

1. Кон'югат, що має прокоагулянтну активність фактора VIII, який включає функціональний поліпептид фактора VIII, який мутований таким чином, що принаймні один нецистеїновий залишок заміщений на цистеїновий залишок, так що присутній мутантний цистеїновий залишок, де функціональний поліпептид фактора VIII ковалентно з'єднаний на мутантному цистеїновому залишку з біосумісним полімером.
2. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер включає поліетиленгліколь.
3. Кон'югат за п. 2, де поліетиленгліколь включає метоксиполіетиленгліколь.
4. Кон'югат за п. 3, де метоксиполіетиленгліколь має розмір в інтервалі від 5 кДа до 64 кДа.
5. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер ковалентно приєднаний до функціонального поліпептиду фактора VIII на амінокислотному залишку, що знаходиться на відстані або в межах 20 ангстрем від (а) сайту зв'язування рецептора виведення фактора VIII, (b) сайту зв'язування протеази, здатної деградувати фактор VIII, і/або (с) сайту зв'язування інгібіторних антитіл до фактора VIII.
6. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер ковалентно приєднаний до функціонального поліпептиду фактора VIII на амінокислотному залишку, в інтервалі залишків 484-509 або 1811-1818, включаючи початкові та кінцеві точки, або на амінокислотному залишку, що знаходиться на відстані 20 ангстрем від одного з положень амінокислот інтервала 484-509 або 1811-1818, включаючи початкові та кінцеві точки.
7. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер ковалентно приєднаний до поліпептиду в одному з положень амінокислот 81, 129, 377, 378, 468, 487, 491, 504, 556, 570, 711, 1648, 1795, 1796, 1803, 1804, 1808, 1810, 1864, 1903, 1911, 2091, 2118 і 2284 фактора VIII.
8. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер ковалентно приєднаний до поліпептиду при амінокислотному залишку 1808, 1810, 1812, 1813, 1815, 1795, 1796, 1803 або 1804 фактора VIII.
9. Кон'югат за п. 1, де функціональний поліпептид фактора VIII є фактором VIII з делетованим В-доменом.
10. Кон'югат за п. 9, де біосумісний полімер ковалентно приєднаний до фактора VIII з делетованим В-доменом у положеннях амінокислот 129, 491, 1804 і/або 1808.

11. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер приєднаний до поліпептиду у положенні амінокислоти 1804 і включає поліетиленгліколь.

12. Кон'югат за будь-яким з пп. 1-11, де біосумісний полімер є поліетиленгліколем.

13. Спосіб одержання кон'югата за п. 1, що включає:

мутацію нуклеотидної послідовності, що кодує функціональний поліпептид фактора VIII, для заміщення кодуючої послідовності нецистеїнового залишку на кодуючу послідовність цистеїнового залишку;

експресію мутованої нуклеотидної послідовності, щоб отримати модифікований цистеїном мутеїн;

очищення мутеїну;

реагування мутеїну з біосумісним полімером, де біосумісний полімер має сульфгідрильний реакційний фрагмент, такий як тіол, трифлат, трезилат, азиридин, оксиран, S-піридил або малеїмід, що реагує з поліпептидом при введеному цистеїновому залишку з утворенням кон'югата; і

очищення кон'югата.

14. Спосіб за п. 13, у якому біосумісний полімер включає поліетиленгліколь.

15. Спосіб за п. 14, у якому мутеїн реагує з малеїмідною групою на поліетиленгліколі.

16. Спосіб за п. 13, у якому біосумісний полімер є поліетиленгліколем, та експресія мутованої нуклеотидної послідовності відбувається у середовищі культивування клітин, яке містить сульфгідрильні групи, які приєднуються до введеної вільної цистеїнової групи (груп) на модифікованому цистеїновому мутеїні, та спосіб окрім того включає наступні стадії після експресії мутеїну і до очищення мутеїну:

(а) контактування мутеїну з відновлювачем при умовах, у яких мутеїн м'яко відновлюється та відокремлюється сульфгідрильна група; і

(b) вилучення сульфгідрильної групи, що відокремилася, та відновлювача із мутеїну, де мутеїн окрім того реагує із поліетиленгліколем протягом принаймні п'яти хвилин після видалення відновлювача.

17. Спосіб за п. 16, у якому сульфгідрильну групу, що відокремилася, і відновлювач видаляють із мутеїну за допомогою витиснювальної за розміром молекул або іонообмінної хроматографії.

18. Спосіб за п. 16, у якому мутеїн фактора VIII є мутеїном фактора VIII з делетованим В-доменом.
19. Спосіб за п. 16, у якому поліетиленгліколь є ПЕГ-малеїмідом та має розмір в інтервалі від 5 кДа до 64 кДа.
20. Фармацевтична композиція для парентерального введення, що містить терапевтично ефективну кількість кон'югата за п. 1 та фармацевтично прийнятний ад'ювант.
21. Застосування кон'югата за пп. 1-12 для одержання лікарського засобу для лікування гемофілії.
22. Застосування фармацевтичної композиції за п. 20 для одержання лікарського засобу для лікування гемофілії.
23. Кон'югат за п. 1, де біосумісний полімер являє собою гідроксіетил-крохмаль.
24. Кон'югат за п. 23, де гідроксіетил-крохмаль ковалентно приєднаний до поліпептиду в одному або більше амінокислотних положеннях 81, 129, 377, 378, 468, 487, 491, 504, 556, 570, 1648, 1795, 1796, 1803, 1804, 1808, 1810, 1864, 1911, 2091, 2118 і 2284 фактора VIII.
25. Кон'югат за пп. 23 або 24, де функціональний поліпептид фактора VIII є фактором VIII з делетованим В-доменом.
26. Кон'югат за п. 25, де гідроксіетил-крохмаль ковалентно приєднаний до фактора VIII з делетованим В-доменом у положеннях амінокислоти 129, 491, 1804 і/або 1808.
27. Кон'югат за п. 23, де гідроксіетил-крохмаль приєднаний до поліпептиду у положенні амінокислоти 1804 фактора VIII.
28. Кон'югат за п. 23, де гідроксіетил-крохмаль приєднаний до поліпептиду у положенні амінокислоти 1804 фактора VIII, та функціональний поліпептид фактора VIII є фактором VIII з делетованим В-доменом.
29. Спосіб одержання кон'югата за п. 23, що включає:  
вибір специфічної амінокислоти, що не є цистеїновим залишком в амінокислотній послідовності функціонального поліпептиду фактора VIII, яка є попередньо заданим сайтом приєднання гідроксіетил-крохмалю;  
мутацію нуклеотидної послідовності, що кодує функціональний поліпептид фактора VIII, для заміщення кодуєчої послідовності нецистеїнового амінокислотного залишку кодуєчою послідовністю цистеїнового залишку в попередньо заданому сайті;

експресію мутованої нуклеотидної послідовності, щоб отримати модифікований цистеїном мутеїн;

очищення мутеїну;

реагування мутеїну з гідроксіетил-крохмалем, який активований для реакції з поліпептидами по суті тільки з відновленими цистеїновими залишками, так що утворюється кон'югат; і

очищення кон'югата.

30. Спосіб за п. 29, у якому гідроксіетил-крохмаль активують додаванням малеїмідної групи, яка може специфічно реагувати із цистеїнами в протеїнах.

31. Фармацевтична композиція для парентерального введення, яка містить терапевтично ефективну кількість кон'югата за п. 23 і фармацевтично прийнятний ад'ювант.

32. Спосіб лікування гемофілії, що передбачає введення пацієнтові, який потребує цього, ефективною кількістю композиції за п. 31.

33. Застосування кон'югата за одним з пп. 23-28 для одержання лікарського засобу для лікування гемофілії.