



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105980400 B

(45) 授权公告日 2021.05.07

(21) 申请号 201480043522.8

(22) 申请日 2014.07.31

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105980400 A

(43) 申请公布日 2016.09.28

(30) 优先权数据
61/860723 2013.07.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2016.02.01

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/049254 2014.07.31

(87) PCT国际申请的公布数据
W02015/017710 EN 2015.02.05

(73) 专利权人 美国安进公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 Y.熊 Y.张 J.Z.盛 A.E.汉伯格

M.费念特-埃莉森 G.施马莫托
X.闵 Z.王 J.唐 G.肯南
M.莫克 K.沃克

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 罗文锋 彭昶

(51) Int.Cl.
C07K 14/495 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2013113008 A1, 2013.08.01
WO 2010048670 A1, 2010.05.06
WO 9906445 A1, 1999.02.11
WO 2011064758 A2, 2011.06.03
WO 2006000448 A2, 2006.01.05

审查员 李国顺

权利要求书1页 说明书164页 附图57页

(54) 发明名称
生长分化因子15(GDF-15)构建体

(57) 摘要
提供了包含GDF15及其突变体的构建体。在各个实施方案中,包含GDF15及其突变体的所述构建体可用于治疗或缓解代谢疾患。在各个实施方案中,代谢疾病或疾患是2型糖尿病、肥胖症、血脂障碍、升高的葡萄糖水平、升高的胰岛素水平和糖尿病性肾病变。

1. 一种包含GDF15区域和Fc结构域的融合蛋白,其中Fc结构域的氨基酸序列是SEQ ID NO: 220;或其中Fc结构域的氨基酸序列是SEQ ID NO: 227,其中所述GDF15区域包含SEQ ID NO: 4, 8, 12, 25, 52或55的氨基酸序列,并且其中所述GDF15区域的N末端直接或通过多肽接头连接至所述Fc结构域的C末端。

2. 权利要求1所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白包含SEQ ID NO: 222, 225, 229或232的氨基酸序列。

3. 前述权利要求中任一项所述的融合蛋白,其中所述GDF15区域和所述Fc结构域通过多肽接头连接。

4. 权利要求3的融合蛋白,其中所述多肽接头包含SEQ ID NO: 18, 30, 34, 40, 58, 61, 64, 69, 72, 75, 78, 113, 116, 119, 122, 125或128的氨基酸序列。

5. 一种二聚体,其包含(i)为权利要求1-4中任一项所述的融合蛋白的第一蛋白,和(ii)包含Fc结构域的第二蛋白,其中所述第二蛋白包含SEQ ID NO: 219, 226, 301或302的氨基酸序列。

6. 权利要求5所述的二聚体,其中所述第一蛋白和所述第二蛋白非共价缔合。

7. 权利要求5所述的二聚体,其中所述第一蛋白和所述第二蛋白共价缔合。

8. 权利要求5所述的二聚体,其中所述第一蛋白和所述第二蛋白通过其各自的Fc结构域之间的二硫键缔合。

9. 一种四聚体,其包含(a)第一二聚体和(b)第二二聚体,其中所述第一二聚体和第二二聚体独立地为权利要求5-8中任一项所述的二聚体。

10. 权利要求9所述的四聚体,其中所述第一二聚体和所述第二二聚体通过所述第一二聚体的GDF15区域和第二二聚体的GDF15区域之间的链间二硫键缔合。

11. 权利要求1-4中任一项所述的融合蛋白在制备用于在有需要的受试者中治疗代谢病症的药物中的用途,其中所述代谢病症为糖尿病、肥胖症、血脂障碍或糖尿病性肾病。

12. 权利要求1-4中任一项所述的融合蛋白在制备用于减少受试者的食物摄入、体重、胰岛素水平、甘油三酯水平、胆固醇水平或葡萄糖水平的药物中的用途。

13. 权利要求5-8中任一项所述的二聚体在制备用于在有需要的受试者中治疗代谢病症的药物中的用途,其中所述代谢病症是糖尿病、肥胖症、血脂障碍或糖尿病性肾病。

14. 权利要求5-8中任一项所述的二聚体在制备用于减少受试者的食物摄入、体重、胰岛素水平、甘油三酯水平、胆固醇水平或葡萄糖水平的药物中的用途。

15. 权利要求9或10所述的四聚体在制备用于在有需要的受试者中治疗代谢病症的药物中的用途,其中所述代谢病症是糖尿病、肥胖症、血脂障碍或糖尿病性肾病。

16. 权利要求9或10所述的四聚体在制备用于减少受试者中的食物摄入、体重、胰岛素水平、甘油三酯水平、胆固醇水平或葡萄糖水平的药物中的用途。

生长分化因子15 (GDF-15) 构建体

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有序列表,所述序列表已以ASCII格式电子提交并且由此以引用的方式整体并入本文。2014年7月29日创建的所述ASCII 副本命名为A-1850-WO-PCT_SL.txt,并且大小为630,200字节。

发明领域

[0003] 本公开涉及包含多肽的单体和多聚体,所述多肽包含GDF15区。

[0004] 发明背景

[0005] 生长分化因子15 (GDF15) 为TGF β 超家族的分支成员。它也称为巨噬细胞抑制细胞因子1 (MIC1) (Bootcov MR,1997,Proc Natl Acad Sci 94:11514-9)、胎盘骨形态发生因子 (PLAB) (Hromas R 1997, Biochim Biophys Acta.1354:40-4)、胎盘转化生长因子 β (PTGFB) (Lawton LN 1997,Gene.203:17-26)、前列腺衍生因子 (PDF) (Paralkar VM 1998, J Biol Chem.273:13760-7) 以及非甾体类抗炎药物活化基因 (NAG-1) (Baek SJ 2001, J Biol Chem.276:33384-92)。

[0006] 人GDF15基因位于染色体19p13.2-13.1上;大鼠GDF15基因位于染色体16上;并且小鼠GDF15基因位于染色体8上。GDF15开放阅读框跨越两个外显子 (Bottner M 1999, Gene.237:105-11和 NCBI)。成熟GDF15肽与其它家族成员共有低同源性 (Kato M 2006, Int J Mol Med.17:951-5.)。

[0007] GDF15被合成为大的前体蛋白质,所述蛋白质在二元切割位点 (dibasic cleavage site) 上被切割以释放羧基端成熟肽。小鼠和大鼠 GDF15前体肽原均含有303个氨基酸。人全长前体含有308个氨基酸。啮齿类动物成熟肽在RGRR (SEQ ID NO:1) 切割位点加工后含有 115个氨基酸。人成熟肽在RGRRRAR (SEQ ID NO:2) 切割位点加工后含有112个氨基酸。人成熟GDF15肽与小鼠成熟GDF15肽共有66.1%和68.1%的序列相似性 (Bottner M 1999,Gene.237:105-11;Bauskin AR 2000,EMBO J.19:2212-20;NCBI)。在成熟GDF15肽中不存在糖基化位点。

[0008] 成熟GDF15肽含有形成半胱氨酸结基序(具有三个链内二硫键) 所需的七个保守半胱氨酸残基和对于TGF β 超家族成员常见的单个链间二硫键。成熟GDF15肽进一步含有形成第四链内二硫键的两个另外的半胱氨酸残基。生物活性GDF15是通过一个链间二硫键共价连接的成熟肽的25KD的同二聚体。

[0009] 已报道GDF15循环水平在多种病理和生理状况,最明显地怀孕 (Moore AG 2000. J Clin Endocrinol Metab 85:4781-4788)、 β -地中海贫血 (Tanno T 2007, Nat Med 13: 1096-101; Zimmermann MB, 2008 Am J Clin Nutr 88:1026-31) 以及先天性红细胞生成障碍性贫血 (Tamary H 2008, Blood.112:5241-4) 中升高。在文献报道中,GDF15还与多种物活性有关。GDF15敲除和转基因小鼠的研究表明GDF15可防止局部缺血/再灌注或过载诱发的心脏损伤 (Kempf T, 2006, Circ Res.98: 351-60; Xu J, 2006, Circ Res.98:342-50)、防止衰老相关的运动神经元和感觉神经元损失 (Strelau J, 2009, J Neurosci.29:13640-8)、适

度防止肾的代谢性酸中毒,并且可引起癌症患者的恶病质(Johnen H 2007Nat Med.11:1333-40)。许多小组还研究了GDF15在细胞凋亡和增殖中的作用,并且报道了使用不同的细胞培养物和异种移植模型的有争议的结果。关于转基因小鼠的研究显示GDF15防止致癌物或Apc 突变诱导的肠和肺中的瘤形成(Baek SJ 2006,Gastroenterology.131: 1553-60; Cekanova M 2009,Cancer Prev Res 2:450-8)。

[0010] 发明概述

[0011] 本文提供了包含GDF15多肽或GDF15突变体多肽和Fc结构域的融合蛋白。

[0012] 在一个实施方案中,Fc结构域包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:16、22、28、29、33、35、38、48、85、91、106、132、141、148、155、162、169、176、183、192、199、206、213、220、227、233、236、268、275、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301和302。在另一个实施方案中,GDF15多肽或GDF15突变体多肽包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:4、8、12、25、52和55。在另一个实施方案中,融合蛋白还包含多肽接头。在一个实施方案中,多肽接头具有选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:18、30、34、40、58、61、64、69、72、75、78、113、116、119、122、125、128。在一个实施方案中,融合蛋白包含两个或多个Fc结构域。在一个实施方案中,融合蛋白包含两个或多个多肽接头。在一个实施方案中,融合蛋白包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:46、24、27、32、37、20、42、50、54、57、60、63、66、68、71、74、77、82、84、88、93、96、98、100、102、104、108、134、137、139、143、146、150、153、269、272、276、279、157、160、164、167、171、174、178、181、185、188、194、197、201、204、208、211、215、218、222、225、229、232、233、238和240。

[0013] 本文还提供了二聚体,其包含:(i)包含前述融合蛋白之一的第一多肽链,和(ii)包含Fc结构域的第二多肽链。而在另一个实施方案中,构建体还包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:16、22、28、29、33、35、38、48、85、91、106、132、141、148、155、162、169、176、183、192、199、206、213、220、227、233、236、268、275、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301和302。

[0014] 在一个实施方案中,所述第一多肽链和第二多肽链是非共价缔合的。在另一个实施方案中,所述第一多肽链和第二多肽链是共价缔合的。在一个实施方案中,所述第一多肽链和第二多肽链通过其各自Fc结构域之间的二硫键共价缔合。在另一个实施方案中,所述第一多肽链和第二多肽链通过共价和非共价相互作用而缔合。

[0015] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a)包含序列SEQ ID NO:46的两个融合蛋白;(b)包含序列SEQ ID NO:24的两个融合蛋白;或(c)包含序列SEQ ID NO:27的两个融合蛋白。

[0016] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a)包含序列SEQ ID NO:32的两个融合蛋白;或(b)包含序列SEQ ID NO:37的两个融合蛋白;

[0017] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:包含序列SEQ ID NO:20的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:17的第二多肽链。

[0018] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a)包含序列SEQ ID NO:42的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:39的第二多肽链;(b)包含序列SEQ ID NO:50的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链;(c)包含序列SEQ ID NO:54的第一多肽链和包

含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (d) 包含序列SEQ ID NO: 57的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (e) 包含序列SEQ ID NO:60的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (f) 包含序列SEQ ID NO:63的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (g) 包含序列SEQ ID NO:66的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (h) 包含序列SEQ ID NO:68的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (i) 包含序列SEQ ID NO:71的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47 的第二多肽链; (j) 包含序列SEQ ID NO:74的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (k) 包含序列SEQ ID NO:77的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (l) 包含序列SEQ ID NO:80的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链; (m) 包含序列SEQ ID NO:82的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO: 47的第二多肽链; 或 (n) 包含序列SEQ ID NO:84的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:47的第二多肽链。

[0019] 在一个特定实施方案中, 提供了二聚体, 其包含: (a) 包含序列 SEQ ID NO:88的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:86的第二多肽链; (b) 包含序列SEQ ID NO:93的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:90的第二多肽链; (c) 包含序列SEQ ID NO:96的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:90的第二多肽链; (d) 包含序列SEQ ID NO: 98的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:90的第二多肽链; (e) 包含序列SEQ ID NO:100的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:90的第二多肽链; (f) 包含序列SEQ ID NO:102的第一多肽链和包含序列 SEQ ID NO:90的第二多肽链; (g) 包含序列SEQ ID NO:104的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:90的第二多肽链; 或 (h) 包含序列 SEQ ID NO:108的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:105的第二多肽链。

[0020] 在一个特定实施方案中, 提供了二聚体, 其包含: (a) 包含序列 SEQ ID NO:112的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:12的第二多肽链; (b) 各自包含序列SEQ ID NO:112的两个多肽链; (c) 各自包含序列SEQ ID NO:115的两个多肽链; (d) 各自包含序列SEQ ID NO: 118的两个多肽链; (e) 各自包含序列SEQ ID NO:121的两个多肽链; (f) 各自包含序列SEQ ID NO:124的两个多肽链; (g) 各自包含序列 SEQ ID NO:127的两个多肽链; (h) 各自包含序列SEQ ID NO:130 的两个多肽链; 或 (i) 各自包含序列SEQ ID NO:242的两个多肽链。

[0021] 在一个特定实施方案中, 提供了二聚体, 其包含: (a) 包含序列 SEQ ID NO:134的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:131的第二多肽链; (b) 包含序列SEQ ID NO:137的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:131的第二多肽链; (c) 包含序列SEQ ID NO:139的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:131的第二多肽链; (d) 包含序列SEQ ID NO:143的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:140的第二多肽链; (e) 包含序列SEQ ID NO:146的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO: 140的第二多肽链; (f) 包含序列SEQ ID NO:150的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:147的第二多肽链; (g) 包含序列SEQ ID NO: 153的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:147的第二多肽链; (h) 包含序列SEQ ID NO:269的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:267 的第二多肽链; (i) 包含序列SEQ ID NO:272的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO: 267的第二多肽链; (j) 包含序列SEQ ID NO:276的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:274的第二多肽链; 或 (k) 包含序列SEQ ID NO:279的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:274的第二多肽链。

[0022] 在一个特定实施方案中, 提供了二聚体, 其包含: (a) 包含序列 SEQ ID NO:157的

第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:154的第二多肽链；(b) 包含序列SEQ ID NO:160的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:154的第二多肽链；(c) 包含序列SEQ ID NO:164的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:161的第二多肽链；(d) 包含序列SEQ ID NO:167的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:161的第二多肽链。

[0023] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a) 包含序列 SEQ ID NO:171的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:168的第二多肽链;或(b) 包含序列SEQ ID NO:174的第一多肽链和包含序列 SEQ ID NO:168的第二多肽链。

[0024] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a) 包含序列 SEQ ID NO:178的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:175的第二多肽链;(b) 包含序列SEQ ID NO:181的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:175的第二多肽链;(c) 包含序列SEQ ID NO:185的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:182的第二多肽链;(d) 包含序列SEQ ID NO:188的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:182的第二多肽链;(e) 包含序列SEQ ID NO:194的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:191的第二多肽链;(f) 包含序列SEQ ID NO:197的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:191的第二多肽链;(g) 包含序列SEQ ID NO:201的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:198的第二多肽链;或(h) 包含序列SEQ ID NO:204的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:198的第二多肽链。

[0025] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a) 包含序列 SEQ ID NO:208的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:205的第二多肽链;(b) 包含序列SEQ ID NO:211的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:205的第二多肽链;(c) 包含序列SEQ ID NO:215的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:212的第二多肽链;或(d) 包含序列SEQ ID NO:218的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:212的第二多肽链。

[0026] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a) 包含序列 SEQ ID NO:222的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:219的第二多肽链;(b) 包含序列SEQ ID NO:225的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:219的第二多肽链;(c) 包含序列SEQ ID NO:229的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:226的第二多肽链;或(d) 包含序列SEQ ID NO:232的第一多肽链和包含序列SEQ ID NO:226的第二多肽链。

[0027] 在一个特定实施方案中,提供了二聚体,其包含:(a) 各自包含序列SEQ ID NO:235的两个多肽链;(b) 各自包含序列SEQ ID NO:238的两个多肽链;或(c) 各自包含序列SEQ ID NO:240的两个多肽链。

[0028] 在某些实施方案中,提供四聚体,其包含:(i) 包含前述二聚体之一的第一二聚体和(ii) 包含前述二聚体之一的第二二聚体。在某些实施方案中,第一二聚体的第一多肽链与第二二聚体的第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0029] 在一些实施方案中,二聚体不选自包括以下的组:DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15: DhCpmFc (+) 、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15: DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (+) 、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (N3 Q) : DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) -GDF15: DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) -G₄-GDF15: DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) - (G₄S)₂-GDF15: DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) - (G₄Q)₄-GDF15: DhCpmFc (-) 、DhCpmFc (+) (L351C) -G₄- GDF15: DhCpmFc (-) (L351C) 、DhCpmFc (+) (S354C) -G₄-GDF15: Dh CpmFc (-) (Y349C) 、CpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15: CpmFc (+) 、Fc - (G₄S)₈-F c-GS (G₄S)₄-GDF15、Fc - (G₄S)₃-

Fc-GS (G₄S)₄-GDF15和Fc-(G₄S)₅-Fc-G S (G₄S)₄-GDF15。

[0030] 在一些实施方案中,二聚体不选自由以下组成的组:DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15:DhCpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (N3Q) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -G₄- GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄Q)₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) (L351C) -G₄-G DF15:DhCpmFc (-) (L351C) 和DhCpmFc (+) (S354C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)。

[0031] 在一些实施方案中,融合蛋白不选自由以下组成的组: Fc-(G₄S)₈-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15、Fc-(G₄S)₃-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15和 Fc-(G₄S)₅-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15。

[0032] 在一些实施方案中,二聚体不选自由以下组成的组:DhCpmFc (+) (L351C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (L351C) 和DhCpmFc (+) (S354C) -G₄- GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)。

[0033] 在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15:Dh CpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (N3Q) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄Q)₄-GDF 15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) (L351C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (L35 1C)、DhCpmFc (+) (S354C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)、CpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15:CpmFc (+)、Fc-(G₄S)₈-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15、Fc-(G₄S)₃-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15或Fc-(G₄S)₅-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15。

[0034] 在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15:Dh CpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (+)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (N3Q) : DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) - (G₄Q)₄-GDF 15:DhCpmFc (-)、DhCpmFc (+) (L351C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (L35 1C) 或DhCpmFc (+) (S354C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)。

[0035] 在一些实施方案中,融合蛋白不选自由以下组成的组: Fc-(G₄S)₈-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15、Fc-(G₄S)₃-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15和 Fc-(G₄S)₅-Fc-GS (G₄S)₄-GDF15。

[0036] 在一些实施方案中,融合蛋白不选自由以下组成的组:DhCpmFc (+) (L351C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (L351C) 和DhCpmFc (+) (S354C) - G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)。

[0037] 在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15:Dh CpmFc (+)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GD F15:DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (-) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (+)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (H6D) : DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) - (G₄S)₄-GDF15 (N3Q) : DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) -GDF15: DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) - (G₄Q)₄-GDF15: DhCpmFc (-)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+) (L351C) - G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (L351C)。在一些实施方案中,二聚体不是DhCpmFc (+)

(S354C) -G₄-GDF15:DhCpmFc (-) (Y349C)。在一些实施方案中,二聚体不是CpmFc (-) - (G₄S)₄ -GDF15:CpmFc (+)。在一些实施方案中,二聚体不是Fc - (G₄S)₈ -Fc-GS (G₄S)₄ -GDF15。在一些实施方案中,二聚体不是Fc - (G₄S)₃ -Fc-GS (G₄S)₄ -GDF15。在一些实施方案中,二聚体不是Fc - (G₄S)₅ -Fc-GS (G₄S)₄ -GDF15。

[0038] 本文还提供了包含GDF15多肽或GDF15突变体多肽和人血清白蛋白 (HSA) 多肽的融合蛋白。在一个进一步的实施方案中,HSA多肽序列SEQ ID NO:110。在另一个实施方案中,GDF15多肽或GDF15 突变体多肽包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:4、8、12、25、52和55。在另一个实施方案中,融合蛋白还包含使GDF15多肽或GDF15突变体多肽连接至HSA多肽的多肽接头。在一个实施方案中,多肽接头具有选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:18、30、34、40、58、61、64、69、72、75、78、113、116、119、122、125、128。在一个实施方案中,融合蛋白包含两个或多个HSA多肽。在一个实施方案中,融合蛋白包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:115、118、121、124、127和130。

[0039] 本文还提供了二聚体,其包含:(i) 包含含有第一GDF15区和第一HSA多肽的融合蛋白的第一多肽链,和(ii) 包含第二HSA多肽的第二多肽链。在一些实施方案中,第二多肽链还包含第二GDF15区。在一些实施方案中,二聚体是异二聚体(即,第一多肽链和第二多肽链具有不同的序列)。在一些实施方案中,二聚体是同二聚体(即,第一多肽链和第二多肽链具有相同的序列)。在一些实施方案中,第一多肽链包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:115、118、121、124、127和130。在一些实施方案中,第二多肽链包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:115、118、121、124、127和130。在一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链是非共价缔合的。在另一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链是共价缔合的。在一个实施方案中,第二多肽链包含第二GDF15区,并且第一多肽链和第二多肽链通过其各自GDF15区之间的二硫键共价缔合。在另一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链同时通过共价和非共价相互作用缔合。

[0040] 本文还提供了二聚体,其包含:(i) 包含含有第一GDF15区和HSA 多肽的融合蛋白的第一多肽链,和(ii) 包含第二GDF15区的第二多肽链。在一些实施方案中,第一多肽链包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:115、118、121、124、127和130。在一些实施方案中,第二多肽链包含选自由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:4、8、12、25、52和55。在一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链是非共价缔合的。在另一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链是共价缔合的。在另一个实施方案中,第一多肽链和第二多肽链同时通过共价和非共价相互作用缔合。

[0041] 附图简述

[0042] 图1是描绘包含两个Dh结Fc - (G₄S)₄ -GDF15:Dh孔Fc异二聚体的二聚体的结-孔构建体的图解。

[0043] 图2是描绘包含两个Dh单Fc - (G₄S)₄ -GDF15融合蛋白的二聚体的Dh单Fc构建体的图解。

[0044] 图3是描绘包含两个GGGFc - (G₄S)₄ -Fc-S (G₄S)₄ -GDF15融合蛋白的二聚体的半Fc构建体的图解。

[0045] 图4是描绘包含两个DhCpmFc (-) - (G₄S)₂ -GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的带电荷对(delHinge) 构建体的图解。

[0046] 图5是描绘包含两个DhCpmFc (-) (L351C) - (G₄S)₂-GDF15: DhCpmFc (-) (L351C) 异二聚体的二聚体的带电荷对(delHinge) 半胱氨酸夹构建体的图解。

[0047] 图6是描绘包含两个HSA- (G₄S)₄-GDF15融合蛋白的二聚体的 HSA构建体的图解。

[0048] 图7是显示使用Dh结Fc-G₄-GDF15:Dh孔Fc异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重(BW))的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0049] 图8是显示使用Fc- (G₄S)₄-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0050] 图9是显示使用Fc- (G₄S)₄-GDF15(H6D)融合蛋白的二聚体对 ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0051] 图10是显示使用Fc- (G₄S)₄-Fc- (G₄S)₄-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0052] 图11是显示使用DhFc- (G₄S)₅-DhFc- (G₄S)₄-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0053] 图12是显示使用DhCpmFc (+) - (1K) -GDF15:DhCpmFc (-) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0054] 图13是显示使用DhCpmFc (-) -GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0055] 图14是显示使用DhCpmFc (-) -GDF15(N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0056] 图15是显示使用DhCpmFc (-) -GDF15(Nde13) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0057] 图16是显示使用DhCpmFc (-) -G₄-GDF15(N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0058] 图17是显示使用DhCpmFc (-) -G₄S-GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0059] 图18是显示使用DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为函数剂量(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0060] 图19是显示使用DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15(N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0061] 图20是显示使用DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15(N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0062] 图21是显示使用DhCpmFc (-) -G₄P-GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0063] 图22是显示使用DhCpmFc (-) - (G₄P)₂-GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0064] 图23是显示使用DhCpmFc (-) -G₄Q-GDF15:DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体对ob/ob

小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0065] 图24是显示使用DhCpmFc(-) - $(G_4Q)_2$ -GDF15(N3D) : DhCpmFc(+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0066] 图25是显示使用DhCpmFc(-) - $(G_4Q)_2$ -GDF15(Nde13) : DhCpmFc(+) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0067] 图26是显示使用DhCpmFc(+) (Y349C) -GDF15(N3D) : DhCpmFc(-) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0068] 图27是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) -GDF15 : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0069] 图28是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) -GDF15(N3D) : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0070] 图29是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) -GDF15(Nde13) : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0071] 图30是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) - G_4 -GDF15(N3D) : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0072] 图31是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) - $(G_4S)_2$ -GDF15(N3D) : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0073] 图32是显示使用DhCpmFc(-) (Y349C) - $(G_4Q)_2$ -GDF15(N3D) : DhCpmFc(+) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0074] 图33是显示使用DhCpmFc(-) (L351C) - $(G_4S)_2$ -GDF15 : DhCpmFc(+) (L351C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0075] 图34是显示使用HSA-GSAAQAAQQGS-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0076] 图35是显示使用HSA-GSPAPAPGS-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0077] 图36是显示使用HSA-GS(AAQAQQ)₂GS-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0078] 图37是显示使用HSA-GS(PAPAP)₂GS-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(\log [g构建体/kg BW])的曲线图。

[0079] 图38是显示使用HSA-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0080] 图39是显示使用HSA-GGNAEAAAKEAAAKEAAKAGG-GDF 15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0081] 图40是显示使用HSA-(G₄S)₆-GDF15融合蛋白的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0082] 图41是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)-GDF15(Nde13): DhCpmFc(+)(N297G)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0083] 图42是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)-GDF15(N3D): DhCpmFc(+)(N297G)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0084] 图43是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)(Y349C)-GDF15(Nde13): DhCpmFc(+)(N297G)(S354C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0085] 图44是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)(Y349C)-GDF15(N3D): DhCpmFc(+)(N297G)(S354C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0086] 图45是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)(L351C)-GDF15(Nde13): DhCpmFc(+)(N297G)(L351C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0087] 图46是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)(L351C)-GDF15(N3D): DhCpmFc(+)(N297G)(L351C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0088] 图47是显示使用DhCpmFc(-)(N297G)(A287C)-GDF15(Nde13): DhCpmFc(+)(N297G)(L306C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0089] 图48是显示使用CpmFc(-)(N297G)-GDF15(Nde13): CpmFc(+)(N297G)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0090] 图49是显示使用Dh3CpmFc(-)-GDF15(Nde13): Dh3CpmFc(N297G)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0091] 图50是显示使用Dh3CpmFc(-)-GDF15(N3D): Dh3CpmFc(+)(N297G)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0092] 图51是显示使用Dh3CpmFc(-)(Y349C)-GDF15(Nde13): Dh3CpmFc(+)(N297G)(S354C)异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0093] 图52是显示使用Dh3CpmFc(-) (Y349C) -GDF15 (N3D) : Dh3CpmFc(-) (N297G) (S354C) 异二聚体的二聚体对ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0094] 图53是显示使用Dh单Fc (N297G) -GDF15融合蛋白的二聚体对 ob/ob小鼠的食物摄入(g食物/g体重)的影响作为剂量函数(log[g构建体/kg BW])的曲线图。

[0095] 图54是有关媒介物,即0.1nmol、1nmol和10nmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,以及0.1nmol、1nmol和10nmol Dh3ComFc(-) -GDF15 (Nde13) 异二聚体的二聚体的体重作为时间(第一次注射后天数)函数的曲线图。

[0096] 图55是在用以下治疗的第2周葡萄糖耐量测试的曲线下面积(A UC) 条形图:(a) 媒介物,(b) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(c) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N 3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(d) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(e) 10mmol Dh3Cp mFc(-) -GDF15 (Nde13) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(g) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,或(g) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde1) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体。

[0097] 图56是在用以下治疗的第3周胰岛素(ng/mL) (饲喂) 条形图:(a) 媒介物,(b) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(c) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(d) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3C pmFc(+) 异二聚体的二聚体,(e) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde1 3) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(g) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF 15 (Nde13) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,或(g) 0.1mmol Dh3Cp mFc(-) -GDF15 (Nde1) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体。

[0098] 图57是在用以下治疗的第3周甘油三酯(mg/mL) (饲喂) 条形图:(a) 媒介物,(b) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(c) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(d) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(e) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde13) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(g) 1 mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,或(g) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde1) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体。

[0099] 图58是在用以下治疗的第3周胆固醇(mg/mL) (饲喂) 条形图:(a) 媒介物,(b) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(c) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(d) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :Dh3C pmFc(+) 异二聚体的二聚体,(e) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (Nde1 3) : Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(g) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF 15 (Nde13) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,或(g) 0.1mmol Dh3Cp mFc(-) -GDF15 (Nde1) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体。

[0100] 图59是在用以下治疗的第5周葡萄糖耐量测试的曲线下面积(A UC) 条形图:(a) 媒介物,(b) 10mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3D) :D h3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(c) 1mmol Dh3CpmFc(-) -GDF15 (N3 D) :Dh3CpmFc(+) 异二聚体的二聚体,(d) 0.1mmol Dh3CpmFc(-) -G

DF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体, (e) 10mmol Dh3Cpm Fc (-) -GDF15 (Nde13) : Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体, (g) 1mmol Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体,或 (g) 0.1mmol Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde1) :Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体。

[0101] 图60是显示对于以下关于Fc γ RI、Fc γ RIIIA和Fc γ RIIA的SPR 结合 (RU) 的条形图: (a) DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 的二聚体; (b) DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (S354C) 的二聚体; (c) Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) 的二聚体; (d) Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) -Dh3CpmFc (+) (S354C) 的二聚体; (e) Dh3CpmF c (-) -GDF15 (N3D) 的二聚体;和 (f) Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) (S354C) 的二聚体 (就每个受体而言从左到右)。

[0102] 图61是显示关于以下的DSC第一 T_m (°C) 的条形图: (a) (对于标题为“N3D”的成对条), DhCpmFc (-) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) 的二聚体和Dh3CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) 的二聚体; (b) (对于标题为“Nde13”的成对条), DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 的二聚体和Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 的二聚体; (c) (对于标题为“N3D+CC”的成对条), DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3 D) :DhCpmFc (+) (S354C) 的二聚体和Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N 3D) :DhCpmFc (+) (S354C) 的二聚体;和 (d) (对于标题为“Nde13+CC”的成对条), DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (S354 C) 的二聚体和Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (S3 54C) 的二聚体。

[0103] 发明详述

[0104] 本公开提供了包含GDF15多肽或GDF15突变体多肽的融合蛋白以及包含这种融合蛋白的构建体。还提供了所公开的分子的产生以及例如在治疗代谢疾患例如2型糖尿病、升高的葡萄糖水平、升高的胰岛素水平、血脂障碍或肥胖症中的用途。GDF15多肽、GDF15突变体多肽和包含GDF15多肽和GDF15突变体多肽的某些多肽构建体描述于2012年4月5日提交的共同拥有的PCT/US2012/032415以及 2013年1月28日提交的PCT/2013/023465,两者均出于任何目的明确通过引用并入本文。

[0105] 本文,包括在实施例中使用的重组多肽和核酸方法,通常是 Sambrook等, Molecular Cloning:A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) 或Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel等编,Green Publishers Inc.和Wiley and Sons 1994) 中提出的那些。

[0106] I. 一般定义

[0107] 按照惯例,除非另外明确指出,否则如本文所使用,“一个”和“一种”意指“一个(种)或多个(种)”。

[0108] 如本文所使用,术语“氨基酸”和“残基”可互换使用,并且,当用于肽或多肽的情形中时,是指天然存在的和合成的氨基酸,以及氨基酸类似物、氨基酸模拟物以及在化学上与天然存在的氨基酸相似的非天然存在的氨基酸。

[0109] 术语“天然存在的氨基酸”和“天然编码的氨基酸”可互换使用并且是指由遗传密码编码的氨基酸,以及合成后被修饰的由遗传密码编码的那些氨基酸,例如,羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。

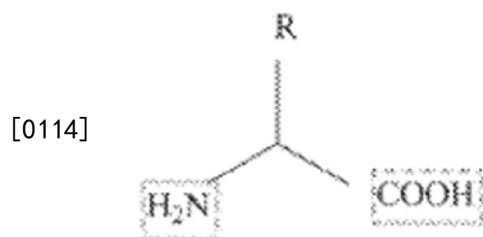
[0110] “氨基酸类似物”是与天然存在的氨基酸具有相同的基本化学结构(即与氢、羧基、

氨基和R基团结合的 α 碳)的化合物,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫。所述类似物可具有修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽骨架,但将保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。

[0111] “氨基酸模拟物”是具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构,但以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化合物。实例包括酰胺、 β -、 γ -、 δ -亚氨酸(如哌啶-4-羧酸)等的甲基丙烯酰基或丙烯酰基衍生物。

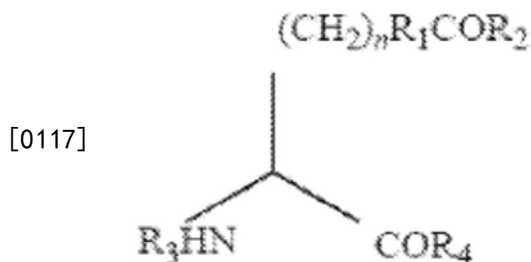
[0112] 术语“非天然存在的氨基酸”和“非天然编码的氨基酸”可互换使用并且是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构,但未被翻译复合物并入正在生长的多肽链中的化合物。“非天然存在的氨基酸”还包括但不限于通过天然编码的氨基酸(包括但不限于20个常用氨基酸)的修饰(例如,翻译后修饰)产生的,但其自身不被翻译复合物天然地并入正在生长的多肽链中的氨基酸。可被插入多肽序列或取代多肽序列中的野生型残基的非天然存在的氨基酸的实例的非限制性列表包括 β -氨基酸、高氨基酸、环状氨基酸和具有衍生侧链的氨基酸。实例包括(呈L-型或D-型;如括号中缩写的):瓜氨酸(Cit)、高瓜氨酸(hCit)、Na-甲基瓜氨酸(NMeCit)、Na-甲基高瓜氨酸(Na-MeHoCit)、鸟氨酸(Orn)、Na-甲基鸟氨酸(Na-MeOrn或NMeOrn)、肌氨酸(Sar)、高赖氨酸(hLys或hK)、高精氨酸(hArg或hR)、高谷氨酰胺(hQ)、Na-甲基精氨酸(NMeR)、Na-甲基亮氨酸(Na-MeL或NMeL)、N-甲基高赖氨酸(NMeHoK)、Na-甲基谷氨酰胺(NMeQ)、正亮氨酸(Nle)、正缬氨酸(Nva)、1,2,3,4-四氢异喹啉(Tic)、八氢吲哚-2-羧酸(Oic)、3-(1-萘基)丙氨酸(1-Nal)、3-(2-萘基)丙氨酸(2-Nal)、1,2,3,4-四氢异喹啉(Tic)、2-苄基甘氨酸(IgI)、对-吲哚苯丙氨酸(pI-Phe)、对-氨基苯丙氨酸(4Amp或4-氨基-Phe)、4-胍基苯丙氨酸(Guf)、甘氨酸赖氨酸(缩写“K(N ϵ -甘氨酸)”或“K(甘氨酸)”或“K(gly)”)、硝基苯丙氨酸(硝基phe)、氨基苯丙氨酸(氨基phe或氨基-Phe)、苄基苯丙氨酸(苄基phe)、 γ -羧基谷氨酸(γ -羧基glu)、羧脯氨酸(羟基pro)、对羧基-苯丙氨酸(Cpa)、 α -氨基己二酸(Aad)、Na-甲基缬氨酸(NMeVal)、N- α -甲基亮氨酸(NMeLeu)、Na-甲基正亮氨酸(NMeNle)、环戊基甘氨酸(Cpg)、环己基甘氨酸(Chg)、乙酰精氨酸(乙酰arg)、 α 、 β -二氨基丙酸(Dpr)、 α 、 γ -二氨基丁酸(Dab)、二氨基丙酸(Dap)、环己基丙氨酸(Cha)、4-甲基-苯丙氨酸(MePhe)、 β 、 β -二苯基-丙氨酸(BiPhA)、氨基丁酸(Abu)、4-苯基-苯丙氨酸(或二苯基丙氨酸;4Bip)、 α -氨基-异丁酸(Aib)、 β -丙氨酸、 β -氨基丙氨酸、哌啶酸、氨基己酸、氨基庚酸、氨基庚二酸、锁链素、二氨基庚二酸、N-乙基甘氨酸、N-乙基天冬酰胺、羟赖氨酸、别-羟赖氨酸、异锁链素、别-异亮氨酸、N-甲基甘氨酸、N-甲基异亮氨酸、N-甲基缬氨酸、4-羟脯氨酸(Hyp)、 γ -羧基谷氨酸、 ϵ -N,N,N-三甲基赖氨酸、 ϵ -N-乙酰赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰丝氨酸、N-甲酰甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟赖氨酸、 ω -甲基精氨酸、4-氨基-0-邻苯二甲酸(4APA)、N-乙酰葡萄糖胺基-L-丝氨酸、N-乙酰葡萄糖基胺基-L-苏氨酸、O-磷酸酪氨酸以及其它类似氨基酸,以及明确列出的那些氨基酸中的任一种的衍生形式。

[0113] “非天然存在的氨基酸”的定义中还包括的是包含以下结构的任何氨基酸:



[0115] 其中R基团为除了在二十种天然氨基酸中使用的取代基之外的任何取代基。

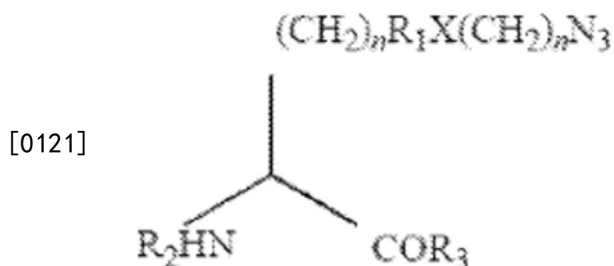
[0116] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有以下结构:



[0118] 其中n为0-10;R₁为烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基;R₂为H、烷基、芳基、取代的烷基以及取代的芳基;并且R₃为H、氨基酸、多肽或氨基末端修饰基;并且R₄为H、氨基酸、多肽或羧基末端修饰基。

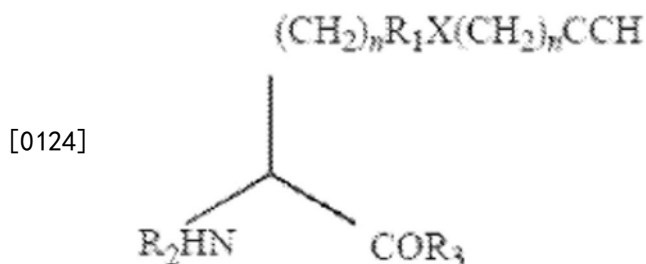
[0119] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含氨基氧基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含酰肼基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含胍基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸残基包含氨基脒基。

[0120] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸残基包含叠氮基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有以下结构:



[0122] 其中n为0-10;R₁为烷基、芳基、取代的烷基、取代的芳基或不存在;X为O、N、S或不存在;m为0-10;R₂为H、氨基酸、多肽或氨基末端修饰基;并且R₃为H、氨基酸、多肽或羧基末端修饰基。

[0123] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含炔基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有以下结构:



[0125] 其中n为0-10;R₁为烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基;X为O、N、S或不存在;m为0-10;R₂为H、氨基酸、多肽或氨基末端修饰基;并且R₃为H、氨基酸、多肽或羧基末端修饰基。

[0126] 术语“取代”意指分子或基团上的氢原子被称为取代基的基团或原子代替。典型的取代基包括:卤素、C₁₋₈烷基、羟基、C₁₋₈烷氧基、-NR^xR^x、硝基、氰基、卤代或全卤代C₁₋₈烷基、

C_{2-8} 烯基、 C_{2-8} 炔基、 $-SR^x$ 、 $-S(=O)_2R^x$ 、 $-C(=O)OR^x$ 、 $-C(=O)R^x$ ，其中每个 R^x 独立地为氢或 C_{1-8} 烷基。应注意，当取代基为 $-NR^xR^x$ 时， R^x 基团可与氮原子连接在一起形成环。

[0127] 术语“烷基”意指直链或支链烃。烷基的代表性实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、戊基和己基。典型的烷基为具有1至8个碳原子的烷基，其基团通常表示为 C_{1-8} 烷基。

[0128] 术语“烷氧基”意指键合至氧原子的烷基。烷氧基的代表性实例包括甲氧基、乙氧基、叔丁氧基、丙氧基以及异丁氧基。常见的烷氧基为 C_{1-8} 烷氧基。

[0129] 术语“卤素”或“卤代”意指氯、氟、溴或碘。

[0130] 术语“烯基”意指具有一个或多个碳-碳双键的支链或直链烃。烯基的代表性实例包括乙烯基、丙烯基、烯丙基、丁烯基以及4-甲基丁烯基。常见的烯基为 C_{2-8} 烯基。

[0131] 术语“炔基”意指具有一个或多个碳-碳三键的支链或直链烃。炔基的代表性实例包括乙炔基、丙炔基(炔丙基)和丁炔基。常见的炔基为 C_{2-8} 炔基。

[0132] 术语“环烷基”意指环状非芳烃。环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。环烷基可含有一个或多个双键。含有双键的环烷基的实例包括环戊烯基、环己烯基、环己二烯基和环丁二烯基。常见的环烷基为 C_{3-8} 环烷基。

[0133] 术语“全氟烷基”意指其中全部氢原子已被氟原子代替的烷基。常见的全氟烷基为 C_{1-8} 全氟烷基。常见的全氟烷基的实例为 $-CF_3$ 。

[0134] 术语“酰基”意指通过去除羟基($-OH$)而衍生自有机酸的基团。例如，酰基 $CH_3C(=O)-$ 是通过从 $CH_3C(=O)OH$ 中去除羟基形成的。

[0135] 术语“芳基”意指环状芳烃。芳基的实例包括苯基和萘基。常见的芳基为六元至十三元环。

[0136] 如本文所使用的术语“杂原子”意指氧原子、氮原子或硫原子。

[0137] 术语“杂芳基”意指其中芳基的一个或多个碳原子已被杂原子代替的环状芳烃。如果杂芳基含有不止一个杂原子，那么杂原子可为相同的或不同的。杂芳基的实例包括吡啶基、嘧啶基、咪唑基、噻吩基、呋喃基、吡嗪基、吡咯基、吡啶基、三唑基、哒嗪基、吡唑基、嘌呤基、喹啉基、异喹啉基、喹啉基、萘啶基、喹啉基、异噻唑基和苯并[b]噻吩基。常见的杂芳基为含有1至4个杂原子的五元至十三元环。为含有1至3个杂原子的五元和六元环的杂芳基尤为常见。

[0138] 术语“杂环烷基”意指其中一个或多个碳原子已被杂原子代替的环烷基。如果杂环烷基含有不止一个杂原子，那么杂原子可为相同的或不同的。杂环烷基的实例包括四氢呋喃基、吗啉基、哌嗪基、哌啶基和吡咯烷基。杂环烷基也可能具有一个或多个双键，但并非芳香族。含有双键的杂环烷基的实例包括二氢呋喃。常见的杂环烷基是含有1至4个杂原子的三元至十元环。为含有1至2个杂原子的五元和六元环的杂环烷基尤为常见。

[0139] 还应注意，环状基团，即，芳基、杂芳基、环烷基和杂环烷基，可包含不止一个环。例如，萘基是稠合的双环环系统。还预期的是，本发明包括具有桥接原子的环基团，或具有螺旋式取向的环基团。

[0140] 任选具有一个或两个杂原子的五元至六元芳族环的代表性实例为苯基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基和吡嗪基。

[0141] 任选具有1至3个杂原子的部分饱和、完全饱和或完全不饱和的五元至八元环的代表性实例为环戊基、环己基、环庚基、环辛基和苯基。其它示例性五元环为呋喃基、噻吩基、吡咯基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、吡咯烷基、1,3-二氧戊环基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、2H-咪唑基、2-咪唑啉基、咪唑烷基、吡唑基、2-吡唑啉基、吡唑烷基、异噁唑基、异噻唑基、1,2-二硫醇基、1,3-二硫醇基、3H-1,2-噁硫醇基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,3,4-噻二唑基、3H-1,2,3-二噁唑基、1,2,4-二噁唑基、1,3,2-二噁唑基、1,3,4-二噁唑基、5H-1,2,5-噁噻唑基和1,3-噁硫醇基。

[0142] 其他示例性六元环为2H-吡喃基、4H-吡喃基、吡啶基、哌啶基、1,2-二噁英基(dioxinyl)、1,3-二噁英基、1,4-二噁烷基、吗啉基、1,4-二噻烷基、硫代吗啉基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、哌嗪基、1,3,5-三嗪基、1,2,4-三嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三噻烷基、4H-1,2-噁嗪基、2H-1,3-噁嗪基、6H-1,3-噁嗪基、6H-1,2-噁嗪基、1,4-噁嗪基、2H-1,2-噁嗪基、4H-1,4-噁嗪基、1,2,5-噁噻嗪基、1,4-噁嗪基、邻异噁嗪基、对异噁嗪基、1,2,5-噁噻嗪基、1,2,6-(3噁噻嗪基和1,4,2-噁二嗪基)。

[0143] 其他示例性七元环为氮杂卓基、氧杂卓基、硫杂卓基和1,2,4-三氮杂卓基。

[0144] 其他示例性八元环为环辛基、环辛烯基和环辛二烯基。

[0145] 由两个稠合的部分饱和、完全饱和或完全不饱和的五元和/或六元环组成的任选具有1至4个杂原子的示例性双环为：吡啶基、吡啶基、异吡啶基、二氢吡啶基、环戊(b)吡啶基、吡喃并(3,4-b)吡咯基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并(b)噻吩基、苯并(c)噻吩基、1H-吡唑基、吡唑基、苯并噁唑基、氮茛碱基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、嘌呤基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹啉基、喹啉基、1,8-萘啶基、蝶啶基、茛基、异茛基、萘基、四氢萘基、十氢萘基、2H-1-苯并吡喃基、吡哆并(3,4-b)吡啶基、吡哆并(3,2-b)吡啶基、吡哆并(4,3-b)-吡啶基、2H-1,3-苯并噁嗪基、2H-1,4-苯并噁嗪基、1H-2,3-苯并噁嗪基、4H-3,1-苯并噁嗪基、2H-1,2-苯并噁嗪基和4H-1,4-苯并噁嗪基。

[0146] 环状基团可以不止一种方式键合至另一基团。如果没有指定特定的成键排列，那么预期所有可能的排列。例如，术语“吡啶基”包括2-吡啶基、3-吡啶基或4-吡啶基，并且术语“噻吩基”包括2-噻吩基或3-噻吩基。

[0147] 术语“分离的核酸分子”是指从5'至3'末端阅读的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸碱基的单链或双链聚合物(例如，本文提供的GDF15核酸序列)或其类似物，其已与至少约50%的当从来源细胞分离总核酸时与核酸分子一起被天然发现的多肽、肽、脂质、糖类、多核苷酸或其他材料分离。优选地，分离的核酸分子大体上不含任何其他污染性核酸分子或在核酸的天然环境中发现的可干扰其在多肽产生中的用途或其治疗性、诊断性、预防性或研究用途的其他分子。

[0148] 术语“分离的多肽”是指已与至少约50%的当从来源细胞分离时与多肽一起被天然发现的多肽、肽、脂质、糖类、多核苷酸或其他材料分离的多肽(例如，本文提供的GDF15多肽或GDF15突变体多肽)。优选地，分离的多肽大体上不含任何其他污染性多肽或在其天然环境中发现的可干扰其治疗性、诊断性、预防性或研究用途的其他污染物。

[0149] 术语“编码”是指编码一种或多种氨基酸的多核苷酸序列。所述术语不需要起始或终止密码子。氨基酸序列可在由多核苷酸序列提供的不同阅读框的任一个中编码。

[0150] 术语“相同”和百分比“同一性”，在两种或更多种核酸或多肽序列的情形中是指两个或更多个序列或子序列是相同的。“同一性百分比”意指所比较的分子中的氨基酸或核苷酸之间相同残基的百分比，并且基于正在比较的分子中最小分子的大小来计算。对于这些计算，比对中的空位（如果有的话）可通过特定的数学模型或计算机程序（即，“算法”）来解决。可用于计算所比对的核酸或多肽的同一性的方法包括Computational Molecular Biology (Lesk, A.M. 编), (1988) New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects (Smith, D.W. 编), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I (Griffin, A.M., 和 Griffin, H.G. 编), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G. (1987) Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer (Gribskov, M. 和 Devereux, J. 编), 1991, New York: M. Stockton Press; 和 Carillo 等 (1988) SIAM J. Applied Math. 48:1073 中描述的那些。

[0151] 在计算同一性百分比时，以给出序列之间最大匹配的方式比对正在比较的序列。用于测定同一性百分比的计算机程序是GCG程序包，其包括GAP (Devereux 等 (1984) Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)。计算机算法GAP用于比对有待测定序列同一性百分比的两个多肽或多核苷酸。将序列进行比对以获得其各自的氨基酸或核苷酸的最佳匹配（如通过算法所测定的“匹配跨度”）。空位开放罚分（其被计算为平均对角线值的3倍，其中“平均对角线值”是所使用的比较矩阵的对角线值的平均值；“对角线值”是通过特定的比较矩阵分配给每个绝佳的氨基酸匹配的分值或数值）和空位扩展罚分（其通常是空位开放罚分的1/10）以及比较矩阵（如PAM250或BLOSUM62）与算法一起结合使用。在某些实施方案中，算法还使用标准比较矩阵（对于PAM250比较矩阵，参见Dayhoff等，(1978), Atlas of Protein Sequence and Structure 5: 345 - 352；对于BLOSUM62比较矩阵，参见Henikoff等，(1992), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919）。

[0152] 用于使用GAP程序测定多肽或核苷酸序列的同一性百分比的推荐参数如下：

[0153] 算法: Needleman 等, 1970, J. Mol. Biol. 48:443-13;

[0154] 比较矩阵: BLOSUM62, 来自Henikoff等, 1992, 同上;

[0155] 空位罚分: 12 (但无末端空位罚分)

[0156] 空位长度罚分: 4

[0157] 类似性的阈值: 0

[0158] 用于比对两个氨基酸序列的某些比对方案可产生两个序列的仅较短区域匹配，并且这个小比对区域可具有极高序列同一性，即使两个全长序列之间不存在显著关系。因此，如果希望产生跨越目标多肽的至少50个连续氨基酸的比对，那么可调整选择的比对方法（例如，GAP程序）。

[0159] 术语“GDF15多肽”意指在哺乳动物（包括但不限于人、兔、猴（例如猕猴）、狗、大鼠小鼠或猪）中表达的天然存在的或“野生型”GDF15。一方面，GDF15多肽指任何全长GDF15多肽，例如，SEQ ID NO: 4，其由308个氨基酸残基组成并且由核苷酸序列SEQ ID NO: 3编码；包含多肽的活性和前结构域的任何形式，例如SEQ ID NO: 8，其由279个氨基酸残基组成并且由核苷酸序列SEQ ID NO: 7编码，并且其中全长GDF15多肽的氨基末端上的29个氨基酸残基

(即,其构成信号肽)已去除;以及包含已从其去除前结构域和信号序列的活性结构域的GDF15的任何形式,例如SEQ ID NO:12,其由112个氨基酸残基组成并且由核苷酸序列SEQ ID NO:11编码,其中信号序列和前结构域已去除。GDF15多肽可以但不一定包含氨基末端甲硫氨酸,其可通过工程改造或作为细菌表达过程的结果引入。

[0160] 术语“GDF15突变体多肽”是指已被修饰的GDF15多肽(例如,SEQ ID NO:4、8或12)。所述修饰包括但不限于一个或多个氨基酸取代,包括用非天然存在的氨基酸、非天然存在的氨基酸类似物和氨基酸模拟物的取代、添加或缺失。一方面,术语“GDF15突变体多肽”是指其中在天然存在的GDF15多肽的给定位置处常见的至少一个残基缺失或由在天然存在的GDF15序列的所述位置处不常见的残基代替的GDF15多肽。在一些情况下,将希望用在所述位置处不常见的多于一个残基代替在天然存在的GDF15多肽序列的给定位置处常见的单个残基;在其他情况下,可能希望保持天然存在的GDF15多肽的序列并且在蛋白质的给定位置处插入一个或多个残基;在其他情况下,可能希望完全缺失给定残基;所有这些构建体被术语“GDF15突变体多肽”涵盖。

[0161] 在各个实施方案中,GDF15突变体多肽包含与天然存在的 GDF15多肽(例如,SEQ ID NO:4、8或12)具有至少约85%同一性的氨基酸序列。在其他实施方案中,GDF15突变体多肽包含与天然存在的GDF15多肽氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:4、8或12)具有至少约90%或约95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。所述GDF15突变体多肽优选但不一定具有天然存在的GDF15多肽的至少一种活性,如降低血糖、胰岛素、甘油三酯或胆固醇水平的能力;减轻体重的能力;提高葡萄糖耐量、脂质耐量或胰岛素敏感性的能力;或降低尿糖和蛋白质排泄的能力。

[0162] 术语“GDF15区”涵盖GDF15多肽和GDF15突变体多肽以及如上定义的序列。

[0163] GDF15多肽或GDF15突变体多肽优选具有生物活性。在一些情况下,GDF15多肽或GDF15突变体多肽用于治疗或缓解来自或衍生自与所述受试者不同物种的受试者的代谢疾患。在一些情况下,GDF15多肽或GDF15突变体多肽用于治疗或缓解来自或衍生自与所述受试者相同物种的受试者的代谢疾患。

[0164] 术语“天然Fc”指单体或多聚体形式的包含由消化完整抗体产生的非抗原结合片段的序列的分子或序列。天然Fc的原始免疫球蛋白来源优选是人类来源的,并且可以是任何免疫球蛋白,但是IgG1和IgG2是优选的。天然Fc由单体多肽构成,其可以通过共价(即,二硫键)和非共价缔合连接成二聚体或多聚体形式。天然Fc分子的单体亚基之间的分子间二硫键数目范围从1至4,这取决于类别(例如IgG、IgA、IgE)或亚类(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgA1、IgA2)。天然Fc的一个实例是通过木瓜蛋白酶消化IgG而得到的二硫键键合的二聚体(参见Ellison等(1982),Nucleic Acids Res.10:4071-9)。如本文使用的术语“天然Fc”属于单体、二聚体和多聚体形式。

[0165] 术语“Fc变体”指从天然Fc修饰的分子或序列。此类修饰包括但不限于一个或多个氨基酸取代,包括用非天然存在的氨基酸、非天然存在的氨基酸类似物和氨基酸模拟物的取代、缺失或添加。因此,术语“Fc变体”包括从非人天然Fc人源化的分子或序列。而且,天然Fc包括可以去除的位点,因为这些位点提供本发明融合分子不需要的结构特征或生物活性。因此,术语“Fc变体”包括缺少影响或参与以下的一个或多个天然Fc位点或残基的分子或序列:(1)二硫键形成,(2)与选定宿主细胞的不相容性,(3)在选定宿主细胞中表达后的

N末端异质性, (4) 糖基化, (5) 与补体的相互作用, (6) 与不同于拯救受体的 Fc受体结合, 或 (7) 抗体依赖性细胞的细胞毒性 (ADCC)。下文进一步详细描述了Fc变体。在各个实施方案中, Fc变体包含与天然Fc具有至少约85%同一性的氨基酸序列。在其他实施方案中, Fc变体包含与天然Fc具有至少约90%或约95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0166] 术语“Fc结构域”涵盖如上定义的自然Fc和Fc变体分子和序列。与Fc变体和天然Fc一样, 术语“Fc结构域”包括单体或多聚体形式的分子。

[0167] 应用于Fc结构域或包含Fc结构域的分子的术语“多聚体”指具有共价、非共价或同时通过共价和非共价相互作用缔合的两个或多个多肽链的分子。IgG分子通常形成二聚体; IgM, 五聚体; IgD, 二聚体; 和IgA, 单体、二聚体、三聚体或四聚体。可以通过开发Fc的天然Ig来源的序列和得到的活性或者通过衍生此类天然Fc来形成多聚体。

[0168] 应用于Fc结构域或包含Fc结构域的分子的术语“二聚体”指具有共价、非共价或同时通过共价和非共价相互作用缔合的两个多肽链的分子。

[0169] 本文术语“铰链”或“铰链区”包括柔性多肽, 其包含抗体的第一和第二恒定结构域之间的氨基酸。本文所指的“铰链区”是长度为6-62个氨基酸的序列区, 仅存在于IgA、IgD和IgG, 其涵盖桥接两个重链的半胱氨酸残基。

[0170] “多肽接头”指短的多肽, 长度一般从1至30个氨基酸, 其通常通过肽键将两个多肽共价连接在一起。

[0171] 如本文使用的, 术语HSA多肽涵盖天然存在的“野生型”人血清白蛋白。该术语还包括各种生物活性片段和变体、融合蛋白以及野生型HSA蛋白的修饰形式。此类生物活性片段或变体、融合蛋白以及野生型HSA蛋白的修饰形式具有至少一部分与野生型HAS蛋白大致序列同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中, 此类生物活性片段或变体、融合蛋白以及野生型HSA蛋白的修饰形式具有与野生型HSA具有至少约85%同一性的氨基酸序列。在其他实施方案中, 此类生物活性片段或变体、融合蛋白以及野生型HSA蛋白的修饰形式具有与野生型HAS具有至少约90%或约95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0172] II. 包含GDF15多肽或GDF15突变体多肽的Fc融合体以及多核苷酸

[0173] 本文提供了一系列包含GDF15多肽或GDF15突变体多肽的Fc融合蛋白。在一些实施方案中, 融合蛋白包含天然Fc。在一些实施方案中, 融合蛋白包含已经工程化的Fc结构域。

[0174] 在一些实施方案中, 含有GDF15多肽(或GDF15突变体多肽)的Fc融合蛋白与由Fc结构域组成或者包含Fc结构域的另一多肽链缔合以形成异二聚体。在一些实施方案中, 两个这种异二聚体缔合形成异四聚体。如下文提供的实施例中描述的, 根据经验研究了这些多肽构建体(即, 含有GDF15多肽(或GDF15突变体多肽)的Fc融合蛋白和包含一个或多个这种含有GDF15多肽(或GDF15突变体多肽)的Fc融合蛋白的多聚体)中的一些。

[0175] 抗体属于免疫球蛋白类别的蛋白, 这些类别包括IgG、IgA、IgE、IgM和IgD。人血清中最丰富的免疫球蛋白类别是IgG(Deisenhofer J 1981 Biochem 20:2361-2370; Huber R 1984 Behring Inst Mitt 76:1-14; Roux KH 1999 Int Arch Allergy Immunol 120:85-99)。IgG结构具有四个链, 两个轻链和两个重链; 每个轻链具有两个结构域, 并且每个重链具有四个结构域。抗原结合位点位于Fab结构域(抗原结合片段), 其含有可变轻链(VL)和可变重链(VH)结构域以及恒定轻链(LC)和恒定重链(CH1)结构域。重链的CH2和CH3结构域区

被称为Fc(可结晶片段)。可以认为IgG分子是具有两个重链和两个轻链的异四聚体,所述两个重链被铰链区的二硫键(-S-S-)固定在一起。免疫球蛋白亚类中的铰链二硫键数目不同(Papadea C 1989 Crit Rev Clin Lab Sci 27: 27-58)。FcRn结合位点位于抗体的Fc结构域(Martin WL 2001 Mol Cell 7:867-877),因此在Fc片段保留了抗体延长的血清半衰期性质。单独的Fc结构域可以被认为是包含CH2和CH3结构域的重链的同二聚体。

[0176] 在某些优选实施方案中,本文描述的融合蛋白包含衍生自野生型人IgG Fc结构域的IgG Fc结构域。“野生型”人IgG Fc表示人群内天然存在的氨基酸序列。当然,由于Fc序列可能在个体之间略有差异,可以对野生型序列进行一个或多个改变并依然保持在本发明范围内。例如,Fc结构域可以包含与本发明无关的其他改变,例如在糖基化位点的突变或者非天然氨基酸的加入。在某些实施方案中,包含CH3 区的多肽是IgG分子,并且还包含CH1和CH2结构域。示例性的人 IgG序列包含IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的恒定区。Fc结构域还可以包含在IgA、IgD、IgE和IgM重链的恒定区内。

[0177] 一些含有GDF15多肽或GDF15突变体多肽的Fc融合蛋白以及包含这种Fc融合蛋白的多聚体包括以下描述的那些。

[0178] II.A.Dh单Fc构建体

[0179] 本公开中的名称“单-”或“单Fc结构域”指已经被工程化为减少或防止形成同二聚体的Fc结构域。在一个实施方案中,通过在天然Fc 或Fc变体中引入酪氨酸至苏氨酸突变(Y349T)和两个赖氨酸至天冬氨酸突变(K392D和K409D)来提供单Fc结构域。

[0180] C末端赖氨酸(K447)任选可以在单Fc中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0181] 提供了包含单Fc结构域和GDF15区的融合蛋白。通常,GDF15 区的N末端直接或通过多肽接头连接至单Fc结构域的C末端。然而,在一些实施方案中,单Fc结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0182] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的二聚体。在一些实施方案中,二聚体是同二聚体。在其他实施方案中,二聚体是异二聚体。

[0183] 本公开中的名称“Dh单-”或“Dh单Fc结构域”指已经被工程化为减少或防止形成同二聚体、已经去除全部或部分铰链区的Fc结构域。在一个实施方案中,通过在去除了全部或部分铰链区的天然Fc或Fc 变体中引入酪氨酸至苏氨酸突变(Y349T)和两个赖氨酸至天冬氨酸突变(K392D和K409D)来提供Dh单Fc结构域。

[0184] Dh单Fc中的C末端赖氨酸(K447)任选可以缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0185] 提供了包含Dh单Fc结构域和GDF15区的融合蛋白。通常,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至Dh单Fc结构域的C 末端。然而,在一些实施方案中,Dh单Fc结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0186] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的二聚体。在一些实施方案中,二聚体是同二聚体。在其他实施方案中,二聚体是异二聚体。

[0187] II.A.1 Dh单Fc-GDF15

[0188] 本公开中的名称“单Fc-GDF15”指包含GDF15多肽的融合蛋白,所述GDF15多肽的N末端直接连接至单Fc结构域的C末端。

[0189] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。

[0190] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[0191] (a) 两个单Fc结构域(每个单体一个),其包含以下序列:

[0192] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0193] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0194] PIEKTISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0195] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSKCSVMHE

[0196] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:22),

[0197] 和

[0198] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12。

[0199] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列:

[0200] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0201] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0202] PIEKTISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0203] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSKCSVMHE

[0204] ALHNHYTQKSLSLSPGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVL

[0205] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

[0206] PMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:46),

[0207] 其由以下核酸序列编码:

[0208] gcacctgaactcctgggggaccgtcagtccttctcttcccc

[0209] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc

[0210] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta

[0211] cgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagc

[0212] agtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag

[0213] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct

[0214] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag

[0215] aaccacaggtgaccaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaac

[0216] caggtcagcctgacctgcctggtcaaaggttctatcccagcgacatcgc

[0217] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc

[0218] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc

[0219] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat

[0220] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc

[0221] cgggtgcgcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgcctgc

[0222] cgtctgcacacggtccgcgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattg

[0223] ggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcc

[0224] cgagccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctg

- [0225] caccgcctgaagccccgacacgggtgccagcgcctgctgctgccccccag
- [0226] ctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctcc
- [0227] agacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:45)。
- [0228] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含具有序列SEQ ID NO:46的两个单体的同二聚体。
- [0229] II.A.2 Dh单Fc- $(G_4S)_4$ -GDF15
- [0230] 本公开中的名称“Dh单Fc- $(G_4S)_4$ -GDF15”指包含通过多肽接头连接至Dh单Fc结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述多肽接头包含使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18。
- [0231] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。
- [0232] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:
- [0233] (a) 两个Dh单Fc结构域(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:22,
- [0234] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12,和
- [0235] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:
- [0236] GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:18)
- [0237] 各自使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc结构域的C末端。
- [0238] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):
- [0239] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [0240] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [0241] PIEKTIISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [0242] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHE
- [0243] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGSGGGSGGGGSARNGDHCPLGPGRC
- [0244] CRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
- [0245] LHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDITGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:24),
- [0246] 其由以下核酸序列编码:
- [0247] cacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
- [0248] aaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggt
- [0249] ggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacg
- [0250] gcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaac
- [0251] agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggct
- [0252] gaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccc
- [0253] ccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacag
- [0254] gtgaccaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcag
- [0255] cctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagt
- [0256] gggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtg
- [0257] ctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctaccgtggacaa
- [0258] gacgaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgagg
- [0259] ctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgga

- [0260] ggtggtggatccggaggcggtggaagcggaggtggtggatctggaggcgg
- [0261] tggaaagcgcgcgaacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgc
- [0262] gccgtctgcacacggtccgcgcgtcgttgaagacctgggctgggcccgat
- [0263] tgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtg
- [0264] cccgagccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcc
- [0265] tgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccagcgcctgtctgctgccccgc
- [0266] agctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgt
- [0267] ccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:23)。
- [0268] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含具有序列SEQ ID NO:24的两个单体的同二聚体。
- [0269] II. A.3 Dh单Fc- $(G_4S)_4$ -GDF15 (H6D)
- [0270] 本公开中的名称“Dh单Fc- $(G_4S)_4$ -GDF15 (H6D)”指包含通过多肽接头连接至Dh单Fc结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述多肽接头包含使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18。GDF15 (H6D) 变体是天然存在的人GDF15变体。
- [0271] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。
- [0272] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:
- [0273] (a) 两个Dh单Fc结构域(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:22,
- [0274] (b) 两个GDF15 (H6D) 多肽(每个单体一个),其包含以下序列:
- [0275] ARNGDDCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPS
- [0276] QFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQT
- [0277] YDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:25),
- [0278] 和
- [0279] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:18,各自使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc结构域的C末端。
- [0280] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):
- [0281] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [0282] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [0283] PIEKTIKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [0284] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHE
- [0285] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSARNGDDCPLGPGRC
- [0286] CRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
- [0287] LHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:27),
- [0288] 其由以下核酸序列编码:
- [0289] gcacctgaactcctggggggaccgctcagtccttctcttcccccaaaacc
- [0290] caaggacaccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [0291] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [0292] ggcgtggaggtgcataatgccaaagaccgcgggaggagcagtacaa
- [0293] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[0294] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0295] cccatcgagaaaacctctccaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[0296] ggtgaccaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca
[0297] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
[0298] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
[0299] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgcacctcaccgtggaca
[0300] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
[0301] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
[0302] aggtggtggatccggaggcgggtggaagcggaggtggtggatctggaggcg
[0303] gtggaagcgcgcgcaacggagacgactgtccgctcgggccccggcggttg
[0304] tgccgtctgcacacgggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcca
[0305] ttgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgt
[0306] gcccagaccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagc
[0307] ctgcaccgcctgaagcccagacacgggtgccagcgcctgctgcgtgcccgc
[0308] cagctacaatcccattggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgc
[0309] tccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:26)。

[0310] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含具有序列SEQ ID NO:27的两个单体的同二聚体。

[0311] II.B. 半Fc

[0312] 本公开中的名称“半-”或“半Fc结构域”指包含直接或通过多肽接头连接至第二Fc结构域的第一Fc结构域的多肽链。在一个实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域具有相同序列。在另一个实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域具有不同序列。通常,第一和第二Fc结构域通过其各自铰链区之间的二硫键共价缔合。

[0313] C末端赖氨酸(K447)任选地可以在第一Fc结构域、第二Fc结构域或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0314] 提供了包含半Fc结构域和GDF15区的融合蛋白。通常,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至半Fc结构域的C末端。然而,在一些实施方案中,半Fc结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0315] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的二聚体。在一些实施方案中,二聚体是同二聚体。在其他实施方案中,二聚体是异二聚体。参见图3 关于两个GGG-Fc- $(G_4S)_4$ -Fc-S $(G_4S)_4$ -GDF15融合蛋白的同二聚体的实施方案的图解描述。

[0316] GGGFc- $(G_4S)_4$ -Fc-S $(G_4S)_4$ -GDF15

[0317] 本公开中的名称“GGGFc- $(G_4S)_4$ -Fc-S $(G_4S)_4$ -GDF15”指包含通过多肽接头连接至半Fc结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述多肽接头包含使GDF15多肽的N末端连接至半Fc结构域的C末端的序列 SEQ ID NO:30。半Fc结构域包含通过多肽接头连接至第二Fc结构域的第一Fc结构域,所述多肽接头包含使第一Fc结构域的N末端连接至第二Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18(其具有添加至其N末端的三个甘氨酸残基)。

[0318] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两

个这种融合蛋白的同二聚体。

[0319] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[0320] (a) 两个第二Fc结构域(每个单体一个),其包含以下序列(括号中是铰链区的部分):

[0321] GGG (ERKSSVECPCP) APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV

[0322] DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWL

[0323] NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS

[0324] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK

[0325] SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:28),

[0326] (b) 两个第一Fc结构域(每个单体一个),其包含以下序列(括号中是铰链区的部分):

[0327] (ERKSSVECPCP) APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

[0328] HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK

[0329] EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC

[0330] LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

[0331] QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:29)。

[0332] (c) 两个第二多肽接头(每个单体一个),其包含使第一Fc结构域的N末端连接至第二Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18,

[0333] (d) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12,和

[0334] (e) 两个第一多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[0335] SGGGSGGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:30)

[0336] 使GDF15多肽的N末端与第一Fc结构域的C末端连接。

[0337] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(括号中是铰链区的部分;接头序列加双下划线):

[0338] GGG (ERKSSVECPCP) APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV

[0339] DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWL

[0340] NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS

[0341] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK

[0342] SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGGSGGGGSGGG

[0343] GS (ERKSSVECPCP) APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD

[0344] VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLN

[0345] GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL

[0346] TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS

[0347] RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG SGGGGSGGGGSGGGGSGGG

[0348] GS ARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGAC

[0349] PSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVS

[0350] QTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:32),

[0351] 其由以下核酸序列编码:

[0352] ggaggtggagagcgcaaatcttctgtcgcagtgcccaccgtgcccagcacc

[0353] acctgtggcaggaccgtcagtccttcttccccccaaaacccaaggaca
[0354] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtg
[0355] agccacgaagacccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtgga
[0356] ggtgcataatgccaaagacaaaaccacgggaggagcagttcaacagcacgt
[0357] tccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggc
[0358] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcga
[0359] gaaaaccatctccaaaacaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
[0360] ccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
[0361] tgctgtggtcaaaggcttctaccccagcgcacatcgccgtggagtgggagag
[0362] caatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggact
[0363] ccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcagg
[0364] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
[0365] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggaggtggcg
[0366] gtagcgggtggcggaggttcaggtggcggcggaaagcgggtggaggaggttca
[0367] gagcggaaatccagcgttgaatgtcctccgtgccctgctccaccgctcgc
[0368] ggggcctagtgtcttcttttccctccaaaacaaaggatacactgatga
[0369] tcagccggacccccgaggttacgtgcgtcgtcgtcgtgatgtctcccacgag
[0370] gatccagaggtccaattcaactggtacgtggacggggtcgaggtgcataa
[0371] tgcaaagacaaagccacgggaagagcagtttaactctactttccgctgg
[0372] tttctgtgctgaccgtggtgcaccaagattggctcaacggcaaggagtac
[0373] aagtgaagtaagcaataagggctccctgccccattgagaagactat
[0374] ctccaagacaaaggacagccacgcgagccacaagtctatacactcccc
[0375] cttcccgcgaagaaatgaccaagaatcaggttagcctgacatgcttggtt
[0376] aagggtttctaccctctgacatagccgtggagtgggagagcaatggaca
[0377] accagagaacaactacaagaccacccccacccatgctggatagcgcaggtt
[0378] cattctttctgtatagtaagcttaccgtggacaagtcccgggtggcaaca
[0379] ggaaatgtcttttcatgctctgtgatgcacgaggccttgcataatcacta
[0380] tactcagaagagcttgagcctcagccccggatctggaggtggcggatccg
[0381] ggggcggtggaagcggaggtggtggatcgggaggcgggtggaagcgcgcgc
[0382] aacggcgaccactgtccgctcgggcccggacgttgctgccgtctgcacac
[0383] ggtccgcgctcgtcgtggaagacctgggctgggccgattgggtgctgtcgc
[0384] cacgggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttc
[0385] cgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaa
[0386] gcccagacaggtaccaacacctgctacatacccaccaactacaatccca
[0387] tggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgtcctccagacctatgat
[0388] gacttgtagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:31)。

[0389] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含具有序列SEQ ID NO:32的两个单体的同二聚体。

[0390] II.C.Dh半Fc

[0391] 本公开中的名称“Dh半-”或“Dh半Fc结构域”指包含直接或通过多肽接头连接至第二DhFc结构域的、已经去除全部或部分铰链区的第一Fc结构域(“DhFc”结构域)的多肽链。在特定实施方案中,去除了铰链区中的N末端12个氨基酸,例如ERKSSVECPPCP (SEQ ID NO: 15)。在一个实施方案中,第一DhFc结构域和第二DhFc结构域具有相同序列。在另一个实施方案中,第一DhFc结构域和第二 DhFc结构域具有不同序列。

[0392] 提供了包含Dh半Fc结构域和GDF15区的融合蛋白。通常, GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至Dh半Fc结构域的C 末端。然而,在一些实施方案中,Dh半Fc结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0393] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的二聚体。在一些实施方案中,二聚体是同二聚体。在其他实施方案中,二聚体是异二聚体。

[0394] GGGDhFc- $(G_4S)_5$ -DhFc-S $(G_4S)_4$ -GDF15

[0395] 本公开中的名称“GGGDhFc- $(G_4S)_5$ -DhFc-S $(G_4S)_4$ -GDF15”指包含通过第一多肽接头连接至Dh半Fc结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述第一多肽接头包含使GDF15多肽的N末端连接至半Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:30。半Fc结构域包含通过多肽接头连接至第二DhFc结构域的第一DhFc结构域,所述多肽接头包含使第一DhFc结构域的N末端连接至第二DhFc结构域的C末端的序列 SEQ ID NO:34(其具有添加至其N末端的三个甘氨酸残基)。

[0396] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。

[0397] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[0398] (a) 两个第二DhFc结构域(每个单体一个),其包含以下序列:

[0399] GGGAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY

[0400] VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL

[0401] PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA

[0402] VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVM

[0403] HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:33),

[0404] (b) 两个第一DhFc结构域(每个单体一个),其包含以下序列:

[0405] APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG

[0406] VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP

[0407] IEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

[0408] ESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMHEA

[0409] LHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:35),

[0410] (c) 两个第二多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[0411] GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:34)

[0412] 使第一DhFc结构域的N末端连接至第二DhFc结构域的C末端,

[0413] (d) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12,和

[0414] (e) 两个第一多肽接头(每个单体一个),其包含使GDF15多肽的 N末端连接至第一DhFc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:30。

[0415] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[0416] GGGAPPVAGPSVFLFPPKPKD~~TL~~MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY

[0417] VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS~~VLTVVHQD~~WLNGKEYKCKVSNKGL

[0418] PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA

[0419] VEWESNGQPENNYK~~TTP~~MLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~QGN~~VFSCSVM

[0420] HEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGAPPVAGP

[0421] SVFLFPPKPKD~~TL~~MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK

[0422] TKPREEQFNSTFRVVS~~VLTVVHQD~~WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK

[0423] TKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE

[0424] NNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~QGN~~VFSCSVMHEALHNHYTQ

[0425] KSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGARNGDHCPLGPRCCRLHTVR

[0426] ASLEDLGWADWVLSPREVQV~~TM~~CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD

[0427] TVPAPCCVPASYNP~~MLIQ~~KTDTGVS~~LQ~~TYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:37),

[0428] 其由以下核酸序列编码:

[0429] ggcggtggagctccgcccggctggaccctcagtggttcctctttccacc

[0430] gaagccgaaggacacccttatgattagccggacccagaggtcacttgcg

[0431] tcgtcgtggacgtgtcccatgaggatcccgaagtgcagtttaactggtat

[0432] gtggacggagtgagggtccataacgccaagaccaagccaaggaagaaca

[0433] gttcaatagcaccttccgggtgggtgtccgtgctcaccgtggtgcatcaag

[0434] actggctgaatggcaaagagtacaaatgtaagggtgtcaacaaggggctc

[0435] ccagcccctattgaaaagaccatctcaaagactaaggacagccacgcga

[0436] acctcaagtgtataccctcccgccttcacgcgaagaaatgactaagaatc

[0437] aggtcagccttacttgctgtggtaagggcttctacccgagcgacattgca

[0438] gtcgaatgggagagcaatgggtcagccagagaataactacaagaccactcc

[0439] tcccatgcttgatagcgatggaagctttttcctttacagcaagcttactg

[0440] tggataagtcctcgtggcaacagggaatgtgttcagctgttcagtgatg

[0441] catgaagcactccacaatcattacaccagaagtcactcagcctctcacc

[0442] cggaggaggaggcgggttctggtggaggaggtctggagggtggaggagcg

[0443] gcggaggcggggtctggcgggtgggtctgagaggaagtcacagtgga

[0444] tgcaccatgcctgtctctcccgtggccgggtccgagcgtgtttctctt

[0445] ccacctaagcccaaggacactctgatgatctcacggactccggaagtga

[0446] cttgtgtggtggtggacgtgtctcatgaggaccctgaagtgcagtccaac

[0447] tggtacgtggacggcgtggaggtgcacaatgctaagaccaagcctagaga

[0448] ggaacagttcaattccaccttccgctgggtgagcgtcctgaccgtcgtgc

[0449] accaggactggcctaaccgaaaggaataacaagtgaaggtgtccaacaaa

[0450] ggccttccagctcccattgagaaaaccatctctaaaactaagggtcaacc

[0451] aaggaaccccccaagtctacaccctccctccgtctagagaagagatgacca

[0452] aaaaccaggtgtccctgacctgtctggtgaagggattttaccctcagac

[0453] atcgccgtggagtggaagcaacggacagcccgaaaacaactataagac

[0454] taccctcctatgctggactcagacggatctttcttctctatagcaagc
[0455] tcaactgtggacaaatccagatggcaacaaggggaatgtgttctcatgcagc
[0456] gtgatgcacgaggctcttcacaaccactatacccagaagagcctgtctct
[0457] ttcacctggttccggaggtggtgggagcggaggggggtggatcaggtggtg
[0458] gaggggtccggaggcggaggatccgcacggaatggcgaccactgtccactg
[0459] ggacccggaagatggtgtcgcctccacaccgtgagggcctctctggagga
[0460] ccttggtggtggccgactgggtcctgtcacctcgggaggtccaagtcacca
[0461] tgtgtatcggagcctgccccagccaattcagagcagcaaatatgcacgca
[0462] cagattaagaccagcctgcatcggttaaacctgatactgtgccggctcc
[0463] tgttgctgcccagcatcttacaaccgatggtgctgatccagaaaaccg
[0464] atacgggtgtctcctccagacttacggacgacctccttgcaaaggactgc
[0465] cattgcatc (SEQ ID NO:36)。

[0466] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个单体的同二聚体,所述单体包含序列SEQ ID NO:37。

[0467] II.D. 结/孔

[0468] 本公开中的名称“结-”或“结Fc结构域”指包含“结”突变的Fc结构域。本公开中的名称“孔-”或“孔Fc结构域”指天然Fc或包含“孔”突变的Fc变体。

[0469] “结”可以通过用较大氨基酸侧链替代小氨基酸侧链而产生,而“孔”可以通过用较小氨基酸侧链替代大氨基酸侧链而产生。参见例如 Ridgway JBB 1996,Protein Eng.9:617-621;Merchant AM 1998,Nature Biotech.16:677-681。

[0470] 在一个实施方案中,通过在Fc结构域的序列中引入苏氨酸至色氨酸突变(T366W)而提供了“结Fc”结构域。在一个实施方案中,通过在Fc结构域的序列中引入苏氨酸至丝氨酸突变(T366S)、亮氨酸至丙氨酸突变(L368A)和酪氨酸至缬氨酸突变(Y407V)而提供“孔Fc”结构域。

[0471] C末端赖氨酸(K447)任选地可以在结Fc结构域、孔Fc结构域或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0472] 在一个实施方案中,通过在已经去除全部或部分铰链区的Fc结构域的序列中引入苏氨酸至色氨酸突变(T366W)而提供了“Dh结Fc”结构域。在一个实施方案中,通过在已经去除全部或部分铰链区的Fc结构域的序列中引入苏氨酸至丝氨酸突变(T366S)、亮氨酸至丙氨酸突变(L368A)和酪氨酸至缬氨酸突变(Y407V)而提供了“Dh孔Fc”结构域。

[0473] C末端赖氨酸(K447)任选地可以在Dh结Fc、Dh孔Fc或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0474] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i)包含直接或通过多肽接头连接至孔Fc结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii)包含结Fc结构域的第二多肽链。在其他实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i)包含直接或通过多肽接头连接至结Fc结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii)包含孔Fc结构域的第二多肽链。

[0475] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i)包含直接或通过多肽接头连接至Dh孔Fc结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii)包含Dh结Fc结构域的第二多肽链。在其他实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i)包含直接或通过多肽接头连接至Dh结Fc

结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii)包含Dh孔Fc结构域的第二多肽链。

[0476] 在一些实施方案中,提供了包含两个这种异二聚体的四聚体,其中异二聚体通过其各自第一多肽链的GDF15区之间的链间二硫键连接。参见图1关于包含两个异二聚体的异四聚体的实施方案的图解描述,其中每个异二聚体包含:(i)包含通过多肽接头连接至Dh结Fc结构域的GDF15多肽的第一多肽链,和(ii)包含Dh孔Fc结构域的第二多肽链。

[0477] Dh结Fc-(G₄S)₄-GDF15:Dh孔Fc

[0478] 本公开中的名称“Dh结Fc-(G₄S)₄-GDF15:Dh孔Fc”指包含以下的异二聚体:(i)包含通过接头连接至Dh结Fc结构域的GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至Dh结Fc结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18,和(ii)包含Dh孔Fc结构域的多肽。

[0479] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh结Fc-(G₄S)₄-GDF15:Dh孔Fc异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0480] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0481] (a) 两个Dh结Fc结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[0482] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0483] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0484] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE

[0485] WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0486] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:16),

[0487] (b) 两个Dh孔Fc结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[0488] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0489] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0490] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE

[0491] WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0492] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:281),

[0493] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

[0494] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:18,各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至Dh结Fc结构域的C末端。

[0495] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[0496] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0497] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0498] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE

[0499] WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0500] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGSGGGSGGGGSARNGDHCPLGPGRC

[0501] CRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTS

[0502] LHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:20),

[0503] 其由以下核酸序列编码:

[0504] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
[0505] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
[0506] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[0507] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
[0508] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[0509] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0510] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[0511] ggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtca
[0512] gcctgtggtgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
[0513] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt
[0514] gctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggaca
[0515] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
[0516] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
[0517] aggtggtggatccggaggcgggtggaagcggaggtggtggatctggaggcg
[0518] gtggaagcgcgcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccgggcttgc
[0519] tgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgtggaagacctgggctgggccga
[0520] ttgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgcgt
[0521] gcccagaccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagc
[0522] ctgcaccgcctgaagcccagacacggtgccagcgcctgctgcgtgcccgc
[0523] cagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgc
[0524] tccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:19)。
[0525] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[0526] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[0527] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[0528] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE
[0529] WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSQVSMHE
[0530] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:17),
[0531] 其由以下核酸序列编码:
[0532] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
[0533] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
[0534] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[0535] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
[0536] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[0537] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0538] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[0539] ggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtca
[0540] gcctgagctgcgcggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
[0541] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt
[0542] gctggactccgacggctccttcttctctcgtcagcaagctcaccgtggaca

[0543] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[0544] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa

[0545] atga (SEQ ID NO:21)

[0546] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列SEQ ID NO:20的单体和两个具有序列SEQ ID NO:17的单体的四聚体。

[0547] II.E. 带电荷对 (delHinge)

[0548] 本公开中的名称“CpmFc (+) 结构域”指包含带“正”电荷对的突变的Fc结构域。本公开中的名称“CpmFc (-) 结构域”指包含带“负”电荷对的突变的Fc结构域。注意,术语“正”和“负”的使用是方便参考(即,描述Fc结构域中带电荷对的突变的性质),而不是指示整体序列或构建体一定具有正电荷或负电荷。

[0549] 在一个实施方案中,通过在Fc结构域的序列中引入谷氨酸至赖氨酸突变(E356K)和天冬氨酸至赖氨酸突变(D399K)而提供带“正”电荷对的突变。在一个实施方案中,通过在Fc结构域的序列中引入两个赖氨酸至天冬氨酸的突变(K392D,K409D)而提供带“负”电荷对的突变。

[0550] 当一起孵育时,天冬氨酸残基通过静电力与赖氨酸残基缔合,从而有助于在CpmFc (+) 结构域和CpmFc (-) 结构域之间形成异二聚体,并且减少或防止CpmFc (+) 序列之间或CpmFc (-) 序列之间形成同二聚体。

[0551] C末端赖氨酸(K447)任选地可以在CpmFc (+) 结构域、CpmFc (-) 结构域或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0552] 在一个实施方案中,通过在去除了全部或部分铰链区的Fc结构域的序列中引入谷氨酸至赖氨酸突变(E356K)和天冬氨酸至赖氨酸突变(D399K)来提供“DhCpmFc (+)”结构域。在一个实施方案中,通过在去除了全部或部分铰链区的Fc结构域的序列中引入两个赖氨酸至天冬氨酸突变(K392D,K409D)来提供“DhCpmFc (-)”结构域。

[0553] 当一起孵育时,天冬氨酸残基通过静电力与赖氨酸残基缔合,从而有助于在DhCpmFc (+) 结构域和DhCpmFc (-) 结构域之间形成异二聚体,并且减少或防止DhCpmFc (+) 序列之间或DhCpmFc (-) 序列之间形成同二聚体。

[0554] C末端赖氨酸(K447)任选地可以在DhCpmFc (+)、DhCpmFc (-) 或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[0555] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含连接至 CpmFc (+) 结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含CpmFc (-) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至CpmFc (+) 结构域的C末端。在其他实施方案中,CpmFc (+) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0556] 在其他实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含连接至 CpmFc (-) 结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至CpmFc (-) 结构域的C末端。在其他实施方案中,CpmFc (-) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[0557] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含连接至 DhCpmFc (+) 结构域的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至DhCpmFc (+) 结构域的C末端。在其他实

实施方案中, DhCpmFc (+) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至 GDF15区的C末端。

[0558] 在其他实施方案中, 提供了包含以下的异二聚体: (i) 包含连接至 DhCpmFc (-) 结构域的GDF15区的第一多肽链, 和 (ii) 包含DhCpmFc (-) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中, GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。在其他实施方案中, DhCpmFc (-) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至 GDF15区的C末端。

[0559] 在一些实施方案中, 提供了包含两个这种异二聚体的二聚体的四聚体, 其中异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。参见图4关于包含两个异二聚体的四聚体的实施方案的图解描述, 其中每个异二聚体包含: (i) 包含通过多肽接头连接至 DhCpmFc (-) 结构域的GDF15多肽的第一多肽链, 和 (ii) 包含 DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[0560] II.E.1 DhCpmFc (+) - (1K) -GDF15:DhCpmFc (-)

[0561] 本公开中的名称“DhCpmFc (+) - (1K) -GDF15:DhCpmFc (-)”指包含以下的异二聚体: (i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (+) 结构域的 GDF15多肽的第一多肽链, 所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (+) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:40, 和 (ii) 包含 DhCpmFc (-) 结构域的第二多肽链。

[0562] 在某些实施方案中, 提供了包含两个DhCpmFc (+) - (1K) -GDF15: DhCpmFc (-) 异二聚体的二聚体的四聚体, 其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0563] 更特别地, 在一个具体实施方案中, 四聚体包含:

[0564] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[0565] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0566] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0567] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0568] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHE

[0569] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:38),

[0570] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[0571] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0572] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0573] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0574] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHE

[0575] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:282),

[0576] (c) 两个GDF15多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列SEQ ID NO:12, 和

[0577] (d) 两个多肽接头 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[0578] GSGSATGGSGSVASSGSGSATHL (SEQ ID NO:40)

[0579] 各自通过肽键使GDF15多肽N末端连接至DhCpmFc (+) 结构域C 末端。

[0580] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列 (接头序列加双下划线):

[0581] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0582] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

- [0583] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [0584] WESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
 [0585] ALHNHYTQKSLSLSPGGSGSATGSGSVASSGSGSATHLARNGDHCPLGP
 [0586] GRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQI
 [0587] KTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHC
 [0588] I (SEQ ID NO:42) ,
 [0589] 其由以下核酸序列编码:
 [0590] gccccagagctgcttggtggaccatccgtggttctgtttcctccaaagcc
 [0591] gaaggacaccctgatgatctcaagaactccggaagtgacttgcgctgctg
 [0592] tggacgtgtccatgaggatccagaggtcaagttcaattggtatgtggac
 [0593] ggagtggaagtgcataacgccaagaccaaaccgcaagaacagtacaa
 [0594] tagcacctaccgctggtgagcgtccttactgtgctccaccaggactggc
 [0595] ttaatgggaaggaatacaagtgttaaggtgtccaacaaggccctccccgct
 [0596] cccatcgaaaagaccatctcaaaggcaaaggggcaaccaaggaacctca
 [0597] agtgtacaccctgcctccgagcaggaaggagatgaccaagaaccaggctca
 [0598] gcctgacttgctctcgtaagggcttctatcccagcgatattgctgtggaa
 [0599] tgggagtcaaatggccagcccagagaataactacaaaactaccccaccgt
 [0600] gctgaaatctgatgggtccttcttcttactccaagctgaccgtggaca
 [0601] agagccgctggcaacaaggcaatgtctttagctgctcagtgatgcatgag
 [0602] gctctccataatcactacactcagaagtcactgtccctgtcacctggcgg
 [0603] atccggttctgctactggtggttccggctccgctcgcaagctctggttcag
 [0604] gcagtgcgactcatctggcacggaacggggaccattgtcccctgggacct
 [0605] ggtcgggtgctgccggttcacaccgtcagagcctctctggaggaccttg
 [0606] atgggctgattgggtgctgagccctcgggaggtgcaagtcaccatgtgca
 [0607] tcggggcctgccctagccagttccgctcagccaacatgcacgctcagatc
 [0608] aaaacctctcttcacagactgaagcccgcacaccgtgccagcaccttgctg
 [0609] tgtgccggcctcttataacccatggtcctcattcagaaaaccgacaccg
 [0610] gagtgtcacttcagacttacgatgacctcctggccaaggactgccactgc
 [0611] ata (SEQ ID NO:41) 。
 [0612] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列
 [0613] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [0614] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 [0615] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [0616] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
 [0617] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:39) ,
 [0618] 其由以下核酸序列编码:
 [0619] gcgcccgaactgctgggcccggagcgtgttctgtttccgccgaaacc
 [0620] gaaagataccctgatgattagccgcaccccggaagtgacctgcgtggtgg
 [0621] tggatgtgagccatgaagatccggaagtgaatattaactggtatgtggat

[0622] ggcgtggaagtgcataacgcgaaaaccaaaccgcgcgaagaacagtataa
 [0623] cagcacctatcgcggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcatcaggattggc
 [0624] tgaacggcaaagaatataaatgcaaagtgagcaacaaagcgtgccggcg
 [0625] ccgattgaaaaaacatttagcaaagcgaaggccagccgcgcgaaccgca
 [0626] ggtgtataccctgccgccgagccgcgaagaaatgaccaaaaaccaggtga
 [0627] gcctgacctgcctggtgaaaggcttttatccgagcgatattgcggtgaa
 [0628] tgggaaagcaacggccagccggaaaacaactatgataccaccccgccggt
 [0629] gctggatagcgatggcagcttttttctgtatagcgatctgaccgtggata
 [0630] aaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgatgaa
 [0631] gcgctgcataaccattataccagaaaagcctgagcctgagcccgggcaa
 [0632] a (SEQ ID NO:43)。

[0633] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:42的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:39的多肽链。

[0634] II.E.2 DhCpmFc (-) -GDF15:DhCpmFc (+)

[0635] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) -GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的GDF15多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[0636] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) -GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0637] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0638] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下氨基酸序列:

[0639] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0640] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0641] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0642] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0643] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:283),

[0644] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下氨基酸序列:

[0645] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0646] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0647] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0648] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0649] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:48),

[0650] 和

[0651] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),包含序列SEQ ID NO: 12。

[0652] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[0653] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0654] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0655] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0656] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[0657] ALHNHYTQKSLSLSPGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVL
[0658] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN
[0659] PMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:50) ,
[0660] 其由以下核酸序列编码:
[0661] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaaacc
[0662] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
[0663] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[0664] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
[0665] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[0666] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0667] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[0668] ggtgtacaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
[0669] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
[0670] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
[0671] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
[0672] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgag
[0673] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgc
[0674] gcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgc
[0675] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg
[0676] tcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagacca
[0677] gttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc
[0678] tgaagcccagacaggtgccagcgcctgctgctgcccagctacaat
[0679] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagaccta
[0680] tgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:49) 。
[0681] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[0682] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[0683] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[0684] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[0685] WESNGQPENNYKTTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[0686] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:47) ,
[0687] 其由以下核酸序列编码:
[0688] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaaacc
[0689] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
[0690] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[0691] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
[0692] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[0693] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0694] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[0695] ggtgtacaccctgcccccatcccggaaggagatgaccaagaaccaggtca
 [0696] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
 [0697] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt
 [0698] gctgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggaca
 [0699] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgag
 [0700] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcccctgtctccgggtaa
 [0701] atga (SEQ ID NO:51)。

[0702] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:50的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[0703] II.E.3 DhCpmFc (-) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)

[0704] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:
 (i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) 结构域 C末端的、具有天冬酰胺至天冬氨酸突变(N3D)的GDF15的天然存在的变体(“GDF15 (N3D)”)的第一多肽链,和(ii)包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。N3D突变可以减少脱酰胺诱导的不均一性。

[0705] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0706] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0707] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:283,

[0708] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:48,和

[0709] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[0710] ARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPS

[0711] QFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQT

[0712] YDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:52)。

[0713] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[0714] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0715] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0716] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0717] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0718] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLS

[0719] PREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYN

[0720] PMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:54),

[0721] 其由以下核酸序列编码:

[0722] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttcccccaaaaacc

[0723] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[0724] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[0725] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[0726] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[0727] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[0728] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [0729] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca
 [0730] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [0731] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [0732] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [0733] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [0734] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgc
 [0735] gcgacgagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgc
 [0736] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg
 [0737] tcgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgctgcccagacca
 [0738] gttccgggcccgaacatgcacgcgagatcaagacgagcctgcaccgcc
 [0739] tgaagcccagacaggtgccagcgccctgctgctgcccagctacaat
 [0740] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagaccta
 [0741] tgatgacttgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:53)。

[0742] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[0743] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:54的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[0744] II.E.4 DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+)

[0745] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的、其中前三个氨基酸缺失的GDF15变体(“GDF15 (Nde13)”) 的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。Nde13 变体可以减少脱酰胺和随后D3异构化诱导的不均一性。

[0746] 在某些实施方案中,提供了包含两个 DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0747] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0748] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:283,

[0749] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:48,和

[0750] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其具有以下序列:

[0751] GDHCPLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFR

[0752] AANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTVSLQTYDD

[0753] LLAKDCHCI (SEQ ID NO:55)。

[0754] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[0755] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0756] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0757] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0758] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQSVME

[0759] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR

[0760] EVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMV
 [0761] LIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:57),
 [0762] 其由以下核酸序列编码:
 [0763] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
 [0764] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggagg
 [0765] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [0766] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtagcaca
 [0767] cagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [0768] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [0769] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [0770] ggtgtacaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
 [0771] gcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [0772] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [0773] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [0774] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [0775] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
 [0776] agaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtctgcacacggtcc
 [0777] gcgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcggccacgg
 [0778] gaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagccagttccgggc
 [0779] ggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccg
 [0780] acacggtgccagcgcctgtgctgctgcccgcagctacaatcccattggtg
 [0781] ctcatcctaaaagaccgacaccgggtgtcgtcctcagacctatgatgactt
 [0782] gttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:56)。

[0783] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[0784] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:57的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[0785] II.E.5 DhCpmFc (-)-G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)

[0786] 本公开中的名称“DhCpmFc (-)-G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i)包含通过接头连接至DhCpmFc (-)结构域的 GDF15 (N3D)多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D)多肽的N末端连接至DhCpmFc (-)结构域的C末端的序列SEQ ID NO:58,和(ii)包含DhCpmFc (+)结构域的第二多肽链。

[0787] 在某些实施方案中,提供了包含两个 DhCpmFc (-)-G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0788] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

- [0789] (a) 两个DhCpmFc (+)结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:283,
- [0790] (b) 两个DhCpmFc (+)结构域(每个异二聚体一个),其具有序列 SEQ ID NO:48,
- [0791] (c) 两个GDF15 (N3D)多肽(每个异二聚体一个),其具有序列SEQ ID NO:52,和

- [0792] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [0793] GGGG (SEQ ID NO:58)
- [0794] 各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。
- [0795] 在一个优选实施方案中,第一多肽包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):
- [0796] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [0797] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [0798] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [0799] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQSVME
- [0800] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGARDGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWA
- [0801] DWLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVP
- [0802] ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:60) ,
- [0803] 其由以下核酸序列编码:
- [0804] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc
- [0805] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [0806] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [0807] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgaggaggagcagtacaa
- [0808] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [0809] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [0810] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [0811] ggtgtacaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
- [0812] gcctgacctgcctggtcaaaggtctctatcccagcagacatcgccgtggag
- [0813] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
- [0814] gctggactccgacggctccttcttctctatagcagcctcaccgtggaca
- [0815] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
- [0816] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
- [0817] aggtggtggagcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggtt
- [0818] gctgccgtctgcacacggctccgcgcgtcgctggaagacctgggctgggccc
- [0819] gattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgc
- [0820] gtgcccagaccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacga
- [0821] gcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgccagcgcctgctgcgtgccc
- [0822] gccagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtc
- [0823] gctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:59) 。
- [0824] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。
- [0825] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:60的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。
- [0826] II.E.6 DhCpmFc (-) -G₄S-GDF15:DhCpmFc (+)
- [0827] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) -G₄S-GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:
- (i) 包含通过多肽接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的 GDF15多肽的第一多肽链,所述多肽接

头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:61, 和 (ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[0828] 在某些实施方案中, 提供了包含两个DhCpmFc (-) -G₄S-GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体, 其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0829] 更特别地, 在一个具体实施方案中, 四聚体包含:

[0830] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:283,

[0831] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:48,

[0832] (c) 两个GDF15多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列SEQ ID NO:12, 和

[0833] (d) 两个多肽接头 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[0834] GGGGS (SEQ ID NO:61)

[0835] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。

[0836] 在一个优选实施方案中, 第一多肽包含以下氨基酸序列 (接头加双下划线):

[0837] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0838] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0839] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0840] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[0841] ALHNHYTQKSLSLSPG GGGGS ARNGDHCPLGPGRCCLHTVRSLEDLGW

[0842] ADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCV

[0843] PASYNPMVLIQKTDGTGVSLSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:63),

[0844] 其由以下核酸序列编码:

[0845] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc

[0846] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[0847] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[0848] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[0849] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[0850] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[0851] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccaca

[0852] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca

[0853] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[0854] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[0855] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[0856] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[0857] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg

[0858] aggtggtgatccgcgcgaacggagaccactgtccgctcgggcccgggc

[0859] gttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgtggaagacctgggctgg

[0860] gccgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcg

[0861] cgcgtgcccagaccagttccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaaga

[0862] cgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacggtgccagcgcctgctgcgtg

- [0863] cccgccagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccgggggt
- [0864] gtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcatat
- [0865] ga (SEQ ID NO:62)。
- [0866] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。
- [0867] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:63的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。
- [0868] II.E.7 DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (+)
- [0869] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过多肽接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的GDF15多肽的第一多肽链,所述多肽接头包含使GDF15多肽的N 末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:64,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。
- [0870] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [0871] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [0872] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,
- [0873] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,
- [0874] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和
- [0875] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [0876] GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:64),
- [0877] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 序列的 C末端。
- [0878] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):
- [0879] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [0880] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [0881] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [0882] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMSMHE
- [0883] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSARNGDHCPLGPRCCRLHTVRSAL
- [0884] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVP
- [0885] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:66),
- [0886] 其由以下核酸序列编码:
- [0887] gcacctgaactcctggggggaccgctcagtccttctcttccccccaaaacc
- [0888] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [0889] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [0890] ggcgtgaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
- [0891] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [0892] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [0893] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [0894] ggtgtacaccctgcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca

[0895] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [0896] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [0897] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [0898] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [0899] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
 [0900] aggtggtggatccggaggcgggtggaagcgcgcgcaacggagaccactgtc
 [0901] cgctcgggcccgggcttgctgcccgtctgcacacgggtccgcgcgtcgctg
 [0902] gaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt
 [0903] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggaggcaaacatgc
 [0904] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgcca
 [0905] gcgccctgctgctgcccgccagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
 [0906] gaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaag
 [0907] actgccactgcata (SEQ ID NO:65)。

[0908] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[0909] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:66的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[0910] II.E.8 DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)

[0911] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至 DhCpmFc (-) 结构域的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:64,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[0912] 在某些实施方案中,提供了包含两个 DhCpmFc (-) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0913] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0914] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,

[0915] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,

[0916] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和

[0917] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 64,各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。

[0918] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[0919] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0920] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[0921] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[0922] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHE

[0923] ALHNHYTQKLSLSLPGGGGGSGGGGSARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASL

[0924] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV

[0925] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:68),
[0926] 其由以下核酸序列编码:
[0927] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaacc
[0928] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggg
[0929] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[0930] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaa
[0931] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[0932] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
[0933] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[0934] ggtgtacaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagggtca
[0935] gcctgacctgacctggtcaaaggttctatcccagcgacatcgccgtggag
[0936] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccg
[0937] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
[0938] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
[0939] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
[0940] aggtggtggatccggaggcgggtggaagcgcgcgcgacggagaccactgtc
[0941] cgctcgggccccgggcttggctgcccgtctgcacacgggtccgcgcgtcgtg
[0942] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt
[0943] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgc
[0944] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccacacggtgcca
[0945] gcgccctgctgctgcccgcagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
[0946] gaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgacttgttagccaaag
[0947] actgccactgcata (SEQ ID NO:67)。

[0948] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[0949] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:68的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[0950] II.E.9 DhCpmFc (-) -G₄P-GDF15:DhCpmFc (+)

[0951] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄P) -GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的 GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:69,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[0952] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) - (G₄P) -GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0953] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[0954] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,

[0955] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,

[0956] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

- [0957] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [0958] GGGGP (SEQ ID NO:69),
- [0959] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。
- [0960] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):
- [0961] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [0962] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [0963] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [0964] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHE
- [0965] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGPARNGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGW
- [0966] ADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCV
- [0967] PASYNPMVLIQKTDGTGSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:71),
- [0968] 其由以下核酸序列编码:
- [0969] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaacc
- [0970] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [0971] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [0972] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtaaa
- [0973] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [0974] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [0975] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [0976] ggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca
- [0977] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatgcctggtgag
- [0978] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
- [0979] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
- [0980] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgatgag
- [0981] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
- [0982] aggtggtggacccgcgcgaacggagaccactgtccgctcgggcccgggc
- [0983] gttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgttgaagacctgggctgg
- [0984] gccgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtaccatgtgcatcgg
- [0985] cgcgtgcccagaccagttccgggcggcaaacatgcacgcgcagatcaaga
- [0986] cgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccagcgcctgctgcgtg
- [0987] cccgccagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccgggtg
- [0988] gtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:70)。
- [0989] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。
- [0990] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:71的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。
- [0991] II.E.10 DhCpmFc (-) - (G₄P)₂-GDF15:DhCpmFc (+)
- [0992] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄P)₂-GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚

体：(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的 GDF15多肽的第一多肽链，所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:72, 和(ii) 包含DhCpmFc (+) 序列的第二v。

[0993] 在某些实施方案中，提供了包含两个DhCpmFc (-) - (G₄P)₂-GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体，其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[0994] 更特别地，在一个具体实施方案中，四聚体包含：

[0995] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含序列 SEQ ID NO:283,

[0996] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含序列 SEQ ID NO:48,

[0997] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个)，其包含序列SEQ ID NO:12, 和

[0998] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[0999] GGGGPGGGP (SEQ ID NO:72) ,

[1000] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。

[1001] 在一个优选实施方案中，第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线)：

[1002] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1003] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1004] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1005] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHE

[1006] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGPGGGPARNGDHCPLGPRCCRLHTVRASL

[1007] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV

[1008] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:74) ,

[1009] 其由以下核酸序列编码：

[1010] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc

[1011] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1012] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1013] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1014] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1015] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1016] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[1017] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca

[1018] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[1019] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[1020] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[1021] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgag

[1022] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg

[1023] aggtggtggacctggaggcgggtggaccagcgcgaacggagaccactgtc

[1024] cgctcgggcccggcgttgctgcccgtctgcacacgggtccgcgctcgctg

[1025] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt

[1026] gaccatgtgcatcggcgcgtgccccgagccagttccgggcggaacatgc
 [1027] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgcc
 [1028] gcgccctgctgcgtgccccgagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
 [1029] gaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgacttgttagccaaag
 [1030] actgccactgcatatga (SEQ ID NO:73)。

[1031] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[1032] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:74的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[1033] II.E.11 DhCpmFc (-) -G₄Q-GDF15:DhCpmFc (+)

[1034] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) -G₄Q-GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:
 (i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的 GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:75,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[1035] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) -G₄Q-GDF15: DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1036] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1037] (a) 两个DhCpmFc (+) 链(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:283,

[1038] (b) 两个DhCpmFc (-) 链(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:48,

[1039] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

[1040] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[1041] GGGGQ (SEQ ID NO:75)

[1042] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。

[1043] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1044] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1045] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1046] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1047] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHE

[1048] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGQARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGW

[1049] ADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCV

[1050] PASYNPMVLIQKTDGTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:77),

[1051] 其由以下核酸序列编码:

[1052] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc

[1053] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1054] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1055] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1056] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1057] tgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [1058] cccatcgagaaaacctctccaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [1059] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca
 [1060] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [1061] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1062] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcactgtggaca
 [1063] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [1064] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
 [1065] aggtggtggacagggcgcaacggagaccactgtccgctcgggccccgggc
 [1066] gttgctgccgtctgcacacgggtccgcgcgtcgtggaagacctgggctgg
 [1067] gccgattgggtgctgtgcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcgg
 [1068] cgcgtgccccgagccagttccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaaga
 [1069] cgagcctgcaccgctgaagcccgcacaggtgccagcgccctgctgcgtg
 [1070] cccgccagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggt
 [1071] gtcgctccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcatat
 [1072] ga (SEQ ID NO:76)。

[1073] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[1074] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:77的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[1075] II.E.12 DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15:DhCpmFc (+)

[1076] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15:DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i)包含通过接头连接至DhCpmFc (-)结构域的 GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-)结构域的C末端的序列SEQ ID NO:78,和(ii)包含DhCpmFc (+)结构域的第二多肽链。

[1077] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15:DhCpmFc (+)异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1078] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1079] (a) 两个DhCpmFc (+)结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,

[1080] (b) 两个DhCpmFc (-)结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,

[1081] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

[1082] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[1083] GGGGQGGGGQ (SEQ ID NO:78)

[1084] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-)结构域的C末端。

[1085] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1086] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1087] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1088] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [1089] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
 [1090] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGQGGGGQARNGDHCPLGPRCCRLHTVRASL
 [1091] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
 [1092] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:80),
 [1093] 其由以下核酸序列编码:
 [1094] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
 [1095] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
 [1096] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [1097] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
 [1098] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [1099] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [1100] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [1101] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca
 [1102] gcctgacctgcctggtcaaaggttctatcccagcgcacatcgccgtggag
 [1103] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1104] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [1105] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [1106] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
 [1107] aggtggtggacagggaggcgggtggacagggcgcgaacggagaccactgtc
 [1108] cgctcgggccccgggcttggctgcccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtg
 [1109] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgctgccacgggaggtgcaagt
 [1110] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgc
 [1111] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccacacggtgcca
 [1112] gcgccctgctgctgcccggcagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
 [1113] gaccgacaccgggtgtcgctccagacctatgatgacttgttagccaaag
 [1114] actgccactgcatatga (SEQ ID NO:79)。

[1115] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[1116] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:80的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[1117] II.E.13 DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+)

[1118] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) 结构域的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D) 多肽N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域C末端的序列 SEQ ID NO:78,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[1119] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

- [1120] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [1121] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,
- [1122] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,
- [1123] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和
- [1124] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 78,各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。
- [1125] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):
- [1126] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [1127] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [1128] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [1129] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE
- [1130] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGQGGGGQARDGDHCPLGPGRCCLHTVRASL
- [1131] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVP
- [1132] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:82),
- [1133] 其由以下核酸序列编码:
- [1134] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc
- [1135] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [1136] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [1137] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
- [1138] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [1139] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [1140] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [1141] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca
- [1142] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
- [1143] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
- [1144] gctggactccgacggctccttcttctctatagcagcctcaccgtggaca
- [1145] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
- [1146] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
- [1147] aggtggtggacagggaggcggtggacagggcgcgcgacggagaccactgtc
- [1148] cgctcgggccccggcggttgctgcccgtctgcacacggctccgcgcgtcgctg
- [1149] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt
- [1150] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgaacatgc
- [1151] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgcc
- [1152] gcgccctgctgctgcccagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
- [1153] gaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgacttggtagccaaag
- [1154] actgccactgcata (SEQ ID NO:81)。
- [1155] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[1156] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:82的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[1157] II.E.14 DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+)

[1158] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (Nde13) : DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至 DhCpmFc (-) 结构域的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (Nde13) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:78,和(ii) 包含DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[1159] 在某些实施方案中,提供了包含两个 DhCpmFc (-) - (G₄Q)₂-GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1160] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1161] (a) 两个DhCpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:283,

[1162] (b) 两个DhCpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:48,

[1163] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:55,和

[1164] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 78,各自通过肽键使GDF15 (Nde13) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) 结构域的C末端。

[1165] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1166] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1167] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1168] PIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1169] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHE

[1170] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGQGGGGQGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDL

[1171] GWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPC

[1172] CVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:84),

[1173] 其由以下核酸序列编码:

[1174] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc

[1175] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1176] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1177] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1178] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1179] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1180] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[1181] ggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtca

[1182] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag

[1183] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[1184] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[1185] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[1186] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcccctgtctccgggtgg

[1187] aggtggtggacagggaggcggtggacagggagaccactgtccgctcgggc
 [1188] ccggcgcttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgctggaagacctg
 [1189] ggctgggcccattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctatgtg
 [1190] catcggcgcgtgcccagccagttccggggcggcaaacatgcacgcgcaga
 [1191] tcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacggtgccagcgccttcg
 [1192] tgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacac
 [1193] cggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccact
 [1194] gcata (SEQ ID NO:83)。

[1195] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:47,其由核酸序列SEQ ID NO:51编码。

[1196] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:84的多肽链和两个具有序列SEQ ID NO:47的多肽链。

[1197] II.F. 带电荷对 (delHinge) 半胱氨酸夹

[1198] 可以将“半胱氨酸夹”突变引入Fc结构域,例如CpmFc (+) 结构域、CpmFc (-) 结构域、DhCpmFc (+) 结构域或DhCpmFc (-) 结构域。“半胱氨酸夹”突变通常包括通过突变将半胱氨酸在特定位置引入Fc结构域的CH3结构域,使得当与通过突变在特定位置将半胱氨酸引入CH3 结构域的另一Fc结构域一起孵育时可以在两个Fc结构域之间(例如在具有“半胱氨酸夹”突变的CpmFc (+) 结构域与具有“半胱氨酸夹”突变的CpmFc (-) 结构域之间,或者在具有“半胱氨酸夹”突变的 DhCpmFc (+) 结构域与具有“半胱氨酸夹”突变的DhCpmFc (-) 结构域之间)形成二硫键(半胱氨酸夹)。Fc结构域可以包含一个或多个这种半胱氨酸夹突变。

[1199] 在一个实施方案中,通过将丝氨酸至半胱氨酸突变(S354C)引入第一Fc结构域并且将酪氨酸至半胱氨酸突变(Y349C)引入第二Fc结构域而提供半胱氨酸夹。

[1200] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (S354C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(S354C)的DhCpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“DhCpmFc (+) (S354C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(S354C)的DhCpmFc (+) 结构域。本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(Y349C)的DhCpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“DhCpmFc (+) (Y349C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(Y349C)的DhCpmFc (+) 结构域。

[1201] 本公开中的名称“CpmFc (-) (S354C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(S354C)的CpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“CpmFc (+) (S354C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(S354C)的 CpmFc (+) 结构域。本公开中的名称“CpmFc (-) (Y349C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(Y349C)的CpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“CpmFc (+) (Y349C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(Y349C)的 CpmFc (+) 结构域。

[1202] 在另一个实施方案中,通过将亮氨酸至半胱氨酸突变(L351C)引入第一和Fc结构域而提供了半胱氨酸夹。

[1203] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (L351C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(L351C)的DhCpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“DhCpmFc (+) (L351C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(L351C)的DhCpmFc (+) 结构域。

[1204] 本公开中的名称“CpmFc (-) (L351C)”结构域指包含丝氨酸至半胱氨酸突变(L351C)的CpmFc (-) 结构域。本公开中的名称“CpmFc (+) (L351C)”结构域指包含丝氨酸至半

胱氨酸突变(L351C)的 CpmFc (+) 结构域。

[1205] C末端赖氨酸(K447) 任选可以在CpmFc (+) 结构域、CpmFc (-) 结构域或两者中缺失。这可能在例如当肽在C末端融合时有利于减少融合蛋白的蛋白质水解。

[1206] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含与含有半胱氨酸夹突变的CpmFc (+) 结构域连接的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含含有半胱氨酸夹突变的CpmFc (-) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至包含半胱氨酸夹突变的CpmFc (+) 结构域的C末端。在其他实施方案中,包含半胱氨酸夹突变的CpmFc (+) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[1207] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含与含有半胱氨酸夹突变的CpmFc (-) 结构域连接的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含含有半胱氨酸夹突变的CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至包含半胱氨酸夹突变的CpmFc (-) 结构域的C末端。在其他实施方案中,包含半胱氨酸夹突变的CpmFc (-) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[1208] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含与含有半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (+) 结构域连接的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含含有半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (-) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至包含半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (+) 结构域的C末端。在其他实施方案中,包含半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (+) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[1209] 在一些实施方案中,提供了包含以下的异二聚体:(i) 包含与含有半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (-) 结构域连接的GDF15区的第一多肽链,和(ii) 包含含有半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。在一些实施方案中,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至包含半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (-) 结构域的C末端。在其他实施方案中,包含半胱氨酸夹突变的DhCpmFc (-) 结构域的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[1210] 在一些实施方案中,提供了包含两个这种异二聚体的二聚体的四聚体,其中所述异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。参见图5关于包含两个异二聚体的四聚体的实施方案的图解描述,其中每个异二聚体包含:(i) 包含通过多肽接头连接至DhCpmFc (+) (L351C) 结构域的GDF15多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (-) (L351C) 结构域的第二多肽链。

[1211] II.F.1 DhCpmFc (+) (S354C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (-) (Y349C)

[1212] 本公开中的名称“DhCpmFc (+) (S354C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (-) (Y349C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCp mFc (+) (S354C) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C354与第二多肽链的C349之间的链间二硫键连接。

[1213] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (+) (S354C) -GDF1 5 (N3D) :DhCpmFc (-) (Y349C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1214] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1215] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

- [1216] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[1217] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[1218] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[1219] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[1220] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:85),
[1221] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
[1222] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[1223] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[1224] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[1225] WESNGQPENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[1226] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:284),
[1227] 和
[1228] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。
[1229] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
[1230] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[1231] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[1232] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[1233] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[1234] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL
[1235] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN
[1236] PMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:88),
[1237] 其由以下核酸序列编码:
[1238] gccccagagctgcttggtggaccatccgtgttctgtttctctccaaagcc
[1239] gaaggacaccctgatgatctcaagaactccggaagtgacttgcgctcgctcg
[1240] tggacgtgtccatgaggatccagaggtcaagttcaattggtatgtggac
[1241] ggagtggaagtgcataacgccaagaccaaaccgcaagaacagtacaa
[1242] tagcacctaccgctggtgagcgtccttactgtgctccaccaggactggc
[1243] ttaatgggaaggaatacaagtgttaaggtgtccaacaaggccctccccgct
[1244] cccatcgaaaagaccatctcaaaggcaaaggggcaaccaagggaacctca
[1245] agtgtacaccctgcctccgtgcaggaaggagatgaccaagaaccaggtca
[1246] gcctgacttgctcgtgaagggtcttctatcccagcgatattgctgtggaa
[1247] tgggagtcaaatggccagcccagagaataactacaaaactacccaccgct
[1248] gctgaaatctgatgggtccttcttcttactccaagctgaccgtggaca
[1249] agagccgctggcaacaaggcaatgtcttttagctgctcagtgatgatgag
[1250] gctctccataatactacactcagaagtcactgtccctgtcacctggcgc
[1251] gcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgc
[1252] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg
[1253] tcgccacgggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagacca
[1254] gttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc

[1255] tgaagccccgacacggtgccagcgcacctgctgcgtgccccgccagctacaat
 [1256] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagaccta
 [1257] tgatgacttgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:87)。
 [1258] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
 [1259] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [1260] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 [1261] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [1262] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHE
 [1263] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:86),
 [1264] 其由以下核酸序列编码:
 [1265] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
 [1266] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
 [1267] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [1268] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa
 [1269] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [1270] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [1271] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [1272] ggtgtgcaccctgcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
 [1273] gcctgacctgcctggtcaaagcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
 [1274] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1275] gctggactccgacggctccttcttctctatagcagcctcaccgtggaca
 [1276] agagcaggtggcagcaggggaacgtccttctcatgctccgtgatgcatgag
 [1277] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa
 [1278] a (SEQ ID NO:89)。

[1279] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:88的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:86的多肽链。

[1280] II.F.2 DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15:DhCpmFc (+) (S354C)

[1281] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15:DhCpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[1282] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15:DhCpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1283] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1284] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[1285] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [1286] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

- [1287] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [1288] WESNGQPENNYKTTTPVLSKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHE
- [1289] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:285) ,
- [1290] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [1291] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [1292] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [1293] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [1294] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMHE
- [1295] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:91) ,
- [1296] 和
- [1297] (c) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12。
- [1298] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [1299] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [1300] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [1301] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [1302] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMHE
- [1303] ALHNHYTQKSLSLSPGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVL
- [1304] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN
- [1305] PMVLIQKTDTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:93) ,
- [1306] 其由以下核酸序列编码:
- [1307] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
- [1308] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgg
- [1309] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [1310] ggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccgcgggaggagcagtacaa
- [1311] cagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [1312] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [1313] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [1314] ggtgtgcaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagggtca
- [1315] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
- [1316] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
- [1317] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
- [1318] agagcaggtggcagcaggggaacgtccttctcatgctccgtgatgatgag
- [1319] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgc
- [1320] gcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgc
- [1321] acacggtccgcgcgtcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg
- [1322] tcgccacgggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagacca
- [1323] gttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc
- [1324] tgaagcccagacaggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaat
- [1325] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagaccta

[1326] tgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:92)。

[1327] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下序列:

[1328] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1329] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1330] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1331] WESNGQPENNYKTTTPVLSKDSGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSHE

[1332] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:90) ,

[1333] 其由以下核酸序列编码:

[1334] gccccagagctgcttggtggaccatccgtgttctctgtttcctccaaagcc

[1335] gaaggacaccctgatgatctcaagaactccggaagtgacttgctgctgctg

[1336] tggacgtgtccatgaggatccagaggtcaagttcaattggtatgtggac

[1337] ggagtggaagtgcataacgccaagaccaaaccgcaagaacagtacaa

[1338] tagcacctaccgctggtgagcgtccttactgtgctccaccaggactggc

[1339] ttaatgggaaggaatacaagtgttaaggtgtccaacaaggccctccccgct

[1340] cccatcgaaaagaccatctcaaggcaaaggggcaaccaagggaacctca

[1341] agtgtacaccctgcctccgtgcaggaaggagatgaccaagaaccagggtca

[1342] gcctgacttgctctcgtgaagggcttctatcccagc gatattgctgtggaa

[1343] tgggagtcaaatggccagccccgagaataactacaaaactaccccaccgct

[1344] gctgaaatctgatgggtccttcttcttcttactccaagctgaccgtggaca

[1345] agagccgctggcaacaaggcaatgtctttagctgctcagtgatgcatgag

[1346] gctctccataatcactacactcagaagtcactgtccctgtctccgggtaa

[1347] a (SEQ ID NO:94)。

[1348] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:93的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:90的多肽链。

[1349] II.F.3 DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (S354C)

[1350] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽的C349与第二多肽的C354之间的链间二硫键连接。

[1351] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。可以在GDF15序列中引入N3D突变,例如以消除由N脱酰胺引起的不均一性。

[1352] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1353] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 285,

[1354] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 91,和

[1355] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[1356] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[1357] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1358] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1359] PIEKTIKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1360] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMSHHE

[1361] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL

[1362] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

[1363] PMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:96),

[1364] 其由以下核酸序列编码:

[1365] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc

[1366] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1367] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1368] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1369] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1370] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1371] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[1372] ggtgtgcaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagggtca

[1373] gcctgacctgcctggtcaaaggtcttatcccagcgacatcgccgtggag

[1374] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[1375] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[1376] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[1377] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgc

[1378] gcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgc

[1379] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg

[1380] tcgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagacca

[1381] gttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc

[1382] tgaagcccagacacggtgccagcgcctgctgcgtgcccagctacaat

[1383] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgctccagacct

[1384] tgatgacttgtagccaaagactgccaactgcata (SEQ ID NO:95)。

[1385] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:90,其由核酸序列SEQ ID NO:94编码。

[1386] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:96的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:90的多肽链。

[1387] II.F.4 DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (S354C)

[1388] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh CpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354

之间的链间二硫键连接。

[1389] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) : DhCpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。可以引入GDF15序列中N末端3个氨基酸的缺失 (Nde13),例如以消除由天冬酰胺脱酰胺或天冬氨酸异构化引起的不均一性。

[1390] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1391] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 285,

[1392] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 91,和

[1393] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。

[1394] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[1395] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1396] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1397] PIEKTIISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1398] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHE

[1399] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCLPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR

[1400] EVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMV

[1401] LIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:98),

[1402] 其由以下核酸序列编码:

[1403] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc

[1404] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1405] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1406] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1407] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1408] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1409] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[1410] ggtgtgcaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagggtca

[1411] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[1412] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[1413] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[1414] agagcaggtggcagcaggggaacgtccttctcatgctccgtgatgatgag

[1415] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg

[1416] agaccactgtccgctcgggcccggcgcttctgctgcccgtctgcacacggctc

[1417] gcgcgtcgttgaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgcacacgg

[1418] gaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggc

[1419] ggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccg

[1420] acacggtgccagcgcctgtgctgctgcccgcagctacaatcccatggtg

[1421] ctcatcctaaaagaccgacaccgggtgtcgtcctccagacctatgatgactt

[1422] gttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:97)。

[1423] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:90,其由核酸序列SEQ ID NO:94编码。

[1424] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:98的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:90的多肽链。

[1425] II.F.5 DhCpmFc(-)(Y349C)-G₄-GDF15(N3D):DhCpmFc(+)(S354 C)

[1426] 本公开中的名称“DhCpmFc(-)(Y349C)-G₄-GDF15(N3D):DhCpmFc(+)(S354C)”指包含以下的异二聚体:(i)包含通过接头连接至DhCpmFc(-)(Y349C)结构域的GDF15(N3D)多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15(N3D)多肽的N末端连接至DhCpmFc(-)(Y349C)结构域的C末端的序列SEQ ID NO:58,和(ii)包含 DhCpmFc(+)(S354C)结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[1427] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc(-)(Y349C)-G₄-GDF15(N3D):DhCpmFc(+)(S354C)异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1428] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1429] (a)两个DhCpmFc(+)(S354C)结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:285,

[1430] (b)两个DhCpmFc(-)(Y349C)结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:91,

[1431] (c)两个GDF15(N3D)多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和

[1432] (d)两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:58,各自通过肽键使GDF15(N3D)多肽的N末端连接至 DhCpmFc(-)(Y349C)结构域的C末端。

[1433] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1434] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1435] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1436] PIEKTIKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1437] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE

[1438] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGARDGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWA

[1439] DWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVP

[1440] ASYNPMVLIQKTDGTVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:100),

[1441] 其由以下核酸序列编码:

[1442] gcacctgaactcctggggggaccgctcagtccttctcttccccccaaaacc

[1443] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1444] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1445] ggcgtgaggtgcataatgccaaagaccgaggaggagcagtacaa

[1446] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1447] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1448] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [1449] ggtgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca
 [1450] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
 [1451] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1452] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgcacctcaccgtggaca
 [1453] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [1454] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcccctgtctccgggtgg
 [1455] tggaggtggtgcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggccccggcggtt
 [1456] gctgccgtctgcacacgggtccgcgcgctcgctggaagacctgggctgggcc
 [1457] gattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgc
 [1458] gtgccccagccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacga
 [1459] gcctgcaccgcctgaagccccgacacgggtgccagcgcctgctgcgtgccc
 [1460] gccagctacaatcccattggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtc
 [1461] gctccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:99)。

[1462] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:90,其由核酸序列SEQ ID NO:94编码。

[1463] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的异四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:100的单体和两个具有序列SEQ ID NO:90的单体。

[1464] II.F.6 DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (S3 54C)

[1465] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:64,和(ii) 包含 DhCpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354 之间的链间二硫键连接。

[1466] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄S)₂-GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1467] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体:

[1468] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 285,

[1469] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 91,

[1470] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和

[1471] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 64,各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至 DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端。

[1472] 在一个优选实施方案中,第一多肽包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1473] APELLGGPSVFLFPPKPKD^{TL}MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1474] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1475] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [1476] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHE
 [1477] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASL
 [1478] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
 [1479] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:102),
 [1480] 其由以下核酸序列编码:
 [1481] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
 [1482] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
 [1483] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [1484] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtaaa
 [1485] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [1486] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [1487] cccatcgagaaaacctctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [1488] ggtgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca
 [1489] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [1490] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1491] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [1492] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgag
 [1493] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
 [1494] aggtggtgatccggaggcgggtggaagcgcgcgcgacggagaccactgtc
 [1495] cgctcgggccccggcggttgctgcccgtctgcacacgggtccgcgcgtcgtg
 [1496] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt
 [1497] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgaacatgc
 [1498] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacgggtgcca
 [1499] gcgccctgctgctgcccgcagctacaatcccattggtgctcattcaaaa
 [1500] gaccgacaccggggtgtcgtcctcagacctatgatgacttgtagccaaag
 [1501] actgccactgcata (SEQ ID NO:101)。

[1502] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:90,其由核酸序列SEQ ID NO:94编码。

[1503] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的异四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:102的单体和两个具有序列SEQ ID NO:90的单体。

[1504] II.F.7 DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (S 354C)

[1505] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:78,和(ii) 包含 DhCpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354 之间的链间二硫键连接。

[1506] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (Y349C) - (G₄Q)₂-GDF15 (N3D) :

DhCpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1507] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1508] (a) 两个DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 285,

[1509] (b) 两个DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 91,

[1510] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和

[1511] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 78,各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至 DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端。

[1512] 在一个优选实施方案中,第一多肽包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1513] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1514] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1515] PIEKTIISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1516] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHE

[1517] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGQARDGDHCLPGPRCCRLHTVRASL

[1518] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV

[1519] APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:104),

[1520] 其由以下核酸序列编码:

[1521] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc

[1522] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[1523] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[1524] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa

[1525] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[1526] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[1527] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[1528] ggtgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca

[1529] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[1530] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[1531] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[1532] agagcaggtggcagcaggggaacgtccttctcatgctccgtgatgcatgag

[1533] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg

[1534] aggtggtggacagggaggcgggtggacaggcgcgcgacggagaccactgtc

[1535] cgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgcacacgggtccgcgctcgctg

[1536] gaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggagggtgcaagt

[1537] gaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgaacatgc

[1538] acgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacaggtgcca

[1539] gcgccctgctgctgcccgcagctacaatcccattggtgctcattcaaaa

[1540] gaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaag

[1541] actgccactgcata (SEQ ID NO:103)。

[1542] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:90,其由核酸序列SEQ ID NO:94编码。

[1543] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的异四聚体:两个具有序列SEQ ID NO:104的单体和两个具有序列SEQ ID NO:90的单体。

[1544] II.F.8. DhCpmFc (-) (L351C) - (G₄S)₂-GDF15:DhCpmFc (+) (L351C)

[1545] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (L351C) - (G₄S)₂-GDF15: DhCpmFc (+) (L351C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) (L351C) 结构域的GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) (L351C) 结构域的 C末端的序列SEQ ID NO:64,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (L351C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C351与第二多肽链的C351之间的链间二硫键连接。

[1546] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (L351C) - (G₄S)₂ -GDF15:DhCpmFc (+) (L351C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1547] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[1548] (a) 两个DhCpmFc (+) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[1549] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1550] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1551] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1552] WESNGQPENNYKTTTPVLSKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHE

[1553] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:286) ,

[1554] (b) 两个DhCpmFc (-) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[1555] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1556] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1557] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1558] WESNGQPENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHE

[1559] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:106) ,

[1560] (c) 两个GDF15多肽链(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

[1561] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 64,各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) (L351C) 结构域的C末端。

[1562] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(接头序列加双下划线):

[1563] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[1564] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[1565] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[1566] WESNGQPENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHE

[1567] ALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGGS ARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASL

[1568] EDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV

- [1569] APCCVPASYNPMVLIQKTDGVSLLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:108),
- [1570] 其由以下核酸序列编码:
- [1571] gcgccggaactgctggcgccgagcgtgtttctgtttccgccgaaacc
- [1572] gaaagataccctgatgattagccgcaccccggaagtgacctgctggtgg
- [1573] tggatgtgagccatgaagatccggaagtgaaatttaactggtatgtggat
- [1574] ggcgtggaagtgcataacgcgaaaaccaaaccgcgcgaagaacagtataa
- [1575] cagcacctatcgctggtgagcgtgctgaccgtgctgcatcaggattggc
- [1576] tgaacggcaaagaatataaatgcaaagtgagcaacaaagcgtgccggcg
- [1577] ccgattgaaaaaacattagcaaagcgaagccagccgcgcgaaccgca
- [1578] ggtgtataacctgcccgcgagccgcgaagaaatgacaaaaaacaggatga
- [1579] gcctgacctgacctggtgaaaggcttttatccgagcgatattgctggtaa
- [1580] tgggaaagcaacggccagccgaaaacaactatgataaccacccgccggt
- [1581] gctggatagcgatggcagctttttctgtatagcgatctgaccgtggata
- [1582] aaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaa
- [1583] gcgctgcataaccattataaccagaaaagcctgagcctgagccggggcg
- [1584] cggcggcggcagcggcggcggcggcagcgcgcgcaacggcgatcattgcc
- [1585] cgctgggcccgggcccgtgctgcccgcctgcataaccgtgcccgcgagcctg
- [1586] gaagatctgggctgggctgattgggtgctgagcccgcgcgaagtgcaggt
- [1587] gaccatgtgcattggcgcgtgcccagccagtttcgcgcggcgaacatgc
- [1588] atgcgcagattaaaaccagcctgcatgcctgaaaccggataaccgtgccg
- [1589] gcgccgtgctgctgcccggcagctataaccgatggtgctgattcagaa
- [1590] aaccgataaccggcgtgagcctgcagacctatgatgatctgctggcgaaag
- [1591] attgccattgcatt (SEQ ID NO:107)。
- [1592] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
- [1593] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [1594] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [1595] PIEKTIKAKGQPREPQVYTCPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [1596] WESNGQPENNYKTTTPVLSKDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSHE
- [1597] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:105),
- [1598] 其由以下核酸序列编码:
- [1599] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttcccccaaaacc
- [1600] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [1601] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [1602] ggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaacggcgggaggagcagtacaa
- [1603] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [1604] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [1605] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [1606] ggtgtacacctgtcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggatca
- [1607] gcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[1608] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [1609] gctggactccgacggctccttcttctctatagegacctcaccgtggaca
 [1610] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [1611] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa
 [1612] a (SEQ ID NO:109)。

[1613] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的异四聚体:两个具有序列 SEQ ID NO:108的单体和两个具有序列 SEQ ID NO:105的单体。

[1614] II.G.HSA

[1615] 本公开中的名称“HSA”或“人血清白蛋白”指包含直接或通过多肽接头连接至人血清白蛋白(HSA)多肽的GDF15区的融合蛋白。在一些实施方案中,融合蛋白包含两个或多个HSA多肽。

[1616] 通常,GDF15区的N末端直接或通过多肽接头连接至HSA多肽的C末端。然而,在一些实施方案中,HSA多肽的N末端直接或通过多肽接头连接至GDF15区的C末端。

[1617] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。参见图6关于一个这种同二聚体的实施方案的图解描述。或者,提供了包含一个这种融合蛋白和GDF15多肽或GDF突变体多肽的异二聚体,所述融合蛋白和 GDF15多肽或GDF突变体多肽通过融合蛋白的GDF15区与GDF15 多肽或突变体多肽之间的链间二硫键连接。

[1618] II.G.1 HSA-(G₄S)₄-GDF15:GDF15异二聚体

[1619] 本公开中的名称“HSA-(G₄S)₄-GDF15:GDF15”指包含以下的异二聚体:(i)包含通过接头连接至HSA多肽的GDF15多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列 SEQ ID NO:18,和(ii)包含GDF15多肽的第二多肽链。

[1620] 通常,第一多肽链和第二多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[1621] 更特别地,在一个具体实施方案中,异二聚体包含:

[1622] (a) 一个HSA多肽(第一单体),其包含以下序列:

[1623] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA

[1624] KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE

[1625] CFLQHKDDPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY

[1626] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC

[1627] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL

[1628] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA

[1629] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLA

[1630] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELQGE

[1631] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE

[1632] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK

[1633] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD

[1634] FAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL (SEQ ID NO:110),

[1635] 和

[1636] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列 SEQ ID NO: 12,和

[1637] (c) 一个多肽接头(第一单体),其包含通过肽键使GDF15多肽的 N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:18。

[1638] 在一个优选实施方案中,第一多肽包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[1639] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA
 [1640] KTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
 [1641] CFLQHKDDPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY
 [1642] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC
 [1643] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL
 [1644] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECKEPLLEKSHCIAEVENDEMPA
 [1645] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA
 [1646] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGE
 [1647] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE
 [1648] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
 [1649] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
 [1650] FAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL GGGGSGGGSGGGGS
 [1651] GGGGSARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCI
 [1652] GACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG
 [1653] VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:112),
 [1654] 其由以下核酸序列编码:
 [1655] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga
 [1656] aaatttcaaagccttggtggttgattgcctttgctcagtatcttcagcagt
 [1657] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgaaatgaagtaactgaatttga
 [1658] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca
 [1659] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct
 [1660] atgggtgaaatggctgactgctgtgcaaaaacaagaacctgagagaaatgaa
 [1661] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattgggtgag
 [1662] accagaggttgatgtgatgtgcactgcttttcatgacaatgaagagacat
 [1663] ttttgaaaaatacttataatgaaattgccagaagacatccttacttttat
 [1664] gccccggaactccttttctttgctaaaaggtataaaagctgcttttacaga
 [1665] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggttgccaaagctcgatg
 [1666] aacttcgggatgaagggaaggccttcgtctgccaacagagactcaagtgt
 [1667] gccagtctccaaaaatttggagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
 [1668] tcgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcaagaagtttccaagt
 [1669] tagtgacagatcttaccaaagtcacacggaatgctgccatggagatctg
 [1670] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
 [1671] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaatgctgtgaaaaacctctgt
 [1672] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
 [1673] gacttgccttcattagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
 [1674] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat

[1675] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
[1676] aagacatatgaaaccactctagagaagtgtgtgccgctgcagatcctca
[1677] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtggaagagc
[1678] ctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
[1679] taaaaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
[1680] agtgtcaactccaactctttagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
[1681] gcagcaaatgttgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
[1682] gactatctatccgtggctcctgaaccagttatgtgtgttgcagagaaaac
[1683] gccagtaagtgcagagtcaccaaagtctgcacagaatccttggtgaaca
[1684] ggcgacctgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
[1685] gaggtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacactttc
[1686] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
[1687] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
[1688] ttccgagctttttagagaagtgtgcaaggctgacgataaggagacctg
[1689] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgcggccagtcaggccgccttag
[1690] gcttaggaggtggtggatccggaggcgggtggaagcggaggtggtggatct
[1691] ggaggcgggtggaagcgcgcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccgg
[1692] gcgttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgctcgtggaagacctgggct
[1693] gggccgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtaccatgtgcatc
[1694] ggcgcgtgcccagccagttccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaa
[1695] gacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacaggtgccagcgccttgcg
[1696] tgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggg
[1697] gtgtcgtccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcat
[1698] atga (SEQ ID NO:111)。

[1699] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12,其由核酸序列SEQ ID NO:11编码。

[1700] 如上讨论的,提供了包含具有序列SEQ ID NO:112的第一多肽链和具有序列SEQ ID NO:12的第二多肽链的异二聚体。

[1701] II.G.2 HSA- $(G_4S)_4$ -GDF15

[1702] 本公开中的名称“HSA- $(G_4S)_4$ -GDF15”指包含通过接头连接至 HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:18。

[1703] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA- $(G_4S)_4$ -GDF15融合蛋白的同二聚体。

[1704] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1705] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[1706] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:12,和

[1707] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:18,各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[1708] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含氨基酸序列SEQ ID NO: 112,其由核酸序列SEQ ID NO:111编码。

[1709] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:112的融合蛋白的同二聚体。

[1710] II.G.3 HSA-GSPAPAPGS-GDF15

[1711] 本公开中的名称“HSA- (GSPAPAPGS) -GDF15”指包含通过接头连接至HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15 多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:113。

[1712] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA- (GSPAPAPGS) -GDF15融合蛋白的同二聚体。

[1713] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1714] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[1715] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和

[1716] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[1717] GSPAPAPGS (SEQ ID NO:113)

[1718] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[1719] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[1720] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCFEDHVKLVNEVTEFA

[1721] KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE

[1722] CFLQHKDDNPNL PRLV RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY

[1723] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC

[1724] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL

[1725] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA

[1726] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVLLLLRLA

[1727] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGE

[1728] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE

[1729] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK

[1730] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD

[1731] FAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GSPAPAPGS ARNGDH

[1732] CPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAAN

[1733] MHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLA

[1734] KDCHCI (SEQ ID NO:11S) ,

[1735] 其由以下核酸序列编码:

[1736] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga

[1737] aaatttcaaagccttggtggttgattgcctttgctcagtatcttcagcagt

[1738] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgaaatgaagtaactgaatttgca

[1739] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca

[1740] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct

[1741] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa

[1742] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag
[1743] accagaggttgatgtgatgtgcaactgcttttcatgacaatgaagagacat
[1744] ttttgaaaaatacttataatgaaattgccagaagacatccttacttttat
[1745] gccccggaactccttttcttctgctaaaaggtataaagctgcttttacaga
[1746] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggtgccaagctcgatg
[1747] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacagagactcaagtgt
[1748] gccagtctccaaaaatttgagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
[1749] tcgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcagaagttccaagt
[1750] tagtgacagatcttaccaaagtcacacggaatgctgccatggagatctg
[1751] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
[1752] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaaatgctgtgaaaaacctctgt
[1753] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
[1754] gacttgccttcattagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
[1755] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat
[1756] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
[1757] aagacatatgaaaccactctagagaagtgctgtgccgctgcagatcctca
[1758] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtggaagagc
[1759] ctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
[1760] taaaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
[1761] agtgtcaactccaactctttagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
[1762] gcagcaaattgtgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
[1763] gactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcatgagaaaac
[1764] gccagtaagtacagagtcaccaaattgctgcacagaatccttggtgaaca
[1765] ggcgacctgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
[1766] gagtttaattgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacacttct
[1767] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
[1768] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
[1769] ttcgcagctttttagagaagtgctgcaaggctgacgataaggagacctg
[1770] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgccggccagtcaggccgccttag
[1771] gcttaggatccccagctccagctccaggaagcgcgcgcaacggagaccac
[1772] tgtccgctcgggccccggcggttgctgcccgtctgcacacggtccgcgctc
[1773] gctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgctgccacgggaggtgc
[1774] aagtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgaac
[1775] atgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacaggt
[1776] gccagcgcctgctgctgctgcccgcagctacaatcccatggtgctcattc
[1777] aaaagaccgacaccggggtgctcctccagacctatgatgacttgttagcc
[1778] aaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:114)。

[1779] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:115 的融合蛋白的同二聚体。

[1780] II.G.4 HSA-GS (PAPAP)₂GS-GDF15

[1781] 本公开中的名称“HSA-GS (PAPAP)₂GS-GDF15”指包含通过接头连接至HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列 SEQ ID NO:116。

[1782] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA-GS (PAPAP)₂GS-GDF15融合蛋白的同二聚体。

[1783] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1784] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[1785] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和

[1786] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),包含以下序列:

[1787] GSPAPAPPAPPGS (SEQ ID NO:116)

[1788] 各自通过肽键使GDF-15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[1789] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[1790] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQPFEDHVKLVNEVTEFA

[1791] KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE

[1792] CFLQHKDDNPPLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY

[1793] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC

[1794] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL

[1795] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA

[1796] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA

[1797] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGE

[1798] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE

[1799] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK

[1800] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD

[1801] FAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GSPAPAPPAPPGSA

[1802] RNGDHCPLPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQ

[1803] FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTY

[1804] DDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:118),

[1805] 其由以下核酸序列编码:

[1806] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaagatttgggagaaga

[1807] aaatttcaaagccttggtggttgattgcctttgctcagtatcttcagcagt

[1808] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgaaatgaagtaactgaatttgca

[1809] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca

[1810] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct

[1811] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa

[1812] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag

[1813] accagaggttgatgtgatgtgactgcttttcatgacaatgaagagacat

[1814] ttttgaaaaatacttatatgaaattgccagaagacatccttacttttat

[1815] gccccggaactccttttctttgctaaaaggtataaagctgcttttacaga

[1816] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggttgccaaagctcgatg
[1817] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacagagactcaagtgt
[1818] gccagtctccaaaaatttgagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
[1819] tcgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcaagaagttccaagt
[1820] tagtgacagatcttaccaaagtccacacggaatgctgccatggagatctg
[1821] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
[1822] tcaagattcgatctccagtaaaactgaaggaatgctgtgaaaaacctctgt
[1823] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
[1824] gacttgccttcattagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
[1825] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttccctgggcatgtttttgatgaat
[1826] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
[1827] aagacatatgaaaccactctagagaagtgctgtgccgctgcagatcctca
[1828] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttggtggaagagc
[1829] ctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
[1830] tacaatttcagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
[1831] agtgtcaactccaactctttagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
[1832] gcagcaaattgtgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
[1833] gactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcatgagaaaac
[1834] gccagtaagtgcagagtcaccaaagtctgcacagaatccttggtgaaca
[1835] ggcgacctgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
[1836] gagtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacacttcc
[1837] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
[1838] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
[1839] ttgcagctttttagagaagtgctgcaaggctgacgataaggagacctg
[1840] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgccggccagtcaggccgccttag
[1841] gcttaggatcccagctccagctccaccgcacctgcccctggaagcgcg
[1842] cgcaacgggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtctgca
[1843] cacggtccgcgctgctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgt
[1844] cgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagaccag
[1845] ttccgggcggaacatgcacgcgagatcaagacgagcctgcaccgcct
[1846] gaagcccgcacgggtgccagcgcctgctgcgtgcccgcagctacaatc
[1847] ccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagacctat
[1848] gatgacttgttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:117)。

[1849] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:118 的融合蛋白的同二聚体。

[1850] II.G.5 HSA-GAAQAAQGS-GDF15

[1851] 本公开中的名称“HSA-GSAAQAAQGS-GDF15”指包含通过接头连接至HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使 GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列 SEQ ID NO: 119。

[1852] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA-GSAAQAAQQGS-GDF15融合蛋白的同二聚体。

[1853] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1854] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[1855] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和

[1856] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[1857] GSAAQAAQQGS (SEQ ID NO:119)

[1858] 各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[1859] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[1860] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQQPFEDHVKLVNEVTEFA

[1861] KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE

[1862] CFLQHKDDPNLPRLLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY

[1863] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC

[1864] ASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL

[1865] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA

[1866] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA

[1867] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCELFEQLGE

[1868] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE

[1869] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK

[1870] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD

[1871] FAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GSAAQAAQQGS ARNG

[1872] DHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA

[1873] ANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTD TGVSLSLQTYDDL

[1874] LAKDCHCI (SEQ ID NO:121),

[1875] 其由以下核酸序列编码:

[1876] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga

[1877] aaatttcaaagccttggtggttgattgcctttgctcagtatcttcagcagt

[1878] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgatgaagtaactgaatttgca

[1879] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca

[1880] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct

[1881] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa

[1882] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag

[1883] accagaggttgatgtgatgtgcactgcttttcatgacaatgaagagacat

[1884] ttttgaaaaatacttatatgaaattgccagaagacatccttacttttat

[1885] gccccggaactccttttctttgctaaaaggtataaagctgcttttacaga

[1886] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggttgccaaagctcgatg

[1887] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacagagactcaagtgt

[1888] gccagtctccaaaaatttgagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc

[1889] tcgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcagaagtttccaagt

[1890] tagtgacagatcttaccaaagtccacacggaatgctgccatggagatctg
 [1891] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
 [1892] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaatgctgtgaaaaacctctgt
 [1893] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
 [1894] gacttgccttcatttagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
 [1895] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat
 [1896] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
 [1897] aagacatatgaaaccactctagagaagtgctgtgcccgtgcagatcctca
 [1898] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtggaagagc
 [1899] ctcagaatttaatacaacaaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
 [1900] tacaatttcagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
 [1901] agtgtcaactccaactctttagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
 [1902] gcagcaaatgttgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
 [1903] gactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcagagaaaac
 [1904] gccagtaagtgacagagtcaccaaagtctgcacagaatccttggatgaaca
 [1905] ggcgacctgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
 [1906] gagtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacacttcc
 [1907] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
 [1908] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
 [1909] ttcgcagctttttagagaagtgctgcaaggctgacgataaggagacctg
 [1910] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgccggccagtcaggccgccttag
 [1911] gcttaggatccgccgctcaggctgcacagcaaggaagcgcgcgcaacgga
 [1912] gaccactgtccgctcgggcccgggcttctgcccgtctgcacacggctccg
 [1913] cgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacggg
 [1914] aggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcg
 [1915] gcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccga
 [1916] cacggtgccagcgcctgctgctgcccagctacaatcccattggtgc
 [1917] tcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttg
 [1918] ttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:120)。

[1919] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:121 的融合蛋白的同二聚体。

[1920] II.G.6 HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15

[1921] 本公开中的名称“HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15”指包含通过接头连接至HSA多肽的 GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使 GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列 SEQ ID NO: 122。

[1922] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个 HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15融合蛋白的同二聚体。

[1923] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1924] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

- [1925] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和
- [1926] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:
- [1927] GSAAQAAQQAQQAQGS (SEQ ID NO:122)
- [1928] 各自通过肽键使GDF-15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。
- [1929] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):
- [1930] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQQCFEDHVKLVNEVTEFA
- [1931] KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
- [1932] CFLQHKDDPNLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY
- [1933] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKC
- [1934] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL
- [1935] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA
- [1936] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA
- [1937] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGE
- [1938] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE
- [1939] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
- [1940] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
- [1941] FAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GSAAQAAQQAQQAQ
- [1942] QGSARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGA
- [1943] CPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVS
- [1944] LQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:124),
- [1945] 其由以下核酸序列编码:
- [1946] gatgcacacaagagtggaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga
- [1947] aaatttcaaagccttggtggttgattgcctttgctcagtatcttcagcagt
- [1948] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgaaatgaagtaactgaatttgca
- [1949] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca
- [1950] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct
- [1951] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa
- [1952] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag
- [1953] accagaggttgatgtgatgtgactgcttttcatgacaatgaagagacat
- [1954] ttttgaaaaatacttatatgaaattgccagaagacatccttacttttat
- [1955] gccccggaactccttttctttgctaaaagggtataaagctgcttttacaga
- [1956] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggttgccaaagctcgatg
- [1957] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacagagactcaagtgt
- [1958] gccagtctccaaaaatttgagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
- [1959] tcgctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcaagaagttccaagt
- [1960] tagtgacagatcttaccaaagtcacacggaatgctgccatggagatctg
- [1961] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
- [1962] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaatgctgtgaaaaacctctgt
- [1963] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct

[1964] gacttgccttcatttagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
[1965] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat
[1966] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
[1967] aagacatatgaaaccactctagagaagtgtgtgccgctgcagatcctca
[1968] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtggaagagc
[1969] ctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
[1970] tacaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
[1971] agtgtcaactccaactctttagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
[1972] gcagcaaattgtgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
[1973] gactatctatccgtggctcctgaaccagttatgtgtgttgcagagaaaac
[1974] gccagtaagtgcagagtcaccaaagtctgcacagaatccttgggtgaaca
[1975] ggcgaccatgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
[1976] gagtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacactttc
[1977] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
[1978] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
[1979] ttgcagctttttgtagagaagtgtgcaaggctgacgataaggagacctg
[1980] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgccggccagtcaggccgccttag
[1981] gcttaggatccgcccgtcaggctgcacagcaagcagcccaagcagctcag
[1982] caggaagcgcgcgcaacgggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttg
[1983] ctgccgtctgcacacggtccgcgctcgtggaagacctgggctgggccc
[1984] attgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcg
[1985] tgcccagaccagttccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaagacgag
[1986] cctgcaccgcctgaagcccgcacacggtgccagcgccttgcgtgccc
[1987] ccagctacaatcccatgggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctg
[1988] ctccagacctatgatgacttgttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:123)。

[1989] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:124 的融合蛋白的同二聚体。

[1990] II.G.7 HSA-GGNAEAAAKEAAAKEAAKAGG-GDF15

[1991] 本公开中的名称“HSA-GGNAEAAAKEAAAKEAAKAGG-GD F15”指包含通过接头连接至 HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:125。

[1992] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个 HSA-GGNAEAAAKEAAAKEAAKAGG-GDF 15融合蛋白的同二聚体。

[1993] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[1994] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[1995] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和

[1996] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[1997] GGNAEAAAKEAAAKEAAKAGG (SEQ ID NO:125)

[1998] 各自通过肽键使GDF-15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[1999] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[2000] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA
 [2001] KTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQKQEPERNE
 [2002] CFLQHKDDNPNL PRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY
 [2003] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELREDEGKASSAKQRLKC
 [2004] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL
 [2005] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA
 [2006] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA
 [2007] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGE
 [2008] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE
 [2009] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
 [2010] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
 [2011] FAAFVEKCKKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL GGNAEAAAKEAAAKE

[2012] AAAKEAAAKAGGARNGDHCPLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPRE

[2013] VQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVL

[2014] IQKTDGTGVS LQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:127),

[2015] 其由以下核酸序列编码:

[2016] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga
 [2017] aaatttcaaagccttggtggtgattgccttgctcagtatcttcagcagt
 [2018] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgatgaagtaactgaatttga
 [2019] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca
 [2020] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct
 [2021] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa
 [2022] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag
 [2023] accagaggttgatgtgatgtgcactgcttttcatgacaatgaagagacat
 [2024] ttttgaaaaatacttataatgaaattgccagaagacatccttactttat
 [2025] gccccggaactccttttcttgctaaaaggtataaagctgcttttacaga
 [2026] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggtgccaagctcgatg
 [2027] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacacagagactcaagtgt
 [2028] gccagctctcaaaaaatttgagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
 [2029] tcgctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcaagaagtttccaagt
 [2030] tagtgacagatcttaccaaagtcacacggaatgctgccatggagatctg
 [2031] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
 [2032] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaaatgctgtgaaaaacctctgt
 [2033] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
 [2034] gacttgcttccattagctgctgattttggtgaaagtaaggatggttgcaa
 [2035] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat
 [2036] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
 [2037] aagacatatgaaaccactctagagaagtgctgtgccgctgcagatcctca

[2038] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaaccctcttggtggaagagc
 [2039] ctcagaatttaatacaaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag
 [2040] taaaaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
 [2041] agtgtcaactccaactcttgtagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
 [2042] gcagcaaatggtgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
 [2043] gactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcatgagaaaac
 [2044] gccagtaagtgcagagtcaccaaagtctgcacagaatccttggtgaaca
 [2045] ggcgacctatgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
 [2046] gagtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacactttc
 [2047] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttggtgagctcgtga
 [2048] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
 [2049] ttgcgagctttttagagaagtgtgcaaggctgacgataaggagacctg
 [2050] ctttgccgaggagggtaaaaaacttggtgcccagtcaggccgccttag
 [2051] gcttaggaggcaacgccgaggctgccgctaaggaagccgctgccaaggag
 [2052] gccgcagcaaaagaggctgcagctaaggccggaggagcgcgcaacggaga
 [2053] ccaactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgctgcacacggtccgcg
 [2054] cgtcgctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtcgccacgggag
 [2055] gtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgc
 [2056] aaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgaca
 [2057] cggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaatcccatggtgctc
 [2058] attcaaaagaccgacaccggggtgctcgctccagacctatgatgacttggt
 [2059] agccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:126)。

[2060] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:127 的融合蛋白的同二聚体。

[2061] II.G.8 HSA- $(G_4S)_6$ -GDF15

[2062] 本公开中的名称“HSA- $(G_4S)_6$ -GDF15”指包含通过接头连接至 HSA多肽的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:128。

[2063] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA- $(G_4S)_6$ -GDF15融合蛋白的同二聚体。

[2064] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[2065] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[2066] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和

[2067] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含以下序列:

[2068] GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 128)

[2069] 各自通过肽键使GDF-15多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[2070] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[2071] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCPFEDHVKLVNEVTEFA

[2072] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCPFEDHVKLVNEVTEFA

[2073] KTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
 [2074] CFLQHKDDNPNLPRVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY
 [2075] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC
 [2076] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL
 [2077] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA
 [2078] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLA
 [2079] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNCLEFEQLGE
 [2080] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE
 [2081] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
 [2082] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
 [2083] FAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKLVAAASQAALGL GGGGSGGGSGGGGS
 [2084] GGGGSGGGSGGGGSARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLS
 [2085] PREVQVMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNP
 [2086] MVLIQKTDGTGVS LQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:130) ,
 [2087] 其由以下核酸序列编码:
 [2088] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgggagaaga
 [2089] aaatttcaaagccttggtggtgattgcctttgctcagtatcttcagcagt
 [2090] gtccatttgaagatcatgtaaaattagtgatgaagtaactgaatttga
 [2091] aaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaatcacttca
 [2092] taccctttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttcgtgaaacct
 [2093] atggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagagaaatgaa
 [2094] tgcttcttgcaacacaaagatgacaacccaaacctccccgattggtgag
 [2095] accagaggttgatgtgatgtgcactgcttttcatgacaatgaagagacat
 [2096] ttttgaaaaatacttataatgaaattgccagaagacatccttactttat
 [2097] gccccggaactccttttcttgctaaaaggtataaagctgcttttacaga
 [2098] atgttgccaagctgctgataaagctgcctgcctggttgccaaagctcgatg
 [2099] aacttcgggatgaagggaaggcttcgtctgccaacagagactcaagtgt
 [2100] gccagctcctcaaaaatttggagaaagagctttcaaagcatgggcagtagc
 [2101] tcgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgcaagaagtttccaagt
 [2102] tagtgacagatcttaccaaagtccacacggaatgctgccatggagatctg
 [2103] cttgaatgtgctgatgacagggcggaccttgccaagtatatctgtgaaaa
 [2104] tcaagattcgatctccagtaaactgaaggaatgctgtgaaaaacctctgt
 [2105] tggaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaaatgatgagatgcctgct
 [2106] gacttgccttcattagctgctgattttgttgaaagtaaggatgtttgcaa
 [2107] aaactatgctgaggcaaaggatgtcttctgggcatgtttttgtatgaat
 [2108] atgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgagacttgcc
 [2109] aagacatatgaaaccactctagagaagtgctgtgccgctgcagatcctca
 [2110] tgaatgctatgccaaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtggaagagc
 [2111] ctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagcttgagag

[2112] taaaaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaagtacccca
 [2113] agtgtcaactccaactctttagtagaggtctcaagaaacctaggaaaagtgg
 [2114] gcagcaaattgttgaacatcctgaagcaaaaagaatgccctgtgcagaa
 [2115] gactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcattgagaaaac
 [2116] gccagtaagtgcagagtcaccaaatgctgcacagaatccttggtgaaca
 [2117] ggcgacctatgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgttcccaaa
 [2118] gagtttaattgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgcacactttc
 [2119] tgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttgttgagctcgtga
 [2120] aacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttatggatgat
 [2121] ttgcgagctttttagagaagtgcctgcaaggctgacgataaggagacctg
 [2122] ctttgccgaggagggtaaaaaacttgttgccggccagtcaggccgccttag
 [2123] gcttaggaggtggtggctctggaggcgggtggaagcggaggcgggtgatcc
 [2124] ggaggcgggtggaagcggagggtggtgatctggaggcgggtggaagcgcgag
 [2125] caacggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttgcctgcctctgcaca
 [2126] cggctccgcgctcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgctg
 [2127] ccacgggaggtgcaagtaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagtt
 [2128] ccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctga
 [2129] agcccgcacgggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaatccc
 [2130] atggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgtccagacctatga
 [2131] tgacttgttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:129)。

[2132] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:130 的融合蛋白的同二聚体。

[2133] II.G.9 HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15 (N3D)

[2134] 本公开中的名称“HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15 (N3D)”指包含通过接头连接至HSA多肽的GDF15 (N3D)多肽的融合蛋白,所述接头包含使GDF15 (N3D)多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端的序列SEQ ID NO:122。

[2135] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接的两个HSA-GS (AAQAAQQ)₂GS-GDF15 (N3D)融合蛋白的同二聚体。

[2136] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[2137] (a) 两个HSA多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:110;

[2138] (b) 两个GDF15 (N3D)多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:52;和

[2139] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:122,各自通过肽键使GDF15 (N3D)多肽的N末端连接至HSA多肽的C末端。

[2140] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[2141] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQPFEDHVKLVNEVTEFA

[2142] KTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNE

[2143] CFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY

[2144] APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA CLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKC

[2145] ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL

[2146] LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA
 [2147] DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLA
 [2148] KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGE
 [2149] YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE
 [2150] DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPK
 [2151] EFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
 [2152] FAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL GSAAQAAQAAQAAQ
 [2153] QGSARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGA
 [2154] CPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVS
 [2155] LQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:242) ,
 [2156] 其由以下核酸序列编码:
 [2157] gatgcacacaagagtgaggttgctcatcgatttaaagatttgg
 [2158] gagaagaaaatttcaaagccttggtgttgattgcctttgctcagtatctt
 [2159] cagcagtgctccatttgaagatcatgtaaaattagtgaatgaagtaactga
 [2160] atttgcaaaaacatgtgttgctgatgagtcagctgaaaattgtgacaaat
 [2161] cacttcatacccttttggagacaaattatgcacagttgcaactcttctg
 [2162] gaaacctatggtgaaatggctgactgctgtgcaaaacaagaacctgagag
 [2163] aatgaatgcttcttgaacacaaagatgacaacccaaacctccccgat
 [2164] tggtagagaccagaggttgatgtgatgtgcactgcttttcatgacaatgaa
 [2165] gagacatttttgaaaaatacttatatgaaattgccagaagacatcctta
 [2166] cttttatgccccggaactccttttcttggctaaaaggtataaagctgctt
 [2167] ttacagaatggtgccaagctgctgataaagctgcctgcctgttgccaaag
 [2168] ctcatgaaacttcgggatgaagggaaggcttctgctgccaacagagact
 [2169] caagtgtgccagctctccaaaatttggagaaagagctttcaaagcatggg
 [2170] cagtagctgcctgagccagagatttcccaaagctgagtttgacagaagt
 [2171] tccaagttagtgacagatcttaccaaagtccacacggaatgctgcatgg
 [2172] agatctgcttgaatgtgctgatgacagggcgaccttgccaagtatatct
 [2173] gtgaaaatcaagattcgatctccagtaaaactgaaggaaatgctgtgaaaa
 [2174] cctctgttgaaaaatcccactgcattgccgaagtggaaaatgatgagat
 [2175] gcctgctgacttgcttccattagctgctgattttgttgaaagtaaggatg
 [2176] tttgcaaaaactatgctgaggcaaggatgtcttctgggcatgtttttg
 [2177] tatgaatatgcaagaaggcatcctgattactctgtcgtgctgctgctgag
 [2178] acttgccaagacatatgaaaccactctagagaagtgtgtgccgctgcag
 [2179] atcctcatgaatgctatgccaagtgttcgatgaatttaaacctcttgtg
 [2180] gaagagcctcagaatttaatacaacaaaattgtgagctttttgagcagct
 [2181] tggagagtacaaattccagaatgcgctattagttcgttacaccaagaaag
 [2182] taccccaagtgtcaactccaactctttagagaggtctcaagaaacctagga
 [2183] aaagtgggcagcaaatgttgtaaacatcctgaagcaaaaagaatgccctg
 [2184] tgcagaagactatctatccgtggtcctgaaccagttatgtgtgttgcag

[2185] agaaaacgccagtaagtgcacagagtcaccaaagtctgcacagaatccttg
 [2186] gtgaacaggcgaccatgcttttcagctctggaagtcgatgaaacatacgt
 [2187] tcccaaagagtttaatgctgaaacattcaccttccatgcagatatatgca
 [2188] cactttctgagaaggagagacaaatcaagaaacaaactgcacttggtgag
 [2189] ctcgtgaaacacaagcccaaggcaacaaaagagcaactgaaagctgttat
 [2190] ggatgatttcgcagctttttagagaagtgctgcaaggctgacgataagg
 [2191] agacctgctttgccgaggagggtaaaaaacttggtgctggccagtcaggcc
 [2192] gccttaggcttaggatccgccgctcaggctgcacagcaagcagcccaagc
 [2193] agctcagcaggggaagcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggccccg
 [2194] ggcgttgctgccgtctgcacacgggtccgcgctcgctggaagacctgggc
 [2195] tgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcat
 [2196] cggcgctgcccagccagttccgggcccgaacatgcacgcgagatca
 [2197] agacgagcctgcaccgctgaagcccagacgggtgccagcgcctgctgc
 [2198] gtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccgg
 [2199] ggtgtcgtccagacctatgatgacttggttagccaaagactgccactgca
 [2200] a (SEQ ID NO:241)。

[2201] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:242 的融合蛋白的同二聚体。

[2202] II.H. 具有解决对Fc γ R结合亲和力的突变的构建体

[2203] 发现某些带电荷对(delHinge)多聚体表现出Fc γ 受体(Fc γ R)结合,特别是对Fc γ RI和Fc γ RIII。参见例如实施例7。在一些情况下,Fc γ R结合亲和力与包含铰链区的多聚体中观察到的相当。这是出乎预料的,因为Fc γ 受体与铰链区相互作用,而这些多聚体是如上所述的 delHinge,缺乏全部或部分铰链区。与Fc γ R结合中涉及的Fc残基的突变分析表明,主要相互作用位点位于铰链区和CH2结构域(Tamm A,1997,Int.Rev.Immunol.16:57-85)。还参见,Radaev S等,J.Biol. Chem.276:16469-16477;Sondermann,P等,2000,Nature 406: 267-273。

[2204] 抗体依赖性细胞毒性(ADCC),一种主要由人的自然杀伤(NK)细胞介导的免疫反应,取决于人中Fc γ R、特别是Fc γ RIIIA与抗体或含Fc的蛋白的Fc结构域的相互作用。在ADCC中,Fc与NK细胞表面上Fc γ RIII的结合激活了NK细胞,NK细胞释放穿孔素和粒酶。

[2205] 相应地,提供了具有额外修饰以调节构建体与Fc γ R相互作用的构建体。在一系列实施方案中,将天冬酰胺至甘氨酸突变(N297G)引入天然Fc或Fc变体,包括上述各种Fc结构域。N297G突变去除了CH2结构域中保守的N糖基化位点。

[2206] 在另一系列实施方案中,从已经去除了全部或部分铰链区的Fc结构域缺失额外N末端氨基酸残基。例如,通过缺失野生型IgG1的Fc结构域的G236的N末端氨基酸残基而提供了以下氨基酸序列:

[2207] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
 [2208] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 [2209] ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 [2210] QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH

[2211] YTKSLSLSPGK (SEQ ID NO:303)

[2212] 在一些实施方案中,C末端赖氨酸 (K447) 任选地可以从该Fc变体缺失。通过缺失野生型IgG1的Fc结构域的G237的N末端氨基酸残基而提供了以下氨基酸序列:

[2213] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[2214] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[2215] SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[2216] PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHY

[2217] TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:304)

[2218] 在一些实施方案中,C末端赖氨酸 (K447) 任选地可以从该Fc变体缺失。通过缺失野生型IgG1的Fc结构域的G238的N末端氨基酸残基而提供了以下氨基酸序列:

[2219] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2220] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2221] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2222] ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT

[2223] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:305)

[2224] 在一些实施方案中,C末端赖氨酸 (K447) 任选地可以从该Fc变体缺失。

[2225] 在一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (-) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (N297G)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (+) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (N297G)”结构域)。

[2226] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (N297G) (S354C)”结构域)。

[2227] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (+) (Y349C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (N297G) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (-) (S354C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (N297G) (S354C)”结构域)。

[2228] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (+) (L351C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (N297G) (L351C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的DhCpmFc (-) (L351C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (N297G) (L351C)”结构域)。

[2229] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了丙氨酸至半胱氨酸突变 (A287C) 的DhCpmFc (-) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (A287C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丙氨酸至半胱氨酸突变 (A287C) 的DhCpmFc (+) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (A287C)”结构域)。

[2230] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了亮氨酸至半胱氨酸突变 (L306C) 的DhCpmFc (-) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (L306C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了亮氨酸至半胱氨酸突变 (L306C) 的DhCpmFc (+) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (L306C)”结构域)。

(L306C)”结构域)。

[2231] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 DhCpmFc (-) (A287C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (A287C) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 DhCpmFc (+) (A287C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (A287C) (Y349C)”结构域)。

[2232] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 DhCpmFc (-) (A287C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (A287C) (S354C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 DhCpmFc (+) (A287C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (A287C) (S354C)”结构域)。

[2233] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 DhCpmFc (-) (L306C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (L306C) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 DhCpmFc (+) (L306C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (L306C) (Y349C)”结构域)。

[2234] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 DhCpmFc (-) (L306C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (-) (L306C) (S354C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 DhCpmFc (+) (L306C) 结构域(本文称为“DhCpmFc (+) (A287C) (L306C)”结构域)。

[2235] 在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (-) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (+) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (+)”结构域)。

[2236] 在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (-) (Y349C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (+) (S354C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (+) (S354C)”结构域)。

[2237] 在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (+) (Y349C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (+) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了已经去除了N末端7个氨基酸的 DhCpmFc (-) (S354C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-) (S354C)”结构域)。

[2238] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的 CpmFc (+) 结构域(本文称为“CpmFc (+) (N297G)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的 CpmFc (-) 结构域(本文称为“CpmFc (-) (N297G)”结构域)。

[2239] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的 Dh2CpmFc (+) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (+) (N297G)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 的 Dh2CpmFc (-) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-) (N297 G)”结构域)。

[2240] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了丙氨酸至半胱氨酸突变 (A287C) 的 Dh2CpmFc (-) (N297G) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-) (N297 G) (A287C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了亮氨酸至半胱氨酸突变 (L306C) 的 Dh2CpmFc (+) (N297G) 结

构域(本文称为“Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C)”结构域)。

[2241] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域(本文称为“Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C)”结构域)。

[2242] 在另一个实施方案中,提供了向其N末端添加了两个甘氨酸的 Dh2CpmFc (-) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (-) (N297G)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了向其N末端添加了两个甘氨酸的 Dh2CpmFc (+) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (+) (N297G)”结构域)。

[2243] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 GG-Dh2CpmFc (-) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 GG-Dh2CpmFc (+) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)”结构域)。

[2244] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 GG-Dh2CpmFc (+) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (+) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 GG-Dh2CpmFc (-) 结构域(本文称为“GG-Dh2CpmFc (-) (S354C)”结构域)。

[2245] 在另一个实施方案中,提供了向其N末端添加了甘氨酸的 Dh2CpmFc (-) 结构域(本文称为“Dh3CpmFc (-) (N297G)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了向其N末端添加了甘氨酸的 Dh2CpmFc (+) 结构域(本文称为“Dh3CpmFc (+)”结构域)。

[2246] 在另一个实施方案中,提供了其中引入了酪氨酸至半胱氨酸突变 (Y349C) 的 Dh3CpmFc (-) 结构域(本文称为“Dh3CpmFc (-) (Y349C)”结构域)。在另一个实施方案中,提供了其中引入了丝氨酸至半胱氨酸突变 (S354C) 的 Dh3CpmFc (+) 结构域(本文称为“Dh3CpmFc (+) (S354C)”结构域)。

[2247] 在另一个实施方案中,将天冬酰胺至甘氨酸突变 (N297G) 引入 Dh 单Fc 结构域(本文称为“Dh单Fc (N297G)”结构域)。

[2248] II.H.1 DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G)

[2249] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至 Dh CpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的 GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含 DhCpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。

[2250] 在某些实施方案中,提供了包含两个 DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) : DhCpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2251] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2252] (a) 两个 DhCpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[2253] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2254] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2255] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2256] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE

- [2257] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:287) ,
- [2258] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [2259] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [2260] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [2261] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [2262] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVSMHE
- [2263] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:132) ,
- [2264] 和
- [2265] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [2266] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [2267] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [2268] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [2269] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [2270] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVSMHE
- [2271] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR
- [2272] EVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMV
- [2273] LIQKTDGTGSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:134) ,
- [2274] 其由以下核酸序列编码:
- [2275] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
- [2276] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
- [2277] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
- [2278] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcggaggagcagtacgg
- [2279] gacacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
- [2280] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
- [2281] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
- [2282] ggtgtacaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
- [2283] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
- [2284] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
- [2285] gctggactccgacggctccttcttctctatagcagctcaccgtggaca
- [2286] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgag
- [2287] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg
- [2288] agaccactgtccgctcgggccccggcgcttgctgccgtctgcacacgggcc
- [2289] gcgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacgg
- [2290] gaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggc
- [2291] ggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagccc
- [2292] acacggtgccagcgcctgtctgctgcccgcagctacaatcccatggtg
- [2293] ctattcaaaagaccgacaccgggtgtcgtcctccagacctatgatgactt
- [2294] gttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:133) 。
- [2295] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[2296] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [2297] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 [2298] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [2299] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
 [2300] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:131),
 [2301] 其由以下核酸序列编码:
 [2302] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaacc
 [2303] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
 [2304] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [2305] ggctgagggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacgg
 [2306] gacacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [2307] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [2308] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [2309] ggtgtacaccctgccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtca
 [2310] gcctgacctgacctggtcaaaggtcttatcccagcgcacatcgccgtggag
 [2311] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgt
 [2312] gctgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggaca
 [2313] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [2314] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa
 [2315] atga (SEQ ID NO:135)。

[2316] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:134的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:131的多肽链。

[2317] II.H.2 DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G)

[2318] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh CpmFc (-) (N297G) 结构域的c末端的GDF15 (N3D) 序列的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。

[2319] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2320] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2321] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 287,

[2322] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 132,和

[2323] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[2324] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2325] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2326] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2327] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2328] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
 [2329] ALHNHYTQKSLSPGARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL
 [2330] SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYN
 [2331] PMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:137),
 [2332] 其由以下核酸序列编码:
 [2333] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc
 [2334] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg
 [2335] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
 [2336] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtagcgg
 [2337] gagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
 [2338] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc
 [2339] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [2340] ggtgtacaccctgcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca
 [2341] gcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
 [2342] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccg
 [2343] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
 [2344] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [2345] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgc
 [2346] gcgacgagcagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgc
 [2347] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg
 [2348] tcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagacca
 [2349] gttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc
 [2350] tgaagcccagacaggtgccagcgcctgctgctgcccagctacaat
 [2351] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagaccta
 [2352] tgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:136)。

[2353] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:131,其由核酸序列SEQ ID NO:135编码。

[2354] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:137的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:131的多肽链。

[2355] II.H.3 DhCpmFc (-) (N297G) -G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G)

[2356] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) -G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含通过接头连接至DhCpmFc (-) (N297G) 结构域的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,所述接头包含使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至DhCpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:58,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。

[2357] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) -G₄-GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2358] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2359] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:

287,

[2360] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 132,

[2361] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52,和

[2362] (d) 两个多肽接头(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 58,各自通过肽键使GDF15 (N3D) 多肽的N末端连接至 DhCpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端。

[2363] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2364] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [2365] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 [2366] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [2367] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHE
 [2368] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGARDGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWA

[2369] DWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP

[2370] ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:139),

[2371] 其由以下核酸序列编码:

[2372] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc

[2373] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[2374] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[2375] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtagcgg

[2376] gagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[2377] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[2378] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[2379] ggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca

[2380] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[2381] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[2382] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[2383] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[2384] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgg

[2385] aggtggtggagcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggccccggcggtt

[2386] gctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgctggaagacctgggctgggcc

[2387] gattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgc

[2388] gtgcccagaccagttccgggcggaacatgcacgcgcagatcaagacga

[2389] gcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgccagcgcctgctgcgtgccc

[2390] gccagctacaatcccattggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtc

[2391] gctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:138)。

[2392] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:131,其由核酸序列SEQ ID NO:135编码。

[2393] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:139的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:131的多肽链。

[2394] II.H.4 DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (S354C)

[2395] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (S354C)”指包含以下的异二聚体: (i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链, 和 (ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) (S354C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[2396] 在某些实施方案中, 提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体, 其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2397] 更特别地, 在一个具体实施方案中, 四聚体包含:

[2398] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (S354C) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[2399] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2400] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2401] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2402] WESNGQPENNYKTTTPPVLSKDSGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSKVMHE

[2403] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:288),

[2404] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含以下序列:

[2405] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2406] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2407] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2408] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSKVMHE

[2409] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:141),

[2410] 和

[2411] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:55。

[2412] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2413] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2414] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2415] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2416] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSKVMHE

[2417] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR

[2418] EVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMV

[2419] LIQKTDGTGVSLSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:143),

[2420] 其由以下核酸序列编码:

[2421] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacc

[2422] caaggacaccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[2423] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[2424] ggcgtggaggtgcataatgccaaagcaagccgcgaggagcagtacgg
[2425] cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[2426] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggctccaacaagccctcccagcc
[2427] cccatcgagaaaacctctccaagccaaagggcagccccgagaaccaca
[2428] ggtgtgcaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccagggtca
[2429] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag
[2430] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
[2431] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca
[2432] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgag
[2433] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcccgtctccgggtgg
[2434] agaccactgtccgctcgggccccggcgcttgctgcccgtctgcacacggtc
[2435] gcgctcgcctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacgg
[2436] gaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagaccagttccgggc
[2437] ggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgctgaagccc
[2438] acacggtgccagcgcctgtctgctgcccgcagctacaatcccatggtg
[2439] ctcatcctaaaagaccgacaccgggtgtcgtccagacctatgatgactt
[2440] gttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:142)。

[2441] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[2442] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[2443] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[2444] PIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[2445] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHE
[2446] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:140) ,

[2447] 其由以下核酸序列编码:

[2448] gccccagagctgcttggtggaccatccgtgttctgtttctccaaagcc
[2449] gaaggacaccctgatgatctcaagaactccggaagtgacttgctcgtcgtc
[2450] tggacgtgtccatgaggatccagaggtcaagttcaattggtatgtggac
[2451] ggagtggaagtgcataacgccaaagcaaacccccgcaagaacagtacgg
[2452] gacacctaccgctggtgagcgtccttactgtgctccaccaggactggc
[2453] ttaatgggaaggaatacaagtgttaagggtccaacaaggccctcccgc
[2454] cccatcgaaaagacctctcaaaggcaaggggcaaccaagggaacctca
[2455] agtgtacaccctgcctccgtgcaggaaggagatgaccaagaaccagggtca
[2456] gcctgacttgctcgtgaagggttctatcccagcgatattgctgtggaa
[2457] tgggagtcaaatggccagccccgagaataactacaaaactacccaccgt
[2458] gctgaaatctgatgggtccttcttcttcttactccaagctgaccgtggaca
[2459] agagccgctggcaacaaggcaatgtctttagctgctcagtgatgatgag
[2460] gctctccataatcactacactcagaagtcactgtccctgtctccgggtaa
[2461] a (SEQ ID NO:144)。

[2462] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:143的多肽链和

两个包含序列SEQ ID NO:140的多肽链。

[2463] II.H.5 DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) (S354C)

[2464] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh CpmFc (+) (N297G) (S354C)”指包含以下的异二聚体: (i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (N 3D) 多肽的第一多肽链, 和 (ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) (S435C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[2465] 在某些实施方案中, 提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (Y349 C) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (N297G) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体, 其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2466] 更特别地, 在一个具体实施方案中, 四聚体包含:

[2467] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (S354C) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含序列SEQ ID NO:288,

[2468] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域, 其包含序列SEQ ID NO:141, 和

[2469] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列SEQ ID NO:52。

[2470] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2471] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2472] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2473] PIEKTIKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2474] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVME

[2475] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL

[2476] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

[2477] PMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:146),

[2478] 其由以下核酸序列编码:

[2479] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccccaaaacc

[2480] caaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgg

[2481] tggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggac

[2482] ggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcggaggagcagtcagg

[2483] gaccacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc

[2484] tgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[2485] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca

[2486] ggtgtgcaccctgcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtca

[2487] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggag

[2488] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt

[2489] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggaca

[2490] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag

[2491] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtgc

[2492] gcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgc

[2493] acacggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctg

- [2494] tcgccacgggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgctgccccgagcca
- [2495] gttccggggcgcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcc
- [2496] tgaagcccgacacggtgccagcgcctgctgctgccccgagctacaat
- [2497] cccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagaccta
- [2498] tgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:145)。
- [2499] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:140,其由核酸序列SEQ ID NO:144编码。
- [2500] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:146的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:140的多肽链。
- [2501] II.H.6 DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297C) (L351C)
- [2502] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L351C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C351与第二多肽链的C351之间的链间二硫键连接。
- [2503] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [2504] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [2505] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [2506] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [2507] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [2508] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [2509] WESNGQPENNYKTTTPVLSKDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
- [2510] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:289) ,
- [2511] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [2512] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [2513] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [2514] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [2515] WESNGQPENNYDTTPVLDSDGFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
- [2516] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:148) ,
- [2517] 和
- [2518] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [2519] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [2520] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [2521] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2522] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[2523] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHE
[2524] ALHNHYTQKSLSLSPGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVL
[2525] SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYN
[2526] PMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:150) ,
[2527] 其由以下核酸序列编码:
[2528] gcgccggaactgctggcgccgagcgtgtttctgtttccgccgaaacc
[2529] gaaagataccctgatgattagccgcaccccggaagtgacctgctgtggtgg
[2530] tggatgtgagccatgaagatccggaagtgaaatttaactggtatgtggat
[2531] ggctgtggaagtgcataacgcgaaaaccaaaccgcgcgaagaacagtatgg
[2532] cagcacctatcgctgtggtgagcgtgctgacctgctgcatcaggattggc
[2533] tgaacggcaaagaatataaatgcaaagtgagcaacaaagcgtgccggcg
[2534] ccgattgaaaaaacattagcaaagcgaaggccagccgcgcgaaccgca
[2535] ggtgtataacctgcccgcgagccgcaaagaaatgacaaaaaacaggatga
[2536] gcctgacctgacctggtgaaaggcttttatccgagcgcgatattgctggtgaa
[2537] tgggaaagcaacggccagccgaaaacaactataaaaccaccccgccggt
[2538] gctgaaaagcgcgatggcagctttttctgtatagcaaacctgacctggata
[2539] aaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaa
[2540] gcgctgcataaccattataccagaaaagcctgagcctgagcccgggcgc
[2541] gcgcaacggcgatcattgcccgcctgggcccggcgcctgctgcccctgc
[2542] atacctgctgcgcgagcctggaagatctgggctgggaggattgggtgctg
[2543] agcccgcgcgaagtgcaggtgacctgtgcatggtggcgtgcccagcca
[2544] gtttgcgcggcgcaacatgcatgctgcagattaaaaccagcctgcatcgcc
[2545] tgaaccggataacctgcccgcgcctgctgctgctgcccgcgagctataac
[2546] ccgatggtgctgattcagaaaaccgataaccggcgtgagcctgcagacct
[2547] tgatgatctgctggcgaaagattgccattgcatt (SEQ ID NO:149) 。
[2548] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[2549] APELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[2550] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[2551] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[2552] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHE
[2553] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:147) ,
[2554] 其由以下核酸序列编码:
[2555] gcacctgaactcctggggggaccgtcagctcttctcttcccccaaaacc
[2556] caaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctgtggtgg
[2557] tggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggac
[2558] ggctgtgaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtagcg
[2559] gacacgtacctgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggc
[2560] tgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc

[2561] cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaca
 [2562] ggtgtacacctgtcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtca
 [2563] gcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggag
 [2564] tgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgt
 [2565] gctggactccgacggctccttcttctctatagcgcacctcaccgtggaca
 [2566] agagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgag
 [2567] gctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa
 [2568] a (SEQ ID NO:151)。

[2569] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:150的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:147的多肽链。

[2570] II.H.7 DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) (L351C)

[2571] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) (L351C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端通过肽键直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含 DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C351与第二多肽链的C351之间的链间二硫键连接。

[2572] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (L351 C) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2573] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2574] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:289,

[2575] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (L351C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:148,和

[2576] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[2577] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2578] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2579] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2580] PIEKTISKAKGQPREPQVYTCPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2581] WESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMH

[2582] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPGRCCLHTVRSLEDLGWADWVL

[2583] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

[2584] PMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:153),

[2585] 其由以下核酸序列编码:

[2586] gcgccggaactgctgggcggccccgagcgtgtttctgtttccgccgaaacc

[2587] gaaagataccctgatgattagccgcacccccggaagtgacctgctggtgg

[2588] tggatgtgagccatgaagatccggaagtgaaatttaactggtatgtggat

[2589] ggcgtggaagtgcataacgcgaaaaccaaaccgcgcgaagaacagtatgg

[2590] cagcacctatcgctggtgagcgtgctgaccgtgctgcatcaggattggc

[2591] tgaacggcaagaatataaatgcaaagtgagcaacaaagcgtgccggcg
 [2592] ccgattgaaaaaacatttagcaaagcgaagccagccgcgcaaccgca
 [2593] ggtgtatacctgcccgcgagccgcaaagaaatgacccaaaaccaggtga
 [2594] gcctgacctgcctggtgaaaggcttttatccgagcgatattgcggtgaa
 [2595] tgggaaagcaacggccagccgaaaacaactataaaaccaccccgccggt
 [2596] gctgaaaagcgatggcagcttttttctgtatagcaaactgaccgtggata
 [2597] aaagccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaa
 [2598] gcgctgcataaccattataccagaaaagcctgagcctgagcccgggcgc
 [2599] gcgcatggcgatcattgcccgtgggcccggcgcgtgctgccgcctgc
 [2600] ataccgtgcgcgagcctggaagatctgggctgggcccggattgggtgctg
 [2601] agcccgcgcaagtgagcaggtgacatgtgcattggcgcgtgccgagcca
 [2602] gtttcgcgcggaacatgcatgcgagattaaaaccagcctgcatcgcc
 [2603] tgaaccggataaccgtgcccgcgctgctgctgcccggcgagctataac
 [2604] ccgatggtgctgattcagaaaaccgataccggcgtgagcctgcagaccta
 [2605] tgatgatctgctggcgaaagattgccattgcatt (SEQ ID NO:152)。

[2606] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:147,其由核酸序列SEQ ID NO:151编码。

[2607] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:153的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:147的多肽链。

[2608] II.H.8 DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297C) (L306C)

[2609] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域的第二多肽链。

[2610] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2611] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2612] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[2613] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2614] GVEVHNCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2615] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2616] WESNGQPENNYKTTTPV LKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2617] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:290),

[2618] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[2619] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

- [2620] GVEVHCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[2621] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[2622] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[2623] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:268),
[2624] 和
[2625] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:55。
[2626] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:
[2627] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[2628] GVEVHCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[2629] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
[2630] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
[2631] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR
[2632] EVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMV
[2633] LIQKTDGTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:269),
[2634] 其由以下核酸序列编码:
[2635] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc
[2636] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
[2637] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta
[2638] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcgggaggagc
[2639] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccag
[2640] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct
[2641] cccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaagggcagccccgag
[2642] aaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaac
[2643] caggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
[2644] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc
[2645] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc
[2646] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
[2647] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
[2648] cgggtggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgcac
[2649] acggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgct
[2650] gccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagt
[2651] tccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
[2652] aagcccagacaggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaatcc
[2653] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgtccagacctatg
[2654] atgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:270)。
[2655] 在一个优选实施方案中, 第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[2656] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
[2657] GVEVHCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
[2658] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2659] WESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
 [2660] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:267) ,
 [2661] 其由以下核酸序列编码:
 [2662] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc
 [2663] caaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
 [2664] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtg
 [2665] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcgggaggagc
 [2666] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccag
 [2667] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct
 [2668] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag
 [2669] aaccacaggtgtacaccctgccccatcccgaaggagatgaccaagaac
 [2670] caggtcagcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
 [2671] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgc
 [2672] ctcccgtgctgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcacc
 [2673] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgat
 [2674] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
 [2675] cgggtaaa (SEQ ID NO:271) 。

[2676] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:269的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:267的多肽链。

[2677] II.H.9 DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297C) (L306C)

[2678] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (N3D) :Dh CpmFc (+) (N297G) (L306C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域的C末端的GDF15 (N 3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域的第二多肽链。

[2679] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287 C) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2680] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2681] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:290,

[2682] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:268,

[2683] 和

[2684] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[2685] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2686] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2687] GVEVHNCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2688] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2689] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE

- [2690] ALHNHYTQKSLSPGARDGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVL
- [2691] SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYN
- [2692] PMVLIQKTDGTGVS LQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:272),
- [2693] 其由以下核酸序列编码:
- [2694] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc
- [2695] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
- [2696] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta
- [2697] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcgggaggagc
- [2698] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccag
- [2699] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct
- [2700] cccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag
- [2701] aaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaac
- [2702] caggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
- [2703] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc
- [2704] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctacc
- [2705] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
- [2706] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
- [2707] cgggtgcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgc
- [2708] cgtctgcacacggtccgcgctcgtggaagacctgggctgggcccattg
- [2709] ggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcc
- [2710] cgagccagttccgggcggaacatgcacgcgagatcaagacgagcctg
- [2711] caccgcctgaagcccgcacgggtgccagcgcctgctgctgcccggcag
- [2712] ctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgtcc
- [2713] agacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:273)。
- [2714] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:267,其由核酸序列SEQ ID NO:271编码。
- [2715] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:272的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:267的多肽链。
- [2716] II.H.10 DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :D hCpmFc (+) (N297C) (L306C) (S354C)
- [2717] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349 C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含D hCpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域的第二多肽链。
- [2718] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287 C) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [2719] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [2720] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含

以下序列：

[2721] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2722] GVEVHNCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2723] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2724] WESNGQPENNYKTTTPV LKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2725] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:291) ,

[2726] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[2727] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2728] GVEVHNCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2729] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2730] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2731] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:275) ,

[2732] 和

[2733] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。

[2734] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2735] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2736] GVEVHNCKTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2737] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2738] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2739] ALHNHYTQKSLSLSPGGDHCLPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSR

[2740] EVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMV

[2741] LIQKTDGTGVS LQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:276) ,

[2742] 其由以下核酸序列编码:

[2743] gcacctgaactcctggggggaccgctcagtccttctcttcccc

[2744] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc

[2745] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta

[2746] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcgggaggagc

[2747] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccag

[2748] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccct

[2749] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag

[2750] aaccacaggtgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaac

[2751] caggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc

[2752] cgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc

[2753] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctacc

[2754] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat

[2755] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc

[2756] cgggtggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtctgcac

[2757] acggtccgcgcgtcgtggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtc

[2758] gccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgctgccccgagccagt
 [2759] tccgggcggaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
 [2760] aagccccgacacggtgccagcgcctgctgcgtgccccgagctacaatcc
 [2761] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatg
 [2762] atgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:277)。

[2763] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[2764] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2765] GVEVHNCCKTPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2766] PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2767] WESNGQPENNYKTTTPV LKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2768] ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:274),

[2769] 其由以下核酸序列编码:

[2770] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtcttctcttcccc

[2771] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc

[2772] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta

[2773] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcggaggagc

[2774] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtgctccaccag

[2775] gactggcttaatgggaaggaatacaagtgttaaggtgtccaacaaggccct

[2776] ccccgctcccatcgaaaagaccatctcaaaggcaaaggggcaaccaagg

[2777] aacctcaagtgtacaccctgcctccgtgcaggaaggagatgaccaagaac

[2778] caggtcagcctgacttgtctcgtgaagggttctatcccagcgatattgc

[2779] tgtggaatgggagtc aaatggccagcccgagaataactacaaaactaccc

[2780] caccgtgctgaaatctgatgggtccttcttcttcttactccaagctgacc

[2781] gtggacaagagccgctggcaacaaggcaatgtcttttagctgctcagtgat

[2782] gcatgaggctctccataatcactacactcagaagtcactgtccctgtctc

[2783] cgggtaaa (SEQ ID NO:278)。

[2784] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:276的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:274的多肽链。

[2785] II.H.11 DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (N3D) :D hCpmFc (+) (N297C) (L306C) (S354C)

[2786] 本公开中的名称“DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349 C) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域的第二多肽链。

[2787] 在某些实施方案中,提供了包含两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287 C) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2788] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2789] (a) 两个DhCpmFc (+) (N297G) (L306C) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含

序列SEQ ID NO:291,

[2790] (b) 两个DhCpmFc (-) (N297G) (A287C) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:275,

[2791] 和

[2792] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[2793] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2794] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[2795] GVEVHNCCKTPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[2796] PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[2797] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE

[2798] ALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCP LGGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL

[2799] SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

[2800] PMVLIQKTDGTGVS LQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:279) ,

[2801] 其由以下核酸序列编码:

[2802] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc

[2803] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc

[2804] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta

[2805] cgtggacggcgtggaggtgcataattgcaagacaaagccgcgggaggagc

[2806] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccag

[2807] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccct

[2808] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag

[2809] aaccacaggtgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaac

[2810] caggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc

[2811] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc

[2812] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc

[2813] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat

[2814] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc

[2815] cgggtgcgcgcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgc

[2816] cgtctgcacacggtccgcgctcgtggaagacctgggctgggccgattg

[2817] ggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcc

[2818] cgagccagttccgggcggaacatgcacgcgagatcaagacgagcctg

[2819] caccgctgaagcccgcacaggtgccagcgccctgctgctgcccgcag

[2820] ctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgtcc

[2821] agacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:280) 。

[2822] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:274,其由核酸序列SEQ ID NO:278编码。

[2823] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:279的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:274的多肽链。

[2824] II.H.12 Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+)

[2825] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+)”指包含以下的异二聚体：(i) 包含其N末端直接连接至Dh2CpmFc (-) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链，和(ii) 包含 Dh2CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[2826] 在某些实施方案中，提供了包含两个Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde1 3) :Dh2CpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体，其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2827] 更特别地，在一个具体实施方案中，四聚体包含：

[2828] (a) 两个Dh2CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[2829] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2830] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2831] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2832] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT

[2833] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:292) ,

[2834] (b) 两个Dh2CpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[2835] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2836] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2837] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2838] ENNYDTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT

[2839] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:155) ,

[2840] 和

[2841] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个)，其包含序列 SEQ ID NO:55。

[2842] 在一个优选实施方案中，第一多肽链包含以下氨基酸序列：

[2843] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2844] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2845] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2846] ENNYDTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT

[2847] QKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMC

[2848] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDI

[2849] GVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:157) ,

[2850] 其由以下核酸序列编码：

[2851] ccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc

[2852] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgagccacgaagacc

[2853] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc

[2854] aagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag

[2855] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt

[2856] gcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctcc

[2857] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatc

[2858] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaag

[2859] gcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccg

[2860] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
[2861] cttcctctatagcgacctaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
[2862] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
[2863] cagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccgctcgggcc
[2864] cgggcgttgctgccgtctgcacacgggtccgcgctcgctggaagacctgg
[2865] gctgggccgattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgc
[2866] atcggcgcgtgcccagaccagttccgggcggcaaacatgcacgcgcagat
[2867] caagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacgggtgccagcgcctgtc
[2868] gcgtgcccgccagctacaatcccattggtgctcattcaaaagaccgacacc
[2869] ggggtgtcgctccagacctatgatgacttggttagccaaagactgccactg
[2870] cata (SEQ ID NO:156)。

[2871] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[2872] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
[2873] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[2874] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[2875] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYT
[2876] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:154) ,

[2877] 其由以下核酸序列编码:

[2878] ccgtcagtccttctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctc
[2879] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggaggcgtgagccacgaagacc
[2880] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc
[2881] aagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag
[2882] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt
[2883] gcaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
[2884] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatc
[2885] ccggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag
[2886] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg
[2887] gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagtccgacggctcctt
[2888] cttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
[2889] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
[2890] cagaagagcctctccctgtctccgggtaaatga (SEQ ID NO:158)

[2891] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:157的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:154的多肽链。

[2892] II.H.13 Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+)

[2893] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端通过肽键直接连接至Dh2CpmFc (-) 结构域的c末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和 (ii) 包含Dh2CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[2894] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N3 D) :DhCpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的

链间二硫键连接。

[2895] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[2896] (a) 两个Dh2CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:292,

[2897] (b) 两个Dh2CpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:155,
和

[2898] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[2899] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[2900] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2901] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2902] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2903] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYT

[2904] QKSLSLSPGARDGDHCLPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQV

[2905] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQK

[2906] TDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:160),

[2907] 其由以下核酸序列编码:

[2908] ccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc

[2909] ccggacccttgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagacc

[2910] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc

[2911] aagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag

[2912] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt

[2913] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc

[2914] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatc

[2915] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggtcaaag

[2916] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg

[2917] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt

[2918] cttcctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga

[2919] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg

[2920] cagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagaccactgtcc

[2921] gctcgggccccggcgcttctgctgccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtgg

[2922] aagacctgggctgggcccattgggtgctgtcggccagggaggtgcaagtg

[2923] accatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccgaacatgca

[2924] cgcgcatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacaggtgccag

[2925] cgccctgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaag

[2926] accgacaccgggtgtcgtcctcagacctatgatgacttgtagccaaaga

[2927] ctgccactgcata (SEQ ID NO:159)。

[2928] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:154,其由核酸序列SEQ ID NO:158编码。

[2929] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:160的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:154的多肽链。

[2930] II.H.14 Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (S35 4C)

[2931] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :Dh2Cpm Fc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体：(i) 包含其N末端直接连接至D h2CpmFc (-) (Y349C) 结构域的c末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链，和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[2932] 在某些实施方案中，提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF 15 (Nde13) : Dh2CpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体，其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[2933] 更特别地，在一个具体实施方案中，四聚体包含：

[2934] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[2935] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2936] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2937] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2938] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT

[2939] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:293) ，

[2940] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[2941] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2942] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2943] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2944] ENNYDTTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT

[2945] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:162) ，

[2946] 和

[2947] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个)，其包含序列 SEQ ID NO:55。

[2948] 在一个优选实施方案中，第一多肽链包含以下氨基酸序列：

[2949] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[2950] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[2951] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[2952] ENNYDTTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT

[2953] QKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMC

[2954] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDI

[2955] GVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:164) ，

[2956] 其由以下核酸序列编码：

[2957] ccgtcagttctctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctc

[2958] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggaggacgtgagccacgaagacc

[2959] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc

[2960] aagacaaagccgcggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag

[2961] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt

[2962] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc

[2963] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgccccatc
[2964] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggtcaaag
[2965] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg
[2966] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
[2967] cttcctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
[2968] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
[2969] cagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccgctcgggcc
[2970] cgggcgttgctgccgtctgcacacgggtccgcgcgtcgctggaagacctgg
[2971] gctgggccgattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctatgtgc
[2972] atcggcgcgtgccccagccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagat
[2973] caagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacaggtgccagcgcctgct
[2974] gcgtgccccgccagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacacc
[2975] ggggtgtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactg
[2976] cata (SEQ ID NO:163)。

[2977] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[2978] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
[2979] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[2980] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[2981] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT
[2982] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:161) ,

[2983] 其由以下核酸序列编码:

[2984] ccatccgtgttctgtttcctccaaagccgaaggacaccctgatgatctc
[2985] aagaactccggaagtgacttgctgctcgctggacgtgtcacatgaggatc
[2986] cagaggtcaagttcaattggtatgtggacggagtggaagtgcataacgcc
[2987] aagaccaaaccgccgaagaacagtacaatagcacctaccgctgggtgag
[2988] cgtccttactgtgctccaccaggactggcttaatgggaaggaatacaagt
[2989] gtaaggtgtccaacaaggccctcccgcctcccatcgaaaagaccatctca
[2990] aaggcaaaggggcaaccaagggaaacctcaagtgtacacctgcctccgtg
[2991] caggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgtctcgtgaagg
[2992] gcttctatcccagcgatattgctgtggaatgggagtcaaatggccagccc
[2993] gagaataactacaaaactaccccaccgtgctgaaatctgatgggtcctt
[2994] cttcctttactccaagctgaccgtggacaagagccgctggcaacaaggca
[2995] atgtcttttagctgctcagtgatgcatgaggctctccataatcactacact
[2996] cagaagtcaactgtccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:165)。

[2997] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:164的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:161的多肽链。

[2998] II.H.15 Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (S354 C)

[2999] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) : Dh2CpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的

GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链, 和 (ii) 包含 Dh2CpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的 C349 与第二多肽链的 C354 之间的链间二硫键连接。

[3000] 在某些实施方案中, 提供了包含两个 Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF 15 (N3D) : Dh2CpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体, 其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自 GDF15 区之间的链间二硫键连接。

[3001] 更特别地, 在一个具体实施方案中, 四聚体包含:

[3002] (a) 两个 Dh2CpmFc (+) (S354C) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO: 293,

[3003] (b) 两个 Dh2CpmFc (-) (Y349C) 结构域 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO: 162, 和

[3004] (c) 两个 GDF15 (N3D) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO: 52。

[3005] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3006] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[3007] KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3008] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3009] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYT

[3010] QKSLSLSPGARDGDHCLPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQV

[3011] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQK

[3012] TDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO: 167),

[3013] 其由以下核酸序列编码:

[3014] ccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc

[3015] ccggacccttgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc

[3016] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc

[3017] aagacaaagccgcgaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcag

[3018] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt

[3019] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc

[3020] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgccccatc

[3021] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag

[3022] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg

[3023] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt

[3024] ctctctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga

[3025] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg

[3026] cagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagaccactgtcc

[3027] gctcgggccccggcgcttctgctgcccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtgg

[3028] aagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagt

[3029] accatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgca

[3030] cgcgcatgcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccag

[3031] cgccctgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaag

- [3032] accgacaccggggtgtcgcctccagacctatgatgacttgtagccaaaga
- [3033] ctgccactgcata (SEQ ID NO:166)。
- [3034] 在一个优选实施方案中,第二单体包含氨基酸序列SEQ ID NO: 161,其由核酸序列SEQ ID NO:165编码。
- [3035] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:167的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:161的多肽链。
- [3036] II.H.16 CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :CpmFc (+) (N297G)
- [3037] 本公开中的名称“CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至CpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(i i) 包含CpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。
- [3038] 在某些实施方案中,提供了包含两个CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N de13) :CpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [3039] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [3040] (a) 两个CpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列(括号中是铰链区的部分):
- [3041] (DKTHTCPPCP) APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
- [3042] EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
- [3043] YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCL
- [3044] VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
- [3045] QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:294) ,
- [3046] (b) 两个CpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列(括号中是铰链区的部分):
- [3047] (DKTHTCPPCP) APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
- [3048] EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
- [3049] YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
- [3050] VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQ
- [3051] QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:169) ,
- [3052] 和
- [3053] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [3054] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3055] (DKTHTCPPCP) APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
- [3056] EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
- [3057] YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
- [3058] VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQ
- [3059] QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGDHCLPGRCRRLHTVRSLE
- [3060] DLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA
- [3061] PCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:171) ,
- [3062] 其由以下核酸序列编码:

[3063] gacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcc
[3064] tggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacccaaggacaccctc
[3065] atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagcca
[3066] cgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgc
[3067] ataatgccaagacaaaagccgcgggaggagcagtacggcagcacgtaccgt
[3068] gtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga
[3069] gtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaa
[3070] ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
[3071] cccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcct
[3072] ggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg
[3073] ggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgac
[3074] ggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggca
[3075] gcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacc
[3076] actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccg
[3077] ctccggccccggcggttgctgccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtgga
[3078] agacctgggctgggcccattgggtgctgtcgcacgggaggtgcaagtga
[3079] ccatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgcac
[3080] gcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgacacggtgccagc
[3081] gccctgctgcgtgcccgccagctacaatcccattggtgctcattcaaaaga
[3082] ccgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaagac
[3083] tgccactgcata (SEQ ID NO:170)。

[3084] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[3085] (DKTHTCPPCP) APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVDVS
[3086] EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
[3087] YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCL
[3088] VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
[3089] QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:168),

[3090] 其由以下核酸序列编码:

[3091] gacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcc
[3092] tggggggaccgtcagtccttctcttccccccaaaacccaaggacaccctc
[3093] atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagcca
[3094] cgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgc
[3095] ataatgccaagacaaaagccgcgggaggagcagtacggcagcacgtaccgt
[3096] gtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga
[3097] gtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaa
[3098] ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
[3099] cccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcct
[3100] ggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg
[3101] ggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagtccgac

- [3102] ggctccttcttctcttatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggca
- [3103] gcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctctgcacaacc
- [3104] actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:172)。
- [3105] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:171的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:168的多肽链。
- [3106] II.H.17 CpmFc (-) (N297G) -GDF1S (N3D) :CpmFc (+) (N297G)
- [3107] 本公开中的名称“CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) : DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至CpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含CpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。
- [3108] 在某些实施方案中,提供了包含两个CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N 3D) :CpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [3109] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [3110] (a) 两个CpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 294,
- [3111] (b) 两个CpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 169,和
- [3112] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。
- [3113] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3114] (DKTHTCPPCP) APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
- [3115] EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
- [3116] YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
- [3117] VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQ
- [3118] QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPGRCRLHTVRA
- [3119] SLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD
- [3120] VPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:174) ,
- [3121] 其由以下核酸序列编码:
- [3122] gacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcc
- [3123] tggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggacaccctc
- [3124] atgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagcca
- [3125] cgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgc
- [3126] ataatgccaagacaaaagccgaggaggagcagtacggcagcacgtaccgt
- [3127] gtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga
- [3128] gtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaa
- [3129] ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
- [3130] cccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgct
- [3131] ggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg
- [3132] ggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgac
- [3133] ggctccttcttctcttatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggca

[3134] gcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacc
 [3135] actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagac
 [3136] cactgtccgctcgggcccggcgcttgctgcccgtctgcacacgggtccgcgc
 [3137] gtcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggagg
 [3138] tgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcgga
 [3139] aacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcac
 [3140] ggtgccagcgcctgctgctgctgcccgcagctacaatcccatggtgctca
 [3141] ttcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagacctatgatgacttgta
 [3142] gccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:173)。

[3143] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:168,其由包含序列SEQ ID NO:172的核酸序列编码。

[3144] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:174的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:168的多肽链。

[3145] II.H.18 Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G)

[3146] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至 Dh2CpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。

[3147] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3148] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3149] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3150] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 [3151] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 [3152] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 [3153] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYT
 [3154] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:295),

[3155] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3156] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 [3157] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 [3158] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 [3159] ENNYDTTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYT
 [3160] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:176),

[3161] 和

[3162] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。

[3163] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3164] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 [3165] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 [3166] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

- [3167] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT
[3168] QKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQVTMC
[3169] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTD
[3170] GVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:178),
[3171] 其由以下核酸序列编码:
[3172] ccgtcagtccttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc
[3173] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc
[3174] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc
[3175] aagacaaagccgcgggaggagcagtacgggagcacgtaccgtgtggtcag
[3176] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt
[3177] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
[3178] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatc
[3179] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaag
[3180] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg
[3181] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
[3182] cttcctctatagcgacctaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
[3183] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacag
[3184] cagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccgctcgggcc
[3185] cgggcgttgctgccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtggaagacctgg
[3186] gctgggccgattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgaccatgtgc
[3187] atcggcgcgtgcccagaccagttccgggaggcaaacatgcacgcgcagat
[3188] caagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacggtgccagcgcctgct
[3189] gcgtgcccgcagctacaatcccaggtgctcattcaaaagaccgacacc
[3190] ggggtgtcgctccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactg
[3191] cata (SEQ ID NO:177)。
[3192] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
[3193] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
[3194] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[3195] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[3196] ENNYKTTTPVCLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT
[3197] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:175),
[3198] 其由以下核酸序列编码:
[3199] ccgtcagtccttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc
[3200] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc
[3201] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc
[3202] aagacaaagccgcgggaggagcagtacgggagcacgtaccgtgtggtcag
[3203] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt
[3204] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
[3205] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatc

[3206] ccggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaag
 [3207] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg
 [3208] gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagtccgacggctcctt
 [3209] cttcctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
 [3210] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
 [3211] cagaagagcctctccctgtctccgggtaaata (SEQ ID NO:179)。

[3212] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:178的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:175的多肽链。

[3213] II.H.19 Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G)

[3214] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (N297G)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh 2CpmFc (-) (N297G) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) 结构域的第二多肽链。

[3215] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) -GDF 15 (N3D) : Dh2CpmFc (+) (N297G) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3216] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3217] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:295,

[3218] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:176,和

[3219] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[3220] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3221] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[3222] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3223] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3224] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYT

[3225] QKSLSLSPGARDGDHCPGLPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQV

[3226] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQK

[3227] TDTGVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:181),

[3228] 其由以下核酸序列编码:

[3229] ccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggacaccctcatgatctc

[3230] ccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagacc

[3231] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc

[3232] aagacaaagccgcgggaggagcagtacgggagcacgtaccgtgtggtcag

[3233] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt

[3234] gcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctcc

[3235] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatc

[3236] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaag

[3237] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg

[3238] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
 [3239] cttcctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
 [3240] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
 [3241] cagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagaccactgtcc
 [3242] gctcgggcccggcggttgctgccgtctgcacacgggtccgcgcgctcgtgg
 [3243] aagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtg
 [3244] accatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcgcaaacatgca
 [3245] cgcgcatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccag
 [3246] cgccctgctgctgcccgcagctacaatcccatgggtgctcattcaaaag
 [3247] accgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaaga
 [3248] ctgccactgcata (SEQ ID NO:180)。

[3249] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:175,其由核酸序列SEQ ID NO:179编码。

[3250] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:181的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:175的多肽链。

[3251] II.H.20 Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297C) (S354C)

[3252] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (Nde13) : Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N 末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) 多肽的C末端的GDF 15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354 C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[3253] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y34 9C) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15 区之间的链间二硫键连接。

[3254] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3255] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3256] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[3257] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3258] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3259] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMHEALHNHYT

[3260] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:296) ,

[3261] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3262] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[3263] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3264] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3265] ENNYDTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMHEALHNHYT

- [3266] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:183),
- [3267] 和
- [3268] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [3269] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3270] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
- [3271] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
- [3272] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
- [3273] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT
- [3274] QKSLSLSPGGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMC
- [3275] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDI
- [3276] GVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:185),
- [3277] 其由以下核酸序列编码:
- [3278] ccgtcagtccttctcttcccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctc
- [3279] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc
- [3280] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc
- [3281] aagacaaagccgcgggaggagcagtacggcagcacgtaccgtgtggtcag
- [3282] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt
- [3283] gcaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
- [3284] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgccccatc
- [3285] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag
- [3286] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg
- [3287] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
- [3288] ctctctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
- [3289] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
- [3290] cagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccgctcgggcc
- [3291] cgggcgttgctgccgtctgcacacggctccgcgctcgctggaagacctgg
- [3292] gctgggccgattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctatgtgc
- [3293] atcggcgcgtgcccagccagttccgggcggcaaacatgcacgcgcagat
- [3294] caagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacaggtgccagcgcctgct
- [3295] gcgtgcccgcagctacaatcccattggtgctcattcaaaagaccgacacc
- [3296] ggggtgtcgctccagacctatgatgacttggtagccaaagactgccactg
- [3297] cata (SEQ ID NO:184)。
- [3298] 在一个优选实施方案中, 第二多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3299] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
- [3300] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
- [3301] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
- [3302] ENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYT
- [3303] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:182),
- [3304] 其由以下核酸序列编码:

[3305] ccatccgtgttctgtttcctccaaagccgaaggacaccctgatgatctc
 [3306] aagaactccggaagtgacttgcgtcgtcgtggacgtgtcacatgaggatc
 [3307] cagaggtcaagttcaatttggtatgtggacggagtggaagtgcataacgcc
 [3308] aagaccaaaccgccgaagaacagtacgggagcacctaccgctgggtgag
 [3309] cgtccttactgtgctccaccaggactggcttaatgggaaggaatacaagt
 [3310] gtaaggtgtccaacaaggccctccccgctcccatcgaaaagaccatctca
 [3311] aaggcaaaggggcaaccaagggaacctcaagtgtacaccctgcctccgtg
 [3312] caggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacttgtctcgtgaagg
 [3313] gcttctatcccagcgatattgctgtggaatgggagtcaaattggccagccc
 [3314] gagaataactacaaaactacccccaccgctgctgaaatctgatgggtcctt
 [3315] cttcctttactccaagctgaccgtggacaagagccgctggcaacaaggca
 [3316] atgtcttttagctgctcagtgatgcatgaggctctccataatcactacact
 [3317] cagaagtcactgtccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:186)。

[3318] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:185的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:182的多肽链。

[3319] II.H.21 Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C)

[3320] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) -GDF15 (N3D) :D h2CpmFc (+) (N297G) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域的C末端的GDF 15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和 (i i) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽的C349与第二多肽的C354之间的链间二硫键连接。

[3321] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y34 9C) -GDF15 (N3D) : Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15 区之间的链间二硫键连接。

[3322] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3323] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:296,

[3324] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:183,和

[3325] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[3326] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3327] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[3328] KTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3329] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3330] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYT

[3331] QKSLSLSPGARDGDHCLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQV

[3332] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQK

[3333] TDTGVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:188) ,

[3334] 其由以下核酸序列编码：

[3335] ccgtcagtcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctc
 [3336] ccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacc
 [3337] ctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcc
 [3338] aagacaaagccgcgggaggagcagtacgggagcacgtaccgtgtggtcag
 [3339] cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagt
 [3340] gcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
 [3341] aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgccccatc
 [3342] ccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag
 [3343] gcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccc
 [3344] gagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
 [3345] cttcctctatagegcacctaccgtggacaagagcaggtggcagcagggga
 [3346] acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
 [3347] cagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagaccactgtcc
 [3348] gctcgggccccggcgcttctgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgtgg
 [3349] aagacctgggctgggcccattgggtgctgtcggccacgggaggtgcaagtg
 [3350] accatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgca
 [3351] cgcgcatgcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacaggtgccag
 [3352] cgccctgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaag
 [3353] accgacaccgggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaaga
 [3354] ctgccactgcata (SEQ ID NO:187)。

[3355] 在一个优选实施方案中，第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:182，其由核酸序列SEQ ID NO:186编码。

[3356] 如上讨论的，提供了包含以下的四聚体：两个包含序列SEQ ID NO:188的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:182的多肽链。

[3357] II.H.22 Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297C) (L306C)

[3358] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) : Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C)”指包含以下的异二聚体：(i) 包含其N 末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域的C末端的GD F15 (Nde13) 多肽的第一多肽链，和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一单体的C287与第二单体的C306之间的链间二硫键连接。

[3359] 在某些实施方案中，提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 异二聚体的二聚体的四聚体，其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15 区之间的链间二硫键连接。

[3360] 更特别地，在一个具体实施方案中，提供了包含以下的四聚体：

[3361] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域(每个异二聚体一个)，其包含以下序列：

[3362] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

- [3363] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[3364] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[3365] ENNYKTPPVLSKDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
[3366] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:297) ,
[3367] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (每个异二聚体一个),其包含以下序列:
[3368] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC
[3369] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[3370] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[3371] ENNYDTTPPVLDSDGFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
[3372] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:192) ,
[3373] 和
[3374] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽 (每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
[3375] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
[3376] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC
[3377] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
[3378] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
[3379] ENNYDTTPPVLDSDGFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
[3380] QKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMC
[3381] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTD
[3382] GVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:194) ,
[3383] 其由以下核酸序列编码:
[3384] ccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggacaccctca
[3385] tgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccac
[3386] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca
[3387] taattgcaagacaaagccgcgaggagcagtagcggcagcagcgtaccgtg
[3388] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag
[3389] tacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaac
[3390] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgc
[3391] ccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg
[3392] gtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatgg
[3393] gcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacg
[3394] gctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcag
[3395] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca
[3396] ctacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtggagaccactgtccgc
[3397] tcgggccccggcgcttctgctgcccgtctgcacacggctccgcgcgtcgtggaa
[3398] gacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggaggtgcaagtgac
[3399] catgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaacatgcacg
[3400] cgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccagcg
[3401] ccctgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagac

[3402] cgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaagact

[3403] gccactgcata (SEQ ID NO:193)。

[3404] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[3405] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3406] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3407] KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3408] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT

[3409] QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:191),

[3410] 其由以下核酸序列编码:

[3411] ccgtcagtcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctca

[3412] tgatctccccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccac

[3413] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca

[3414] taattgcaagacaaagccgcgaggagcagtagcggcagcagctaccgtg

[3415] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag

[3416] tacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaac

[3417] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgc

[3418] ccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctg

[3419] gtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgg

[3420] gcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagtccgacg

[3421] gctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag

[3422] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca

[3423] ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:195)。

[3424] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:194的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:191的多肽链。

[3425] II.H.23 Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C)

[3426] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域的C末端的GDF 15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽的C287与第二多肽的C306之间的链间二硫键连接。

[3427] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15 区之间的链间二硫键连接。

[3428] 更特别地,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的四聚体:

[3429] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:297,

[3430] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:192,和

[3431] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[3432] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3433] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3434] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3435] KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3436] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT

[3437] QKLSLSLSPGARDGDHCPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQV

[3438] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQK

[3439] TDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:197),

[3440] 其由以下核酸序列编码:

[3441] ccgtcagtccttctcttccccccaaaacccaaggacaccctca

[3442] tgatctccccgaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccac

[3443] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca

[3444] taattgcaagacaaagccgcgggaggagcagtacggcagcagctaccgtg

[3445] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag

[3446] tacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaac

[3447] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgc

[3448] ccccatccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg

[3449] gtcaaaggtcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgg

[3450] gcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacg

[3451] gctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcag

[3452] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca

[3453] ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagacc

[3454] actgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtctgcacacgggtccgcgcg

[3455] tcgctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtcgccacgggaggt

[3456] gcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccga

[3457] acatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagacacg

[3458] gtgccagcgcctgctgctgcccagctacaatcccattggtgctcat

[3459] tcaaaagaccgacaccggggtgctcgctccagacctatgatgacttgttag

[3460] ccaagactgccactgcata (SEQ ID NO:196)。

[3461] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:191,其由核酸序列SEQ ID NO:195编码。

[3462] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:197的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:191的多肽链。

[3463] II.H.24 Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (Nde13) : Dh2CpmFc (+) (N297C) (L306C) (S354C)

[3464] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (Nde13) : Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349 c) 结构域的c末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽

链,和(ii)包含D h2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的c287与第二多肽链的C306之间以及第一多肽链的C349与第二多肽链的C349之间的链间二硫键连接。

[3465] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (一) (N297G) (A28 7C) (Y349C) - GDF15 (Nde13) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3466] 更特别地,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的四聚体:

[3467] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3468] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3469] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3470] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3471] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT

[3472] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:298) ,

[3473] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3474] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3475] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3476] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3477] ENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT

[3478] QKSLSLSPG (SEQ ID NO:199) ,

[3479] 和

[3480] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。

[3481] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3482] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3483] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3484] KAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3485] ENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT

[3486] QKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMC

[3487] IGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTD

[3488] GVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:201) ,

[3489] 其由以下核酸序列编码:

[3490] ccgtcagtccttctcttcccccaaaacccaaggacaccctca

[3491] tgatctccccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgagccac

[3492] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca

[3493] taattgcaagacaaagccgcgggaggagcagtagcgcagcagcgtaccgtg

[3494] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag

[3495] tacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaac

[3496] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgc

[3497] ccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg
 [3498] gtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatgg
 [3499] gcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacg
 [3500] gctccttcttctctatagcgcacctcaccgtggacaagagcaggtggcag
 [3501] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca
 [3502] ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccactgtccgc
 [3503] tcgggcccggcgcttgctgccgtctgcacacggctccgcgcgtcgctggaa
 [3504] gacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgc
 [3505] catgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcgcaaacatgcacg
 [3506] cgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccagc
 [3507] ccctgctgcgtgcccgcagctacaatcccatgggtgctcattcaaaagac
 [3508] cgacaccgggtgtcgtctccagacctatgatgacttgtagccaaagact
 [3509] gccactgcata (SEQ ID NO:200)。

[3510] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[3511] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC
 [3512] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 [3513] KAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 [3514] ENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT
 [3515] QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:198) ,

[3516] 其由以下核酸序列编码:

[3517] ccgtcagtcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctca
 [3518] tgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggacgtgagccac
 [3519] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca
 [3520] taattgcaagacaaagccgcgggaggagcagtacggcagcacgtaccgtg
 [3521] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag
 [3522] tacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaac
 [3523] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgc
 [3524] ccccatgccggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg
 [3525] gtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatgg
 [3526] gcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagtccgacg
 [3527] gctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag
 [3528] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca
 [3529] ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:202)。

[3530] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:201的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:198的多肽链。

[3531] II.H.25 Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (N3D) : Dh2CpmFc (+) (N297C) (L306C) (S354C)

[3532] 本公开中的名称“Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至

Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349 C) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一单体,和 (ii) 包含Dh2C pmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C287与第二多肽链的C306之间以及第一多肽链的C349与第二多肽链的C349之间的链间二硫键连接。

[3533] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) - GDF15 (N3D) :Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3534] 更特别地,在一个具体实施方案中,提供了包含以下的四聚体:

[3535] (a) 两个Dh2CpmFc (+) (N297G) (L306C) (S354C) 结构域 (每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:298,

[3536] (b) 两个Dh2CpmFc (-) (N297G) (A287C) (Y349C) 结构域 (每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:199,和

[3537] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽 (每个异二聚体一个),其包含序列 (SEQ ID NO:52)。

[3538] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3539] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNC

[3540] KTKPREEQYGSTYRVVSVCTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

[3541] KAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

[3542] ENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT

[3543] QKLSLSLSPGARDGDHCP LGGRCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQV

[3544] TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQK

[3545] TDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:204),

[3546] 其由以下核酸序列编码:

[3547] ccgtcagtcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctca

[3548] tgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccac

[3549] gaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca

[3550] taattgcaagacaaagccgcgaggagcagtacggcagcacgtaccgtg

[3551] tggtcagcgtctgcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggag

[3552] tacaagtgaaggtctccaacaaagcctcccagccccatcgagaaaac

[3553] catctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgcaccctgc

[3554] ccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctg

[3555] gtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgg

[3556] gcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggactccgacg

[3557] gctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcaggtggcag

[3558] caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacca

[3559] ctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacggagacc

[3560] actgtccgctcgggccccgggcttgctgccgtctgcacacggctccgcgcg

[3561] tcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacgggaggt

[3562] gcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcccga

[3563] acatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacgc

- [3564] gtgccagcgcctgtgctgctgccccgccagctacaatcccatgggtgctcat
- [3565] tcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagacctatgatgacttgtag
- [3566] ccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:203)。
- [3567] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:198,其由核酸序列SEQ ID NO:202编码。
- [3568] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:204的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:198的多肽链。
- [3569] II.H.26 GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :GG-Dh2CpmFc (+)
- [3570] 本公开中的名称“GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :GG-Dh2CpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至GG-Dh2CpmFc (-) 结构域的C末端GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含GG-Dh2CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。
- [3571] 在某些实施方案中,提供了包含两个GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :GG-Dh2CpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。
- [3572] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:
- [3573] (a) 两个GG-Dh2CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [3574] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
- [3575] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
- [3576] ISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
- [3577] QPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH
- [3578] YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:299) ,
- [3579] (b) 两个GG-Dh2CpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [3580] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
- [3581] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
- [3582] ISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
- [3583] QPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH
- [3584] YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:206) ,
- [3585] 和
- [3586] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [3587] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3588] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
- [3589] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
- [3590] ISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
- [3591] QPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH
- [3592] YTQKSLSLSPGGDHCPLGPRCCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQVT
- [3593] MCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKT
- [3594] DTGVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:208) ,
- [3595] 其由以下核酸序列编码:
- [3596] ggtggccccgtcagtcttctcttccccccaaaaccaaggaca

[3597] ccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
 [3598] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3599] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt
 [3600] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3601] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga
 [3602] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3603] ccctgccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3604] tgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag
 [3605] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact
 [3606] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg
 [3607] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3608] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccact
 [3609] gtccgctcgggcccggcggttctgctgcccgtctgcacacggtccgcgctcg
 [3610] ctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcggccacgggaggtgca
 [3611] agtgaccatgtgcatcggcgctgcccagaccagttccgggcccgaaca
 [3612] tgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccacacggtg
 [3613] ccagcgcctgtgctgctgcccgcagctacaatcccatggtgctcattca
 [3614] aaagaccgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagcca
 [3615] aagactgccactgcata (SEQ ID NO:207)。

[3616] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3617] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 [3618] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 [3619] KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
 [3620] CLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSR
 [3621] WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGDDHCPGRCRRLHTVRAS
 [3622] LEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDIV
 [3623] PAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSLQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:243),

[3624] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[3625] atggaatggagctgggtctttctcttcttctcgtcagtaacgactggtgt
 [3626] ccactccggtggcccgtcagttcttcttcttcccccaaaacccaaggaca
 [3627] ccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
 [3628] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3629] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt
 [3630] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3631] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga
 [3632] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3633] ccctgccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3634] tgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3635] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact
 [3636] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg
 [3637] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3638] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccact
 [3639] gtccgctcgggcccgggcggttgctgccgtctgcacacgggtccgcgctcg
 [3640] ctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtgccacgggaggtgca
 [3641] agtgacctatgtgcatcggcgcgtgcccgagccagttccgggaggcaaaaca
 [3642] tgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacggtg
 [3643] ccagcgcctgctgctgctgcccgcagctacaatcccatgggtgctcattca
 [3644] aaagaccgacaccggggtgctgctccagacctatgatgacttgtagcca
 [3645] aagactgccactgcata (SEQ ID NO:244)。

[3646] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
 [3647] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
 [3648] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 [3649] ISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 [3650] QPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNH
 [3651] YTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:205) ,

[3652] 其由以下核酸序列编码:

[3653] ggtggcccgtcagtccttctcttcccccaaaacccaaggaca
 [3654] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
 [3655] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3656] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt
 [3657] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3658] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga
 [3659] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3660] ccctgccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3661] tgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag
 [3662] caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagt
 [3663] ccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcagg
 [3664] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3665] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:209)。

[3666] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3667] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 [3668] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 [3669] KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLT
 [3670] CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSR
 [3671] WQQGNVFSVMSHEALHNH YTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:245) ,

[3672] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[3673] atggaatggagctgggtctttctcttcttctcctgtcagtaacgactgggtg
 [3674] ccactccggtggcccctcagctcttctcttccccccaaaacccaaggaca
 [3675] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtg
 [3676] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgggtacgtggacggcgtgga
 [3677] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgt
 [3678] accgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3679] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga
 [3680] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3681] ccctgccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3682] tgctgtggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgaggag
 [3683] caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagt
 [3684] ccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcagg
 [3685] tggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3686] caaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:246)。

[3687] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:208的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:205的多肽链。

[3688] II.H.27 GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :GG-Dh2CpmFc (+)

[3689] 本公开中的名称“GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :GG-DhCpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至GG-Dh2Cp mFc (-) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含 GG-DhCpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[3690] 在某些实施方案中,提供了包含两个GG-Dh2CpmFc (-) -GDF15 (N 3D) :GG-Dh2CpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3691] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3692] (a) 两个GG-Dh2CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 299,

[3693] (b) 两个GG-Dh2CpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO: 206,和

[3694] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),包含序列SEQ ID NO:52。

[3695] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3696] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3697] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3698] ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3699] QPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH

[3700] YTQKSLSLSPGARDGDHCLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV

[3701] QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLI

[3702] QKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:211),

[3703] 其由以下核酸序列编码:

[3704] ggtggcccctcagctcttctcttccccccaaaacccaaggaca

[3705] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
 [3706] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3707] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt
 [3708] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3709] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcga
 [3710] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3711] ccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3712] tgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag
 [3713] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact
 [3714] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg
 [3715] tggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3716] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacg
 [3717] gagaccactgtccgctcgggccccggcgcttgctgccgtctgcacacggtc
 [3718] cgcgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacg
 [3719] ggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccggg
 [3720] cggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagccc
 [3721] gacacggtgccagcgcctgctgctgcccgccagctacaatcccattggt
 [3722] gctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgtcctcagacctatgatgact
 [3723] tgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:210)。

[3724] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3725] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 [3726] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 [3727] KEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
 [3728] CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSR
 [3729] WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGARDGHCPLGPRCCRLHTV
 [3730] RASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKP
 [3731] DTVPAAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:247),

[3732] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[3733] atggaatggagctgggtctttctcttcttctcgtcagtaacgactgggtg
 [3734] ccactccgggtggccccgtcagttcttcttcttcccccaaaacccaaggaca
 [3735] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
 [3736] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3737] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt
 [3738] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3739] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcga
 [3740] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca
 [3741] ccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3742] tgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3743] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact
 [3744] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg
 [3745] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3746] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacg
 [3747] gagaccactgtccgctcgggcccgggcttgctgcccgtctgcacacggtc
 [3748] cgcgctcgtggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtcgccacg
 [3749] ggaggtgcaagtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccggg
 [3750] cggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagccc
 [3751] gacacggtgccagcgcctgctgctgcccagctacaatcccattggt
 [3752] gctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgact
 [3753] tgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:248)。

[3754] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:205,其由核酸序列SEQ ID NO:209编码。

[3755] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:245,其由核酸序列SEQ ID NO:246编码。

[3756] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:211的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:205的多肽链。

[3757] II.H.28 GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :GG-Dh2Cpm Fc (+) (S354C)

[3758] 本公开中的名称“GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含GG-Dh2CpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[3759] 在某些实施方案中,提供了包含两个GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) - GDF15 (Nde13) :GG-Dh2CpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3760] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3761] (a) 两个GG-Dh2CpmFc (+) (S354C) (每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3762] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3763] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3764] ISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3765] QPENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH

[3766] YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:300) ,

[3767] (b) 两个GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) 链(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[3768] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3769] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3770] ISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3771] QPENNYDTTPVLDSGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNH

[3772] YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:213) ,

[3773] 和

[3774] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽 (每个异二聚体一个), 其包含序列 SEQ ID NO:55。

[3775] 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3776] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3777] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3778] ISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3779] QPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNH

[3780] YTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVSRASLEDLGWADWVLSPREVQVT

[3781] MCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKT

[3782] DTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:215),

[3783] 其由以下核酸序列编码:

[3784] ggtggccccgtcagttcttctcttccccccaaaacccaaggaca

[3785] ccctcatgatctccccgaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtg

[3786] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga

[3787] ggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt

[3788] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

[3789] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcga

[3790] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgca

[3791] ccctgcccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc

[3792] tgctgtgtaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3793] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact

[3794] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg

[3795] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca

[3796] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccact

[3797] gtccgctcgggcccggcgcttctgctgcccgtctgcacacggctccgcgctgc

[3798] ctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacgggagggtgca

[3799] agtgacctatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaaca

[3800] tgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacaggtg

[3801] ccagcgccctgctgctgctgcccgcagctacaatcccatggtgctcattca

[3802] aaagaccgacaccggggtgctgctccagacctatgatgacttgtagcca

[3803] aagactgccactgcata (SEQ ID NO:214)。

[3804] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中, 在一个优选实施方案中, 第一多肽链包含以下氨基酸序列 (信号序列加单下划线):

[3805] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV

[3806] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

[3807] KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLT

[3808] CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSR

[3809] WQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTVSRAS

[3810] LEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV

[3811] PAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:249) ,

[3812] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[3813] atggaatggagctgggtccttctcttcttctcgtcagtaacgactgggtg

[3814] ccactccggtggcccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggaca

[3815] ccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg

[3816] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga

[3817] ggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgt

[3818] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

[3819] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga

[3820] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgca

[3821] ccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc

[3822] tgctgtggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3823] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact

[3824] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg

[3825] tggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgaggctctgca

[3826] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggagaccact

[3827] gtccgctcgggcccggcggttgctgcccgtctgcacacggtccgcgcgtcg

[3828] ctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacgggaggtgca

[3829] agtgaccatgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccgggcccgaaca

[3830] tgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacaggtg

[3831] ccagcgcctgtctgctgcccgcagctacaatcccattggtgctcattca

[3832] aaagaccgacaccggggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagcca

[3833] aagactgccactgcata (SEQ ID NO:250) 。

[3834] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[3835] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3836] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3837] ISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3838] QPENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNH

[3839] YTKSLSLSPGK (SEQ ID NO:212) ,

[3840] 其由以下核酸序列编码:

[3841] ggtggccccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggaca

[3842] ccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg

[3843] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga

[3844] ggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgt

[3845] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

[3846] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga

[3847] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca

[3848] ccctgcccccatgccggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc

[3849] tgctgtggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3850] caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagt

[3851] ccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcagg

[3852] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca

[3853] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:216)。

[3854] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3855] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV

[3856] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

[3857] KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLT

[3858] CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSR

[3859] WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:251),

[3860] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[3861] atggaatggagctgggtctttctcttcttctctgtcagtaacgactgggtgt

[3862] ccactccgggtggccccgtcagtccttctcttccccccaaaaccaaggaca

[3863] ccctcatgatctccccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtg

[3864] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga

[3865] ggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt

[3866] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

[3867] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcga

[3868] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtaca

[3869] ccctgcccccatgccggaaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc

[3870] tgcttgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3871] caatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctgaagt

[3872] ccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaagagcagg

[3873] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca

[3874] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:252)。

[3875] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:215的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:212的多肽链。

[3876] II.H.29 GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)

[3877] 本公开中的名称“GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i)包含其N末端直接连接至GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C)结构域的C末端的GDF15 (N3D)多肽的第一多肽链,和(ii)包含GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[3878] 在某些实施方案中,提供了包含两个GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) - GDF15 (N3D) :GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3879] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[3880] (a)两个GG-Dh2CpmFc (+) (S354C)结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID

NO:300,

[3881] (b) 两个GG-Dh2CpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:213,和

[3882] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[3883] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[3884] GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH

[3885] NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT

[3886] ISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

[3887] QPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNH

[3888] YTQKSLSLSPGARDGDHCLPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV

[3889] QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLI

[3890] QKTDGTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:218),

[3891] 其由以下核酸序列编码:

[3892] ggtggccccgtcagtccttctcttccccccaaaacccaaggaca

[3893] ccctcatgatctccccgacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg

[3894] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga

[3895] ggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt

[3896] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc

[3897] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcga

[3898] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgca

[3899] ccctgcccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc

[3900] tgcttggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag

[3901] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact

[3902] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg

[3903] tggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgaggctctgca

[3904] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacg

[3905] gagaccactgtccgctcgggccccggcgcttgctgcccgtctgcacacggtc

[3906] cgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacg

[3907] ggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagccagttccggg

[3908] cggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagccc

[3909] gacacggtgccagcgcctgctgctgcccgccagctacaatcccattggt

[3910] gctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgact

[3911] tgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:217)。

[3912] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3913] MEWSWVFLFFLSVTTGVHSGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV

[3914] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

[3915] KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLT

[3916] CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSR

[3917] WQQGNVFSVMSVMEALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPGRCRLHTV
 [3918] RASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKP
 [3919] DTVPAVCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:253),
 [3920] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:
 [3921] atggaatggagctgggtcctttctcttcttctcgtcagtaacgactgggtg
 [3922] ccactccggtggcccgtcagtccttcttcttcccccaaaacccaaggaca
 [3923] ccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtg
 [3924] agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga
 [3925] ggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaacagcacgt
 [3926] accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggc
 [3927] aaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga
 [3928] gaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtgca
 [3929] ccctgcccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacc
 [3930] tgctgtgtaaaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagag
 [3931] caatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgctggact
 [3932] ccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaagagcagg
 [3933] tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca
 [3934] caaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgcgcgacg
 [3935] gagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgcacacggtc
 [3936] cgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacg
 [3937] ggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcggtgcccagccagttccggg
 [3938] cggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagccc
 [3939] gacacggtgccagcgcctgtgctgctgcccagctacaatcccattggt
 [3940] gctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatgatgact
 [3941] tgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:254)。

[3942] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:212,其由核酸序列SEQ ID NO:218编码。

[3943] 在采用VH21信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:251,其由核酸序列SEQ ID NO:252编码。

[3944] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:218的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:212的多肽链。

[3945] II.H.30 Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+)

[3946] 本公开中的名称“Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh3CpmFc (-) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含 Dh3CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[3947] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[3948] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

- [3949] (a) 两个Dh3CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [3950] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
- [3951] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
- [3952] SKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
- [3953] PENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNY
- [3954] TQKLSLSPG (SEQ ID NO:301),
- [3955] (b) 两个Dh3CpmFc (-) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:
- [3956] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
- [3957] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
- [3958] SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
- [3959] PENNYDTTPVLDSGDSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNY
- [3960] TQKLSLSPG (SEQ ID NO:220),
- [3961] 和
- [3962] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。
- [3963] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:
- [3964] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
- [3965] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
- [3966] SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
- [3967] PENNYDTTPVLDSGDSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNY
- [3968] TQKLSLSPGGDHCPLPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM
- [3969] CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTD
- [3970] TGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:222),
- [3971] 其由以下核酸序列编码:
- [3972] ggcccgtcagtccttctcttccccccaaaacca
- [3973] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg
- [3974] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
- [3975] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtagacaaca
- [3976] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
- [3977] aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
- [3978] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
- [3979] tgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagc
- [3980] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtg
- [3981] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
- [3982] tggactccgacggctccttcttctctatagcgacctaccgtggacaag
- [3983] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
- [3984] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggag
- [3985] accactgtccgctcgggcccggcgcttctgctgccgtctgcacacggtccgc
- [3986] gcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacggga
- [3987] ggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggccc

[3988] caaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcac
[3989] acggtgcccagcgccttgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgct
[3990] cattcaaaagaccgacaccgggtgtcgtccagacctatgatgacttgt
[3991] tagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:221)。

[3992] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[3993] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
[3994] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
[3995] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
[3996] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDK
[3997] SRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPGRCRLHTRV
[3998] ASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD
[3999] TVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:255),

[4000] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[4001] atggacatgagggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct
[4002] gagaggtgcgcgctgtggcccgcctcagtccttctccttcccccaaaaccca
[4003] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggtg
[4004] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
[4005] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaaca
[4006] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
[4007] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
[4008] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
[4009] tgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagc
[4010] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
[4011] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
[4012] tggactccgacggctccttctcctctatagcgacctcaccgtggacaag
[4013] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggc
[4014] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggag
[4015] accactgtccgctcgggcccgggcgcttgcctgctgcacacggtccgc
[4016] gcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtgccacggga
[4017] ggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagccagttccggggcgg
[4018] caaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcac
[4019] acggtgcccagcgccttgctgcgtgcccgcagctacaatcccatggtgct
[4020] cattcaaaagaccgacaccgggtgtcgtccagacctatgatgacttgt
[4021] tagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:256)。

[4022] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:

[4023] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
[4024] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
[4025] SKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4026] PENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHY
[4027] TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:219) ,
[4028] 其由以下核酸序列编码:
[4029] ggcccgtcagtccttcttccccccaaaaccca
[4030] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg
[4031] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
[4032] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaaca
[4033] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
[4034] aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
[4035] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
[4036] tgtacaccctgcccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagc
[4037] ctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
[4038] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgc
[4039] tgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaag
[4040] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgagggc
[4041] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
[4042] (SEQ ID NO:223) 。

[4043] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[4044] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
[4045] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
[4046] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVS
[4047] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDK
[4048] SRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:257) ,
[4049] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:
[4050] atggacatgaggggtgcccgctcagctcctggggctcctgctgctgtggct
[4051] gagaggtgcgcgctgtggcccgtcagtccttcttccccccaaaaccca
[4052] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg
[4053] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
[4054] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaaca
[4055] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
[4056] aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
[4057] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
[4058] tgtacaccctgcccccatcccgaaggagatgaccaagaaccaggtcagc
[4059] ctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
[4060] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgc
[4061] tgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaag
[4062] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctctatgctccgtgatgcatgagggc
[4063] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:258) 。

[4064] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:222的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:219的多肽链。

[4065] II.H.31 Dh3CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+)

[4066] 本公开中的名称“Dh3CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh3CpmFc (-) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含 Dh3CpmFc (+) 结构域的第二多肽链。

[4067] 在某些实施方案中,提供了包含两个 Dh3CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[4068] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[4069] (a) 两个Dh3CpmFc (+) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:301,

[4070] (b) 两个Dh3CpmFc (-) (每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:220,和

[4071] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[4072] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[4073] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[4074] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[4075] SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4076] PENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHY

[4077] TQKLSLSLSPGARDGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ

[4078] VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQ

[4079] KTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:225),

[4080] 其由以下核酸序列编码:

[4081] atggacatgagggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct

[4082] gagaggtgcgcgctgtggcccgcctcagctcttctcttcccccaaaaccca

[4083] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggtg

[4084] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg

[4085] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaaca

[4086] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg

[4087] aatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccc

[4088] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg

[4089] tgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagc

[4090] ctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg

[4091] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc

[4092] tggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaag

[4093] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc

[4094] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgc

[4095] gcgacggagaccactgtccgctcgggcccgggcgttgctgccgtctgcac

[4096] acggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtc

[4097] gccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagt

[4098] tccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
[4099] aagcccgacacggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaatcc
[4100] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatg
[4101] atgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:224)。

[4102] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[4103] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
[4104] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
[4105] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
[4106] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDK
[4107] SRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPGRCRLH
[4108] TVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRL
[4109] KPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:259),

[4110] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[4111] atggacatgaggggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct
[4112] gagaggtgcgcgctgtggcccgcctcagtccttctcttcccccaaaaccca
[4113] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggg
[4114] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
[4115] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaaca
[4116] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
[4117] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
[4118] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
[4119] tgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagc
[4120] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
[4121] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
[4122] tggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaag
[4123] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggc
[4124] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgc
[4125] gcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgcac
[4126] acggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtc
[4127] gccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagt
[4128] tccgggcgcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
[4129] aagcccgacacggtgccagcgcctgctgcgtgcccgccagctacaatcc
[4130] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgctccagacctatg
[4131] atgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:260)。

[4132] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:219,其由核酸序列SEQ ID NO:223编码。

[4133] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:257,其由核酸序列SEQ ID NO:258编码。

[4134] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:225的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:219的多肽链。

[4135] II.H.32 Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+) (S35 4C)

[4136] 本公开中的名称“Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (Nde13) :Dh3Cpm Fc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至D h3CpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (Nde13) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh3CpmFc (+) (S345C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽的C349与第二多肽的C354之间的链间二硫键连接。

[4137] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF 15 (Nde13) : Dh3CpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[4138] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[4139] (a) 两个Dh3CpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[4140] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[4141] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[4142] SKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4143] PENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSCVMHEALHNHY

[4144] TQKSLSLSPG (SEQ ID NO:302) ,

[4145] (b) 两个Dh3CpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含以下序列:

[4146] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[4147] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[4148] SKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4149] PENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSCVMHEALHNHY

[4150] TQKSLSLSPG (SEQ ID NO:227) ,

[4151] 和

[4152] (c) 两个GDF15 (Nde13) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列 SEQ ID NO:55。

[4153] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[4154] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[4155] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[4156] SKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4157] PENNYDTTPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSCVMHEALHNHY

[4158] TQKSLSLSPGGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM

[4159] CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTD

[4160] TGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:229) ,

[4161] 其由以下核酸序列编码:

[4162] atggacatgagggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct

[4163] gagaggtgcgcgctgtggcccgcctcagctcctcctcctcccccaaaaaccca

[4164] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgggt

[4165] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg

[4166] cgtggaggtgcataatgccaaagcaagccgcgaggagcagtacaaca
 [4167] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4168] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4169] catcgagaaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4170] tgtgcaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggctcagc
 [4171] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
 [4172] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
 [4173] tggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaag
 [4174] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4175] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcccgtgctccgggtggag
 [4176] accactgtccgctcgggccccgggcttgctgcccgtctgcacacggctccg
 [4177] gcgtcgttggaagacctgggctgggcccattgggtgctgctgccacggga
 [4178] ggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagccagttccgggagg
 [4179] caaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccagc
 [4180] acggtgccagcgcctgctgctgcccgcagctacaatcccatggtgct
 [4181] cattcaaaagaccgacaccgggtgtcgtccagacctatgatgacttgt
 [4182] tagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:228)。

[4183] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[4184] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
 [4185] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 [4186] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVS
 [4187] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDK
 [4188] SRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPGRCRRLHTR
 [4189] ASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD
 [4190] TVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:261),

[4191] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[4192] atggacatgagggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct
 [4193] gagaggtgcgcgctgtggcccgtcagctcttctcttcccccaaaaccca
 [4194] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg
 [4195] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
 [4196] cgtggaggtgcataatgccaaagcaagccgcgaggagcagtacaaca
 [4197] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4198] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4199] catcgagaaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4200] tgtgcaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggctcagc
 [4201] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtg
 [4202] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
 [4203] tggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcaccgtggacaag

[4204] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4205] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtggag
 [4206] accactgtccgctcgggcccggcgcttgctgcccgtctgcacacgggtccgc
 [4207] gcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacggga
 [4208] ggtgcaagtgacctgtgcatcggcgctgcccagaccagttccgggagg
 [4209] caaacatgcacgcgagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcac
 [4210] acgggtgccagcgcctgctgctgctgcccagctacaatcccatggtgct
 [4211] cattcaaaagaccgacaccggggtgctgctccagacctatgatgacttgt
 [4212] tagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:262)。

[4213] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列:
 [4214] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
 [4215] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 [4216] SKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
 [4217] PENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHY
 [4218] TQKLSLSPGK (SEQ ID NO:226) ,

[4219] 其由以下核酸序列编码:

[4220] ggcccgtcagtccttctcttcccccaaaaaccca
 [4221] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtg
 [4222] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
 [4223] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaaca
 [4224] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4225] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4226] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4227] tgtacaccctgccccatgccggaaggagatgaccaagaaccagggtcagc
 [4228] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcagacatcgccgtggagtg
 [4229] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgc
 [4230] tgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaag
 [4231] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4232] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
 [4233] (SEQ ID NO:230)。

[4234] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[4235] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
 [4236] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 [4237] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMTKNQVS
 [4238] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLKSDGSFFLYSKLTVDK
 [4239] SRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:263) ,
 [4240] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:
 [4241] atggacatgagggtgccccgctcagctcctggggctcctgctgctgtggct

[4242] gagaggtgcgcgctgtggccccgtcagtcttctcttccccccaaaaccca
 [4243] aggacaccctcatgatctccccgaccctgaggtcacatgcgtgggtggtg
 [4244] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
 [4245] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggagcagtacaaca
 [4246] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4247] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4248] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4249] tgtacaccctgccccatgccggaaggagatgaccaagaaccaggctcagc
 [4250] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatgccctggagtg
 [4251] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgc
 [4252] tgaagtccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaag
 [4253] agcagggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4254] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:264)。

[4255] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:229的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:226的多肽链。

[4256] II.H.33 Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) (S354 C)

[4257] 本公开中的名称“Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) (S354C)”指包含以下的异二聚体:(i) 包含其N末端直接连接至Dh3CpmFc (-) (Y349C) 结构域的C末端的GDF15 (N3D) 多肽的第一多肽链,和(ii) 包含Dh3CpmFc (+) (S354C) 结构域的第二多肽链。半胱氨酸夹突变允许第一多肽链和第二多肽链通过第一多肽链的C349与第二多肽链的C354之间的链间二硫键连接。

[4258] 在某些实施方案中,提供了包含两个Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) (S354C) 异二聚体的二聚体的四聚体,其中每个异二聚体的两个第一多肽链通过其各自GDF15区之间的链间二硫键连接。

[4259] 更特别地,在一个具体实施方案中,四聚体包含:

[4260] (a) 两个Dh3CpmFc (+) (S354C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:302,

[4261] (b) 两个Dh3CpmFc (-) (Y349C) 结构域(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:227,和

[4262] (c) 两个GDF15 (N3D) 多肽(每个异二聚体一个),其包含序列SEQ ID NO:52。

[4263] 在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列:

[4264] GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN

[4265] AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

[4266] SKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ

[4267] PENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHY

[4268] TQKLSLSLSPGARDGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ

[4269] VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQ

[4270] KTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:232),

[4271] 其由以下核酸序列编码:

[4272] ggcccgtcagtccttctcttccccccaaaaccca
 [4273] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtg
 [4274] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
 [4275] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaaca
 [4276] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4277] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4278] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4279] tgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggctcagc
 [4280] ctgacctgcctggtcaaaggtcttatcccagcgcacatcgccgtggagtg
 [4281] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
 [4282] tggactccgacggctccttcttctctatagcagcctcaccgtggacaag
 [4283] agcagggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4284] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgc
 [4285] gcgacggagaccactgtccgctcgggcccggcggttgctgccgtctgcac
 [4286] acggtccgcgcgtcgctggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtc
 [4287] gccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagt
 [4288] tccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
 [4289] aagcccgacacggtgccagcgcctgtgctgcccagctacaatcc
 [4290] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgctccagacctatg
 [4291] atgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:231)。

[4292] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第一多肽链包含以下氨基酸序列(信号序列加单下划线):

[4293] MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
 [4294] DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 [4295] NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVS
 [4296] LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDK
 [4297] SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPGRCRLH
 [4298] TVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRL
 [4299] KPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLSQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:265),

[4300] 其由以下核酸序列(信号序列加下划线)编码:

[4301] atggacatgaggggtgcccgcctcagctcctggggctcctgctgctgtggct
 [4302] gagaggtgcgcgctgtggcccgcctcagtccttctcttccccccaaaaccca
 [4303] aggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtg
 [4304] gacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg
 [4305] cgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaaca
 [4306] gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg
 [4307] aatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcccc
 [4308] catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacagg
 [4309] tgtgcaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggctcagc

[4310] ctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtg
 [4311] ggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgcctcccgtgc
 [4312] tggactccgacggctccttcttctctatagcgcacctcaccgtggacaag
 [4313] agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggc
 [4314] tctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtgcgc
 [4315] gcgacggagaccactgtccgctcgggcccgggcttgctgcccgtctgcac
 [4316] acggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccgattgggtgctgtc
 [4317] gccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccagaccagt
 [4318] tccgggaggcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctg
 [4319] aagcccagacaggtgccagcgcctgctgctgcccgccagctacaatcc
 [4320] catggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgtccagacctatg
 [4321] atgacttgttagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:266)。

[4322] 在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:226,其由核酸序列SEQ ID NO:230编码。

[4323] 在采用VK1信号序列的一个实施方案中,在一个优选实施方案中,第二多肽链包含氨基酸序列SEQ ID NO:263,其由核酸序列SEQ ID NO:264编码。

[4324] 如上讨论的,提供了包含以下的四聚体:两个包含序列SEQ ID NO:232的多肽链和两个包含序列SEQ ID NO:226的多肽链。

[4325] II.H.34 Dh单Fc (N297G) -GDF15

[4326] 本公开中的名称“Dh单Fc (N297G) -GDF15”指包含其N末端通过肽键直接连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的C末端的GDF15多肽的融合蛋白。

[4327] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15多肽之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。

[4328] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:

[4329] (a) 两个Dh单Fc (N297G) 结构域(每个单体一个),其包含以下序列:

[4330] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[4331] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[4332] PIEKTISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[4333] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMSMHE

[4334] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:233);

[4335] 和

[4336] (b) 两个GDF15多肽(每个异二聚体一个),包含序列SEQ ID NO: 12。

[4337] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列:

[4338] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[4339] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA

[4340] PIEKTISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

[4341] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQVMSMHE

[4342] ALHNHYTQKSLSLSPGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVL

[4343] SPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYN

- [4344] PMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:235) ,
- [4345] 其由以下核酸序列编码:
- [4346] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtcttctcttcccc
- [4347] caaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
- [4348] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta
- [4349] cgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagc
- [4350] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag
- [4351] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct
- [4352] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggcagccccgag
- [4353] aaccacaggtgaccaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaac
- [4354] caggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
- [4355] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc
- [4356] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc
- [4357] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
- [4358] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
- [4359] cgggtgctgcaacggagaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgc
- [4360] cgtctgcacacggtccgctcgtcgtggaagacctgggctgggcccattg
- [4361] ggtgctgtgccacgggaggtgcaagtaccatgtgcatcggcgcgtgcc
- [4362] cgagccagttccgggcccgaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctg
- [4363] caccgcctgaagcccgcacaggtgccagcgcctgctgctgcccgcag
- [4364] ctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcctcc
- [4365] agacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:234) .
- [4366] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:235 的单体同二聚体。
- [4367] II.H.35 Dh单Fc (N297G) - (G₄S)₄-GDF15
- [4368] 本公开中的名称“Dh单Fc (N297G) - (G₄S)₄-GDF15”指包含通过接头连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:18。
- [4369] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15多肽之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。
- [4370] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:
- [4371] (a) 两个Dh单Fc (N297G) 结构域(每个单体一个),其包含以下序列:
- [4372] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
- [4373] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [4374] PIEKTISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [4375] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMSMHE
- [4376] ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:236) ;
- [4377] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和
- [4378] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:18,各自通过肽键使

GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的C末端。

[4379] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):

[4380] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 [4381] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
 [4382] PIEKTIISKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 [4383] WESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVSMHE
 [4384] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGSGGGSGGGGSARNGDHCPLGPGRC

[4385] CRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
 [4386] LHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:238),
 [4387] 其由以下核酸序列编码:

[4388] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc
 [4389] caaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
 [4390] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta
 [4391] cgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagc
 [4392] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag
 [4393] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccct
 [4394] cccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaaggcagccccgag
 [4395] aaccacaggtgaccaccctgccccatcccggaggagatgaccaagaac
 [4396] caggtcagcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
 [4397] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc
 [4398] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc
 [4399] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
 [4400] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
 [4401] cgggtggaggtggtggatccggaggcgggtggaagcggaggtggtggatct
 [4402] ggaggcgggtggaagcgcgcgcaacggagaccactgtccgctcgggcccgg
 [4403] gcgttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgtggaagacctgggct
 [4404] gggccgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatc
 [4405] ggcgcgtgcccagccagttccgggcggcaaacatgcacgcgcagatcaa
 [4406] gacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacgggtgccagcgcctgctgcg
 [4407] tgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggg
 [4408] gtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcata (SEQ ID NO:237)。

[4409] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:238 的单体的同二聚体。

[4410] II.H.36 Dh单Fc (N297G) -G₄-GDF15

[4411] 本公开中的名称“Dh单Fc (N297G) -G₄-GDF15”指包含通过接头连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的GDF15多肽的融合蛋白,所述接头包含通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的C末端的序列SEQ ID NO:58。

[4412] 在某些实施方案中,提供了包含通过其各自GDF15多肽之间的链间二硫键连接的两个这种融合蛋白的同二聚体。

- [4413] 更特别地,在一个具体实施方案中,同二聚体包含:
- [4414] (a) 两个Dh单Fc (N297G) 结构域(每个单体一个),其包含序列 SEQ ID NO:236:
- [4415] (b) 两个GDF15多肽(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO: 12;和
- [4416] (c) 两个多肽接头(每个单体一个),其包含序列SEQ ID NO:58,各自通过肽键使GDF15多肽的N末端连接至Dh单Fc (N297G) 结构域的C末端。
- [4417] 在一个优选实施方案中,融合蛋白包含以下氨基酸序列(接头加双下划线):
- [4418] APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVD
- [4419] GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
- [4420] PIEKTIKAKGQPREPQVTTLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
- [4421] WESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSQSV MHE
- [4422] ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGARNGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLGWA
- [4423] DWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVP
- [4424] ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:240) ,
- [4425] 其由以下核酸序列编码:
- [4426] gcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttcccc
- [4427] caaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc
- [4428] gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggta
- [4429] cgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagc
- [4430] agtacggcagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag
- [4431] gactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccct
- [4432] cccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgag
- [4433] aaccacaggtgaccaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaac
- [4434] caggtcagcctgacctgacctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgc
- [4435] cgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacgacaccacgc
- [4436] ctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctatagcgacctcacc
- [4437] gtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
- [4438] gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctc
- [4439] cgggtggaggtggtggagcgcgcaacggagaccactgtccgctcgggccc
- [4440] gggcgttgctgccgtctgcacacggtccgcgcgtcgtggaagacctggg
- [4441] ctgggccgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacctgtgca
- [4442] tcggcgcgtgcccagccagttccgggcggcaaacatgcacgcgcagatc
- [4443] aagacgagcctgcaccgcctgaagcccgcacacggtgccagcgcctgctg
- [4444] cgtgcccgcagctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccg
- [4445] ggtgtcgtccagacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgc
- [4446] ata (SEQ ID NO:239)。
- [4447] 如上讨论的,在一个具体实施方案中,提供了包含两个具有序列 SEQ ID NO:240的单体的同二聚体。
- [4448] III. GDF15多肽和包含GDF15的构建体,包括其突变体形式
- [4449] 如本文中所公开,本公开中描述的GDF15多肽(包括人GDF15 的全长和成熟形式)

和包含GDF15的构建体可使用标准分子生物学技术来工程化和/或产生,以形成本文提供的GDF15多肽和构建体的突变体形式。在各个实例中,编码本文提供的GDF15多肽和构建体的突变体形式(其可包含SEQ ID NO:4、8或12的全部或部分)的核酸序列可使用适当的寡核苷酸引物从基因组DNA或cDNA分离和/扩增。引物可根据标准(RT)-PCR扩增技术基于本文提供的核酸序列和氨基酸序列来设计。随后可将扩增的GDF15突变体多肽核酸克隆进适当的载体并且通过DNA序列分析来表征。

[4450] 在分离或扩增本文提供的GDF15多肽和构建体的突变体形式的全部或部分中用作探针的寡核苷酸可使用标准合成技术例如自动化DNA合成装置来设计和产生,或可从较长的DNA序列分离。

[4451] III. A. GDF15多肽和多核苷酸序列

[4452] 在体内,GDF15表达为包含信号序列、前结构域和活性结构域连续氨基酸序列。

[4453] 全长人GDF15的308个氨基酸的序列是:

[4454] MPGQELRTVNGSQMLLVLLVLSWLPHGALSLAEASRASFPGPSSELHSED

[4455] SRFRELKRYEDLLTRLRANQSWEDSNTDLVPAPAVRILTPEVRLGSGGH

[4456] LHLRISRAALPEGLPEASRLHRALFRLSPTASRSWDVTRPLRRQLSLARP

[4457] QAPALHLRLSPPPSQSDQLLAESSSARPQLELHLRPQAARGRRRARARNG

[4458] DHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRA

[4459] ANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVSLLQTYDDL

[4460] LAKDCHCI (SEQ ID NO:4)

[4461] 并且由以下DNA序列编码:

[4462] atgcccgggcaagaactcaggacggtgaatggctctcagatgctcctggt

[4463] gttgctggtgctctcgtggctgccgcatggggcgccctgtctctggccg

[4464] aggcgagccgcgcaagtttcccgggaccctcagagttgcactccgaagac

[4465] tccagattccgagagttgcggaacgctacgaggacctgctaaccaggct

[4466] gcgggccaaccagagctgggaagattcgaacaccgacctcgtcccggccc

[4467] ctgcagtccgatactcacgccagaagtgcggctgggatccggcggccac

[4468] ctgcacctgcgtatctctcgggccccttcccaggggctccccgaggc

[4469] ctcccgccttaccgggctctgttccggctgtccccgacggcgtcaaggt

[4470] cgtgggacgtgacacgaccgctgcggcgtcagctcagccttgaagacc

[4471] caggcggccgcgctgcacctgcgactgtcggcggccgctgcagctcgga

[4472] ccaactgctggcagaatcttctgctccgcacggccccagctggagttgact

[4473] tgcggccgcaagccgcccagggggcgccgagagcgcgtgcgcgcaacggg

[4474] gaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtctgcacacggtccg

[4475] cgcgtcgtggaagacctgggctgggcccattgggtgctgtcgccacggg

[4476] aggtgcaagtgacctgtgcatcggcgcgtgcccagaccagttccgggcg

[4477] gcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgectgaagccga

[4478] cacggtgccagcggcctgctgcgtgcccggcagctacaatcccatggtgc

[4479] tcattcaaaagaccgacaccggggtgtcgtcctccagacctatgatgacttg

[4480] ttagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:3)。

[4481] 全长鼠GDF15的303个氨基酸的序列是：

[4482] MAPPALQAQPPGGSQLRFLFLLLLLLLLLSWPSQGDALAMPEQRPSGPES

[4483] QLNADELGRFQDLLSRLHANQSREDSNSEPSPDPAVRILSPEVRLGSHG

[4484] QLLLVRNRSLSQGLPEAYRVHRALLLTPTARPWDITRPLKRALSRLRGP

[4485] RAPALRLRLTPPPDLAMLPSGGTQLELRLRVAAGRGRSAHAHPRDSCPL

[4486] GPGRCCHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQLQLSMCVGECPLYRSANTHA

[4487] QIKARLHGLQPKVPAPCCVPSSYTPVVLMHRTDSGVSLQTYDDLVARGC

[4488] HCA (SEQ ID NO:6)

[4489] 并且由以下DNA序列编码：

[4490] atggccccgccccgctccaggcccagcctccaggcgctctcaactgag

[4491] gttcctgctgttctctgctgctgttgctgctgctgctgcatggccatcgc

[4492] agggggagcgcctggcaatgcctgaacagcagacctccggccctgagtcc

[4493] caactcaacgcgcagcagctacggggctcgttccaggacctgctgagccg

[4494] gctgcatgccaaccagagccgagaggactcgaactcagaaccaagtctg

[4495] acccagctgtccgatactcagtcagaggtgagattgggggtcccacggc

[4496] cagctgctactccgcgtcaaccggcgctcgtgagtcagggtctccccga

[4497] agcctaccgcgtgcaccgagcgtgctcctgctgacgccgacggccccgc

[4498] cctgggacatcactaggccccctgaagcgtgcgtcagcctccggggacct

[4499] cgtgctccccgattacgcctgcgcctgacgccgctccggacctggctat

[4500] gctgccctctggcggcacgcagctggaactgcgcttacgggtagccgccg

[4501] gcagggggcgccgaagcgcgcagcgcacccaagagactcgtgcccactg

[4502] ggtccggggcgctgctgtcacttgagactgtgcaggcaactcttgaaga

[4503] cttgggctggagcactgggtgctgtccccgcgccagctgcagctgagca

[4504] tgtgctggggcgagtgtccccacctgtatcgctccgcgaacacgcatgcg

[4505] cagatcaaagcacgcctgcatggcctgcagcctgacaaggtgcctgcccc

[4506] gtgctgtgtcccctccagctacaccccggtggttcttatgcacaggacag

[4507] acagtgggtgtgctcactgcagacttatgatgacctggtggccccgggctgc

[4508] cactgcgcttga (SEQ ID NO:5)。

[4509] 人GDF15在切割29个残基的信号序列之后的氨基酸序列是：

[4510] LSLAEASRASFPGPSSELHSEDSRFRELKRYEDLLTRLRANQSWEDSNTD

[4511] LVPAPAVRILTPEVRLGSGGHLHLRISRAALPEGLPEASRLHRALFRLSP

[4512] TASRSWDVTRPLRRQLSLARPQAPALHLRLSPPPSQSDQLLAESSSARPQ

[4513] LELHLRPQAARGRRRARARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWV

[4514] LSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASY

[4515] NPMVLIQKTDGTVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:8)

[4516] 并且由以下DNA序列编码：

[4517] ctgtctctggccgaggcgagccgcgcaagtttcccgggacctcagagtt

[4518] gcactccgaagactccagattccgagagttgcggaaacgctacaggacc

[4519] tgctaaccaggctgcgggccaaccagagctgggaagattcgaacaccgac

[4520] ctcgtcccgccccctgcagtcctggatactcacgccagaagtgcggctggg
[4521] atccggcggccacctgcacctgcgtatctctcgggccccttcccagg
[4522] ggctccccgaggcctcccgccttcaccgggctctgttccggctgtccccg
[4523] acggcgtcaaggtcgtgggacgtgacacgaccgctgcggcgctcagctcag
[4524] ccttgcaagaccccaggcgcggcgctgcacctgcgactgtcgccgcccgc
[4525] cgtcgcagtcggaccaactgctggcagaatcttcgtccgcacggccccag
[4526] ctggagttgcacttgcggccgcaagccgcccaggggcgccgcagagcgcg
[4527] tgcgcgcaacggggaccactgtccgctcgggcccggcgcttgctgccgtc
[4528] tgcacacggtccgcgctcgttggaagacctgggctgggcccattgggtg
[4529] ctgtcgccacgggaggtgcaagtgacctgtgcatcgggcgctgcccag
[4530] ccagttccggggcgcaaacatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcacc
[4531] gcctgaagcccgcacaggtgccagcgccttgcctgcgtgcccgcagctac
[4532] aatcccatgggtgctcattcaaaagaccgacaccgggggtgctcgtccagac
[4533] ctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:7)
[4534] 鼠GDF15在切割32个残基的信号序列之后的氨基酸序列是：
[4535] SQGDALAMPEQRPSGPESQLNADELGRFQDLLSRLHANQSREDSNSEPS
[4536] PDPVRILSPEVRLGSHGQLLLRVNRASLSQGLPEAYRVHRALLLLTPTA
[4537] RPWDITRPLKRALSLRGPAPALRLRLTPPPDLAMLPSGGTQLELRLRVA
[4538] AGRGRRSAHAHPRDSCPLGPGRCCHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQLQL
[4539] SMCVGECPHLYRSANTHAQIKARLHGLQPKVPAPCCVPSSYTPVVLHR
[4540] TDSGVSLQTYDDLVARACHCA (SEQ ID NO:10)
[4541] 并且由以下DNA序列编码：
[4542] tcgcagggggacgcccctggcaatgcctgaacagcagccctccggccctga
[4543] gtcccaactcaacgcccagcagctacggggctcgttccaggacctgctga
[4544] gccggctgcatgccaaccagagccgagaggactcgaactcagaaccaagt
[4545] cctgaccagctgtccggatactcagtcagaggtgagattgggggtccca
[4546] cggccagctgctactccgcgtcaaccggcgctcgtgagtcagggtctcc
[4547] ccgaagcctaccgctgcaccgagcgtgctcctgctgacgccgacggcc
[4548] cgcccctgggacatcactaggcccctgaagcgtgcgtcagcctccgggg
[4549] acccctgctcccgcattacgctgcgctgacgccgctccggacctgg
[4550] ctatgctgccctctggcggcagcagctggaactgcgcttacgggtagcc
[4551] gccggcagggggcgccgaagcgcgcatgcccaccaagagactcgtgcc
[4552] actgggtccggggcgctgctgtcacttggagactgtgcaggcaactcttg
[4553] aagacttgggctggagcagctgggtgctgtccccgcgccagctgcagctg
[4554] agcatgtgcgtgggagctgtccccacctgtatcgtccgcgaacacgca
[4555] tgcgcagatcaaagcacgcctgcatggcctgcagcctgacaaggtgcctg
[4556] ccccgctgctgtgtcccctccagctacaccccgggtggttcttatgcacagg
[4557] acagacagtggtgtgtcactgcagacttatgatgacctgggtggccccggg
[4558] ctgccactgcgcttga (SEQ ID NO:9)

[4559] GDF15的生物活性形式包含同二聚体,该同二聚体包含各自包含SEQ ID NO:12的两个成熟GDF15单体。同二聚化以形成天然成熟人GDF15二聚体的单体由以下核酸序列编码:

[4560] gcgcgcaacggggaccactgtccgctcgggcccgggcggttgctgccgtct
 [4561] gcacacgggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccgattgggtgc
 [4562] tgtcgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcccgagc
 [4563] cagttccgggcggaacaatgcacgcgcagatcaagacgagcctgcaccg
 [4564] cctgaagcccgcacgggtgccagcgcctgtgctgctgcccgccagctaca
 [4565] atcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgctccagacc
 [4566] tatgatgacttgtagccaaagactgccactgcatatga (SEQ ID NO:11)
 [4567] 并且包含以下氨基酸序列:
 [4568] ARNGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPS
 [4569] QFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVSQT
 [4570] YDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:12)。

[4571] 因此,“天然成熟人GDF15二聚体”包含两个共价缔合的包含SEQ ID NO:12的单体。

[4572] 人GDF15的重组活性形式的氨基酸序列(其包含同二聚体,该同二聚体在每个单体中包含九个半胱氨酸以形成一个链间二硫键和四个链内二硫键(以括号中任选的N末端甲硫氨酸残基显示))为:

[4573] (M) ARNGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGA
 [4574] CPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVS
 [4575] LQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:189)
 [4576] 并且由以下DNA序列(以括号中任选N末端甲硫氨酸密码子显示)编码:
 [4577] (atg) gcgcgcaacggggaccactgtccgctcgggcccgggcggttgctgc
 [4578] cgtctgcacacgggtccgcgctcgctggaagacctgggctgggcccgattg
 [4579] ggtgctgtgccacgggaggtgcaagtgacatgtgcatcggcgcgtgcc
 [4580] cgagccagttccgggcggaacaatgcacgcgcagatcaagacgagcctg
 [4581] caccgcctgaagcccgcacgggtgccagcgcctgtgctgctgcccgccag
 [4582] ctacaatcccatggtgctcattcaaaagaccgacaccggggtgctcgctcc
 [4583] agacctatgatgacttgtagccaaagactgccactgcatataa (SEQ ID NO:190)。

[4584] 鼠GDF15的重组活性形式的氨基酸序列(其包含同二聚体,该同二聚体在每个单体中包含九个半胱氨酸以形成一个链间二硫键和四个链内二硫键)为:

[4585] (M) SAHAHPDSCPLGPRCCCHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQLQLSMC
 [4586] VGECPLYRSANTHAQIKARLHGLQPKVPAPCCVPSSYTPVLMHRTDS
 [4587] GVSQTYYDDLVARGCHCA (SEQ ID NO:14)
 [4588] 并且由以下DNA序列编码:
 [4589] (atg) agcgcgcgatgcgcacccaagagactcgtgcccactgggtccgggg
 [4590] cgctgctgtcacctggagactgtgcaggcaactcctgaagacttgggctg
 [4591] gagcgactgggtgttgctccccgcgccagctgcagctgagcatgtgctgg
 [4592] gcgagtgtccccacctgtatcgctccgcgaacacgcatgcgcagatcaaa

[4593] gcacgcctgcatggcctgcagcctgacaaggtgcctgccccgtgctgtgt

[4594] cccctccagctacaccccggtggttcttatgcacaggacagacagtgggt

[4595] tgtcactgcagacttatgatgacctggtggccccggggctgccactgcgct

[4596] tga (SEQ ID NO:13)。

[4597] 如本文所述,术语“GDF15多肽”是指包含人氨基酸序列SEQ ID NO:4、8和12的GDF多肽。然而,术语“GDF15突变体多肽”涵盖包含与天然存在的GDF多肽序列(例如,SEQ ID NO:4、8和12)的氨基酸序列有一个或多个氨基酸不相同以使序列与SEQ ID NO:4、8和12具有至少85%同一性的氨基酸序列的多肽。GDF15多肽可通过在GDF15多肽的特定位置上引入一个或多个保守或非保守氨基酸取代和使用天然存在或非天然存在的氨基酸或者通过缺失特定残基或残基的区段而产生。

[4598] “保守氨基酸取代”可涉及天然氨基酸残基(即,在野生型GDF15多肽序列的给定位置上发现的残基)被非天然残基(即,不是在野生型GDF15多肽序列的给定位置上发现的残基)取代,以使对所述位置处的氨基酸残基的极性 or 电荷影响很小或没有影响。保守氨基酸取代还涵盖通常通过化学肽合成而不是通过在生物系统中的合成并入的非天然存在的氨基酸残基(如本文所定义)。这些包括肽模拟物以及氨基酸部分的其他反向或倒转形式。

[4599] 天然存在的残基可基于共同侧链特性分成以下种类:

[4600] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[4601] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr;

[4602] (3) 酸性:Asp、Glu;

[4603] (4) 碱性:Asn、Gln、His、Lys、Arg;

[4604] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;以及

[4605] (6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[4606] 使用例如Creighton(1984) PROTEINS:STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES(第二版1993),W.H.Freeman and Company中描述的原理还可配制另外组的氨基酸。在一些情况下,基于所述特征(例如,具有“小极性”残基如Thr残基的取代在适当的情形中可代表高度保守的取代)中两个或更多个对取代进行进一步表征可为有用的。

[4607] 保守取代可涉及这些种类之一的成员与相同种类的另一成员的交流。非保守取代可涉及这些种类之一的成员与另一种类的成员的交流。

[4608] 具有已知的与上述分组的那些类似的生理化学特性的合成、稀有或修饰的氨基酸残基可用作序列中特定氨基酸残基的“保守”取代基。例如,D-Arg残基可充当典型L-Arg残基的取代基。还可出现这样的情况,可根据上述种类的两个或更多个描述特定的取代(例如,用小的并且疏水性残基的取代意思是用在两个上述种类中发现的一个或多个残基或在本领域已知与满足两种定义的所述残基具有类似生理化学特性的其他合成、稀有或修饰的残基取代一个氨基酸)。

[4609] 编码本文提供的GDF15突变体多肽(包括简并成SEQ ID NO:3、7、11和15的那些和编码SEQ ID NO:4、8和12的多肽变体的那些)的核酸序列形成本公开的其他方面。

[4610] III.B. 用于表达GDF15多肽和包含GDF15的构建体(包括其突变体形式)的载体

[4611] 为了表达编码包含GDF15区的多肽的核酸序列,可将适当的编码序列(例如SEQ ID NO:3、7和11)克隆到适合的载体中,并且在引入适合的宿主中后,可根据标准克隆和表达技

术表达序列以产生编码的多肽,所述技术在本领域是已知的(例如,如Sambrook, J., Fritsh, E.F.,和Maniatis, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 第2版, 编著, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989中所描述)。本发明还涉及包含根据本发明的核酸序列的所述载体。

[4612] “载体”是指递送媒介物,其(a)促进多肽编码核酸序列的表达;(b)促进多肽从其产生;(c)随即促进靶细胞的转染/转化;(d)促进核酸序列的复制;(e)促进核酸的稳定性;(f)促进核酸和/或转化/转染的细胞的检测;和/或(g)另外赋予多肽编码核酸有利的生物学和/或生理化学功能。载体可以是任何适合的载体,包括染色体、非染色体以及合成的核酸载体(包含适合的一组表达控制元件的核酸序列)。所述载体的实例包括SV40的衍生物、细菌质粒、噬菌体DNA、杆状病毒、酵母质粒、衍生自质粒与噬菌体DNA的组的载体以及病毒核酸(RNA 或DNA)载体。

[4613] 重组表达载体可设计成用于在原核细胞(例如,大肠杆菌(*E. coli*))或真核细胞(例如,昆虫细胞(使用杆状病毒表达载体)、酵母细胞或哺乳动物细胞)中表达包含GDF15区的多肽。代表性宿主细胞包括通常用于克隆和表达的那些宿主,包括大肠杆菌菌株TOP10F'、TOP10、DH10B、DH5a、HB101、W3110、BL21 (DE3)和BL21 (DE3) pLysS、BLUESCRIPT (Stratagene)、哺乳动物细胞系CHO、CHO-K1、HEK293、293-EBNA pIN载体(Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 264: 5503-5509 (1989); pET载体(Novagen, Madison Wis.)。或者,可例如使用T7启动子调控序列和T7聚合酶以及体外翻译系统体外转录和翻译重组表达载体。优选地,载体含有位于含有编码多肽的核酸序列的克隆位点上游的启动子。可被打开和关闭的启动子的实例包括lac 启动子、T7启动子、trc启动子、tac启动子和trp启动子。

[4614] 因此,本文提供的是有利于目标多肽或构建体的表达的载体,所述载体包含编码包含GDF15区的多肽的核酸序列。在各个实施方案中,载体包含可操作地连接的核苷酸序列,其调节包含GDF15区的多肽的表达。载体可包含任何适合的启动子、增强子和其他表达促进元件或与所述启动子、增强子和其他表达促进元件缔合。所述元件的实例包括强表达启动子(例如,人CMV IE启动子/增强子、RSV启动子、SV40启动子、SL3-3启动子、MMTV启动子或HIV LTR启动子、EF1 α 启动子、CAG启动子)、有效的聚腺苷酸终止序列、大肠杆菌中质粒产物的复制起始点、抗生素抗性基因(作为选择标记)和/或方便的克隆位点(例如,多接头)。相对于组成型启动子如CMV IE,载体还可包含诱导型启动子。一方面,提供了包含编码包含GDF15区的多肽的序列的核酸,其与组织特异性启动子可操作地连接,所述组织特异性启动子促进序列在代谢相关组织(如肝脏或胰腺组织)中的表达。

[4615] III.C. 宿主细胞

[4616] 在本公开的另一个方面,提供了包含本文所公开的核酸和载体的宿主细胞。在各个实施方案中,将载体或核酸整合到宿主细胞基因组中,在其他实施方案中所述载体或核酸存在于染色体外。

[4617] 提供了包含所述核酸、载体或其任一或两者的组合的重组细胞,如酵母、细菌(例如,大肠杆菌)和哺乳动物细胞(例如,永生化哺乳动物细胞)。在各个实施方案中,提供了包含非整合核酸(如质粒、粘粒、噬菌粒或线性表达元件)的细胞,所述非整合核酸包含编码包含GDF15区的多肽的序列。

[4618] 包含编码包含GDF15区的多肽的核酸序列的载体可通过转化或通过转染引入宿主

细胞。用表达载体转化细胞的方法是熟知的。

[4619] 编码包含GDF15区的多肽的核酸可经由病毒载体定位在宿主细胞或宿主动物中和/或递送至宿主细胞或宿主动物。任何适合的病毒载体可用于此能力。病毒载体可包含单独或与一种或多种病毒蛋白质组合的任何数目的病毒多核苷酸,所述蛋白质有利于本发明的核酸在期望的宿主细胞中的递送、复制和/或表达。病毒载体可以是包含病毒基因组的全部或部分的多核苷酸、病毒蛋白质/核酸缀合物、病毒样颗粒(VLP)或包含病毒核酸和编码包含GDF15区的多肽的核酸的完整病毒颗粒。病毒颗粒病毒载体可包括野生型病毒颗粒或修饰的病毒颗粒。病毒载体可以是需要另一个载体或野生型病毒的存在以用于复制和/或表达的载体(例如,病毒载体可以是辅助依赖性病毒(helper-dependent virus)),如腺病毒载体扩增子。通常,所述病毒载体由野生型病毒颗粒或在其蛋白质和/或核酸含量上经过修饰以增加转基因能力或帮助核酸的转染和/或表达的病毒颗粒组成(所述载体的实例包括疱疹病毒/AAV扩增子)。通常,病毒载体与通常感染人的病毒相似和/或衍生自所述病毒。在此方面适合的病毒载体颗粒包括例如腺病毒载体颗粒(包括腺病毒科的任何病毒或衍生自腺病毒科的病毒的任何病毒)、腺伴随病毒载体颗粒(AAV载体颗粒)或其他细小病毒和微小病毒载体颗粒、乳头瘤病毒载体颗粒、黄病毒载体、甲病毒载体、疱疹病毒载体、痘病毒载体、逆转录病毒载体(包括慢病毒载体)。

[4620] III.D.GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的分离

[4621] 包含GDF15区的多肽可使用标准蛋白质纯化方法来分离。包含 GDF15区的多肽可从已工程改造以表达包含GDF15区的多肽的细胞(例如,不天然地表达天然GDF15的细胞)中分离。

[4622] 可用于分离包含GDF15区的多肽的蛋白质纯化方法以及相关材料和试剂在本领域是已知的。纯化包含GDF15区的多肽的示例性方法在下文实施例中提供。可用于分离包含GDF15区的多肽的另外纯化方法可见于以下参考文献,如Bootcov MR,1997, Proc.Natl.Acad. Sci.USA 94:11514-9,Fairlie WD,2000, Gene 254:67-76。

[4623] IV. 包含GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的药物组合物

[4624] 提供了包含单体或多聚体的药物组合物,所述单体或多聚体包含含有GDF15区的多肽。所述多肽药物组合物可包含与被选择以适合施用模式的药学上或生理学上可接受的配制剂混合的治疗有效量的包含单体或多聚体的多肽,所述单体或多聚体包含含有GDF15区的多肽。如本文所使用的术语“药学上可接受的载体”或“生理学上可接受的载体”是指适于实现或增强包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体向人或非人受试者的体内的递送的一种或多种配制剂。所述术语包括生理学上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣剂、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。药学上可接受的载体的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇等中的一种或多种以及其组合。在一些情况下,将优选的是在药物组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇(如甘露醇、山梨醇)或氯化钠。药学上可接受的物质如湿润剂或少量辅助物质如湿润或乳化剂、防腐剂或缓冲剂(所述物质增强包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的贮存期限或功效)还可用作载体或形成载体的组分。可接受的药学上可接受的载体优选在使用的剂量和浓度下对接受者是无毒的。

[4625] 药物组合物可含有用于改变、维持或保持例如组合物的pH、摩尔渗透压浓度、粘度、澄清度、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶解或释放速率、吸收或渗透的配制剂。适

合的配制剂包括但不限于:氨基酸(如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸)、抗微生物剂、抗氧化剂(如抗坏血酸、亚硫酸钠或亚硫酸氢钠)、缓冲剂(如硼酸盐、碳酸氢盐、Tris-HCl、柠檬酸盐、磷酸盐或其他有机酸)、膨胀剂(如甘露醇或甘氨酸)、螯合剂(如乙二胺四乙酸(EDTA))、络合剂(如咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、 β -环糊精或羟丙基- β -环糊精)、填充剂、单糖、二糖和其他糖类(如葡萄糖、甘露糖或糊精)、蛋白质(如游离的血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白)、着色剂、调味剂和稀释剂、乳化剂、亲水聚合物(如聚乙烯吡咯烷酮)、低分子量多肽、成盐抗衡离子(如钠)、防腐剂(如苯扎氯铵、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、尼泊金甲酯、尼泊金丙酯、氯己定、山梨酸或过氧化氢)、溶剂(如甘油、丙二醇或聚乙二醇)、糖醇(如甘露醇或山梨醇)、悬浮剂、表面活性剂或湿润剂(如普流罗尼类(pluronic); PEG; 山梨糖酯; 聚山梨醇酯如聚山梨酯20或聚山梨酯80; 曲拉通(Triton); 氯丁三醇; 卵磷脂; 胆固醇或tyloxapal)、稳定性增强剂(如蔗糖或山梨醇)、张力增强剂(如碱金属卤化物-优选氯化钠或氯化钾-或甘露醇山梨醇)、递送媒介物、稀释剂、赋形剂和/或药物佐剂(参见,例如,REMINGTON:THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY,第19版(1995); Berg e等, J.Pharm.Sci.,6661),1-19(1977)。另外相关原理、方法和试剂描述于例如Lieberman等, PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM S-DISPERSE SYSTEMS(第2版,第3卷,1998); Ansel等, PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS&DRUG DELIVERY SYSTEM S(第7版,2000); Martindale,THE EXTRA PHARMACOPEIA(第3 1版),Remington's PHARMACEUTICAL SCIENCES(第16-20版和随后版本);The Pharmacological Basis Of Therapeutics,Goodman 和Gilman编著(第9版--1996);Wilson和Gisvolds的TEXTBOOK OF ORGANIC MEDICINAL AND PHARMACEUTICAL CHEMISTR Y,Delgado和Remers编著(第10版,1998)。配制药学上可接受的组合物的原理还描述于例如Aulton,PHARMACEUTICS:THE SCIENCE OF DOSAGE FORM DESIGN,Churchill Livingstone(New Yor k)(1988),EXTEMPORANEOUS ORAL LIQUID DOSAGE PREPAR ATIONS,CSHP(1998))。

[4626] 最佳药物组合物将由本领域技术人员根据例如期望的施用途径、递送形式和期望的剂量来确定(参见,例如,Remington's PHARMACEUTICAL SCIENCES,同上)。所述组合物可影响GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的物理状态、稳定性、体内释放速率以及体内清除速率。

[4627] 药物组合物中的主要媒介物或载体在性质上可以是含水的或非含水的。例如,用于注射的适合的媒介物或载体可以是水、生理盐水溶液或人工脑脊液,可能补充有在用于胃肠外施用的组合物中常用的其他材料。中性缓冲盐水或与游离的血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性媒介物。其他示例性药物组合物包含约pH 7.0-8.5的Tris缓冲液或约pH 4.0-5.5的醋酸盐缓冲液,其可进一步包括山梨醇或适合的替代物。在本发明的一个实施方案中,包含GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的组合物可通过将选择的具有期望纯度的组合物与任选的配制剂混合来制备(Remington's PHARMACEUTICAL SCIENCES,同上),以冻干的饼状物或水溶液的形式进行贮存。此外,可使用适当的赋形剂(如蔗糖)将包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的产物配制为冻干物。

[4628] 多肽药物组合物可被选择用于胃肠外递送。或者,组合物可被选择用来吸入或通过消化道递送,如口服。所述药学上可接受的组合物的制备在本领域技术人员的能力范围内。

[4629] 制剂组分以对于施用部位可接受的浓度存在。例如,使用缓冲剂来将组合物维持在生理pH或略低的pH,通常在约5至约8的pH范围内。

[4630] 当预期胃肠外施用时,用于本发明的治疗性组合物可以是在药学上可接受的媒介物中包含期望的GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的无热原、胃肠外可接受的水溶液的形式。用于胃肠外注射的特别适合的媒介物为无菌蒸馏水,将GDF15多肽、包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的构建体在所述无菌蒸馏水中配制为适当保存的无菌等渗溶液。然而,另一种制备可涉及利用如可注射微球、生物可蚀解颗粒、多聚体化合物(如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂质体的试剂配制期望的分子,所述试剂提供产物的受控或持续释放,所述产物随后可通过积存注射(depot injection)来进行递送。还可使用透明质酸,并且这可能具有促进在循环中持续存在的作用。用于期望分子的引入的其他适合的装置包括可植入的药物递送装置。

[4631] 在一个实施方案中,可配制药物组合物来用于吸入。例如,可将包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体配制为用于吸入的干粉末。包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的吸入溶液还可用喷射剂配制用于气雾剂递送。而在另一个实施方案中,溶液可被雾化。经肺施用进一步描述于国际公布号W094/20069中,所述国际公布描述了化学修饰的蛋白质的经肺递送。

[4632] 还预期某些制剂可口服施用。在本发明的一个实施方案中,以此方式施用的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体可用或不用通常用于固体剂型(如片剂和胶囊)的配制的那些载体进行配制。例如,胶囊可设计成在胃肠道生物利用度最大化并且系统前降解(pre-systemic degradation)最小化时的点释放制剂的活性部分。可以包含额外试剂来促进包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的吸收。还可采用稀释剂、调味剂、低熔点蜡、植物油、润滑剂、悬浮剂、片剂崩解剂和粘合剂。

[4633] 另一种药物组合物可包括与适于片剂制造的无毒赋形剂混合的有效量的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体。通过将片剂溶解于无菌水或另一适当的媒介物中,可制备呈单位剂量形式的溶液。适合的赋形剂包括但不限于:惰性稀释剂,如碳酸钙、碳酸钠或碳酸氢钠、乳糖或磷酸钙;或粘合剂,如淀粉、明胶或阿拉伯树胶;或润滑剂,如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。

[4634] 包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的另外的药物组合物对于本领域技术人员来说将是明显的,包括在持续或受控递送制剂中包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的制剂。用于配制多种其他持续或受控递送工具(如脂质体载体、生物可蚀解微粒或多孔珠粒以及积存注射剂(depot injection))的技术对于本领域技术人员来说也是已知的(参见,例如,国际公布号W093/15722(其描述了用于递送药物组合物的多孔聚合物微粒的受控释放),以及Wischke& Schwendeman,2008,Int.J.Pharm.364:298-327和Freiberg&Zhu,2004,Int.J.Pharm.282:1-18(其讨论了微球/微粒的制备和使用))。如本文所述,水凝胶是持续或受控递送制剂的实例。

[4635] 持续释放制剂的另外实例包括呈成形物品形式的半渗透聚合物基质,例如膜或微胶囊。持续释放基质可包括聚酯、水凝胶、聚交酯(美国专利号3,773,919和欧洲专利号0058481)、L-谷氨酸与L-谷氨酸 γ 乙酯的共聚物(Sidman等,1983,Biopolymers 22:547-56)、聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)(Langer等,1981,J.Biomed.Mater.Res.15:167-277和

Langer, 1982, Chem. Tech. 12: 98-105)、乙烯乙酸乙烯酯 (Langer等, 同上) 或聚-D(-)-3-羟丁酸 (欧洲专利号0133988)。持续释放组合物还可包括脂质体, 其可通过本领域已知的几种方法中的任一种方法来制备。参见, 例如, Epstein等, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82: 3688-92; 以及欧洲专利号0 036 676、0 088 046和0 143 949。

[4636] 待用于体内施用的包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽) 的药物组合物通常应当是无菌的。这可通过经由无菌过滤膜过滤来实现。当组合物被冻干时, 使用这种方法灭菌可在冻干及复水之前或之后进行。用于胃肠外施用的组合物可以冻干的形式或以溶液贮存。此外, 通常将胃肠外组合物放置在具有无菌入口的容器中, 例如具有可用皮下注射针刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶中。

[4637] 一旦药物组合物已配制, 其即可作为溶液、悬浮液、凝胶剂、乳液、固体或作为脱水或冻干粉末贮存在无菌小瓶中。所述制剂可以即用形式或以在施用之前需要复水的形式(例如冻干形式) 贮存。

[4638] 在一个特定实施方案中, 本发明涉及用于生产单剂量施用单位的试剂盒。试剂盒可各自含有具有干燥蛋白质的第一容器和具有水性制剂的第二容器。本发明的范围内还包括含有单室和多室预装填注射器(例如, 液体注射器和冻干注射器(lyosyringe)) 的试剂盒。

[4639] 待治疗性地使用的包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽) 的药物组合物的有效量将取决于例如治疗背景和目标。本领域技术人员将认识到, 用于治疗的适当剂量水平因此将部分地取决于递送的分子、将对其使用包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的适应症、施用途径以及患者的体型(体重、体表面或器官大小) 和状况(年龄和总体健康状况) 而变化。因此, 临床医师可滴定剂量并修改施用途径以获得最佳治疗效果。取决于上述因素, 典型剂量范围可在约0.1 μ g/kg 至约100mg/kg或更高。在其他实施方案中, 剂量的范围可在0.1 μ g/kg 至约100mg/kg; 或1 μ g/kg至约100mg/kg; 或5 μ g/kg、10 μ g/kg、15 μ g/kg、20 μ g/kg、25 μ g/kg、30 μ g/kg、35 μ g/kg、40 μ g/kg、45 μ g/kg、50 μ g/kg、55 μ g/kg、60 μ g/kg、65 μ g/kg、70 μ g/kg、75 μ g/kg、100 μ g/kg、200 μ g/kg 或至约10mg/kg。

[4640] 给药频率将取决于所使用的制剂中的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的药代动力学参数。通常, 临床医师将施用组合物直至达到实现所希望的效果的剂量。因此组合物可以单次剂量或者随着时间的推移以两次或更多次剂量(其可能含有或可能不含有相同量的所希望的分子), 或者以连续输注经由植入装置或导管来施用。适当剂量的进一步细化由本领域普通技术人员按常规进行并且处于由其常规进行的工作的范围内。适当的剂量可通过使用适当的剂量-反应数据来确定。

[4641] 药物组合物的施用途径符合已知的方法, 例如口服; 通过经由静脉内、腹膜内、大脑内(实质内)、脑室内、肌内、眼内、动脉内、门静脉内(intraportal) 或病灶内途径的注射; 通过持续释放系统(其还可被注射); 或通过植入装置进行的方法。当期望时, 组合物可通过推注注射(bolus injection) 或通过输注连续地, 或通过植入装置进行施用。

[4642] 或者或另外, 组合物可经由植入上面已吸附或囊封有所需分子的膜、海绵或其他适当材料来局部施用。当使用植入装置时, 所述装置可植入任何适合的组织或器官中, 并且所需分子的递送可经由扩散、定时释放推注或连续施用。

[4643] 为了以预定的速率递送药物, 例如包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体, 以使

药物浓度可在延长时期内维持在期望的治疗有效水平上,可采用多种不同的方法。在一个实例中,可采用包含聚合物如明胶(例如,牛明胶、人明胶或来自另外来源的明胶)或天然存在的或合成产生的聚合物的水凝胶。任何百分比的聚合物(例如,明胶)可用于水凝胶中,如5%、10%、15%或20%。适当浓度的选择可取决于多种因素,如期望的治疗特征谱(therapeutic profile)和治疗性分子的药代动力学特征谱。

[4644] 可掺入水凝胶的聚合物的实例包括聚乙二醇(“PEG”)、聚氧化乙烯、聚氧化乙烯-聚氧化丙烯共聚物、共聚-聚氧化乙烯嵌段或无规共聚物、聚乙烯醇、聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(氨基酸)、葡聚糖、肝素、多糖、聚醚等。

[4645] 当产生水凝胶制剂时可考虑的另一个因素是水凝胶与交联剂的交联程度。在一个实施方案中,交联可经由涉及甲基丙烯酸酐的甲基丙烯酸酯化反应来实现。在一些情况下,高度的交联可能是期望的,然而在其他情况下,优选较低程度的交联。在一些情况下,较高程度的交联提供更长的持续释放。更高程度的交联可提供较坚硬的水凝胶和更长的药物递送持续时间。

[4646] 聚合物与交联剂(例如,甲基丙烯酸酐)的任何比率可用于产生具有期望特性的水凝胶。例如,聚合物与交联剂的比率可为,例如8:1、16:1、24:1或32:1。例如,当水凝胶聚合物为明胶并且交联剂为甲基丙烯酸酯时,可采用8:1、16:1、24:1或32:1的甲基丙烯酸酐:明胶的比率。

[4647] V.GDF15多肽、包含GDF15多肽的构建体或其突变体形式的治疗性用途

[4648] 包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体可用于治疗、诊断或缓解代谢病症或疾患。在一个实施方案中,待治疗的代谢疾患为糖尿病,例如2型糖尿病。在另一个实施方案中,代谢病症或疾患是肥胖。在其他实施方案中,代谢病症或疾患是血脂障碍、升高的葡萄糖水平、升高的胰岛素水平或糖尿病性肾病。例如,可使用包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体治疗或缓解的代谢病症或疾患包括其中人受试者具有125mg/dL或更高,例如130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200或高于200mg/dL的空腹血糖水平的状态。血糖水平可在进食或空腹状态下,或在随机状态下测定。代谢病症或疾患还可包括其中受试者处于发展代谢病症的增加了的风险中的病症。对于人受试者,所述病症包括100mg/dL的空腹血糖水平。可使用包含GDF15突变体多肽的药物组合物治疗的病症还可见于American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes Care-2011,American Diabetes Association,Diabetes Care 第34卷,增刊号1,S11-S61,2010。

[4649] 在申请中,代谢疾患或病症,如2型糖尿病、升高的葡萄糖水平、升高的胰岛素水平、血脂障碍、肥胖症或糖尿病性肾病可通过向有需要的患者施用治疗有效剂量的GDF15多肽、包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的构建体进行治疗。施用可如本文所述,如通过静脉注射、腹膜内(IP)注射、皮下注射、肌肉注射或以片剂或液态制剂(liquid formation)的形式口服来执行。在一些情况下,包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的治疗有效剂量或优选剂量可由临床医师来确定。包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的治疗有效剂量将尤其取决于施用方案、施用试剂的单位剂量、是否将包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体与其他治疗剂组合施用、接受者的免疫状态和健康。如本文所使用,术语“治疗有效剂量”意指引发研究者、医生或其他临床医师所寻求的组织系统、动物或人

的生物学或医学反应(其包括正在治疗的疾病或障碍的症状的减轻或缓解)的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的量,即,支持可观察水平的一个或多个期望的生物学或医学反应(例如降低血糖、胰岛素、甘油三酯或胆固醇水平;减轻体重;或提高葡萄糖耐量、能量消耗或胰岛素敏感性)的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的量。

[4650] 注意,治疗有效剂量的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体还可随期望的结果而变化。因此,例如,在其中指示较低水平的血糖的情况下,包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的剂量将相应地高于其中期望相对较低水平的血糖的剂量。相反地,在其中指示较高水平的血糖的情况下,包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的剂量将相应地低于其中期望相对较高水平的血糖的剂量。

[4651] 在各个实施方案中,受试者是具有100mg/dL或更高的血糖水平的人,其可用包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体进行治疗。

[4652] 在一个实施方案中,本公开的方法包括首先测量受试者中的一种或多种代谢相关化合物(如葡萄糖、胰岛素、胆固醇、脂质)的基线水平。然后向受试者施用包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的药物组合物。在所需时间段后,再次测量受试者中的一种或多种代谢相关化合物(例如,血糖、胰岛素、胆固醇、脂质)的水平。然后可将两个水平相比较以确定受试者中的代谢相关化合物的相对变化。取决于所述比较的结果,可施用另一剂量的包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的药物组合物,以达到一种或多种代谢相关化合物的期望水平。

[4653] 注意,可将包含单体或多聚体(包含含有GDF15区的多肽)的药物组合物与另一种化合物共同施用。与包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体共同施用的化合物的身份和特性将取决于待治疗或改善的病症的性质。可与包含单体或多聚体(含有GDF15区的多肽)的药物组合物组合施用的化合物的实例的非限制性列表包括罗格列酮(rosiglitazone)、吡咯列酮(pioglitazone)、瑞格列奈(repaglinide)、那格列奈(nateglinide)、二甲双胍、艾塞那肽(exenatide)、西他列汀(stiaglipitin)、普兰林肽、格列吡嗪、glimepirideacarbose和米格列醇。

[4654] VI. 试剂盒

[4655] 还提供用于实践所公开方法的试剂盒。所述试剂盒可包括如本文所述的那些的药物组合物,包括编码本文提供的肽或蛋白质的核酸、包含所述核酸的载体和细胞,以及包含有所述核酸的化合物的药物组合物,所述药物组合物可提供在无菌容器中。任选地,还可包括关于如何在代谢疾患的治疗中使用提供的药物组合物的说明书,或使所述说明书可为患者或医疗服务提供者所用。

[4656] 一方面,试剂盒包括:(a)包含治疗有效量的包含含有GDF15区的多肽的单体或多聚体的药物组合物;和(b)一个或多个用于药物组合物的容器。所述试剂盒还可包括其使用说明书;说明书可以针对精确的正在治疗的代谢疾患而定制。说明书可描述试剂盒中提供的材料的用途和性质。在某些实施方案中,试剂盒包括患者用以进行施用以治疗代谢疾患(如升高的葡萄糖水平、升高的胰岛素水平、肥胖症、2型糖尿病、血脂障碍或糖尿病性肾病)的说明书。

[4657] 说明书可印刷在基底,如纸或塑料等上,并且在试剂盒的容器或其组件(例如,与包装相关的)等的标签中,可将其作为包装说明书(package insert)提供于试剂盒中。在

其他实施方案中,说明书以存在于适合的计算机可读存储介质例如CD-ROM、软盘等上的电子存储数据文件形式存在。在其他实施方案中,实际的说明书不存在于试剂盒中,但提供了用于从远程来源(如通过因特网)获得说明书的手段。此实施方案的实例是包括网址的试剂盒,可以从所述网址查看和/或下载说明书。

[4658] 通常期望将试剂盒的一些或全部组分包装在适合的包装中以维持无菌性。可将试剂盒的组分包装在试剂盒容器元件中以产生单个容易操作的单元,其中试剂盒容器元件(例如盒子或类似结构)可以是或可以不是气密容器,例如以进一步保持试剂盒的一些或全部组分的无菌性。

实施例

[4659] 以下实施例,包括进行的实验及达成的结果,仅出于说明目的提供并且不应被解释为限制本发明。

[4660] 实施例1

[4661] Fc-GDF15分子的制备

[4662] 使具有结/孔Fc、半Fc、带电荷对(delHinge)Fc和带电荷对(delHinge)半胱氨酸夹Fc序列的GDF15融合体在无血清悬浮适应的 CHO-K1细胞系中稳定表达。将GDF15-Fc分子克隆进含有嘌呤霉素抗性的稳定表达载体,而将Fc链克隆进含有潮霉素的表达载体(Selexis, Inc.)。使用lipofectamine LTX以1:1比例转染质粒,并在转染后2天在含有10ug/mL嘌呤霉素和600ug/mL潮霉素的专有生长培养基中选择细胞。选择期间每周更换两次培养基。当细胞达到约90%存活率时,将它们放大用于饲料分批生产运行。在专有生产培养基中以1e6/mL接种细胞,并在第3、6和8天饲料。在第10天收集由细胞生成的条件培养基(CM)并澄清。终点存活率通常高于90%。

[4663] 使用两步色谱方法纯化Fc-GDF15澄清的条件培养基。将大约5L CM直接应用至之前已经用Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(PBS)平衡的GE MabSelect SuRe柱。结合的蛋白经历了三个洗涤步骤:首先,3个柱体积(CV)的PBS;接下来,1CV的20mM Tris、100mM氯化钠(pH 7.4);最后,3CV的500mM L-精氨酸(pH 7.5)。这些洗涤步骤去除了未结合或轻微结合的培养基组分和宿主细胞杂质。然后用5CV的20mM Tris、100mM氯化钠(pH 7.4)再平衡柱,使UV吸光度回到基线。用100mM乙酸(pH 3.6)洗脱所需蛋白质并大量收集。用1M Tris-HCl(pH 9.2)将蛋白池快速滴定至5.0至5.5的pH范围内。

[4664] 接下来将pH调节的蛋白池上样至之前已经用20mM MES(pH 6.0)平衡的GE SP Sepharose HP柱。然后用5CV平衡缓冲液洗涤结合的蛋白质,最后经20CV、0至50%线性梯度(20mM MES中0至400mM氯化钠(pH 6.0))洗脱。洗脱期间收集级分,并通过分析型尺寸排阻色谱(Superdex 200)分析以确定适当级分以收集均质产物。SP HP色谱去除了产物相关杂质,例如游离Fc、成夹物类和Fc-GDF15多聚体。

[4665] 然后通过透析将SP HP池缓冲液更换成10mM乙酸钠,5%脯氨酸(pH 5.2)。使用Sartorius Vivaspin 200千道尔顿分子量截留离心装置将其浓缩至大约15mg/ml。最后,无菌过滤,将得到的含有纯化Fc-GDF15分子的溶液贮存在5°C。使用质谱分析、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺电泳和尺寸排阻高效液相色谱评价最终产物的身份和纯度。

[4666] 采用上述纯化方法纯化Dh单Fc-GDF15融合蛋白。然而,发现向Dh单Fc-GDF15添加

H6D突变导致在SP洗脱液中形成可溶性聚集物。因此,Dh单Fc-GFF15(H6D)的纯化包括额外的SEC步骤(Superdex 200,用20mM磷酸盐,250mM NaCl,pH 6.8),随后上样至Q-sepharose HP,并用20mM tris中0至0.6M NaCl(pH 8.5)的梯度洗脱。

[4667] 实施例2

[4668] GDF15-HSA和Dh单Fc分子的制备

[4669] 使具有HSA和Dh单Fc序列的GDF15融合体在CHO-S细胞(Invitrogen)中稳定表达。对于产生同二聚体的构建体的每一个,将编码序列克隆进含有嘌呤霉素抗性的稳定表达载体(Selexis,Inc.)。在HSA-(G₄S)₄-GDF15:GDF15异二聚体的情况下,将HSA-(G₄S)₄-GDF15融合序列克隆进含有嘌呤霉素抗性的表达载体,并且将GDF15序列克隆进含有潮霉素抗性的表达载体。使CHO-S亲本细胞维持在补充了8mM L-谷氨酰胺的CD-CHO培养基(Invitrogen)中,并使用Lipofectamine LTX转染试剂盒(Invitrogen)根据生产商说明用4μg质粒DNA转染。在HSA-(G₄S)₄-GDF15:GDF15异二聚体的情况下,将两种质粒在转染之前以1:1比例混合。使用10μg/mL嘌呤霉素(同二聚体)或10μg/mL嘌呤霉素加400μg/mL潮霉素(异二聚体)选择稳定细胞系。回收(其被定义为使用Vi-Cell计数器(Beckman Coulter)>90%存活率)之后,扩增稳定的CHO-S细胞系,并用于接种摇瓶中的分批生产或WAVE生物反应器(GE Healthcare)中的饲料分批生产。两个过程都以1e6存活细胞/mL接种于生产培养基。在第6天通过离心收集批生产,同时,在第3、6和8天对饲料分批生产进行饲料。在第10天通过离心收集细胞产生的CM并澄清。

[4670] 使用两个色谱步骤从澄清的条件培养基纯化HSA-GDF15融合蛋白。将含有HSA-GDF15融合蛋白的澄清的条件培养基应用至用20mM磷酸盐,150mM NaCl(pH 7.4)平衡的Cibracon Blue Sepharose HP柱。接下来用平衡缓冲液洗涤该柱,直至达到基线紫外线(UV)水平。通过20mM磷酸盐,2M NaCl缓冲液洗脱产物和污染物并收集洗脱液,随后通过考马斯(Coomassie)染色的SDS-PAGE(十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳)测定以鉴别哪些洗脱级分含有以HSA-GDF15融合蛋白的预定分子量迁移的多肽。在Blue Sepharose步骤之后,收集的含有产物的级分经10mM tris(pH 8.0)透析。透析步骤允许HSA-GDF15融合蛋白应用至阴离子交换色谱树脂时的结合。最后的色谱步骤是Q-Sepharose HP,其应用线性梯度(10mM tris中0至0.6M NaCl,pH 8.0)洗脱结合的融合蛋白。收集来自Q-Sepharose HP的洗脱液作为级分,然后通过SDS-PAGE和分析型尺寸排阻色谱测定以确定适合级分来收集。进行LCMS和SDS-PAGE来证实每种蛋白质的身份。通过透析将得到的收集物缓冲液更换成10mM乙酸钠,9%蔗糖(pH 4.5),无菌过滤,并最终在5°C贮存或冷冻贮存。

[4671] 如上实施例2针对其他Fc-GDF15融合蛋白所提出的纯化Dh单Fc-GDF15融合蛋白。

[4672] 实施例3

[4673] Fc融合GDF15多肽和HSA融合GDF15多肽对食欲过盛的ob/ob小鼠食物摄入的抑制

[4674] GDF15减少食欲过盛的ob/ob小鼠的食物摄入,并且使用食物摄入测定来评价不同形式的GDF15类似物的效力。由于观察到人GDF15多肽在小鼠中的半衰期为大约3小时,所以使用Fc融合策略来延长蛋白质半衰期。产生不同的包含含有GDF15区的多肽的多聚体,并通过将该多聚体引入食欲过盛的瘦素缺陷型ob/ob小鼠中并测量特定的包含含有GDF15区的多肽的多聚体在这些动物中抑制食物摄入的能力来针对体内活性进行分析。在第0天的下午4-5点之间将待测试的包含含有GDF15区的多肽的多聚体皮下注射到7-8周龄的ob/ob

小鼠 (Jackson Laboratory) 中。注射后将动物转移到已对食物预先测量的笼子中,并且在第二天上午的9-10点之间测量食物摄入。

[4675] 代表性实验的结果在图6-53中提供。这些实验证明,所描述的含有GDF15区的多聚体表现出ob/ob小鼠食物摄入的降低,并且效价大于天然成熟hGDF15同二聚体的效价。

[4676] 实施例4

[4677] GDF15构建体在DIO小鼠中的长期效力

[4678] 将某些包含GDF15区的多聚体长期皮下施用至DIO小鼠,每周一次。该构建体证明了在改善各种代谢参数方面的效力,所述代谢参数包括体重、血糖水平和葡萄糖耐量、血清胰岛素水平、血清胆固醇水平、血清甘油三酯水平和口服脂质耐量。

[4679] 实施例5

[4680] GDF15构建体的体内活性

[4681] 雄性C57B1/6被喂饲60%高脂肪饮食持续15周,并分成不同的处理组,每组具有相同的治疗前体重、葡萄糖、胰岛素、甘油三酯和胆固醇水平。动物经每周皮下给予蛋白质或媒介物缓冲液,持续5周。为蛋白选择三个不同的剂量水平:10、1、0.1nmol/kg,其等同于1.25、0.125、0.0125mg/kg。研究进行5周,最后剂量在第28天。

[4682] 在5周的治疗和药物洗出期间,每周测量体重。在空腹4小时的动物中第一次蛋白注射之后2周进行一次口服葡萄糖耐量测试 (OGTT)。在空腹16小时的动物中第一次蛋白注射之后5周进行另一次口服葡萄糖耐量测试 (OGTT)。在OGTT中,动物口服施用2g/kg 葡萄糖溶液,并通过 α TRAK血糖测计仪 (Abbott) 在0、15、30、60、120min测量葡萄糖水平。计算OGTT期间葡萄糖水平的曲线下面积 (AUC) 以对比不同治疗组的葡萄糖耐量。在第一次蛋白注射后3周收集血清样品并用于测量胰岛素、甘油三酯和胆固醇水平以及测试项目的水平。使用免疫测定试剂盒 (Alpco) 测量胰岛素水平。使用酶测定 (Wako) 测量甘油三酯和胆固醇水平。

[4683] 结果显示于图54-59 (星号指示统计学显著性)。这些实验证明所描述的包含GDF15区的多聚体减少了OGTT期间的葡萄糖水平的 AUC (图55和59),减少了体重 (图54),减少了胰岛素水平 (图56),减少了胆固醇 (图58),并减少了甘油三酯 (图57)。

[4684] 实施例6

[4685] GDF15构建体的热稳定性

[4686] 通过MicroCal Capillary VP-DSC系统上的差示扫描热量法评估了选择的GDF15构建体的热稳定性,其中连续测量了参考细胞和样品细胞之间的温度差异,并校准为功率单位。该数据通道被称为DP 信号,或者参考细胞和样品细胞之间的差示功率。蛋白分子解折叠表现为DSC热谱图上的吸热转变,并且可以通过热转变中点 (T_m) 表征。样品以60°C/小时的加热速率从10°C加热至100°C。预扫描时间为15 分钟,并且过滤期为10秒钟。DSC实验中使用的浓度为大约1.0 mg/mL。使用MicroCal Origin 7软件进行 T_m 值的基线更正和测定的数据分析。

[4687] 具体地,将DhCpmFc (-) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) 的二聚体与Dh3CpmFc (-) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+) 的二聚体对比;将DhCpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :DhCpmFc (+) 的二聚体与Dh3CpmFc (-) -GDF15 (Nde13) :Dh3CpmFc (+) 的二聚体对比;将DhCpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :DhCpmFc (+) (S354C) 的二聚体与Dh3CpmFc (-) (Y349C) -GDF15 (N3D) :Dh3CpmFc (+)

(S354C)的二聚体对比;并且将DhCpmFc(-)(Y349C)-GDF15(Nde13):DhCpmFc(+)(S354C)的二聚体与Dh3CpmFc(-)(Y349C)-GDF15(Nde13):Dh3CpmFc(+)(S354C)的二聚体对比。结果示于图61。这些实验证明,“Dh3CpmFc”结构域赋予比相应“DhCpmFc”结构域更大的稳定性。

[4688] 实施例7

[4689] Fc γ 受体结合分析

[4690] 分析选择的GDF15构建体其对BIA3000上Fc γ 受体的结合活性。每个Fc γ 受体捕获在抗his抗体涂布的CM5表面(捕获的RL约200 RU)。将GDF15构建体在样品缓冲液(0.1mg/ml BSA,0.005%P20, PBS)中稀释至250nM。在抗his抗体捕获的Fc γ 受体表面以50 μ L/min 注射每个GDF15构建体,持续3分钟。在仪器运行缓冲液(PBS中 0.005%P20)中5分钟解离之后,通过注射8mM甘氨酸(pH1.5),1M NaCl再生每个Fc γ 受体表面30秒,随后注射10mM甘氨酸(pH1.5)持续30秒。使用BIAcore BIAEvaluation(v.4.1)分析得到的传感图。在注射终点之前10秒钟,读取RU单位中的结合响应。

[4691] 具体地,测定有关以下的Fc γ RI、Fc γ RIIIA和Fc γ RIIA:DhCpmFc(-)-GDF15(Nde13):DhCpmFc(+) 的二聚体,DhCpmFc(-)(Y349C)-GDF15(Nde13):DhCpmFc(+)(S354C)的二聚体;Dh3CpmFc(-)-GDF15(Nde13)的二聚体;Dh3CpmFc(-)(Y349C)-GDF15(Nde13)-Dh3CpmFc(+)(S354C)的二聚体;Dh3CpmFc(-)-GDF15(N3D)的二聚体;和Dh3CpmFc(-)(Y349C)-GDF15(N3D):Dh3CpmFc(+)(S354C)的二聚体。结果示于图60。这些实验证明“Dh3CpmFc”结构域基本消除了Fc γ RI、Fc γ RIIIA和Fc γ RIIA结合。

[4692] 虽然已就各个实施方案描述了本发明,但是应理解本领域技术人员可想到变型和修改。因此,预期所附权利要求书涵盖如要求保护的本发明范围内的全部这种等同变型。此外,本文使用的章节标题仅用于组织的目的并且不应被解释为限制所描述的主题。

[4693] 本申请中引用的所有参考文献均出于任何目的以引用方式明确并入本文。

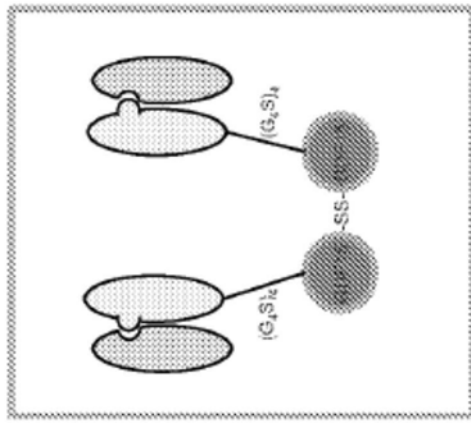


图1

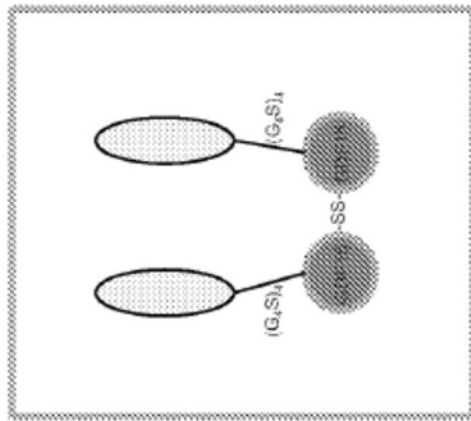


图2

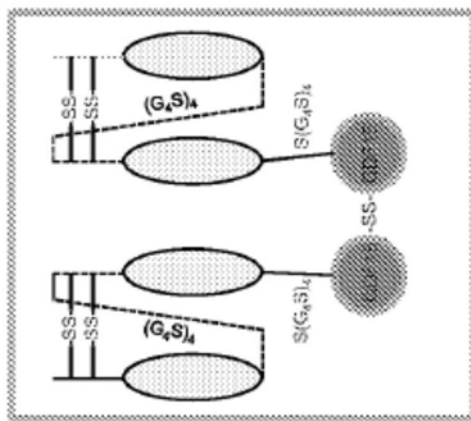


图3

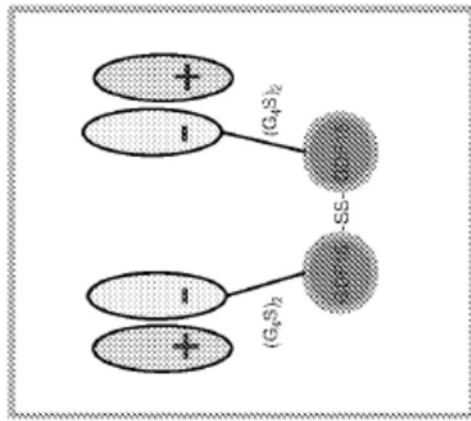


图4

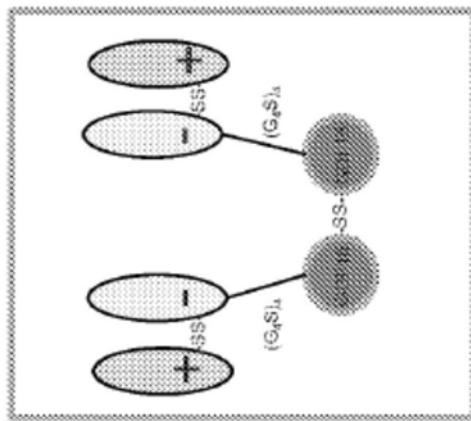


图5

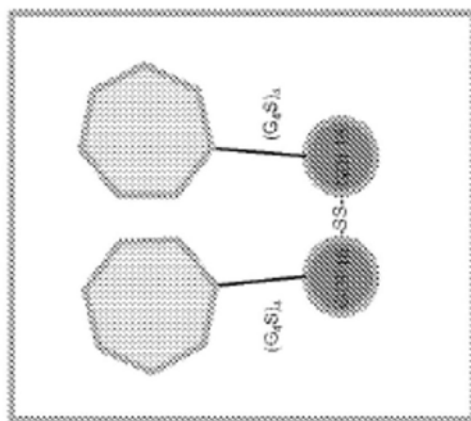


图6

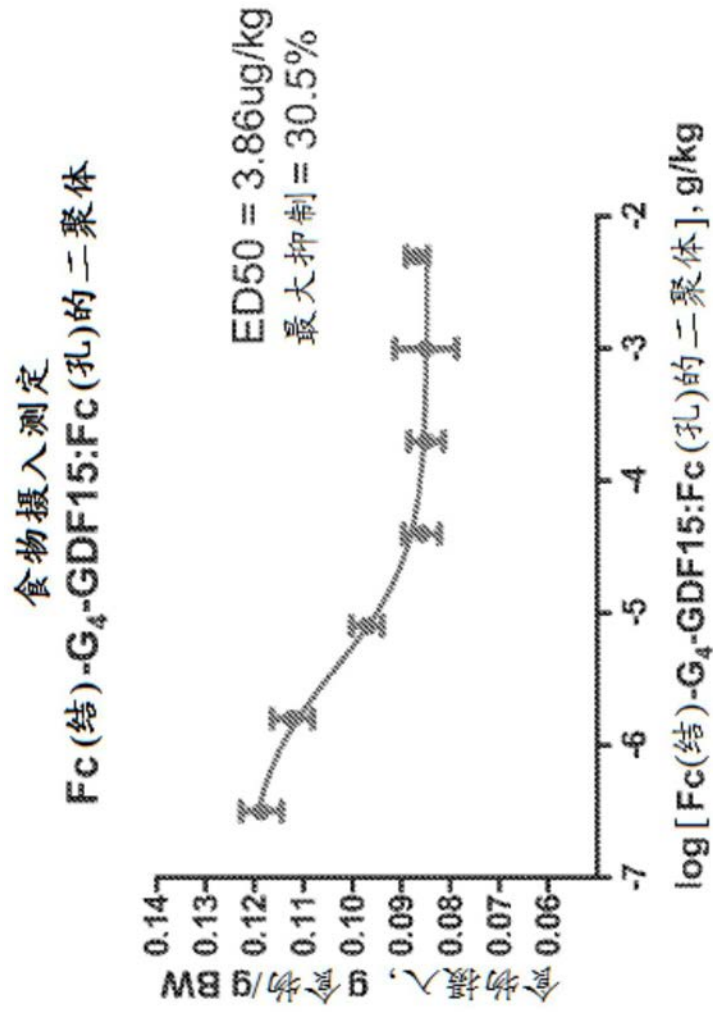


图7

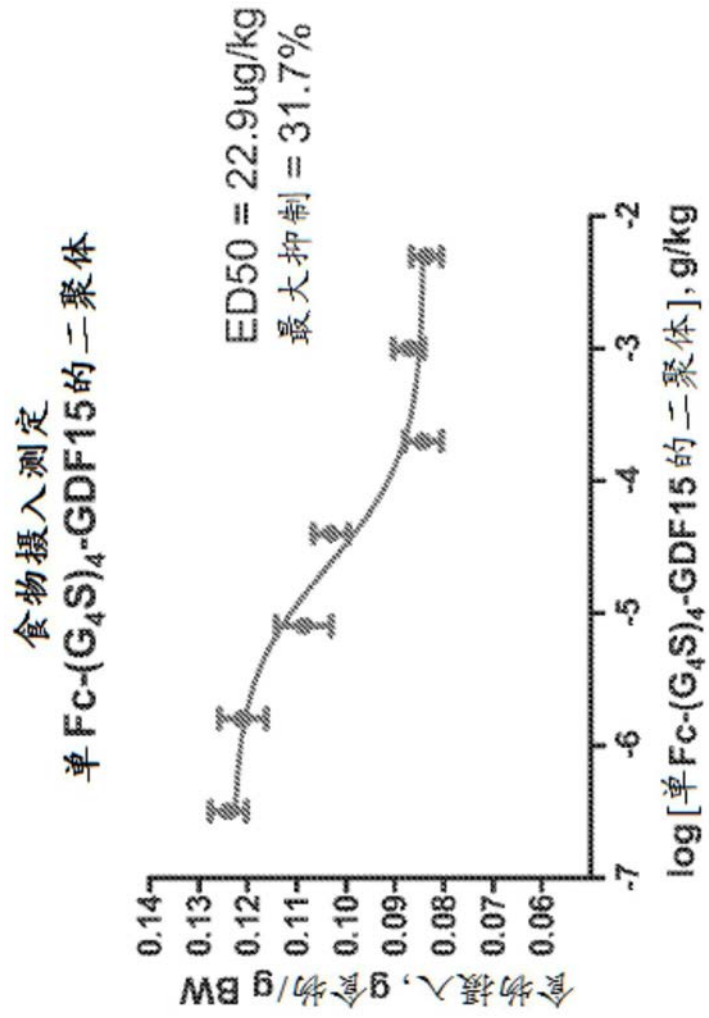


图8

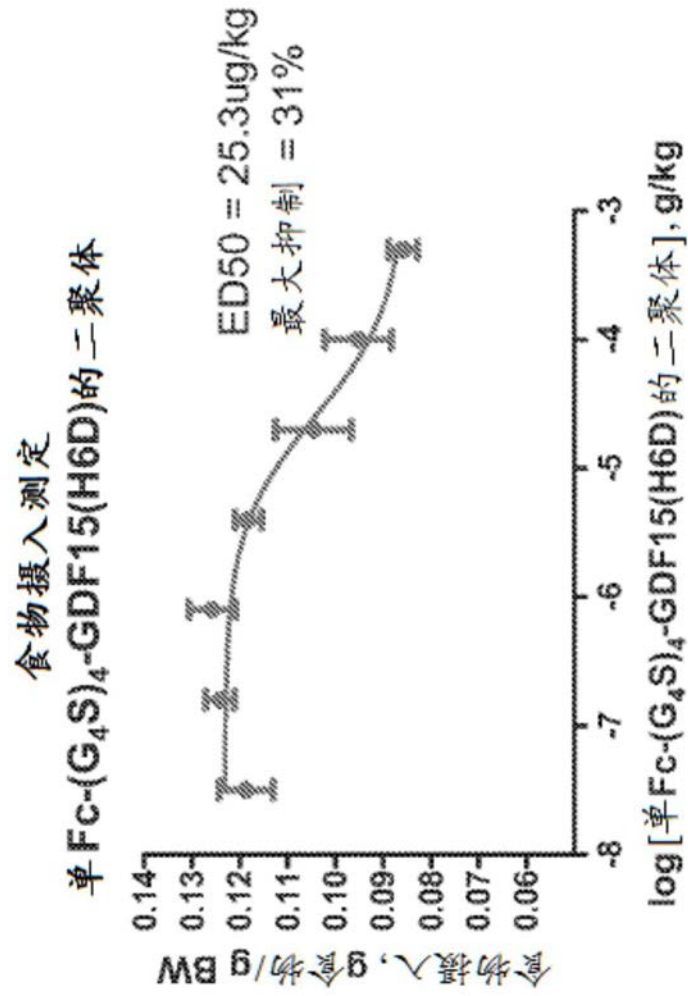


图9

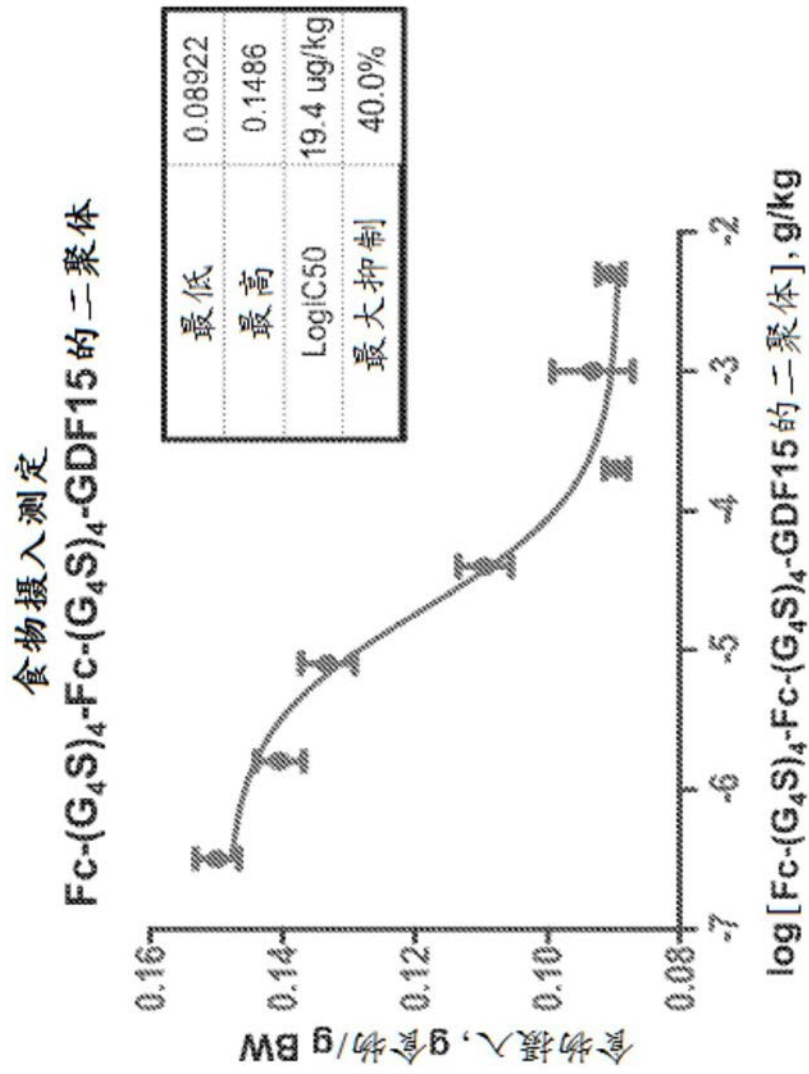


图10

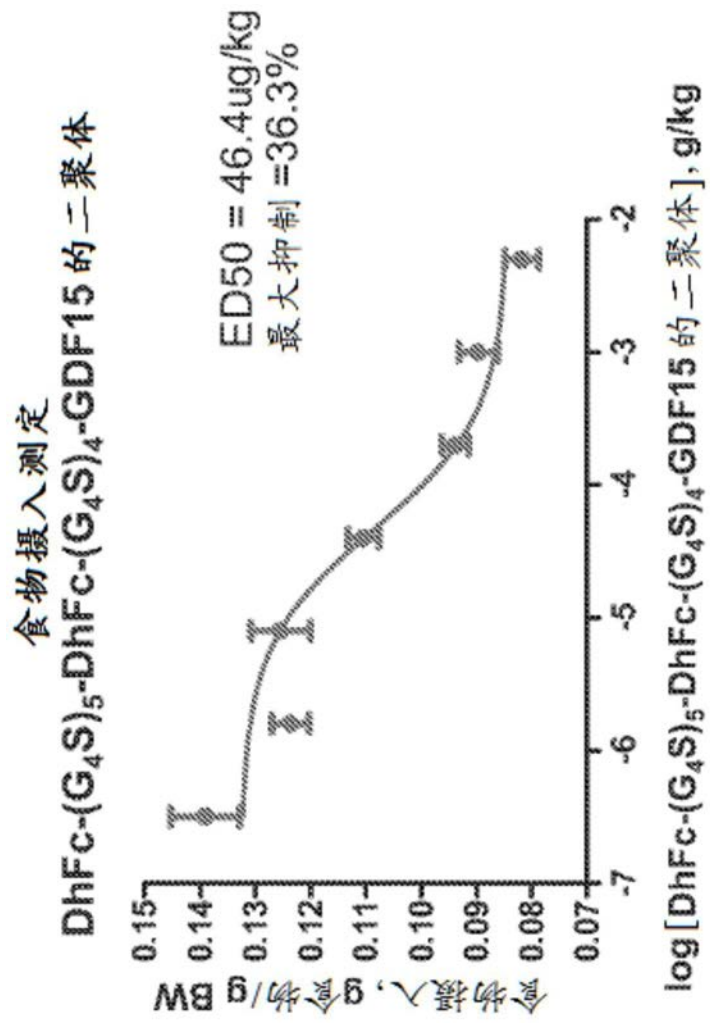


图11

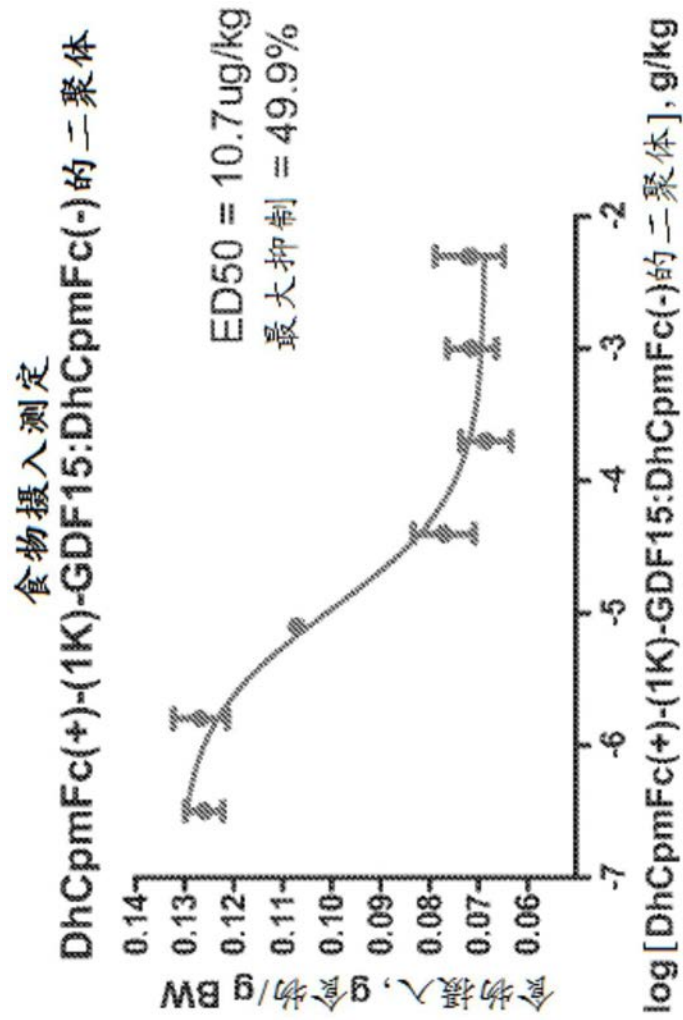


图12

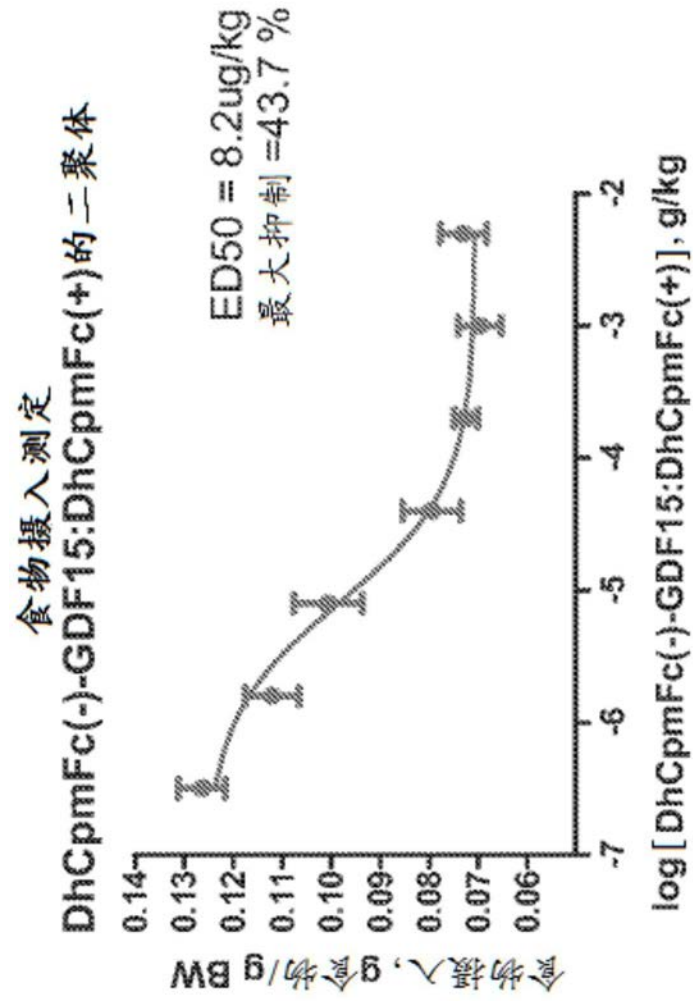


图13

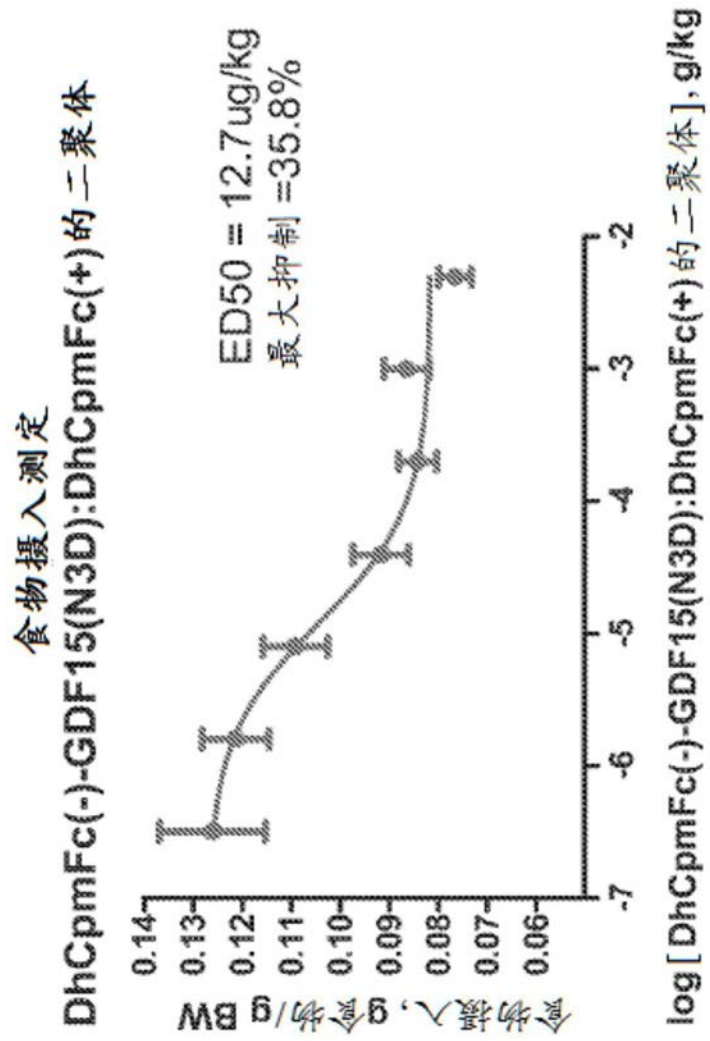


图14

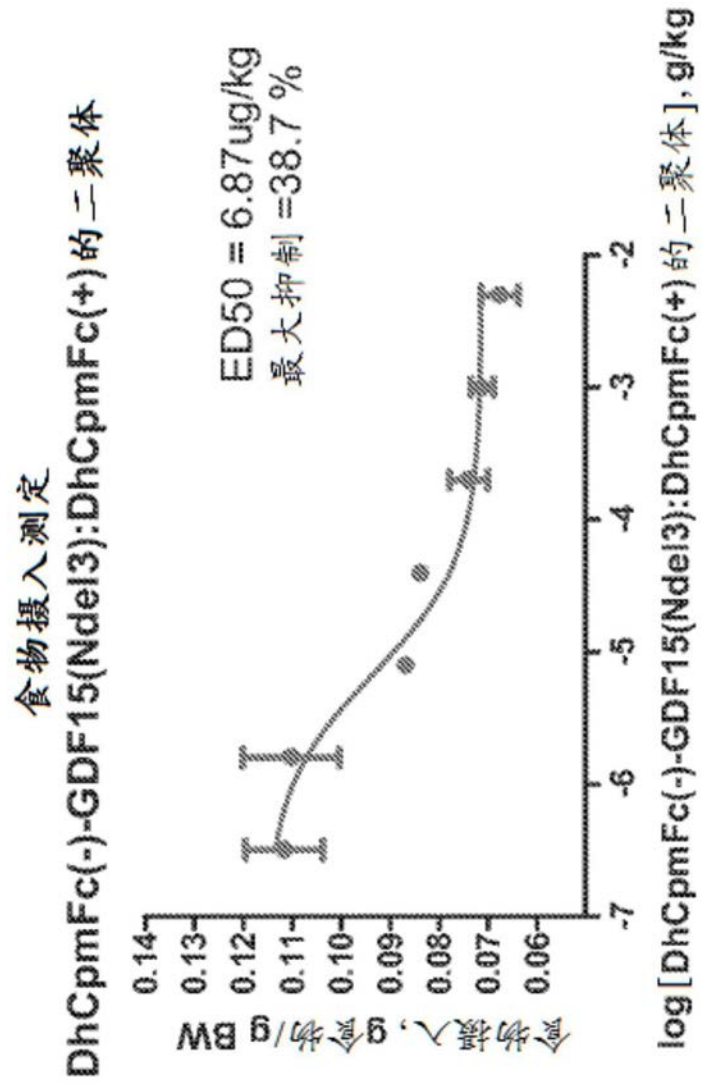


图15

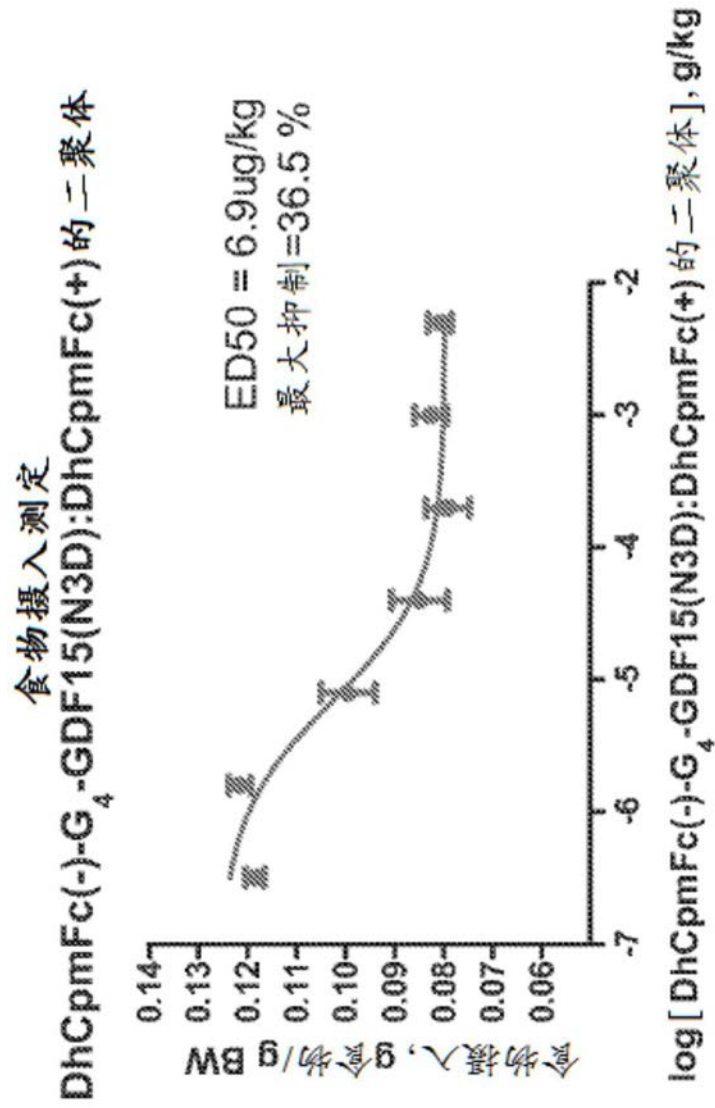


图16

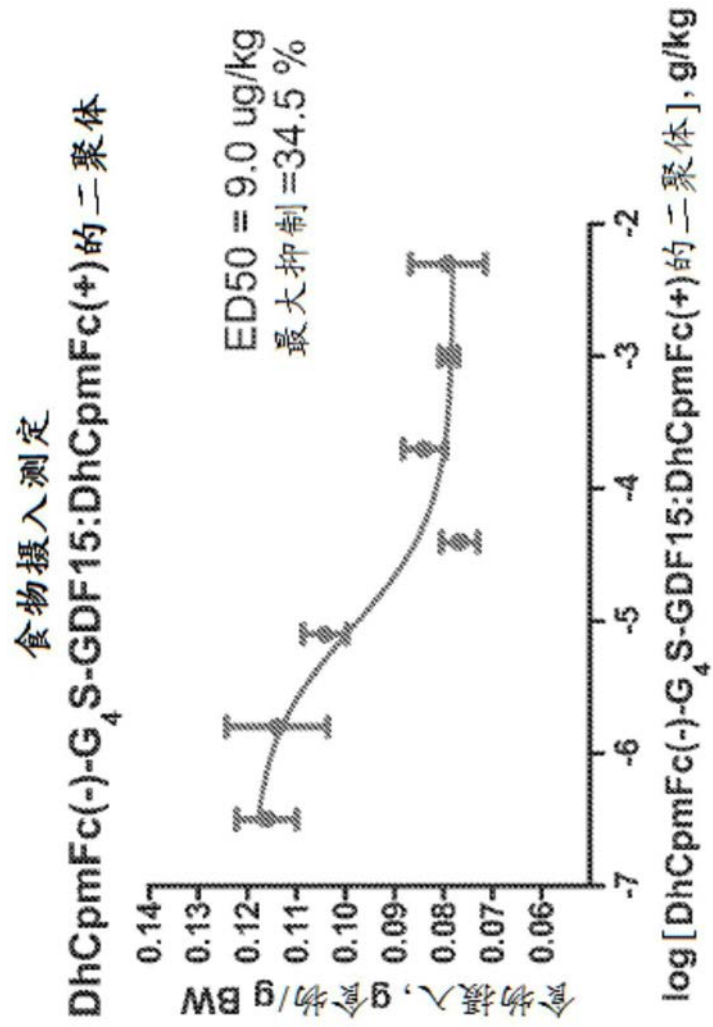


图17

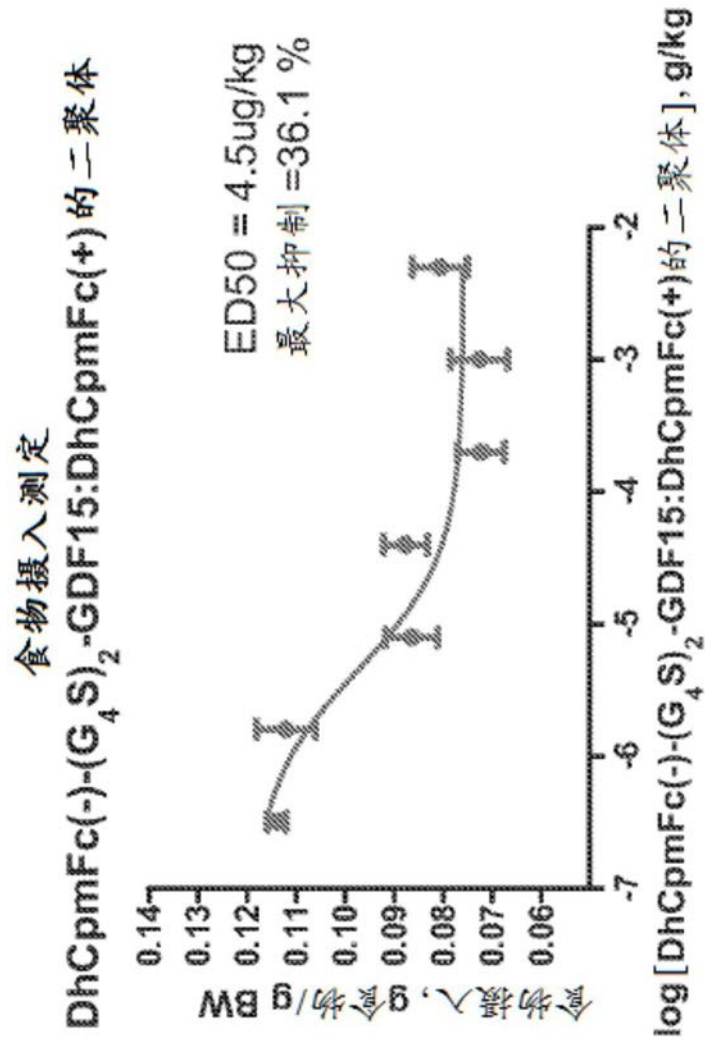


图18

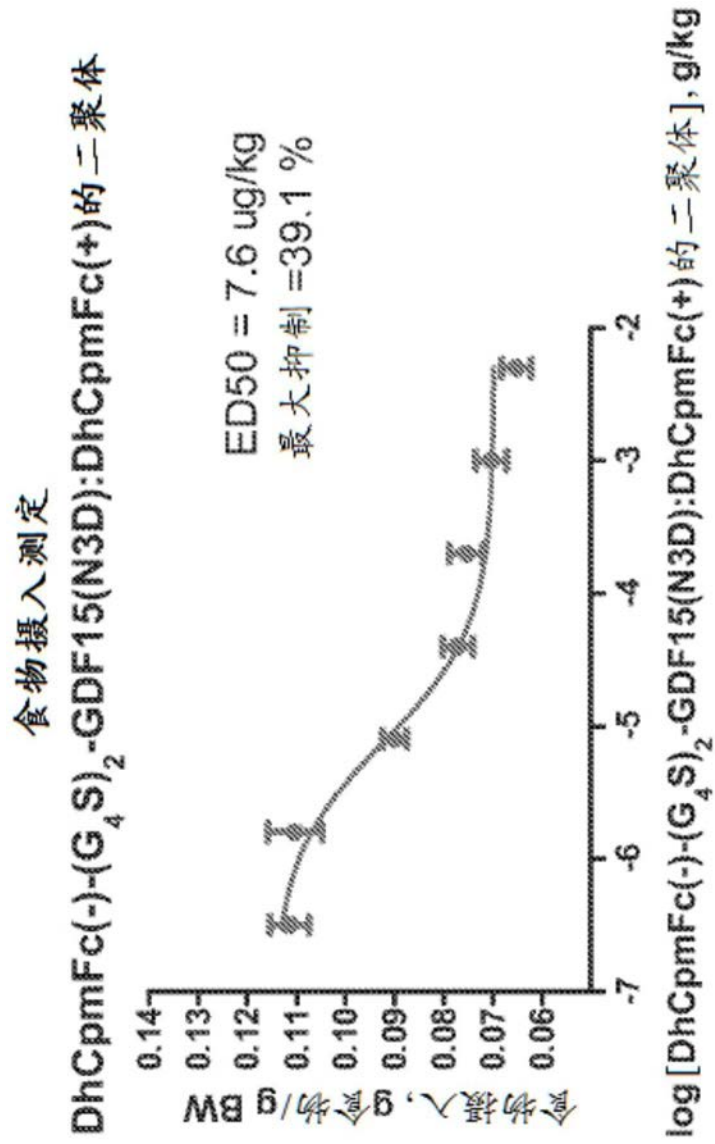


图19

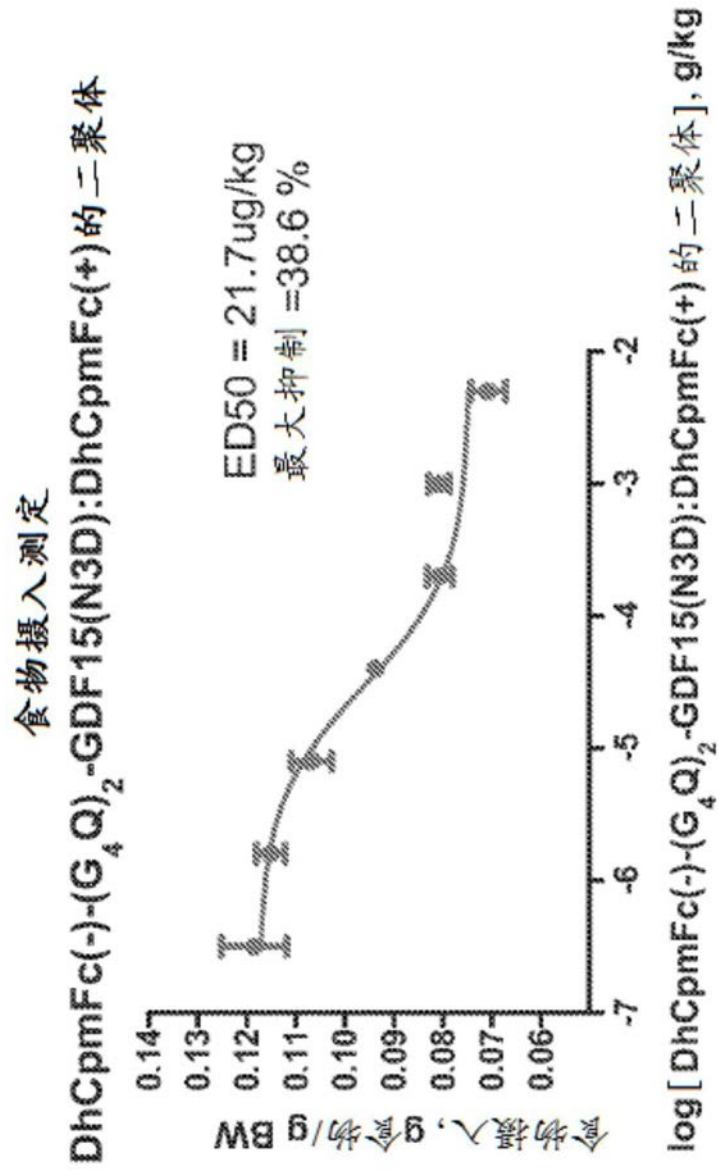


图20

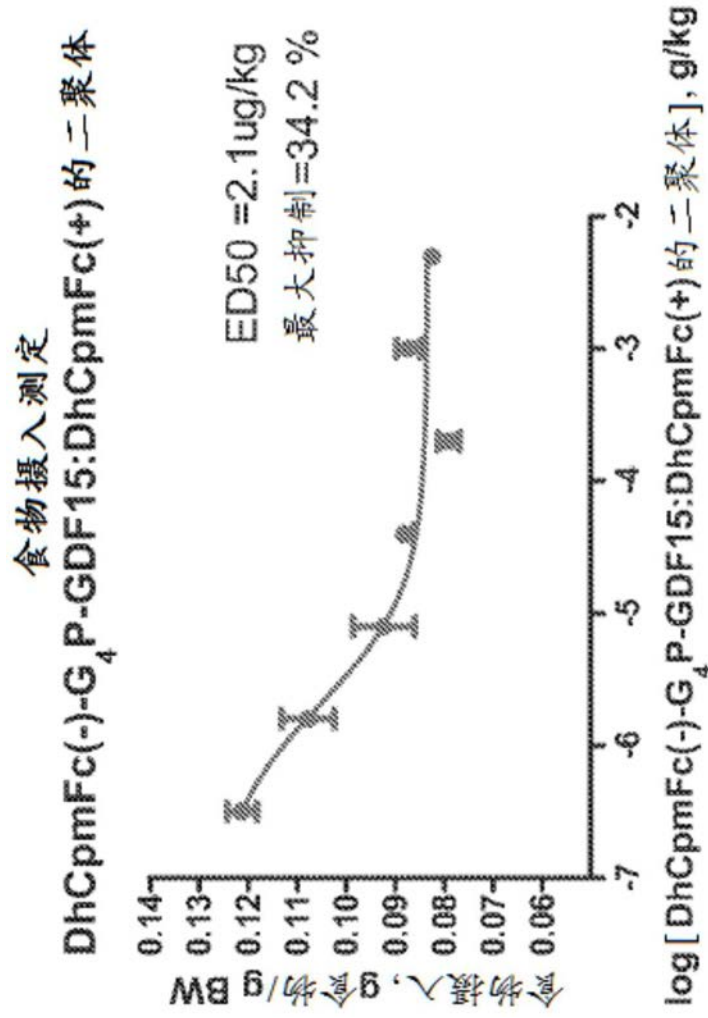


图21

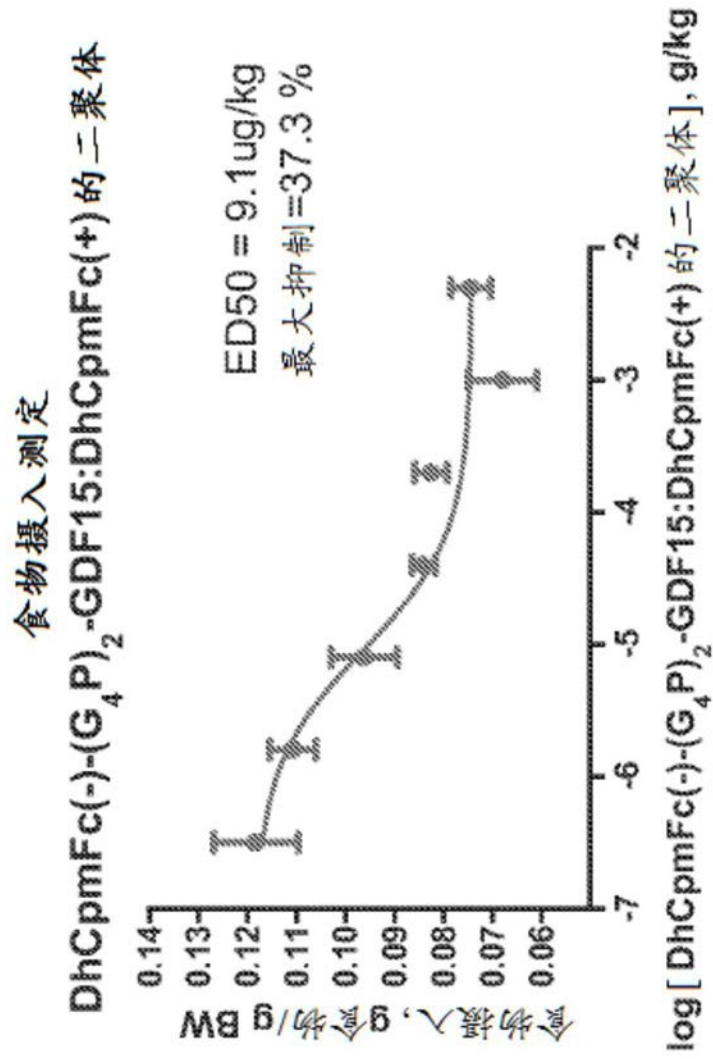


图22

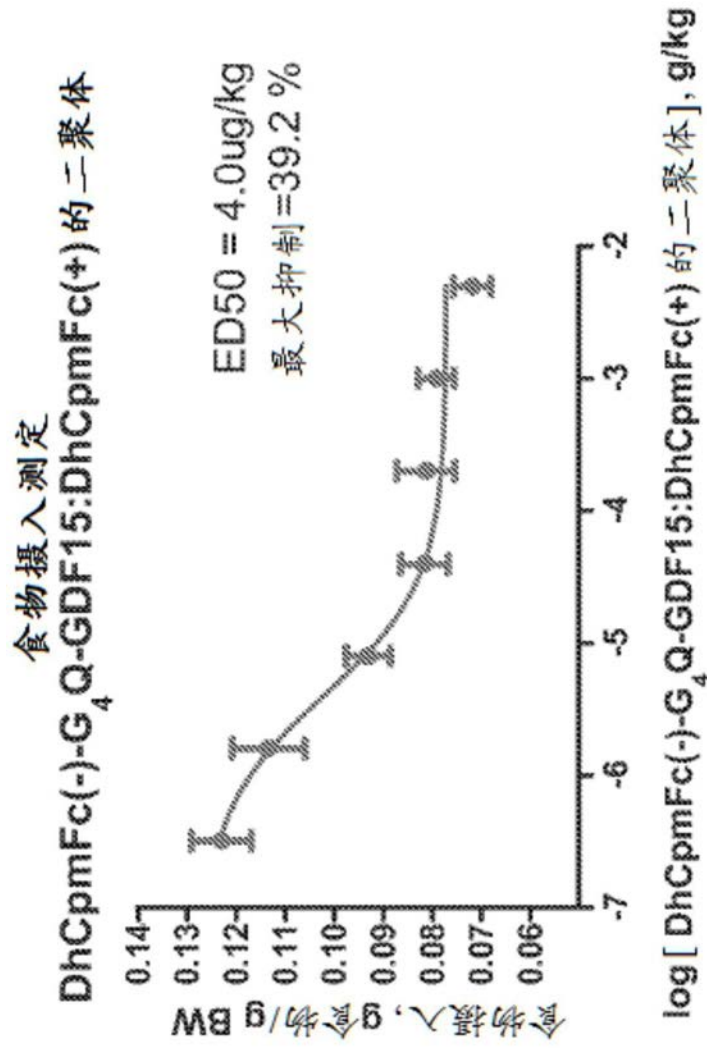


图23

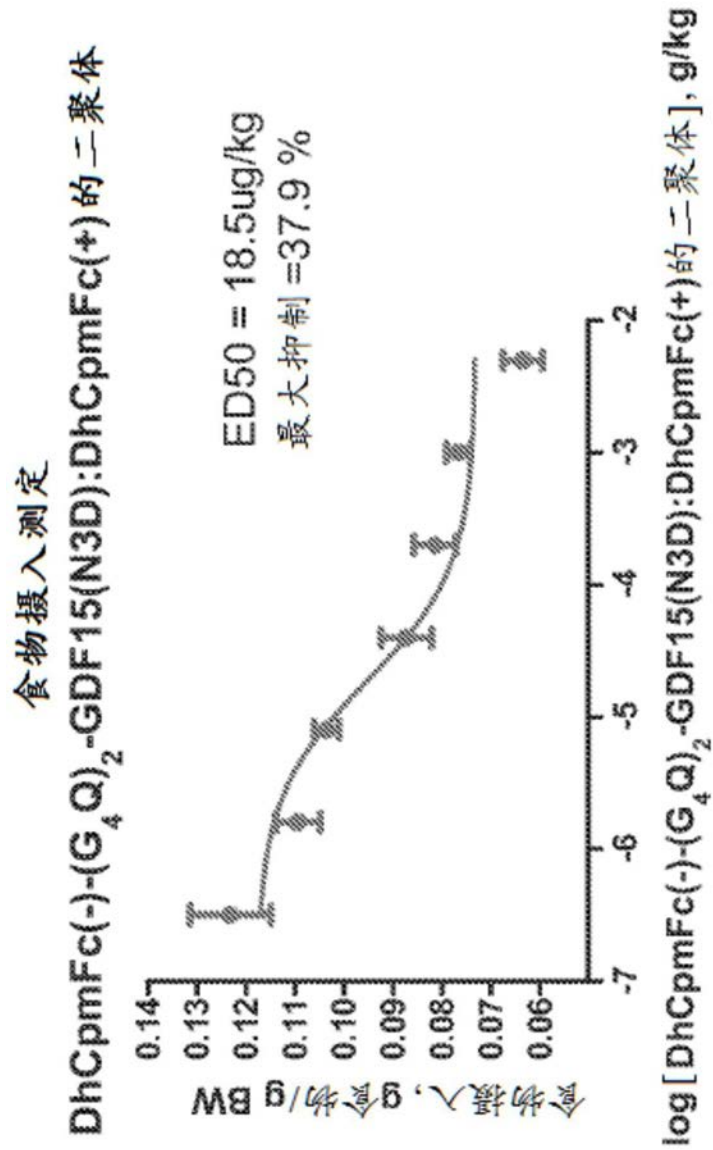


图24

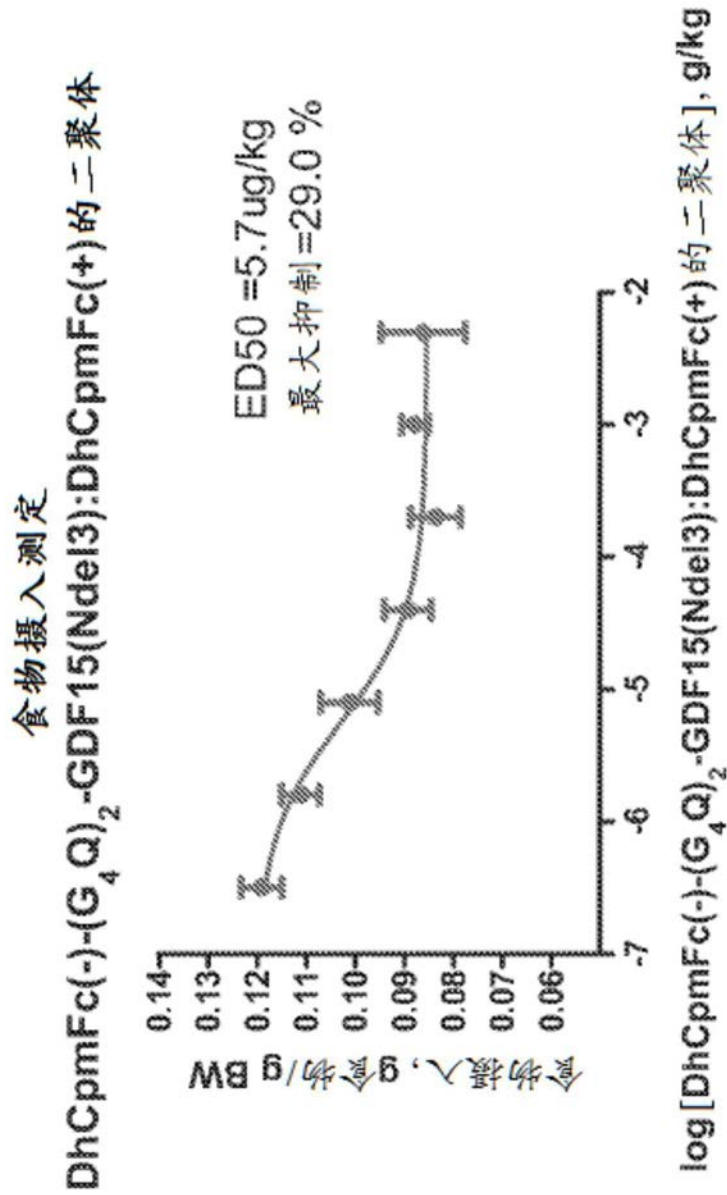


图25

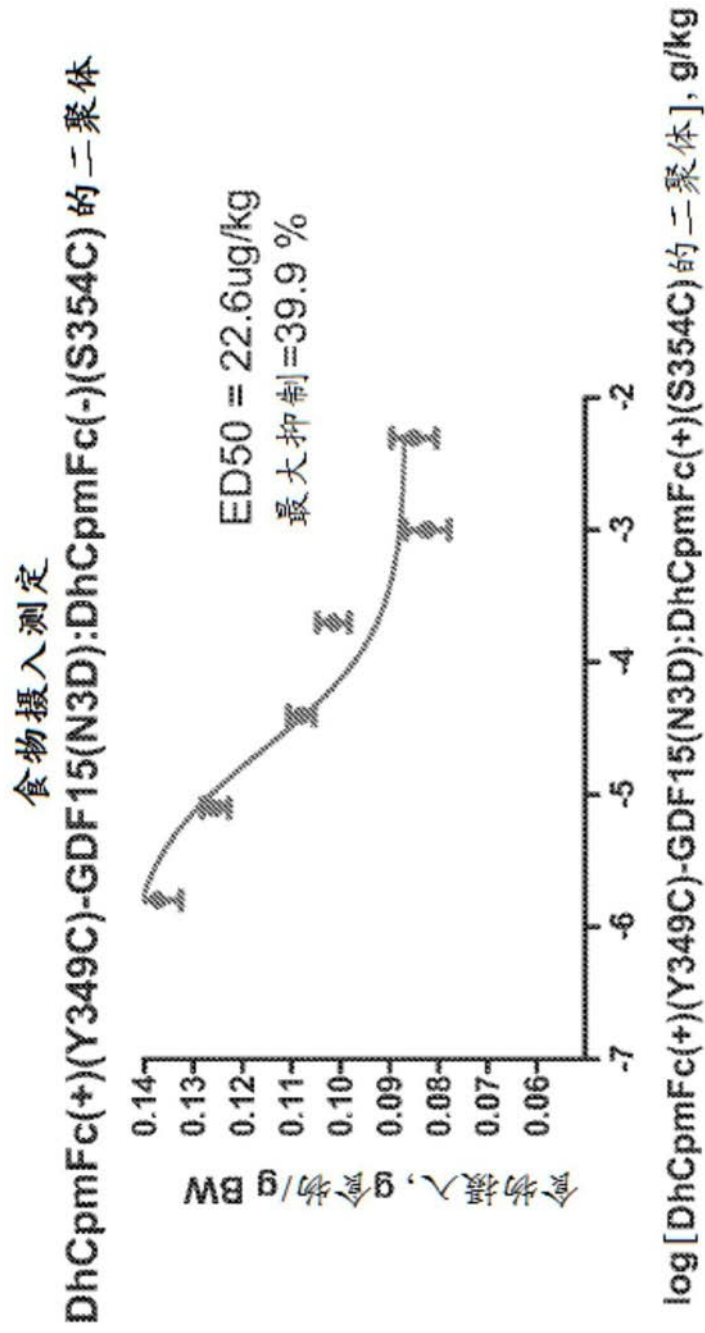


图26

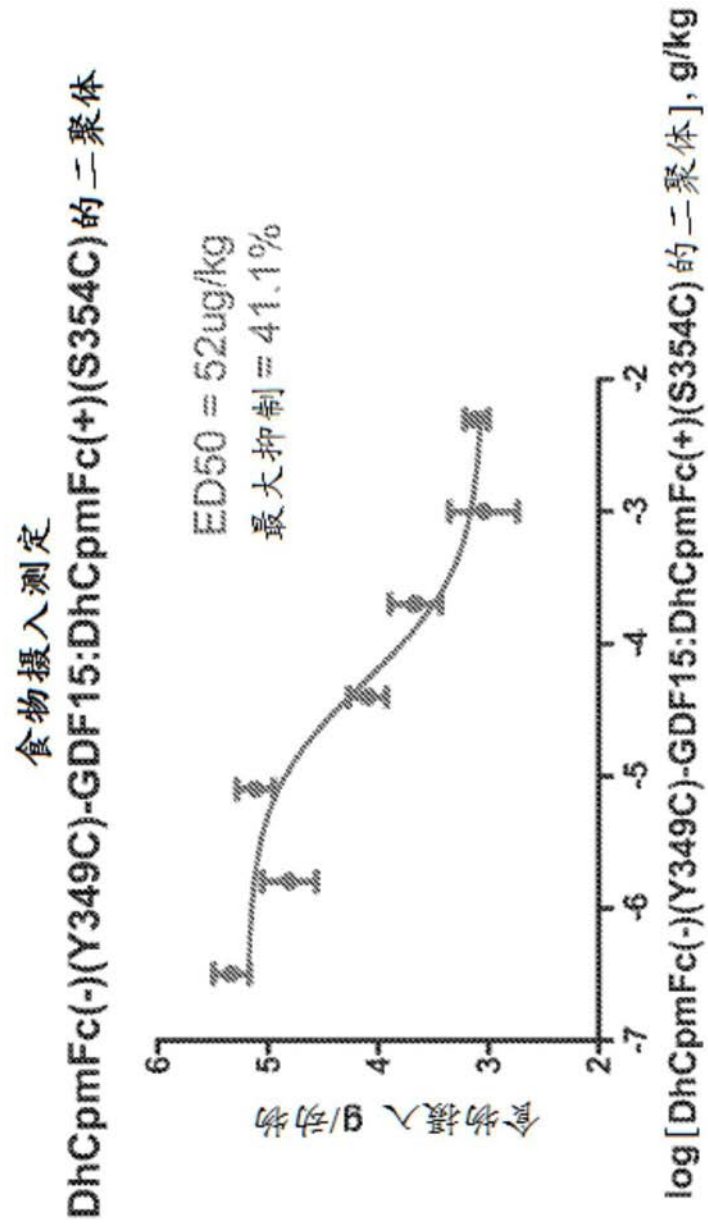


图27

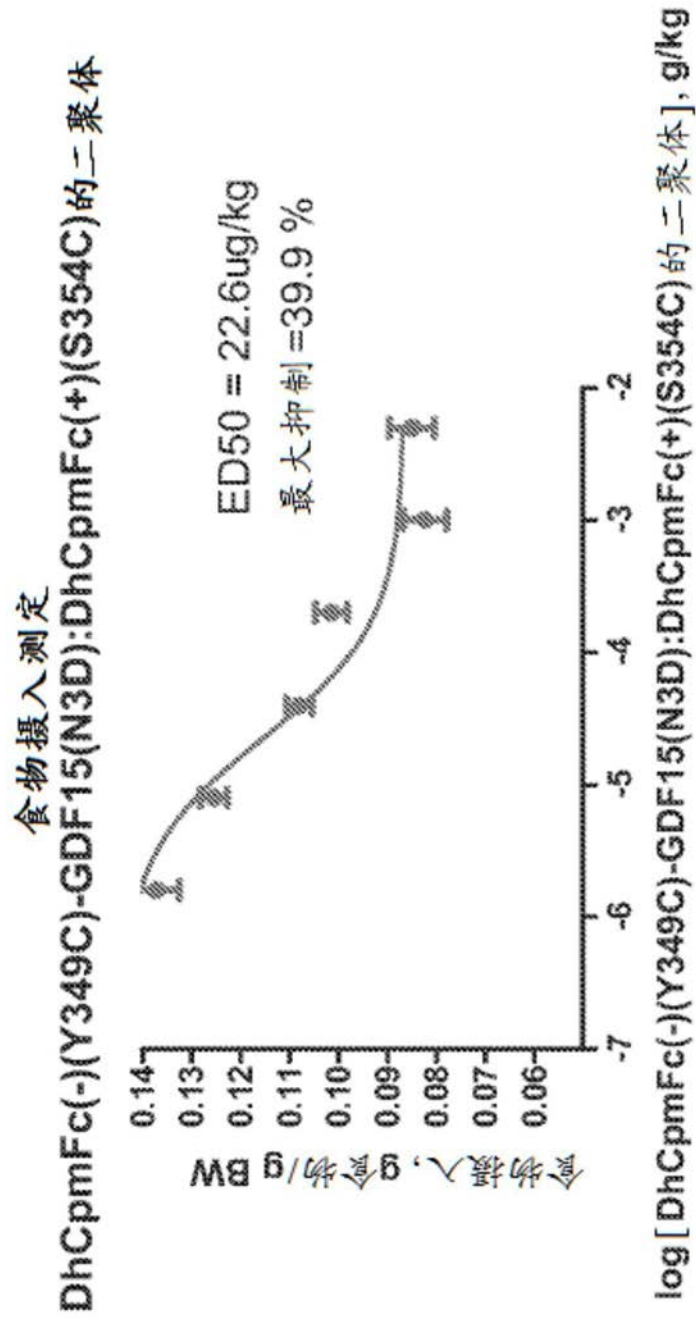


图28

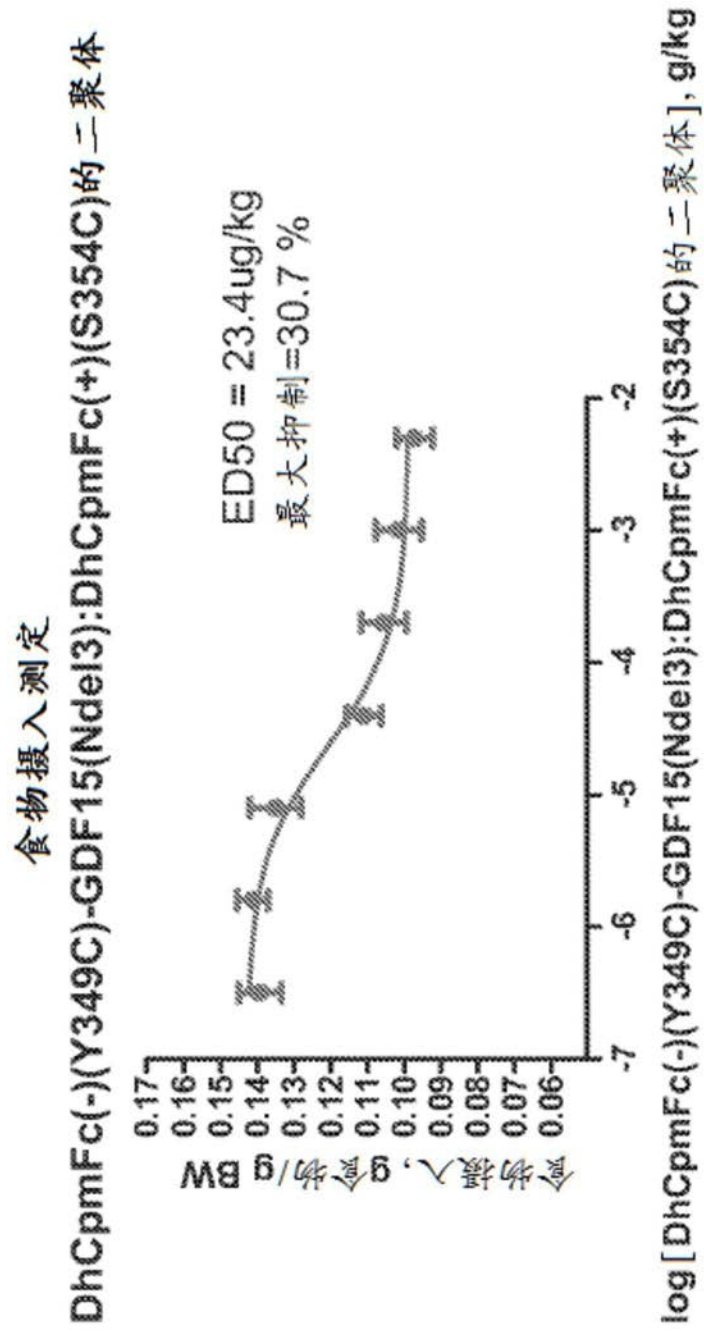


图29

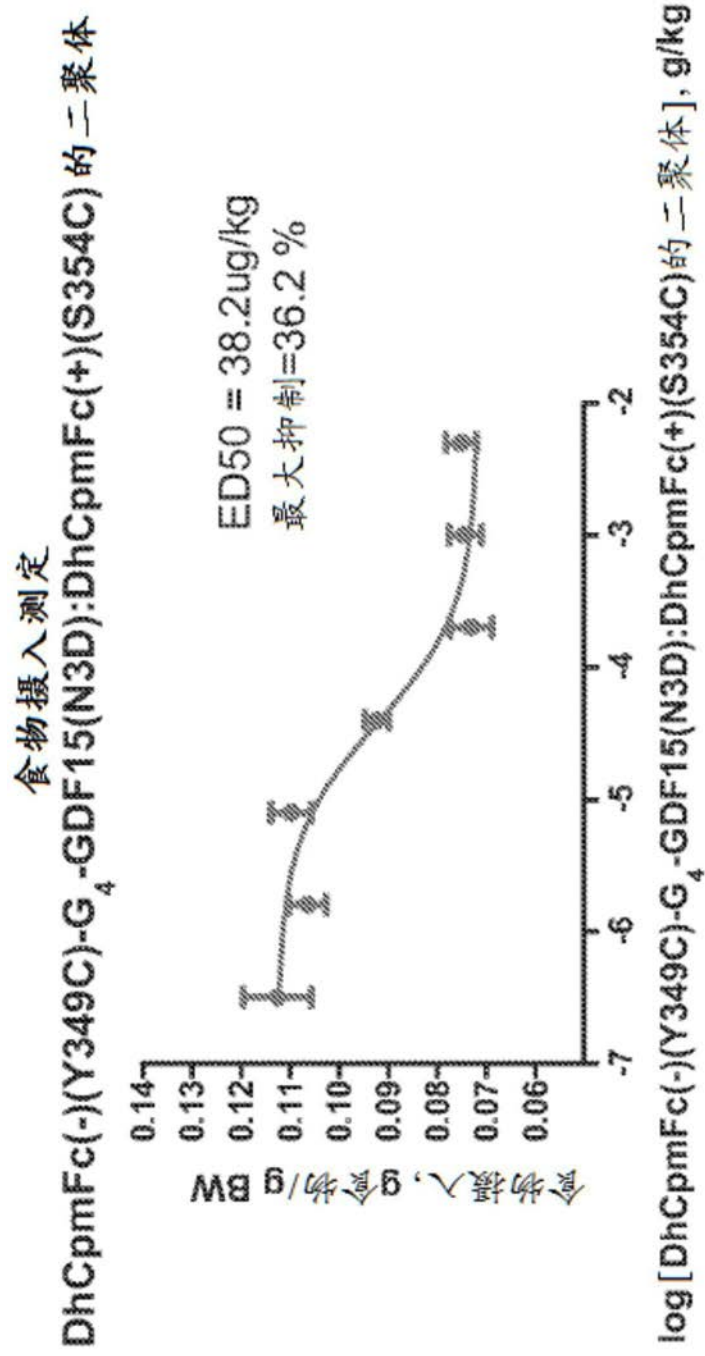


图30

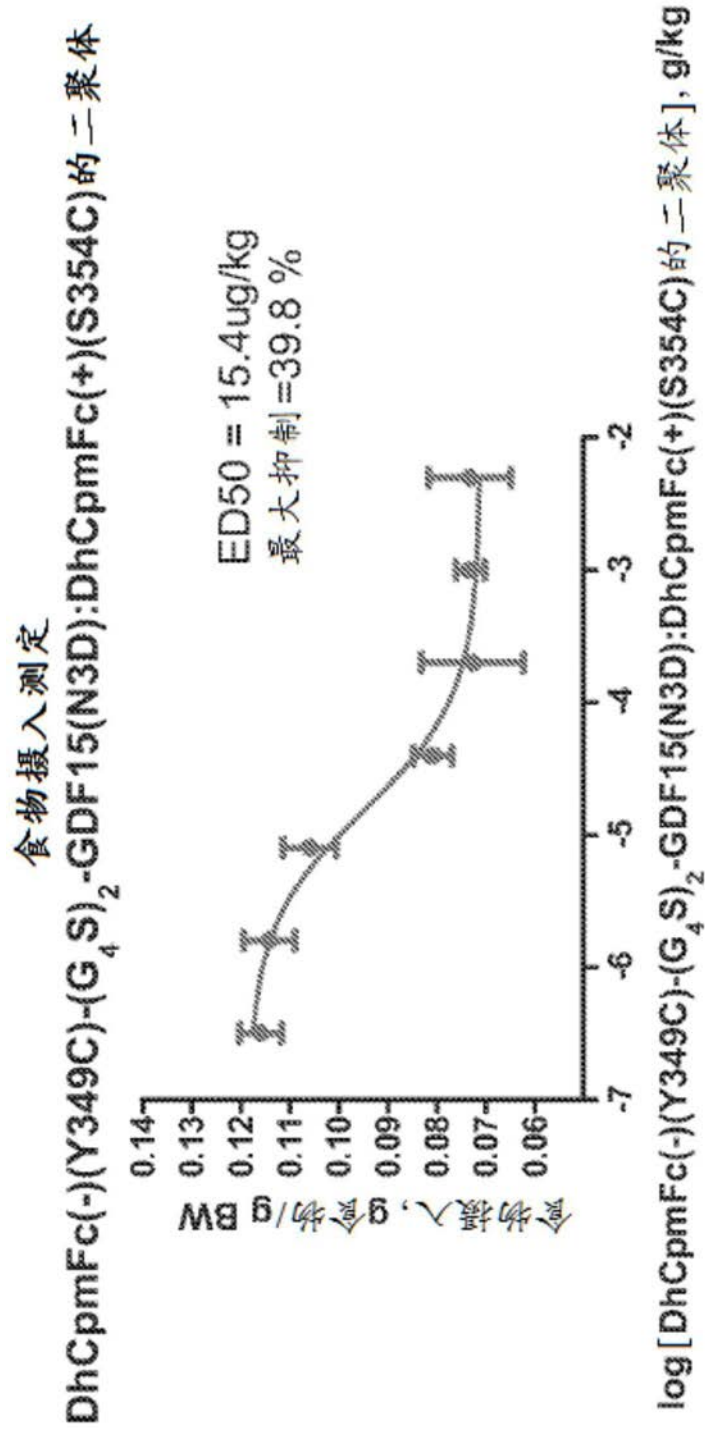


图31

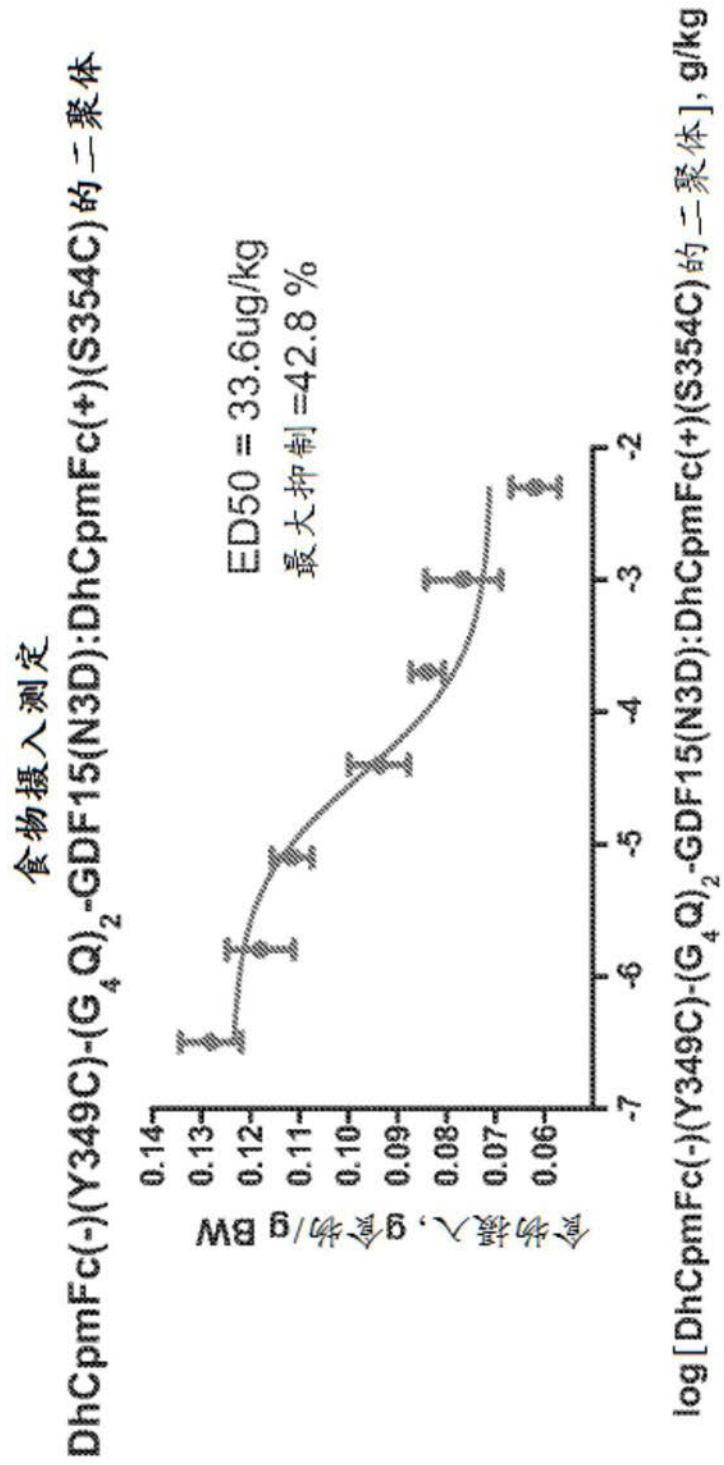


图32

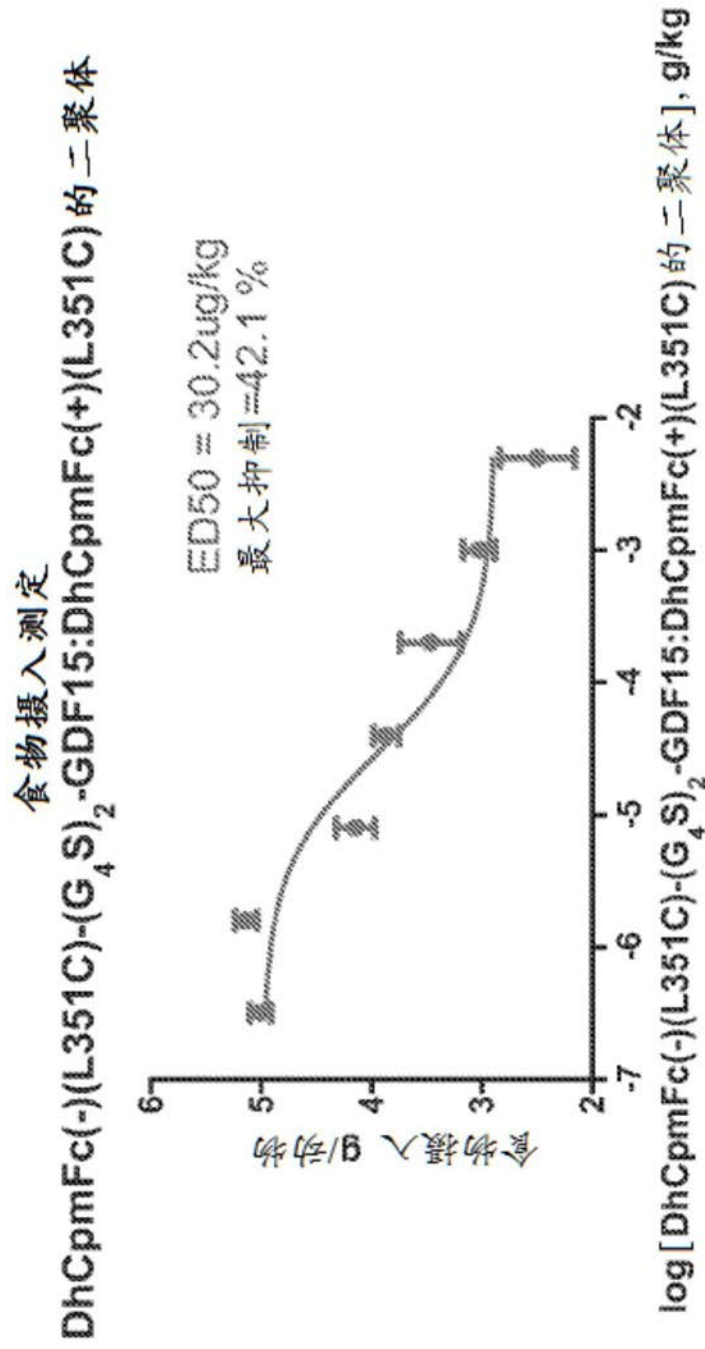


图33

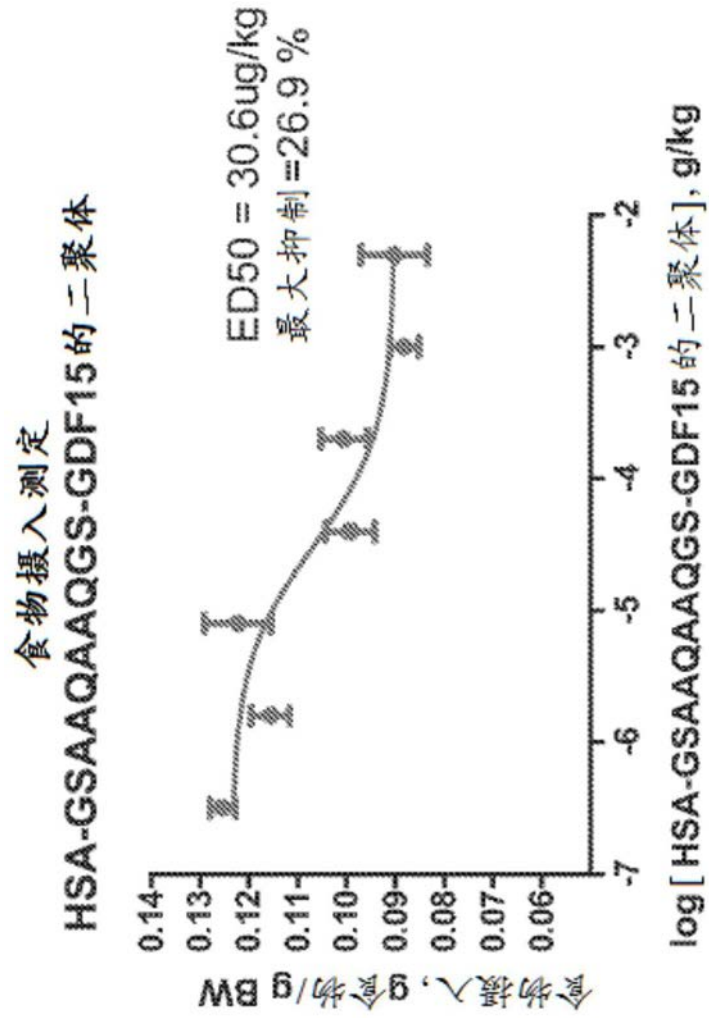


图34

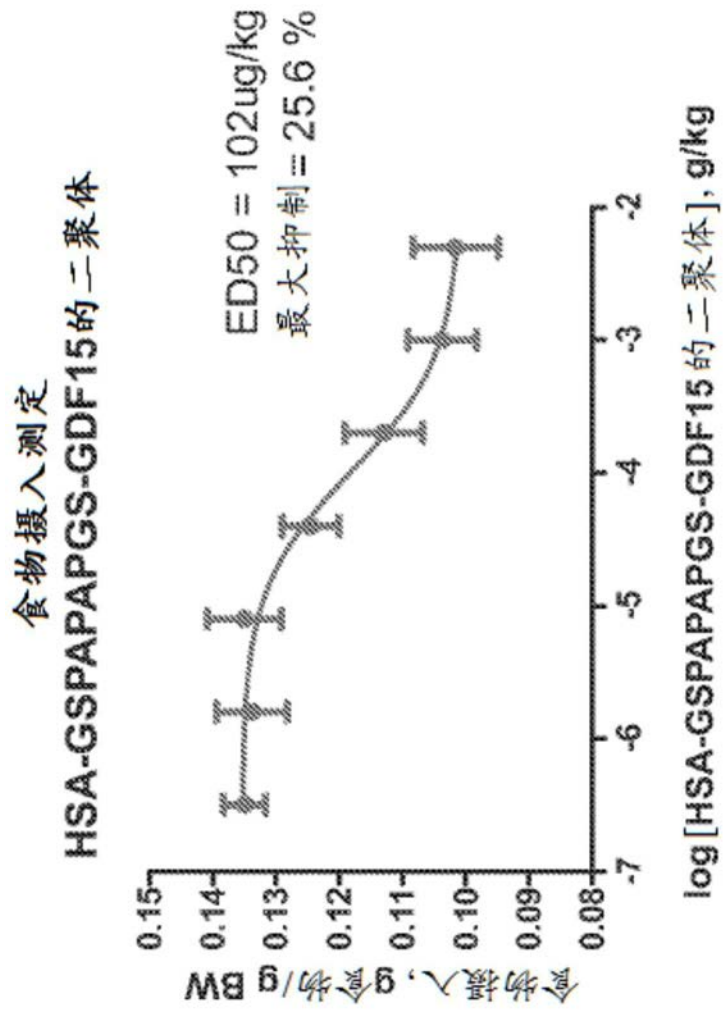


图35

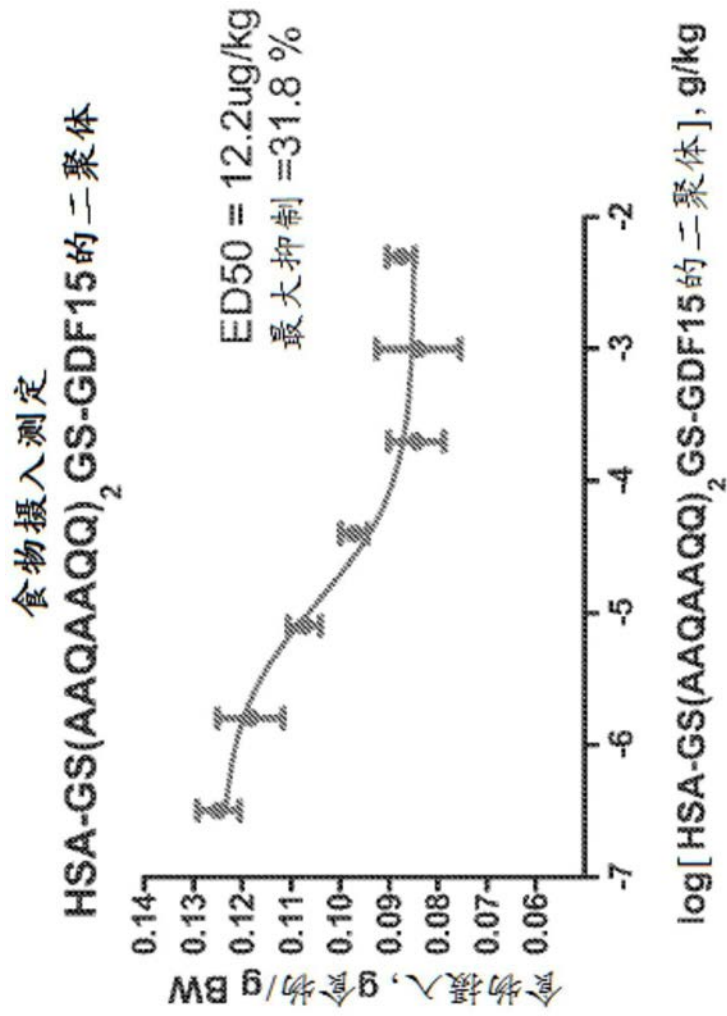


图36

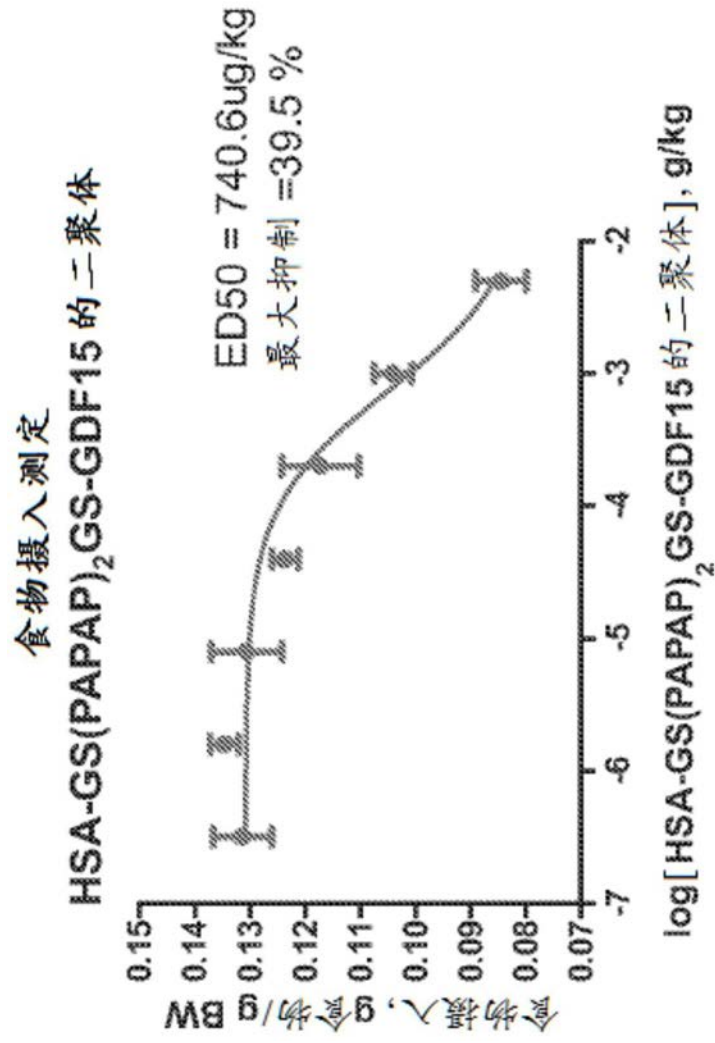


图37

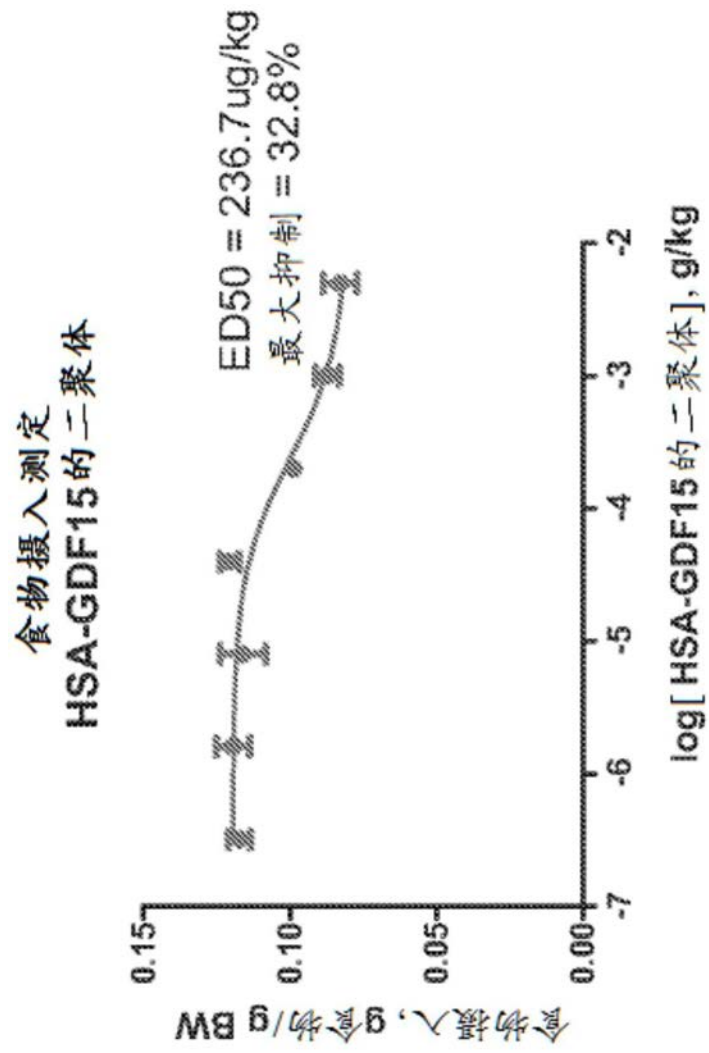


图38

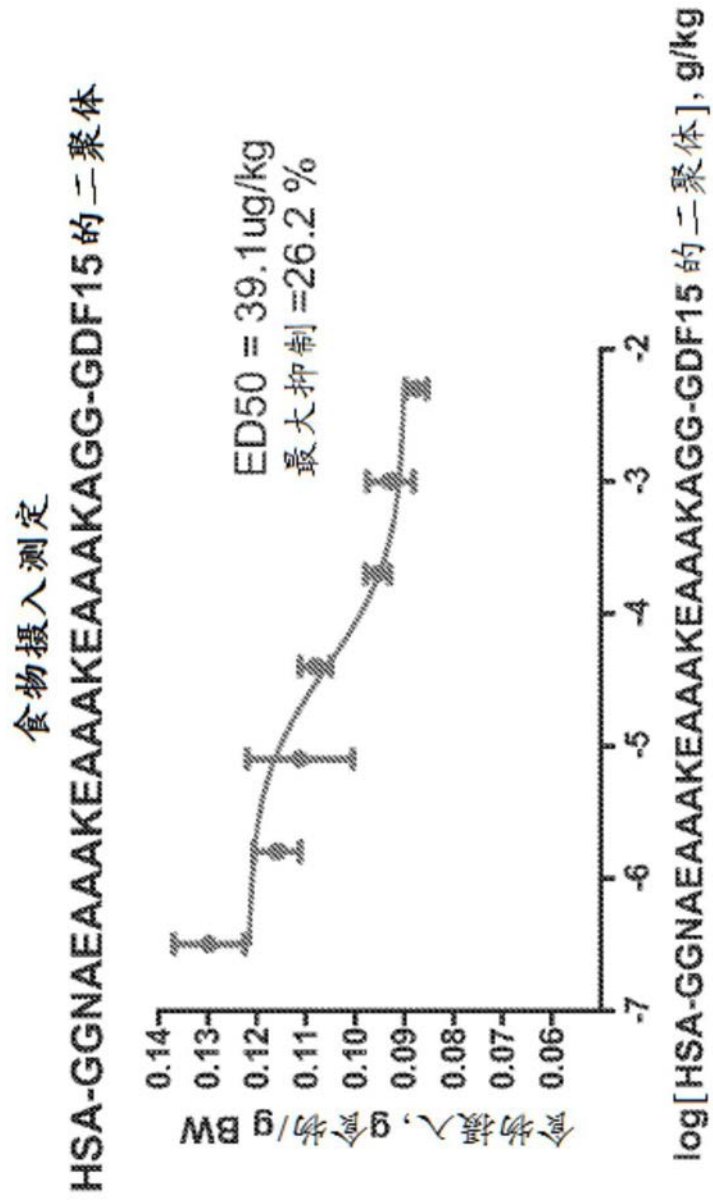


图39

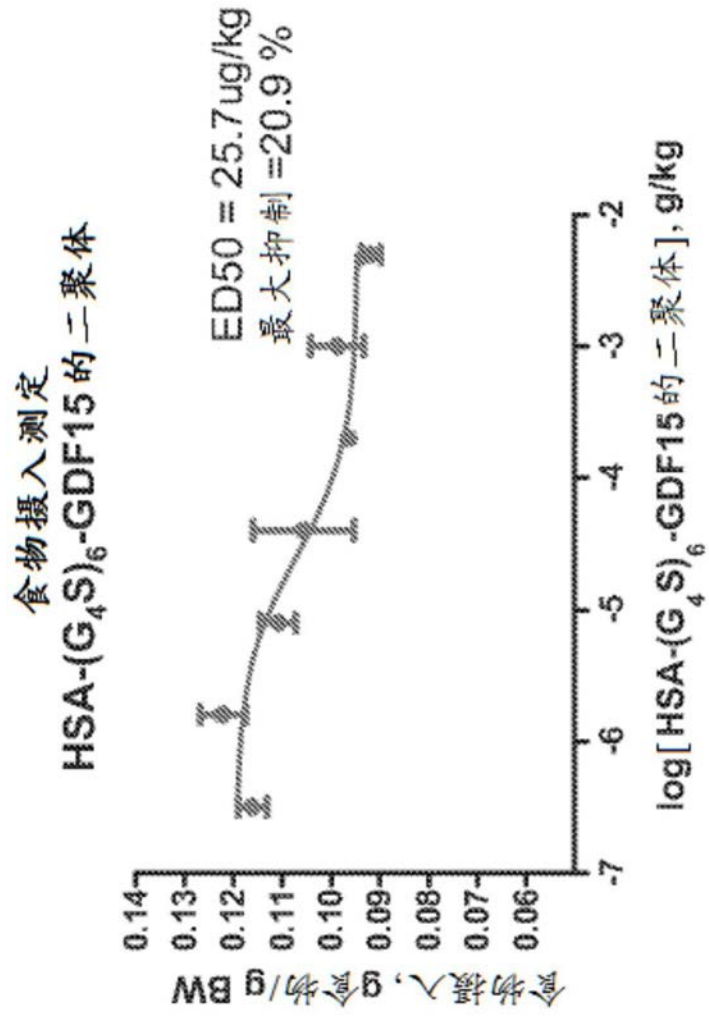


图40

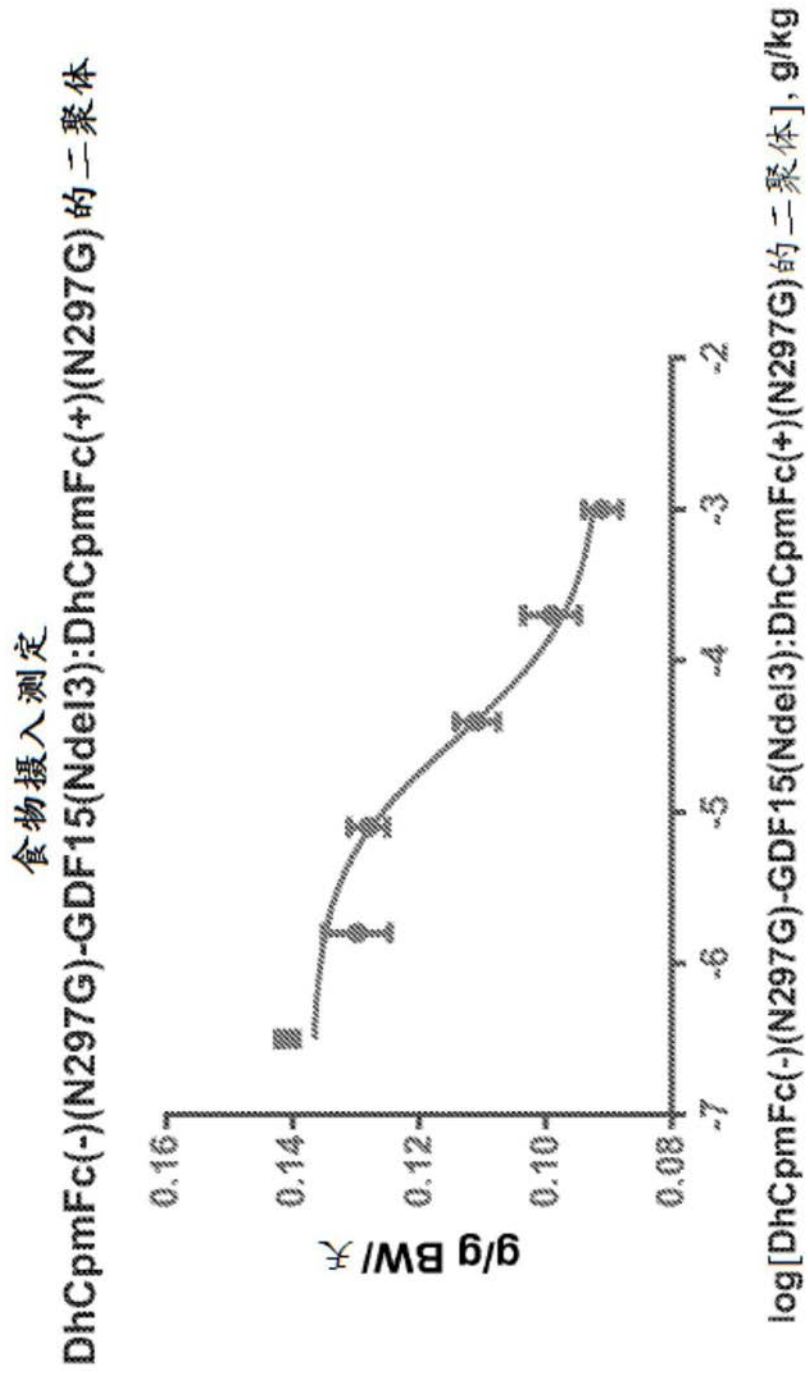


图41

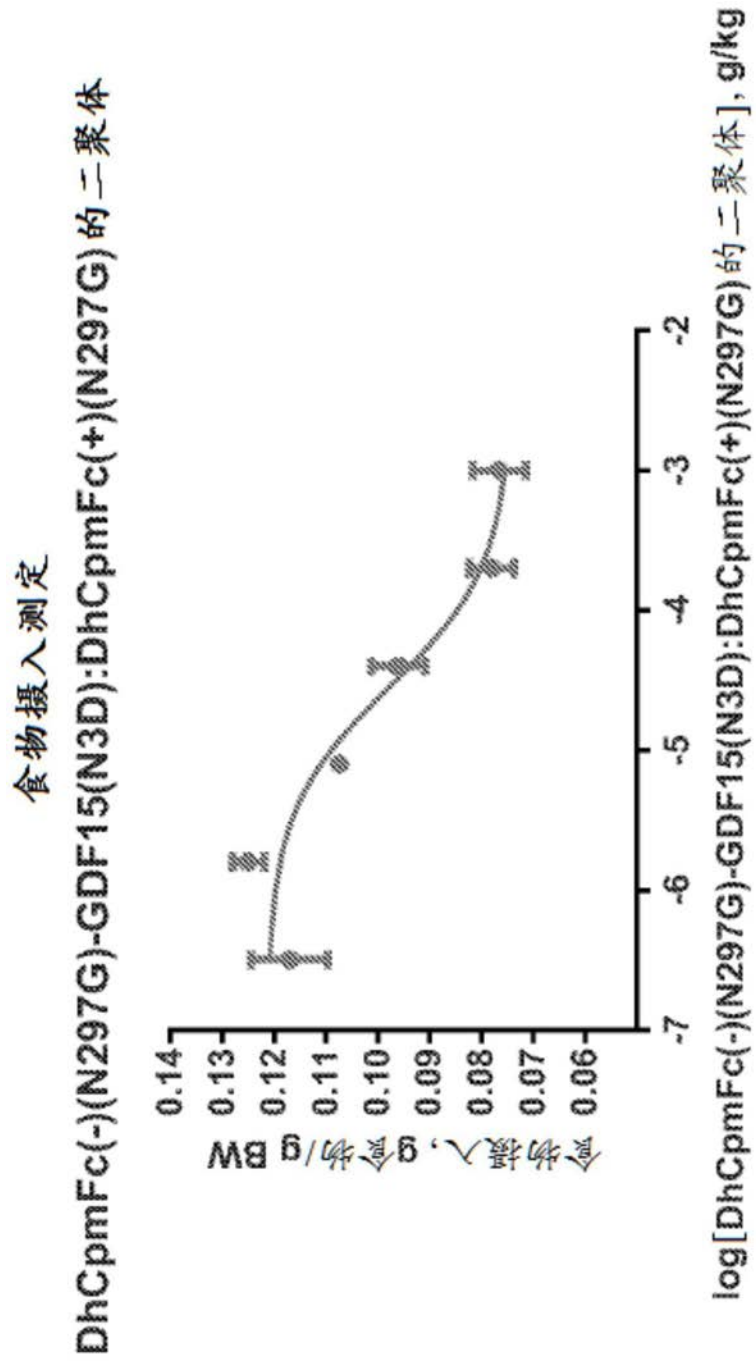


图42

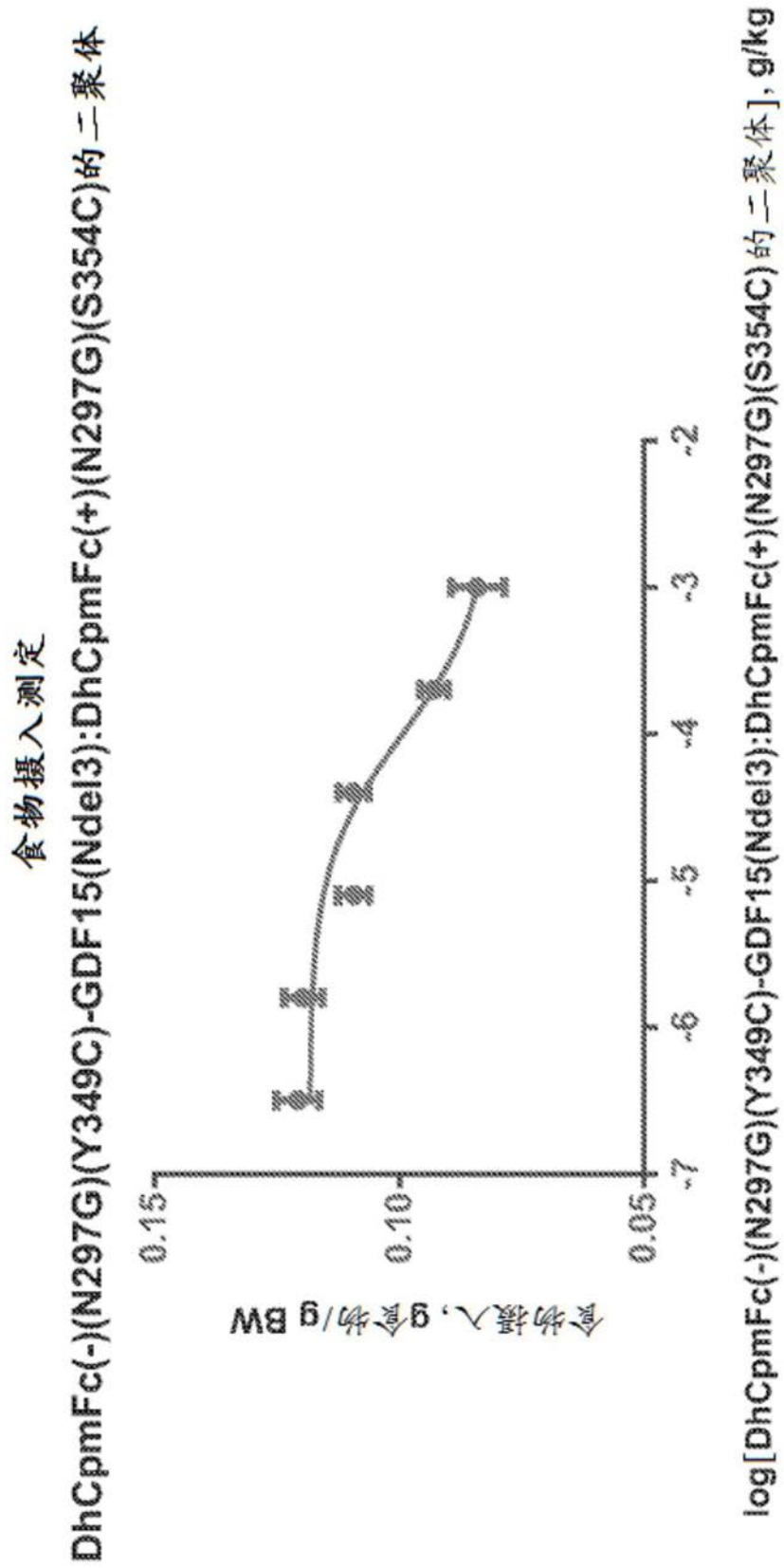


图43

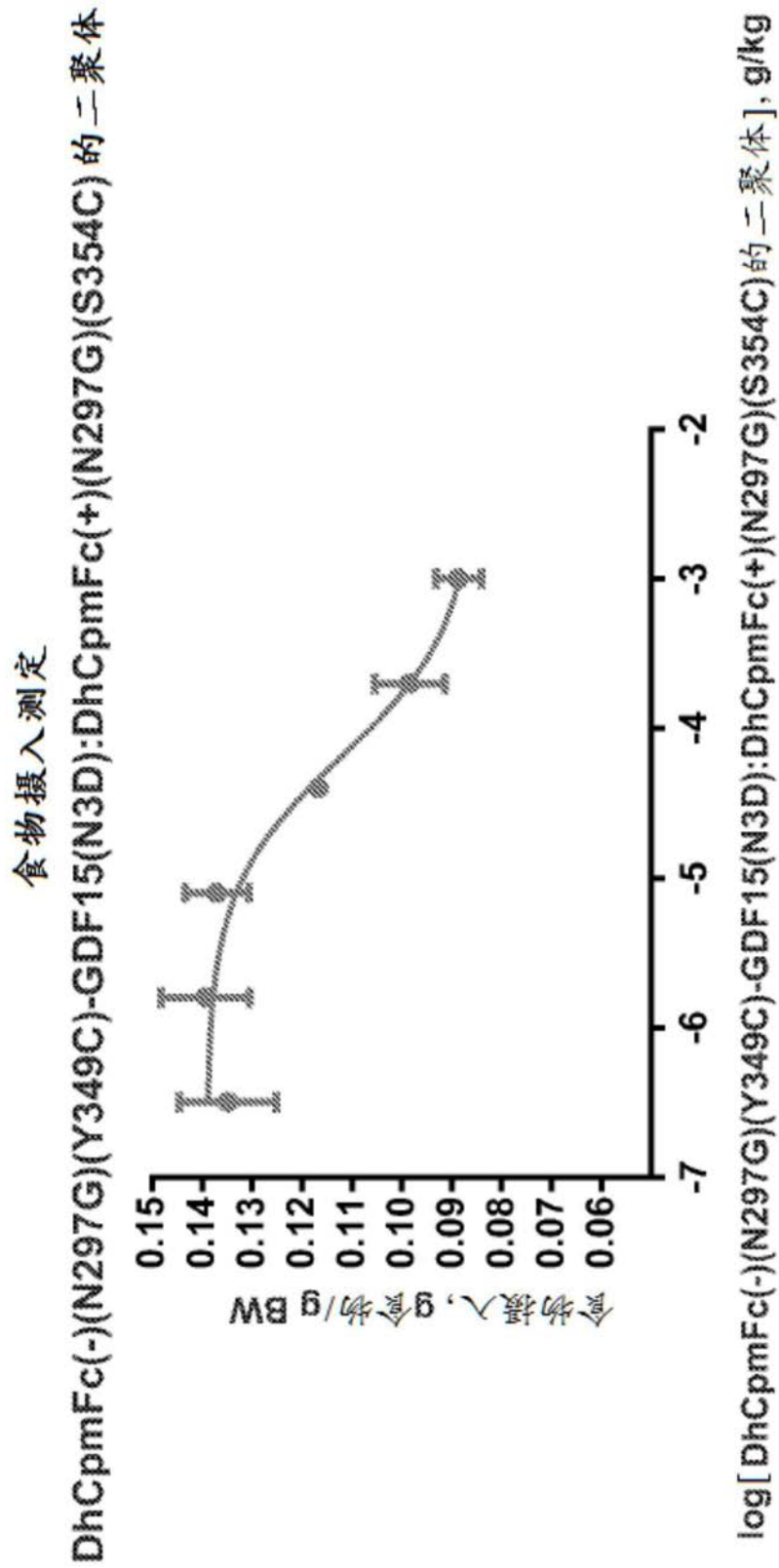


图44

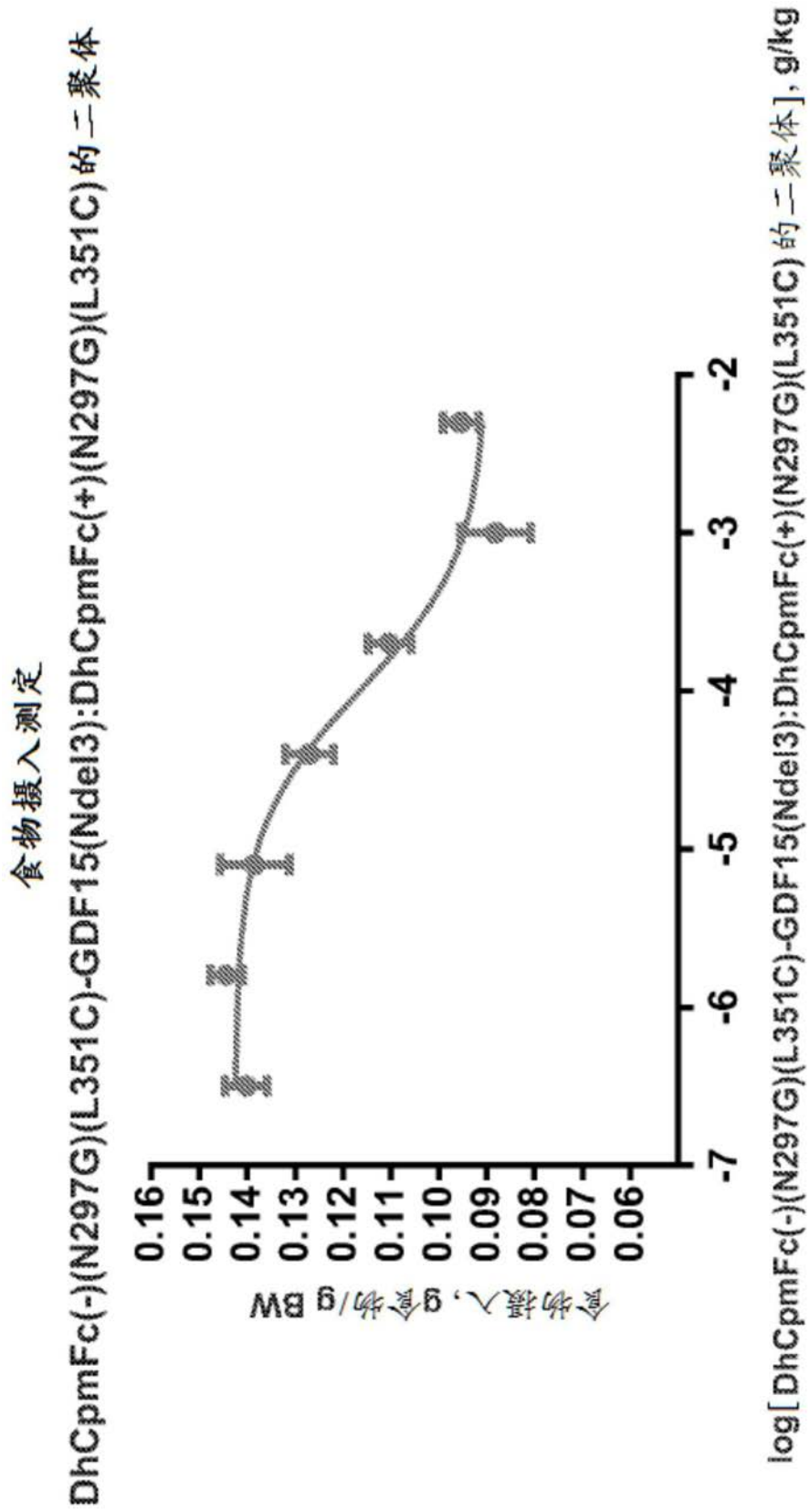


图45

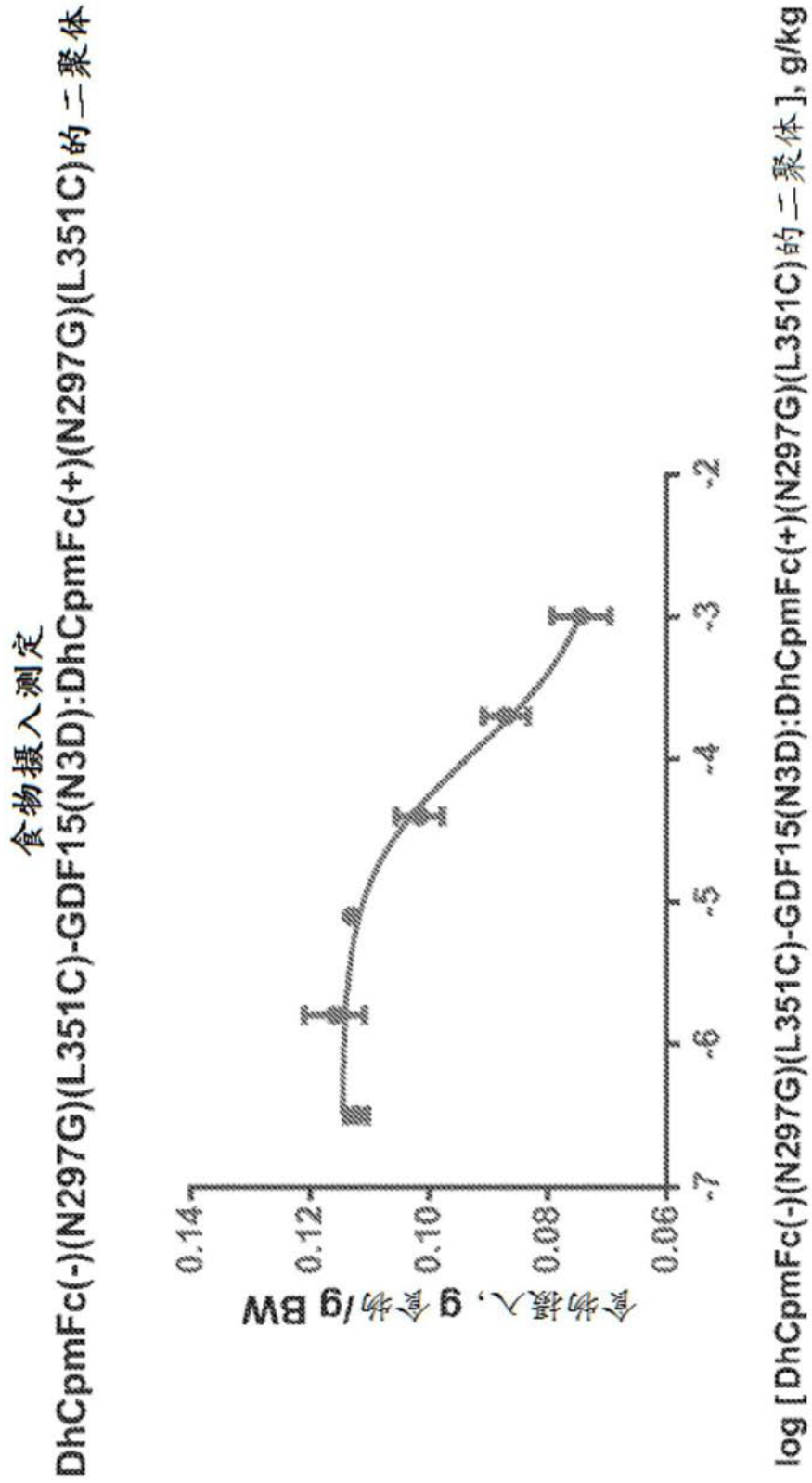


图46

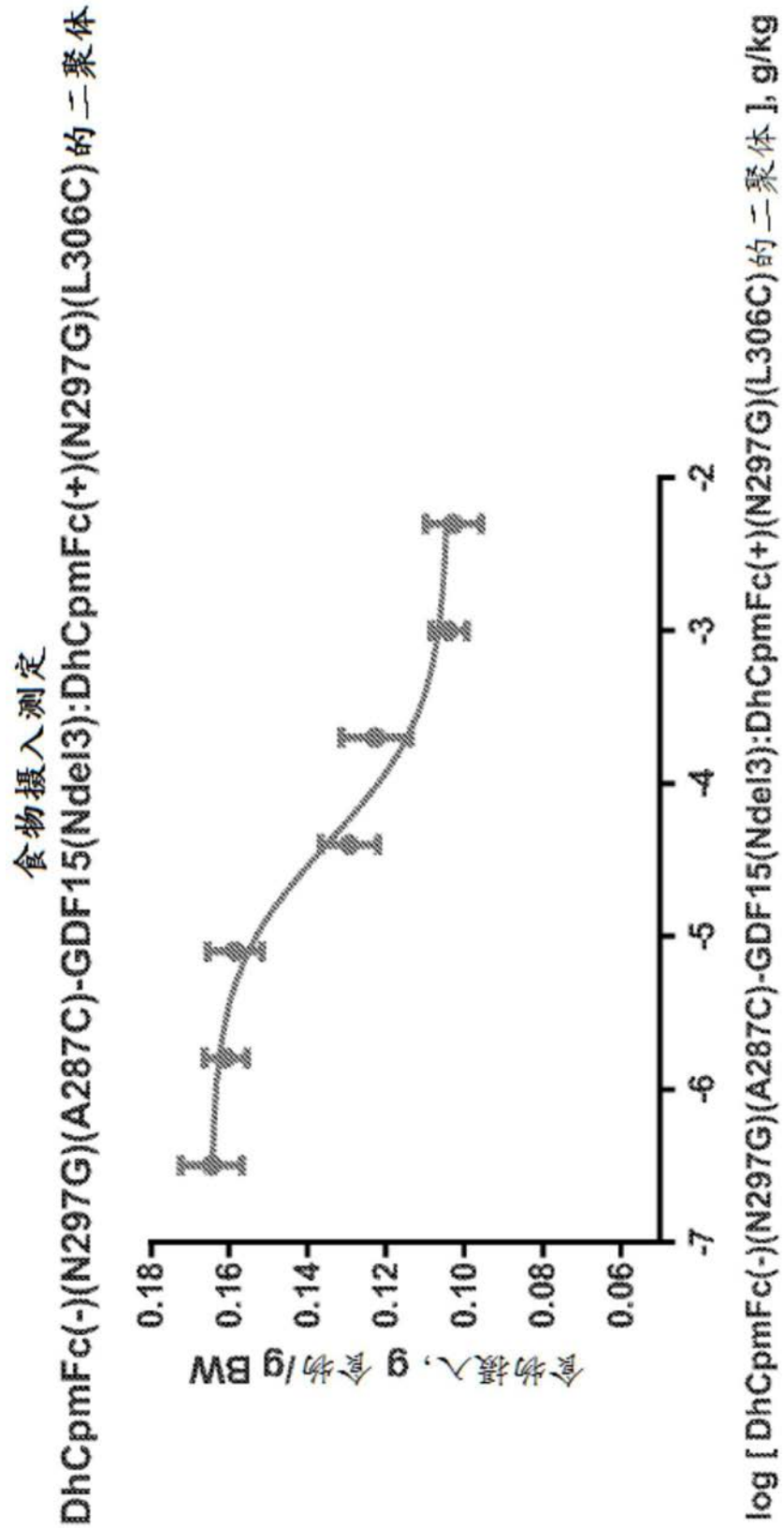


图47

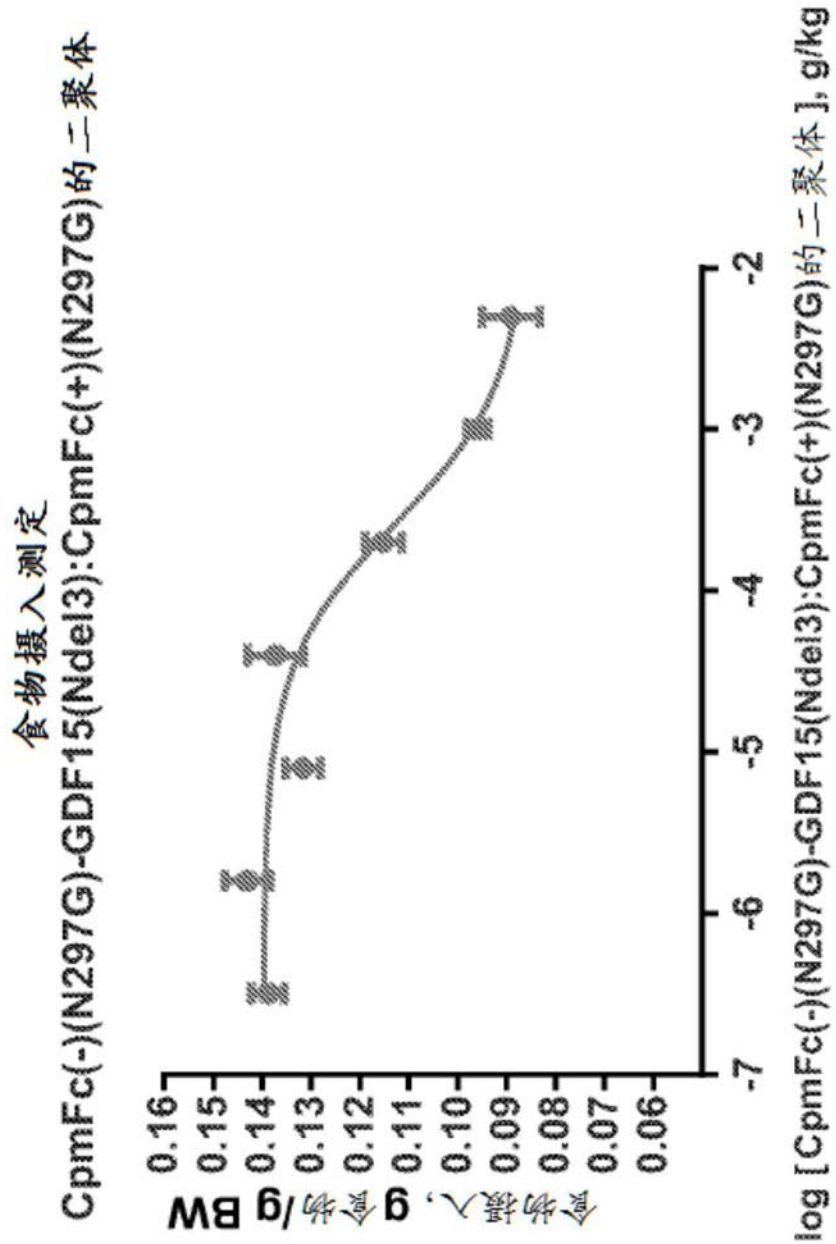


图48

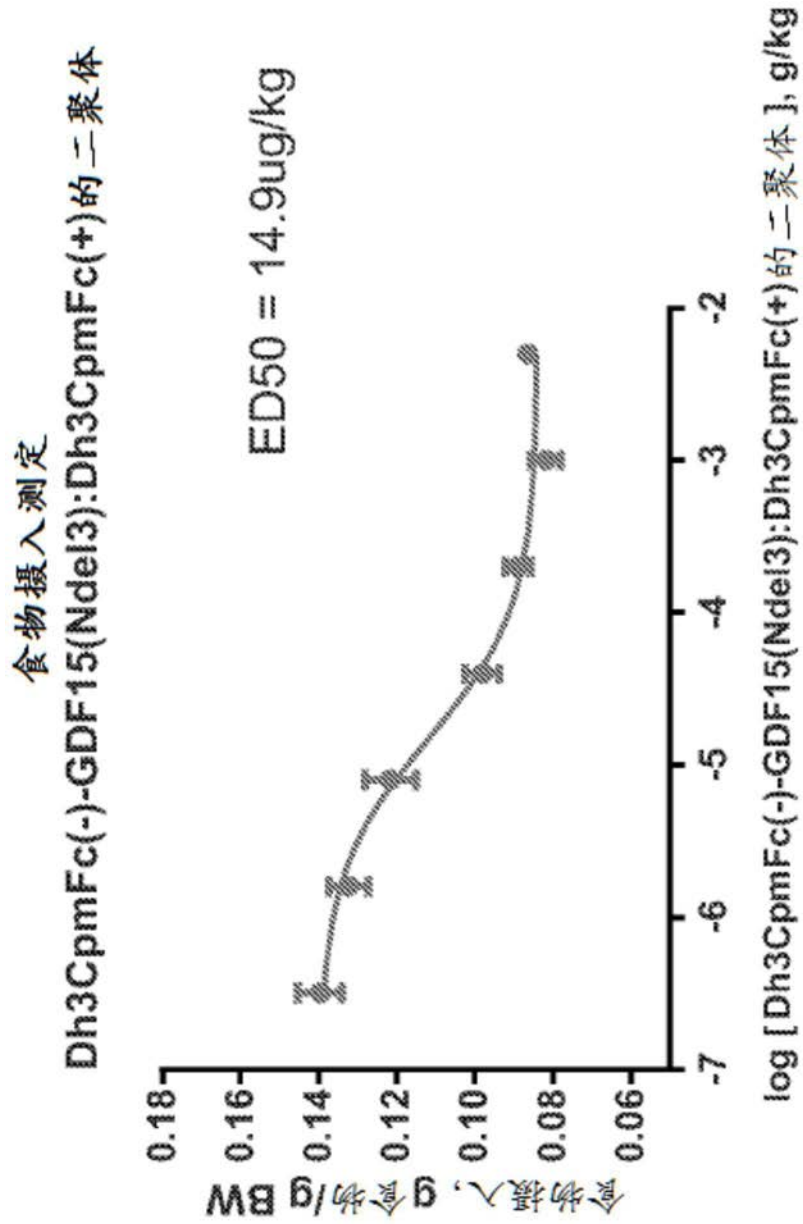


图49

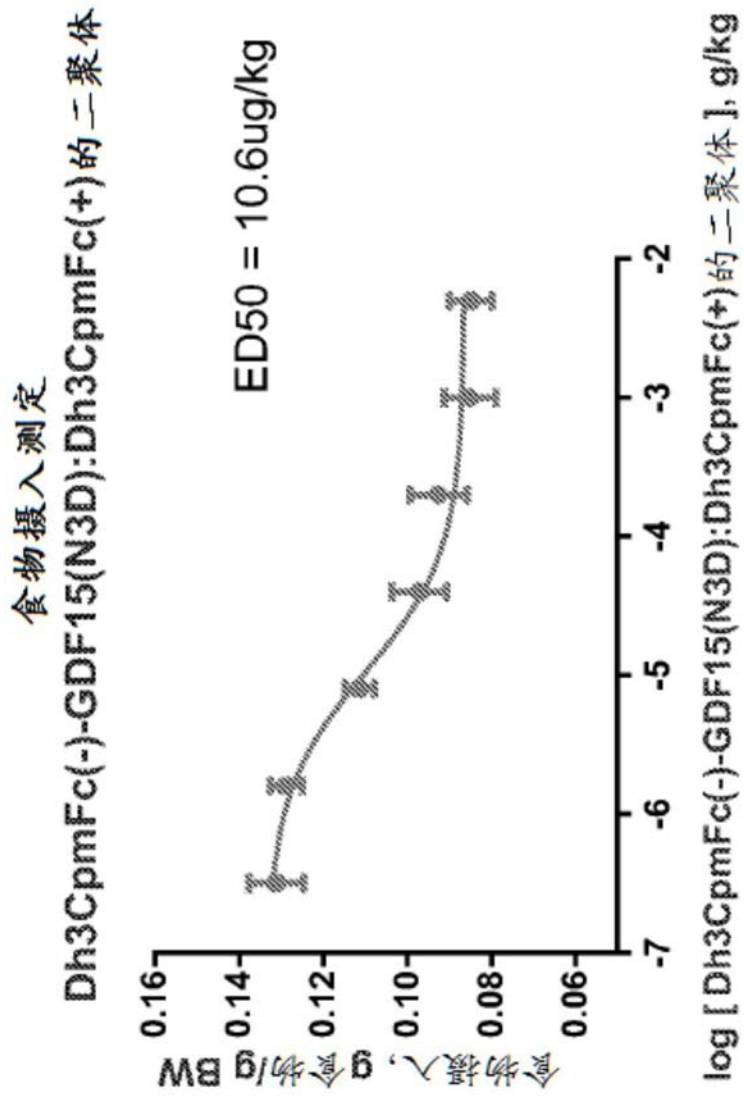


图50

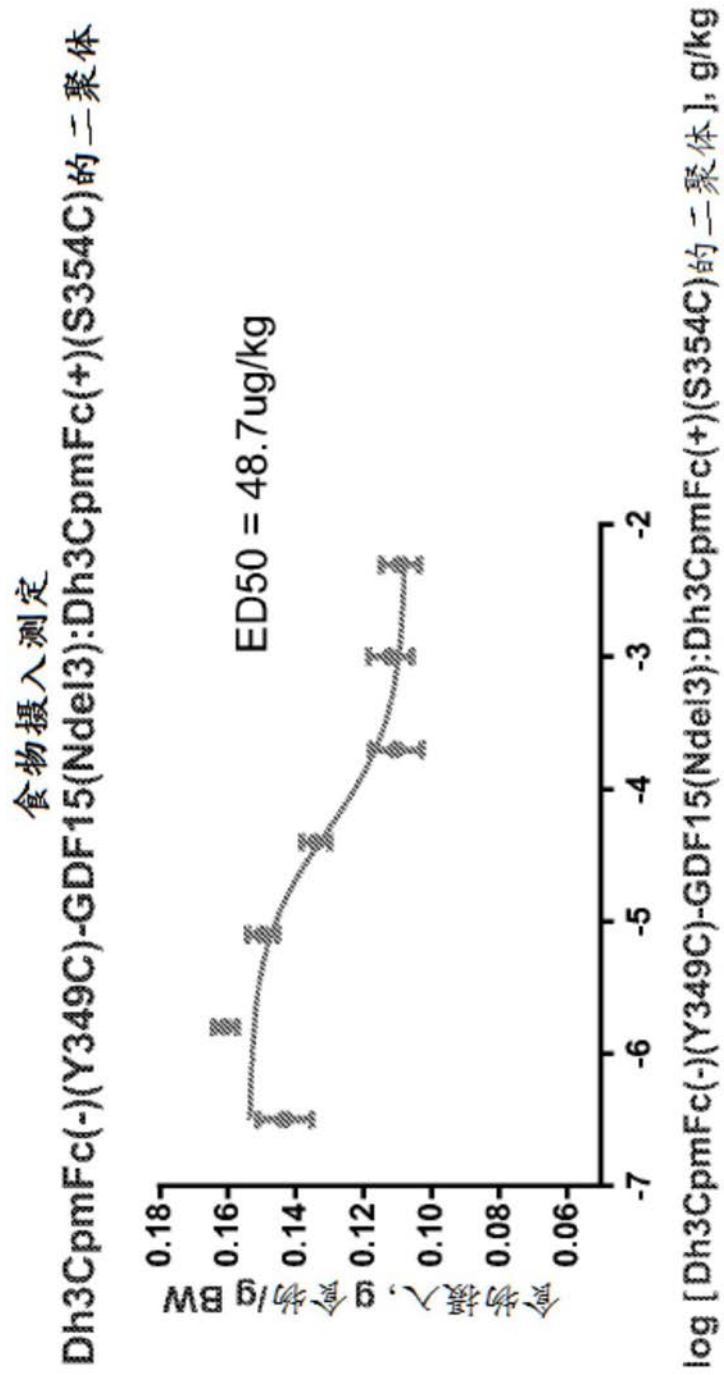


图51

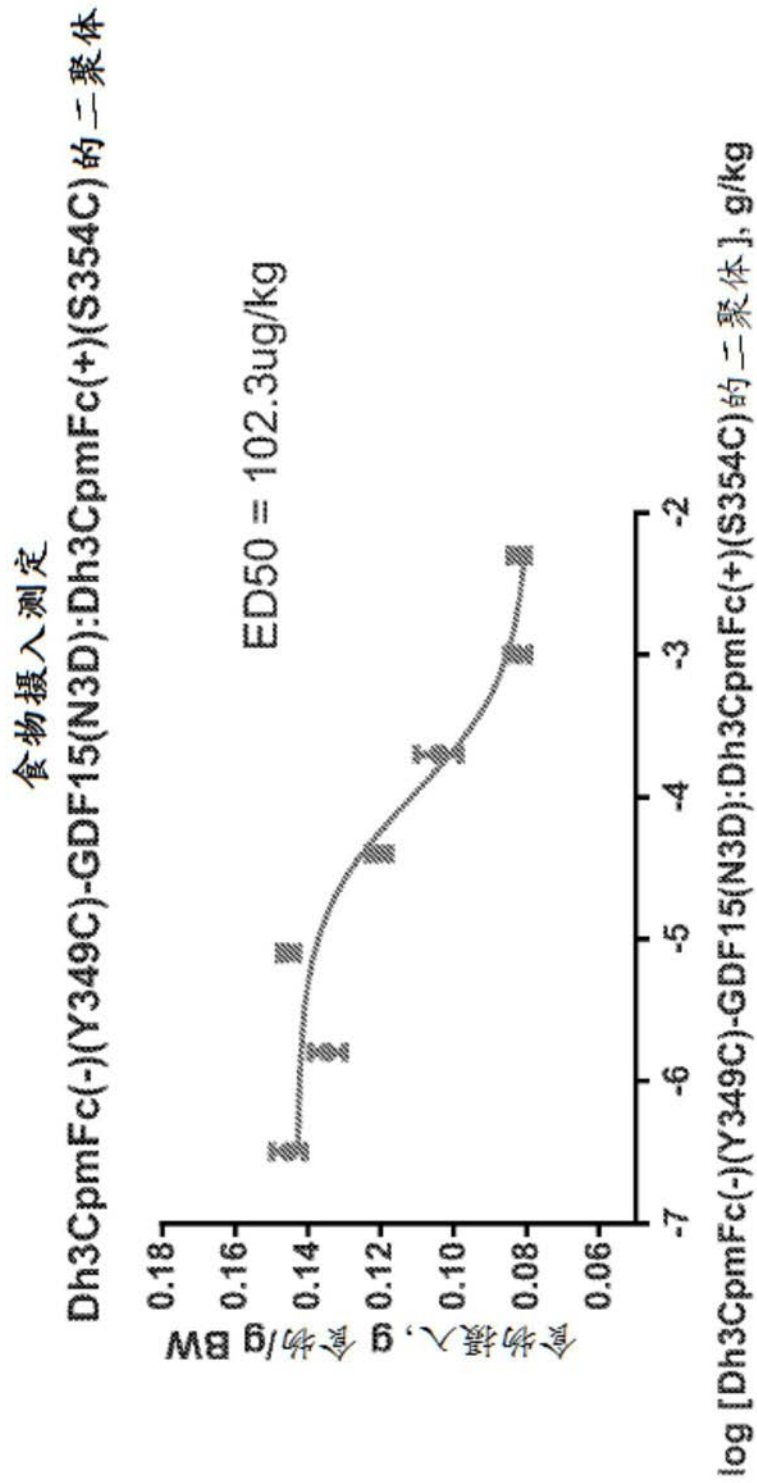


图52

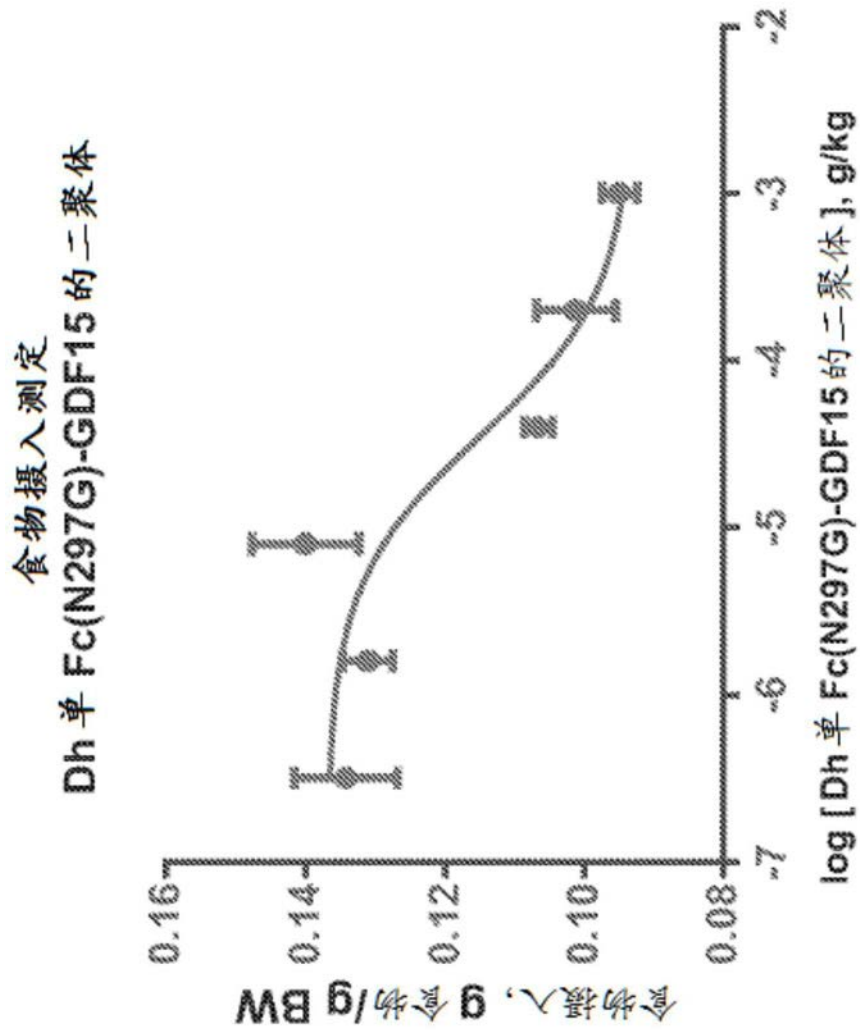


图53

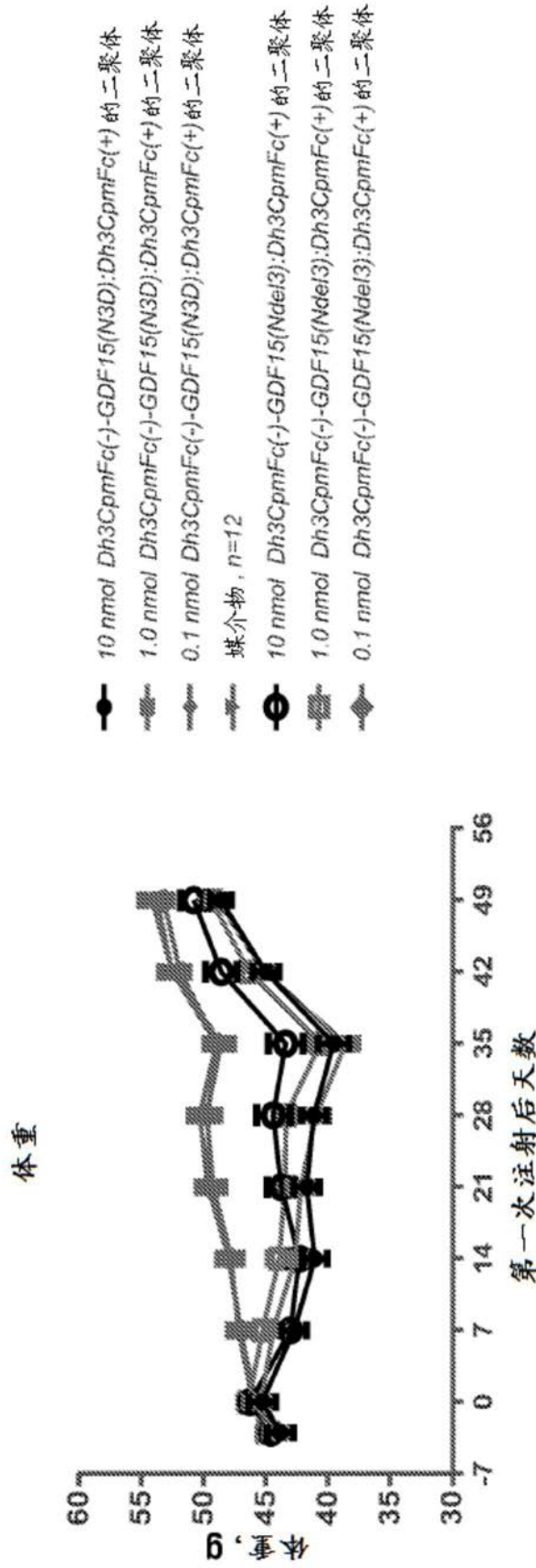


图54

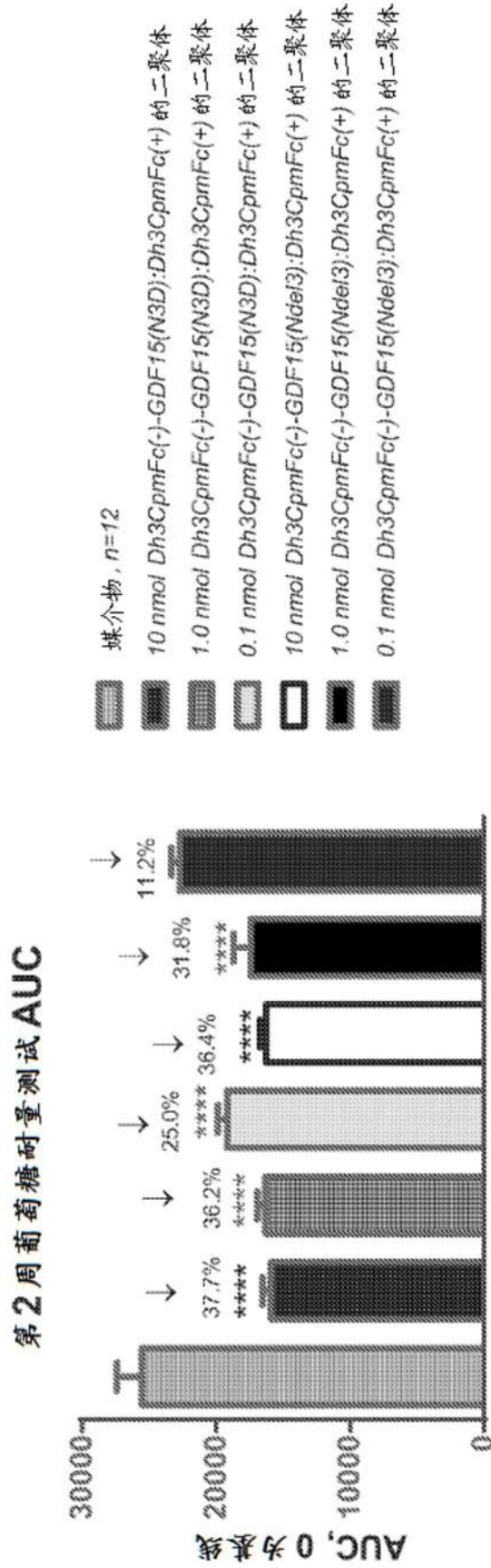


图55

胰岛素, 第3周, 饲喂

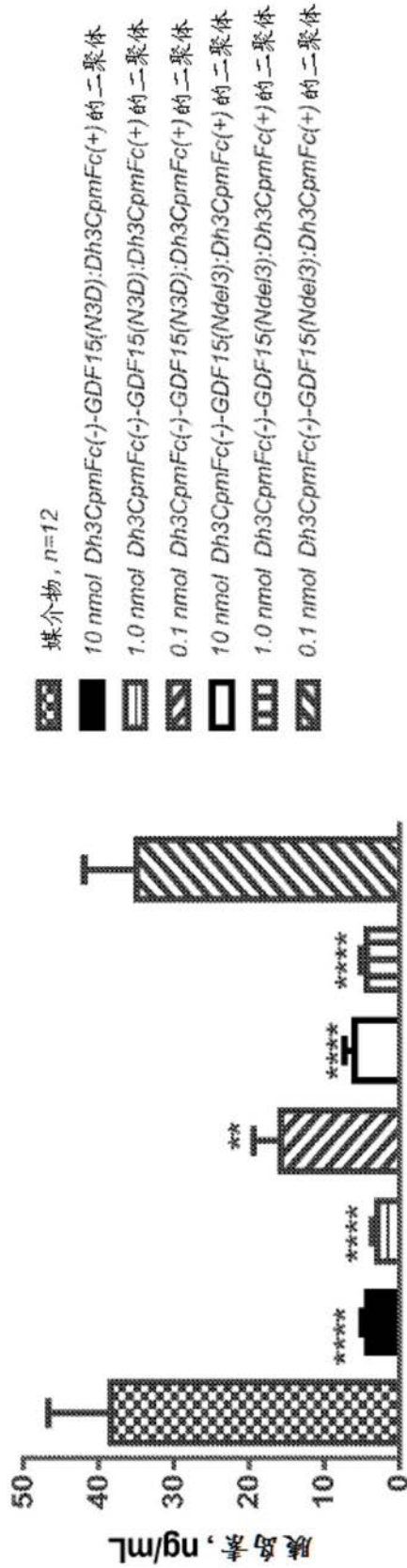


图56

TG, 第3周, 饲喂

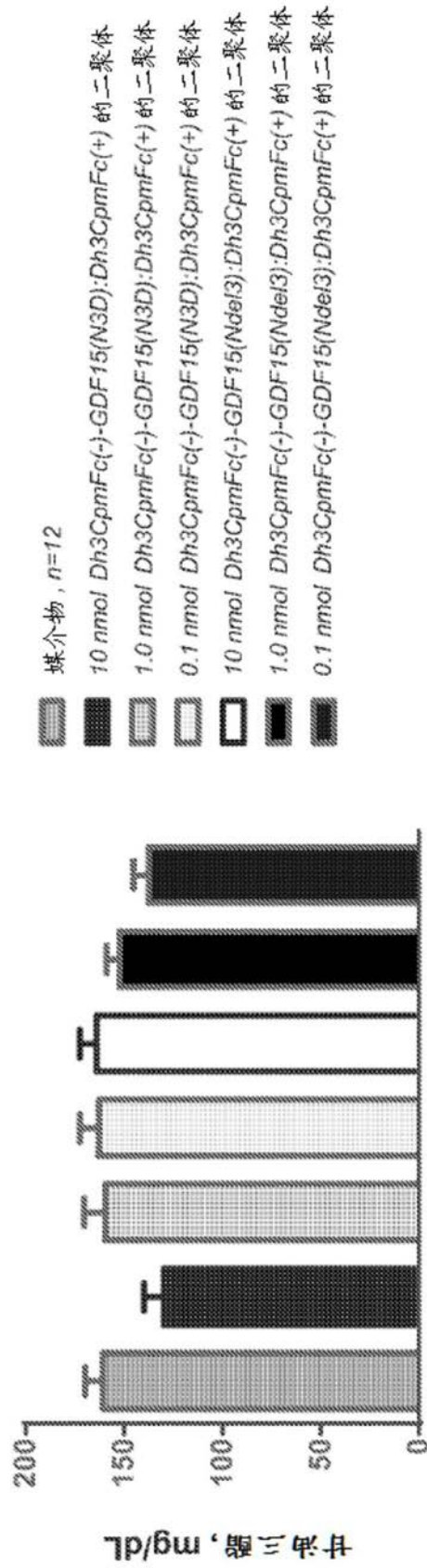


图57

胆固醇, 第3周, 饲喂

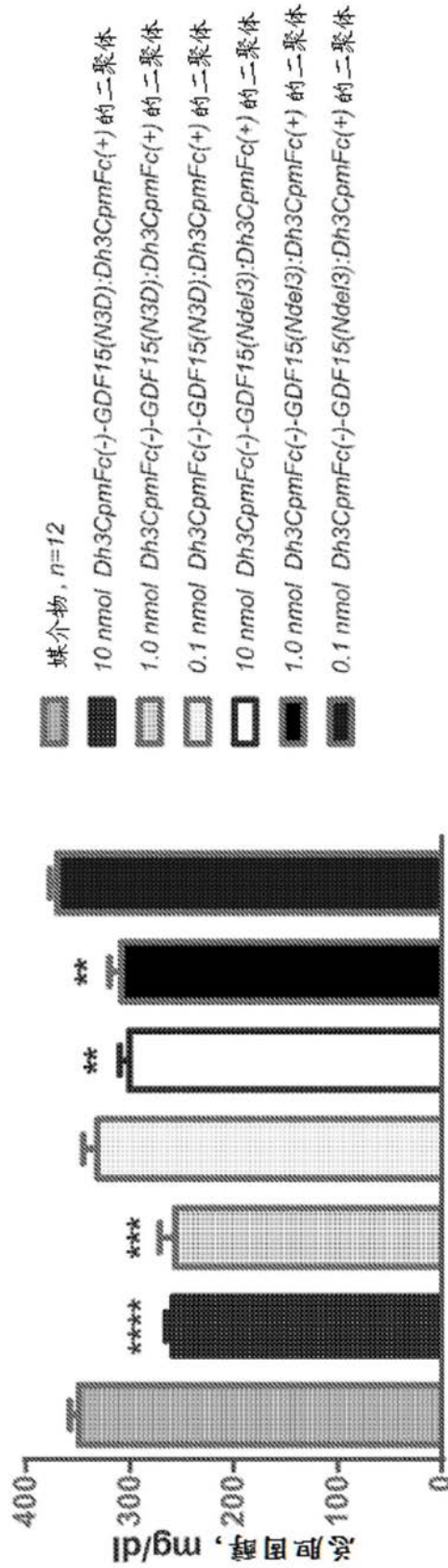


图58

第5周葡萄糖耐量测试 AUC

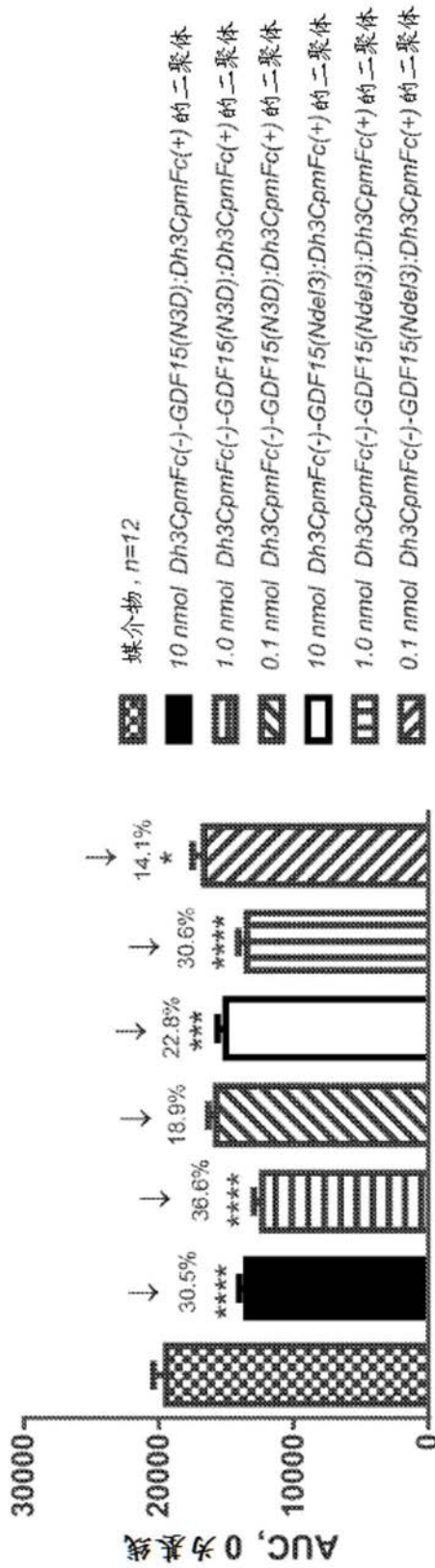


图59

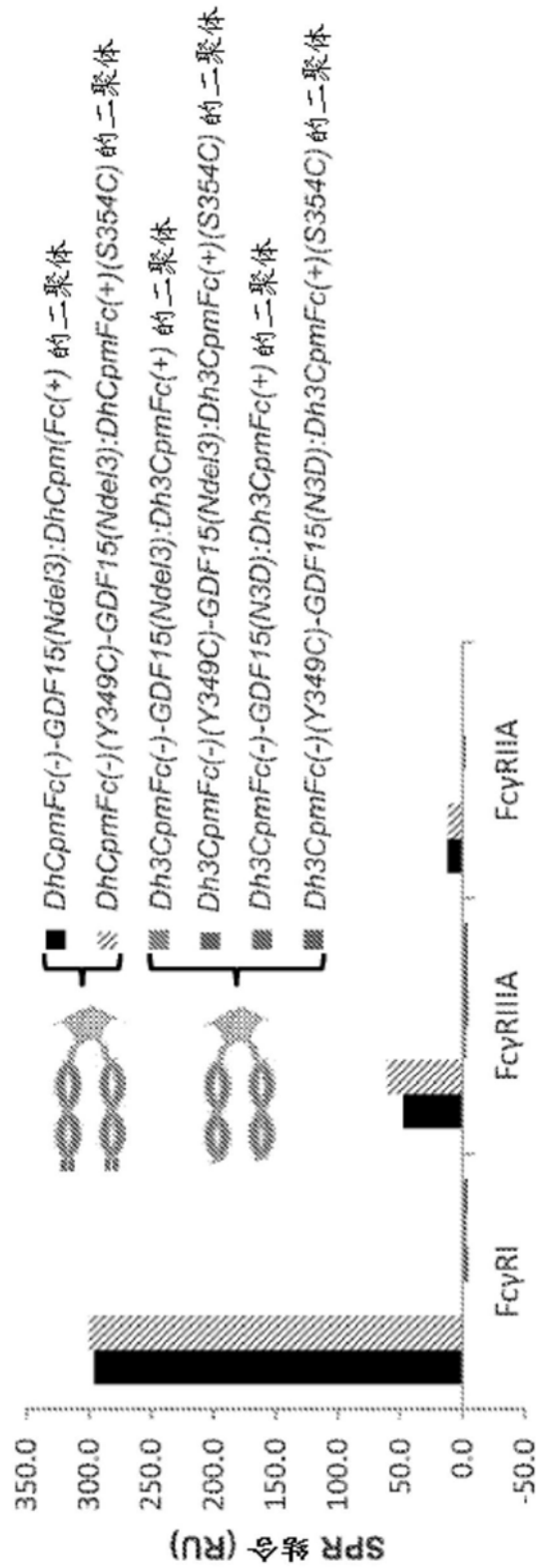


图60

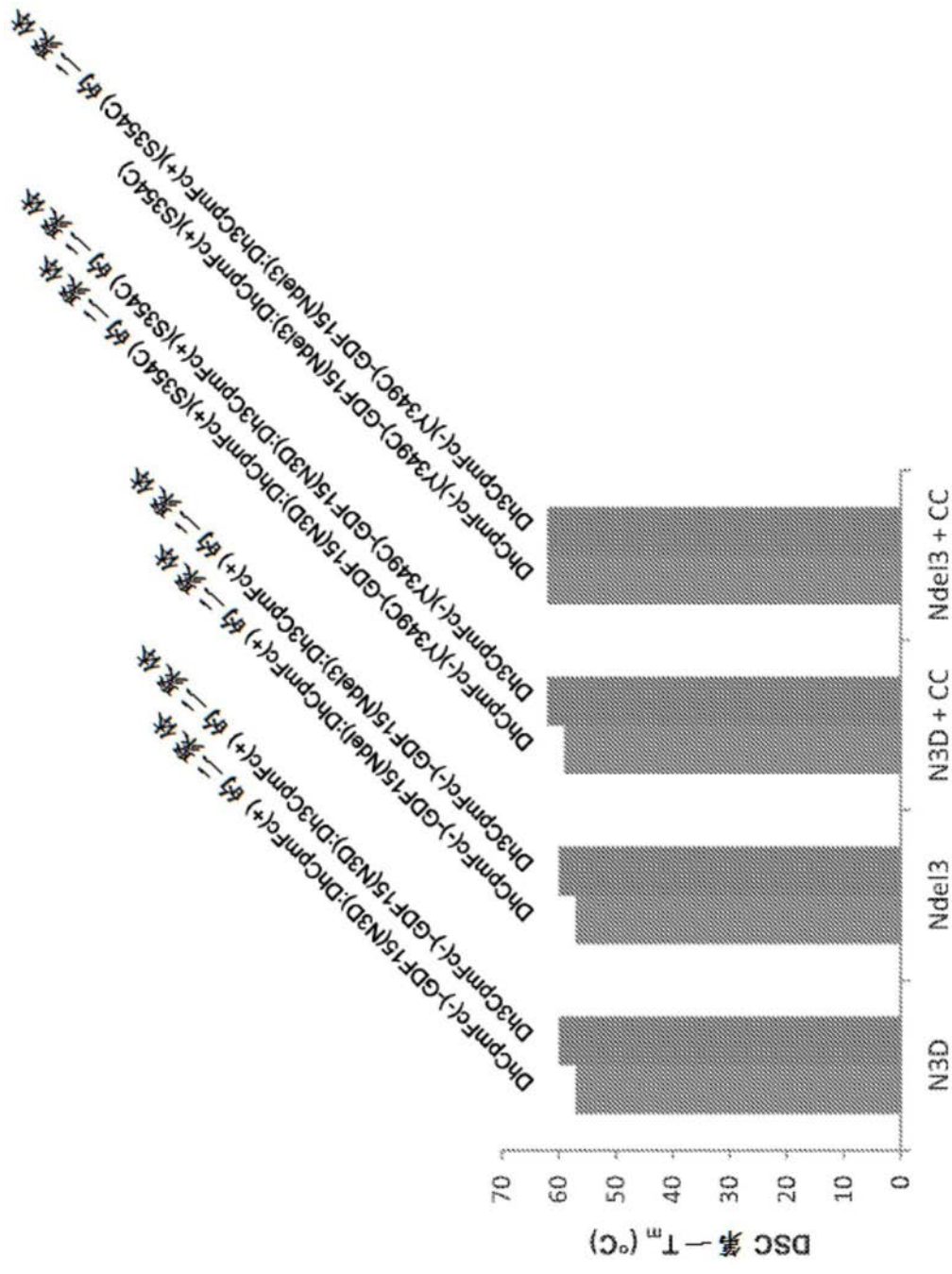


图61