



## Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University

### Site-directed mutagenesis of tissue factor pathway inhibitor-binding exosite D60A on factor VII results in a new factor VII variant with lower coagulant activity

Seanoon K, Kitiyanant V, Payongsri P, Sirachainan N, Angchaisuksiri P, Chuansumrit A, Hongeng S, Tanratana P.

This research explored a modified version of recombinant factor VIIa (rFVIIa), a clotting factor used to treat bleeding disorders. rFVIIa carries a risk of blood clots, so we aimed to create a less clot-promoting version.

We altered a single amino acid (D60A) within the factor VII molecule. Laboratory tests showed that this change (D60A) significantly reduced the ability of factor VIIa to activate factor X, a crucial step in blood clotting, while maintaining similar amidolytic activity. This resulted in a substantially slower thrombin generation (the process that forms blood clots). Importantly, the modified rFVIIa had a similar plasma half-life to the original.

The study concludes that D60A exhibits reduced clotting ability compared to the standard rFVIIa. Because normal clotting only requires 15-25% of normal factor VII levels, we propose that this modified molecule could be a safer alternative treatment for bleeding disorders, minimizing the risk of thromboembolic complications. Further research including in vivo studies is warranted to confirm these findings.

### การกลายพันธุ์ของยีนที่ตำแหน่ง D60A ของ factor VII ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจับกับ TFPI ส่งผลให้เกิด factor VII ชนิดใหม่ที่มีผลทำให้เลือดแข็งตัวลดลง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาเกี่ยวกับการปรับเปลี่ยน recombinant factor VIIa (rFVIIa) ซึ่งเป็นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่ใช้ในการรักษาโรคเลือดออก rFVIIa มีความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดลิ่มเลือด ดังนั้นเราจึงตั้งเป้าที่จะสร้าง rFVII ที่มีการกระตุ้นการเกิดลิ่มเลือดน้อยลง เราได้เปลี่ยนกรดอะมิโนเพียงตำแหน่งเดียว (D60A) ในโมเลกุลของ factor VII การทดสอบในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงนี้ (D60A) ลดความสามารถของ factor VIIa ในการกระตุ้น factor X ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการแข็งตัวของเลือดลงอย่างมาก ในขณะที่ยังคงรักษา activity ที่คล้ายคลึงกัน ส่งผลให้การสร้าง thrombin (กระบวนการที่สร้างลิ่มเลือด) ช้าลงอย่างมาก ที่สำคัญคือ rFVIIa ที่ดัดแปลงแล้วมีอายุครึ่งชีวิตในพลาสมาที่คล้ายคลึงกับ factor VII แบบเดิม

งานวิจัยสรุปว่า D60A มีความสามารถในการแข็งตัวของเลือดลดลงเมื่อเทียบกับ rFVIIa มาตรฐาน เนื่องจากการแข็งตัวของเลือดปกติต้องการระดับ factor VII เพียง 15-25% เท่านั้น นักวิจัยจึงเสนอว่าโมเลกุลที่ดัดแปลงแล้วนี้สามารถเป็นทางเลือกในการรักษาโรคเลือดออกที่ปลอดภัยกว่า โดยลดความเสี่ยงของภาวะแทรกซ้อนจากการเกิดลิ่มเลือด จำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมรวมถึงการทดสอบในสิ่งมีชีวิตเพื่อยืนยันผลการวิจัยเหล่านี้

*Res Pract Thromb Haemost.*2024 Jan 2;8(1):102309. doi: 10.1016/j.rpth.2023.102309.



ความเชื่อมโยงกับเป้าหมาย SDGs: เป้าหมายที่ 3: การมีสุขภาพและความเป็นอยู่ที่ดี