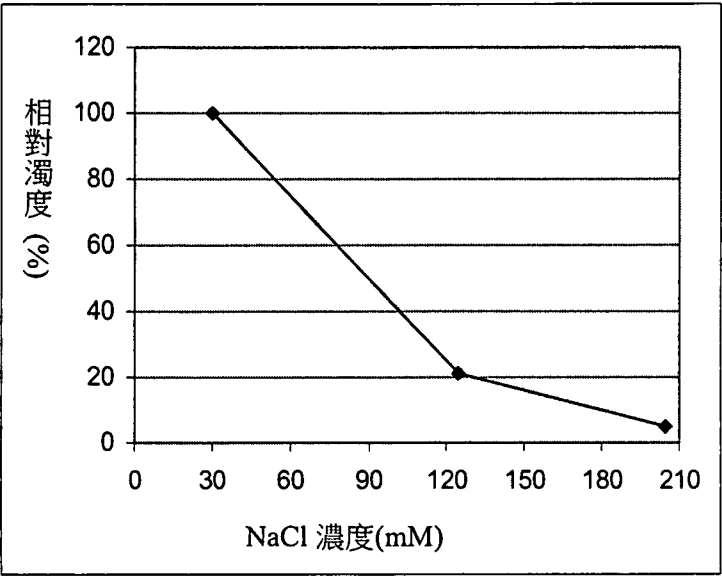


圖 4



圖 5

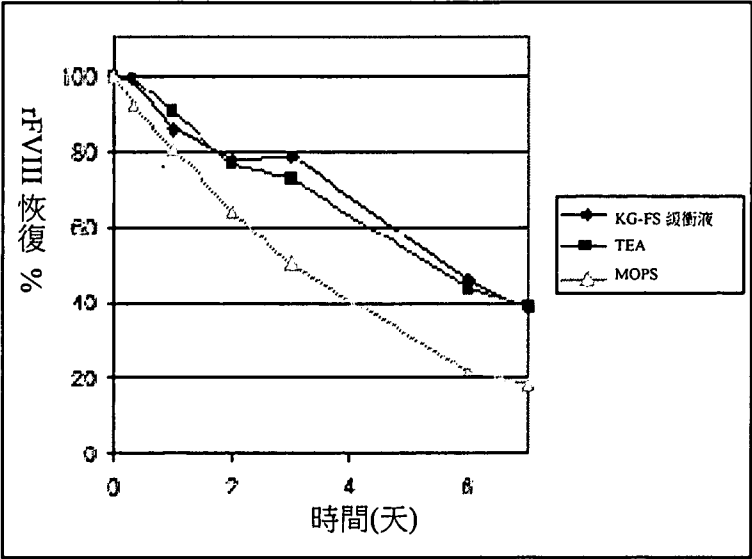


圖 6

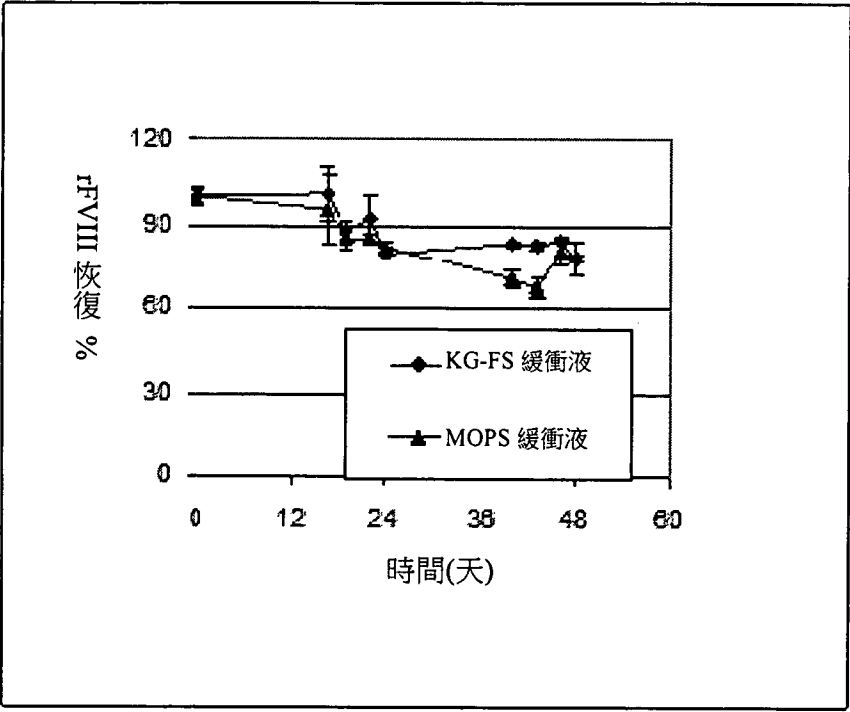


圖 7

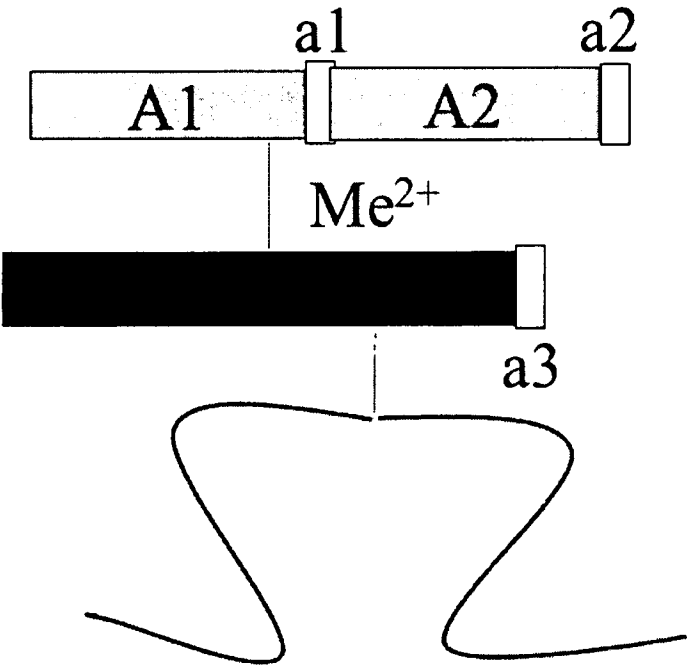


圖 8

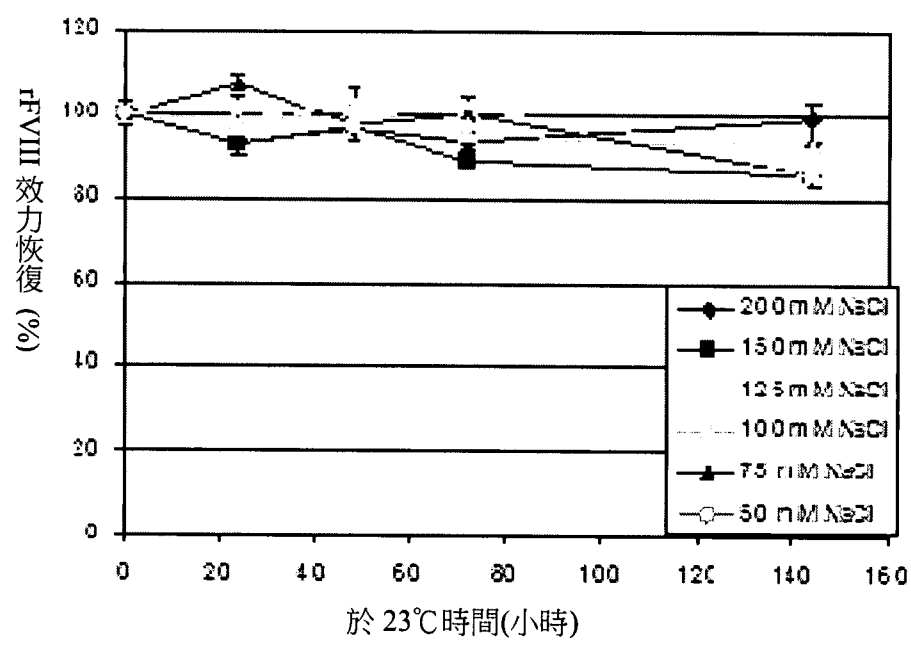


圖 9

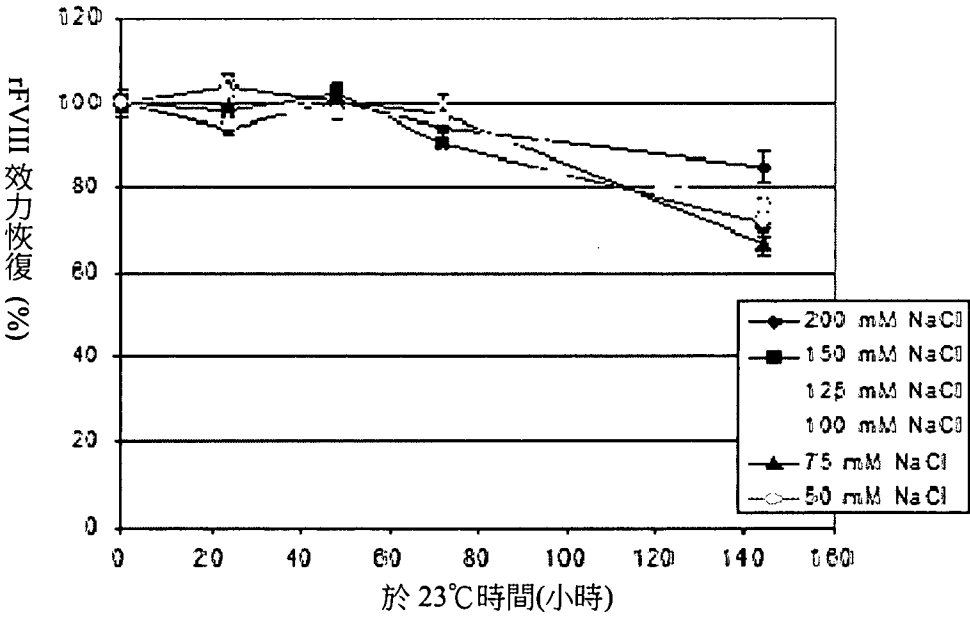


圖 10

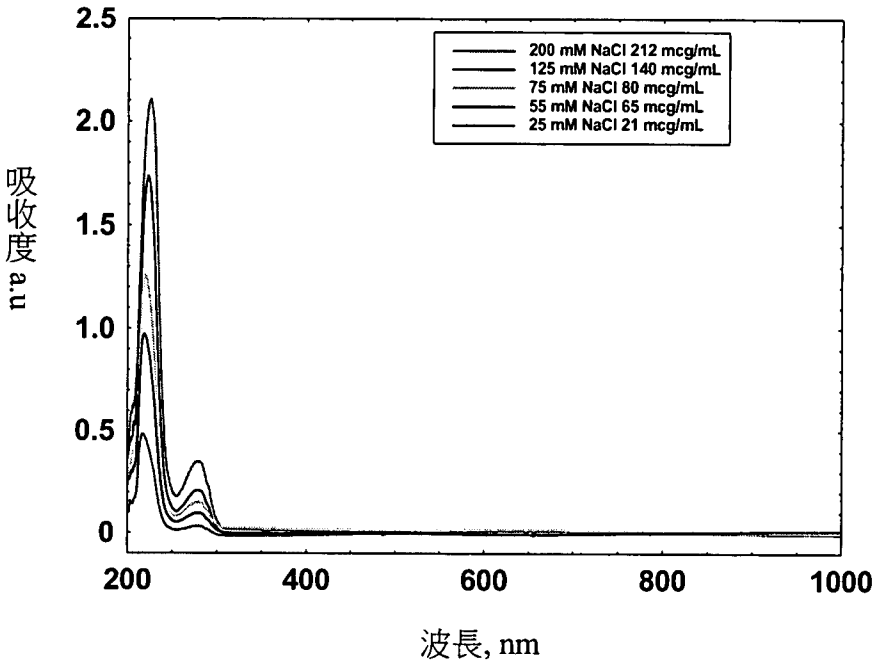


圖 11

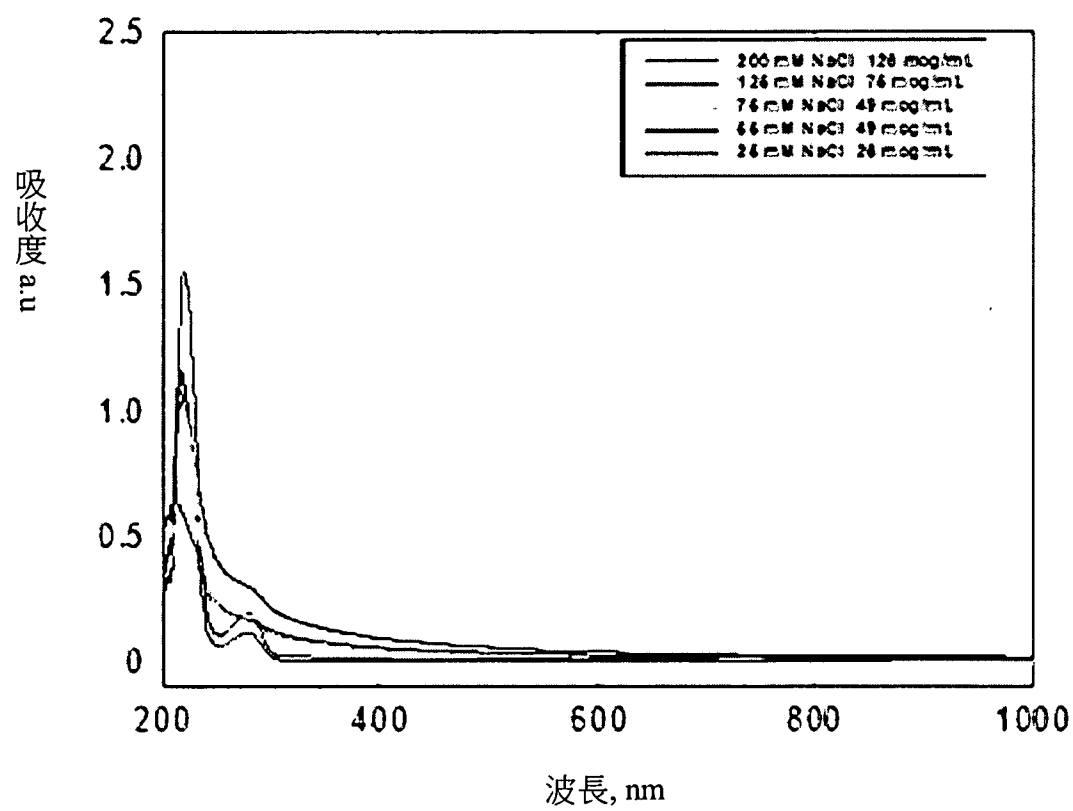


圖 12

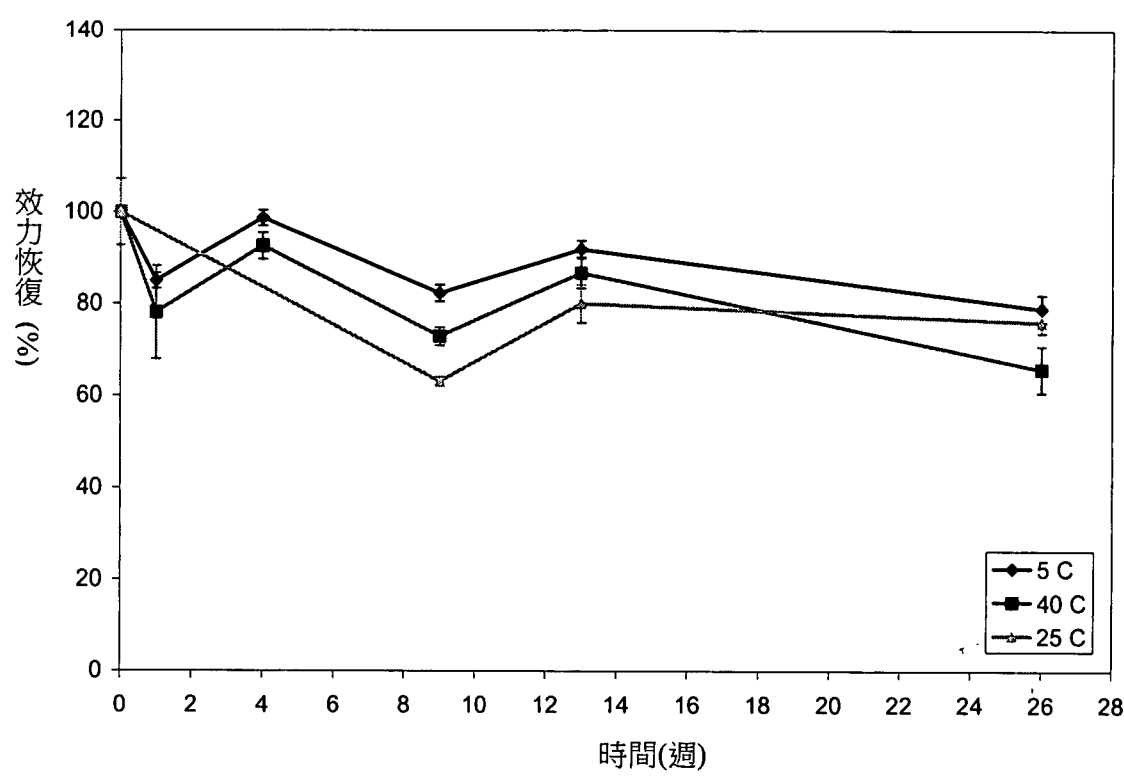


圖 13

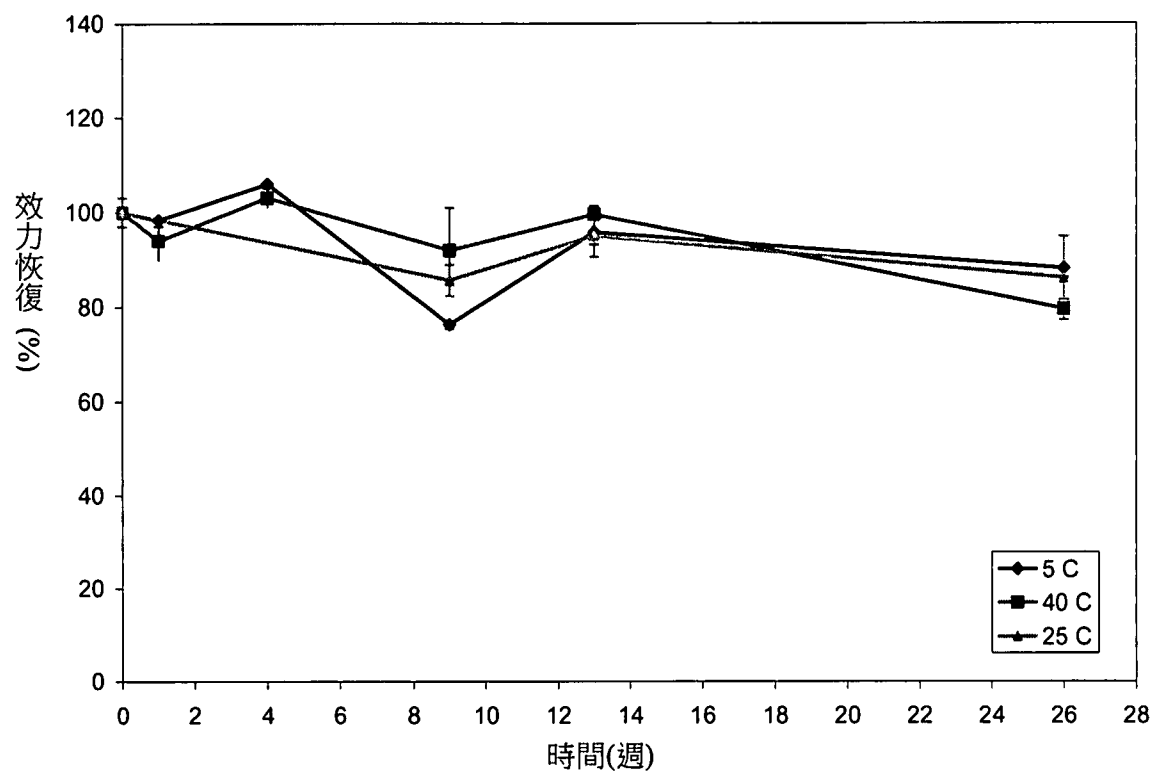


圖 14

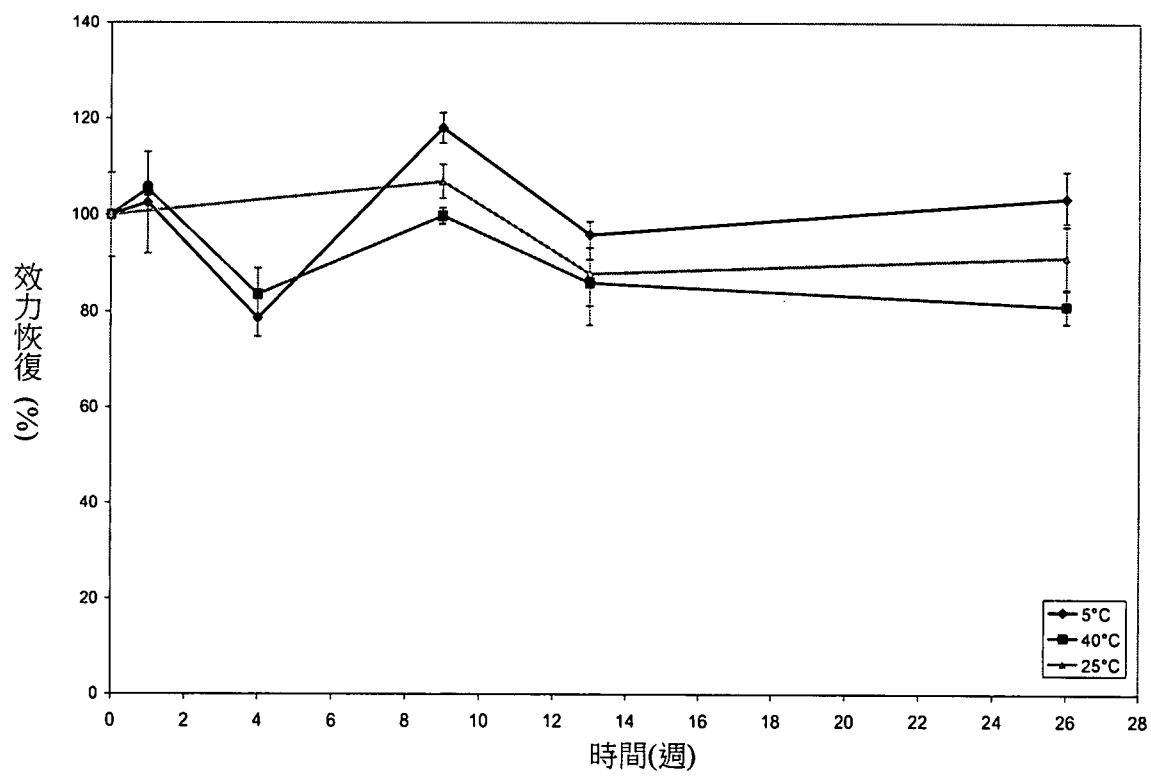


圖 15

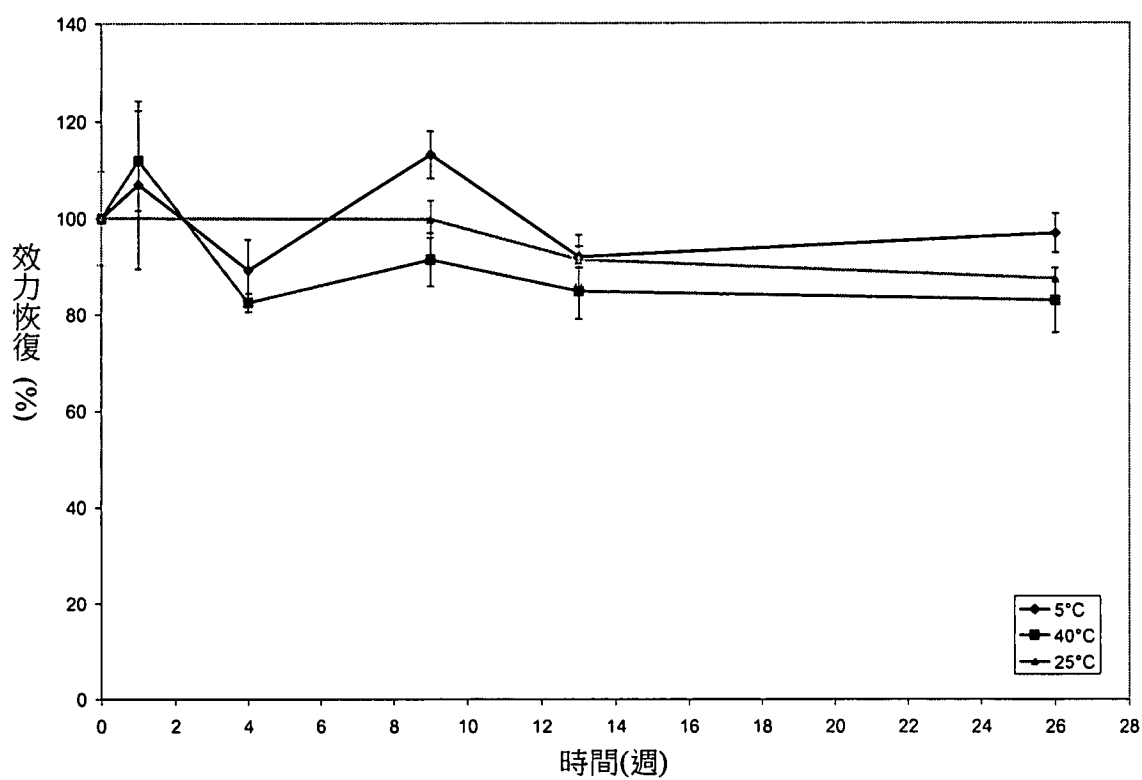


圖 16

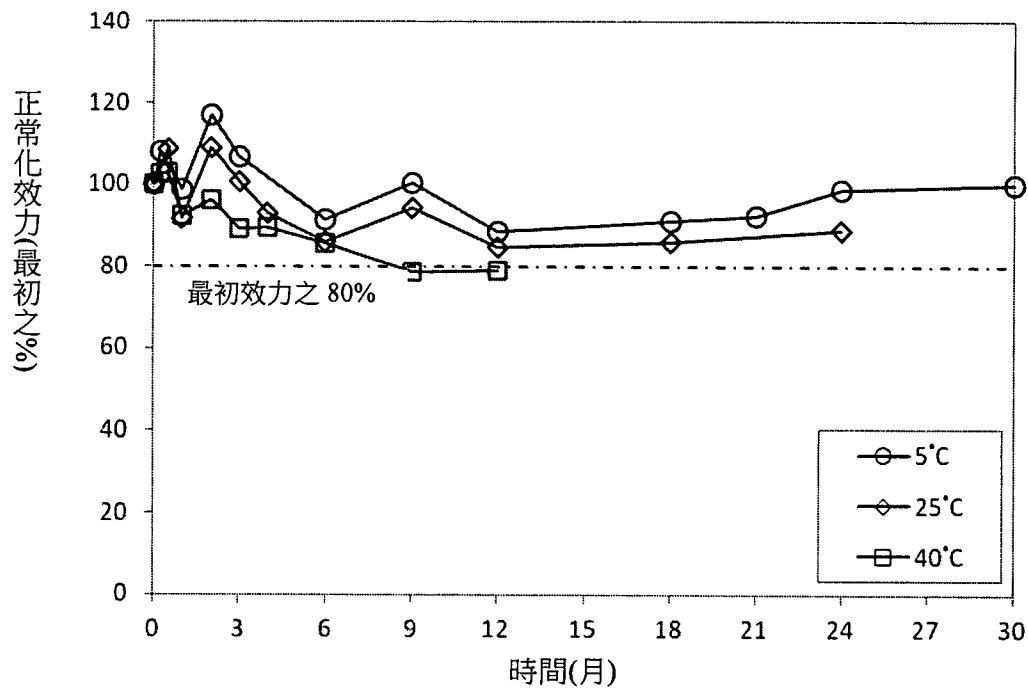


圖 17

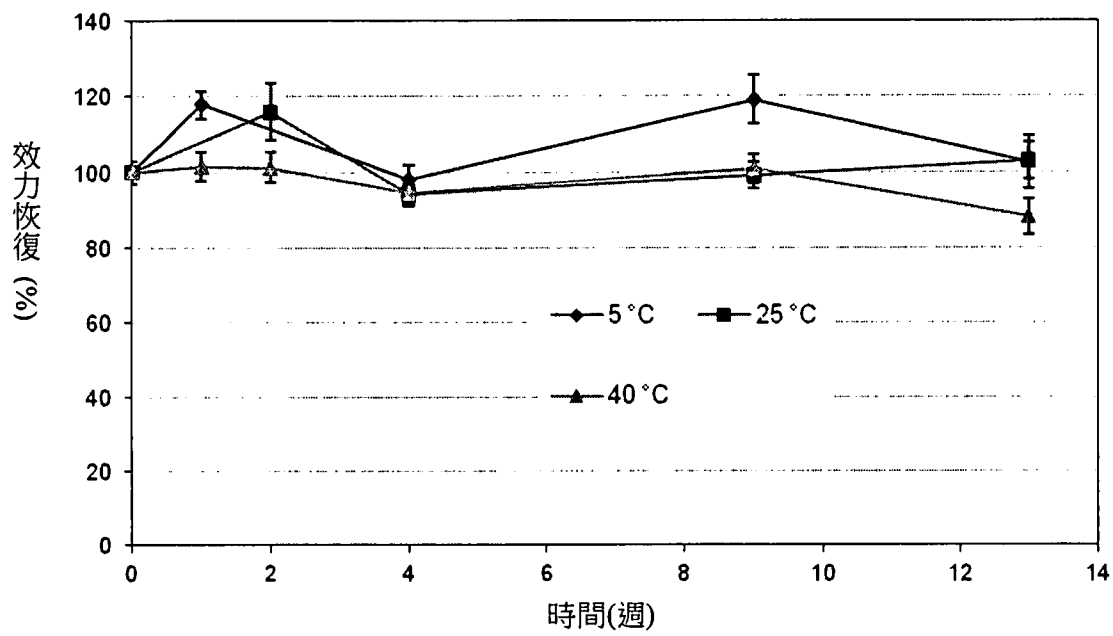


圖 18

B-區刪除的人類 VIII 因子

胺基酸序列

SEQ ID NO: 3

```

1 mqieltstcfff lcllrfcfsa trryylgave lswdymqsdl gelpvdarfp prvpksfpfn
61 tsvvykktlf veftdhlfnf akprppwmgl lgptiqaevy dtvvitlknm ashpvslhav
121 gvsywkaseg aeyddqtsqr ekeddkvfpg gshtyvwqvl kengpmasdp lcltysylsh
181 vdlvkdlngs ligallvcre gslakektqt lhkfillfav fdegkswhse tknslmqdrd
241 aasarawpkm htvngyvnrslpgligchrk svywhvigmg ttpevhsifl eghtflvrnh
301 rgasleispi tfltaqtllm dlqgfllfch isshqhdgme ayvkvdscpe epqlrmknne
361 eaedydddltd semdvvrfd ddnspsfiqi rsvakkhpktd whyiaaeed dwdyaplvla
421 pddrsyksqy lnnqpqrigr kykkvrfmay tdetfktrea iqhesgilgp llygevgdtl
481 liifknqasr pyniypggit dvrplysrrl pkgvkhkldf pilpgeifky kwtvtvedgp
541 tksdprcltr yyssfvnmer dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfde
601 nrswylteni qrflnpagv qladefqas nimhsingyv fdlqlsvcl hevaywyils
661 igaqtdflsv ffsgytfkhk mvyedtltlf pfsgetvfms menpglwilg chnsdfrnrg
721 mtallkvssc dkntgdyed syedisayll sknaieprs fsqnpvvlkr hqreitrttl
781 qsdqeeidydt tisvemkke dfdiydeden qsprsfqkkt rhyfiaaver lwdygmsssp
841 hvlnrnaqsg svpqfkkvfv geftdgsftq plyrgelneh lgllgpyira evednimvtf
901 rnqasrpysf ysslisyeed qrqgaepkrn fvkpnetkty fwkvqhmap tkdefdckaw
961 ayfsdvdek dvhsgligpl lvchtntlnp ahgrqvtvqe falfftifde tkswyftenm
1021 erncrapcni qmedptfken yrfhaingyi mdtlpglvma qdqrirwyll smgsnenihs
1081 ihfsghvftv rkkeeykmal ynlypgvfet vemplskagi wrvecligeh lhagmstlfl
1141 vysnkcqtpl gmasghirdf qitasggygq wapklarlhy sgsinawstk epfswikvdl
1201 lapmiihgik tqgarqkfss lyisqfiimy sldgkkwqty rgnstgtlmv ffgnvdssgi
1261 khnifnppii aryirlhpth ysirstlrme lmgcdlnscs mplgmeskai sdaqitassy
1321 ftnmfatwsp skarlhlqgr snawrpqvnv pkewlqvdfq ktmkvtgvtt qgvkslltssm
1381 yvkeflisss qdghqwtlff qngkvkvfgg nqdsftpvvn sldpplltry lrihpqswvh
1441 qialrmevlq ceaqlly

```

圖 19

人類VIII因子胺基酸序列

SEQ ID NO: 4

1 mqieltstcfff lclllrfcfssa trrryylgave lswdymqsdl gelpvdarfp prvpksfpfn
61 tsvvykktlf veftvhlfnl akprppwmgl lgptigaevy dtvvitlknm ashpvslhav
121 gvsywkaseg aeyddqtsqr ekeddkvfpg gshtyvwqvl kengpmasdp lcltysylsh
181 vdlvkdlmsg ligallvcre gslakektqt lkhfillfav fdegkswhse tknslmqdrd
241 aasarawpkm htvngyvnrs lpgligchrk svywhvigmg ttpevhslfl eghtflvrnh
301 rgasleispi tfltaqtllm dlqgfillfch isshqhdgme ayvkvdscpe epqlrmknne
361 eaedydddlt dsemdvvrfd ddnspsfiqi rsvakkkhpk wvhyaiaeee dwdyaplvla
421 pddrsyksqy lnngpqrigr kykkvrfmay tdetfktrea iqhesgilgp llygevgdtl
481 liifknqasr pyniypghit dvrrplysrrl pkgvkhkldf pilpgeifky kwtvtvedgp
541 tksdprcltr yyssfvnmer dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfde
601 nrsywylteni qrflpnpagv qledpefqas nimhsingyv fdlqlslvcl hevaywyils
661 igaqtdflsv ffsgytfkhk mvyedtltlf pfsgetvfms menpglwilg chnsdfrnrg
721 mtallkvssc dkntgdyed syedisayll sknnaieprs fsqnsrhpst rqkqfnatti
781 pendiektdp wfahrtmpmk iqnvsssdll mllrqsptph glslsdlqea kyetfsddps
841 pgaidsnns slsemthfrpql hhsqgmfvtp esglqlrlne klgttaatel kklfdkvsst
901 snnlistips dnlaagtndt sslgppsmpv hydsqldttl fgkkssplte sggplslsee
961 nndskillesg lmnsgesswg knvsstesgr lfkgkrahgp alltkdnalf kvslslktn
1021 ktsnnsatnr kthidgpsll ienspsvwqn ilesdtefkf vtplihdrml mdknatalrl
1081 nhmsnktts knmemvqgk egpippdaqn pdmsffkmlf lpesarwiqr thgknslnsg
1141 qgspkqlvs lgpeksvegq nflseknkv vgkgeftkdv glkemvfps rnlfltnldn
1201 lhennthnqe kkiqeeiekk etliqenvvl pqihtvtgtk nfmknlflls trqnvegsye
1261 gayapvlqdf rslndstnrt kkhtahfsk geeenleglg nqtkgiveky acttrispnt
1321 sqgnfvtrsr kralkqfrlp leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
1381 kgaitqsp ls dcltrshsip qanrsplpia kvssfpsirp iyltrvlfqd nsshlpaaasy
1441 rkkdsgvqes shflqgakn nlsalitle mtgdqrevgs lgtsatnsvt ykkventvlp
1501 kpdlpkts gk vellpkvhiy qkdlftets ngspghldlv egslqgteg aikwneanrp
1561 gkvpflrvat essaktpsk ldlplawdnhy gtqipkeewk sqekspekta fkkkdtlsl
1621 nacesnhaia ainegqnkpe ievtwakqgr terlcqnpp vlkrhqreit rttlqsdqee
1681 idyddtisve mkkedfdiyd edenqsprsf qkkrthyfia averlwdygm sssphvlrnr
1741 aqsgsvpqfk kvvfqeftdg sftqplyrge lnehlglg yiraevedni mvtfrnqasr
1801 pysfysslis yeedqrqgae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
1861 dlekdvhs gl igpllvchn tlnpahgrqv tvqefalfft ifdetkswyf tenmerncra
1921 pcniqmedpt fkenyrfhai ngyimdtlpg lvmaqdrir wyllsmgsne nihsihfsg
1981 vftvrkkeey kmalynlypg vfetvemlps kagiwrvecl igehlhagms tlflvysnkc
2041 qtplgmasgh irdfqitas gygqwapkla rlhysgsina wstkepfswi kvdllapmii
2101 hgiktqgarq kfsslyisqf iimysldgk wqtyrgnstg tlmvffgnvd ssgikhnifn
2161 ppiaryirl hpthysirst lrmelmgcdl nscsmplgme skaisdaqit assyftnmfa
2221 twspskarlh lqgrsnawrp qvnnpkewlq vdfqktmkvt gvttqgvksl ltsmyvkefl
2281 isssqdghqw tlffqngkvk vfqgnqdsft pvvnslpppl ltrylrihpq swvhqialrm
2341 evlgceaqdl y

圖20