



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101679988 B

(45)授权公告日 2018.05.11

(21)申请号 200880013111.9

(22)申请日 2008.02.27

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 101679988 A

(43)申请公布日 2010.03.24

(30)优先权数据
60/891,769 2007.02.27 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2009.10.22

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2008/000901 2008.02.27

(87)PCT国际申请的公布数据
W02008/132568 EN 2008.11.06

(73)专利权人 APROGEN株式会社
地址 韩国大田广域市

(72)发明人 金学祖 高永俊 金昊民 郑基勋
全春周 高古泳

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限
责任公司 11240

代理人 吴贵明 张英

(51)Int.Cl.

C12N 15/62(2006.01)

C07K 14/71(2006.01)

C07K 14/715(2006.01)

A61K 38/16(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

(56)对比文件

W0 2003/020906 A2,2003.01.13,对比文件
1第46页实施例1,第49页第4段,以及图7.

王晶晶等.血管内皮生长因子和糖尿病肾
病.《医学综述》.2006,第12卷(第1期),第36-38
页.

刘芳等.血管内皮生长因子受体3.《广州医
学院学报》.2002,第30卷(第2期),第73-75页.

审查员 刘苗

权利要求书2页 说明书71页 附图32页

(54)发明名称

结合生长因子的融合蛋白

(57)摘要

本申请披露了一种分离的核酸分子,该核酸
分子编码能够同时结合两种不同生长因子多肽
部分的多肽。这样的多肽能够同时结合VEGF多肽
和血管生成素多肽。

1. 一种分离的核酸分子, 编码具有两个部分的多肽, 所述多肽能够同时结合VEGF和Ang2, 所述分离的核酸分子选自下列核苷酸序列:

(a) 在表1中列出的SEQ ID NO:1的核苷酸序列; 或者

(b) 一个核苷酸序列, 其由于遗传密码的简并而不同于(a)的核苷酸序列, 但其编码由它表达的相同氨基酸序列。

2. 根据权利要求1所述的核酸分子, 其中, 编码所述部分的核苷酸序列可操作地连接至编码多聚化部分的核苷酸序列。

3. 根据权利要求2所述的核酸分子, 其中, 所述多聚化部分是免疫球蛋白结构域。

4. 根据权利要求3所述的核酸分子, 其中, 所述免疫球蛋白结构域选自由IgG的Fc结构域、IgG的重链和IgG的轻链组成的组。

5. 一种包含权利要求1所述的核酸分子的表达载体, 其中, 所述核酸分子可操作地连接至表达控制序列。

6. 一种宿主-载体系统, 用于在合适的宿主细胞中生产融合多肽, 所述系统包含权利要求5所述的表达载体。

7. 根据权利要求6所述的宿主-载体系统, 其中, 所述合适的宿主细胞是细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞或哺乳动物细胞。

8. 一种由权利要求1所述的分离的核酸分子编码的融合多肽。

9. 一种生产融合多肽的方法, 包括在允许生产所述融合多肽的条件下生长权利要求6所述的宿主-载体系统的细胞, 以及回收这样生产的所述融合多肽。

10. 一种由权利要求1所述的核酸分子编码的融合多肽, 所述融合多肽通过乙酰化或聚乙二醇化修饰。

11. 有效量的权利要求8所述的融合多肽在制备一种用于阻断哺乳动物中血管生长的药物中的应用。

12. 有效量的权利要求8所述的融合多肽在制备一种用于抑制哺乳动物中VEGF受体配体和Tie2配体活性的药物中的应用。

13. 有效量的权利要求8所述的融合多肽在制备一种用于减弱或防止哺乳动物中肿瘤生长的药物中的应用。

14. 权利要求8所述的融合多肽在制备一种用于治疗对象由炎性血管形成而引起的病症的药物中的应用。

15. 根据权利要求14所述的应用, 其中所述病症是风湿性关节炎。

16. 权利要求8所述的融合多肽在制备一种用于抑制眼中血管形成的药物中的应用。

17. 有效量的权利要求1所述的核酸分子在制备用于阻断在需要其的哺乳动物中血管生长的药物中的应用。

18. 有效量的权利要求1所述的核酸分子在制备用于抑制哺乳动物中VEGF受体配体和Tie2配体活性的药物中的应用。

19. 有效量的权利要求1所述的核酸分子在制备用于减弱或防止需要其的哺乳动物中肿瘤生长的药物中的应用。

20. 权利要求1所述的核酸分子在制备用于治疗对象由炎性血管形成而引起的病症的药物中的应用。

21. 根据权利要求20所述的应用,其中所述病症是风湿性关节炎。
22. 权利要求1所述的核酸分子在制备用于抑制眼中血管形成的药物中的应用。

结合生长因子的融合蛋白

技术领域

[0001] 本发明涉及抗-血管发生组合物领域。本发明还涉及一种同时结合两种不同生长因子或细胞因子的组合物。

背景技术

[0002] 人体中存在三种已知的VEGF受体,即VEGFR1、VEGFR2和VEGFR3。人类VEGFR1由1338个氨基酸组成,被分成三个主要区域:由7个免疫球蛋白(Ig)-样结构域构成的胞外结构域、跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域(UniProtKB/Swiss-Prot entry P17948)(图1)。VEGFR2和VEGFR3具有类似的构成并且在酪氨酸激酶结构域上显示与VEGFR1约80%的同源性。

[0003] VEGFR1和VEGFR2通过结合VEGF-A的激活对于血管内皮细胞的生长、迁移和存活(它们是血管发生和血管生成的基本过程)起关键作用,而VEGFR3通过结合VEGF-C和VEGF-D的激活对于淋巴内皮细胞的生长、迁移和存活(它们是另外具体指出的淋巴管形成的基本过程)起主要作用(Shibuya M and Claesson-Welsh L, *Exp. Cell Research* 312:549-560, 2006; Alitalo K, et al., *Nature* 438:946-953)。

[0004] VEGF-A对VEGFR1的亲合力比对VEGFR2的亲合力高大约10倍。在VEGFR1的7个Ig-样结构域中,Ig-样结构域2对于VEGF-A结合是必需的(图2)。然而,VEGFR1的Ig-样结构域2包含许多碱性氨基酸并且它的理论等电点(pI)为9.19(Compute pI/Mw tool for Swiss-Prot/TrEMBL entries, http://kr.expasy.org/tools/pi_tool.html)。因此,VEGFR1的Ig-样结构域2本身不能被用作具有诱饵受体性能的治疗蛋白,因为它具有低的药代动力学性能。

[0005] 具有免疫球蛋白和表皮生长因子同源性结构域-2的酪氨酸激酶(Tie2)是主要在内皮和造血细胞上表达的一种受体酪氨酸激酶(RTK)(Dumont DJ, et al., *Oncogene* 8:1293-1301, 1993)。Tie2对于血管形成、血管发生和造血很关键(Yancopoulos GD, et al., *Nature* 407:242-248, 2000)。4种Tie2配体已被鉴定:血管生成素-1(Ang1)、血管生成素-2(Ang2)、血管生成素-3(Ang3)和血管生成素-4(Ang4)(Yancopoulos GD, et al., *Nature* 407:242-248, 2000)。尽管Ang1似乎是Tie2的专性(obligate)激活剂,但是Ang2似乎具有上下文中所述的特定作用,在一些细胞上激活这种受体而在其他细胞上或不同条件下阻断Tie2激活(Yancopoulos GD, et al., *Nature* 407:242-248, 2000)。

[0006] 人类Tie2由1124个氨基酸构成,被分成三个主要区域:由两个Ig-样结构域、三个EGF-样结构域、一个Ig-样结构域、三个III型纤连蛋白组成的胞外结构域;跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域(UniProtKB/Swiss-Prot entry Q02763)(图1)。

[0007] 在Tie2的胞外亚结构域中,Ig-样结构域2对于血管生成素结合是必需的,但Ig-样结构域1和三个EGF-样结构域看起来是与血管生成素的稳定结合所必需的(图2)。重要地,这些亚结构域包含许多酸性氨基酸并且它的理论等电点(pI)为6.55(Compute pI/Mw tool for Swiss-Prot/TrEMBL entries, http://kr.expasy.org/tools/pi_tool.html)。因此,这些结构域本身能够用作治疗蛋白,因为它可以具有高的药代动力学值。

[0008] 在VEGF和血管生成素家族蛋白中,VEGF-A和血管生成素-2(Ang2)是对于以下的关键分子:肿瘤血管发生(Holash,J.et al.,Science 1999;284:1994-1998;Holash,J.et al.,Oncogene 1999;18:5356-5362)和转移(Saaristo,A.et al.,Oncogene2000;19:6122-6129)、老年性黄斑退化症(Otani,A.et al.,InvestOphthalmol.Vis.Sci,1999;40:1912-1920)、糖尿病视网膜病变(Watanabe,D.et al.,Am.J.Ophthalmol.2005;139:476-481)、风湿性关节炎(Fearon,U.et al.,J.Rheumatol 2003;30:260-268;Paleolog,E.M.et al.,Arthritis Res.2002;4:S81-S90)、银屑病(Kuroda,K.et al.,J.Invest Dermatol.2001;116:713-720)、急性和慢性炎症(McDonald,D.M.et al.,Am.J.Respi.Cri.Care Med.2001;164:S39-S45;Roviezzo,F.et al.,J.Pharmacol.Exp.Ther.2005;314:738-744)、动脉粥样硬化(Lim HS,et al.,Atherosclerosis,2005;180:113-118)以及淋巴增生性疾病如肿瘤淋巴管生成(Scavelli,C.et al.,Leukemia 2004;18:1054-1058)和淋巴转移(Sfiligoi,C.et al.,Int.J.Cancer 2003;103:466-474)。因此,本发明对于治疗VEGF-A和/或Ang2相关疾病提供VEGF-A和Ang2的同时阻断,优选地利用诱饵受体、内双特异抗体(intradiabody)(双抗体)或RNA干扰。

发明内容

[0009] 本发明还提供一种组合物,其结合两种不同生长因子或细胞因子。优选地,这样的组合物是能够同时结合两种蛋白的融合蛋白。在一个方面,这样的融合多肽不是抗体。在一个优选方面,这样的融合多肽包括该生长因子或细胞因子的天然结合伴侣的全长形式或片段。更优选地,该融合多肽能够同时地结合血管内皮生长因子(VEGF)和血管生成素,即“双抗-血管生成蛋白(DAAP)”。披露的DAAP对于治疗VEGF和血管生成素相关病症和疾病如癌症、老年性黄斑退化症、糖尿病视网膜病变、风湿性关节炎、银屑病、急性和慢性炎症、动脉粥样硬化及淋巴增生性疾病是治疗有用的。

[0010] 在一个特定方面,本发明涉及一种分离的核酸分子,该核酸分子编码能够同时结合VEGF多肽和血管生成素多肽的多肽,其包括编码Tie2部分(组成部分,component)和VEGFR部分的核苷酸序列。该Tie2和VEGFR部分可以可操作地连接至编码多聚化部分(形成多聚体的部分,multimerizing component)的核苷酸序列。VEGFR可以是VEGFR1或VEGFR3,并不限于此没有限制。并且该多聚体部分可以是免疫球蛋白结构域。在一个方面,免疫球蛋白结构域可以是IgG的Fc结构域、IgG的重链、或IgG的轻链。而且,Tie2部分可以位于VEGFR部分的上游或下游。

[0011] 在另一方面,在该核酸分子中,Tie2部分可以包括编码Tie2的胞外结构域的Ig-样结构域1、Ig-样结构域2和三个EGF-样结构域的氨基酸序列的核苷酸序列。在另一方面,VEGFR1部分可以基本上由编码VEGFR1的胞外结构域的Ig-样结构域2的氨基酸序列的核苷酸序列组成;并且VEGFR3部分可以基本上由VEGFR3的胞外结构域的Ig-样结构域1、Ig-样结构域2和Ig-样结构域3的氨基酸序列组成。

[0012] 在另一个方面,本发明涉及一种分离的核酸分子,其包含编码以下(核苷酸序列)的核苷酸序列:

[0013] (a) 在表1中列出的称为DAAP#1的核苷酸序列;

[0014] (b) 在表1中列出的称为DAAP#2的核苷酸序列;

- [0015] (c) 在表1中列出的称为DAAP#3的核苷酸序列;
- [0016] (d) 在表1中列出的称为DAAP#4的核苷酸序列;
- [0017] (e) 在表1中列出的称为DAAP#11的核苷酸序列;
- [0018] (f) 在表1中列出的称为DAAP#12的核苷酸序列;
- [0019] (g) 在表1中列出的称为DAAP#13的核苷酸序列;
- [0020] (h) 在表1中列出的称为DAAP#14的核苷酸序列;
- [0021] (i) 在表1中列出的称为DAAP#15的核苷酸序列;
- [0022] (j) 在表1中列出的称为DAAP#16的核苷酸序列;
- [0023] (k) 在表1中列出的称为DAAP#17的核苷酸序列;或
- [0024] (l) 一个核苷酸序列,其由于遗传密码的简并而不同于上述(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)、(i)、(j)或(k)的核苷酸序列,但编码由它们(上述(a)~(k)的核苷酸序列)表达的相同氨基酸序列。
- [0025] 本发明还涉及一种载体,其包含所有上述的核酸分子。该载体可以是表达载体。
- [0026] 本发明还涉及一种宿主载体系统,用于在合适宿主细胞中生产融合多肽,其包含上述表达载体。这样的合适宿主细胞可以包括细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞或哺乳动物细胞。
- [0027] 本发明还涉及一种融合多肽,其由上述分离的核酸分子中的任一种编码,包括但不限于DAAP#1-4和DAAP#11-17的氨基酸序列。
- [0028] 本发明还涉及一种组合物,其能够同时地结合VEGF和血管生成素分子以形成一种包含上述融合多肽的多聚体的非功能性复合体,包括但不限于利用VEGFR1或VEGFR3部分的那些融合构建体。该多聚体可以是二聚体。
- [0029] 在另一个方面,本发明涉及一种生产融合多肽的方法,其包括在允许生产融合多肽的条件下,生长上述宿主-载体系统的细胞,以及回收所生产的融合多肽。这样的融合多肽可以通过乙酰化或聚乙二醇化进行修饰。乙酰化可以利用摩尔过量的乙酰化试剂来完成,其范围为至少约10倍摩尔过量至约100倍摩尔过量。聚乙二醇化可以利用10K或20K PEG。
- [0030] 在又一个方面,本发明涉及一种降低或抑制哺乳动物中的血浆渗漏的方法,其包括对需要其的哺乳动物给予有效量的本文所述的融合多肽。在一个优选实施方式中,所述渗漏可以是在视网膜中。
- [0031] 在又一方面,本发明涉及一种阻断哺乳动物体内血管生长的方法,其包括对需要其的哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。在某些方面,血管生长阻断活性可以尤其用于治疗癌症、老年性黄斑退化症、糖尿病视网膜病变、风湿性关节炎、银屑病、急性和慢性炎症、动脉粥样硬化和淋巴增生性疾病。
- [0032] 在又一方面,本发明涉及一种减弱或防止哺乳动物体内肿瘤生长的方法,其包括对需要其的哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。
- [0033] 在又一方面,本发明涉及一种减弱或防止哺乳动物体内的水肿的方法,其包括对需要其的哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。该水肿可以是视网膜水肿和脑水肿。
- [0034] 在又一方面,本发明涉及一种减弱或防止哺乳动物体内腹水形成的方法,其包括

对需要其的哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。腹水可以是与卵巢癌相关的。本发明还涉及一种抑制哺乳动物体内VEGF受体配体和Tie2配体活性的方法,包括向该哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。

[0035] 在又一方面,本发明涉及一种减弱或防止哺乳动物体内炎性血管发生的方法,其包括对需要其的哺乳动物给予有效量的本文描述的融合多肽。由炎性血管发生引起的紊乱的一个实例是风湿性关节炎。由炎性血管发生引起的紊乱的其他实例包括但不限于脊椎关节病、银屑病、糖尿病视网膜病变、动脉粥样硬化。

附图说明

[0036] 根据下文给出的详细描述以及附图将可以更充分地理解本发明,其中附图仅以举例说明方式给出,因而对本发明不是限制性的,并且其中:

[0037] 图1示出了被分成以下三个主要区域的人类VEGFR1的示意图:由7个免疫球蛋白(Ig)-样结构域组成的胞外结构域、跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域。图1还示出了被分成以下三个主要区域的人类Tie2的示意图:由两个Ig-样结构域、三个EGF样结构域、一个Ig-样结构域、三个III型纤连蛋白组成的胞外结构域;跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域。

[0038] 图2示出了用于Ang2和Tie2之间以及VEGF和VEGFR1之间的结合的结构性相互作用。Tie2的Ig-样结构域2对于血管生成素结合是必需的,并且Ig-样结构域1和三个EGF-样结构域看起来是对于血管生成素的稳定结合所必需的,而VEGFR1的Ig-样结构域2对于VEGF-A结合是必需的。

[0039] 图3A和3B示出了DAAP(#1,#2,#3和#4)构建体的示意图。图3A示出了来自Tie2和VEGFR1的胞外结构域的亚结构域组装体(assemblies),而图3B示出了来自Tie2和VEGFR1的对应的氨基酸。EcoR1和Xho1是限制性酶切位点。

[0040] 图4示出了关于pCMV-dhfr和pCMV-DAAP-dhfr载体的基因构建体的示意图。

[0041] 图5示出了用于来自Tie2和VEGFR1的胞外结构域的亚结构域组装体的DAAP(#1,#11,#12,#13,#14,#15,#16和#17)构建体的示意图,以及它们来自Tie2和VEGFR1的对应的氨基酸。

[0042] 图6示出了用于来自Tie2和VEGFR1的胞外结构域的亚结构域组装体的DAAP(#11,#12,#13,#14,#15,#16和#17)构建体的示意图,以及它们对应的来自Tie2和VEGFR1的氨基酸。

[0043] 图7示出了对于DAAP(#1,#2,#3,#4,#11,#12,#13,#14,#15,#16和#17、VEGF-trap(VEGF-诱捕)、Tie2-Fc和Fc蛋白的蛋白质印迹分析。

[0044] 图8示出了对于DAAP与VEGF-A的ELISA结合测定示意图。

[0045] 图9示出了对于DAAP与Ang2的ELISA结合测定的示意图。

[0046] 图10示出了对于DAAP与VEGF-A和Ang2的ELISA结合测定的结果。

[0047] 图11A和11B示出了对于DAAP与VEGF-A和Ang2的竞争性结合的结合测定。

[0048] 图12A-12D示出了在DAAP与VEGF-A和Ang2的体外结合之后的蛋白质印迹分析。

[0049] 图13示出了VEGF和血管生成素与DAAP同时结合的示意图。

[0050] 图14示出了IgFc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc的大小和二聚体状态。蛋白在CHO

细胞中生产,利用蛋白-A琼脂糖亲和层析进行纯化,在还原和未还原条件下将~2 μ g加载到SDS-PAGE中,并用考马斯蓝(Coomassie blue)染色。

[0051] 图15A和15B示出了DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc与(A) VEGF-A和(B) Ang2的亲力和常数的ELISA分析。

[0052] 图17示出了对于检测在DAAP#1、VEGF-Trap或Tie2-Fc与多种指定类型的VEGF和血管生成素之间的物理相互作用的体外下拉测定(in vitro pull-down assay)。

[0053] 图18示出了不同DAAP的理论等电点值。

[0054] 图19示出了胞外基质结合测定的示意图。

[0055] 图20示出了对于不同DAAP的胞外基质结合的ELISA测定。

[0056] 图21示出了对于更高浓度的DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc的胞外基质结合的ELISA测定。

[0057] 图22示出了利用小鼠的药代动力学分析的示意图。

[0058] 图23示出了Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie-Fc的药代动力学谱图。

[0059] 图24示出了GFP-LLC肿瘤移植模型的形成和PBS、Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc的治疗方案的示意图。

[0060] 图25A和25B示出了PBS、Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc对根据图24的GFP-LLC肿瘤生长的影响。A表示在肿瘤移植后29天和在治疗后24天肿瘤大小的照片。B表示每一个组(n=4)中肿瘤体积(平均值 \pm SE)的变化。

[0061] 图26示出了在利用Fc、VEGF-Trap或DAAP#1治疗的小鼠肿瘤的血管的代表性照片。

[0062] 图27示出了形成ROP模型和PBS、Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc的治疗方案的示意图。

[0063] 图28A-28F示出了PBS、Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc对ROP小鼠模型的视网膜脉管系统的影响。A、B、C和D示出了整个视网膜、视盘、中间部分和边缘部分的视网膜脉管系统。E和F示出了PBS、Fc、DAAP#1、VEGF-Trap和Tie2-Fc对ROP模型中新血管丛面积和边缘血管密度的影响。

[0064] 图29A-29B示出了风湿性关节炎模型动物的形成。A示出了对于II型胶原诱导的风湿性关节炎(CIA)的实验小鼠模型的生成和治疗时间的示意图。B示出了手爪中在指定时间点的肿胀、红斑和关节僵化确定和定量的平均临床关节炎评分。

[0065] 图30A-30B示出了风湿性关节炎的治疗。A示出了利用指定药剂治疗的RA小鼠的膝和踝关节的代表性放射照像结果。B示出了在利用指定药剂治疗的CIA小鼠的膝、踝和跗跖(tarsometatarsal)关节中的骨破坏的放射照像评分。数值是平均值 \pm SD。

[0066] 图31A-31B示出了风湿性关节炎的治疗。A示出了利用指定药剂治疗18天的CIA小鼠的膝和踝关节的代表性组织病理学结果。B示出了在利用指定药剂治疗18天的CIA小鼠的膝和踝关节中的骨异常的组织病理学评分。数值是平均值 \pm SD。

[0067] 表1示出了DAAP#1、DAAP#2、DAAP#3、DAAP#4、DAAP#11、DAAP#12、DAAP#13、DAAP#14、DAAP#15、DAAP#16、DAAP#17的核酸和氨基酸序列。更具体地,SEQ ID NO:1表示DAAP#1图示的核酸的正义链。SEQ ID NO:2表示DAAP#1图示的氨基酸序列。

[0068] SEQ ID NO:3表示DAAP#2图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:4表示对于DAAP#2图示的氨基酸序列。

[0069] SEQ ID NO:5表示DAAP#3图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:6表示DAAP#3图示的氨基酸序列。

[0070] SEQ ID NO:7表示DAAP#4图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:8表示DAAP#4图示的氨基酸序列。

[0071] SEQ ID NO:9表示DAAP#11图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:10表示DAAP#11图示的氨基酸序列。

[0072] SEQ ID NO:11表示DAAP#12图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:12表示DAAP#12图示的氨基酸序列。

[0073] SEQ ID NO:13表示DAAP#13图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:14表示DAAP#13图示的氨基酸序列。

[0074] SEQ ID NO:15表示DAAP#14图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:16表示DAAP#14图示的氨基酸序列。

[0075] SEQ ID NO:17表示DAAP#15图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:18表示DAAP#15图示的氨基酸序列。

[0076] SEQ ID NO:19表示DAAP#16图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:20表示DAAP#16图示的氨基酸序列。

[0077] SEQ ID NO:21表示DAAP#17图示的核酸的正义链。SEQ IDNO:22表示DAAP#17图示的氨基酸序列。

具体实施方式

[0078] 在本申请中，“一个”用来指单个和多个对象。

[0079] 如本文使用的，“约”或“大致”通常对被限定的精确数字提供一个可允许的余裕。例如，如在多肽序列的长度的上下文中使用的，“约”或“大致”表明该多肽不限于所列举的氨基酸数。在N-端或C-端增加或减少一些氨基酸可以包括在内，只要功能活性如其结合活性存在即可。

[0080] 如本文使用的，“联合(in combination with,组合)”一种或多种其他治疗剂的给药包括同时(共同)和以任何顺序的连续给药。

[0081] 如本文使用的，“氨基酸”是指所有天然L- α -氨基酸。这个定义用来包括正亮氨酸、鸟氨酸和高半胱氨酸。

[0082] 如本文使用的，一般地，术语“氨基酸序列变体”是指相比于参考(例如天然序列)多肽，在它们的氨基酸序列上具有一些差异的分子。氨基酸改变可以是天然氨基酸序列的替代、插入、缺失或这些变化的任何期望组合。

[0083] 替代变体是天然序列中去除至少一个氨基酸残基并且在该相同位置处在其原位插入一个不同的氨基酸。取代可以是单个的，其中分子中仅一个氨基酸被替代，或者它们可以是多个的，其中两个或更多个氨基酸在相同分子中被替代。

[0084] 序列内的氨基酸取代可以选自该氨基酸所属的种类的其他成员。例如，非极性(疏水性)氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和蛋氨酸。极性天然氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。带正电荷(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。带负电荷(酸性)氨基酸包括天冬氨酸

和谷氨酸。也包括在本发明范围内的是它们的表现出相同或类似生物学活性的蛋白或片段或衍生物以及在翻译过程中或之后被差异修饰,例如通过糖基化、蛋白质水解切割、键接至抗体分子或其他细胞配体等的衍生物。

[0085] 插入变体是指其在紧邻天然氨基酸序列中特定位置的一个氨基酸处插入一个或多个氨基酸。紧邻一个氨基酸是指连接于该氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团。

[0086] 缺失变体是指其在天然氨基酸序列中除去一个或多个氨基酸。通常,缺失变体在该分子的特定区域中缺失一个或两个氨基酸。

[0087] 如本文使用的,“拮抗剂”是指趋于使另一配体的作用无效的配体,由于一个配体结合至细胞受体而不引发生物学响应。

[0088] 本发明的配体的优选生物学活性包括抑制血管通透性的能力。抑制血管通透性的能力对于治疗医学病症和疾病如糖尿病视网膜病变、水肿和腹水很有用。本发明的配体的优选生物学活性包括维持内皮细胞完整性(包括防止细胞凋亡)的能力。维持内皮细胞完整性的能力对于治疗医学病症和疾病如甘露醇治疗、放射和败血症很有用。

[0089] 还考虑了,利用可检测标记如放射性同位素、荧光标签、酶标签或化学发光标签标记DAAP融合蛋白以确定配体-受体结合的相互作用。同样,还考虑了采用该嵌合分子的测定系统。

[0090] 如本文使用的,“载体”包括对暴露于所采用的剂量和浓度下的细胞或哺乳动物无毒的药用载体、赋形剂、或稳定剂。常用药用载体是含水pH缓冲溶液。药用载体的实例包括但不限于缓冲液如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂包括抗坏血酸;低分子量(低于约10个残基)多肽;蛋白质如血清白蛋白、明胶、或免疫球蛋白;亲水性聚合物如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖、和其他糖类包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂如EDTA;糖醇如甘露醇或山梨醇;盐形成抗衡离子如钠;和/或非离子表面活性剂如 **TWEEN[®]**、聚乙二醇(PEG)和 **PLURONICS[®]**。

[0091] 如本文使用的,当用于核酸序列或氨基酸序列的上下文时,“基本上由...组成”是指对于实现由核酸编码的氨基酸的预计功能所必需的序列。

[0092] 如本文使用的,“有效量”是足以实现有益或期望临床或生化结果的量。有效量可以给予一次或多次。对于本发明的目的而言,抑制剂化合物的有效量是足以缓和、减轻、稳定、逆转、减慢或延迟疾病状态进展的量。

[0093] 如本文使用的,“片段”或“功能性衍生物”是指本发明的天然配体或受体的生物学活性氨基酸序列变体和片段,以及共价修饰体包括通过与有机衍生试剂反应、翻译后修饰获得的衍生物、具有非蛋白质性质聚合物和免疫粘附素的衍生物。

[0094] 如本文使用的,“宿主细胞”包括可以是或者已经是本发明的载体的受体的单个细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单个宿主细胞的后代,并且由于自然、意外或有意突变和/或变化,该后代不一定与原始亲代细胞是完全相同的(在形态上或在总DNA组(DNA complement)上)。

[0095] 如本文使用的,“配体”是指共价或瞬时地特异性结合至诸如多肽的分子的任何分子或试剂或化合物。当在某一上下文中使用时,配体可以包括抗体。在其他上下文中,“配体”可以是指能够以高亲和力结合到另一分子的分子,如在配体诱捕(trap)中。

[0096] 如本文使用的,用于治疗目的的“哺乳动物”是指归类为哺乳动物的任何动物,包

括人类、家养和农场动物、以及动物园、运动场的或宠物动物，如狗、猫、牛、马、羊、猪等。优选地，哺乳动物是人类。

[0097] 如本文使用的，“药用载体和/或稀释剂”包括任何和所有溶剂、分散介质、涂层抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟试剂等。为了药学活性物质使用这样的介质和试剂在本领域是熟知的。除非任何传统介质或试剂与活性成分不相容的情况，它们在治疗组合物中的使用均考虑在内。辅助活性成分也可以并入到这些组合物中。

[0098] 将非肠道组合物配制成剂量单位形式(单位剂型)对于给药的方便和剂量的一致性是有利的。如本文使用的，剂量单位形式是指适合作为用于待治疗哺乳动物对象的单一剂量的物理分散单位；每个单位包含计算的预定量的活性材料以产生与所需药载体相关的期望疗效。对本发明的剂量单位形式的说明专用于和直接依赖于(a)活性材料的独特特性和要实现的特定疗效；以及(b)在配制这样的活性材料用于治疗其中身体健康受损的患有疾病病症的活体对象的疾病治疗的领域中本身的局限性。

[0099] 为了方便和有效给药，主要活性成分以有效量与合适药用载体配制成剂量单位形式。单位剂量形式可以例如包含在0.5 μ g至约2000mg范围内的量的主要活性化合物。以比例表示，活性化合物通常以约0.5 μ g/ml载体的量存在。在包含辅助活性成分的组合物的情况下，剂量通过参考所述成分给药的常规剂量和方式来确定。

[0100] 如本文使用的，“样品”或“生物样品”是指其最宽意义，并且包括从个体、体液、细胞系、组织培养物、或可以包含嵌合AngI结合因子的其他来源获得的任何生物样品，取决于要实施的测定的类型。如指出的，生物样品包括体液，如精液、淋巴液、血清、血浆、尿液、滑液、脊髓液等。用于从哺乳动物获得组织活检和体液的方法在本领域是熟知的。

[0101] 如本文使用的，“对象”是脊椎动物，优选哺乳动物，更优选人类。

[0102] 如本文使用的，“同时”或“同时地”结合是指DAAP蛋白同时与两种或更多种指定蛋白(如果这些蛋白可以结合)的结合。

[0103] 如本文使用的，“治疗”是一种用于获得有益或期望临床结果的方式。对于本发明的目的而言，有益或期望的临床结果包括但不限于症状减轻、疾病程度消除、疾病稳定(即没有恶化)状态、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的减轻或缓和、以及减退(部分或全部)，无论是可检测到的或不可检测到的。“治疗”也可以是指相比于没有接受治疗的预期存活而延长了存活。“治疗”是指治疗性治疗和预防或防止性措施。需要治疗的对象是那些已经患有该病症以及要预防该病症的对象。相比于没有治疗的情形，“缓和”疾病是指疾病状态的程度和/或不期望的临床表现被减轻和/或进展的时间期被减慢或拉长。

[0104] 如本文使用的，“载体”、“多核苷酸载体”、“构建体”和“多核苷酸构建体”在本文中可互换使用。本发明的多核苷酸载体可以为多种形式中的任一种，包括但不限于RNA、DNA、封装在逆转录病毒包衣中的RNA、封装在腺病毒包衣中的DNA、包入另一病毒或病毒样形式(如单纯疱疹病毒，和腺病毒结构，如聚酰胺)中的DNA。

[0105] 炎性血管发生

[0106] 血管发生被定义为从预先存在的血管形成的新血管并且是健康和疾病中的重要过程。炎性疾病(如风湿性关节炎、脊椎关节病、银屑病、糖尿病视网膜病变、动脉粥样硬化)中的血管发生的永存可以有利于炎性细胞侵入病理区域。这些与永存血管发生相关的病症被认为是“炎性血管发生”疾病。多种血管发生递质，包括生长因子、细胞因子、基质金属蛋

白酶、基质大分子、细胞粘附受体、趋化因子和趋化因子受体,已经与炎性血管发生有关。在炎性组织中存在一种调节网络,其涉及血管发生的上调或下调(Lainer-Carrand Brahn Nature Clinical Practice Rheumatology 3,434-442,2007)。

[0107] 炎性血管发生的开始和扩增可能根据以下顺序发生:(1)不同刺激物(自身免疫反应,急性和慢性炎症,急性和慢性缺氧、肿瘤细胞增殖、坏死和凋亡)引起固有巨噬细胞和其他巨噬细胞激活,从而引起促炎性递质释放;(2)这些巨噬细胞来源因子激活内皮细胞从而产生粘附分子、趋化因子和细胞因子;(3)来自活化内皮的粘附分子和可溶因子募集并刺激循环的巨噬细胞,由此增加反应性细胞的量;(4)组织重建(重构)的活化巨噬细胞反过来又释放可溶性因子,该可溶性因子促进内皮细胞向外生长和迁移以形成新血管。巨噬细胞来源血管发生刺激物的效力必需达到“临界量”,因此,步骤(4)仅在另外的巨噬细胞募集之后才是可能的。

[0108] 生长因子和细胞因子

[0109] 可以制备期望被同时结合的任何生长因子和细胞因子,包括对疾病进展具有相似作用的那些因子。本发明涵盖的生长因子和细胞因子包括但不限于VEGF-A、EGF-B、VEGF-C、VEGF-D、PIGF、PDGF、血管生成素-1、血管生成素-2、血管生成素-3、血管生成素-4、HGF、EGF、FGF、TNF- α 、白介素-1 β 、白介素-6、白介素-2、TGF- β 、RANKL等。

[0110] 用于结合至生长因子和细胞因子的融合多肽候选物

[0111] 在实施本发明中,可以使用制备融合多肽的一种方法,涉及以下用于选择性地制备融合多肽的标准。用于对疾病进展具有相似效应的两种或更多种生长因子的不同受体的结合区域,可以连接在一起以同时阻断两个、三个或多个生长因子的作用。新型融合多肽候选物可以对它们的同时结合亲和力进行筛选并且在结合生长因子和细胞因子的任意组合上对中和针对生长因子和细胞因子活性进行测试。例如,VEGF-A和TNF- α ; VEGF-A和白介素-1 β ; VEGF-A和VEGF-C; VEGF-C和血管生成素; VEGF-C和TNF- α ; TNF- α 和血管生成素;以及VEGF-C和HGF。可以形成任何生长因子的任意组合并根据本发明加以使用。这些组合可以应用于三次或多次结合至三个或更多个生长因子,而限于本文所列出的双重阻断。

[0112] 核酸构建体

[0113] 还提供了一种表达载体,其包含如本文所描述的本发明的核酸分子,其中该核酸分子可操作地连接至表达控制序列。还提供了一种用于生产融合多肽的宿主-载体系统,其包含本发明的表达载体,该表达载体已被引入到适合该融合多肽表达的宿主细胞中。适合的宿主细胞可以是细菌细胞如大肠杆菌、酵母菌细胞如毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、昆虫细胞如草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)、或哺乳动物细胞如COS或CHO细胞。

[0114] 本发明还提供用于生产本发明的融合多肽的方法,通过在允许生产融合多肽的条件下生长本文所描述的宿主-载体系统的细胞,以及回收所生产的融合多肽。对于实现本发明有用的融合多肽可以通过在原核或真核表达系统中的表达进行制备。

[0115] 重组基因可以被表达并且多肽利用任意多种方法进行纯化。基因可以被亚克隆入细菌表达载体例如不限于pZErO中。

[0116] 融合多肽可以通过允许随后形成一种稳定的生物学活性蛋白的任何技术进行纯化。例如但不限于,这些因子可以从细胞作为可溶性蛋白或作为包涵体(从其中可以提取8M胍盐酸盐)回收并透析。为了进一步纯化这些因子,可以使用任意多种纯化方法,包括但不

限于传统的离子交换色谱、亲和色谱、不同糖色谱、疏水性相互作用色谱、反相色谱或凝胶过滤。

[0117] 当在本文中使用时,融合多肽包括功能性等价分子,其中在该序列内氨基酸残基被残基取代,导致一种沉默或保守改变。例如,该序列内的一个或多个氨基酸残基可以被类似极性的另一氨基酸(其充当功能等价物)所取代,导致一种沉默或保守变化。对于该序列内的氨基酸的取代可以选自该氨基酸所属种类的其他成员。例如,非极性(疏水性)氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和蛋氨酸。极性天然氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷酰胺。带正电荷(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。带负电荷(酸性)氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。也包括在本发明范围内的是它们的表现出相同或类似生物学活性的蛋白或片段或衍生物以及在翻译过程中或之后被差异修饰,例如通过糖基化、蛋白质水解切割、键接至抗体分子或其他细胞配体等的衍生物。

[0118] 表达本发明融合多肽的细胞通过例如转染、转导、电穿孔或微注射技术被遗传改造以生产所述融合多肽。

[0119] 另外,本发明考虑了标记形式的本文描述的融合多肽的用途。

[0120] 利用恰当转录/翻译控制信号和蛋白编码序列,可以使用本领域技术人员已知的用于将DNA片段插入到载体中的任何方法来构建编码本发明的融合多肽的表达载体。这些方法可以包括体外重组DNA和合成技术以及体内重组(遗传重组)。编码本发明融合多肽的核酸序列的表达可以通过第二核酸序列加以调控,以使该融合多肽在利用重组DNA分子转化的宿主中表达。例如,本文中描述的融合多肽的表达可以通过本领域已知的任何启动/增强元件加以控制。可以用来控制融合多肽的表达的启动子包括但不限于如在Squinto等(1991,Cell 65:1-20)中描述的长末端重复序列;SV40早期启动子区域(Bernoist and Chambon,1981,Nature 290:304-310);CMV启动子,M-MuLV 5'末端重复序列,包含在Rous肉瘤病毒的3'长末端重复序列中的启动子(Yamamoto,et al.,1980,Cell 22:787-797),疱疹胸苷激酶启动子(Wagner et al.,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.78:144-1445),金属硫蛋白基因的调控序列(Brinster et al.,1982,Nature 296:39-42);原核表达载体如 β -内酰胺酶启动子(Villa-Kamaroff,et al.,1978,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 75:3727-3731),或tac启动子(DeBoer,et al.,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.80:21-25),还参见“Useful proteins from recombinant bacteria”in Scientific American,1980,242:74-94;来自酵母菌或其他真菌的启动子元件如Gal 4启动子,ADH(醇脱氢酶)启动子,PGK(磷酸甘油激酶)启动子,碱性磷酸酶启动子,以及以下动物转录控制区域,其表现出组织特异性并且已在转基因动物中利用:弹性蛋白酶I基因控制区域,其在胰腺腺细胞中是有活性的(Swift et al.,1984,Cell 38:639-646;Ornitz et al.,1986,Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol.50:399-409;MacDonald,1987,Hepatology 7:425-515);胰岛素基因控制区域,其在胰腺 β 细胞中是活性的(Hanahan,1985,Nature 315:115-122),免疫球蛋白基因控制区域,其在淋巴细胞中是活性的(Grosschedl et al.,1984,Cell 38:647-658;Adames et al.,1985,Nature 318:533-538;Alexander et al.,1987,Mol.Cell.Biol.7:1436-1444),小鼠乳腺癌病毒控制区域,其在睾丸、乳房、淋巴细胞和肥大细胞中是活性的(Leder et al.,1986,Cell 45:485-495),白蛋白基因控制区域,其在肝中是活性的

(Pinkert et al., 1987, *Genes and Devel.* 1:268-276), α -胎蛋白基因控制区域, 其在肝中是活性的 (Krumlauf et al., 1985, *Mol. Cell. Biol.* 5:1639-1648; Hammer et al., 1987, *Science* 235:53-58); α 1-抗胰蛋白酶基因控制区域, 其在肝中是活性的 (Kelsey et al., 1987, *Genes and Devel.* 1:161-171), β -球蛋白基因控制区域, 其在髓系细胞中是活性的 (Mogram et al., 1985, *Nature* 315:338-340; Kollias et al., 1986, *Cell* 46:89-94); 髓鞘碱蛋白基因控制区域, 其在大脑的少突胶质细胞中是活性的 (Readhead et al., 1987, *Cell* 48:703-712); 肌球蛋白轻链-2基因控制区域, 其在骨骼肌中是活性的 (Shani, 1985, *Nature* 314:283-286), 以及促性腺激素释放激素基因控制区域, 其在下丘脑中是活性的 (Mason et al., 1986, *Science* 234:1372-1378)。

[0121] 因此, 根据本发明, 包含编码如本文所述的融合多肽的核酸的能够在细菌或真核宿主中被复制的表达载体, 并且尤其是改性DAAP, 被用来转染宿主, 由此指导这样的核酸的表达以生产融合多肽, 其然后可以以生物学活性形式回收。如本文使用的, 生物学活性形式包括能够结合至相关受体并引起分化功能和/或影响表达该受体的细胞表型的形式。这样的生物学活性形式例如将阻断VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3和Tie2受体的磷酸化作用, 或者抑制细胞DNA的合成。

[0122] 含有核酸插入物的表达载体可以通过但不限于至少三种主要方式加以鉴定: (a) DNA-DNA杂交; (b) 受否有“标记”基因功能; 以及 (c) 插入序列的表达。在第一种方式中, 插入表达载体中的外来核酸的存在可以利用探针 (包含与插入的核酸序列同源的序列) 通过DNA-DNA杂交进行检测。在第二种方式中, 重组载体/宿主系统可以基于是否有通过在该载体中插入外来核酸序列所引起的某些“标记”基因功能 (例如胸苷激酶活性, 对抗生素的抗性, 转化表型, 在杆状病毒中包涵体形成等) 而进行鉴定和选择。例如, 如果ef1核酸序列插入到载体的标记基因序列内, 则含有该插入物的重组体可以通过没有该标记基因功能而进行鉴定。在第三种方式中, 重组表达载体可以通过测定由该重组构建体表达的外来核酸产品而鉴定。这样的测定可以是基于例如感兴趣的核酸产品的物理或功能特性, 例如, 通过配体与受体或其部分 (该受体或其部分可以用例如可检测抗体或其部分标记) 结合或结合至针对感兴趣蛋白产生的抗体或其部分。

[0123] 本发明的融合多肽, 尤其是改性DAAP可以在宿主细胞中瞬时、组成性或永久地表达。

[0124] 本发明进一步提供用于开发融合多肽作为用于治疗患有涉及表达VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3或Tie2受体的细胞、组织或器官的病症的患者的治疗剂。这样的分子可以用于治疗人类或动物体的方法中, 或者用于诊断方法中。

[0125] 对于治疗这些或其他疾病或病症有用的有效剂量可以利用本领域技术人员已知的方法确定 (参见例如Fingl, et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Goodman and Gilman, eds. Macmillan Publishing Co, New York, pp.1-46 (1975))。对于根据本发明使用的药物组合物包括上面所述的连接至载体或靶向分子 (例如抗体、激素、生长因子等) 在药用液体、固体或半固体载体中的融合多肽和/或在体内给药之前并入到脂质体、微胶囊和控释制剂中。例如, 该药用组合物可以包含在含水溶液, 如无菌水、盐水、磷酸缓冲液或葡聚糖溶液中的融合多肽。可替换地, 活性剂可以包含在固体 (例如石蜡) 或半固体 (例如凝胶态) 制剂 (其可以植入需要这样的治疗的患者体内) 中。给药途径可以是本领域

已知的任何给药模式,包括但不限于静脉内、鞘内、皮下、子宫内、注入涉及的组织中、动脉内、鼻内、口服或通过植入的装置。

[0126] 给药可以导致本发明的活性剂在整个身体或局部区域分布。例如,在涉及神经系统的远端区域的一些情况下,药剂的静脉内或鞘内给药是期望的。在一些情况下,含有活性试剂的植入物可以置于病变区域中或病变区域附近。合适的植入物包括但不限于凝胶海绵、石蜡、喷雾剂或微粒基植入物。

[0127] 本发明还提供包含本文所述融合多肽的药物组合物。该组合物可以系统或局部给药。可以使用本领域已知的任何合适的给药模式,包括但不限于静脉内、鞘内、动脉内、鼻内、口服、皮下、腹膜内、或通过局部注射或手术植入物。还提供缓释制剂。

[0128] 基因疗法

[0129] 在一个特定实施方式中,通过基因疗法给予包含编码嵌合Ang1多肽的序列的核酸以防止血管渗漏,并且用于治疗血管发生。基因疗法是指通过给予对象一种表达或可表达的核酸而实施的疗法。在本发明的实施方式中,核酸产生它们编码的介导治疗效果的蛋白。

[0130] 根据本发明可以利用本领域可获得的用于基因疗法的任何方法。示例性方法描述如下。

[0131] 对于基因疗法的方法的概述,参见Goldspiel et al.,*ClinicalPharmacy* 12: 488-505 (1993), Wu and Wu,*Biotherapy* 3:87-95 (1991)、Tolstoshev, *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 32:573-596 (1993)、Mulligan,*Science* 260:926-932 (1993)、以及Morgan and Anderson,*Ann.Rev.Biochem.* 62:191-217 (1993); May, *TIBTECH* 11 (5):155-215 (1993)。可以使用的本领域通常已知的重组DNA技术的方法描述在 Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons, NY (1993); and Kriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990) 中。

[0132] 一个优选的方面,核酸序列可以编码嵌合-Ang1或Tie2多肽,其中该核酸序列是在合适宿主中表达该多肽的表达载体的部分。尤其是,这样的核酸序列具有可操作地连接至多肽编码区域的启动子,所述启动子是可诱导的或组成性的,并且可选地是组织特异性的。在另一特定实施方式中,使用核酸分子,其中多肽编码序列和任何其他期望序列在侧面与促进基因组中的期望部位的同源性重组的区域相接,由此提供用于编码核酸的抗体的染色体表达 (Koller and Smithies, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 86:8932-8935 (1989); Zijlstra et al., *Nature* 342:435-438 (1989))。

[0133] 这些核酸递送到患者体内可以是直接的,在这种情况下,患者直接暴露于这些核酸或携带核酸的载体,或者是间接的,在这种情况下,细胞首先利用核酸体外转化,然后植入患者。这两种方式分别被称为体内基因疗法或回体基因疗法。

[0134] 在一个特定实施方式中,核酸序列直接体内给予,在此该核酸序列表达而产生编码的产物。这可以通过本领域已知的多种方法中的任一种完成,例如通过将它们作为恰当核酸表达载体的一部分进行构建并给予它们,以使它们在细胞内,例如通过利用缺陷或弱化逆转录病毒或其他病毒载体,或者通过直接注射裸露DNA、或具有脂质或细胞表面受体或转染试剂的涂层,脂质体中的囊化、微粒、或微胶囊,或者通过将它们键接至已知进入核的肽而给予,通过将其键接至经历受体介导的胞吞作用的配体而进行给予(参见例如Wu and

Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)) (其可以用来靶向特异性表达该受体的细胞型) 等。在另一实施方式中, 可以形成核酸-配体复合体, 其中该配体包含基因融合病毒肽以破坏内涵体, 使该核酸可以避免溶酶体降解。在又一个实施方式中, 核酸可以通过靶向特定受体而在体内被靶向用于细胞特异性摄取和表达。可替换地, 核酸可以引入到细胞内并通过同源性重组整合到宿主细胞DNA中用于表达 (Koller and Smithies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935 (1989); Zijlstra et al., Nature 342:435-438 (1989))。

[0135] 在一个特定实施方式中, 使用含有编码所述多肽的核酸序列的病毒载体。将用于基因疗法的编码多肽的核酸序列克隆入一个或多个载体中, 这有利于基因递送到患者。逆转录病毒载体、腺病毒载体和腺相关病毒是可以使用的病毒载体的实例。逆转录病毒载体含有对病毒基因组正确包装和整合到宿主细胞DNA中所需的部分。

[0136] 腺病毒对于将基因递送至呼吸上皮是特别具有吸引力的媒介物, 因为它们自然感染呼吸上皮并引起中度疾病。用于腺病毒递送系统的其他靶标是肝、中枢神经系统、内皮细胞、和肌肉。腺病毒具有能够感染不分裂细胞的优点。另外, 腺相关病毒 (AAV) 也已提出用于基因疗法。

[0137] 基因疗法的另一种方式涉及通过诸如电穿孔、脂质体转染、磷酸钙介导的转染或病毒感染的方法将基因转移到组织培养的细胞中。通常, 转移的方法包括将可选择标记物转移到这些细胞中。然后将这些细胞进行选择以分离那些已摄取并且表达该被转移基因的细胞。这些细胞然后被递送至患者。

[0138] 在该实施方式中, 在体内给予所得到的重组细胞之前, 将核酸引入到细胞中。这样的引入可以通过本领域已知的任何方法实施, 包括但不限于转染、电穿孔、微注射、利用含有核酸序列的病毒或噬菌体载体的感染、细胞融合、染色体介导的基因转移、微细胞介导的基因转移、质体融合等。对于将外来基因引入到细胞中在本领域已知有大量技术并且可以依照本发明使用, 假定不会破坏受体细胞的必要生长和生理功能。该技术应该向该细胞提供核酸的稳定转移, 以使该核酸通过该细胞是可表达的并且优选地通过其细胞后代是可继承的和可表达的。

[0139] 其中可以引入用于基因疗法的核酸的细胞涵盖任何期望的可利用的细胞类型, 并且包括但不限于上皮细胞、内皮细胞、角蛋白细胞、成纤维细胞、肌肉细胞、肝细胞; 血细胞如T-淋巴细胞、B-淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨核细胞、粒细胞; 各种干细胞或祖细胞, 例如如从骨髓、脐带血、外周血、胎儿肝等获得那些造血干细胞或祖细胞。

[0140] 在一个优选实施方式中, 用于基因疗法的细胞与患者是自体同源的。

[0141] 在重组细胞被用于基因疗法的一个实施方式中, 编码多肽的核酸序列被引入到细胞中, 以使它们通过这些细胞或它们的后代是可表达的, 并且这些重组细胞然后体内给予用于治疗效果。在一个特定实施方式中, 使用干细胞或祖细胞。可以体外分离和保持的任何干细胞和/或祖细胞都可潜在地依照本发明的实施方式使用。

[0142] 在一个特定实施方式中, 待引入用于基因疗法目的的核酸包含可操作地连接至编码区域的可诱导启动子, 以使该核酸的表达通过控制是否存在合适的转录诱导子而是可控制的。

[0143] 治疗组合物

[0144] 在一个实施方式中,本发明涉及以血管渗漏或缺少血管形成为特征的各种疾病的治疗。在这种方式中,本发明的治疗化合物通过提供激活Tie2的化合物,可以给予患有或易于患有该疾病的人类患者。

[0145] 治疗化合物的配制在本领域通常是已知的并且可以方便地参考Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., USA。例如,可以给予从约0.05 μ g至约20mg/kg体重/天。剂量方案可以调整以提供最佳治疗效果。例如,可以每天多次分开给药或者剂量可以根据治疗情形的紧急程度指示而按比例减少。活性化合物可以以方便方式给予,如口服、静脉内(其中是水溶性的)、肌内、皮下、鼻内、真皮内或栓剂路径,或植入(例如使用缓释分子,通过腹膜内路径,或通过使用细胞例如体外敏化且选择性地转移至受体的单核细胞或树突细胞)。取决于给药路径,肽可能需要包覆一种材料以保护其不受酶、酸和可能使所述成分失活的其他天然条件的作用。

[0146] 例如,肽的低亲脂性使它们在胃肠道中被能够切割肽键的酶破坏以及在胃中被酸水解而破坏。为了通过不是肠胃外给药而给予肽,它们用一种材料涂覆或与一种材料一起给予,以防止其失活。例如,肽可以在佐剂中给予,与酶抑制剂一起给药或在脂质体中给予。本文考虑的佐剂包括间苯二酚、非离子型表面活性剂如聚氧乙烯油基醚和正十六烷基聚乙醚。酶抑制剂包括胰蛋白酶抑制剂,二异丙基氟磷酸(DEP)和特斯乐(trasyol)。脂质体包括水包油包水CGF乳液以及传统脂质体。

[0147] 活性化合物也可以肠胃外或腹膜内给药。分散液也可以在甘油液体聚乙二醇和它们的混合物以及油中制备。在通常储存和使用的条件下,这些制剂包含用来防止微生物生长的防腐剂。

[0148] 适合可注射用途的药物形式包括无菌含水溶液(其中是水溶性的)或分散液以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。在所有情况下,所述形式必须是无菌的并且必须存在达到易于注射程度的流体。它在制造和储存条件下必须是稳定的并且必须防止微生物如细菌和真菌的污染。载体可以是溶剂或含有例如水、乙醇、多醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)的分散介质、它们的合适混合物、以及植物油。合适的流动性可以例如通过使用涂层如卵磷脂、在分散液和利用表面活性剂的情况下通过保持所需的粒径而保持。微生物作用的防止可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂产生,例如三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞(theomersal)等。在许多情况下,优选包括等渗试剂,例如糖或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中使用延迟吸收例如单硬脂酸铝和明胶而产生。

[0149] 无菌可注射溶液通过在恰当溶剂中并入所需量的活性化合物与根据需要的上述各种其他成分,进行过滤无菌处理而制备。通常,分散液通过将各种无菌活性成分并入到无菌媒介物中而制备,该媒介物含有基础分散基质和来自上述列举的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,其产生活性成分和来自其之前无菌过滤的溶液的任何另外需要的成分的粉末。

[0150] 当肽如上所述被合适保护时,活性化合物可以口服给予,例如与惰性稀释剂或与可吸收的可食用载体一起,或者它可以包封在硬或软外壳明胶胶囊中,或者它可以压缩成片剂,或者它可以直接掺入到食用的食物中。对于口服治疗给药,活性化合物可以与赋形剂整合并以可消化片剂、含片、糖锭、胶囊、酞剂、悬浮液、糖浆、晶片纸等形式使用。这样的组

合物和制剂应含有至少1%重量的活性化合物。当然,组合物和制剂的百分数可以变化并且可以便利地在单位的约5%至约80%重量之间。在这样的治疗用的组合物中的活性化合物的量是使得可以获得合适的剂量。根据本发明优选的组合物或制剂被制备成使得口服剂量单位形式含有约0.1 μ g至2000mg的活性化合物。

[0151] 片剂、丸剂、胶囊等也可以含有以下成分:粘结剂如黄蓍树胶、洋槐树胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂如磷酸二钙;崩解剂如玉米淀粉、土豆淀粉、海藻酸等;润滑剂如硬脂酸镁;以及甜味剂如蔗糖、乳糖或糖精可以加入或增味剂如薄荷油、冬青树油、或樱桃风味剂。当剂量单位形式是胶囊时,除了上述类型的材料外,它可以含有液体载体。各种其他材料可以作为涂层存在或者用其他方式改变给药单位的物理形式。例如,片剂、丸剂或胶囊可以涂覆有虫胶、糖或二者均有。糖浆或酞剂可以含有活性化合物、作为甜味剂的蔗糖、作为防腐剂的 对羟苯甲酸甲酯和对羟苯甲酸丙酯、染料和增味剂如草莓或桔子口味。当然,在制备任何给药单位形式中使用的任何材料应是药物纯并且在采用的量上基本上是无毒的。另外,活性化合物可以并入到缓释制剂和配方中。

[0152] 递送系统

[0153] 各种递送系统是已知的并且可以用来给予本发明的化合物,例如囊化在脂质体、微粒、微胶囊中,能够表达该化合物的重组细胞、受体介导的胞吞、核酸作为逆转录病毒或其他载体的一部分构建等。引入的方法包括但不限于真皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外以及口服路径。这些化合物或组合物可以通过任何方便路径给予,例如通过灌注或推注、通过上皮或内衬粘膜(例如口腔粘膜、直肠和小肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物学活性剂一起给予。给药可以是全身性或局部的。另外,可以期望将本发明的药物化合物或组合物通过任何合适路径引入到中枢神经系统中,包括心室内和鞘内注射;心室内注射可以通过心室内导管实现,例如附着至贮器如奥玛耶贮器(Ommaya reservoir)。肺部给药也可以采用,例如通过利用吸入器或喷雾器,以及具有雾化剂的制剂。

[0154] 在一个特定实施方式中,可能期望将本发明的药物化合物或组合物给予到需要治疗的区域;这可以例如但不限于通过在手术期间的局部灌注、局部涂覆例如联合术后的伤口敷料,通过注射,借助于导管,借助于栓剂,或借助于植入,所述植入是多孔、无孔、或明胶状材料,包括膜,如硅橡胶膜或纤维。优选地,当给予蛋白,包括本发明的抗体或肽时,必须小心使用蛋白不吸收的材料。在另一个实施方式中,该化合物或组合物可以在囊泡中尤其是在脂质体中递送。在又一个实施方式中,该化合物或组合物可以在控释系统中递送。在一个实施方式中,可以使用泵。在另一个实施方式中,可以使用聚合物材料。在又一个实施方式中,控释系统可以置于治疗靶标附近,由此仅需要全身性给药剂量的一部分。

[0155] 标记

[0156] 合适的酶标记包括例如来自氧化酶类的那些,其通过与底物反应而催化生成过氧化氢。葡萄糖氧化酶是特别优选的,因为它具有良好的稳定性并且其底物(葡萄糖)易于获得。氧化酶标记的活性可以通过检测通过酶标记的抗体/底物反应形成的过氧化氢的浓度而测定。除了酶,其他合适的标记包括放射性同位素,如碘(^{125}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟(^{112}In)和锝($^{99\text{m}}\text{Tc}$),以及荧光标记,如荧光素和罗丹明、以及生物素。

[0157] 对于本发明的嵌合Ang1、Tie2或嵌合Ang1/Tie2复合物特异性抗体的其他合适标记在以下提供。合适酶标记的实例包括苹果酸脱氢酶、 δ -5-类固醇异构酶、酵母-醇脱氢酶、

α -甘油磷酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶、过氧化物酶、碱性磷酸酶、天冬酰胺酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶、核糖核酸酶、脲酶、过氧化氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、葡糖淀粉酶和乙酰胆碱酯酶。

[0158] 合适的放射性同位素标记的实例包括 ^3H 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{51}Cr 、 ^{57}To 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{75}Se 、 ^{152}Eu 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{217}Ci 、 ^{211}At 、 ^{212}Pb 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 等。 ^{111}In 是优选的同位素,其中使用体内成像,因其避免了 ^{125}I 或 ^{131}I 标记的多肽被肝去卤化的问题。另外,这种放射性核苷酸对于成像具有更有利的 γ 辐射能量。例如,偶联于具有1-(P-异硫氰基苄基)-DPTA的单克隆抗体的 ^{111}In 在非肿瘤组织中表现出很少的摄取,尤其肝,因此增强肿瘤定位的特异性。

[0159] 合适的非放射活性同位素标记的实例包括 ^{157}Gd 、 ^{55}Mn 、 ^{162}Dy 、 ^{52}Tr 和 ^{56}Fe 。

[0160] 合适荧光标记的实例包括 ^{152}Eu 标记、荧光素标记、异硫氰酸酯标记、罗丹明标记、藻红蛋白标记、藻青蛋白标记、藻蓝蛋白标记、邻苯二醛标记和荧光胺标记。

[0161] 合适毒素标记的实例包括假单胞菌毒素、白喉毒素、蓖麻蛋白和霍乱毒素。

[0162] 化学发光标记的实例包括苯巴比妥标记、异苯巴比妥标记(isoluminal label)、芳族吡啶酯标记、咪唑标记、吡啶盐标记、草酸酯标记、萤光素标记、萤光素酶标记和水母发光蛋白标记。

[0163] 核磁共振造影剂的实例包括重金属核如Gd、Mn和铁。也可以使用氙。对于EPR、PET或其他成像机制还存在其他造影剂,它们对于本领域技术人员来说是已知的。

[0164] 用于将上述标记结合至多肽的常用技术由Kennedy et al. (1976) Clin.Chim.Acta 70:1-31, and Schurs et al. (1977) Clin.Chim.Acta81:1-40提供。偶联技术包括戊二醛方法、高碘酸盐方法、二马来酰亚胺方法、间-马来酰苄基-N-羟基-琥珀酰亚胺酯方法,所有这些方法并入本文作为参考。

[0165] 实施例

[0166] 实施例1-实验方案

[0167] 编码由人类Tie2的Ig-样结构域1、人类Tie2的Ig-样结构域2、人类Tie2的三个EGF-样结构域、人类VEGFR1的Ig-样结构域和人类IgG的Fc结构域构成的四种不同组装融合蛋白(DAAP#1, DAAP#2, DAAP#3和DAAP#4) (图3A和3B)的基因构建体被克隆入pCMV-dhfr载体中(Hwang SJ, et al., Protein Express Purif. 2005; 39:175-183) (图4)。

[0168] 由于仅DAAP#1展示同时结合至VEGF-A和Ang2,所以进一步制备编码能够结合至VEGF-A和Ang2的DAAP#1基因构建体的7种修饰形式(DAAP#11, DAAP#12, DAAP#13, DAAP#13, DAAP#14, DAAP#15, DAAP#16和DAAP#17) (图5和图6)。

[0169] 所有DAAP重组蛋白根据制造商说明书(Qiagen, Inc., Hilden, Germany)利用Effectene脂质体转染通过在HEK293细胞(美国典型微生物培养保藏中心,弗吉尼亚州马纳萨斯)中的瞬时表达而获得。上清液收集自48-96小时后的转染细胞。重组蛋白利用蛋白-A琼脂亲和层析,随后酸洗脱和中和进行纯化。在纯化后,该蛋白利用Bradford实验定量并利用SDS-PAGE凝胶的考马斯蓝染色加以确认。对于蛋白质印迹分析,100ng每个样品与样品缓冲液混合,热变性10min,在10% SDS-PAGE上跑带,并在硝基纤维素膜上进行电印迹(electro-blotted)。该膜用在含有0.05% TritonX-100的Tris-缓冲液(50mM Tris, 100mM NaCl, pH 7.5)中的5%脱脂奶封闭,并利用辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170)进行蛋白质印迹,以检测Fc融合的蛋白。利用化学荧

光扫描仪 (LAS-1000, Fuji Film, Tokyo), 根据制造商方案 (Amersham Pharmacia Biotech) 通过化学发光检测使信号可视化 (图7)。

[0170] DAAP重组蛋白与VEGF-A或Ang2的结合能力通过酶联免疫吸附实验 (ELISA) 进行检测 (图8和图9)。在100 μ l磷酸缓冲盐水 (PBS) 中的200ng VEGF-A₁₆₅ (从CHO细胞产生) (下文称为VEGF-A) 或Ang2 (从CHO细胞产生) 等分到96孔板中并在4 $^{\circ}$ C孵育过夜。在用每400 μ l PBS清洗板3次之后, 利用封闭溶液 (在100 μ l PBS中的1%牛血清白蛋白 (BSA)) 在37 $^{\circ}$ C实施封闭2小时。将在100 μ l封闭液中的100ng每个DAAP蛋白加入到该板中, 并在37 $^{\circ}$ C孵育2小时。加入相同量的VEGF-Trap (Holash, J. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 99:11393-11398)、Tie2-Fc或Fc重组蛋白并以相同方式作为阳性和阴性对照孵育。在每次用400 μ l PBS清洗板3次之后, 将50 μ l辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的羊抗-人类Fc抗体 (1:10000稀释; Sigma-Aldrich A0170) 加入到该板中, 并在37 $^{\circ}$ C孵育2小时。在用每400 μ l PBS清洗板3次之后, 将50 μ l 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 溶液 (Sigma-Aldrich T0440) 加入到该板中, 并在室温下孵育10min。通过加入50 μ l的1M HCl使反应终止并且反应颜色通过ELISA读数器 (BioRad M680) 在光学密度415nm处进行分析。

[0171] 根据之前描述的方法 (Hwang SJ, et al., Protein Express Purif. 2005;39:175-183) 建立表达VEGF-Trap的重组中华仓鼠卵巢 (rCHO) 细胞 (CHO-VT1)。简而言之, CHO-VT1细胞通过含有二氢叶酸还原酶 (dhfr) 和VEGF-trap (Holash J. et al., PNAS99:11393-11398, 2002) 基因的载体转染到dhfr缺陷型CHO细胞中而建立 (CRL-9096, 美国典型微生物培养收藏中心, 弗吉尼亚州马纳萨斯)。这之后是dhfr/甲胺喋呤 (MTX) 介导的基因扩增。分泌VEGF-trap的三种稳定rCHO细胞利用按顺序递增浓度的MTX (0.02-1.0 μ M, Sigma-Aldrich) 进行选择。在它们之中, 选择表达最高量的VEGF-trap的一个细胞系并称为“CHO-VT1”。CHO-VT1细胞在填加了5%透析胎牛血清 (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) 和1 μ M MTX (Sigma-Aldrich) 的Iscove改性杜氏培养基 (Iscove's modified Dulbecco's medium) 中生长和维持。对于重组VEGF-trap蛋白生产, CHO-VT1细胞在37 $^{\circ}$ C下, 在加湿的5% CO₂中, 在110rpm的轨道摇床 (Vision, Bucheon, Korea) 上, 在容纳由100ml培养基的250ml锥形瓶中以2 \times 10⁵个细胞/mL进行接种。在指定天数之后, 含有VEGF-trap重组蛋白的培养基通过利用蛋白-A琼脂亲和层析、酸洗脱和随后的中和加以纯化。在纯化之后, 蛋白利用Bradford测定进行定量并利用SDS-PAGE凝胶的考马斯蓝染色加以确认。分析表明, 收集了大约10mg/L的VEGF-trap。

[0172] 实施例2

[0173] ELISA分析表明, DAAP#1、DAAP#14、DAAP#16和DAAP#17能够结合VEGF-A和Ang2 (图10)。DAAP#2、DAAP#3、DAAP#4、DAAP#11和Fc不能结合至VEGF-A和Ang2 (图10)。DAAP#12和VEGF-trap能够优先并选择性地结合至VEGF-A, 而DAAP#13和Tie2-Fc能够优先和选择性第结合至VEGF-A (图10)。因为DAAP#1和DAAP#14与VEGF-A和/或Ang2的结合能力与VEGF-trap或Tie2-Fc的相当, 所以DAAP#1和DAAP#14可能是用于作为治疗蛋白进一步开发的最强候选物。

[0174] 为了验证DAAP重组蛋白是否能够同时地结合至VEGF和Ang2, 将100ng每种DAAP重组蛋白 (DAAP#1, DAAP#12, DAAP#13, DAAP#14, DAAP#15, DAAP#16和DAAP#17), 在它们加入到用于上述ELISA的用VEGF-A或Ang2涂覆的板之前, 在37 $^{\circ}$ C、用在100 μ l封闭液中的系列量

(0ng, 10ng, 100ng, 1,000ng)的Ang2或VEGF-A预先孵育2小时。作为阳性和阴性对照,相同量的VEGF-trap、Tie2-Fc或Fc重组蛋白以相同方式利用系列量的Ang2或VEGF-A预先孵育。Ang2或VEGF-A的预先孵育占据DAAP蛋白与Ang2或VEGF-A的结合位点。在Ang2预先孵育中,DAAP#1、DAAP#12、DAAP#14、DAAP#16、DAAP#17和VEGF-trap能够结合VEGF(图11A)。相反,在VEGF预先孵育中,DAAP#1、DAAP#13、DAAP#14、DAAP#16、DAAP#17和Tie2-Fc能够结合Ang2(图11B)。因此,DAAP#1、DAAP#14、DAAP#16和DAAP#17能够同时地结合VEGF-A和Ang2(图12)。

[0175] 对于DAAP#1、DAAP#14、VEGF-trap和Tie2-Fc与VEGF-A和Ang2的结合能力的进一步分析,实施体外结合测定(图13)。500ng每个DAAP#1、DAAP#14、VEGF-trap或Tie2-Fc在4℃,用在500μl含1.0%Nonidet P-40的Tris-缓冲溶液(50mM Tris 100mM NaCl, pH p.7.5)中的100ng FLAG-标记的VEGF-A、FLAG-标记的Ang2、或VEGF-A和Ang2孵育2小时。然后,加入20μl蛋白-A琼脂珠(Oncogene)并在4℃再孵育2小时。蛋白-A偶联样品用1ml含1.0%Nonidet P-40的Tris-缓冲溶液清洗3次。样品用样品缓冲液洗脱,并热变性。样品通过10%SDS-PAGE分离,并在硝基纤维素膜上电印迹。膜用在含有0.05% TritonX-100的Tris-缓冲液(50mM Tris, 100mM NaCl, pH 7.5)中的5%脱脂奶封闭,并利用辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A8592)进行蛋白质印迹,以检测结合的FLAG标记的VEGF-A和FLAG标记的Ang2。利用化学荧光扫描仪(LAS-1000, Fuji Film, Tokyo),根据制造商方案(Amersham Pharmacia Biotech)通过化学发光检测使信号可视化。体外结合表明,DAAP#1和DAAP#14能够同时结合至VEGF-A和Ang2(图12、图13A和13B)。VEGF-trap能够结合至VEGF-A但不能结合至Ang2(图13C),而Tie2-Fc表现出与Ang2的结合但没有与VEGF-A的结合(图13D)。

[0176] 实施例3

[0177] 基于上面的发现,对DAAP#1进一步考察用作治疗蛋白。表达DAAP#1的重组中华仓鼠卵巢(rCHO)细胞(CHO-DAAP#1)依照之前描述的方法建立(Hwang SJ, et al., Protein Express Purif. 2005;39:175-183)。简而言之,CHO-DAAP#1细胞通过将含有二氢叶酸还原酶(dhfr)和DAAP#1基因构建体的载体转染到dhfr缺陷型CHO细胞(CRL-9096,美国典型微生物培养保藏中心,弗吉尼亚州马纳萨斯)中而建立。这之后是dhfr/甲胺喋呤(MTX)介导的基因扩增。分泌DAAP#1的稳定rCHO细胞利用按顺序扩增浓度的MTX(0.02-1.0μM, Sigma-Aldrich)进行选择。对于重组DAAP#1蛋白生产,CHO-DAAP#1细胞在37℃下,在加湿5%CO₂孵箱中,在110rpm的轨道摇床(Vision, Bucheon, Korea)上,在容纳有100ml 培养基的250ml锥形瓶中以2x10⁵个细胞/mL进行接种。在指定天数之后,含有DAAP#1重组蛋白的培养基通过利用蛋白-A琼脂亲和层析、酸洗脱和随后的中和加以纯化。在纯化之后,DAAP#1的尺寸和二聚状态通过SDS-PAGE和考马斯蓝染色在还原和非还原条件下进行检测(图14)。分析表明DAAP#1是二聚体蛋白(~150kDa)(图14)。

[0178] 实施例4

[0179] Fc、DAAP#1、VEGF-trap和Fc蛋白与VEGF-A和Ang2的结合能力利用ELISA方法进行检测。对于VEGF-A结合,将96孔板每个孔用在100μl PBS中的200ng VEGF-A涂覆过夜。在用每次400μl PBS清洗板3次之后,该板用在100μl PBS中的1%牛血清白蛋白在37℃封闭2小时。在3次PBS清洗之后,不同的封闭液中DAAP#1、Fc、VEGF-trap或Tie2-Fc蛋白的量(0、0.001、0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3nM)在37℃封闭2小时。在3次PBS清洗之后,将在封闭

液中的50 μ l辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的羊抗-人类Fc抗体 (1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170) 在37 $^{\circ}$ C封闭2小时。在3次PBS清洗之后,向每个孔加入50 μ l TMB溶液 (Sigma-Aldrich T0440),并将该板在室温下孵育10min。通过加入50 μ l的1M HCl使反应终止并且反应的颜色通过ELISA读数器 (BioRad M680) 在光学密度415nm处进行分析。对于Ang2结合,Ang2以上述相同方式涂覆并且DAAP#1、VEGF-trap和Fc蛋白与Ang2的结合能力也以上述相同方式进行检测。

[0180] 对于结合能力的这些测定表明,DAAP#1与VEGF-A结合的Kd为 \sim 5pM并且VEGF-trap与VEGF-A的结合Kd为 \sim 1pM,而DAAP#1与Ang2结合的Kd为 \sim 10nM并且Tie2-Fc与Ang2结合的Kd为 \sim 50nM (图15)。VEGF-trap与Ang2没有结合,Tie2-Fc与VEGF-A没有结合 (图15)。

[0181] 实施例5

[0182] 由于DAAP#1含有与VEGF-A和Ang2二者的结合位点,所以其对VEGF-A或Ang2的结合活性当DAAP#1的一个位点首先被Ang2或VEGF-A占据或预先占据时可能受其构象变化的影响。

[0183] 为了测试DAAP#1的VEGF-A结合位点被VEGF-A预先占据是否影响Ang2结合能力,将重组DAAP#1蛋白用增量 (0, 10, 30, 100, 300, 1000ng/ μ l) 的VEGF-A预先孵育,然后实施上述的结合Ang2的ELISA测定。相反地,为了测试DAAP#1的Ang2结合位点当被Ang2预先占据时是否影响VEGF-A的结合能力,将重组DAAP#1蛋白用增量 (0, 10, 30, 100, 300, 1000ng/ μ l) 的Ang2预先孵育,然后实施上述的结合VEGF的ELISA测定。作为对照,将重组VEGF-trap用增量 (0, 10, 30, 100, 300, 1000ng/ μ l) 的Ang2预先孵育,然后实施上述结合VEGF的ELISA测定。作为对照,将重组Tie2-Fc蛋白用增量 (0, 10, 30, 100, 300, 1000ng/ μ l) 的VEGF-A预先孵育,然后实施上述结合Ang2的ELISA测定。

[0184] 有趣地是,Ang2对DAAP#1的预先占据增强了DAAP#1与VEGF-A的结合活性 (图16A)。另外,VEGF-A对DAAP#1的预先占据增强了DAAP#1与Ang2的结合活性 (图16B)。相反,VEGF-A对DAAP#1的预先占据抑制VEGF-A与DAAP#1的进一步结合,并且Ang2对DAAP#1的预先占据抑制Ang2与DAAP#1的进一步结合 (图16)。三次重复实验表明类似的结果。这些数据表明,DAAP#1能够同时地结合VEGF-A和Ang2。

[0185] 实施例6

[0186] 为了进一步分析DAAP#1的结合能力,在多种VEGF和血管生成素蛋白 (n=3) 存在下实施通过下拉测定 (pull-down assay) 的体外结合 (图17)。每200ng FLAG标记的蛋白 (人类VEGF-A165, 小鼠VEGF-A164, 人类VEGF-A189, 人类VEGF-A121, 人类VEGF-C, VEGF-E, 人类Ang2, 小鼠Ang2, 人类Ang1, 人类Ang4和小鼠Angpt14) 在4 $^{\circ}$ C, 用在500 μ l含有1.0%Nonidet P-40的Tris-缓冲液 (50mM Tris, 100mM NaCl, pH 7.5) 中的500ng DAAP#1、VEGF-trap和Tie2-Fc孵育2h。然后,加入20 μ l蛋白-A琼脂珠 (Oncogene) 并4 $^{\circ}$ C孵育另外2h。蛋白-A偶联的样品用1ml含1.0%Nonidet P-40的Tris-缓冲液清洗3次,并热变性。样品通过10%SDS-PAGE分离,并在硝基纤维素膜上电印迹。该膜用在含有0.05%TritonX-100的Tris-缓冲液中的5%脱脂奶封闭,并利用辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的小鼠抗-FLAG M2抗体 (1:10000稀释;Sigma-Aldrich A8592) 进行蛋白质印迹。利用化学荧光扫描仪 (LAS-1000, Fuji Film, Tokyo), 根据制造商方案 (Amersham Pharmacia Biotech) 通过化学发光检测使信号可视化。在剥离后,该膜利用抗-Fc辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的羊抗-人类Fc抗体 (1:10000稀释;

Sigma-Aldrich A0170) 再次检测DAAP、VEGF-trap和Tie2-Fc。DAAP#1能够结合人类VEGF-A165、小鼠VEGF-A 164、人类VEGF-A 189、人类VEGF-A 121、人类Ang2、小鼠Ang2、人类Ang1和人类Ang4,而VEGF-trap能够结合人类VEGF-A165、小鼠VEGF-A 164、人类VEGF-A 189和人类VEGF-A 121并且Tie2-Fc能够结合人类Ang2、小鼠Ang2、人类Ang1和人类Ang4(图17)。

[0187] 图18中示出了关于重组DAAP蛋白、含有Fc蛋白的VEGFR1的Ig-样结构域2[VEGFR1(2)-Fc]、含有Fc蛋白的VEGFR1的Ig-样结构域2和3[VEGFR1(2-3)-Fc]、VEGF-trap和Tie2-Fc的理论pI值。

[0188] 实施例7

[0189] 一般地,更高的蛋白pI值与更高的胞外基质(ECM)结合相关。更高的蛋白ECM结合还与更低的药代动力学性能相关。将ECM涂覆的96孔板(Becton Dickinson Cat.No.354607)利用封闭液(在PBS中的1%BSA)在37℃孵育2小时,利用每次400μl PBS清洗3次。然后将在封闭液中的改变量(0、0.1、0.3、1.0、3.3、10、33、100ng)的每种DAAP重组蛋白加入到板中,并在37℃孵育2小时(图19)。在用每400μl PBS清洗3次之后,将50μl辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170)加入到板中,并在37℃孵育2小时。在用每400μl PBS清洗板3次之后,将50μl TMB溶液(Sigma-Aldrich T0440)加入板中,并将该板在室温下孵育10min。通过加入50μl的1M HCl使反应终止并且反应的颜色通过ELISA读数器(BioRad M680)在光学密度415nm处进行分析(图19)。

[0190] ECM结合测定表明,与ECM结合分别为,DAAP#1、DAAP#14、DAAP#15和Tie2-Fc非常低,DAAP#17和VEGF-trap相对较低,DAAP#16中等而VEGFR1(2-3)-Fc非常高(图20)。因此,DAAP#1、DAAP#14、DAAP#15和Tie2-Fc可以具有相对较高的药代动力学性能。

[0191] ECM结合测定进一步利用更高浓度的DAAP#1、VEGF-trap和Tie2-Fc蛋白来实施。ECM涂覆的96孔板(Becton Dickinson Cat.No.354607)利用100μl封闭液(在PBS中的2%BSA)在37℃孵育2小时。板利用每次400μl PBS清洗3次。然后将在封闭液中的不同量(0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30nM)的每个DAAP#1、VEGF-trap、Tie2-Fc重组蛋白加入到板中,并在37℃孵育2小时。在用PBS清洗3次之后,将50μl辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170)加入到板中,并在37℃孵育2小时。在用PBS清洗3次之后,将在封闭液中的50μl辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170)在37℃孵育2小时。在3次PBS清洗之后,将50μl TMB溶液(Sigma-Aldrich T0440)加入板中,并将该板在室温下孵育10min。通过加入50μl的1M HCl使反应终止并且反应的颜色通过ELISA读数器(BioRad M680)在光学密度415nm处进行分析(图19)。该ECM结合测定(n=4)表明,与ECM结合分别为DAAP#1低、Tie2-Fc非常低而VEGF-trap相对较高(图21)。

[0192] 实施例8

[0193] 实施标准药代动力学分析(n=3)。将100μg的Fc、DAAP#1、VEGF-trap或Tie2-Fc重组蛋白皮下注入到8周龄雄性C57BL/6小鼠(~25g体重),然后从尾部静脉在1、2、4、8、12、24、48、96和144小时提取血样(图22)。DAAP#1和VEGF-trap的血清水平通过VEGF-A结合ELISA方法进行检测,而Tie2-Fc通过Ang2结合ELISA方法进行检测。Fc蛋白的血清水平通过利用针对人类IgG1的小鼠单克隆抗体(克隆体No.2C11,Abcam AB1927)作为捕获抗体并且辣根过氧化物酶(HRP)偶联的羊抗-人类Fc抗体(1:10000稀释;Sigma-Aldrich A0170)作为

检测抗体,通过夹心ELISA方法进行检测。Fc、DAAP#1、VEGF-trap和Tie2-Fc的半衰期(T_{1/2})为~200h、~48h、~24h和~12h(图23)。因此,在皮下给药后,DAAP#1在血液中消失比VEGF-trap在血液中消失更慢(图23)。

[0194] 实施例9

[0195] 为了考察DAAP#1对肿瘤生长的作用,将 1×10^6 的绿色荧光蛋白标记的刘易斯肺癌(GFP-LLC)细胞皮下植入到8周龄雄性C57BL/6小鼠的切开的右侧腹区。在植入之后5天,小鼠分成5组进行治疗:第1组(n=4),PBS(100 μ l);第2组(n=4),Fc(25mg/kg);第3组(n=4),DAAP#1(25mg/kg);第4组(n=4),VEGF-Trap(25mg/kg);第5组(n=4),Tie2-Fc(25mg/kg)。这些试剂以每隔一天皮下注射给予(图24)。生长的肿瘤尺寸利用公式宽x长x深x0.5通过侧径器每6天检测一次。

[0196] 相比于对照PBS治疗,DAAP#1和VEGF-Trap产生LLC肿瘤生长的显著抑制,而Fc和Tie2-Fc没有产生LLC肿瘤生长的显著抑制(图25)。DAAP#1对肿瘤生长的抑制比VEGF-Trap更显著(图25)。因此,肿瘤生长抑制的效力为DAAP#1>VEGF-trap>Tie2-Fc>Fc>PBS。

[0197] 实施例10

[0198] 为了考察肿瘤血管的变化,在指定天数,将植入有GFP-LLC细胞的小鼠通过肌肉注射麻醉剂组合(80mg/kg氯胺酮和12mg/kg赛拉嗪)进行麻醉,并通过全身性血管灌注在PBS中的1%低聚甲醛固定肿瘤,移出,用组织冷冻介质(Leica,Nussioch,Germany)包埋并以10 μ m厚度冷冻切片。在室温下用在PBST(在PBS中的0.3%Triton X-100)中的5%驴血清封闭1h之后,切片组织用抗小鼠PECAM-1抗体,仓鼠克隆2H8,1:1000(Chemicon International, Temecula,CA)孵育。在PBST中多次清洗之后,样品在室温下用Cy3-偶联的抗-仓鼠IgG抗体,1:1000(Jackson ImmunoResearch)孵育。使荧光信号可视化,并利用Zeiss倒置显微镜、Zeiss ApoTome显微镜或Zeiss LSM 510共焦显微镜(装配有氩气和氦-氖激光器(Carl Zeiss)获得数字图像。肿瘤组织切片中血管的形态和密度的检测利用ImageJ软件中的图形分析(<http://rsb.info.nih.gov/ij>)或利用与单色电荷耦合装置(CCD)相机和图像分析软件相接的ZeissApoTome显微镜(AxioVision,Zeiss),以PECAM-1免疫染色实施。

[0199] 在GFP-LLC细胞植入之后的29天,在用PBS治疗的LLC肿瘤中形成更高密度和良好连接的血管(图26)。肿瘤血管的减少在通过VEGF-诱捕蛋白的治疗中可以观察到(图26),而肿瘤血管的减少和窄化通过DAAP#1的治疗可以观察到(图26)。

[0200] 实施例11

[0201] 视网膜中伴随血管渗漏和水肿的异常眼部血管生成是糖尿病视网膜病变和老年性黄斑退化症的一个主要原因。具有异常眼部血管生成的小鼠模型可以通过使新生小鼠暴露于含氧量高的环境而制得,即“未成熟的视网膜(ROP)或氧诱导视网膜病变”(图27)。氧诱导视网膜病变引入到C57/BL6野生型小鼠中。新生小鼠和它们的护理母鼠在出生后第7天(P7)和P12之间暴露于75%氧气(使用PROOX 110小室氧控制器),在中央视网膜的毛细血管床中产生血管闭合和停止血管形成(图27)。这些动物在P12返回到含氧量正常的室内空气条件使产生局部缺血和含氧量低的中央视网膜,并导致视网膜前新生血管形成(图27)。在每一组中{PBS对照(n=4),Fc(n=4),Tie2-Fc(n=4),VEGF-trap(n=4),DAAP(n=4)},P12动物每隔一天直至P16接受皮下注射每种蛋白(25mg/kg)并在P17杀死(图27)。

[0202] 然后,制作视网膜的整体标本和对血管的免疫组织化学染色实施如下。从小鼠立

即摘除眼球并在4%低聚甲醛(PFA)中在4℃固定2小时。视网膜在PBS中分离,并在25℃用含有5%驴血清的0.3%Triton X-100(Jackson Immuno Research)封闭1小时,并用PECAM-1抗体,仓鼠克隆体2H8,1:1000稀释(Chemicon International, Temecula, CA)在4℃染色过夜。在TBS-T中清洗6次之后,样品在25℃用Cy3-偶联的抗-仓鼠IgG抗体1:1000稀释液孵育4h。在继续在TBS-T中清洗6次之后,视网膜的整体标本固定到Superfrost/Plus显微镜载玻片(12-550-15, Fisher)上,其中光接收器面向下并埋入VECTASHIELD(媒介)试剂中。

[0203] 用PECAM-1染色的P17视网膜血管对每一组表现出视网膜的整个血管分布(图28A)。在高放大视盘区域中,在PBS、Fc和Tie2-Fc治疗组中检测到生长的视网膜微静脉数量增多,而生长的视网膜微静脉的数量在DAAP#1和VEGF-Trap治疗组中显著减少(图28B)。在视网膜血管中的血管微小丛的数量(视网膜病变的典型特征)在PBS、Fc和Tie2-Fc治疗组中高度增多,而在视网膜微静脉中的血管微小丛的数量在DAAP#1和VEGF-trap治疗组中显著减少(图28C)。血管密度和视网膜边缘迂曲度在PBS、Fc和Tie2-Fc治疗组中高度增大,而这些在DAAP#1和VEGF-trap治疗组中显著减少(图28D)。定量分析表明,视网膜血管中血管微小丛的ROP诱导形成和增加的边缘视网膜血管密度被DAAP#1和VEGF-trap治疗有效地抑制(图28E和28F)。这些之中,DAAP#1的效力高于VEGF-trap。这些数据表明,DAAP#1比VEGF-trap用于治疗患有糖尿病视网膜病变和老年性黄斑退化症的患者更有效。

[0204] 炎性血管形成在风湿性关节炎中是一个标志和关键起作用的因素(Lainer-Carr and Brahn, 2007, Nature Clinical Practice Rheumatology 3:434-442)。因此,如果我们抑制炎性血管形成,我们可以减少RA的进展和关节损害。对于作为RA的一个实验小鼠模型的胶原诱导关节炎(CIA)的诱导,将雄性DBA/1J小鼠在尾巴基部利用在等体积的弗氏完全佐剂中乳化的II型牛胶原在真皮内免疫接种(图29A)。三周后,这些小鼠以相同方式加强(图29A)。具有CIA的小鼠通过皮下注射对照缓冲液(n=5)、Fc-蛋白(25mg/kg)(n=5)、VEGF-Trap(25mg/kg)(n=6)或DAAP#1(25mg/kg)(n=6),每周两次持续18天进行治疗(图29A)。疾病严重程度利用以下系统对每只爪进行临床评分:0级,没有肿胀;1级,轻微肿胀和红斑;2级,显著水肿;3级,关节硬化(图29B)。放射照相分析利用改进的乳房摄影成像实施并且评分在膝、踝和跗跖关节中确定(图30)。在开始治疗后18天,还实施组织病理分析并确定评分(图31)。总之,VEGF-Trap和DAAP#1减轻临床评分以及放射学和组织病理学异常,而对照缓冲液和Fc蛋白在RA的疾病严重度和关节损害方面没有产生任何减轻作用。然而,明显地,DAAP#1在减小RA的放射学和组织病理学异常的临床评分和进展方面优于VEGF-Trap的作用。因此,DAAP#1可以是用于治疗RA患者的有效治疗剂。

[0205] 本发明不限于本文中描述的具体实施方式的范围。确实,除了本文中描述的那些之外,对于本领域技术人员来说,根据前述描述和附图,各种变形是显而易见的。这样的变形也落入所附权利要求的范围内。以下实施例以举例说明本发明的方式提供,不用于限制。

[0206] 表1

[0207] DAAP#1

[0208] 10 20 30 40 50 60

[0209] * * * * *

[0210] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG

[0211] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC

[0212] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val

[0213] 1 _____ 5 _____ hTIE2 信号序列 _____ 15 _____ 20

[0214] _____ 70 _____ 80 _____ 90 _____ 100 _____ 110 _____ 120

[0215] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0216] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA

[0217] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT

[0218] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr

[0219] 21 22 23 _____ 25 _____ hTIE2 结构域1 _____ 35 _____ 40

[0220] _____ 130 _____ 140 _____ 150 _____ 160 _____ 170 _____ 180

[0221] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0222] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC

[0223] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GGG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG

[0224] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp

[0225] 41 _____ 45 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 55 _____ 60

[0226] _____ 190 _____ 200 _____ 210 _____ 220 _____ 230 _____ 240

[0227] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0228] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA

[0229] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT

[0230] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg

[0231] 61 _____ 65 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 75 _____ 80

[0232] _____ 250 _____ 260 _____ 270 _____ 280 _____ 290 _____ 300

[0233] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0234] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT

[0235] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA

[0236] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr

[0237] 81 _____ 85 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 95 _____ 100

[0238] _____ 310 _____ 320 _____ 330 _____ 340 _____ 350 _____ 360

[0239] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0240] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA

[0241] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT

[0242] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln

[0243] 101 _____ 105 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 115 _____ 120

[0244] _____ 370 _____ 380 _____ 390 _____ 400 _____ 410 _____ 420

[0245] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0246] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC

[0247] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG

[0248] Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn

[0249] 121 122 _____ 125 _____ hTIE2 IG 结构域2 _____ 135 _____ 140

[0250] _____ 430 _____ 440 _____ 450 _____ 460 _____ 470 _____ 480

[0251] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *

[0252] ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC

[0253] TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG

[0254] Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser

[0255] 141 _____ 145 _____ hTIE2 IG 结构域2 _____ 155 _____ 160

[0256]	490	500	510	520	530	540
[0257]	*	*	*	*	*	*
[0258]	TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT					
[0259]	AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA					
[0260]	Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His					
[0261]	161_____165_____hTIE2 IG 结构域2_____175_____180					
[0262]	550	560	570	580	590	600
[0263]	*	*	*	*	*	*
[0264]	GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC					
[0265]	CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG					
[0266]	Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr					
[0267]	181_____185_____hTIE2 IG 结构域2_____195_____200					
[0268]	610	620	630	640	650	660
[0269]	*	*	*	*	*	*
[0270]	TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC					
[0271]	AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG					
[0272]	Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys					
[0273]	201_____205_____hTIE2 IG 结构域2_____213 21_215_____220					
[0274]	670	680	690	700	710	720
[0275]	*	*	*	*	*	*
[0276]	AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC					
[0277]	TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG					
[0278]	Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys					
[0279]	221_____225_____hTIE2 EGF 样结构域1_____235_____240					
[0280]	730	740	750	760	770	780
[0281]	*	*	*	*	*	*
[0282]	ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT					
[0283]	TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA					
[0284]	Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe					
[0285]	241_____245_____hTIE2 EGF 样结构域1_____253 254_255_____260					
[0286]	790	800	810	820	830	840
[0287]	*	*	*	*	*	*
[0288]	GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT					
[0289]	CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA					
[0290]	Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys					
[0291]	261_____265_____hTIE2 EGF 样结构域2_____275_____280					
[0292]	850	860	870	880	890	900
[0293]	*	*	*	*	*	*
[0294]	CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA					
[0295]	GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT					
[0296]	Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu					
[0297]	281_____285_____hTIE2 EGF 样结构域2_____295_____300					
[0298]	910	920	930	940	950	960

[0299]	*	*	*	*	*	*
[0300]	GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT GGG					
[0301]	CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC					
[0302]	Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly					
[0303]	301	305	hTIE2 EGF 样结构域3	315	320	
[0304]	970	980	990	1000	1010	1020
[0305]	*	*	*	*	*	*
[0306]	GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG TGT					
[0307]	CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC ACA					
[0308]	Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln Cys					
[0309]	321	325	hTIE2 EGF 样结构域3	335	340	
[0310]	1030	1040	1050	1060	1070	1080
[0311]	*	*	*	*	*	*
[0312]	GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC					
[0313]	CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG					
[0314]	Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro					
[0315]	341	345	348 349	hVEGFR1 IG 结构域2	360	
[0316]	1090	1100	1110	1120	1130	1140
[0317]	*	*	*	*	*	*
[0318]	GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT					
[0319]	CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA					
[0320]	Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro					
[0321]	361	365	hVEGFR1 IG 结构域2	375	380	
[0322]	1150	1160	1170	1180	1190	1200
[0323]	*	*	*	*	*	*
[0324]	AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC					
[0325]	TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG					
[0326]	Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg					
[0327]	381	385	hVEGFR1 IG 结构域2	395	400	
[0328]	1210	1220	1230	1240	1250	1260
[0329]	*	*	*	*	*	*
[0330]	ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG					
[0331]	TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC					
[0332]	Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly					
[0333]	401	405	hVEGFR1 IG 结构域2	415	420	
[0334]	1270	1280	1290	1300	1310	1320
[0335]	*	*	*	*	*	*
[0336]	CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT					
[0337]	GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA					
[0338]	Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His					
[0339]	421	425	hVEGFR1 IG 结构域2	435	440	
[0340]	1330	1340	1350	1360	1370	1380
[0341]	*	*	*	*	*	*

[0342] CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG
 [0343] GCT GTT GA GCTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC
 [0344] Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 [0345] 441_442_443_____445_____hFC 结构域_____455_____460
 [0346] 1390 1400 1410 1420 1430 1440
 [0347] * * * * * *
 [0348] GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC
 [0349] CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG
 [0350] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 [0351] 461_____465_____hFC 结构域_____475_____480
 [0352] 1450 1460 1470 1480 1490 1500
 [0353] * * * * * *
 [0354] CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC
 [0355] GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG
 [0356] Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 [0357] 481_____485_____hFC 结构域_____495_____500
 [0358] 1510 1520 1530 1540 1550 1560
 [0359] * * * * * *
 [0360] TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC
 [0361] ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG
 [0362] Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 [0363] 501_____505_____hFC 结构域_____515_____520
 [0364] 1570 1580 1590 1600 1610 1620
 [0365] * * * * * *
 [0366] AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC
 [0367] TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG
 [0368] Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 [0369] 521_____525_____hFC 结构域_____535_____540
 [0370] 1630 1640 1650 1660 1670 1680
 [0371] * * * * * *
 [0372] AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC
 [0373] TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG
 [0374] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 [0375] 541_____545_____hFC 结构域_____555_____560
 [0376] 1690 1700 1710 1720 1730 1740
 [0377] * * * * * *
 [0378] TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG
 [0379] AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC
 [0380] Ser Lys Ala Ays Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 [0381] 561_____565_____hFC 结构域_____575_____580
 [0382] 1750 1760 1770 1780 1790 1800
 [0383] * * * * * *
 [0384] GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC

[0385] CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG
 [0386] Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 [0387] 581_____585_____hFC 结构域_____595_____600
 [0388] 1810 1820 1830 1840 1850 1860
 [0389] * * * * * * *
 [0390] ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC
 [0391] TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG
 [0392] Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Ash Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 [0393] 601_____605_____hFC 结构域_____615_____620
 [0394] 1870 1880 1890 1900 1910 1920
 [0395] * * * * * * *
 [0396] GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG
 [0397] CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC
 [0398] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 [0399] 621_____625_____hFC 结构域_____635_____640
 [0400] 1930 1940 1950 1960 1970 1980
 [0401] * * * * * * *
 [0402] TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC
 [0403] ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG
 [0404] Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 [0405] 641_____645_____hFC 结构域_____655_____660
 [0406] 1990 2000 2010
 [0407] * * *
 [0408] ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:1)
 [0409] TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT
 [0410] Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:2)
 [0411] 661_____hFC 结构域_____670_____672
 [0412] DAAP#2
 [0413] 10 20 30 40 50 60
 [0414] * * * * * * *
 [0415] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG
 [0416] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC
 [0417] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val
 [0418] 1_____5_____hTIE2 信号序列_____15_____20
 [0419] 70 80 90 100 110 120
 [0420] * * * * * * *
 [0421] GAA GGT GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG
 [0422] CTT CCA CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC
 [0423] Glu Gly Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val
 [0424] 21_22_23_____25_____hTIE2 IG 结构域2_____35_____40
 [0425] 130 140 150 160 170 180
 [0426] * * * * * * *
 [0427] AAC ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT

[0428] TTG TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA
 [0429] Asn Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly
 [0430] 41_____45_____hTIE2 IG 结构域2_____55_____60
 [0431] 190 200 210 220 230 240
 [0432] * * * * *
 [0433] TCC TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT
 [0434] AGG AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA
 [0435] Ser Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro
 [0436] 61_____65_____hTIE2 IG 结构域2_____75_____80
 [0437] 250 260 270 280 290 300
 [0438] * * * * *
 [0439] CAT GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC
 [0440] GTA CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG
 [0441] His Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe
 [0442] 81_____85_____hTIE2 IG 结构域2_____95_____100
 [0443] 310 320 330 340 350 360
 [0444] * * * * *
 [0445] ACC TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC GGT AGA CCT TTC GTA GAG
 [0446] TGG AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG CCA TCT GGA AAG CAT CTC
 [0447] Thr Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gly Arg Pro Phe Val Glu
 [0448] 101_____105_____hTIE2 IG 结构域2_____114 115_____120
 [0449] 370 380 390 400 410 420
 [0450] * * * * *
 [0451] ATG TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC
 [0452] TAC ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG
 [0453] Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro
 [0454] 121_____125_____hVEGFR1 IG 结构域2_____135_____140
 [0455] 430 440 450 460 470 480
 [0456] * * * * *
 [0457] TGC CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG
 [0458] ACG GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC
 [0459] Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu
 [0460] 141_____145_____hVEGFR1 IG 结构域2_____155_____160
 [0461] 490 500 510 520 530 540
 [0462] * * * * *
 [0463] ATC CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA
 [0464] TAG GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT
 [0465] Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala
 [0466] 161_____165_____hVEGFR1 IG 结构域2_____175_____180
 [0467] 550 560 570 580 590 600
 [0468] * * * * *
 [0469] ACG TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG GAT TTG TAT AAG
 [0470] TGC ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC

[0471] Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys
 [0472] 181_____185_____hVEGFR1 IG 结构域2_____195_____200
 [0473] 610 620 630 640 650 660
 [0474] * * * * *
 [0475] ACA AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA
 [0476] TGT TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT
 [0477] Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 [0478] 201_____205_____208 209 210_____hFC 结构域_____220
 [0479] 670 680 690 700 710 720
 [0480] * * * * *
 [0481] GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC
 [0482] CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG
 [0483] Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 [0484] 221_____225_____hFC 结构域_____235_____240
 [0485] 730 740 750 760 770 780
 [0486] * * * * *
 [0487] CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC
 [0488] GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG
 [0489] Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 [0490] 241_____245_____hFC 结构域_____255_____260
 [0491] 790 800 810 820 830 840
 [0492] * * * * *
 [0493] CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG
 [0494] GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC
 [0495] Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 [0496] 261_____265_____hFC 结构域_____275_____280
 [0497] 850 860 870 880 890 900
 [0498] * * * * *
 [0499] CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC
 [0500] GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG
 [0501] Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 [0502] 281_____285_____hFC 结构域_____295_____300
 [0503] 910 920 930 940 950 960
 [0504] * * * * *
 [0505] CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC
 [0506] GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG
 [0507] Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 [0508] 301_____305_____hFC 结构域_____315_____320
 [0509] 970 980 990 1000 1010 1020
 [0510] * * * * *
 [0511] CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC
 [0512] GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG
 [0513] Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

[0514] 321_____325_____hFC 结构域_____335_____340

[0515] 1030 1040 1050 1060 1070 1080

[0516] * * * * *

[0517] CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA

[0518] GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT

[0519] Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

[0520] 341_____345_____hFC 结构域_____355_____360

[0521] 1090 1100 1110 1120 1130 1140

[0522] * * * * *

[0523] GGC TTC TAT CCG AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC

[0524] CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG

[0525] Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

[0526] 361_____365_____hFC 结构域_____375_____380

[0527] 1150 1160 1170 1180 1190 1200

[0528] * * * * *

[0529] TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC

[0530] ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG

[0531] Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

[0532] 381_____385_____hFC 结构域_____395_____400

[0533] 1210 1220 1230 1240 1250 1260

[0534] * * * * *

[0535] ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG

[0536] TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC

[0537] Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

[0538] 401_____405_____hFC 结构域_____415_____420

[0539] 1270 1280 1290 1300 1310

[0540] * * * * *

[0541] GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQID NO:3)

[0542] CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT

[0543] Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:4)

[0544] 421_____425_____hFc 结构域_____435_____438

[0545] DAAP#3

[0546] 10 20 30 40 50 60

[0547] * * * * *

[0548] ATG GTC AGC TAC TGG GAC ACC GGG GTC CTG CTG TGC GCG CTG CTC AGC TGT CTG CTT CTC

[0549] TAC CAG TCG ATG ACC CTG TGG CCC CAG GAC GAC ACG CGC GAC GAG TCG ACA GAC GAA GAG

[0550] Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser Cys Leu Leu Leu

[0551] 1_____5_____hVEGFR1 信号序列_____15_____20

[0552] 70 80 90 100 110 120

[0553] * * * * *

[0554] ACA GGA TCT AGT TCA GGT GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT

[0555] TGT CCT AGA TCA AGT CCA CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA

[0556] Thr Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile

[0557] 21_____25_26_27_____hVEGFR1 IG 结构域2_____40
 [0558] 130 140 150 160 170 180
 [0559] * * * * * * *
 [0560] ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC
 [0561] TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG
 [0562] Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile
 [0563] 41_____45_____hVEGFR1 IG 结构域2_____55_____60
 [0564] 190 200 210 220 230 240
 [0565] * * * * * * *
 [0566] ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC
 [0567] TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG
 [0568] Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile
 [0569] 61_____65_____hVEGFR1 IG 结构域2_____75_____80
 [0570] 250 260 270 280 290 300
 [0571] * * * * * * *
 [0572] TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG
 [0573] ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC
 [0574] Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu
 [0575] 81_____85_____hVEGFR1 IG 结构域2_____95_____100
 [0576] 310 320 330 340 350 360
 [0577] * * * * * * *
 [0578] ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA
 [0579] TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT
 [0580] Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln
 [0581] 101_____105_____hVEGFR1 IG 结构域2_____115_____120
 [0582] 370 380 390 400 410 420
 [0583] * * * * * * *
 [0584] GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC ATA
 [0585] CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG TAT
 [0586] Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn Ile
 [0587] 121_____125_____hTIE2 IG 结构域2_____135_____140
 [0588] 430 440 450 460 470 480
 [0589] * * * * * * *
 [0590] TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC TTC
 [0591] AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG AAG
 [0592] Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser Phe
 [0593] 141_____145_____hTIE2 IG 结构域2_____155_____160
 [0594] 490 500 510 520 530 540
 [0595] * * * * * * *
 [0596] ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT GCT
 [0597] TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA CGA
 [0598] Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His Ala
 [0599] 161_____165_____hTIE2 IG 结构域2_____175_____180

[0600]	550	560	570	580	590	600
[0601]	*	*	*	*	*	*
[0602]	CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC TCG					
[0603]	GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG AGC					
[0604]	Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr Ser					
[0605]	181	185	htIE2 IG 结构域2	195		200
[0606]	610	620	630	640	650	660
[0607]	*	*	*	*	*	*
[0608]	GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC AAC					
[0609]	CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG TTG					
[0610]	Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys Asn					
[0611]	201	205	htIE2 IG 结构域2	212 213	215	220
[0612]	670	680	690	700	710	720
[0613]	*	*	*	*	*	*
[0614]	CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC ATT					
[0615]	GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG TAA					
[0616]	His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys Ile					
[0617]	221	225	htIE2 EGF 样结构域1	235		240
[0618]	730	740	750	760	770	780
[0619]	*	*	*	*	*	*
[0620]	TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT GGC					
[0621]	ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA CCG					
[0622]	Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe Gly					
[0623]	241	htIE2 EGF LIKE 样结构域1	242 243	245		260
[0624]	790	800	810	820	830	840
[0625]	*	*	*	*	*	*
[0626]	AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT CTC					
[0627]	TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA GAG					
[0628]	Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys Leu					
[0629]	261	265	htIE2 EGF 样结构域2	275		280
[0630]	850	860	870	880	890	900
[0631]	*	*	*	*	*	*
[0632]	CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA GCA					
[0633]	GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT CGT					
[0634]	Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu Ala					
[0635]	281	285	htIE2 EGF 样结构域2	295		299 300
[0636]	910	920	930	940	950	960
[0637]	*	*	*	*	*	*
[0638]	TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT GGG GAG					
[0639]	ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC CTC					
[0640]	Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly Glu					
[0641]	301	305	htIE2 EGF 样结构域3	315		320
[0642]	970	980	990	1000	1010	1020

[0643]	*	*	*	*	*	*
[0644]	ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA					
[0645]	TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT					
[0646]	Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro					
[0647]	321_____hTIE2 EGF 样结构域3_____331 332_____hFC结构域_____340					
[0648]	1030	1040	1050	1060	1070	1080
[0649]	*	*	*	*	*	*
[0650]	CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC					
[0651]	GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG					
[0652]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro					
[0653]	341_____345_____hFC 结构域_____355_____360					
[0654]	1090	1100	1110	1120	1130	1140
[0655]	*	*	*	*	*	*
[0656]	AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGG GTG GTG GTG GAC GTG AGC					
[0657]	TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG					
[0658]	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser					
[0659]	361_____365_____hFC 结构域_____375_____380					
[0660]	1150	1160	1170	1180	1190	1200
[0661]	*	*	*	*	*	*
[0662]	CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC					
[0663]	GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG					
[0664]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala					
[0665]	381_____385_____hFC结构域_____385_____400					
[0666]	1210	1220	1230	1240	1250	1260
[0667]	*	*	*	*	*	*
[0668]	AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC					
[0669]	TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG					
[0670]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr					
[0671]	401_____405_____hFC 结构域_____415_____420					
[0672]	1270	1280	1290	1300	1310	1320
[0673]	*	*	*	*	*	*
[0674]	GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC					
[0675]	CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG					
[0676]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala					
[0677]	421_____425_____hFC 结构域_____435_____440					
[0678]	1330	1340	1350	1360	1370	1380
[0679]	*	*	*	*	*	*
[0680]	CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG					
[0681]	GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC					
[0682]	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln					
[0683]	441_____445_____hFC 结构域_____455_____460					
[0684]	1390	1400	1410	1420	1430	1440
[0685]	*	*	*	*	*	*

[0686] GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC
 [0687] CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG
 [0688] Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 [0689] 461_____465_____hFC 结构域_____475_____480
 [0690] 1450 1460 1470 1480 1490 1500
 [0691] * * * * * * *
 [0692] CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG
 [0693] GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC
 [0694] Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 [0695] 481_____485_____hFC 结构域_____495_____500
 [0696] 1510 1520 1530 1540 1550 1560
 [0697] * * * * * * *
 [0698] GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC
 [0699] CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG
 [0700] Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 [0701] 501_____505_____hFC 结构域_____515_____520
 [0702] 1570 1580 1590 1600 1610 1620
 [0703] * * * * * * *
 [0704] AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG
 [0705] TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC
 [0706] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 [0707] 521_____525_____hFC 结构域_____535_____540
 [0708] 1630 1640 1650 1660 1670 1680
 [0709] * * * * * * *
 [0710] ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA
 [0711] TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT
 [0712] Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 [0713] 541_____545_____hFC 结构域_____555_____560
 [0714] 1683
 [0715] *
 [0716] TGA (SEQ ID NO:5)
 [0717] ACT
 [0718] * * * (SEQ ID NO:6)
 [0719] 561
 [0720] DAAP#4
 [0721] 10 20 30 40 50 60
 [0722] * * * * * * *
 [0723] ATG GTC AGC TAC TGG GAC ACC GGG GTC CTG CTG TGC GCG CTG CTC AGC TGT CTG CTT CTC
 [0724] TAC CAG TCG ATG ACC CTG TGG CCC CAG GAC GAC ACG CGC GAC GAG TCG ACA GAC GAA GAG
 [0725] Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser Cys Leu Leu Leu
 [0726] 1_____5_____hVEGFR1 信号序列_____15_____20
 [0727] 70 80 90 100 110 120
 [0728] * * * * * * *

[0729] ACA GGA TCT AGT TCA GGT GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT
 [0730] TGT CCT AGA TCA AGT CCA CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA
 [0731] Thr Gly Ser Ser Ser Gly Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile
 [0732] 21_____25_26_27_____hVEGFR1 IG 结构域2_____40
 [0733] 130 140 150 160 170 180
 [0734] * * * * * *
 [0735] ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC
 [0736] TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG
 [0737] Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile
 [0738] 41_45hVEGFR1IG结构域2_55_60
 [0739] 190 200 210 220 230 240
 [0740] * * * * * *
 [0741] ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC
 [0742] TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG
 [0743] Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile
 [0744] 61_____65_____hVEGFR1 IG 结构域2_____75_____80
 [0745] 250 260 270 280 290 300
 [0746] * * * * * *
 [0747] TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG
 [0748] ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC
 [0749] Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu
 [0750] 81_____85_____hVEGFR1 IG 结构域2_____95_____100
 [0751] 310 320 330 340 350 360
 [0752] * * * * * *
 [0753] ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA
 [0754] TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT
 [0755] Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln
 [0756] 101_____105_____hVEGFR1 IG 结构域2_____115_____120
 [0757] 370 380 390 400 410 420
 [0758] * * * * * *
 [0759] GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC ATA
 [0760] CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG TAT
 [0761] Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn Ile
 [0762] 121_____125_____hTIE2 IG 结构域2_____135_____140
 [0763] 430 440 450 460 470 480
 [0764] * * * * * *
 [0765] TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC TTC
 [0766] AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG AAG
 [0767] Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser Phe
 [0768] 141_____145_____hTIE2 IG 结构域2_____155_____160
 [0769] 490 500 510 520 530 540
 [0770] * * * * * *
 [0771] ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT GCT

[0772] TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA CGA
 [0773] Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His Ala
 [0774] 161_____165_____hTIE2 IG 结构域2_____175_____180
 [0775] _____550_____560_____570_____580_____590_____600
 [0776] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0777] CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC TCG
 [0778] GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG AGC
 [0779] Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr Ser
 [0780] 181_____185_____hTIE2 IG 结构域2_____195_____200
 [0781] _____610_____620_____630_____640_____650_____660
 [0782] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0783] GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC
 [0784] CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG
 [0785] Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys
 [0786] 201_____205_____hTIE2 IG 结构域2_____212 213_____hFC DOMAIN_____220
 [0787] _____670_____680_____690_____700_____710_____720
 [0788] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0789] CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA
 [0790] GGT GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT
 [0791] Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 [0792] 221_____225_____hFC 结构域_____235_____240
 [0793] _____730_____740_____750_____760_____770_____780
 [0794] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0795] CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG
 [0796] GGG TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC
 [0797] Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 [0798] 241_____245_____hFC 结构域_____255_____260
 [0799] _____790_____800_____810_____820_____830_____840
 [0800] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0801] AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT
 [0802] TCG GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA
 [0803] Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 [0804] 261_____265_____hFC 结构域_____275_____280
 [0805] _____850_____860_____870_____880_____890_____900
 [0806] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0807] GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC
 [0808] CGG TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG
 [0809] Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 [0810] 281_____285_____hFC 结构域_____295_____300
 [0811] _____910_____920_____930_____940_____950_____960
 [0812] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [0813] ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA
 [0814] TGG CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT

[0815]	Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
[0816]	301_____305_____hFC 结构域_____315_____320
[0817]	970 980 990 1000 1010 1020
[0818]	* * * * *
[0819]	GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA
[0820]	CGG GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT
[0821]	Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0822]	321_____325_____hFC 结构域_____335_____340
[0823]	1030 1040 1050 1060 1070 1080
[0824]	* * * * *
[0825]	CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC
[0826]	GTC CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG
[0827]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
[0828]	341_____345_____hFC 结构域_____355_____360
[0829]	1090 1100 1110 1120 1130 1140
[0830]	* * * * *
[0831]	TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG
[0832]	ACG GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC
[0833]	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
[0834]	361_____365_____hFC 结构域_____375_____380
[0835]	1150 1160 1170 1180 1190 1200
[0836]	* * * * *
[0837]	CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC
[0838]	GGC CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG
[0839]	Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
[0840]	381_____385_____hFC 结构域_____395_____400
[0841]	1210 1220 1230 1240 1250 1260
[0842]	* * * * *
[0843]	TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC
[0844]	ATG TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG
[0845]	Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0846]	401_____405_____hFC 结构域_____415_____420
[0847]	1270 1280 1290 1300 1310 1320
[0848]	* * * * *
[0849]	GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT
[0850]	CAC TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA
[0851]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[0852]	421_____425_____hFC 结构域_____435_____440
[0853]	1326
[0854]	*
[0855]	AAA TGA (SEQID NO:7)
[0856]	TTT ACT
[0857]	Lys * * * (SEQID NO:8)

[0858] 441_442

[0859] DAAP#11

[0860] 10 20 30 40 50 60

[0861] * * * * *

[0862] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG

[0863] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC

[0864] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val

[0865] 1 5 hTIE2 信号序列 15 20

[0866] 70 80 90 100 110 120

[0867] * * * * *

[0868] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA

[0869] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT

[0870] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr

[0871] 21 22 23 25 hTIE2 IG 结构域1 35 40

[0872] 130 140 150 160 170 180

[0873] * * * * *

[0874] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC

[0875] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG

[0876] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp

[0877] 41 45 hTIE2 IG 结构域1 55 60

[0878] 190 200 210 220 230 240

[0879] * * * * *

[0880] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA

[0881] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT

[0882] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg

[0883] 61 65 hTIE2 IG 结构域1 75 80

[0884] 250 260 270 280 290 300

[0885] * * * * *

[0886] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT

[0887] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA

[0888] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr

[0889] 81 85 hTIE2 IG 结构域1 95 100

[0890] 310 320 330 340 350 360

[0891] * * * * *

[0892] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA

[0893] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT

[0894] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln

[0895] 101 105 hTIE2 IG 结构域1 115 120

[0896] 370 380 390 400 410 420

[0897] * * * * *

[0898] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC

[0899] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG

[0900] Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn

[0901]	121	122	125	htIE2 IG 结构域2	135	140
[0902]		430	440	450	460	470 480
[0903]		*	*	*	*	*
[0904]	ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC ASS AAT GGT TCC					
[0905]	TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG					
[0906]	Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser					
[0907]	141	145	htIE2 IG 结构域2	155	160	
[0908]		490	500	510	520	530 540
[0909]		*	*	*	*	*
[0910]	TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT					
[0911]	AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA					
[0912]	Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His					
[0913]	161	165	htIE2 IG 结构域2	175	180	
[0914]		550	560	570	580	590 600
[0915]		*	*	*	*	*
[0916]	GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC					
[0917]	CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG					
[0918]	Ala Gln pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr					
[0919]	181	185	htIE2 IG 结构域2	195	200	
[0920]		610	620	630	640	650 660
[0921]		*	*	*	*	*
[0922]	TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG					
[0923]	AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC					
[0924]	Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gly Arg Pro Phe Val Glu Met					
[0925]	201	205	htIE2 IG 结构域2	213 214 215	220	
[0926]		670	680	690	700	710 720
[0927]		*	*	*	*	*
[0928]	TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC					
[0929]	ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG					
[0930]	Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys					
[0931]	221	225	hVEGFR1 IG 结构域2	215	240	
[0932]		730	740	750	760	770 780
[0933]		*	*	*	*	*
[0934]	CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC					
[0935]	GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG					
[0936]	Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile					
[0937]	241	245	hVEGFR1 IG 结构域2	255	260	
[0938]		790	800	810	820	830 840
[0939]		*	*	*	*	*
[0940]	CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG					
[0941]	GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC					
[0942]	Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr					
[0943]	261	265	hVEGFR1 IG 结构域2	275	280	

[0944]	850	860	870	880	890	900
[0945]	*	*	*	*	*	*
[0946]	TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA					
[0947]	ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT					
[0948]	Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr					
[0949]	281_____285_____hVEGFR1 IG 结构域2_____295_____300					
[0950]	910	920	930	940	950	960
[0951]	*	*	*	*	*	*
[0952]	AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA					
[0953]	TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT CGT					
[0954]	Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala					
[0955]	301_____305_____307 308_____310_____hFC 结构域_____320					
[0956]	970	980	990	1000	1010	1020
[0957]	*	*	*	*	*	*
[0958]	CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC					
[0959]	GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG GAG					
[0960]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu					
[0961]	321_____325_____hFC 结构域_____335_____340					
[0962]	1030	1040	1050	1060	1070	1080
[0963]	*	*	*	*	*	*
[0964]	ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT					
[0965]	TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG GGA					
[0966]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro					
[0967]	341_____345_____hFC 结构域_____355_____360					
[0968]	1090	1100	1110	1120	1130	1140
[0969]	*	*	*	*	*	*
[0970]	GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG					
[0971]	CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC GGC					
[0972]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro					
[0973]	361_____365_____hFC 结构域_____375_____380					
[0974]	1150	1160	1170	1180	1190	1200
[0975]	*	*	*	*	*	*
[0976]	CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG					
[0977]	GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG GTC					
[0978]	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln					
[0979]	381_____385_____hFC 结构域_____395_____400					
[0980]	1210	1220	1230	1240	1250	1260
[0981]	*	*	*	*	*	*
[0982]	GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC CCC					
[0983]	CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG GGG					
[0984]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro					
[0985]	401_____405_____hFC 结构域_____415_____420					
[0986]	1270	1280	1290	1300	1310	1320

[0987]	*	*	*	*	*	*
[0988]	ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG					
[0989]	TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG GAC					
[0990]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu					
[0991]	421	425	hFC 结构域	435	440	
[0992]	1330	1340	1350	1360	1370	1380
[0993]	*	*	*	*	*	*
[0994]	CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC					
[0995]	GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT CCG					
[0996]	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly					
[0997]	441	445	hFC 结构域	455	460	
[0998]	1390	1400	1410	1420	1430	1440
[0999]	*	*	*	*	*	*
[1000]	TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC TAC					
[1001]	AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG ATG					
[1002]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr					
[1003]	461	465	hFC 结构域	475	480	
[1004]	1450	1460	1470	1480	1490	1500
[1005]	*	*	*	*	*	*
[1006]	AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC					
[1007]	TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG TGG					
[1008]	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr					
[1009]	481	485	hFC 结构域	495	500	
[1010]	1510	1520	1530	1540	1550	1560
[1011]	*	*	*	*	*	*
[1012]	GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT					
[1013]	CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC CGA					
[1014]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala					
[1015]	501	505	hFC 结构域	515	520	
[1016]	1570	1580	1590	1600	1610	
[1017]	*	*	*	*	*	
[1018]	CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:9)					
[1019]	GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT					
[1020]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys *** (SEQ ID NO:10)					
[1021]	521	525	hFC 结构域	535	537	
[1022]	DAAP#12					
[1023]	10	20	30	40	50	60
[1024]	*	*	*	*	*	*
[1025]	ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG					
[1026]	TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC					
[1027]	Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val					
[1028]	1	5	hTIE2 信号序列	15	20	
[1029]	70	80	90	100	110	120

[1030]	*	*	*	*	*	*
[1031]	GAA GGT GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG					
[1032]	CTT CCA CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC					
[1033]	Glu Gly Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val					
[1034]	21	22	23	25	htIE2 IG 结构域2	35
[1035]	130	140	150	160	170	180
[1036]	*	*	*	*	*	*
[1037]	AAC ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT					
[1038]	TTG TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA					
[1039]	Asn Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly					
[1040]	41	45	htIE2 IG 结构域2	55	60	
[1041]	190	200	210	220	230	240
[1042]	*	*	*	*	*	*
[1043]	TCC TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT					
[1044]	AGG AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA					
[1045]	Ser Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro					
[1046]	61	65	htIE2 IG 结构域2	75	80	
[1047]	250	260	270	280	290	300
[1048]	*	*	*	*	*	*
[1049]	CAT GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC					
[1050]	GTA CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG					
[1051]	His Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe					
[1052]	81	85	htIE2 IG 结构域2	95	100	
[1053]	310	320	330	340	350	360
[1054]	*	*	*	*	*	*
[1055]	ACC TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA					
[1056]	TGG AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT					
[1057]	Thr Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu					
[1058]	101	105	htIE2 IG 结构域2	114	115	120
[1059]	370	380	390	400	410	420
[1060]	*	*	*	*	*	*
[1061]	TGC AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA					
[1062]	ACG TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT					
[1063]	Cys Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu					
[1064]	121	125	htIE2 EGF 样结构域1	135	140	
[1065]	430	440	450	460	470	480
[1066]	*	*	*	*	*	*
[1067]	TGC ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG					
[1068]	ACG TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC					
[1069]	Cys Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr					
[1070]	141	145	htIE2 EGF 样结构域1	154	155	160
[1071]	490	500	510	520	530	540
[1072]	*	*	*	*	*	*

[1073] TTT GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC
 [1074] AAA CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG
 [1075] Phe Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe
 [1076] 161_____165_____hTIE2 EGF 样结构域2_____175_____180
 [1077] 550 560 570 580 590 600
 [1078] * * * * *
 [1079] TGT CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT
 [1080] ACA GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA
 [1081] Cys Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn
 [1082] 181_____185_____hTIE2 EGF 样结构域2_____195_____200
 [1083] 610 620 630 640 650 660
 [1084] * * * * *
 [1085] GAA GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT
 [1086] CTT CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA
 [1087] Glu Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn
 [1088] 201 202_____205_____hTIE2 EGF 样结构域3_____215_____220
 [1089] 670 680 690 700 710 720
 [1090] * * * * *
 [1091] GGG GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG
 [1092] CCC CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC
 [1093] Gly Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln
 [1094] 221_____225_____hTIE2 EGF 样结构域3_____235_____240
 [1095] 730 740 750 760 770 780
 [1096] * * * * *
 [1097] TGT GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC
 [1098] ACA CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG
 [1099] Cys Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile
 [1100] 241_____245_____249 250_____hVEGFR1 IG 结构域2_____260
 [1101] 790 800 810 820 830 840
 [1102] * * * * *
 [1103] CCC GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA
 [1104] GGG CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT
 [1105] Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser
 [1106] 261_____265_____hVEGFR1 IG 结构域2_____275_____280
 [1107] 850 860 870 880 890 900
 [1108] * * * * *
 [1109] CCT AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA
 [1110] GGA TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT
 [1111] Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys
 [1112] 281_____285_____hVEGFR1 IG 结构域2_____295_____300
 [1113] 910 920 930 940 950 960
 [1114] * * * * *
 [1115] CGC ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA

[1116] GCG TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT
 [1117] Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile
 [1118] 301_____305_____hVEGFR1 IG 结构域2_____315_____320
 [1119] _____970_____980_____990_____1000_____1010_____1020
 [1120] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1121] GGG CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA
 [1122] CCC GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT
 [1123] Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr
 [1124] 321_____325_____hVEGFR1 IG 结构域2_____335_____340
 [1125] _____1030_____1040_____1050_____1060_____1070_____1080
 [1126] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1127] CAT CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG
 [1128] GTA GCT GTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC
 [1129] His Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 [1130] 341_____343 344 345_____hFC 结构域_____355_____360
 [1131] _____1090_____1100_____1110_____1120_____1130_____1140
 [1132] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1133] GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG
 [1134] CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC
 [1135] Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 [1136] 361_____365_____hFC 结构域_____375_____380
 [1137] _____1150_____1160_____1170_____1180_____1190_____1200
 [1138] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1139] ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC
 [1140] TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG
 [1141] Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 [1142] 381_____385_____hFC 结构域_____395_____400
 [1143] _____1210_____1220_____1230_____1240_____1250_____1260
 [1144] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1145] AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG
 [1146] TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC
 [1147] Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 [1148] 401_____405_____hFC 结构域_____415_____420
 [1149] _____1270_____1280_____1290_____1300_____1310_____1320
 [1150] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1151] TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT
 [1152] ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA
 [1153] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 [1154] 421_____425_____hFC 结构域_____435_____440
 [1155] _____1330_____1340_____1350_____1360_____1370_____1380
 [1156] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [1157] GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC
 [1158] CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG

[1159] Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
[1160] 441_____445_____hFC 结构域 _____455_____460
[1161] 1390 1400 1410 1420 1430 1440
[1162] * * * * * * *
[1163] ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG
[1164] TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC
[1165] Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
[1166] 461_____465_____hFC 结构域 _____475_____480
[1167] 1450 1460 1470 1480 1490 1500
[1168] * * * * * * *
[1169] GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC
[1170] CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG
[1171] Glu Glu Mct Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
[1172] 481_____485_____hFC 结构域 _____495_____500
[1173] 1510 1520 1530 1540 1550 1560
[1174] * * * * * * *
[1175] GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT
[1176] CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA
[1177] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[1178] 501_____505_____hFC 结构域 _____515_____520
[1179] 1570 1580 1590 1600 1610 1620
[1180] * * * * * * *
[1181] CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC
[1182] GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG
[1183] Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[1184] 521_____525_____hFC 结构域 _____535_____540
[1185] 1630 1640 1650 1660 1670 1680
[1186] * * * * * * *
[1187] AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC
[1188] TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG
[1189] Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
[1190] 541_____545_____hFC 结构域 _____555_____560
[1191] 1690 1700 1710
[1192] * * *
[1193] TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:11)
[1194] ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT
[1195] Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:12)
[1196] 561_____565_____hFC 结构域 _____573
[1197] DAAP#13
[1198] 10 20 30 40 50 60
[1199] * * * * * * *
[1200] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG
[1201] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC

[1202] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val
[1203] 1 _____ 5 _____ hTIE2 信号序列 _____ 15 _____ 20
[1204] _____ 70 _____ 80 _____ 90 _____ 100 _____ 110 _____ 120
[1205] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1206] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA
[1207] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT
[1208] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr
[1209] 21 22 23 _____ 25 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 35 _____ 40
[1210] _____ 130 _____ 140 _____ 150 _____ 160 _____ 170 _____ 180
[1211] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1212] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC
[1213] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG
[1214] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp
[1215] 41 _____ 45 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 55 _____ 60
[1216] _____ 190 _____ 200 _____ 210 _____ 220 _____ 230 _____ 240
[1217] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1218] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA
[1219] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT
[1220] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg
[1221] 61 _____ 65 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 75 _____ 80
[1222] _____ 250 _____ 260 _____ 270 _____ 280 _____ 290 _____ 300
[1223] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1224] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT
[1225] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA
[1226] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr
[1227] 81 _____ 85 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 95 _____ 100
[1228] _____ 310 _____ 320 _____ 330 _____ 340 _____ 350 _____ 360
[1229] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1230] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA
[1231] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT
[1232] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln
[1233] 101 _____ 105 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 115 _____ 120
[1234] _____ 370 _____ 380 _____ 390 _____ 400 _____ 410 _____ 420
[1235] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1236] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC
[1237] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG
[1238] Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn
[1239] 121 122 _____ 125 _____ hTIE2IG 结构域2 _____ 135 _____ 140
[1240] _____ 430 _____ 440 _____ 450 _____ 460 _____ 470 _____ 480
[1241] _____ * _____ * _____ * _____ * _____ * _____ *
[1242] ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC
[1243] TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG
[1244] Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser

[1245]	141	145	hTIE2 IG 结构域2	155	160	
[1246]		490	500	510	520	530 540
[1247]		*	*	*	*	*
[1248]		TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT				
[1249]		AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA				
[1250]		Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His				
[1251]	161	165	hTIE2 IG 结构域2	175	180	
[1252]		550	560	570	580	590 600
[1253]		*	*	*	*	*
[1254]		GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC				
[1255]		CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG				
[1256]		Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr				
[1257]	181	185	hTIE2 IG 结构域2	195	200	
[1258]		610	620	630	640	650 660
[1259]		*	*	*	*	*
[1260]		TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC				
[1261]		AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG				
[1262]		Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys				
[1263]	201	205	hTIE2 IG 结构域2	213 214 215	220	
[1264]		670	680	690	700	710 720
[1265]		*	*	*	*	*
[1266]		AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC				
[1267]		TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG				
[1268]		Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys				
[1269]	221	225	hTIE2 EGF 样结构域1	235	240	
[1270]		730	740	750	760	770 780
[1271]		*	*	*	*	*
[1272]		ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT				
[1273]		TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA				
[1274]		Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe				
[1275]	241	245	hTIE2 EGF LIKE 样结构域1	253 254 255	260	
[1276]		790	800	810	820	830 840
[1277]		*	*	*	*	*
[1278]		GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT				
[1279]		CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA				
[1280]		Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys				
[1281]	261	265	hTIE2 EGF 样结构域2	275	280	
[1282]		850	860	870	880	890 900
[1283]		*	*	*	*	*
[1284]		CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA				
[1285]		GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT				
[1286]		Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu				
[1287]	281	285	hTIE2 EGF 样结构域2	295	300	

[1288]	910	920	930	940	950	960
[1289]	*	*	*	*	*	*
[1290]	GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT GGG					
[1291]	CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC					
[1292]	Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly					
[1293]	301_____305_____hTIE2 EGF 样结构域3			_____315_____		_____320
[1294]	970	980	990	1000	1010	1020
[1295]	*	*	*	*	*	*
[1296]	GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG TGT					
[1297]	CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC ACA					
[1298]	Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln Cys					
[1299]	321_____325_____hTIE2 EGF 样结构域3			_____335_____		_____340
[1300]	1030	1040	1050	1060	1070	1080
[1301]	*	*	*	*	*	*
[1302]	GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG TCT GCA ATC TAT ATA TTT ATT AGT GAT ACA GGT AGA					
[1303]	CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC AGA CGT TAG ATA TAT AAA TAA TCA CTA TGT CCA TCT					
[1304]	Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Ser Ala Ile Tyr Ile Phe Ile Ser Asp Thr Gly Arg					
[1305]	341_____345_____348 349_____hVEGFR1 IG 结构域2			_____360		
[1306]	1090	1100	1110	1120	1130	1140
[1307]	*	*	*	*	*	*
[1308]	CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG					
[1309]	GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC					
[1310]	Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu					
[1311]	361_____365_____hVEGFR1 IG 结构域2			_____375_____		_____380
[1312]	1150	1160	1170	1180	1190	1200
[1313]	*	*	*	*	*	*
[1314]	CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA					
[1315]	GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT					
[1316]	Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro					
[1317]	381_____385_____hVEGFR1 IG 结构域2			_____395_____		_____400
[1318]	1210	1220	1230	1240	1250	1260
[1319]	*	*	*	*	*	*
[1320]	CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC					
[1321]	GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG					
[1322]	Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile					
[1323]	401_____405_____hVEGFR1 IG 结构域2			_____415_____		_____420
[1324]	1270	1280	1290	1300	1310	1320
[1325]	*	*	*	*	*	*
[1326]	ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG					
[1327]	TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC					
[1328]	Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly					
[1329]	421_____425_____hVEGFR1 IG 结构域2			_____435_____		_____440
[1330]	1330	1340	1350	1360	1370	1380

[1331]	*	*	*	*	*	*
[1332]	CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC					
[1333]	GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG					
[1334]	His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys					
[1335]	441	445	450	452	453	hFC 结构域 460
[1336]	1390	1400	1410	1420	1430	1440
[1337]	*	*	*	*	*	*
[1338]	CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA					
[1339]	GGT GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT					
[1340]	Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys					
[1341]	461	465	hFC 结构域	475	480	
[1342]	1450	1460	1470	1480	1490	1500
[1343]	*	*	*	*	*	*
[1344]	CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG					
[1345]	GGG TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC					
[1346]	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val					
[1347]	481	485	hFC 结构域	495	500	
[1348]	1510	1520	1530	1540	1550	1560
[1349]	*	*	*	*	*	*
[1350]	AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT					
[1351]	TCG GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA					
[1352]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn					
[1353]	501	505	hFC 结构域	515	520	
[1354]	1570	1580	1590	1600	1610	1620
[1355]	*	*	*	*	*	*
[1356]	GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC					
[1357]	CGG TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG					
[1358]	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu					
[1359]	521	525	hFC 结构域	535	540	
[1360]	1630	1640	1650	1660	1670	1680
[1361]	*	*	*	*	*	*
[1362]	ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA					
[1363]	TGG CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT					
[1364]	Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys					
[1365]	541	545	hFC 结构域	555	560	
[1366]	1690	1700	1710	1720	1730	1740
[1367]	*	*	*	*	*	*
[1368]	GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA					
[1369]	CGG GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT					
[1370]	Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro					
[1371]	561	565	hFC 结构域	575	580	
[1372]	1750	1760	1770	1780	1790	1800
[1373]	*	*	*	*	*	*

[1374] CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC
 [1375] GTC CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG
 [1376] Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Mer Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 [1377] 581_____585_____hFC 结构域_____595_____600
 [1378] 1810 1820 1830 1840 1850 1860
 [1379] * * * * * * *
 [1380] TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG
 [1381] ACG GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC
 [1382] Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 [1383] 601_____605_____hFC 结构域_____615_____620
 [1384] 1870 1880 1890 1900 1910 1920
 [1385] * * * * * * *
 [1386] CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC
 [1387] GGC CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG
 [1388] Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 [1389] 621_____625_____hFC 结构域_____635_____640
 [1390] 1930 1940 1950 1960 1970 1980
 [1391] * * * * * * *
 [1392] TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC
 [1393] ATG TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG
 [1394] Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 [1395] 641645hFC 结构域655660
 [1396] 1990 2000 2010 2020 2030 2040
 [1397] * * * * * * *
 [1398] GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT
 [1399] CAC TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA
 [1400] Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [1401] 661_____665_____hFC 结构域_____675_____680
 [1402] 2046
 [1403] *
 [1404] AAA TGA (SEQ ID NO:13)
 [1405] TTT ACT
 [1406] Lys * * * (SEQ ID NO:14)
 [1407] 681_682
 [1408] DAAP#14
 [1409] 10 20 30 40 50 60
 [1410] * * * * * * *
 [1411] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG
 [1412] TAC CTG AGA AAT CCG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC
 [1413] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val
 [1414] 1_____5_____hTIE2 信号序列_____15_____20
 [1415] 70 80 90 100 110 120
 [1416] * * * * * * *

[1417] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA
[1418] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT
[1419] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr
[1420] 21 22 23 _____ 25 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 35 _____ 40
[1421] 130 140 150 160 170 180
[1422] * * * * * *
[1423] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC
[1424] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG
[1425] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp
[1426] 41 _____ 45 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 55 _____ 60
[1427] 190 200 210 220 230 240
[1428] * * * * * *
[1429] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA
[1430] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT
[1431] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg
[1432] 61 _____ 65 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 75 _____ 80
[1433] 250 260 270 280 290 300
[1434] * * * * * *
[1435] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT
[1436] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA
[1437] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr
[1438] 81 _____ 85 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 95 _____ 100
[1439] 310 320 330 340 350 360
[1440] * * * * * *
[1441] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA
[1442] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT
[1443] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln
[1444] 101 _____ 105 _____ hTIE2 IG 结构域1 _____ 115 _____ 120
[1445] 370 380 390 400 410 420
[1446] * * * * * *
[1447] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC
[1448] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG
[1449] Gln Ala Ser Phe Aeu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn
[1450] 121 122 _____ 125 _____ hTIE2 IG 结构域2 _____ 135 _____ 140
[1451] 430 440 450 460 470 480
[1452] * * * * * *
[1453] ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC
[1454] TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG
[1455] Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser
[1456] 141 _____ 145 _____ hTIE2I G 结构域2 _____ 155 _____ 160
[1457] 490 500 510 520 530 540
[1458] * * * * * *
[1459] TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT

[1460] AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA
 [1461] Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His
 [1462] 161_____165_____hTIE2 IG 结构域2 _____175_____180
 [1463] 550 560 570 580 590 600
 [1464] * * * * * *
 [1465] GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC
 [1466] CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG
 [1467] Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr
 [1468] 181_____185_____hTIE2 IG 结构域2 _____195_____200
 [1469] 610 620 630 640 650 660
 [1470] * * * * * *
 [1471] TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC
 [1472] AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG
 [1473] Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys
 [1474] 201_____205_____hTIE2 IG 结构域2 _____213_214_215_____220
 [1475] 670 680 690 700 710 720
 [1476] * * * * * *
 [1477] AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC
 [1478] TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG
 [1479] Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys
 [1480] 221_____225_____hTIE2 EGF 样结构域1 _____235_____240
 [1481] 730 740 750 760 770 780
 [1482] * * * * * *
 [1483] ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT
 [1484] TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA
 [1485] Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe
 [1486] 241_____245_____hTIE2 EGF 样结构域1 _____253_254_255_____260
 [1487] 790 800 810 820 830 840
 [1488] * * * * * *
 [1489] GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT
 [1490] CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA
 [1491] Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys
 [1492] 261_____265_____hTIE2 EGF 样结构域2 _____275_____280
 [1493] 850 860 870 880 890 900
 [1494] * * * * * *
 [1495] CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA
 [1496] GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT
 [1497] Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu
 [1498] 281_____285_____hTIE2 EGF 样结构域2 _____295_____300
 [1499] 910 920 930 940 950 960
 [1500] * * * * * *
 [1501] GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT GGG
 [1502] CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC

[1503]	Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly
[1504]	301_____305_____hTIE2 EGF 样结构域3 _____315_____320
[1505]	970 980 990 1000 1010 1020
[1506]	* * * * *
[1507]	GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG TGT
[1508]	CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC ACA
[1509]	Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln Cys
[1510]	321_____325_____hTIE2 EGF 样结构域3 _____335_____340
[1511]	1030 1040 1050 1060 1070 1080
[1512]	* * * * *
[1513]	GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG TTT ATT AGT GAT ACA GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG
[1514]	CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC AAA TAA TCA CTA TGT CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC
[1515]	Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Phe Ile Ser Asp Thr Gly Arg Pro Phe Val Glu Met
[1516]	341_____345_____348 349_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____360
[1517]	1090 1100 1110 1120 1130 1140
[1518]	* * * * *
[1519]	TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC
[1520]	ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG
[1521]	Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys
[1522]	361_____365_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____375_____380
[1523]	1150 1160 1170 1180 1190 1200
[1524]	* * * * *
[1525]	CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC
[1526]	GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG
[1527]	Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile
[1528]	381_____385_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____395_____400
[1529]	1210 1220 1230 1240 1250 1260
[1530]	* * * * *
[1531]	CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG
[1532]	GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC
[1533]	Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr
[1534]	401_____405_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____415_____420
[1535]	1270 1280 1290 1300 1310 1320
[1536]	* * * * *
[1537]	TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA
[1538]	ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT
[1539]	Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr
[1540]	421_____425_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____435_____440
[1541]	1330 1340 1350 1360 1370 1380
[1542]	* * * * *
[1543]	AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA
[1544]	TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT CGT
[1545]	Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

[1546]	441	445	447 448	hFC 结构域	460	
[1547]		1390	1400	1410	1420	1430 1440
[1548]		*	*	*	*	*
[1549]	CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC					
[1550]	GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG GAG					
[1551]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu					
[1552]	461	465	hFC 结构域	475	480	
[1553]		1450	1460	1470	1480	1490 1500
[1554]		*	*	*	*	*
[1555]	ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT					
[1556]	TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG GGA					
[1557]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro					
[1558]	481	485	hFC 结构域	495	500	
[1559]		1510	1520	1530	1540	1550 1560
[1560]		*	*	*	*	*
[1561]	GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG					
[1562]	CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC GGC					
[1563]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro					
[1564]	501	505	hFC 结构域	515	520	
[1565]		1570	1580	1590	1600	1610 1620
[1566]		*	*	*	*	*
[1567]	CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG					
[1568]	GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG GTC					
[1569]	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln					
[1570]	521	525	hFC 结构域	535	540	
[1571]		1630	1640	1650	1660	1670 1680
[1572]		*	*	*	*	*
[1573]	GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GC CCTC CCA GCC CCC					
[1574]	CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG GGG					
[1575]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro					
[1576]	541	545	hFC 结构域	555	560	
[1577]		1690	1700	1710	1720	1730 1740
[1578]		*	*	*	*	*
[1579]	ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG					
[1580]	TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG GAC					
[1581]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu					
[1582]	561	565	hFC 结构域	575	580	
[1583]		1750	1760	1770	1780	1790 1800
[1584]		*	*	*	*	*
[1585]	CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC					
[1586]	GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT CCG					
[1587]	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly					
[1588]	581	585	hFC 结构域	595	600	

[1589]	1810	1820	1830	1840	1850	1860
[1590]	*	*	*	*	*	*
[1591]	TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC TAC					
[1592]	AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG ATG					
[1593]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr					
[1594]	601_____605_____hFC 结构域_____615_____620					
[1595]	1870	1880	1890	1900	1910	1920
[1596]	*	*	*	*	*	*
[1597]	AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC					
[1598]	TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG TGG					
[1599]	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr					
[1600]	621_____625_____hFC 结构域_____635_____640					
[1601]	1930	1940	1950	1960	1970	1980
[1602]	*	*	*	*	*	*
[1603]	GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT					
[1604]	CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC CGA					
[1605]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala					
[1606]	641_____645_____hFC 结构域_____655_____660					
[1607]	1990	2000	2010	2020	2030	
[1608]	*	*	*	*	*	
[1609]	CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:15)					
[1610]	GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT					
[1611]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys *** (SEQ ID NO:16)					
[1612]	661_____665_____hFC 结构域_____675_____677					
[1613]	DAAP#15					
[1614]	10	20	30	40	50	60
[1615]	*	*	*	*	*	*
[1616]	ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG					
[1617]	TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC					
[1618]	Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val					
[1619]	1_____5_____hTIE2 信号序列_____15_____20					
[1620]	70	80	90	100	110	120
[1621]	*	*	*	*	*	*
[1622]	GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA					
[1623]	CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT					
[1624]	Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr					
[1625]	21_22_23_____25_____hTIE2 IG 结构域1_____35_____40					
[1626]	130	140	150	160	170	180
[1627]	*	*	*	*	*	*
[1628]	TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC					
[1629]	AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG					
[1630]	Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp					
[1631]	41_____45_____hTIE2 IG 结构域1_____55_____60					

[1632]	190	200	210	220	230	240
[1633]	*	*	*	*	*	*
[1634]	TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA					
[1635]	AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT					
[1636]	Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg					
[1637]	61_____65_____hTIE2 IG 结构域1 _____75_____80					
[1638]	250	260	270	280	290	300
[1639]	*	*	*	*	*	*
[1640]	GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT					
[1641]	CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA					
[1642]	Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr					
[1643]	81_____85_____hTIE2 IG 结构域1 _____95_____100					
[1644]	310	320	330	340	350	360
[1645]	*	*	*	*	*	*
[1646]	TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA					
[1647]	AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT					
[1648]	Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln					
[1649]	101_____105_____hTIE2 IG 结构域1 _____115_____120					
[1650]	370	380	390	400	410	420
[1651]	*	*	*	*	*	*
[1652]	CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC					
[1653]	GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG					
[1654]	Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn					
[1655]	121 122_____125_____hTIE2 IG 结构域2 _____135_____140					
[1656]	430	440	450	460	470	480
[1657]	*	*	*	*	*	*
[1658]	ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC					
[1659]	TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG					
[1660]	Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser					
[1661]	141_____145_____hTIE2 IG 结构域2 _____155_____160					
[1662]	490	500	510	520	530	540
[1663]	*	*	*	*	*	*
[1664]	TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT					
[1665]	AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA					
[1666]	Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His					
[1667]	161_____165_____hTIE2 IG 结构域2 _____175_____180					
[1668]	550	560	570	580	590	600
[1669]	*	*	*	*	*	*
[1670]	GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC					
[1671]	CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG					
[1672]	Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr					
[1673]	181_____185_____hTIE2 IG 结构域2 _____195_____200					
[1674]	610	620	630	640	650	660

[1675]	*	*	*	*	*	*														
[1676]	TCG	GCC	TTC	ACC	AGG	CTG	ATA	GTC	CGG	AGA	TGT	GAA	GCC	CAG	AAG	TGG	GGA	CCT	GAA	TGC
[1677]	AGC	CGG	AAG	TGG	TCC	GAC	TAT	CAG	GCC	TCT	ACA	CTT	CGG	GTC	TTC	ACC	CCT	GGA	CTT	ACG
[1678]	Ser	Ala	Phe	Thr	Arg	Leu	Ile	Val	Arg	Arg	Cys	Glu	Ala	Gln	Lys	Trp	Gly	Pro	Glu	Cys
[1679]	201			205			hTIE2 IG 结构域2			213	214	215								220
[1680]		670			680			690			700			710						720
[1681]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1682]	AAC	CAT	CTC	TGT	ACT	GCT	TGT	ATG	AAC	AAT	GGT	GTC	TGC	CAT	GAA	GAT	ACT	GGA	GAA	TGC
[1683]	TTG	GTA	GAG	ACA	TGA	CGA	ACA	TAC	TTG	TTA	CCA	CAG	ACG	GTA	CTT	CTA	TGA	CCT	CTT	ACG
[1684]	Asn	His	Leu	Cys	Thr	Ala	Cys	Met	Asn	Asn	Gly	Val	Cys	His	Glu	Asp	Thr	Gly	Glu	Cys
[1685]	221			225			hTIE2 EGF 样结构域1			235										240
[1686]		730			740			750			760			770						780
[1687]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1688]	ATT	TGC	CCT	CCT	GGG	TTT	ATG	GGA	AGG	ACG	TGT	GAG	AAG	GCT	TGT	GAA	CTG	CAC	ACG	TTT
[1689]	TAA	ACG	GGA	GGA	CCC	AAA	TAC	CCT	TCC	TGC	ACA	CTC	TTC	CGA	ACA	CTT	GAC	GTG	TGC	AAA
[1690]	Ile	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Met	Gly	Arg	Thr	Cys	Glu	Lys	Ala	Cys	Glu	Leu	His	Thr	Phe
[1691]	241			245			hTIE2 EGF 样结构域1			253	254	255								260
[1692]		790			800			810			820			830						840
[1693]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1694]	GGC	AGA	ACT	TGT	AAA	GAA	AGG	TGC	AGT	GGA	CAA	GAG	GGA	TGC	AAG	TCT	TAT	GTG	TTC	TGT
[1695]	CCG	TCT	TGA	ACA	TTT	CTT	TCC	ACG	TCA	CCT	GTT	CTC	CCT	ACG	TTC	AGA	ATA	CAC	AAG	ACA
[1696]	Gly	Arg	Thr	Cys	Lys	Glu	Arg	Cys	Ser	Gly	Gln	Glu	Gly	Cys	Lys	Ser	Tyr	Val	Phe	Cys
[1697]	261			265			hTIE2 EGF 样结构域2			275										280
[1698]		850			860			870			880			890						900
[1699]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1700]	CTC	CCT	GAC	CCC	TAT	GGG	TGT	TCC	TGT	GCC	ACA	GGC	TGG	AAG	GGT	CTG	CAG	TGC	AAT	GAA
[1701]	GAG	GGA	CTG	GGG	ATA	CCC	ACA	AGG	ACA	CGG	TGT	CCG	ACC	TTC	CCA	GAC	GTC	ACG	TTA	CTT
[1702]	Leu	Pro	Asp	Pro	Tyr	Gly	Cys	Ser	Cys	Ala	Thr	Gly	Trp	Lys	Gly	Leu	Gln	Cys	Asn	Glu
[1703]	281			285			hTIE2 EGF 样结构域2			295										300
[1704]		910			920			930			940			950						960
[1705]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1706]	GCA	TGC	CAC	CCT	GGT	TTT	TAC	GGG	CCA	GAT	TGT	AAG	CTT	AGG	TGC	AGC	TGC	AAC	AAT	GGG
[1707]	CGT	ACG	GTG	GGA	CCA	AAA	ATG	CCC	GGT	CTA	ACA	TTC	GAA	TCC	ACG	TCG	ACG	TTG	TTA	CCC
[1708]	Ala	Cys	His	Pro	Gly	Phe	Tyr	Gly	Pro	Asp	Cys	Lys	Leu	Arg	Cys	Ser	Cys	Asn	Asn	Gly
[1709]	301			305			hTIE2 EGF 样结构域3			315										320
[1710]		970			980			990			1000			1010						1020
[1711]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
[1712]	GAG	ATG	TGT	GAT	CGC	TTC	CAA	GGA	TGT	CTC	TGC	TCT	CCA	GGA	TGG	CAG	GGG	CTC	CAG	TGT
[1713]	CTC	TAC	ACA	CTA	GCG	AAG	GTT	CCT	ACA	GAG	ACG	AGA	GGT	CCT	ACC	GTC	CCC	GAG	GTC	ACA
[1714]	Glu	Met	Cys	Asp	Arg	Phe	Gln	Gly	Cys	Leu	Cys	Ser	Pro	Gly	Trp	Gln	Gly	Leu	Gln	Cys
[1715]	321			325			hTIE2 EGF 样结构域3			335										340
[1716]		1030			1040			1050			1060			1070						1080
[1717]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

[1718] GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC GAA ATT ATA CAC ATG
 [1719] CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG CTT TAA TAT GTG TAC
 [1720] Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met
 [1721] 341_____345_____348 349_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____360
 [1722] 1090 1100 1110 1120 1130 1140
 [1723] * * * * * *
 [1724] ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT AAC ATC ACT GTT ACT
 [1725] TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA TTG TAG TGA CAA TGA
 [1726] Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr
 [1727] 361_____365_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____375_____380
 [1728] 1150 1160 1701 1801 190 1200
 [1729] * * * * * *
 [1730] TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC ATA ATC TGG GAC AGT
 [1731] AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG TAT TAG ACC CTG TCA
 [1732] Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser
 [1733] 381_____385_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____395_____400
 [1734] 1210 1220 1230 1240 1250 1260
 [1735] * * * * * *
 [1736] AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG CTT CTG ACC TGT GAA
 [1737] TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC GAA GAC TGG ACA CTT
 [1738] Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu
 [1739] 401_____405_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____415_____420
 [1740] 1270 1280 1290 1300 1310 1320
 [1741] * * * * * *
 [1742] GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT CGA CAA CTC GAG GAC
 [1743] CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA GCT GTT GAG CTC CTG
 [1744] Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Leu Glu Asp
 [1745] 421_____425_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____435_____437 438_____440
 [1746] 1330 1340 1350 1360 1370 1380
 [1747] * * * * * *
 [1748] AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC
 [1749] TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG
 [1750] Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 [1751] 441_____445_____hFC结构域 _____455_____460
 [1752] 1390 1400 1410 1420 1430 1440
 [1753] * * * * * *
 [1754] CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC
 [1755] GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG
 [1756] Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 [1757] 461_____465_____hFC结构域 _____475_____480
 [1758] 1450 1460 1470 1480 1490 1500
 [1759] * * * * * *
 [1760] GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC

[1761] CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG
 [1762] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 [1763] 481_____485_____hFC结构域_____495_____500
 [1764] 1510 1520 1530 1540 1550 1560
 [1765] * * * * *
 [1766] GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG GAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT
 [1767] CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA
 [1768] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 [1769] 501_____505_____hFC结构域_____515_____520
 [1770] 1570 1580 1590 1600 1610 1620
 [1771] * * * * *
 [1772] GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC
 [1773] CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG
 [1774] Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 [1775] 521_____525_____hFC结构域_____535_____540
 [1776] 1630 1640 1650 1660 1670 1680
 [1777] * * * * *
 [1778] AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG
 [1779] TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC
 [1780] Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 [1781] 541_____545_____hFC结构域_____555_____560
 [1782] 1690 1700 1710 1720 1730 1740
 [1783] * * * * *
 [1784] CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC
 [1785] GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG
 [1786] Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 [1787] 561_____565_____hFC结构域_____575_____580
 [1788] 1750 1760 1770 1780 1790 1800
 [1789] * * * * *
 [1790] CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG
 [1791] GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC
 [1792] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 [1793] 581_____585_____hFC结构域_____595_____600
 [1794] 1810 1820 1830 1840 1850 1860
 [1795] * * * * *
 [1796] GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC
 [1797] CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG
 [1798] Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 [1799] 601_____605_____hFC结构域_____615_____620
 [1800] 1870 1880 1890 1900 1910 1920
 [1801] * * * * *
 [1802] GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC
 [1803] CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG

[1804] Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
[1805] 621_____625_____hFC结构域_____635_____640
[1806] 1930 1940 1950 1960 1970 1980
[1807] * * * * *
[1808] GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC
[1809] CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG
[1810] Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1811] 641_____645_____hFC结构域_____655_____660
[1812] 1990 2000
[1813] * *
[1814] TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:17)
[1815] AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT
[1816] Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:18)
[1817] 661_____665_____667
[1818] DAAP#16
[1819] 10 20 30 40 50 60
[1820] * * * * *
[1821] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG
[1822] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC
[1823] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val
[1824] 1_____5_____hTIE2 信号序列 _____15_____20
[1825] 70 80 90 100 110 120
[1826] * * * * *
[1827] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA
[1828] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT
[1829] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr
[1830] 21_22_23_____25_____hTIE2 IG结构域1 _____35_____40
[1831] 130 140 150 160 170 180
[1832] * * * * *
[1833] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC
[1834] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG
[1835] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Trp Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp
[1836] 41_____45_____hTIE2 IG结构域1 _____55_____60
[1837] 190 200 210 220 230 240
[1838] * * * * *
[1839] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA
[1840] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT
[1841] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg
[1842] 61_____65_____hTIE2 IG结构域1 _____75_____80
[1843] 250 260 270 280 290 300
[1844] * * * * *
[1845] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT
[1846] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA

[1847] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr
[1848] 81_____85_____hTIE2 IG结构域1 _____95_____100
[1849] 310 320 330 340 350 360
[1850] * * * * *
[1851] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA
[1852] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT
[1853] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln
[1854] 101_____105_____hTIE2 IG结构域1 _____115_____120
[1855] 370 380 390 400 410 420
[1856] * * * * *
[1857] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC
[1858] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG
[1859] Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn
[1860] 121 122_____125_____hTIE2 IG结构域2 _____135_____140
[1861] 430 440 450 460 470 480
[1862] * * * * *
[1863] ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC
[1864] TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG
[1865] Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser
[1866] 141_____145_____hTIE2 IG结构域2 _____155_____160
[1867] 490 500 510 520 530 540
[1868] * * * * *
[1869] TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT
[1870] AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA
[1871] Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His
[1872] 161_____165_____hTIE2 IG结构域2 _____175_____180
[1873] 550 560 570 580 590 600
[1874] * * * * *
[1875] GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GT G TAC TCG GCC AGG TAT ATAGGA GGA AAC CTC TTC ACC
[1876] CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG
[1877] Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr
[1878] 181_____185_____hTIE2 IG结构域2 _____195_____200
[1879] 610 620 630 640 650 660
[1880] * * * * *
[1881] TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC
[1882] AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG
[1883] Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys
[1884] 201_____205_____hTIE2 IG结构域2 _____213 214 215_____220
[1885] 670 680 690 700 710 720
[1886] * * * * *
[1887] AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC
[1888] TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG
[1889] Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys

[1890]	221	225	hTIE2 EGF 样结构域1	235	240	
[1891]		730	740	750	760	770 780
[1892]		*	*	*	*	*
[1893]		ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT				
[1894]		TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA				
[1895]		Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe				
[1896]	241	245	hTIE2 EGF 样结构域1	253 254 255	260	
[1897]		790	800	810	820	830 840
[1898]		*	*	*	*	*
[1899]		GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT				
[1900]		CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA				
[1901]		Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys				
[1902]	261	265	hTIE2 EGF 样结构域	275	280	
[1903]		850	860	870	880	890 900
[1904]		*	*	*	*	*
[1905]		CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA				
[1906]		GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT				
[1907]		Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu				
[1908]	281	285	hTIE2EGF样结构域2	295	300	
[1909]		910	920	930	940	950 960
[1910]		*	*	*	*	*
[1911]		GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AAC AAT GGG				
[1912]		CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC				
[1913]		Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly				
[1914]	301	305	hTIE2EGF样结构域3	315	320	
[1915]		970	980	990	1000	1010 1020
[1916]		*	*	*	*	*
[1917]		GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG TGT				
[1918]		CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC ACA				
[1919]		Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln Cys				
[1920]	321	325	hTIE2 EGF样结构域3	335	340	
[1921]		1030	1040	1050	1060	1070 1080
[1922]		*	*	*	*	*
[1923]		GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC				
[1924]		CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG				
[1925]		Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro				
[1926]	341	345	348 349	hVEGFR1IG结构域2	360	
[1927]		1090	1100	1110	1120	1130 1140
[1928]		*	*	*	*	*
[1929]		GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT				
[1930]		CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA				
[1931]		Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro				
[1932]	361	365	hVEGFR1IG结构域2	375	380	

[1933]	1150	1160	1170	1180	1190	1200
[1934]	*	*	*	*	*	*
[1935]	AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC					
[1936]	TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG					
[1937]	Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg					
[1938]	381	385	hVEGFR1 IG结构域2		395	400
[1939]	1210	1220	1230	1240	1250	1260
[1940]	*	*	*	*	*	*
[1941]	ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG					
[1942]	TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC					
[1943]	Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly					
[1944]	401	405	hVEGFR1 IG结构域2		415	420
[1945]	1270	1280	1290	1300	1310	1320
[1946]	*	*	*	*	*	*
[1947]	CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT					
[1948]	GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA					
[1949]	Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His					
[1950]	421	425	hVEGFR1 IG结构域2		435	440
[1951]	1330	1340	1350	1360	1370	1380
[1952]	*	*	*	*	*	*
[1953]	CGA CAA ACC AAT ACA ATC ATA GAT GTC CAA ATA AGC ACA CCA CGC CCA GTC AAA TTA CTT					
[1954]	GCT GTT TGG TTA TGT TAG TAT CTA CAG GTT TAT TCG TGT GGT GCG GGT CAG TTT AAT GAA					
[1955]	Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile Asp Val Gln Ile Ser Thr Pro Arg Pro Val Lys Leu Leu					
[1956]	441	445	448	449	450	460
[1957]	1390	1400	1410	1420	1430	1440
[1958]	*	*	*	*	*	*
[1959]	AGA GGC CAT ACT CTT GTC CTC AAT TGT ACT GCT ACC ACT CCC TTG AAC ACG AGA GTT CAA					
[1960]	TCT CCG GTA TGA GAA CAG GAG TTA ACA TGA CGA TGG TGA GGG AAC TTG TGC TCT CAA GTT					
[1961]	Arg Gly His Thr Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Thr Thr Pro Leu Asn Thr Arg Val Gln					
[1962]	461	465	hVEGFR1 IG 结构域3		475	480
[1963]	1450	1460	1470	1480	1490	1500
[1964]	*	*	*	*	*	*
[1965]	ATG ACC TGG AGT TAC CCT GAT GAA AAA AAT AAG AGA GCT TCC GTA AGG CGA CGA ATT GAC					
[1966]	TAC TGG ACC TCA ATG GGA CTA CTT TTT TTA TTC TCT CGA AGG CAT TCC GCT GCT TAA CTG					
[1967]	Met Thr Trp Ser Tyr Pro Asp Glu Lys Asn Lys Arg Ala Ser Val Arg Arg Arg Ile Asp					
[1968]	481	485	hVEGFR1 IG 结构域3		495	500
[1969]	1510	1520	1530	1540	1550	1560
[1970]	*	*	*	*	*	*
[1971]	CAA AGC AAT TCC CAT GCC AAC ATA TTC TAC AGT GTT CTT ACT ATT GAC AAA ATG CAG AAC					
[1972]	GTT TCG TTA AGG GTA CGG TTG TAT AAG ATG TCA CAA GAA TGA TAA CTG TTT TAC GTC TTG					
[1973]	Gln Ser Asn Ser His Ala Asn Ile Phe Tyr Ser Val Leu Thr Ile Asp Lys Met Gln Asn					
[1974]	501	505	hVEGFR1 IG 结构域3		515	520
[1975]	1570	1580	1590	1600	1610	1620

[1976]	*	*	*	*	*	*
[1977]	AAA GAC AAA GGA CTT TAT ACT TGT CGT GTA AGG AGT GGA CCA TCA TTC AAA TCT GTT AAC					
[1978]	TTT CTG TTT CCT GAA ATA TGA ACA GCA CAT TCC TCA CCT GGT AGT AAG TTT AGA CAA TTG					
[1979]	Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Thr Cys Arg Val Arg Ser Gly Pro Ser Phe Lys Ser Val Asn					
[1980]	521_____525_____hVEGFR1 IG 结构域3_____535_____540					
[1981]	1630	1640	1650	1660	1670	1680
[1982]	*	*	*	*	*	*
[1983]	ACC TCA GTG CAT ATA TAT GAT AAA GCA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC					
[1984]	TGG AGT CAC GTA TAT ATA CTA TTT CGT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC ACG					
[1985]	Thr Ser Val His Ile Tyr Asp Lys Ala Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys					
[1986]	541_____545_____549 550_____hFC 结构域_____560					
[1987]	1690	1700	1710	1720	1730	1740
[1988]	*	*	*	*	*	*
[1989]	CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC					
[1990]	GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC CTG					
[1991]	Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp					
[1992]	561_____565_____hFC 结构域_____575_____580					
[1993]	1750	1760	1770	1780	1790	1800
[1994]	*	*	*	*	*	*
[1995]	ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA					
[1996]	TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG CTT					
[1997]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu					
[1998]	581_____585_____hEC 结构域_____595_____600					
[1999]	1810	1820	1830	1840	1850	1860
[2000]	*	*	*	*	*	*
[2001]	GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA					
[2002]	CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC TGT					
[2003]	Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr					
[2004]	601_____605_____hFC 结构域_____615_____620					
[2005]	1870	1880	1890	1900	1910	1920
[2006]	*	*	*	*	*	*
[2007]	AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG					
[2008]	TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG GAC					
[2009]	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu					
[2010]	621_____625_____hFC 结构域_____635_____640					
[2011]	1930	1940	1950	1960	1970	1980
[2012]	*	*	*	*	*	*
[2013]	CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA					
[2014]	GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG GGT					
[2015]	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro					
[2016]	641_____645_____hFC 结构域_____655_____660					
[2017]	1990	2000	2010	2020	2030	2040
[2018]	*	*	*	*	*	*

[2019] GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC
[2020] CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC ATG
[2021] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
[2022] 661_____665_____hFC 结构域_____675_____680
[2023] 2050 2060 2070 2080 2090 2100
[2024] * * * * * *
[2025] ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC
[2026] TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC CAG
[2027] Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
[2028] 681_____685_____hFC 结构域_____695_____700
[2029] 2110 2120 2130 2140 2150 2160
[2030] * * * * * *
[2031] AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC
[2032] TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC TTG
[2033] Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
[2034] 701_____705_____hFC 结构域_____715_____720
[2035] 2170 2180 2190 2200 2210 2220
[2036] * * * * * *
[2037] AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG
[2038] TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG TTC
[2039] Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[2040] 721_____725_____hFC 结构域_____735_____740
[2041] 2230 2240 2250 2260 2270 2280
[2042] * * * * * *
[2043] CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT
[2044] GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC GTA
[2045] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
[2046] 741_____745_____hFC 结构域_____755_____760
[2047] 2290 2300 2310 2320 2330
[2048] * * * * * *
[2049] GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:19)
[2050] CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT
[2051] Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:20)
[2052] 761_____765_____hFC 结构域_____775_____779
[2053] DAAP#17
[2054] 10 20 30 40 50 60
[2055] * * * * * *
[2056] ATG GAC TCT TTA GCC AGC TTA GTT CTC TGT GGA GTC AGC TTG CTC CTT TCT GGA ACT GTG
[2057] TAC CTG AGA AAT CGG TCG AAT CAA GAG ACA CCT CAG TCG AAC GAG GAA AGA CCT TGA CAC
[2058] Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu Ser Gly Thr Val
[2059] 1_____5_____hTIE2 信号序列_____15_____20
[2060] 70 80 90 100 110 120
[2061] * * * * * *

[2062] GAA GGT GCC ATG GAC TTG ATC TTG ATC AAT TCC CTA CCT CTT GTA TCT GAT GCT GAA ACA
 [2063] CTT CCA CGG TAC CTG AAC TAG AAC TAG TTA AGG GAT GGA GAA CAT AGA CTA CGA CTT TGT
 [2064] Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr
 [2065] 21 22 23 25 hTIE2 IG 结构域1 35 40
 [2066] 130 140 150 160 170 180
 [2067] * * * * * *
 [2068] TCT CTC ACC TGC ATT GCC TCT GGG TGG CGC CCC CAT GAG CCC ATC ACC ATA GGA AGG GAC
 [2069] AGA GAG TGG ACG TAA CGG AGA CCC ACC GCG GGG GTA CTC GGG TAG TGG TAT CCT TCC CTG
 [2070] Ser Leu Thr Cys Ile Ala Ser Gly Tro Arg Pro His Glu Pro Ile Thr Ile Gly Arg Asp
 [2071] 41 45 hTIE2 IG 结构域1 55 60
 [2072] 190 200 210 220 230 240
 [2073] * * * * * *
 [2074] TTT GAA GCC TTA ATG AAC CAG CAC CAG GAT CCG CTG GAA GTT ACT CAA GAT GTG ACC AGA
 [2075] AAA CTT CGG AAT TAC TTG GTC GTG GTC CTA GGC GAC CTT CAA TGA GTT CTA CAC TGG TCT
 [2076] Phe Glu Ala Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu Glu Val Thr Gln Asp Val Thr Arg
 [2077] 61 65 hTIE2 IG 结构域1 75 80
 [2078] 250 260 270 280 290 300
 [2079] * * * * * *
 [2080] GAA TGG GCT AAA AAA GTT GTT TGG AAG AGA GAA AAG GCT AGT AAG ATC AAT GGT GCT TAT
 [2081] CTT ACC CGA TTT TTT CAA CAA ACC TTC TCT CTT TTC CGA TCA TTC TAG TTA CCA CGA ATA
 [2082] Glu Trp Ala Lys Lys Val Val Trp Lys Arg Glu Lys Ala Ser Lys Ile Asn Gly Ala Tyr
 [2083] 81 85 hTIE2 IG 结构域1 95 100
 [2084] 310 320 330 340 350 360
 [2085] * * * * * *
 [2086] TTC TGT GAA GGG CGA GTT CGA GGA GAG GCA ATC AGG ATA CGA ACC ATG AAG ATG CGT CAA
 [2087] AAG ACA CTT CCC GCT CAA GCT CCT CTC CGT TAG TCC TAT GCT TGG TAC TTC TAC GCA GTT
 [2088] Phe Cys Glu Gly Arg Val Arg Gly Glu Ala Ile Arg Ile Arg Thr Met Lys Met Arg Gln
 [2089] 101 105 hTIE2 IG 结构域1 115 120
 [2090] 370 380 390 400 410 420
 [2091] * * * * * *
 [2092] CAA GCT TCC TTC CTA CCA GCT ACT TTA ACT ATG ACT GTG GAC AAG GGA GAT AAC GTG AAC
 [2093] GTT CGA AGG AAG GAT GGT CGA TGA AAT TGA TAC TGA CAC CTG TTC CCT CTA TTG CAC TTG
 [2094] Gln Ala Ser Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr Val Asp Lys Gly Asp Asn Val Asn
 [2095] 121 122 125 hTIE2 IG 结构域2 135 140
 [2096] 430 440 450 460 470 480
 [2097] * * * * * *
 [2098] ATA TCT TTC AAA AAG GTA TTG ATT AAA GAA GAA GAT GCA GTG ATT TAC AAA AAT GGT TCC
 [2099] TAT AGA AAG TTT TTC CAT AAC TAA TTT CTT CTT CTA CGT CAC TAA ATG TTT TTA CCA AGG
 [2100] Ile Ser Phe Lys Lys Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val Ile Tyr Lys Asn Gly Ser
 [2101] 141 145 hTIE2 IG 结构域2 155 160
 [2102] 490 500 510 520 530 540
 [2103] * * * * * *
 [2104] TTC ATC CAT TCA GTG CCC CGG CAT GAA GTA CCT GAT ATT CTA GAA GTA CAC CTG CCT CAT

[2105] AAG TAG GTA AGT CAC GGG GCC GTA CTT CAT GGA CTA TAA GAT CTT CAT GTG GAC GGA GTA
 [2106] Phe Ile His Ser Val Pro Arg His Glu Val Pro Asp Ile Leu Glu Val His Leu Pro His
 [2107] 161_____165_____hTIE2 IG 结构域2 _____175_____180
 [2108] _____550_____560_____570_____580_____590_____600
 [2109] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2110] GCT CAG CCC CAG GAT GCT GGA GTG TAC TCG GCC AGG TAT ATA GGA GGA AAC CTC TTC ACC
 [2111] CGA GTC GGG GTC CTA CGA CCT CAC ATG AGC CGG TCC ATA TAT CCT CCT TTG GAG AAG TGG
 [2112] Ala Gln Pro Gln Asp Ala Gly Val Tyr Ser Ala Arg Tyr Ile Gly Gly Asn Leu Phe Thr
 [2113] 181_____185_____hTIE2 IG 结构域2 _____195_____200
 [2114] _____610_____620_____630_____640_____650_____660
 [2115] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2116] TCG GCC TTC ACC AGG CTG ATA GTC CGG AGA TGT GAA GCC CAG AAG TGG GGA CCT GAA TGC
 [2117] AGC CGG AAG TGG TCC GAC TAT CAG GCC TCT ACA CTT CGG GTC TTC ACC CCT GGA CTT ACG
 [2118] Ser Ala Phe Thr Arg Leu Ile Val Arg Arg Cys Glu Ala Gln Lys Trp Gly Pro Glu Cys
 [2119] 201_____205_____hTIE2 IG 结构域2 _____213 214_215_____220
 [2120] _____670_____680_____690_____700_____710_____720
 [2121] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2122] AAC CAT CTC TGT ACT GCT TGT ATG AAC AAT GGT GTC TGC CAT GAA GAT ACT GGA GAA TGC
 [2123] TTG GTA GAG ACA TGA CGA ACA TAC TTG TTA CCA CAG ACG GTA CTT CTA TGA CCT CTT ACG
 [2124] Asn His Leu Cys Thr Ala Cys Met Asn Asn Gly Val Cys His Glu Asp Thr Gly Glu Cys
 [2125] 221_____225_____hTIE2 EGF 样结构域1 _____235_____240
 [2126] _____730_____740_____750_____760_____770_____780
 [2127] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2128] ATT TGC CCT CCT GGG TTT ATG GGA AGG ACG TGT GAG AAG GCT TGT GAA CTG CAC ACG TTT
 [2129] TAA ACG GGA GGA CCC AAA TAC CCT TCC TGC ACA CTC TTC CGA ACA CTT GAC GTG TGC AAA
 [2130] Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu Leu His Thr Phe
 [2131] 241_____245_____hTIE2 EGF 样结构域1 _____253 254_255_____260
 [2132] _____790_____800_____810_____820_____830_____840
 [2133] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2134] GGC AGA ACT TGT AAA GAA AGG TGC AGT GGA CAA GAG GGA TGC AAG TCT TAT GTG TTC TGT
 [2135] CCG TCT TGA ACA TTT CTT TCC ACG TCA CCT GTT CTC CCT ACG TTC AGA ATA CAC AAG ACA
 [2136] Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys
 [2137] 261_____265_____hTIE2 EGF 样结构域2 _____275_____280
 [2138] _____850_____860_____870_____880_____890_____900
 [2139] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2140] CTC CCT GAC CCC TAT GGG TGT TCC TGT GCC ACA GGC TGG AAG GGT CTG CAG TGC AAT GAA
 [2141] GAG GGA CTG GGG ATA CCC ACA AGG ACA CGG TGT CCG ACC TTC CCA GAC GTC ACG TTA CTT
 [2142] Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu
 [2143] 281_____285_____hTIE2 EGF 样结构域2 _____295_____300
 [2144] _____910_____920_____930_____940_____950_____960
 [2145] _____*_____**_____***_____****_____*****
 [2146] GCA TGC CAC CCT GGT TTT TAC GGG CCA GAT TGT AAG CTT AGG TGC AGC TGC AA CAAT GGG
 [2147] CGT ACG GTG GGA CCA AAA ATG CCC GGT CTA ACA TTC GAA TCC ACG TCG ACG TTG TTA CCC

[2148] Ala Cys His Pro Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Iys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly
 [2149] 301_____305_____hTIE2 EGF 样结构域3 _____315_____320
 [2150] 970 980 990 1000 1010 1020
 [2151] * * * * *
 [2152] GAG ATG TGT GAT CGC TTC CAA GGA TGT CTC TGC TCT CCA GGA TGG CAG GGG CTC CAG TGT
 [2153] CTC TAC ACA CTA GCG AAG GTT CCT ACA GAG ACG AGA GGT CCT ACC GTC CCC GAG GTC ACA
 [2154] Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln Gly Leu Gln Cys
 [2155] 321_____325_____hTIE2 EGF 样结构域3 _____335_____340
 [2156] 1030 1040 1050 1060 1070 1080
 [2157] * * * * *
 [2158] GAG AGA GAA GGC ATA CCG AGG ATG GGT AGA CCT TTC GTA GAG ATG TAC AGT GAA ATC CCC
 [2159] CTC TCT CTT CCG TAT GGC TCC TAC CCA TCT GGA AAG CAT CTC TAC ATG TCA CTT TAG GGG
 [2160] Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro
 [2161] 341_____345_____348 349_____hVEGFR1 IG 结构域2_____360
 [2162] 1090 1100 1110 1120 1130 1140
 [2163] * * * * *
 [2164] GAA ATT ATA CAC ATG ACT GAA GGA AGG GAG CTC GTC ATT CCC TGC CGG GTT ACG TCA CCT
 [2165] CTT TAA TAT GTG TAC TGA CTT CCT TCC CTC GAG CAG TAA GGG ACG GCC CAA TGC AGT GGA
 [2166] Glu Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro
 [2167] 361_____365_____hVEGFR1 IG 结构域2_____375_____380
 [2168] 1150 1160 1170 1180 1190 1200
 [2169] * * * * *
 [2170] AAC ATC ACT GTT ACT TTA AAA AAG TTT CCA CTT GAC ACT TTG ATC CCT GAT GGA AAA CGC
 [2171] TTG TAG TGA CAA TGA AAT TTT TTC AAA GGT GAA CTG TGA AAC TAG GGA CTA CCT TTT GCG
 [2172] Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg
 [2173] 381_____385_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____395_____400
 [2174] 1210 1220 1230 1240 1250 1260
 [2175] * * * * *
 [2176] ATA ATC TGG GAC AGT AGA AAG GGC TTC ATC ATA TCA AAT GCA ACG TAC AAA GAA ATA GGG
 [2177] TAT TAG ACC CTG TCA TCT TTC CCG AAG TAG TAT AGT TTA CGT TGC ATG TTT CTT TAT CCC
 [2178] Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly
 [2179] 401_____405_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____415_____420
 [2180] 1270 1280 1290 1300 1310 1320
 [2181] * * * * *
 [2182] CTT CTG ACC TGT GAA GCA ACA GTC AAT GGG CAT TTG TAT AAG ACA AAC TAT CTC ACA CAT
 [2183] GAA GAC TGG ACA CTT CGT TGT CAG TTA CCC GTA AAC ATA TTC TGT TTG ATA GAG TGT GTA
 [2184] Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His
 [2185] 421_____425_____hVEGFR1 IG 结构域2 _____435_____440
 [2186] 1330 1340 1350 1360 1370 1380
 [2187] * * * * *
 [2188] CGA CAA ACC AAT ACA ATC ATA GAT GTG GTT CTG AGT CCG TCT CAT GGA ATT GAA CTA TCT
 [2189] GCT GTT TGG TTA TGT TAG TAT CTA CAC CAA GAC TCA GGC AGA GTA CCT TAA CTT GAT AGA
 [2190] Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser

[2191]	441	445	448 449_450	hVEGFR2 IG 结构域3	460
[2192]	1390	1400	1410	1420	1430 1440
[2193]	*	*	*	*	*
[2194]	GTT GGA GAA AAG CTT GTC TTA AAT TGT ACA GCA AGA ACT GAA CTA AAT GTG GGG ATT GAC				
[2195]	CAA CCT CTT TTC GAA CAG AAT TTA ACA TGT CGT TCT TGA CTT GAT TTA CAC CCC TAA CTG				
[2196]	Val Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile Asp				
[2197]	461	465	hVEGFR2 IG 结构域3	475	480
[2198]	1450	1460	1470	1480	1490 1500
[2199]	*	*	*	*	*
[2200]	TTC AAC TGG GAA TAC CCT TCT TCG AAG CAT CAG CAT AAG AAA CTT GTA AAC CGA GAC CTA				
[2201]	AAG TTG ACC CTT ATG GGA AGA AGC TTC GTA GTC GTA TTC TTT GAA CAT TTG GCT CTG GAT				
[2202]	Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu Val Asn Arg Asp Leu				
[2203]	481	485	hVEGFR2 IG 结构域3	495	500
[2204]	1510	1520	1530	1540	1550 1560
[2205]	*	*	*	*	*
[2206]	AAA ACC CAG TCT GGG AGT GAG ATG AAG AAA TTT TTG AGC ACC TTA ACT ATA GAT GGT GTA				
[2207]	TTT TGG GTC AGA CCC TCA CTC TAC TTC TTT AAA AAC TCG TGG AAT TGA TAT CTA CCA CAT				
[2208]	Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val				
[2209]	501	505	hVEGFR2 IG 结构域3	515	520
[2210]	1570	1580	1590	1600	1610 1620
[2211]	*	*	*	*	*
[2212]	ACC CGG AGT GAC CAA GGA TTG TAC ACC TGT GCA GCA TCC AGT GGG CTG ATG ACC AAG AAG				
[2213]	TGG GCC TCA CTG GTT CCT AAC ATG TGG ACA CGT CGT AGG TCA CCC GAC TAC TGG TTC TTC				
[2214]	Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys				
[2215]	521	525	hVEGFR2 IG 结构域3	535	540
[2216]	1630	1640	1650	1660	1670 1680
[2217]	*	*	*	*	*
[2218]	AAC AGC ACA TTT GTC AGG GTC CAT GAA AAA CTC GAG GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG				
[2219]	TTG TCG TGT AAA CAG TCC CAG GTA CTT TTT GAG CTC CTG TTT TGA GTG TGT ACG GGT GGC				
[2220]	Asn Ser Thr Phe Val Arg Val His Glu Lys Leu Glu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro				
[2221]	541	hVEGFR2 IG DOMAIN 3	550 551	hFC 结构域	560
[2222]	1690	1700	1710	1720	1730 1740
[2223]	*	*	*	*	*
[2224]	TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG				
[2225]	ACG GGT CGT GGA CTT GAG GAC CCC CCT GGC AGT CAG AAG GAG AAG GGG GGT TTT GGG TTC				
[2226]	Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys				
[2227]	561	565	hFC 结构域	575	580
[2228]	1750	1760	1770	1780	1790 1800
[2229]	*	*	*	*	*
[2230]	GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGG CAC				
[2231]	CTG TGG GAG TAC TAG AGG GCC TGG GGA CTC CAG TGT ACG CAC CAC CAC CTG CAC TCG GTG				
[2232]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His				
[2233]	581	585	hFC 结构域	595	600

[2234]	1810	1820	1830	1840	1850	1860
[2235]	*	*	*	*	*	*
[2236]	GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG					
[2237]	CTT CTG GGA CTC CAG TTC AAG TTG ACC ATG CAC CTG CCG CAC CTC CAC GTA TTA CGG TTC					
[2238]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
[2239]	601	605	hFC 结构域	615		620
[2240]	1870	1880	1890	1900	1910	1920
[2241]	*	*	*	*	*	*
[2242]	ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC					
[2243]	TGT TTC GGC GCC CTC CTC GTC ATG TTG TCG TGC ATG GCA CAC CAG TCG CAG GAG TGG CAG					
[2244]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val					
[2245]	621	625	hFC 结构域	635		640
[2246]	1930	1940	1950	1960	1970	1980
[2247]	*	*	*	*	*	*
[2248]	CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC					
[2249]	GAC GTG GTC CTG ACC GAC TTA CCG TTC CTC ATG TTC ACG TTC CAG AGG TTG TTT CGG GAG					
[2250]	Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu					
[2251]	641	645	hFC 结构域	655		660
[2252]	1990	2000	2010	2020	2030	2040
[2253]	*	*	*	*	*	*
[2254]	CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG					
[2255]	GGT CGG GGG TAG CTC TTT TGG TAG AGG TTT CGG TTT CCC GTC GGG GCT CTT GGT GTC CAC					
[2256]	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[2257]	661	665	hFC 结构域	675		680
[2258]	2050	2060	2070	2080	2090	2100
[2259]	*	*	*	*	*	*
[2260]	TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG					
[2261]	ATG TGG GAC GGG GGT AGG GCC CTC CTC TAC TGG TTC TTG GTC CAG TCG GAC TGG ACG GAC					
[2262]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
[2263]	681	685	hFC 结构域	695		700
[2264]	2110	2120	2130	2140	2150	2160
[2265]	*	*	*	*	*	*
[2266]	GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG					
[2267]	CAG TTT CCG AAG ATA GGG TCG CTG TAG CGG CAC CTC ACC CTC TCG TTA CCC GTC GGC CTC					
[2268]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu					
[2269]	701	705	hFC 结构域	715		720
[2270]	2170	2180	2190	2200	2210	2220
[2271]	*	*	*	*	*	*
[2272]	AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC					
[2273]	TTG TTG ATG TTC TGG TGC GGA GGG CAC GAC CTG AGG CTG CCG AGG AAG AAG GAG ATG TCG					
[2274]	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser					
[2275]	721	725	hFC 结构域	735		740
[2276]	2230	2240	2250	2260	2270	2280

[2277] * * * * *

[2278] AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG

[2279] TTC GAG TGG CAC CTG TTC TCG TCC ACC GTC GTC CCC TTG CAG AAG AGT ACG AGG CAC TAC

[2280] Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[2281] 741_____745_____hFC结构域_____755_____760

[2282] 2290 2300 2310 2320 2330 2340

[2283] * * * * *

[2284] CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA TGA (SEQ ID NO:21)

[2285] GTA CTC CGA GAC GTG TTG GTG ATG TGC GTC TTC TCG GAG AGG GAC AGA GGC CCA TTT ACT

[2286] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys * * * (SEQ ID NO:22)

[2287] 761_____765_____hFC结构域_____775_____780。

VEGFR1 和 Tie2 的示意图

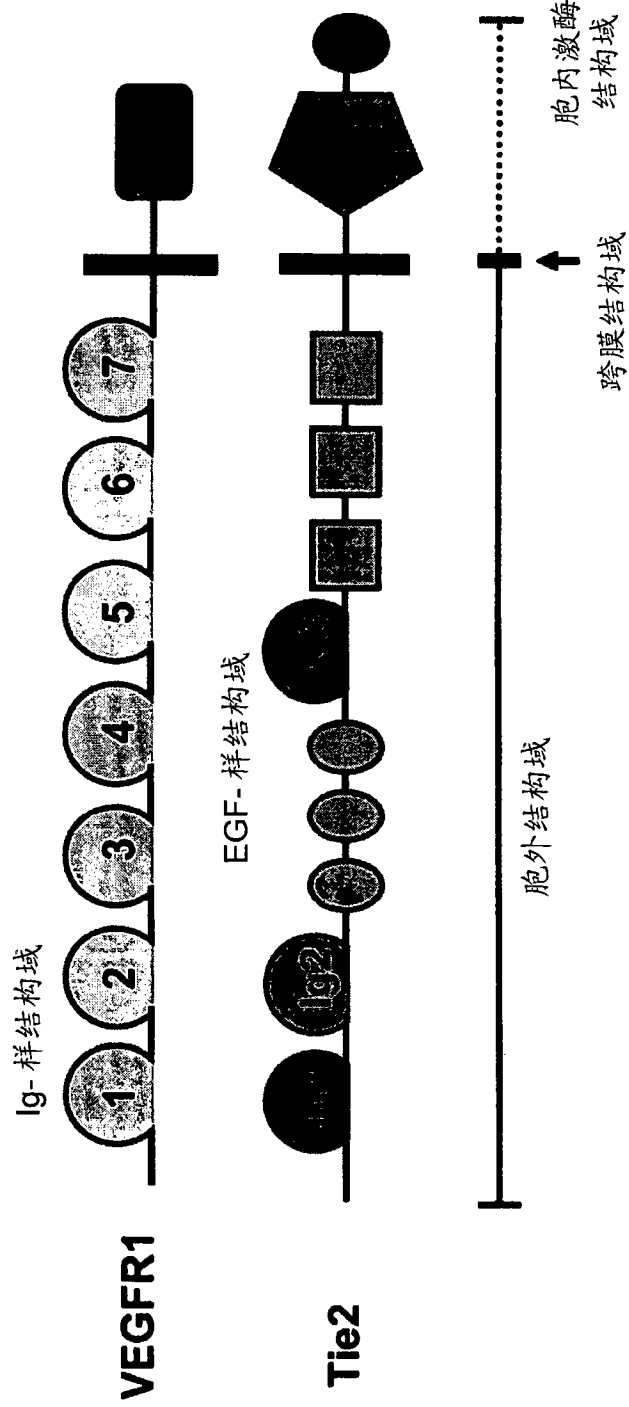


图1

来自结构的启示

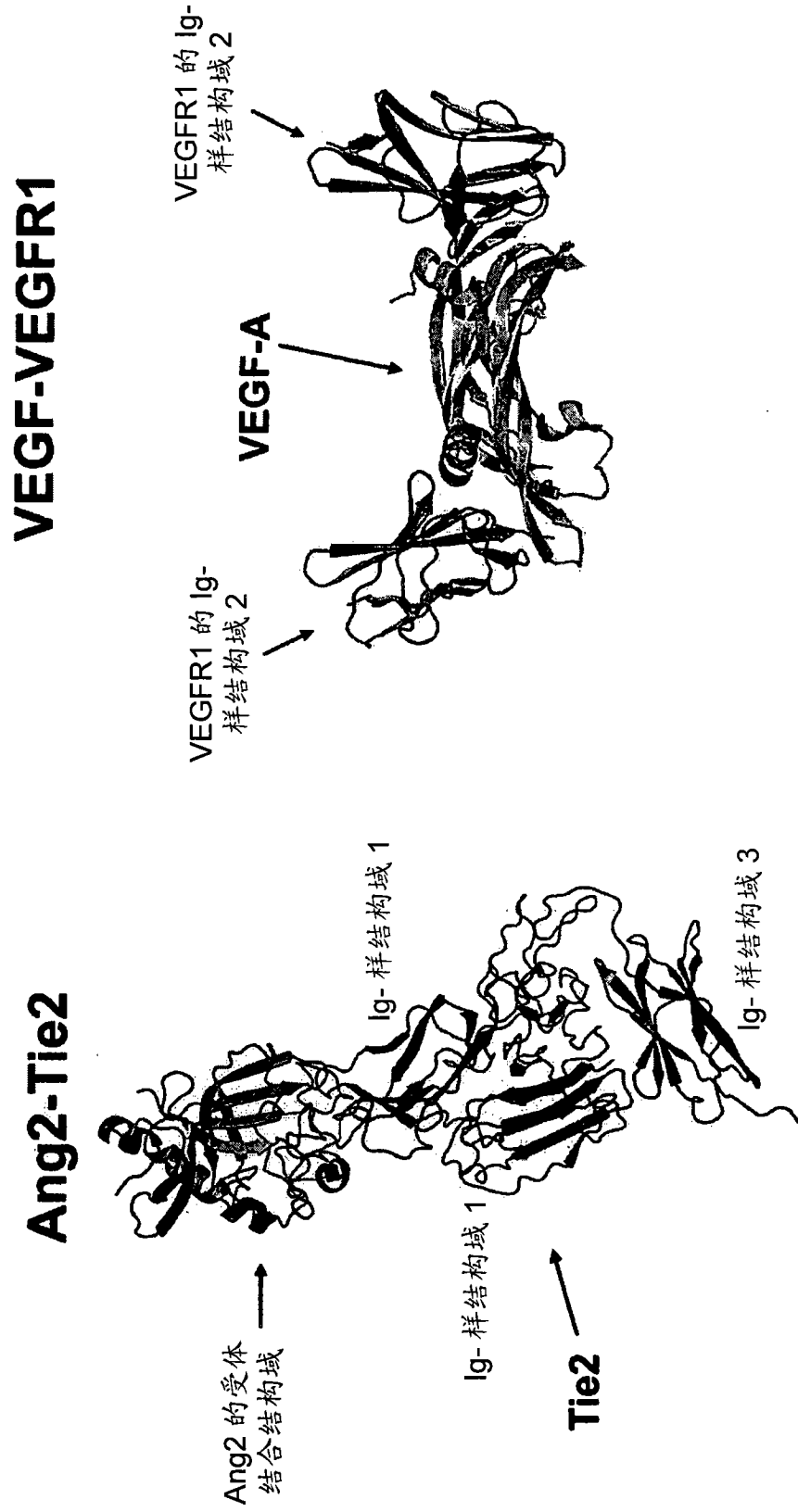


图2

DAAP 构建体的示意图

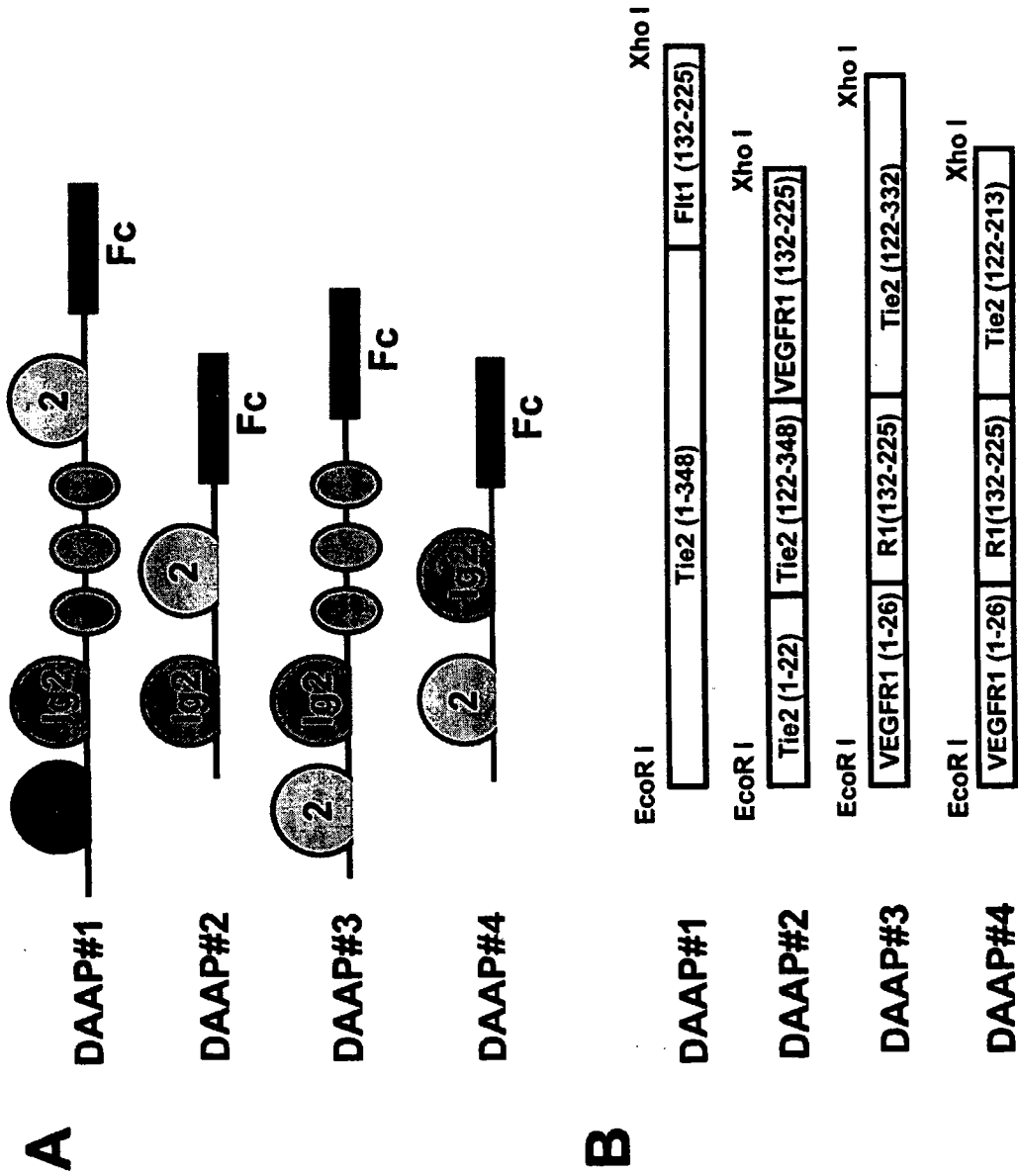


图3

pCMV-dhfr-DAAP 载体的产生

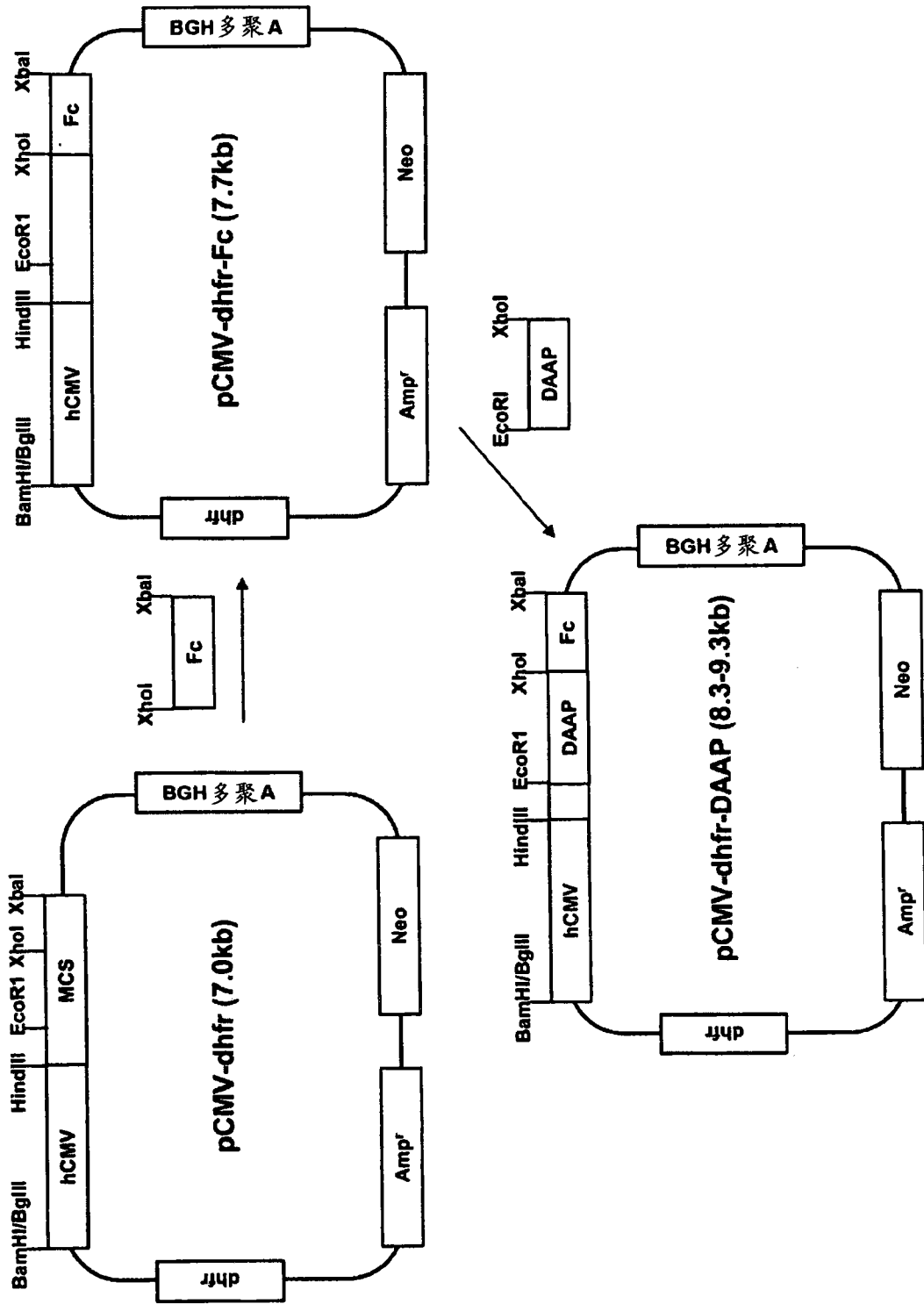


图4

修饰的 DAAP 构建体的示意图

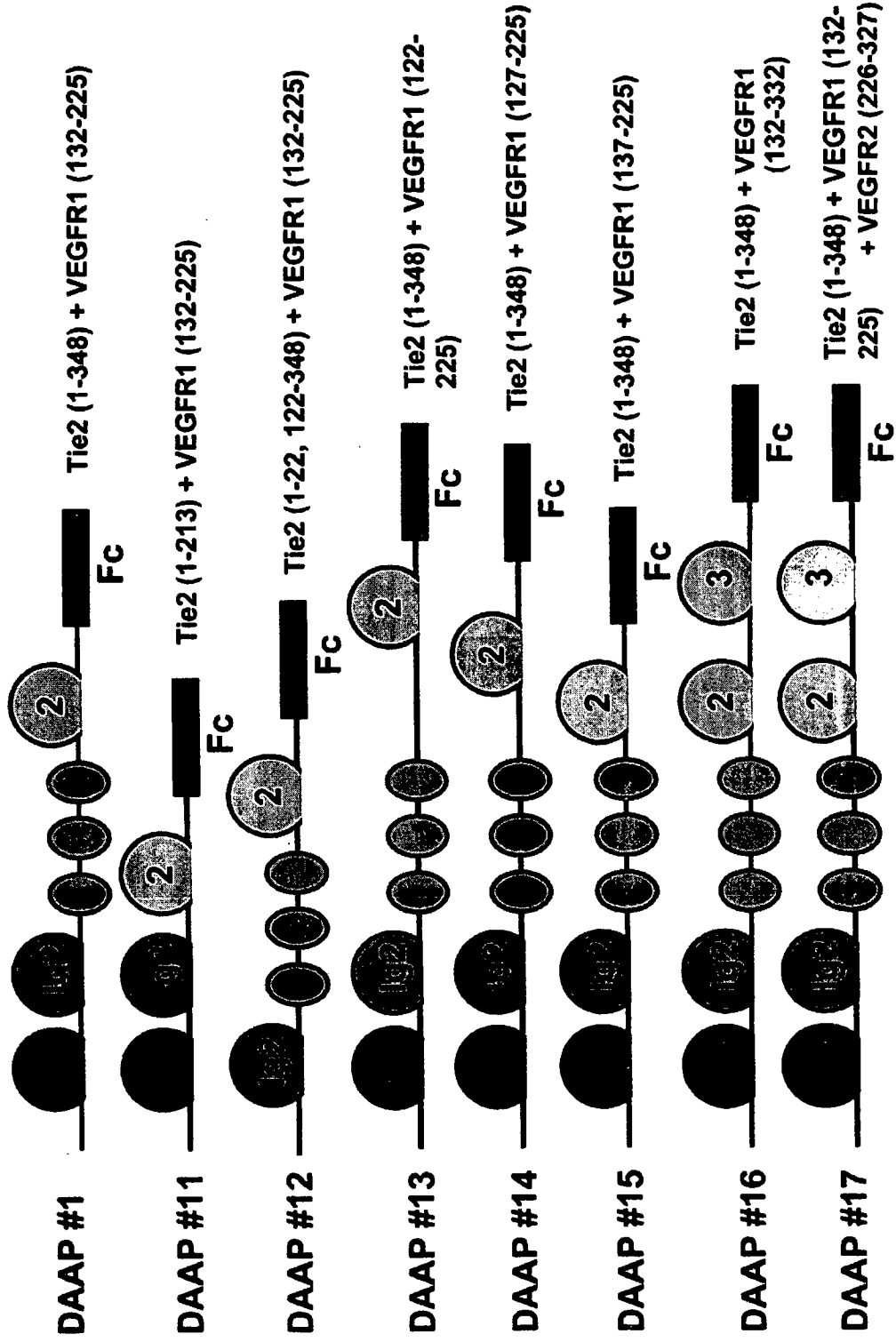


图5

DAAP 的示意性基因构建体

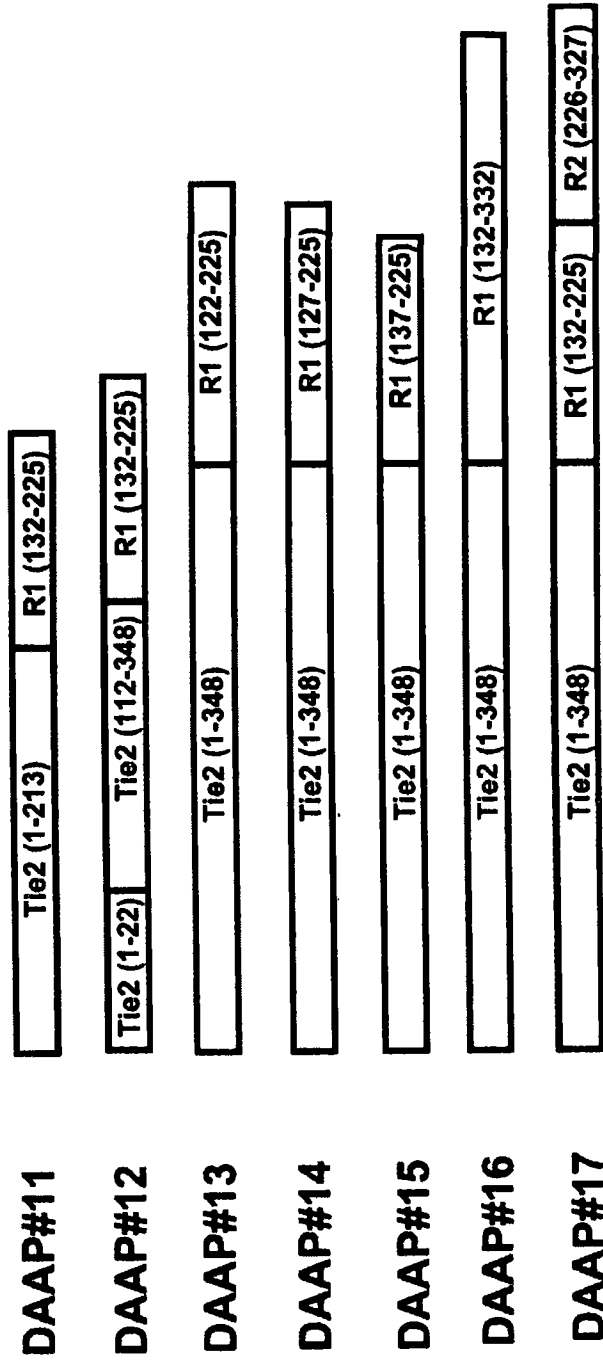


图6

对于 DAAP 的蛋白表达的蛋白质印迹分析

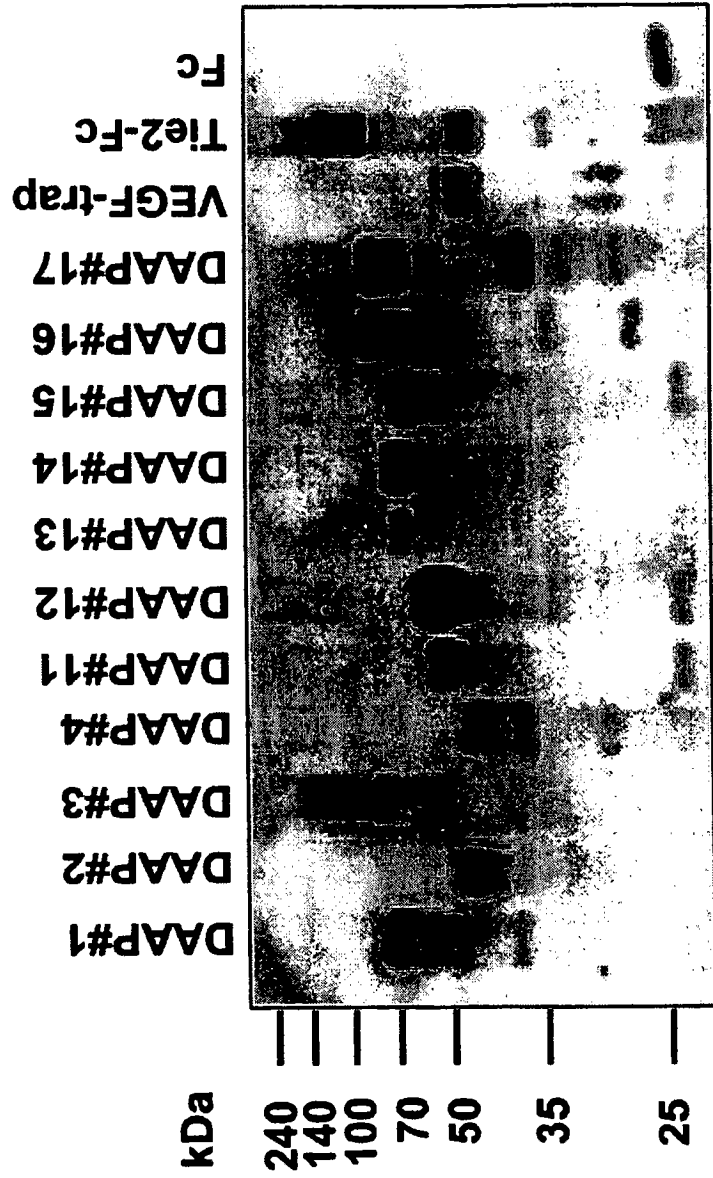


图7

对于 DAAP 与 VEGF-A 的 ELISA 结合测定

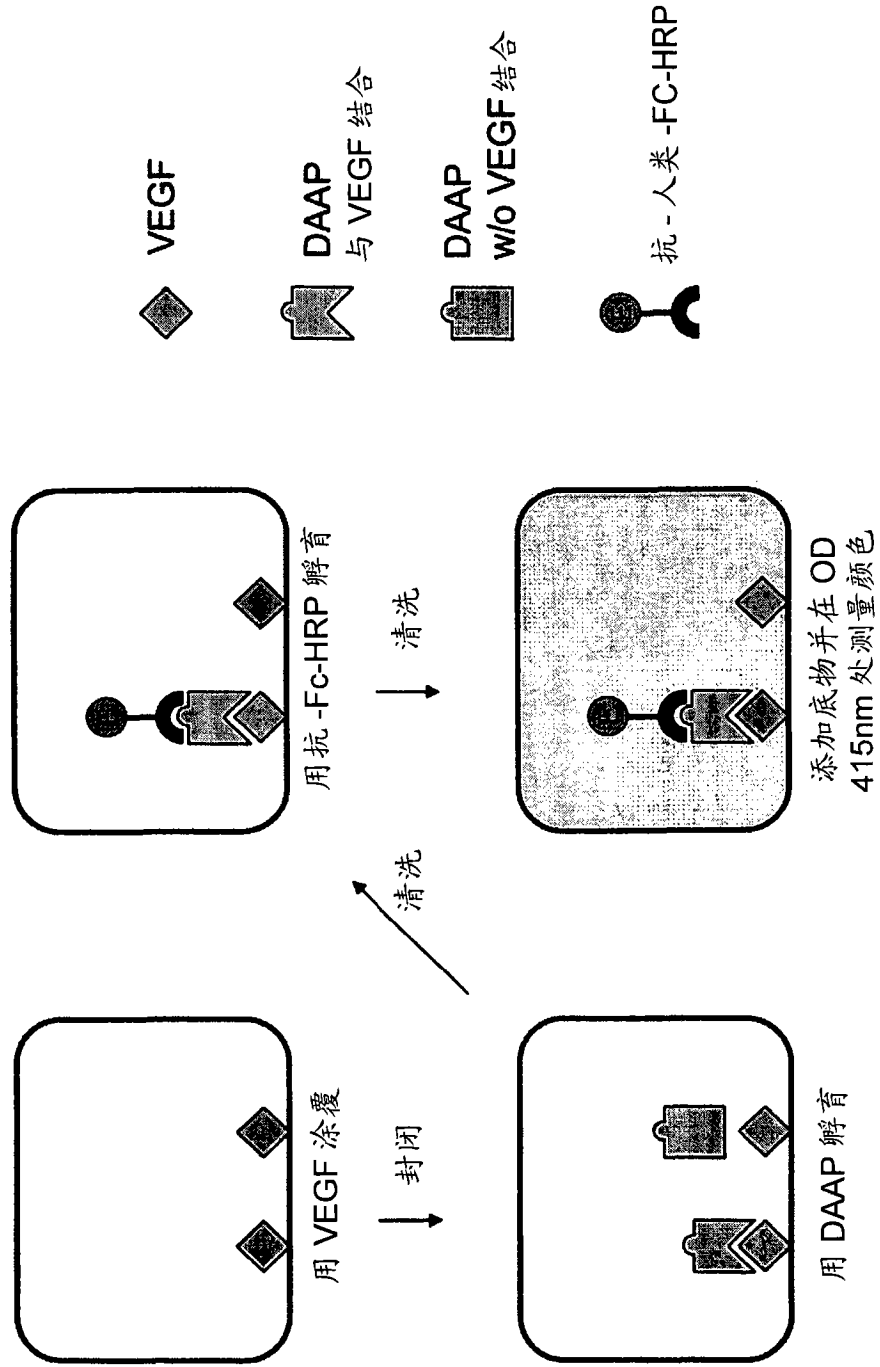


图8

对于 DAAP 与 Ang2 的 ELISA 结合测定

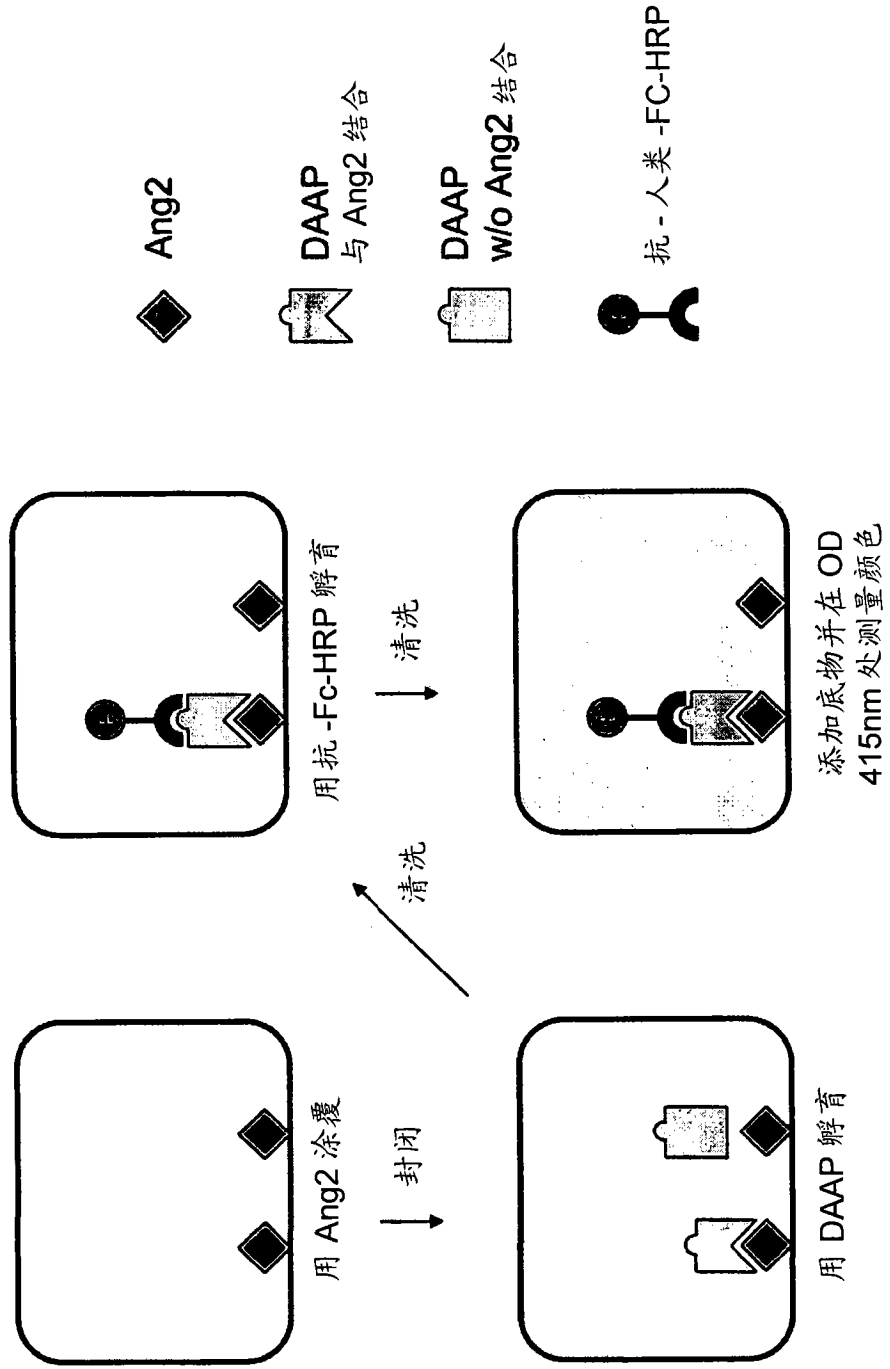


图9

DAAP: 对于 DAAP 与 VEGF-A 和 Ang2 的 ELISA 结合测定

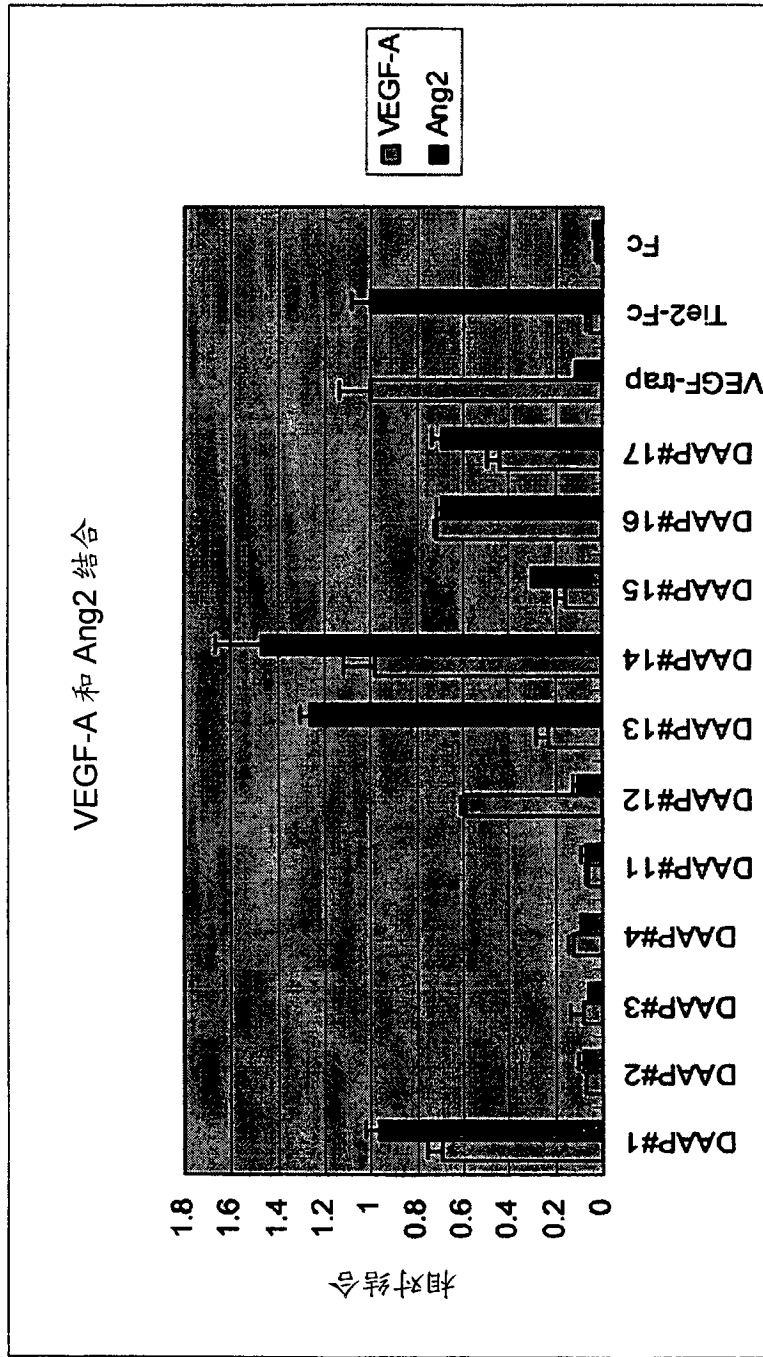


图10

DAAP 与 VEGF-A 和 Ang2 的竞争性结合; ELISA 结合测定

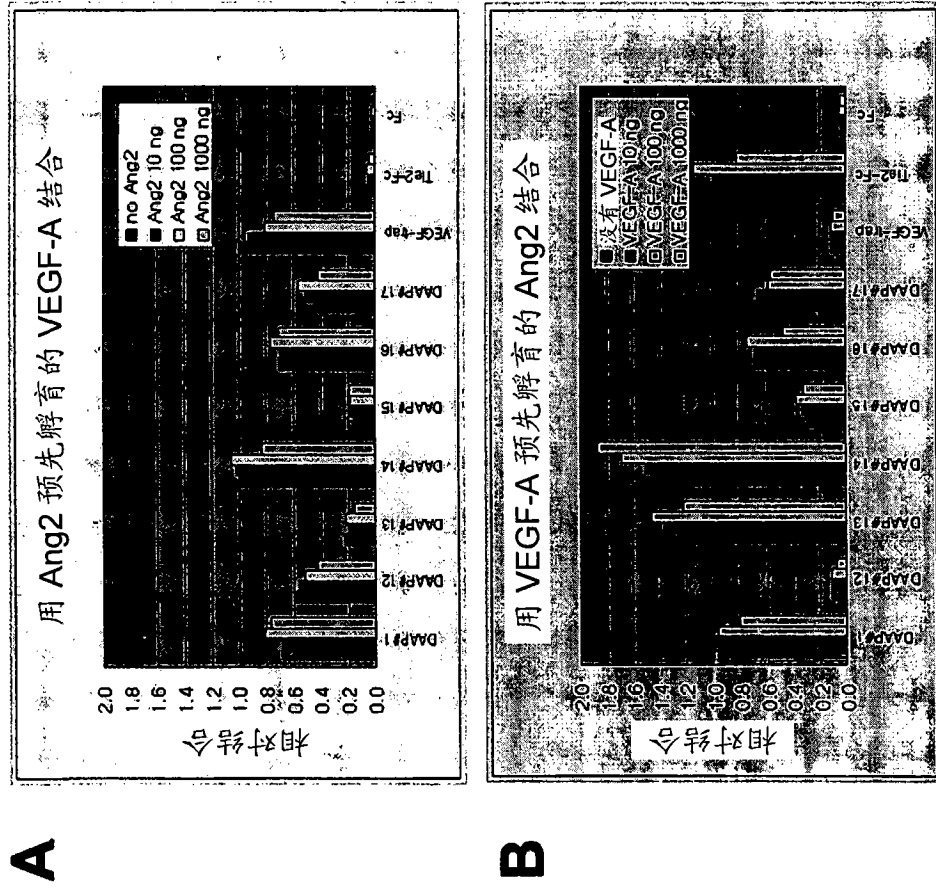


图11

DAAP 与 VEGF-A 和 Ang2 的独立结合

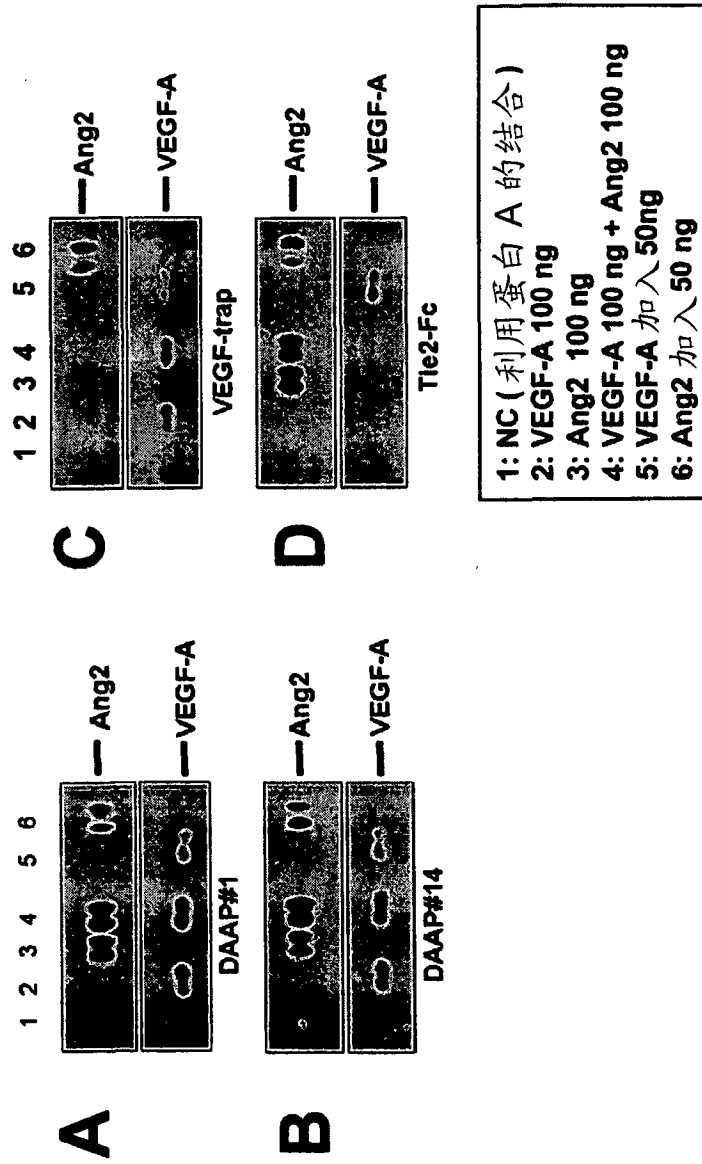


图12

能够同时结合 VEGF 和血管生成素的 DAAP

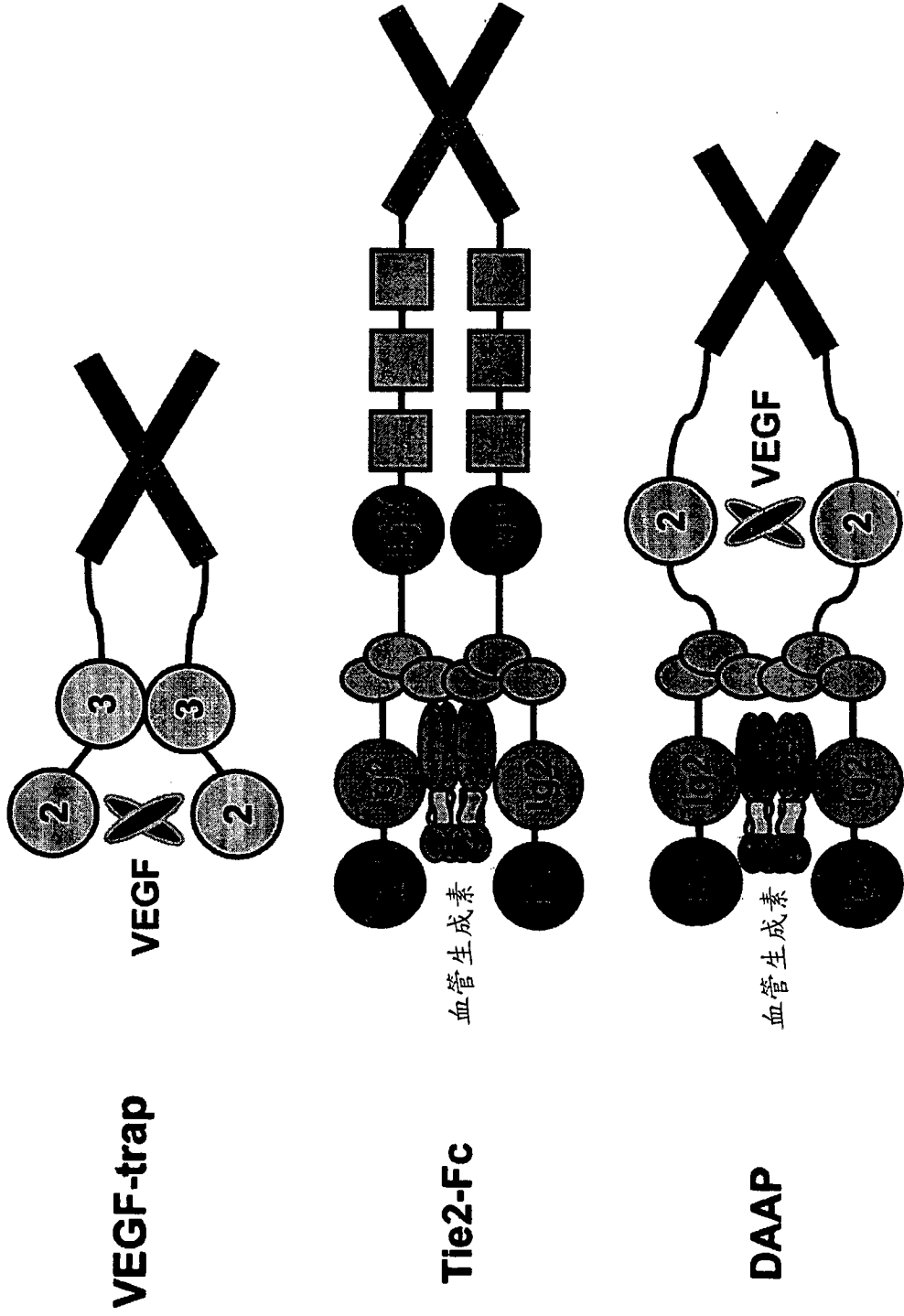


图13

DAAP#1 的产生和纯化

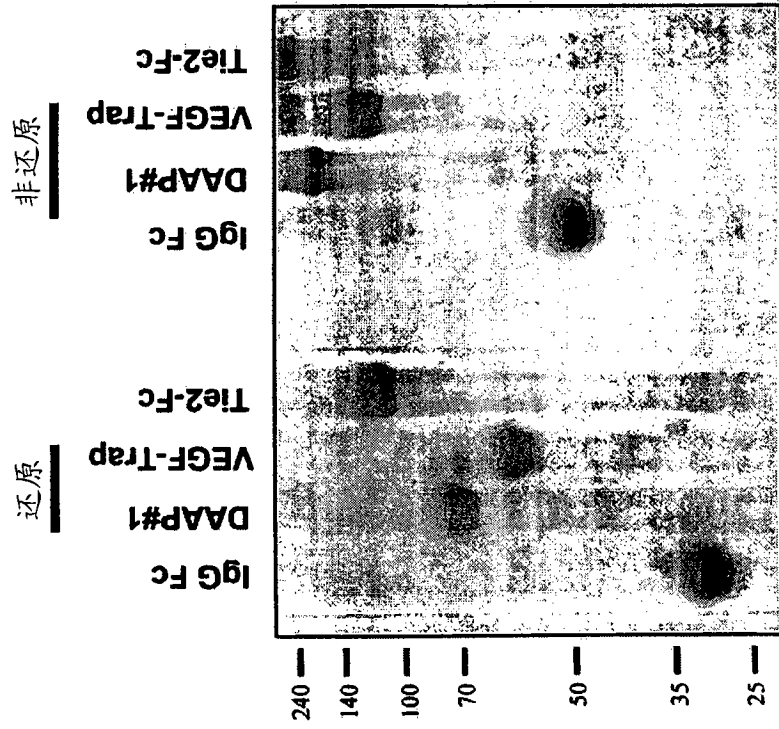


图14

DAAP#1 的 ELISA 结合测定

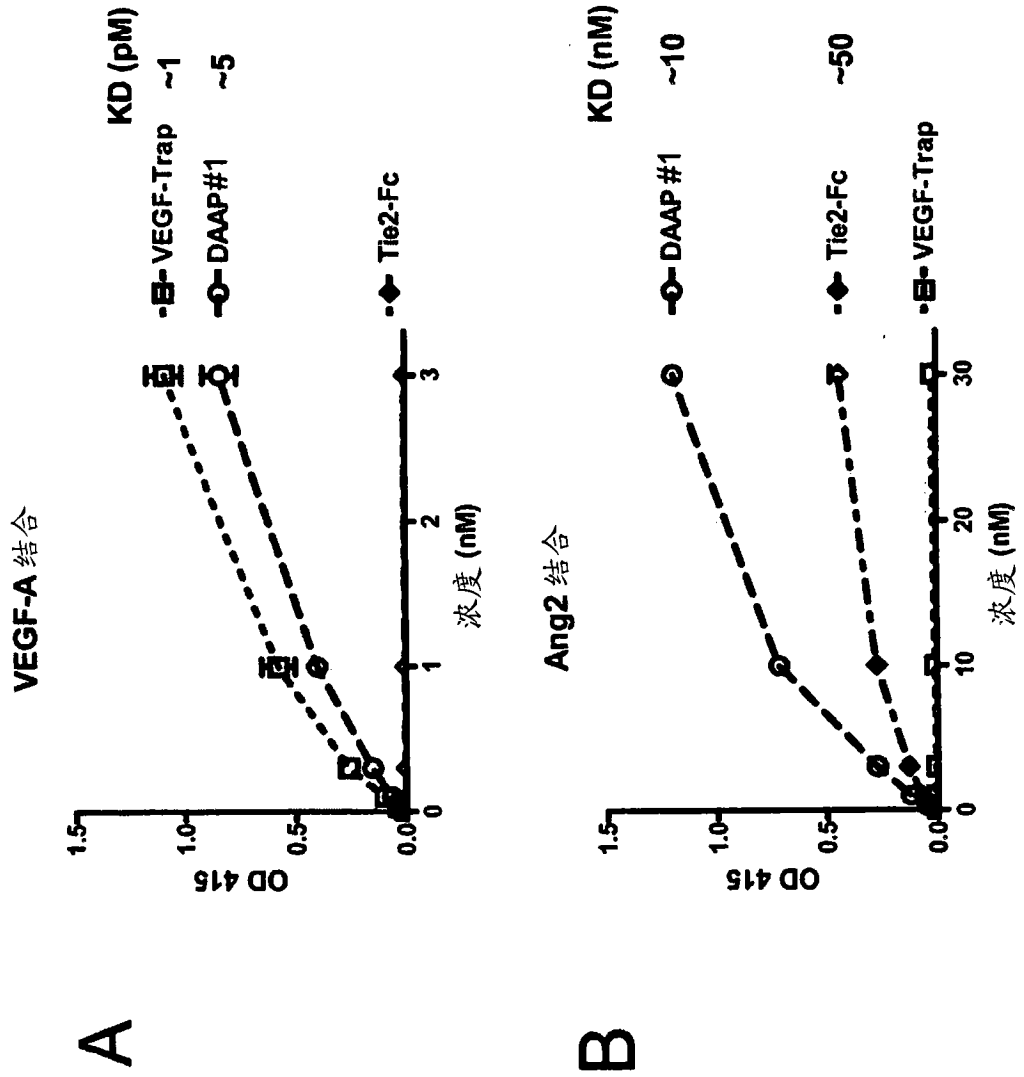


图15

DAAP#1 与 VEGF-A 和 Ang2 的同时结合

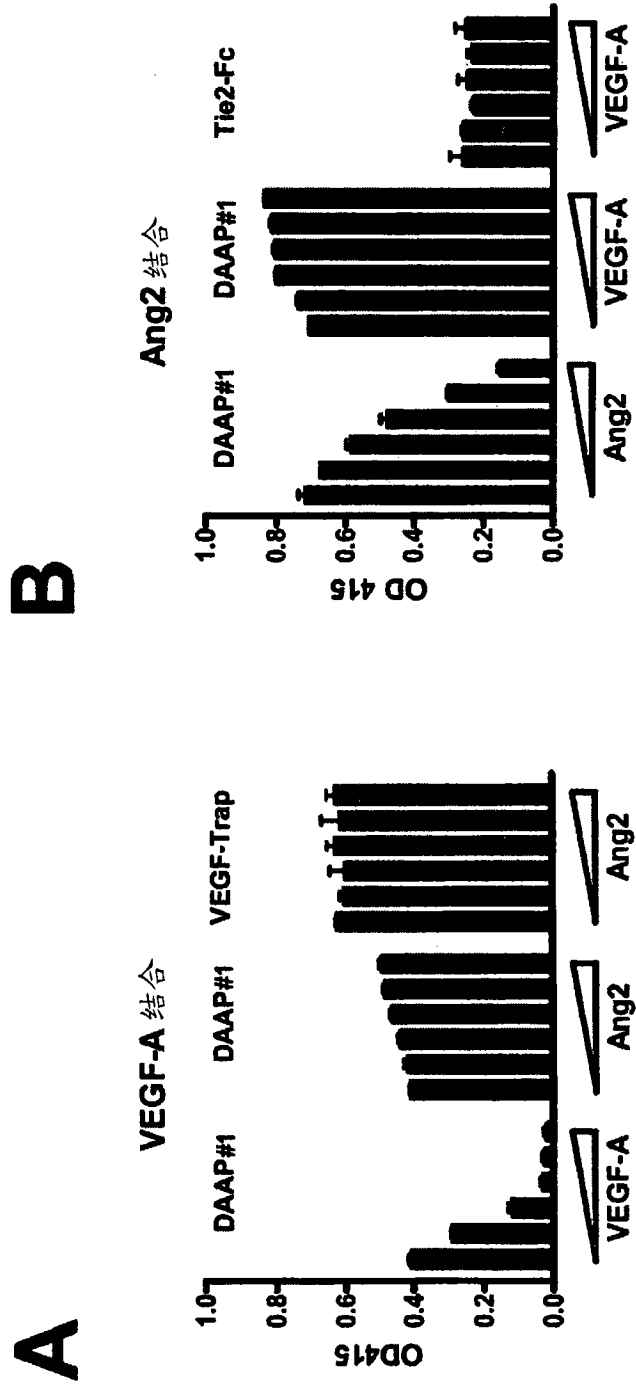


图16

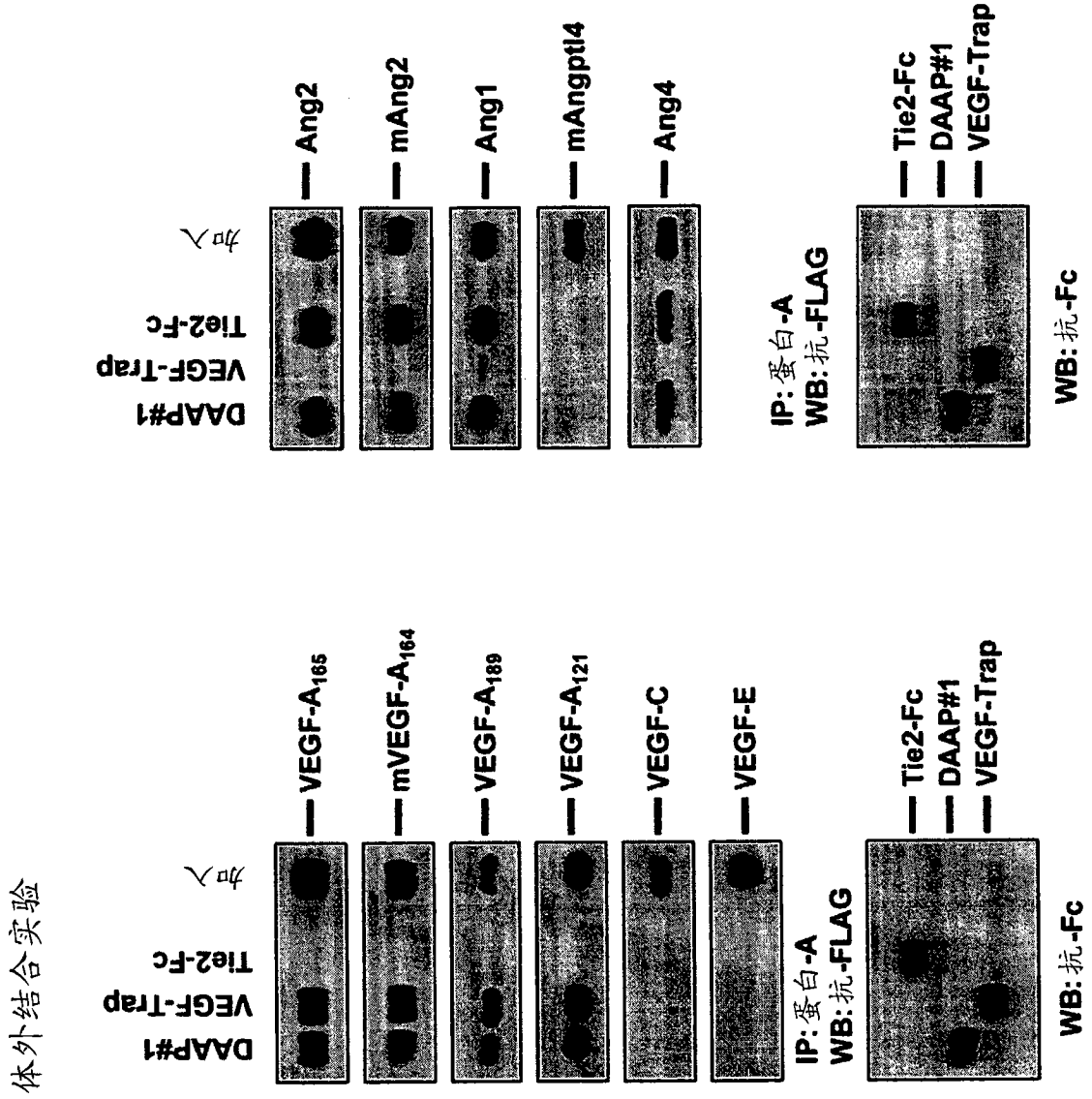


图17

DAAP 的理论 pI 值

	理论 pI
DAAP#1	7.74
DAAP#2	8.45
DAAP#3	7.17
DAAP#4	8.44
DAAP#11	8.74
DAAP#12	7.18
DAAP#13	7.50
DAAP#14	7.50
DAAP#15	7.50
DAAP#16	8.64
DAAP#17	8.15
VEGFR1(2)	9.19
VEGFR1(2-3)	9.64
VECF-tap	8.64
Tie2-Fc	6.39

图18

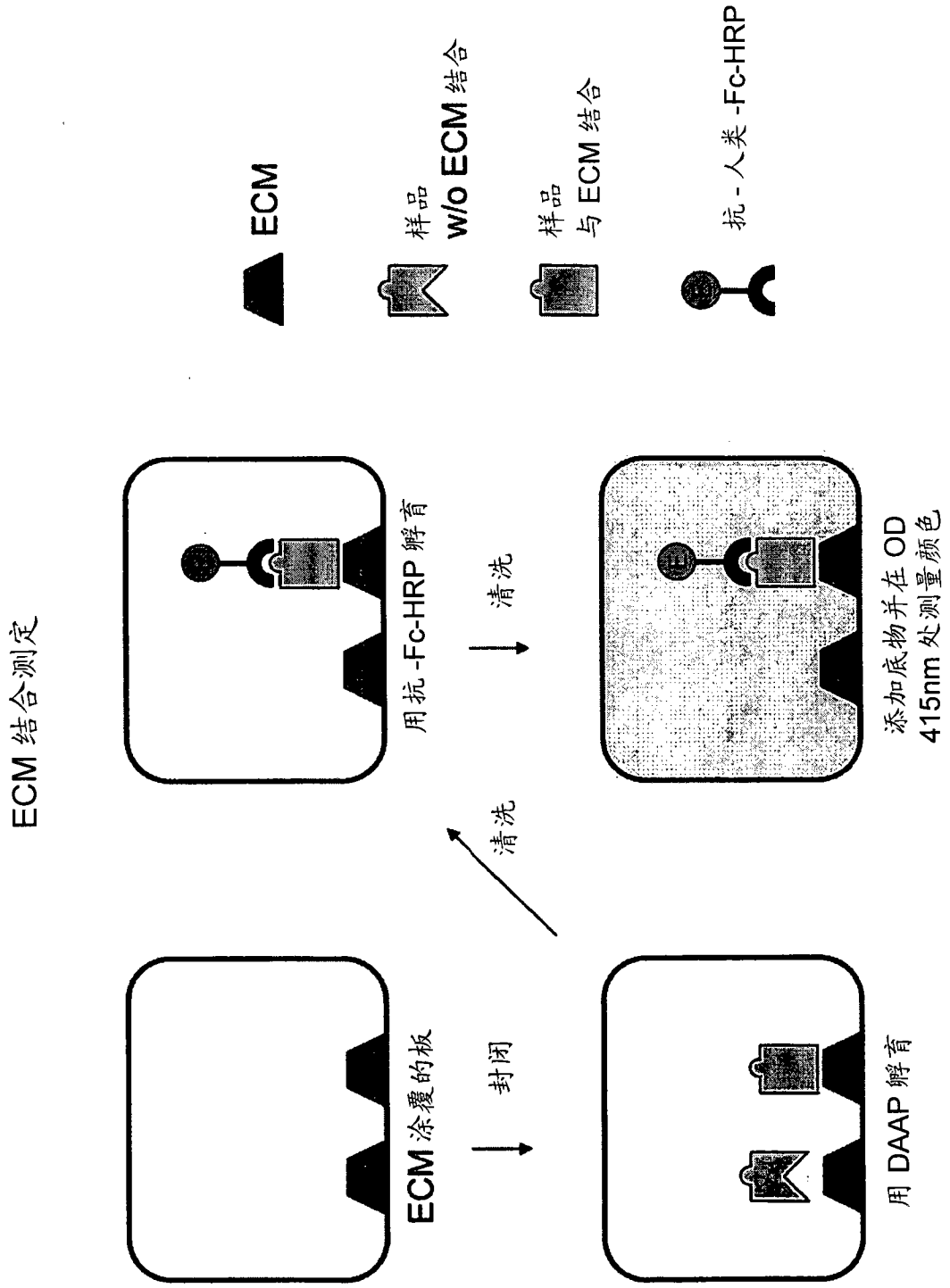


图19

ECM 结合测定

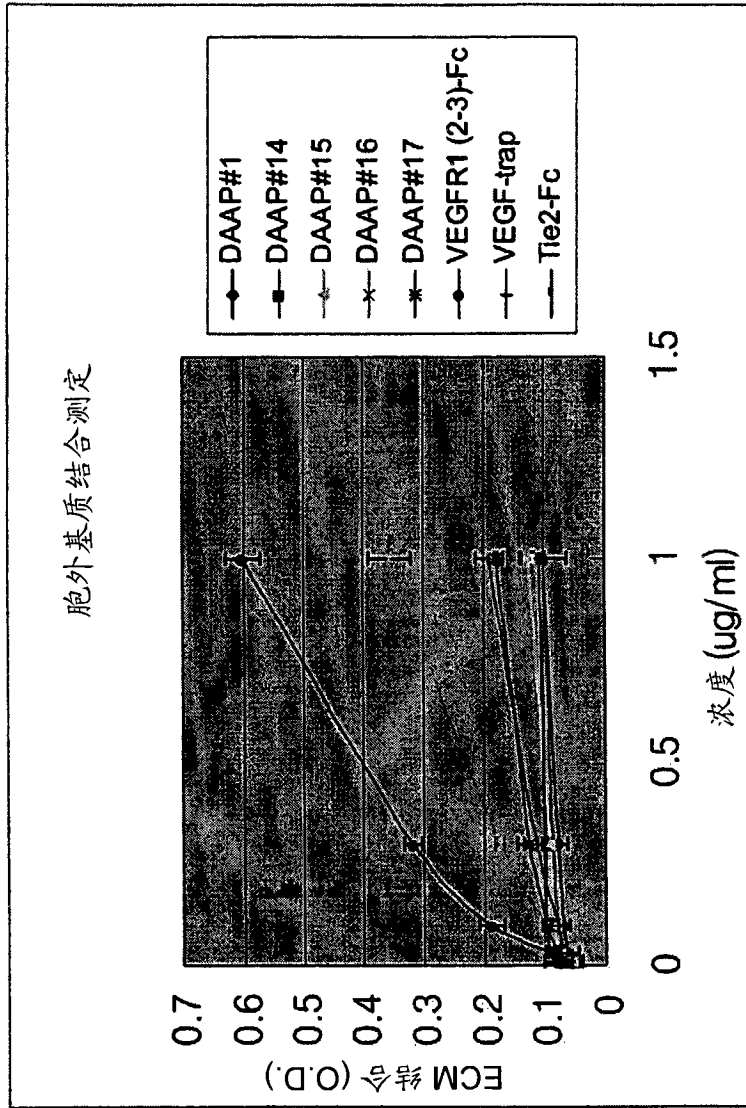


图20

胞外基质结合测定

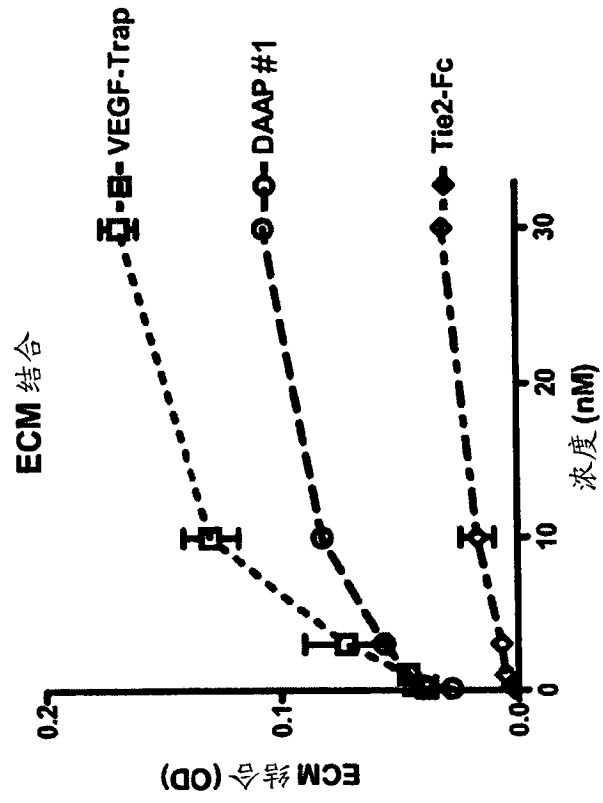


图21

药代动力学分析

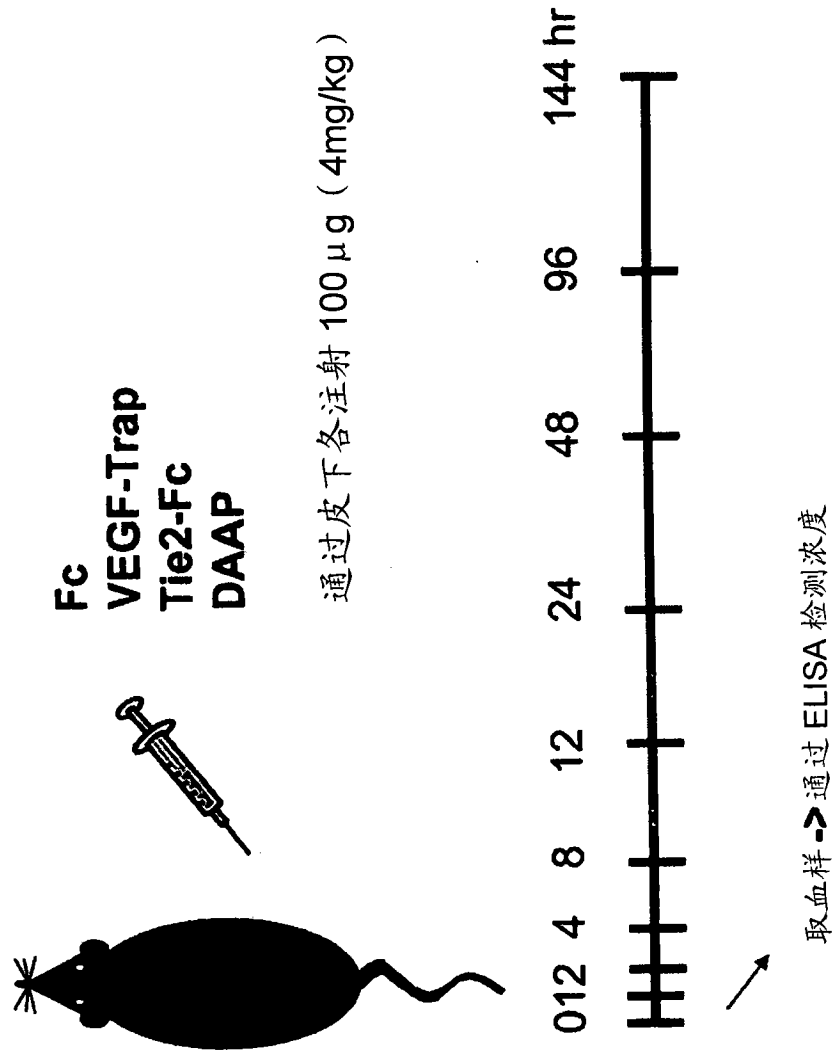


图22

药代动力学谱图

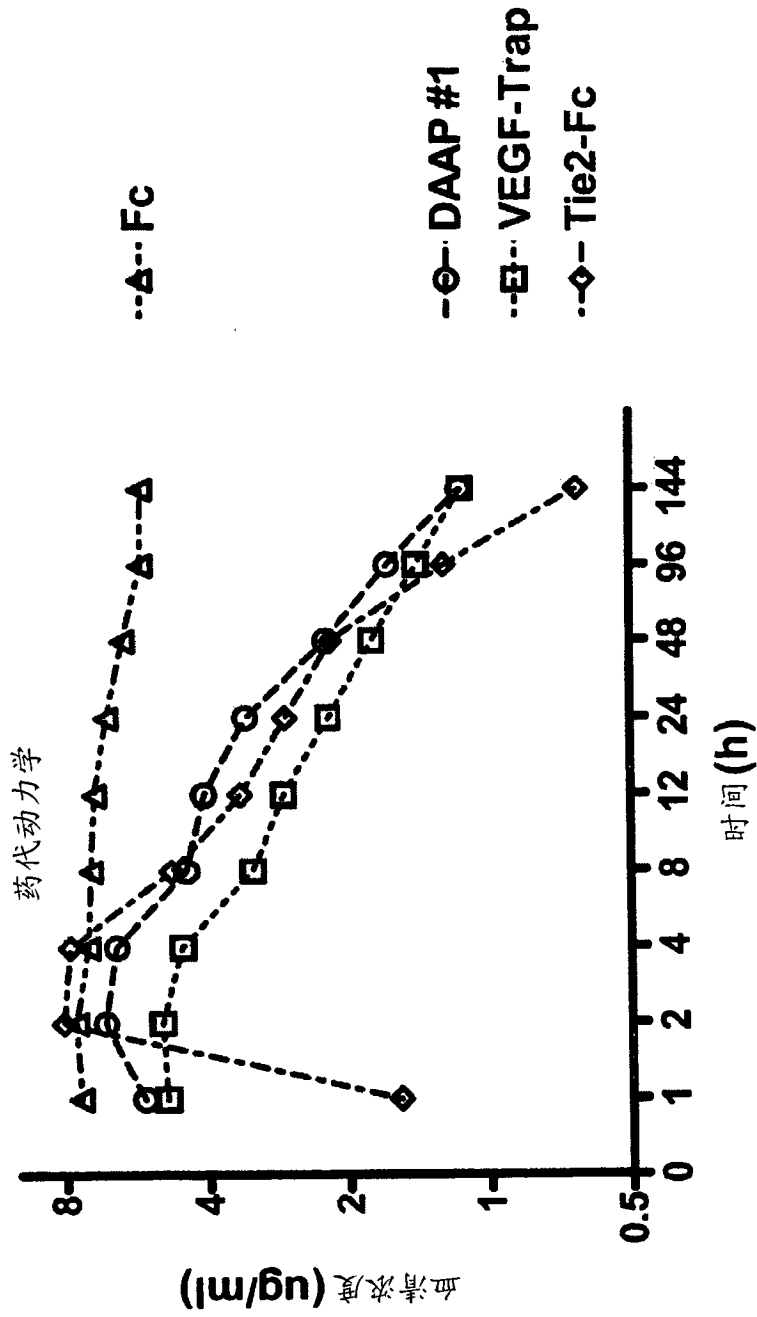


图23

DAAP#1 对 LLC 肿瘤生长的作用

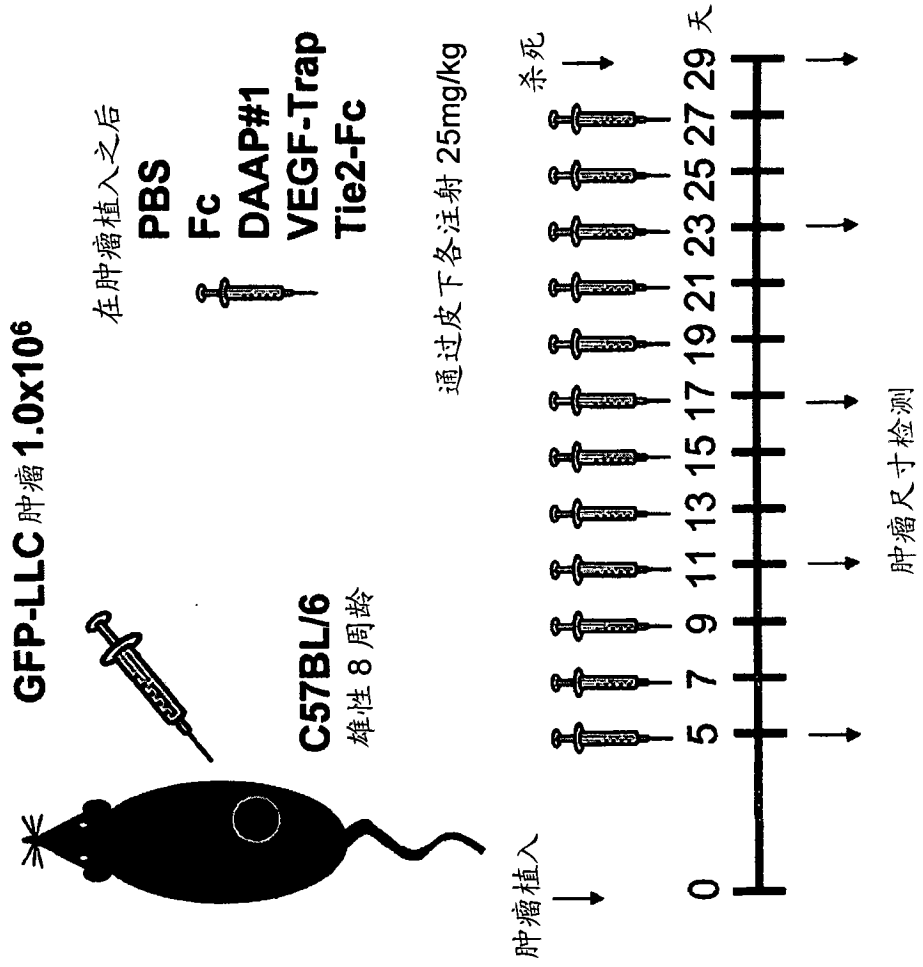


图24

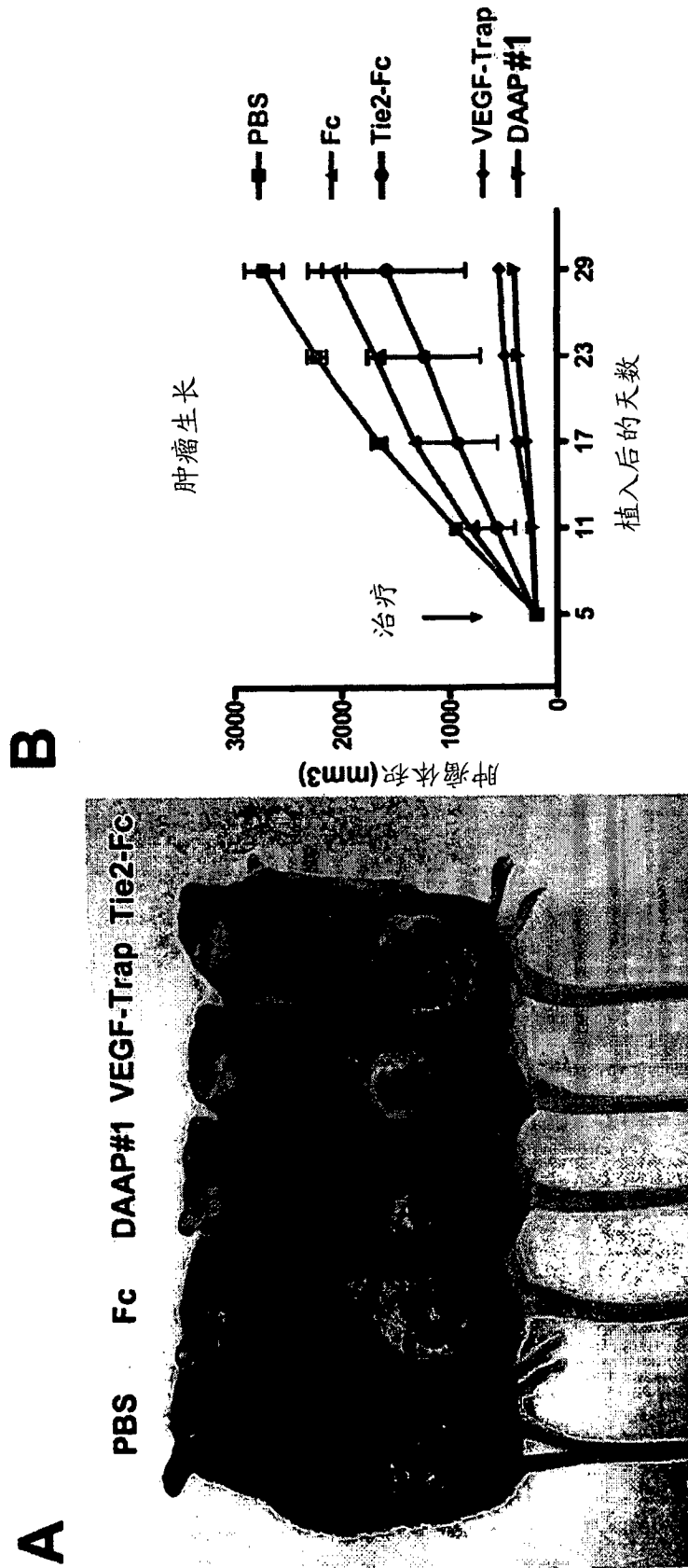


图25

Fc、VEGF-Trap 和 DAAP#1 对 LLC 肿瘤的血管的作用

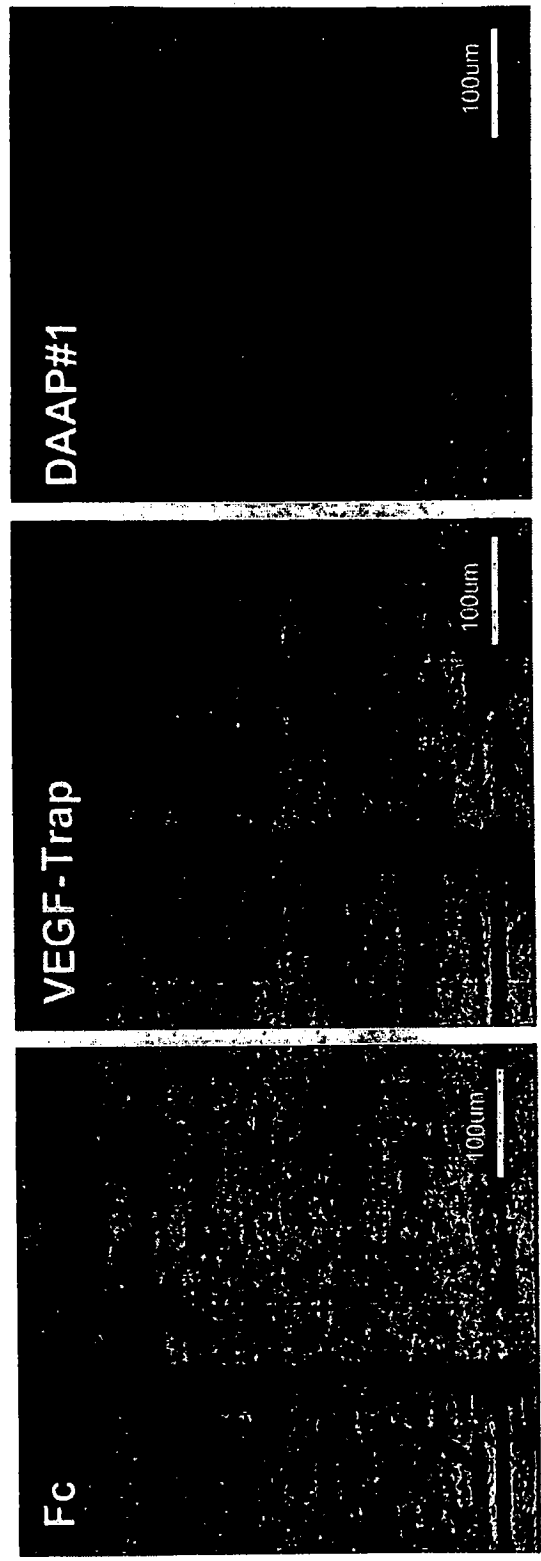


图26

对 ROP 模型的抗血管形成作用

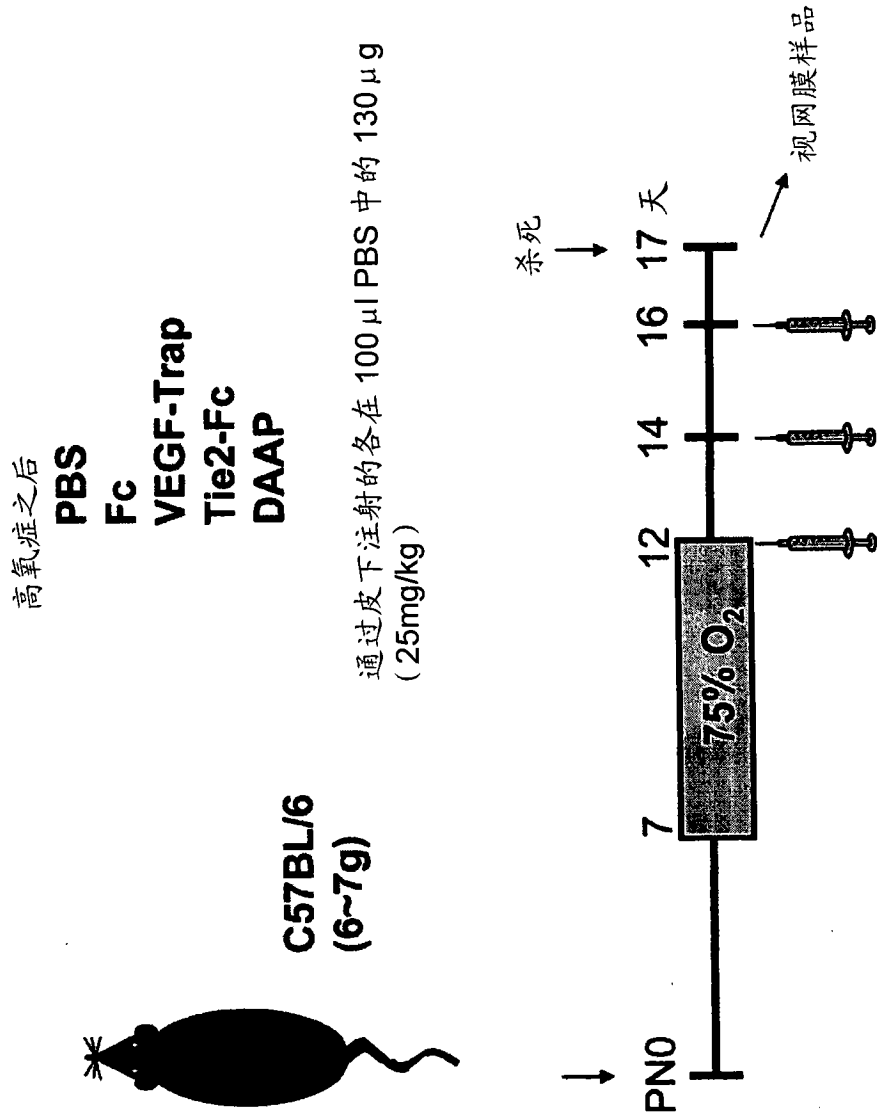
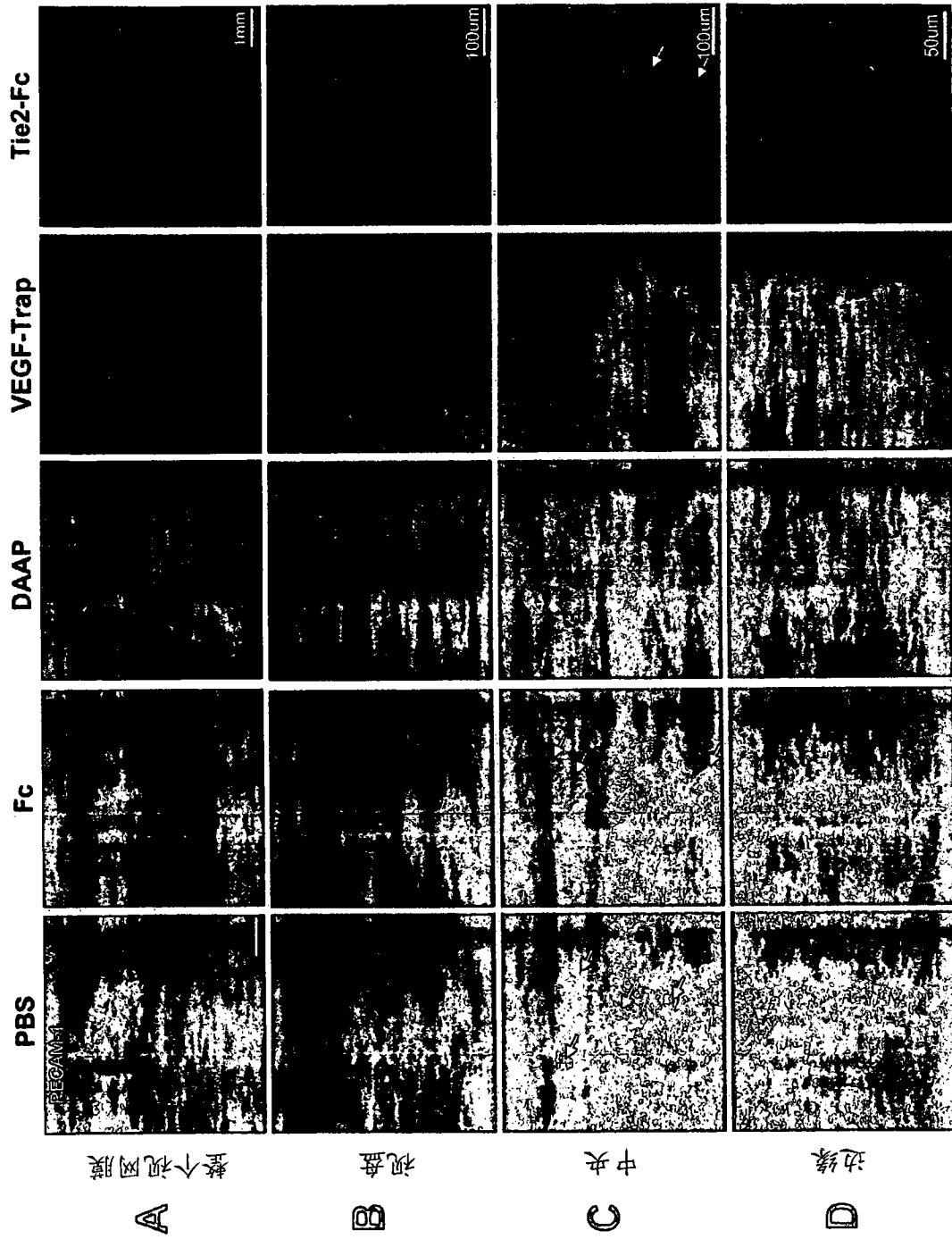


图27



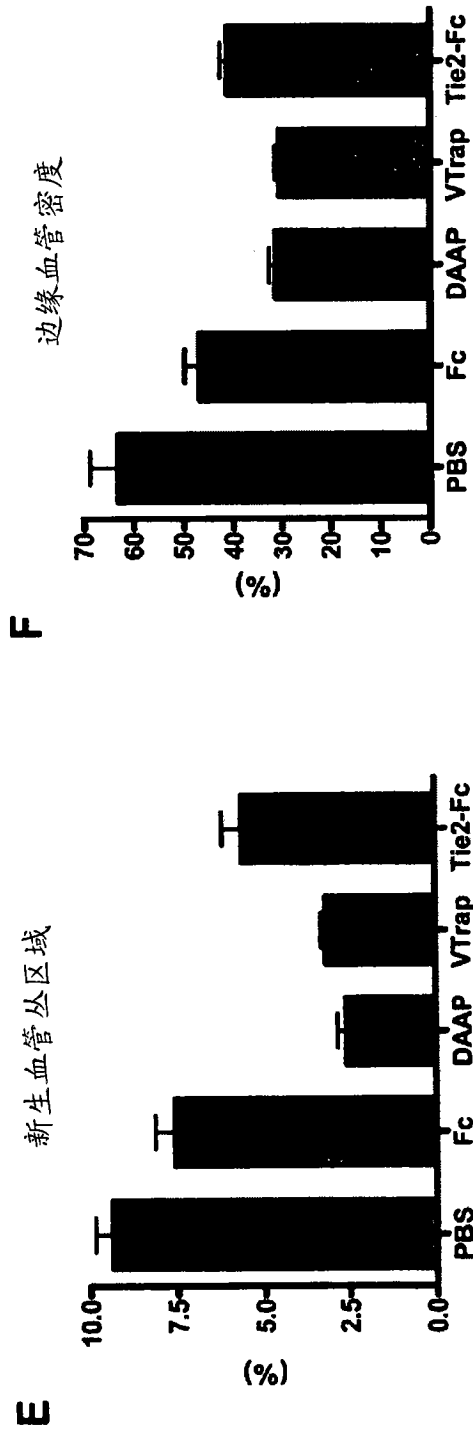


图28

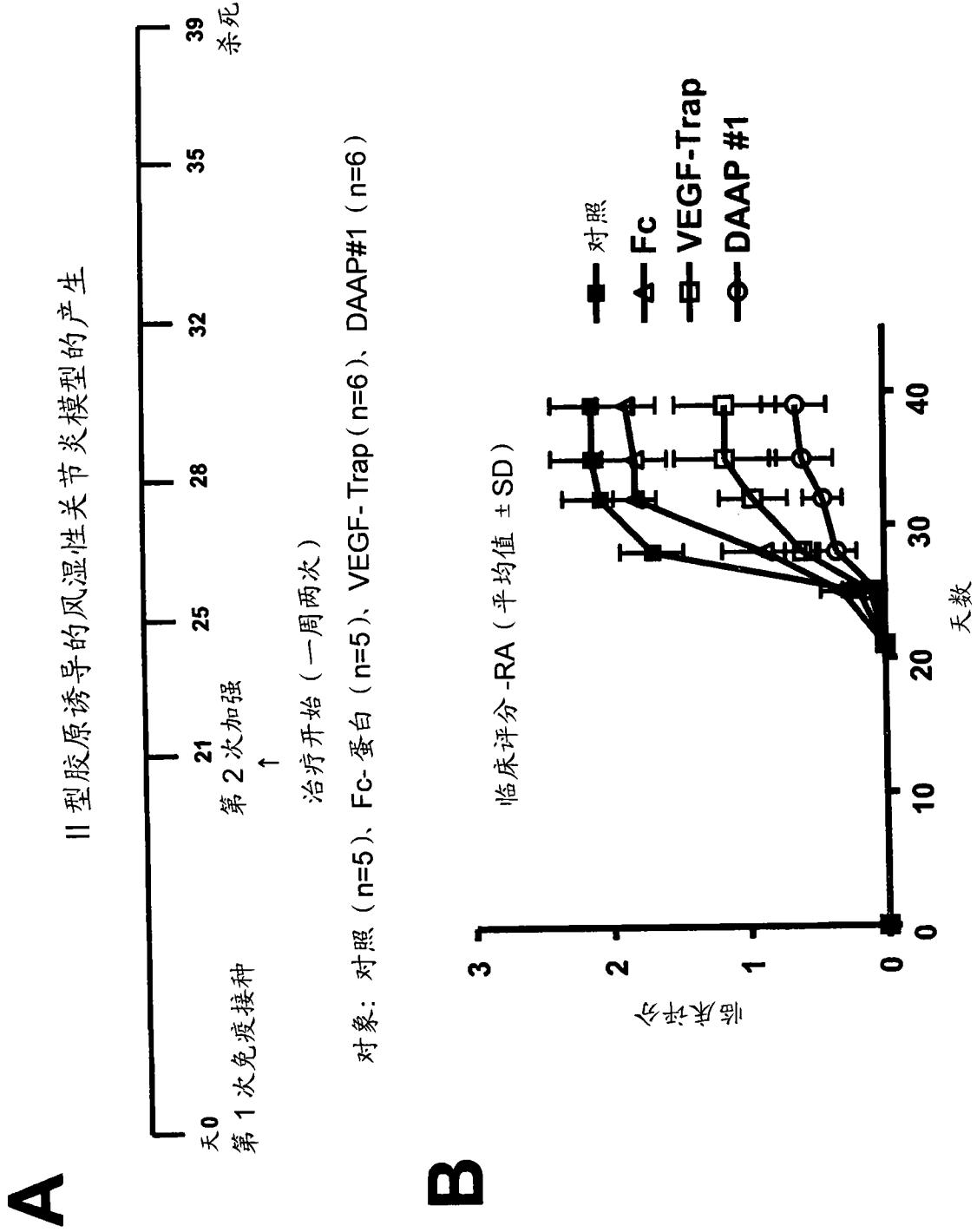


图29

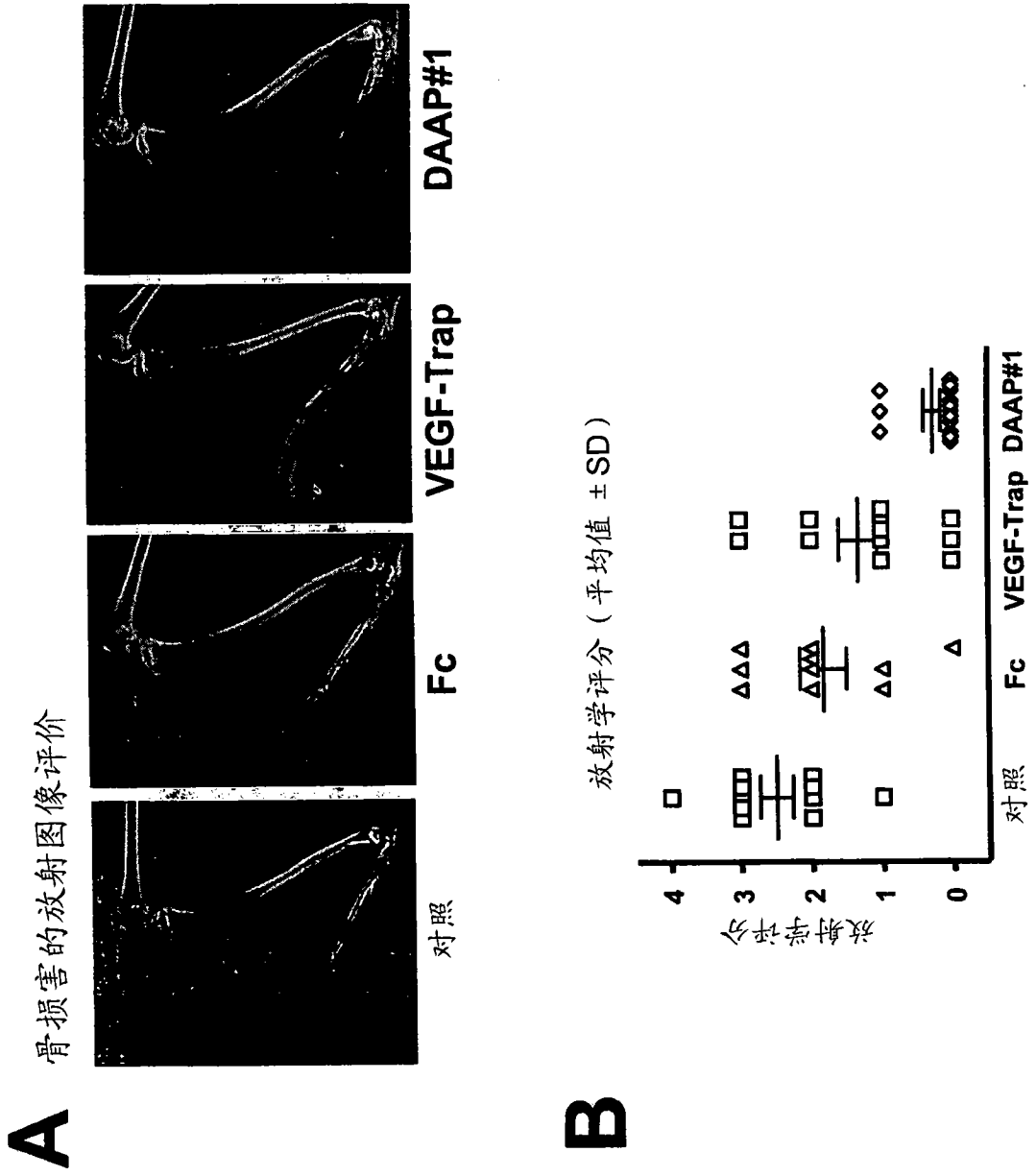


图30

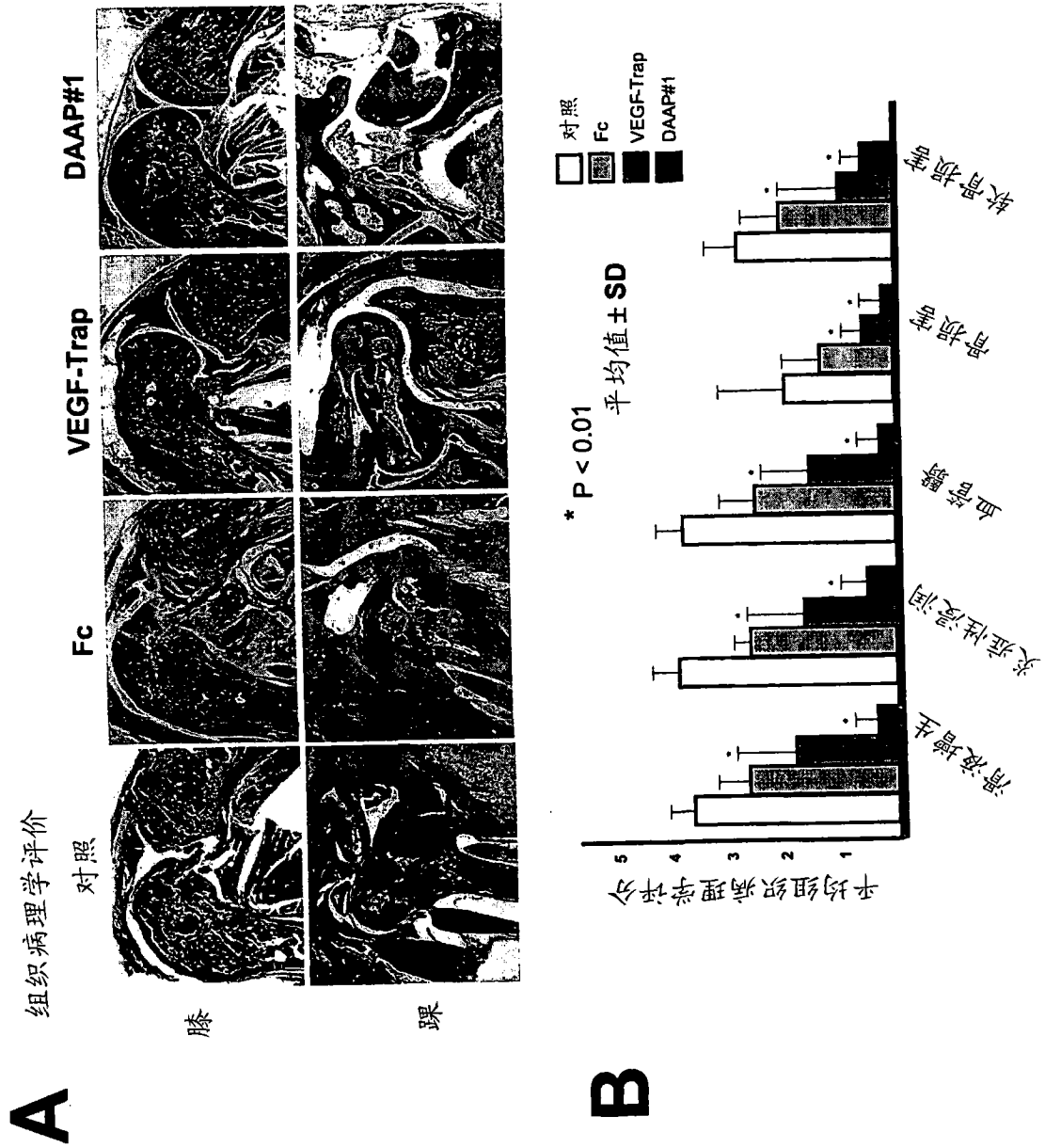


图31