(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3973050号
(P3973050)
(45)発行日　平成19年9月5日(2007.9.5)　(24)登録日　平成19年6月22日(2007.6.22)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02	ZNA
A61K 38/22	(2006.01)	A61K	37/24	
A61P 1/16	(2006.01)	A61P	1/16	

請求項の数 24　(全 93 頁)

(21)出願番号	特願平6-508342
(86)(22)出願日	平成5年9月16日(1993.9.16)
(65)公表番号	特表平8-501558
(43)公表日	平成8年2月20日(1996.2.20)
(86)国際出願番号	PCT/US1993/008808
(87)国際公開番号	WO1994/006449
(87)国際公開日	平成6年3月31日(1994.3.31)
審査請求日	平成12年9月14日(2000.9.14)
(31)優先権主張番号	946,238
(32)優先日	平成4年9月16日(1992.9.16)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	029,335
(32)優先日	平成5年3月4日(1993.3.4)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者
キュリス，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　０２１３８－１１１８
マサチューセッツ，ケンブリッジ，ムールトン　ストリート　６１
(74)代理人
弁理士　藤野　清也
(72)発明者　クベラサムパス，サンゲーベル
アメリカ合衆国　０２０５３　マサチューセッツ，メドウェイ，スプリング　ストリート　シックス
(72)発明者　ルーガー，ディヴッド　シー．
アメリカ合衆国　０１７４８　マサチューセッツ，ホプキントン，ダウネイ　ストリート　１９
最終頁に続く

(54)【発明の名称】モルフォゲン誘発性肝再生

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
分離された肝細胞がモルフォゲンに曝される工程を含む、該細胞のex vivoでの増殖を刺激する方法、
ここで該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列を含む。
【請求項２】
肝臓組織の損傷又は疾病に、又はその危険に悩まされている哺乳動物において、通常の肝機能を維持する、又は低下した肝機能を増強するための薬剤の製造においてモルフォゲンを使用する方法、
ここで該薬剤はモルフォゲンを含み、該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列を含む。
【請求項３】
哺乳動物が、肝細胞の損傷に悩まされている、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
肝細胞の損傷が、代謝、感染、毒物、自己免疫、虚血又は栄養に起因する、請求項３に記

載の方法。
【請求項５】
肝細胞の損傷が、高ビリルビン血症、ウイルス性肝炎、アルコール性肝疾患、肝硬変、門脈圧亢進症、新生児肝炎又は肝性脳障害により生じる、請求項３に記載の方法。
【請求項６】
肝細胞の損傷が、有害な濃度の医薬、医薬の代謝産物、アンモニア、フェノール、エタノール、感染物質の副産物、四塩化炭素又は金属からもたらされる、請求項３に記載の方法。
【請求項７】
哺乳動物が、新生物に悩まされている、請求項２に記載の方法。
【請求項８】
新生物が、肝臓の新生物である、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
肝臓の新生物が、肝腺腫、結節性過形成、肝細胞癌および血管肉腫からなる群から選択される、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
哺乳動物が、転移癌に悩まされており、かつその癌は当該哺乳動物の肝臓に転移したものである、請求項２に記載の方法。
【請求項１１】
転移癌が、消化器、乳房、肺および皮膚からなる群から選択される組織に由来する、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
肝組織の損傷が、臨床処置により誘発される、請求項２に記載の方法。
【請求項１３】
臨床処置が、外科手術である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
哺乳動物が、肝不全の危険に曝されている、請求項２に記載の方法。
【請求項１５】
哺乳動物の肝臓組織の形態形成を誘発するための移植可能な薬剤の製造においてモルフォゲンを使用する方法、
ここで該移植可能な薬剤は増殖を刺激する量のモルフォゲンに曝された肝臓細胞を含み、該細胞は哺乳動物の肝臓に関連する組織部位にin vivoで移植されたとき、増殖及び分化をうけ、該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列を含む。
【請求項１６】
肝臓細胞は、該細胞の接着、浸潤、分化又は増殖に適した三次元構造を有する生体親和性の無細胞性マトリックス上に配置される、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
哺乳動物の消失又は損傷した肝臓組織の再生を誘発するための薬剤の製造においてモルフォゲンを使用する方法、
ここで該薬剤は、再生を促進する量のモルフォゲンを含み、該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列を含む。
【請求項１８】
受容宿主哺乳動物において肝臓組織の移植片の組込みを増強するための薬剤の製造においてモルフォゲンを使用する方法、

ここで該薬剤はモルフォゲンを含み、該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列番号を含む。

【請求項１９】

ドナー哺乳動物から切り出された肝臓組織の移植片の生存能力又は機能を保持するための薬剤の製造においてモルフォゲンを使用する方法、

ここで該薬剤はモルフォゲンを含み、該モルフォゲンは肝臓組織の形態形成を誘導し、かつ標準的な骨誘導アッセイにおいて軟骨内骨形成を誘導する二量体タンパク質を含み、該二量体タンパク質は一対の折り畳まれたポリペプチドを含み、該ポリペプチドのそれぞれのアミノ酸配列は、配列番号５の残基３８～１３９と同一なアミノ酸配列を含む。

【請求項２０】

前記薬剤が、更に、単離された肝臓細胞を含む、請求項２又は１７に記載の方法。

【請求項２１】

前記細胞が、前記哺乳動物に対して同種異系のものである、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】

前記薬剤が、更に、前記細胞の接着、浸潤、分化又は増殖に適した三次元構造を有する生体親和性の無細胞性マトリックスを含む、請求項２０に記載の方法。

【請求項２３】

前記マトリックスが、

（ａ）in vivoで生分解性である；又は

（ｂ）合成重合物質を含む；又は

（ｃ）更に、コラーゲン、ラミニン又はヒアルロン酸から選択された構造分子を含む；又は

（ｄ）更に、グリコサミノグリカン又はプロテオグリカンから選択された細胞接着因子を含む；又は

（ｅ）肝組織から得られる、

請求項２２に記載の方法。

【請求項２４】

前記合成重合物質が、ポリ乳酸、ポリ酪酸、ポリグリコール酸、又はそれらのポリ無水物又は共重合体である、請求項２３に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は肝治療法に関する。

発明の背景

この発明は消失あるいは損傷した肝組織をin vivo再生するための方法および組成物と、このような組織損傷の結果低下あるいは消失した肝機能を正常に維持するための方法および組成物に関する。さらに、哺乳動物、特にヒトの１つあるいはそれ以上の肝機能障害を直す又は修復する（correct）ための方法および組成物に関する。

肝臓は体内で最も大きな内臓であり、大きい右葉と小さい左葉の２つの主要な肝葉で構成されている。右葉はさらに尾状葉と方形葉に分けられる。肝臓は肝動脈と門脈を有し、二重の血液供給を受けている。肝リンパ系は主に肝門のリンパ節と腹腔動脈につながっている。

肝臓は、おおまかに挙げても、代謝、貯蔵、合成、異化、分泌など広範囲の機能を有する。特に、グリコーゲン分解および糖新生により、また脂肪酸をトリグリセリドとリポ蛋白に変換することにより、過剰な血中グルコースをグリコーゲンとして貯蔵すること、血中にグルコースを戻すことの両方の機能を有し、グルコースの恒常性を維持する主要な臓器である。またトリグリセリド、鉄、銅、脂溶性ビタミンを貯蔵し、鉄、銅、ビタミンＡと結合する多数のタンパク質を合成する。

さらに、血漿コロイド浸透圧の主要源となるアルブミン、プロトロンビン、フィブリノー

ゲン、第VIII因子などの血液凝固因子、免疫応答に関与する補体その他の急性反応物質など、免疫グロブリンを除く血清タンパク質の大半が肝臓で合成される。肝臓は、ホルモン、血清タンパク質、その他の内因性タンパク質の異化作用があり、また薬剤、工業的化学物質、環境汚染物質、各種の細菌代謝副産物などの外来物質の解毒作用もある。さらに、肝臓はヘム異化産物の貯蔵所であり小腸における脂肪吸収に必須の胆汁を分泌する。

このように、特定のタンパク質欠乏によるものであれ、また肝組織障害および／または消失によるものであれ、肝機能障害の影響は重篤であり、また広範囲におよぶことは、特に驚くにはあたらない。例えば慢性肝疾患によるアルブミン低下は、浮腫および腹水を引き起こす。肝不全は必須血液凝固因子の産生低下を伴い、重篤で致命的な出血が頻繁に発生する。また肝不全では神経障害が引き起こされることがあり、肝性脳障害、腎不全、黄疸、肺合併症、ホルモンバランスの不均衡に伴う疾患などを特徴とする。

他の大半の臓器とは異なり、肝臓は組織損傷や細胞死が生じても再生能力がある。胎児における肝成長や出生後に肝臓が発達する以外は肝細胞が活発に増殖することはないが、通常は活動を停止している肝細胞が肝細胞死や肝組織の消失に反応して分裂する。しかし、組織損傷が広範囲でかつ／あるいは慢性的である場合は、組織損傷は永久的に残り、肝臓の生存能力および機能が低下する。永久的な肝組織の損傷は、通常広範囲の壊死および／または線維化、傷跡（肝硬変）が特徴的である。この他にも肝腫瘍や転移癌によっても非修復性の損傷が生じる。

肝細胞塊が減少したり肝細胞機能が低下すると肝不全となる。肝不全の病因としては、代謝（例：ビリルビン異化作用の障害あるいは脂肪酸の貯蔵）、感染（例：ウイルス性肝炎、肝schistomiasis、梅毒、回虫症）、毒性（エタノール、アンモニア、フェノール、他の環境毒物、脂肪酸、薬物、および／またはこれらの代謝物質）、自己免疫、虚血あるいは栄養障害（例：アルコール性肝疾患）が挙げられる。

その他の肝不全の原因として悪性腫瘍がある。腫瘍は肝組織細胞由来の場合もあるし（肝細胞癌、血管肉腫など）、遠隔組織由来の転移性癌の場合もある。実際には悪性腫瘍として一般的なのは転移性癌であり、特に消化管、乳房、肺の癌から転移したものが多い。

肝機能障害の原因としてはこの他にも、遺伝性欠乏症（いわゆる「生まれつきの代謝性疾患」）によるか、あるいは薬物、感染源の副産物などによる肝性タンパク質欠乏が挙げられる。例えば血友病は第VIII因子産生低下を伴うと考えられ、銅代謝疾患であるウイルソン病は肝によるセルロプラスミン産生欠乏を伴い、アルブミン産生変化によりビリルビン代謝が障害され、通常は肝臓で産生されるα$_1$－アンチトリプシンの欠乏により致命的な新生児肝炎が発生する。

現在まで、肝不全や、慢性および急性肝炎、先天性胆道閉鎖症、特発性肝硬変、初代胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、生得的な代謝性疾患あるいは悪性腫瘍などの肝疾患による肝不全の危険性のある患者に対する唯一の根治的治療法は、肝移植でる。

また、生得的な代謝性疾患による肝機能障害を直す治療としても肝移植が唯一の根治的なものである。肝移植を治療に用いる際の問題としては、ドナーの不足、特に小児肝の不足、移植手術の技術的な複雑さ、拒絶反応などの術後合併症、生涯にわたっての臓器の生存維持の困難さが挙げられる。

肝全移植あるいは部分移植に付随する出血、困難な麻酔管理、合併症などを回避するためにこれらの手術に代わるものとして、失われた肝機能の回復に必要な肝実質部のみの選択的細胞移植が提案されている（P.S.Russell、Ann.Surg. 201（3）、255-262(1985)）。

このように必要な肝機能を有する細胞のみを移植することにより、被移植患者の白血球、抗原提示細胞、その他拒絶反応を進行させる細胞の問題を減少させることができる。細胞培養による細胞数を増大させることができるため、理論的にはその生体自身の自己移植が可能である。さらに、移植可能な細胞は肝タンパク質欠乏症の遺伝子治療の一部として、および／またはin vivo薬物搬送担体として用いることもできる。WO88/03785（1988年６月２日公開）およびWO90/12640（1990年11月１日公開）には、肝細胞をマトリックスに接着させ、このマトリックスを、腸間膜の襞あるいはオデンタム（odentum）など適切な栄養あるいはガス交換を細胞に供給することの可能なin vivo部位に移植する方法が開示さ

れている。現在のプロトコールには様々な限定条件がある。通常はin vivo生成組織の細胞増殖を刺激するために部分的な肝切除が必要である。また細胞移植にはかなりの細胞消失を伴うことが多く、移植用の種細胞群が必要であり、そのためには長期間のin vitroインキュベーションが要求される。移植される細胞マトリックスはin vivo生着が遅れるために、マトリックスの骨格構造にもかなりの程度の制限が加わる。最後に、被移植者の免疫応答機序により移植された細胞マトリックス構造が破壊される危険性もある。

本発明の目的は、肝臓や肝組織の移植を必要とせずに現存する肝臓の消失あるいは障害組織をin vivo再生するための方法および組成物を提供することである。また、肝組織が障害された後あるいはそのような障害が予想される場合に、正常な肝機能を維持するための方法を提供することである。さらに、肝組織の損傷あるいは肝疾患による低下した肝機能レベルを向上させるための方法を提供することも本発明の目的である。また、哺乳動物における肝機能障害を補正するための方法および組成物を提供することも本発明の目的である。そして、哺乳動物のタンパク質欠乏症を補正するために有効な遺伝子治療プロトコールおよび組成物を提供することも、本発明の目的である。最後に、移植肝組織の生着を促進することも本発明の目的である。これらの本発明の目的および特徴は、発明の説明、図面、および添付請求の範囲により明確である。

発明の概要

本発明は哺乳動物の肝機能を維持するための方法および組成物を提供する。本発明は、例えば生得的な代謝疾患により発生する哺乳動物の１つあるいはそれ以上の肝機能障害を補正するための方法と、消失あるいは傷害された哺乳動物の肝組織を再生するための方法（肝組織を傷害から保護するための方法も含む）を提供する。また本発明は、移植される肝組織あるいは肝臓の生存能力を向上させるための方法と、移植組織の生着を促進するための方法を提供する。本発明の方法および組成物には、哺乳動物において、肝細胞傷害時、肝細胞傷害が予想される場合、あるいは肝機能不全と診断された後に、治療有効濃度のモルフォゲンタンパク質（本明細書では「モルフォゲン」と言う）を、in vivoにおける肝機能を維持あるいは回復しうる十分な時間と濃度で肝細胞に供給する方法が含まれる。

本発明の１つの態様は、上記のように、肝細胞傷害時、肝細胞傷害が予想される場合、あるいは肝機能不全と診断された後に、治療有効濃度のモルフォゲンタンパク質（本明細書では「モルフォゲン」と言う）を、in vivoにおける肝機能を十分に維持あるいは回復しうる、および／または傷害の進行を阻止する時期および濃度で、哺乳動物の肝細胞に投与するための組成物および治療法である。本明細書におけるモルフォゲンは、組織の傷害あるいは疾患により低下しうる肝機能レベルを向上させることもできる。

また本発明の別の態様としては、肝細胞傷害時、肝細胞傷害が予想される場合、あるいは肝機能不全と診断された後に、哺乳動物に、その哺乳動物体内の治療有効濃度の内因性モルフォゲンをin vivoで刺激し、低下した肝機能レベルを十分に向上させ、および／または正常に維持し、および／または消失した肝機能を十分に回復させる（傷害あるいは消失した肝組織を再生しおよび／または傷害の進行を阻止することを含む）物質を投与するための組成物および治療法が挙げられる。このような組成物はモルフォゲン刺激剤と言い、哺乳動物に投与されると組織の細胞あるいは臓器に作用し、通常はモルフォゲンを産生しおよび／あるいはモルフォゲンを分泌することができ、内因性モルフォゲンのレベルを変化させると考えられている。この物質は、例えば内因性モルフォゲンの発現および／または分泌を刺激することにより作用していると考えられる。

ここで言う方法および組成物は特に肝臓の治療に関連するものであるが、当該分野の専門家が考えるように、膵臓、肺、腎臓、心臓など（ただし、これらに限定されるべきではない）の他の臓器にも、過度な適用とならない限りは適用できる。従って、本発明による方法および組成物は、例えば、肺気腫による肺組織傷害、腎臓あるいは膵臓組織の硬変、心筋症および／またはアテローム性血栓性あるいは心筋塞栓性心臓発作による心臓あるいは血管組織の傷害、潰瘍性穿孔あるいはその修復による胃組織傷害、身体傷害による神経組織傷害、アルツハイマー病、多発性硬化症、脳溢血などの変性疾患、疾患や機械的傷害による歯および／あるいは歯周組織の傷害により傷害をうけたあるいは消失した組織の修復

、再生、移植、および／または機能レベルの向上に用いることができる。さらに本発明による方法および組成物は、手術や他の治療処置で発生しうる回避不可能なあるいは故意に誘導される傷害などの予想される傷害から、これらの組織を保護するために用いることもできる。ここに示した組織を再生するという特性だけではなく、膵臓組織、腎組織、肺組織に、遺伝子治療および薬剤搬送プロトコール（本明細書で述べる）を特に有利に用いることもできる。

本明細書で具体化されているように、「正常な肝機能を維持する」というのは、肝細胞傷害あるいは生得的な代謝疾患により消失した肝機能を修復あるいは回復させ、しかも肝細胞傷害より肝組織を保護するための方法を意味する。「肝機能低下」レベルとは、組織傷害あるいは疾患により肝機能が消失あるいは低下したことを言う。本明細書で述べる移植肝組織あるいは臓器の「生存能力を向上させる」というのは、移植に伴う組織壊死および／または線維化（特に免疫応答媒介性組織壊死および／または線維化）による肝組織あるいは臓器の機能の低下および／または不全より肝組織を保護することを言う。「軽減」というのは、特に免疫応答媒介性組織破壊による望ましくない組織の減少および／または破壊から組織を保護することを言う。「移植された」生存組織には、組織移植片と、移植用単離前駆あるいは幹細胞のような（例えば単独であるいは一時的な搬送体と共に移植される）細胞移植片の両方が含まれる。組織は自己組織あるいは同種組織および／または合成組織（例えば肝細胞を人工マトリックス存在下で培養することにより作成する）であってもよい。「形態形成許容環境」とは、組織のモルフォゲン形成又は形態形成を許容する環境を意味すると考えられる。最後に、「症状軽減コファクター」というのは、本発明の治療薬と一緒に投与され肝組織および／または肝機能消失に伴う１つあるいはそれ以上の典型的な症状を軽減する１つあるいはそれ以上の薬剤を言う。コファクターの例としては、坑生物質、防腐剤、非ステロイド系抗炎症剤などが挙げられる。

本発明による方法および組成物は、特に傷害組織が正常組織あるいは臓器の機能を妨害している場合に哺乳動物の疾患のある又は傷害を受けた又は消失した肝組織の代替に有効である。肝組織が消失した場合、残りの肝細胞は補償的細胞分裂のみが可能であり、これによって肝臓をもとの大きさに回復させる。肝葉の一部が切除される部分的肝切除術についての広範囲の研究で示されているように、この補償的成長には真の形態形成は含まれず、消失した組織自体が再生することはない。むしろもともとの肝葉は単に組織増大することにより消失した肝塊を補償する。これに対して、毒性誘導性組織傷害に関する最近の研究によると、組織の修復には形態形成が関与しており、特に前駆細胞の浸潤および増殖があるとされている。下記の実施例３および４で記載されているように、内因性モルフォゲン発現が促進されているのは部分的肝切除後ではなく、毒性誘導性肝組織傷害後である。

本発明のタンパク質が肝組織部位に供給されたりその発現が刺激されると、組織形態形成のカスケード反応が誘発され、肝前駆細胞の移動、増殖、分化が刺激され、生存肝組織が再生し、必要な血管新生も同時に誘導される（下記参照）。従ってある具体例では、本発明による方法および組成物を用いて、消失しあるいは実質的に修復不能の傷害された肝組織を再生することができる。モルフォゲンは、例えば生体親和性を有する注射可能な溶液懸濁液として注射するか、モルフォゲン含有溶液を組織に塗布あるいは噴霧するなどの局所的な投与により、再生しようとする組織部位に直接供給することが望ましい。また壊死あるいは硬変組織はあらかじめ手術により取り除いておくことが望ましい。別の方法としては、腹膜腔に浸透圧ポンプを埋め込むことによりモルフォゲンを局所的に供給することもできる。少なくとも１つのモルフォゲン(OP-1)が肝形成時肝組織により発現されることがわかっている。従って、別の方法としてあるいは付加的方法として、内因性モルフォゲンの発現および／または分泌を刺激する作用を有する薬剤を投与することもできる。さらに別の方法としては、肝前駆細胞をモルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激性薬剤にex vivo暴露することにより刺激し、刺激された細胞が増殖および分化したところでこれを肝組織部位に供給することもできる。モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激薬剤は細胞と共に移植することもできる。さらに別の方法として、例えば浸透圧ポンプにより適切な局所的モルフォゲン濃度を維持することもできる。これらの方法では現存する組織が必要な

マトリックス要件を満たし、形態形成許容環境において増殖分化する細胞の適切な基質となり、また成長組織の組織特異性を指示するのに必要なシグナルをも供給している。
モルフォゲン（あるいはこのモルフォゲンにより刺激される前駆細胞）が組織特異的部位に供給されると（例えば全身的注射、あるいは組織特異的部位における移植や注射、またはモルフォゲンin vivo発現を刺激し得る薬剤の投与により）、この部位の現存組織（罹患しているか傷害されているかに関わらず）が適切なマトリックスとして作用する能力を有する。別の方法としては、傷害組織の傷害範囲が大きい場合に必要とされるように、調整マトリックスを刺激された前駆細胞あるいはモルフォゲンと共に外部より投与することもできる。マトリックスは移入された前駆細胞が流入、分化、増殖でき、形態形成許容環境を提供できるような大きさの生体親和性のある適切に変化させた無細胞性マトリックスでなければならない（下記参照）。
現在望ましいとされてるマトリックスは生分解性をも有するものである。モルフォゲンおよび／または前駆細胞が移植されても現存肝組織が必要なマトリックス成分を提供するには不十分である場合には、調整マトリックスが組織特異的であることが望ましい。
調整マトリックスは例えば組織を溶媒で処理し非構造成分を十分に除去することにより調整した線維塊あるいは臓器特異的脱水組織から作成することができる。別の方法としては、コラーゲン、ラミニン、および／またはヒアルロン酸（これらは適切な組織特異的細胞接着因子とも関連する）などの生体親和性の好ましくはin vivo生分解性の構造担体物質を用いて合成する。他の生体親和性in vivo生分解性物質としては、ポリ酪酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ無水物、および／またはこれらのコポリマーなどの合成高分子物質が挙げられる。現在望ましいとされる構成物質にはコラーゲンも含まれる。現在望ましいとされる細胞接着因子にはグリコサミノグリカンおよびプロテオグリカンが含まれる。マトリックスはさらに表面上の穴および／または微小な凹みの数を増大させる１つあるいはそれ以上の薬剤で処置し、哺乳動物からの移動前駆細胞の流入、増殖、分化を向上させることもできる。
多数の例で、肝組織機能の消失が、初期のあるいは繰り返し起こる組織傷害に対する反応の結果生じる線維化あるいは傷跡組織形成により発生することがわかっている。傷跡組織形成の程度は、一般的に傷害組織の再生能力および傷害の程度と種類による。肝臓では、繰り返し起こる組織に傷害により肝硬変が進行して線維性隔膜により正常な肝構造が破壊され、血管組織が破壊され、潅流不足となり、肝機能が障害され、チェックされないままだと肝不全となる。従って本発明による方法および組成物により、モルフォゲンあるいはモルフォゲンで刺激された細胞を新たに傷害をうけた組織部位に供給することにより、肝組織における傷害組織の形成を回避および／または実質的に阻止することができる（下記参照）。
また本発明によるモルフォゲンにより、哺乳動物の肝前駆細胞あるいは幹細胞群を増大あるいは再生することもできる。例えば、個体の骨髄より前駆細胞を単離し、細胞増殖を誘導するのに十分な時間およびモルフォゲン濃度でex vivoに刺激し、骨髄に戻すこともできる。他の適切な前駆細胞源としては、培養細胞系より得られた生体親和性細胞が挙げられ、この細胞を培養中刺激してから生体に供給してもよい。さらに別の方法としては、モルフォゲンを全身的投与、移植、注射その他により投与し、個体の前駆細胞群に供給し、in vivo有糸分裂活性を誘導することもできる。例えば所望の前駆細胞群においてモルフォゲン発現を刺激しうる薬剤を、例えば全身的にin vivo細胞に投与して有糸分裂活性を誘発することもできる。
あるいは別の方法として、分化細胞の成長および維持にモルフォゲンを用い、現存する分化細胞がその表現型を継続的に発現できるようにすることもできる。この活性は、肝機能の消失か老衰により細胞が代謝活動を停止した場合の肝疾患治療に有効であることが予想される。モルフォゲンを直接治療細胞に投与するか、あるいは全身性注射により投与することにより、これらの細胞がその表現型を継続的に発現できるようにし、機能障害の影響を実質的に逆転させることもできる。さらには、モルフォゲンin vivo発現を刺激しうる薬剤を投与することもできる。また、本発明によるモルフォゲンを遺伝子治療プロトコー

ルに用いて活動停止細胞の成長を刺激し、これらの細胞が外因性ＤＮＡを取り込めるようにすることもできる。
本発明による方法は、モルフォゲン処置細胞が非形質転換細胞に特徴的な形態をとるように誘導され、形質転換細胞、特に実質細胞由来の形質転換細胞を再分化するのに有効である。国際特許出願US92/01968(WO92/15323)および[CRP070PC]に記載されているように、これまでにモルフォゲンは、形質転換胚細胞および神経細胞由来の細胞を再分化させ非形質転換細胞に特徴的な形態をとるように誘導させることが認められている。モルフォゲン処置は、細胞円形化、細胞集積（細胞塊形成）、細胞接着(adhesion)、ＣＡＭ産生を誘発することが望ましい。この方法は肝組織における肝細胞腫瘍形成および／または増殖を実質的に阻害あるいは低下させると予測される。本発明による方法は、肝細胞癌、胆管癌、肝芽腫、血管肉腫などの肝組織由来の癌腫および肉腫の影響を実質的に減少させるのに有効であると予測される。また、この方法は転位組織による腫瘍性病変の阻止にも有用であると考えられる。転移癌は血液あるいはリンパ節を通して肝臓に到達するので、肝腫瘍の最も普通のものの１つである。転移癌は、例えば正常な肝組織構造をゆがめ、血流を遮断あるいは阻止し、および／または生体の免疫応答を刺激して肝機能を障害する。
本発明によるモルフォゲンは、肝細胞保護効果により、肝組織の初期傷害に対する生体の免疫／炎症反応に伴う組織の障害を軽減するのに有効である。国際特許出願US92/07358(WO93/04692)に詳細に記載されているように、このような反応は、例えば自己免疫障害、腫瘍性病変、感染、化学的あるいは物理的外傷、疾患により、または虚血や低酸素症による肝細胞への血流の部分的あるいは完全遮断、あるいは他の肝や肝周囲組織への外傷により発生する肝組織への急性あるいは慢性外傷後に起こる。例として門脈圧亢進症があり、これは門脈への血流低下により起こり組織壊死および硬変を特徴とする重要な肝疾患である。治療しようとする細胞へ直接にモルフォゲンを供給することにより、あるいは例えば静脈投与や間接的な経口投与によりモルフォゲンを全身的に供給することにより、肝組織障害への免疫的反応を軽減および／または阻止することができる。別の方法として、モルフォゲンのin vivo発現および／または分泌を刺激しうる薬剤を、望ましくは傷害部位に投与することもできる。手術や他の積極的な治療処置により傷害が回避できないか故意に誘発される場合には、モルフォゲンあるいは薬剤を傷害が誘発される前に投与して障害をうける肝組織に細胞保護効果を与えることもできる。
同様に、移植する肝組織あるいは臓器は、移植後の被移植者の炎症性反応に伴う組織破壊を受ける。最近、臓器が移植された後の初期破壊反応は大部分移植臓器に対する潅流障害が原因であると考えられている。
従って、肝臓あるいは肝組織の移植が成功するかどうかは、臓器摘出時、摘出臓器貯蔵時、移植時の組織活性（すなわち組織あるいは臓器の生存能力）が保持できるかどうかにかかっているところが大きい。現在までに、肺、膵臓、心臓、肝臓などの臓器の保存は、臓器移植の成功において重大な障害となっている。米国特許第4,952,409号明細書では、潅流障害を阻止するためのスーパーオキシドデイスムターゼ含有リポソームが開示されている。米国特許第5,002,965号明細書では、潅流障害を阻止するために血小板活性化因子拮抗剤として知られるギンコライド（ginkolides）を使用することが開示されている。いずれもフリー酸素ラジカルの遊離を阻害し、および／またはその傷害効果を阻止することが主要な作用であるとされている。また移植に対する拒絶反応を阻止するために免疫抑制剤を用いることについては、多数の特許が登録されている。代表的な特許は、米国特許第5,104,858号、第5,008,246号、第5,068,323号である。多くの免疫抑制剤が、治療指数が低いこと、また高用量が必要であるために重大な副作用が発生するという問題をかかえている。
従って、部分的あるいは全体的な臓器移植が望まれる場合、移植組織にモルフォゲンを投与して、組織の生存能力を向上させ、免疫応答媒介性組織破壊に伴う組織傷害を軽減させ、および／またはこのような傷害の危険がある組織に細胞保護効果を与えることができる。移植組織の例としては同種、自己、および／または合成（すなわち、培養細胞を人工マトリックスに接着させる）のいずれでもよい。肝組織移植片、肝臓全体、あるいは部分的

肝臓が挙げられる。移植組織（すなわち、肝臓、肺、腎臓、膵臓、心臓など）が臓器提供者より取り出される場合は、組織の摘出前にあるいは摘出と同時に、即ち予防的に、モルフォゲンを供給することが、組織に細胞保護効果を与えるために望ましい。

また、本発明によるモルフォゲンを遺伝子治療プロトコールおよび／あるいは薬剤搬送プロトコールの一部として用い、例えば遺伝子疾患や他のタンパク質産生組織への障害から起きる哺乳動物のタンパク質欠乏症を直すこともできる。特に、本発明による方法および組成物は、哺乳動物に供給することによりin vivoタンパク質産生メカニズムを提供し、哺乳動物におけるタンパク質欠乏を補うことができると考えられる。このようなタンパク質の例としては、通常は肝組織により発現および／または分泌され肝関連機能の役割を果たすタンパク質、通常は肝臓により発現および分泌され生体の別の部位で機能するタンパク質、また通常は肝組織によっては発現されないタンパク質が挙げられる。in vivoタンパク質欠乏を克服するのに必要な１つあるいはそれ以上のタンパク質を発現するのに適切な細胞を刺激してex vivo増殖させ、in vivo肝特異的組織部位における形態形成許容部位に移植することもできる。この有効細胞は移植前に骨格様構造に接着させることもできる。また別の方法として、この有効細胞を合成あるいは調整マトリックスに接着させ、モルフォゲンと共に腸間膜の襞のなかなどのin vivo肝外部位、あるいは必要な栄養およびガス交換を細胞に供給することの可能な他の関連する血管組織部位に移植することもできる。有効な肝外部位の詳細な説明は、例えばWO90/12604（Vacantiらに1990年11月１日に登録される）（この特許は参照文献として引用した）に記載されている。初代肝細胞にモルフォゲンを作用させることによりその増殖を刺激し（下記参照）、移植時の細胞生存能力を向上させ、組織成長を促進し、マトリックスを構成するのに必要な元来の細胞群を減少させることができる。さらに、モルフォゲン移植により増殖を刺激するための部分的肝切除の必要がなくなり、この肝切除に典型的に伴う炎症／免疫反応を阻止することにより細胞生存能力を向上させることができ、さらにこの肝切除で典型的に見られる重大な肝細胞消失も回避することができる。

タンパク質欠乏を克服するのに有効な細胞としては、好ましくはその個体に血清型が適合し補おうとしている１つあるいはそれ以上のタンパク質を発現する能力を有する、同種初代肝細胞と、補おうとするタンパク質を発現するのに必要な遺伝子物質で形質転換された自己細胞が挙げられる。例えば、初代肝細胞を生検により患者から取り出し、標準的な組み換えＤＮＡ技術により形質転換させ、増殖させ、マトリックスに接着させ、モルフォゲンと共に再度移植することができる。この肝細胞の有糸分裂活性（および核酸の取り込み）を促進するために形質転換および増殖時には細胞にモルフォゲンを作用させることが望ましい。モルフォゲンをマトリックス表面に吸収させ、細胞を接着させ、複合体を単体（細胞－マトリックス構造）として移植することが現在の望ましい態様である。

本発明による治療法においては、「モルフォゲン投与」とは、モルフォゲンを単独であるいは他の分子と組み合わせて投与することを意味する。例えば、モルフォゲンの成熟体を、その前駆体である「プロ」ドメイン（成熟モルフォゲンの可溶性を促進することがわかっている）と共に供給することもできる。また、モルフォゲンのプロ体（すなわち、たとえば下記の配列番号16で定義されているＯＰ－１の残基30-431）を用いることもできる。モルフォゲンの可溶性を促進することがかかっている他の有効な分子としては、カゼイン、その他の乳成分、各種血清タンパク質が挙げられる。また、モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激性物質と関連する分子としては、モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激性物質を肝組織に方向づけすることのできる組織標的分子が挙げられる。本発明による治療プロトコールに有効であると考えられる組織標的分子としては、抗体、神経組織細胞上の表面分子に特異的に相互作用する抗体断片、あるいは他の結合タンパク質が挙げられる。さらに別の組織標的分子としては、モルフォゲン前駆体「プロ」ドメインの一部あるいはすべてが挙げられる。

組織標的分子あるいは可溶性促進分子は、標準的な化学的手法（例えば骨形成部位の酸性環境で優先的に切断されると考えられる酸に対して不安定な結合など）を用いてモルフォゲンに共有結合させてもよい。

モルフォゲンおよびモルフォゲン刺激性物質は、傷害肝組織を治療するのに有効であることが知られる他の分子（「コファクター」）、特に肝組織傷害および／または消失に通常伴う症状を軽減することのできるコファクターと共に肝組織に供給することができる。このようなコファクターの例としては、防腐剤、坑生物質、テトラサイクリン、アミノグリコシド、マクロリド、ペニシリンおよびセファロスポリンおよび他の非ステロイド系抗炎症剤が挙げられる。

本発明によるモルフォゲンとしては、ＯＰ－１、ＯＰ－２、ＣＢＭＰ２タンパク質のような元来は骨形成タンパク質として同定されたタンパク質、ＤＰＰ（キイロショウジョウバエ由来）、Ｖｇｌ（ツメガエル由来）、Ｖｇｒ－１（マウス由来、米国特許第5,011,691号（Oppermannら）参照）、ＧＤＦ－１（マウス由来、Lee(1991)PNAS88:4250-4254参照）などのアミノ酸配列関連タンパク質（すべて表IIおよび配列番号5-14に示されている）、最近同定された６０Ａタンパク質（キイロショウジョウバエ由来、配列番号：24、Whartonらによる(1991)PNAS88:9214-9218参照）が挙げられる。このタンパク質ファミリーにはＴＧＦ－βスーパーファミリータンパク質のメンバーが含まれ、実質的なアミノ酸配列がそのＣ末端領域で相同性を有する。これらのタンパク質は前駆体（切断されて成熟配列となる“プロ”ドメインに続いて通常は約３０以下の残基のシグナルペプチド配列をＮ末端に有する）として翻訳される。この「プロ」体にはプロドメインと成熟ドメインの両方が含まれ、培養哺乳動物細胞より分泌される初期形態と思われる可溶性種を形成する。シグナルペプチドは、翻訳の際切断部位（Von Heijne(1986)Nucleic Acids Research 14:4683-4691の方法を用いて所定の配列で予測される部位）において速やかに切断される。

下記の表１では現在までに同定された各種モルフォゲン、ここで使われている名称、配列番号、また配列表に含まれていないタンパク質全長のアミノ酸配列が開示されている刊行物が記載されている。これらの刊行物の開示はここに参考文献として引用される。

表Ｉ

［ＯＰ－１］

ＯＰ－１タンパク質をコードするＤＮＡ配列の一部あるいは全てより発現されるモルフォゲン活性タンパク質群（対立遺伝子変異および種間変異を含む）を一般的にいう。例：ヒトＯＰ－１（「ｈＯＰ－１」、配列番号5、成熟タンパク質アミノ酸配列）、マウスＯＰ－１（「ｍＯＰ－１」、配列番号6、成熟タンパク質アミノ酸配列）。保存されている７つのシステイン骨格は配列番号5,6の３８－１３９残基により規定されている。ｃＤＮＡ配列およびタンパク質全長をコードするアミノ酸は、配列番号16,17（ｈＯＰ１）および配列番号18,19（ｍＯＰ１．）に示されている。成熟タンパク質は２９３－４３１残基（ｈＯＰ１）および２９２－４３０残基（ｍＯＰ１）により規定される。開裂により成熟モルフォゲン活性タンパク質となるタンパク質の「プロ」体領域は本質的に、３０－２９２残基（ｈＯＰ１）および３０－２９１残基（ｍＯＰ１）により規定される。

「ＯＰ－２］

ＯＰ－２タンパク質をコードするＤＮＡ配列の一部あるいは全てから発現される活性タンパク質群（対立遺伝子変異および種間変異を含む）を一般的にいう。例：ヒトＯＰ－２（「ｈＯＰ－２」配列番号No.7、成熟タンパク質アミノ酸配列）、マウスＯＰ－２（「ｍＯＰ－２］配列番号8、成熟タンパク質アミノ酸配列）。保存されている７つのシステイン骨格は配列番号7,8の３８－１３９残基により規定されている。ｃＤＮＡ配列およびタンパク質全長をコードするアミノ酸は、配列番号20,21（ｈＯＰ２）および配列番号22,23（ｍＯＰ２）に規定されている。成熟タンパク質は本質的に２６４－４０２残基（ｈＯＰ２）および２６１－３９９残基（ｍＯＰ２）によって規定されている。開裂して成熟モルフォゲン活性タンパク質となるタンパク質の「プロ」領域は１８－２６３残基（ｈＯＰ２）および１８－２６０残基（ｍＯＰ２）により規定されていると考えられる。（いずれのＯＰ－２タンパク質も上流の２１残基でも開裂を受ける）。

「ＣＢＭＰ２」

ＣＢＭＰ２タンパク質をコードするためのＤＮＡ配列から発現されるモルフォゲン活性タンパク質群（対立遺伝子変異および種間変異を含む）を一般的にいう。例：ヒトＣＢＭＰ

２Ａ（「ＣＢＭＰ２Ａ（ｆｘ）」、配列番号9）、ヒトＣＢＭＰ２Ｂ　ＤＮＡ（「ＣＢＭＰ２Ｂ（ｆｘ）」配列番号10）。タンパク質全長のアミノ酸配列は、ＢＭＰ２ＡとＢＭＰ２Ｂ、あるいはＢＭＰ２とＢＭＰ４として、Wozneyらの報告（1988、Science 242 :1528-1534）に記載されている。ＢＭＰ２のプロドメイン（ＢＭＰ２Ａ）は、２５－２４８残基あるいは２５－２８２残基を含み、成熟タンパク質は２４９－３９６残基あるいは２８３－３９６残基であると考えられる。ＢＭＰ４のプロドメイン（ＢＭＰ２Ｂ）は、２５－２５６残基あるいは２５－２９２残基を含み、成熟タンパク質は、２５７－４０８残基あるいは２９３－４０８残基であると考えられる。

「ＤＰＰ（ｆｘ）」

キイロショウジョウバエＤＰＰ遺伝子によりコードされ、保存されている７つのシステイン骨格を規定するタンパク質配列をいう（配列番号11）。タンパク質全長のアミノ酸配列は、Padgettらの報告（1987、Nature 325 :81-84）にある。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から４５６残基までと考えられ、成熟タンパク質は４５７－５８８残基によって規定されていると考えられる。

「Ｖｇｌ（ｆｘ）］

ツメガエルＶｇｌ遺伝子によりコードされ、保存されている７つのシステイン骨格を規定するタンパク質配列をいう（配列番号12）。全長タンパク質についてのアミノ酸配列は、Weeks(1987) Cell 51:861-867に報告されている。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から２４６残基までであり、成熟タンパク質は２４７－３６０残基により規定されると考えられる。

「Ｖｇｒ－１（ｆｘ）」

マウスＶｇｒ－１遺伝子によりコードされるタンパク質配列を指し、保存されている７つのシステイン骨格を規定する（配列番号１３）。全長タンパク質についてのアミノ酸配列は、Lyonsらの報告（1989、PNAS86:4554-4558）にある。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から２９９残基までと考えられる。成熟タンパク質は３００－４３８残基により規定されると考えられる。

「ＧＤＦ－１（ｆｘ）」

ヒトＧＤＦ－１遺伝子によってコードされたタンパク質配列を指し、保存されている７つのシステイン骨格（配列番号14）を規定する。全長タンパク質に対するｃＤＮＡとコードされるアミノ酸配列は配列表３２に示される。プロドメインはシグナルペプチドの開裂部位から２１４残基までと考えられ、成熟タンパク質は２１５－３７２残基によって規定されると考えられる。

「６０Ａ］

６０Ａタンパク質をコードするショウショウバエ６０Ａ遺伝子由来のＤＮＡ配列の一部又は全部を発現するモルフォゲン活性のタンパク質を一般的にいう。全長タンパク質に対するｃＤＮＡとコードされるアミノ酸配列は配列番号２４に示されている）。６０Ａ（ｆｘ）は保存された７つのシステイン骨格を規定する蛋白質配列をさす（配列番号２４の３５４－４５５残基）。プロドメインはシグナルペプチドに開裂部位から３２４残基まで、成熟タンパク質は３２５－４５５残基で規定されると考えられる。

「ＢＭＰ３（ｆｘ）」

ヒトＢＭＰ３遺伝子によってコードされ、保存された７つのシステイン骨格を規定する蛋白質配列をさす（配列番号２６）。全長タンパク質に対するアミノ酸配列はwozneyらの報告（1988、Science 242:1528-1534）にある。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から２９０残基まで、成熟タンパク質は２９１－４７２残基によって規定されると考えられる。

「ＢＭＰ５（ｆｘ）」

ヒトＢＭＰ５遺伝子によってコードされたタンパク質配列を指し、保存されている７つのシステイン骨格（配列番号27）を規定する。タンパク質全長についてのアミノ酸配列は、Celesteらの報告（1991、PNAS87:9843-9847）にある。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から３１６残基までと考えられる。成熟タンパク質は３１７－４５４残基により

規定されると考えられる。
「ＢＭＰ６（ｆｘ）」
ヒトＢＭＰ６遺伝子によってコードされたタンパク質配列を指し、保存されている７つのシステイン骨格（配列番号28）を規定する。タンパク質全長についてのアミノ酸配列は、Celesteらの報告（1991、PNAS87:9843-9847）にある。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から３７４残基までと考えられ、成熟タンパク質は３７５－５１３残基を含むと考えられる。
ＯＰ－２タンパク質は、同じファミリーの他のタンパク質と共通の保存されたシステイン骨格の他に、この領域（例：配列番号７と８の４１残基）にさらにシステイン残基を有する。ＧＤＦ－１タンパク質は保存されたシステイン骨格（配列番号14の４４－４７残基）内に４つのアミノ酸から成る挿入部があるが、この挿入部は折り畳み構造におけるシステインの役割を妨害することはないと考えられる。またＣＢＭＰ２タンパク質はシステイン骨格内の１つのアミノ酸が欠失している。
モルフォゲンは還元すると不活化するが、酸化ホモダイマーとしては活性があり、また本発明による他のモルフォゲンと組み合わせて酸化されている場合にも活性を有する。従ってモルフォゲンは１組のポリペプチド鎖から成る二量体タンパク質であり、各ポリペプチド鎖は少なくとも、配列番号5の４３－１３９残基で規定される６つのシステインの骨格をＣ末端に有し、これらのシステインと機能的に同等の配列を含む（例：アミノ酸挿入部あるいは欠失部は配列内のシステインの線状配列を変化させるが、折り畳み構造でのシステインの役割に影響を与えることはない）。ポリペプチド鎖が折り畳まれると、１組のポリペプチド鎖から成る二量体タンパク質は適切な鎖内または鎖間ジスルフィド結合により適切な三次元構造をとり、前記のモルフォゲンとしての活性を保持できるようになっている。特定的にはモルフォゲンは一般的に形態形成許容環境において以下の生物学的機能のすべてを保持することができる：前駆細胞の増殖を刺激する；前駆細胞の分化を刺激する；分化細胞の増殖を刺激する；分化細胞の成長および維持を保持する（形質転換細胞の「再分化」を含む）。また、モルフォゲンは適切な条件下では関与する細胞の再分化を誘導することもできると考えられている。
本発明の望ましい態様では、モルフォゲンは一般配列：一般配列１［配列番号１］あるいは一般配列２［配列番号２］（各Ｘａａは、２０の天然に存在するＬ異性体、α－アミノ酸、あるいはこれらの誘導体を示す）を有する２つの種の内の１つから構成されている。一般配列１は保存された６つのシステイン骨格から成り、一般配列２は保存された６つのシステイン骨格とＯＰ－２で同定されるシステイン（配列番号2の３６残基を参照）から成る。別の望ましい態様では、Ｎ端末にさらに以下の配列を有する：

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa （配列番号15）
1 5

前記の一般配列内の望ましいアミノ酸配列には、一般配列３（配列番号３）、一般配列４（配列番号４）、一般配列５（配列番号30）、一般配列６（配列番号31）（リストを下記に示す）が含まれる。これらの一般配列は、表IIで示されるモルフォゲンファミリーの各種タンパク質が共有する相同配列と、各種タンパク質間で異なるアミノ酸配列を有する。一般配列３と４は、表IIで示され配列番号5-14で同定されている以下のタンパク質の複合アミノ酸配列である：ヒトＯＰ－１（ｈＯＰ－１、配列番号５、16-17）、マウスＯＰ－１（ｍＯＰ－１、配列番号６、18-19）、ヒトおよびマウスＯＰ－２（配列番号7,8、20-22）、ＣＢＭＰ２Ａ（配列番号９）、ＣＢＭＰ２Ｂ（配列番号10）、ＤＰＰ（キイロショウジョウバエ由来、配列番号11）、Ｖｇｌ（ツメガエル由来、配列番号12）、Ｖｇｒ－１（マウス由来、配列番号13）、ＧＤＦ－１（マウス由来、配列番号14）。一般配列は、表IIで示された配列が共有するアミノ酸の同一性と、配列中の種々の位置における代替残基を有する。このような一般配列は、一般配列３あるいは４において、夫々４１あるいは４６位置でさらにシステインを付加することもでき、鎖内あるいは鎖間ジスルフィド結合を形成するのに好適なシステイン骨格を与えタンパク質の三次元構造に影響を与えるある特定の重要なアミノ酸を保持することに、注目されたい。

一般配列３

Leu Tyr Val Xaa Phe
1 5

Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa
10

Xaa Ala Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala
15 20

Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa
25 30

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35

Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa
40 45

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
55 60

Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
70 75

Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa
80

Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa
85 90

Xaa Cys Gly Cys Xaa
95

ここで各Xaaは、次に定義する一種以上のアミノ酸の群から独立に選択されたものである（Res.は残基を意味する）：残基４．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ　または　Ｇｌｕ）；残基６．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｓｅｒ　または　Ｌｙｓ）；残基７．のＸａａ＝（Ａｓｐ　または　Ｇｌｕ）；残基８．のＸａａ＝（Ｌｅｕ　または　Ｖａｌ）；残基１１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ａｓｐ，Ｈｉｓ　または　Ａｓｎ）；残基１２．のＸ

ａａ＝（Ａｓｐ，Ａｒｇ または Ａｓｎ）；残基１４．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基１５．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａ１）；残基１８．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ｌｙｓ，Ｐｒｏ または Ａｒ９）；残基２０．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基２１．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｍｅｔ，Ｈｉｓ，Ｌｅｕ または Ｇｌｎ）；残基２３．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ａｓｎ または Ｐｈｅ）；残基２６．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｈｉｓ，Ｔｙｒ，Ａｓｐ または Ｇｌｎ）；残基２８．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ または Ｇｌｎ）；残基３０．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ｐｒｏ または Ｇｌｎ）；残基３１．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ または Ｔｙｒ）；残基３３．のＸａａ＝（Ｌｅｕ または Ｖａｌ）；残基３４．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ａｌａ または Ｔｈｒ）；残基３５．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，ＡＳＰ，Ｇｌｕ，Ｌｅｕ または Ａｌａ）；残基３６．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ｃｙｓ，Ｈｉｓ，Ｓｅｒ または Ｉｌｅ）；残基３７．のＸａａ＝（Ｍｅｔ，Ｐｈｅ，Ｇｌｙ または Ｌｅｕ）；残基３８．のＸａａ＝（Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基３９．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ または Ｇｌｙ）；残基４０．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ｌｅｕ または Ｓｅｒ）；残基４４．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基４５．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基４６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ または Ａｒｇ）；残基４７．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基４９．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基５０．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｓｎ）；残基５１．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ，Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５２．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｍｅｔ，Ａｓｎ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｌｙｓ，Ａｌａ または Ｇｌｕ）；残基５４．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基５５．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ａｓｐ，ＡｓｎまたはＧｌｙ）；残基５６．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ，Ｖａｌ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ，Ｔｙｒ，Ｓｅｒ または Ａｌａ）；残基５７．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基５８．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｓｐ）；残基５９．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ｌｅｕ）；残基６０．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｌａ）；残基６３．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基６５．のＸａａ＝（Ｔｈｒ または Ａｌａ）；残基６６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｙｓ，Ａｒｇ または Ｇｌｕ）；残基６７．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｍｅｔ または Ｖａｌ）；残基６８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ または Ａｓｐ）；残基６９．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基７０．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｔｈｒ または Ｖａｌ）；残基７１．のＸａａ＝（Ｓｅｒ または Ａｌａ）；残基７２．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基７４．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基７５．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｔｙｒ または Ｌｅｕ）；残基７６．のＸａａ＝（Ａｓｐ または Ａｓｎ）；残基７７．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基７８．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ｇｌｎ，Ａｓｎ または Ｔｙｒ）；残基７９．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｎ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基８０．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｔｈｒ または Ｌｙｓ）；残基８２．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基８４．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ａｒｇ）；残基８５．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｓｎ，Ｇｌｎ または Ｈｉｓ）；残基８６．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｈｉｓ）；残基８７．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ または Ｇｌｕ）；残基８８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｇｌｕ または Ａｓｐ）；残基９０．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｔｈｒ または Ａｌａ）；残基９２．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｌｙｓ，Ｖａｌ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基９３．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｇｌｙ または Ｇｌｕ）；残基９７．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｒｇ）．

一般配列４

```
Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Tyr Val Xaa Phe
 1               5                  10
Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa
                15
Xaa Ala Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala
 20                  25
Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa
         30                  35
Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                40
Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa
         45                  50
Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                55
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
     60                  65
Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
             70
Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
 75                  80
Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa
             85
Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa
 90                  95
Xaa Cys Gly Cys Xaa
        100
```

ここで各Xaaは、次に定義する一種以上のアミノ酸の群から独立に選択されたものである（Res.は残基を意味する）：残基２．のＸａａ＝（Ｌｙｓ　または　Ａｒｇ）；残基３．の、Ｘａａ＝（Ｌｙｓ　または　Ａｒｇ）；残基４．のＸａａ＝（Ｈｉｓ　または　Ａｒｇ）；残基５．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｓｅｒ，Ｈｉｓ，Ｇｌｙ，Ａｒｇ　または　Ｐｒｏ）；残基９．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ　または　Ｇｌｕ）；残基１１．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｓｅｒ　または　Ｌｙｓ）；残基１２．のＸａａ＝（ＡＳＰ　または　Ｇｌｕ）；残基１３．のＸａａ＝（Ｌｅｕ　または　Ｖａｌ）；残基１６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ａｓｐ，Ｈｉｓ　または　Ａｓｎ）；残基１７．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ａｒｇ　または　Ａｓｎ）；残基１９．のＸａａ＝（Ｉｌｅ　または　Ｖａｌ）；残基２０．のＸａａ＝（Ｉｌｅ　または　Ｖａｌ）；残基２３．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ｌｙｓ，Ｐｒｏ　または　Ａｒｇ）；残基２５．のＸａａ＝（Ｔｙｒ　または　Ｐｈｅ）；残基２６．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｍｅｔ，Ｈｉｓ，Ｌｅｕ　または　Ｇｌｎ）；残基２８．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ａｓｎ　または　Ｐｈｅ）；残基３１．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｈｉｓ，Ｔｙｒ，Ａｓｐ　または　Ｇｌｎ）；残基３３．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ　または　Ｇｌｎ）；残基３５．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ　または　Ｐｒｏ）；残基３６．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ　または　Ｔｙｒ）；残基３８．のＸａａ＝（Ｌｅｕ　または　Ｖａｌ）；残基３９．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ａｌａ　または　Ｔｈｒ）；残基４０．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ｌｅｕ　または　Ａｌａ）；残基４１．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ｃｙｓ，Ｈｉｓ，Ｓｅｒ　または　Ｉｌｅ）；残基４２．のＸａａ＝（Ｍｅｔ，Ｐｈｅ，Ｇｌｙ　または　Ｌｅｕ）；残基４４．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ　または　Ｇｌｙ）；残基４５．のＸａａ＝（

Ｔｈｒ，Ｌｅｕ または Ｓｅｒ）；残基４９．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基５０．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基５１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ または Ａｒｇ）；残基５２．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基５４．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基５５．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｓｎ）；残基５６．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ，Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５７．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｍｅｔ，Ａｓｎ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｌｙｓ，Ａｌａ または Ｇｌｕ）；残基５９．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基６０．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ａｓｐ または Ｇｌｙ）；残基６１．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ，Ｖａｌ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ，Ｔｙｒ，Ｓｅｒ または Ａｌａ）；残基６２．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基６３．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｓｐ）；残基６４．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ｌｅｕ）；残基６５．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｌａ）；残基６８．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基７０．のＸａａ＝（Ｔｈｒ または Ａｌａ）；残基７１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｙｓ，Ａｒｇ または Ｇｌｕ）；残基７２．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｍｅｔ または Ｖａｌ）；残基７３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ または Ａｓｐ）；残基７４．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基７５．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｔｈｒ または Ｖａｌ）；残基７６．のＸａａ＝（Ｓｅｒ または Ａｌａ）；残基７７．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基７９．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基８０．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｔｙｒ または Ｌｅｕ）；残基８１．のＸａａ＝（Ａｓｐ または Ａｓｎ）；残基８２．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基８３．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ｇｌｎ，Ａｓｎ または Ｔｙｒ）；残基８４．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｎ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基８５．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｔｈｒ または Ｌｙｓ）；残基８７．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基８９．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ａｒｇ）；残基９０．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｓｎ，Ｇｌｎ または Ｈｉｓ）；残基９１．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｈｉｓ）；残基９２．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ または Ｇｌｕ）；残基９３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｇｌｕ または Ａｓｐ）；残基９５．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｔｈｒ または Ａｌａ）；残基９７．のＸａａ＝（Ａｒ９，Ｌｙｓ，Ｖａｌ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基９８．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｇｌｙ または Ｇｌｕ）；残基１０２．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｒｇ）．

同様に、一般配列５（配列番号３０）および一般配列６（配列番号３１）は、表IIで示されるモルフォゲンファミリーのすべてのタンパク質が共有する相同配列を有する。特に、一般配列５と６は、以下のタンパク質の複合アミノ酸配列である：ヒトＯＰ－１（ｈＯＰ－１、配列番号５、16－17）、マウスＯＰ－１（ｍＯＰ－１、配列番号６、18－19）、ヒトおよびマウスＯＰ－２（配列番号７、８、20－22）、ＣＢＭＰ２Ａ（配列番号９）、ＣＢＭＰ２Ｂ（配列番号１０）、ＤＰＰ（キイロショウジョウバエ由来、配列番号１１）、Ｖｇｌ（ツメガエル由来、配列番号１２）、Ｖｇｒ－１（マウス由来、配列番号１３）、ＧＤＦ－１（マウス由来、配列番号１４）、ヒトＢＭＰ３（配列番号26）、ヒトＢＭＰ５（配列番号27）、ヒトＢＭＰ６（配列番号28）、６０（Ａ）（キイロショウジョウバエ由来、配列番号24－25）。一般配列は、６つおよび７つのシステイン骨格（各々一般配列５および６）で規定されるＣ末端ドメイン内でこれらの配列が共有する同一アミノ酸配列と、配列内の各種の位置における代替残基を有する。一般配列３と４は一般配列５の位置４１あるいは一般配列６の位置４６においてさらにシステインを保持することにより、鎖内あるいは鎖間ジスルフィド結合を形成できる適切なシステイン骨格を構成し、タンパク質の三次元構造に影響を与える重要なアミノ酸配列を含む。

一般配列５

Leu Xaa Xaa Xaa Phe
1 5

Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa
10

Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala
15 20

Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa
25 30

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35

Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa
40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
55 60

Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
70 75

Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa
80

Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa
85 90

Xaa Cys Xaa Cys Xaa
95

ここで各Xaaは、次に定義する一種以上のアミノ酸の群から独立に選択されたものである（Res.は残基を意味する）：残基２．のＸａａ＝（Ｔｙｒ　または　Ｌｙｓ）；残基３．のＸａａ＝（Ｖａｌ　または　Ｉｌｅ）；残基４．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ　または　Ｇｌｕ）；残基６．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｓｅｒ，Ｌｙｓ　または　Ａｌａ）；残基７．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ　または　Ｌｙｓ）；残基８．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｖａｌ　または　Ｉｌｅ）；残基１１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ａｓｐ，Ｈｉｓ，Ａｓｎ　または　Ｓｅｒ）；残基１２．のＸａａ＝（ＡＳＰ，Ａｒｇ，Ａｓｎ　または　Ｇｌｕ）；残基１４．のＸａａ＝（Ｉｌｅ　または　Ｖａｌ）；残基１５．のＸａａ

==（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基１６．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基１８．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ｌｙｓ，Ｐｒｏ または Ａｒｇ）；残基１９．のＸａａ＝（Ｇｌｙ または Ｓｅｒ）；残基２０．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基２１．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｍｅｔ，Ｈｉｓ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ または Ｇｌｙ）；残基２３．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ａｓｎ または Ｐｈｅ）；残基２６．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｈｉｓ，Ｔｙｒ，Ａｓｐ，Ｇｌｎ または Ｓｅｒ）；残基２８．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｌｙｓ，ＡｓＰ，Ｇｌｎ または Ａｌａ）；残基３０．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ｐｒｏ，Ｇｌｎ または Ａｓｎ）；残基３１．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ または Ｔｙｒ）；残基３３．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基３４．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ａｌａ，Ｔｈｒ または Ｐｒｏ）；残基３５．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ｌｅｕ，Ａｌａ または Ｌｙｓ）；残基３６．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ｃｙｓ，Ｈｉｓ，Ｓｅｒ または Ｉｌｅ）；残基３７．のＸａａ＝（Ｍｅｔ，Ｐｈｅ，Ｇｌｙ または Ｌｅｕ）；残基３８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ または Ｌｙｓ）；残基３９．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ｇｌｙ または Ｐｒｏ）；残基４０．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ｌｅｕ または Ｓｅｒ）；残基４４．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｖａｌ または Ｔｈｒ）；残基４５．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｌｅｕ または Ｉｌｅ）；残基４６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ または Ａｒｇ）；残基４７．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基４８．のＸａａ＝（Ｌｅｕ または Ｉｌｅ）；残基４９．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基５０．のＸａａ＝（Ｈｉｓ，Ａｓｎ または Ａｒｇ）；残基５１．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ，Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５２．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｍｅｔ，Ａｓｎ，Ａｌａ，Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基５３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｌｙｓ，Ａｌａ，Ｇｌｕ，Ｇｌｙ または Ｐｈｅ）；残基５４．のＸａａ＝（Ｐｒｏ，Ｓｅｒ または Ｖａｌ）；残基５５．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ａｓｐ，Ａｓｎ，Ｇｌｙ，Ｖａｌ または Ｌｙｓ）；残基５６．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ，Ｖａｌ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ，Ｔｙｒ，Ｓｅｒ，Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｈｉｓ）；残基５７．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基５８．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または ＡｓＰ）；残基５９．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ｌｅｕ または Ｇｌｕ）；残基６０．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｌａ）；残基６３．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基６５．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｇｌｕ）；残基６６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｙｓ，Ａｒｇ または Ｇｌｕ）；残基６７．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｍｅｔ または Ｖａｌ）；残基６８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ または Ｇｌｙ）；残基６９．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基７０．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｔｈｒ，Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基７１．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｐｒｏ）；残基７２．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｍｅｔ または Ｉｌｅ）；残基７４．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基７５．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｔｙｒ，Ｌｅｕ または Ｈｉｓ）；残基７６．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ａｓｎ または Ｌｅｕ）；残基７７．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基７８．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ｇｌｎ，Ａｓｎ，Ｔｙｒ または Ａｓｐ）；残基７９．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ｇｌｕ または Ｌｙｓ）；残基８０．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｔｈｒ または Ｌｙｓ）；残基８２．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｖａｌ または Ａｓｎ）；残基８４．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ａｒｇ）；残基８５．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｓｎ，Ｇｌｎ，Ｈｉｓ または Ｖａｌ）；残基８６．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｈｉｓ）；残基８７．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｇｌｕ または Ｐｒｏ）；残基８８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｇｌｕ または Ａｓｐ）；残基９０．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基９２．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｌｙｓ，Ｖａｌ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基９３．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｇｌｙ，Ｇｌｕ または Ｓｅｒ）；残基９５．のＸａａ＝（Ｇｌｙ または Ａｌａ）；残基９７．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｒｇ）．

一般配列６

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Phe
1 5 10
Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa
15
Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala
20 25
Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa
30 35
Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
40
Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa
45 50
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
55
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
60 65
Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
70
Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
75 80
Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa
85
Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa
90 95
Xaa Cys Xaa Cys Xaa
100

ここで各Xaaは、次に定義する一種以上のアミノ酸の群から独立に選択されたものである（Res.は残基を意味する）：残基２．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｒｇ，Ａｌａ または Ｇｌｎ）；残基３．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｒｇ または Ｍｅｔ）；残基４．のＸａａ＝（Ｈｉｓ，Ａｒｇ または Ｇｌｎ）；残基５．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｓｅｒ，Ｈｉｓ，Ｇｌｙ，Ａｒｇ，Ｐｒｏ，Ｔｈｒ または Ｔｙｒ）；残基７．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｌｙｓ）；残基８．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｉｌｅ）；残基９．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基１１．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｓｅｒ，Ｌｙｓ または Ａｌａ）；残基１２．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ または Ｌｙｓ）；残基１３．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｖａｌ または Ｉｌｅ）；残基１６．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ａｓｐ，Ｈｉｓ，Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基１７．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ａｒｇ，Ａｓｎ または Ｇｌｕ）；残基１９．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基２０．のＸａａ＝（Ｉｌｅ または Ｖａｌ）；残基２１．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基２３．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ，Ｌｙｓ，Ｐｒｏ または Ａｒｇ）；残基２４．のＸａａ＝（Ｇｌｙ または Ｓｅｒ）；残基２５．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基２６．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｍｅｔ，Ｈｉｓ，Ｇｌｎ，Ｌｅｕ または Ｇｌｙ）；残基２８．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ａｓｎ または Ｐｈｅ）；残基３１．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｈｉｓ，Ｔｙｒ，Ａｓｐ，Ｇｌｎ または Ｓｅｒ）；残基３３．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ，Ｇｌｎ または Ａｌａ）；残基３５．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ｐｒｏ，Ｇｌｎ

または Ａｓｎ）；残基３６．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ または Ｔｙｒ）；残基３８．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基３９．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ａｌａ，Ｔｈｒ または Ｐｒｏ）；残基４０．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ｌｅｕ，Ａｌａ または Ｌｙｓ）；残基４１．のＸａａ＝（Ｔｙｒ，Ｃｙｓ，Ｈｉｓ，Ｓｅｒ または Ｉｌｅ）；残基４２．のＸａａ＝（Ｍｅｔ，Ｐｈｅ，Ｇｌｙ または Ｌｅｕ）；残基４３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ または Ｌｙｓ）；残基４４．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｓｅｒ，Ｇｌｙ または Ｐｒｏ）；残基４５．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ｌｅｕ または Ｓｅｒ）；残基４９．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｖａｌ または Ｔｈｒ）；残基５０．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｌｅｕ または Ｉｌｅ）；残基５１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ または Ａｒｇ）；残基５２．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｓｅｒ）；残基５３．のＸａａ＝（Ｌｅｕ または Ｉｌｅ）；残基５４．のＸａａ＝（Ｖａｌ または Ｍｅｔ）；残基５５．のＸａａ＝（Ｈｉｓ，Ａｓｎ または Ａｒｇ）；残基５６．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｌｅｕ，Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基５７．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｍｅｔ，Ａｓｎ，Ａｌａ，Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基５８．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｌｙｓ，Ａｌａ，Ｇｌｕ，Ｇｌｙ または Ｐｈｅ）；残基５９．のＸａａ＝（Ｐｒｏ，Ｓｅｒ または Ｖａｌ）；残基６０．のＸａａ＝（Ｇｌｕ，Ａｓｐ，Ｇｌｙ，Ｖａｌ または Ｌｙｓ）；残基６１．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ，Ｖａｌ，Ｌｙｓ，Ａｓｐ，Ｔｙｒ，Ｓｅｒ，Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｈｉｓ）；残基６２．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基６３．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｓｐ）；残基６４．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ｌｅｕ または Ｇｌｕ）；残基６５．のＸａａ＝（Ｐｒｏ または Ａｌａ）；残基６８．のＸａａ＝（Ａｌａ または Ｖａｌ）；残基７０．のＸａａ＝（Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｇｌｕ）；残基７１．のＸａａ＝（Ｇｌｎ，Ｌｙｓ，Ａｒｇ または Ｇｌｕ）；残基７２．のＸａａ＝（Ｌｅｕ，Ｍｅｔ または Ｖａｌ）；残基７３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｓｅｒ，Ａｓｐ または Ｇｌｙ）；残基７４．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｐｒｏ または Ｓｅｒ）；残基７５．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｔｈｒ，Ｖａｌ または Ｌｅｕ）；残基７６．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｌａ または Ｐｒｏ）；残基７７．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｍｅｔ または Ｉｌｅ）；残基７９．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｐｈｅ）；残基８０．のＸａａ＝（Ｐｈｅ，Ｔｙｒ，Ｌｅｕ または Ｈｉｓ）；残基８１．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ａｓｎ または Ｌｅｕ）；残基８２．のＸａａ＝（Ａｓｐ，Ｇｌｕ，Ａｓｎ または Ｓｅｒ）；残基８３．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ｇｌｎ，Ａｓｎ，Ｔｙｒ または Ａｓｐ）；残基８４．のＸａａ＝（Ｓｅｒ，Ａｓｎ，Ａｓｐ，Ｇｌｕ または Ｌｙｓ）；残基８５．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｔｈｒ または Ｌｙｓ）；残基８７．のＸａａ＝（Ｉｌｅ，Ｖａｌ または Ａｓｎ）；残基８９．のＸａａ＝（Ｌｙｓ または Ａｒｇ）；残基９０．のＸａａ＝（Ｌｙｓ，Ａｓｎ，Ｇｌｎ，Ｈｉｓ または Ｖａｌ）；残基９１．のＸａａ＝（Ｔｙｒ または Ｈｉｓ）；残基９２．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｇｌｎ，Ｇｌｕ または Ｐｒｏ）；残基９３．のＸａａ＝（Ａｓｎ，Ｇｌｕ または Ａｓｐ）；残基９５．のＸａａ＝（Ｖａｌ，Ｔｈｒ，Ａｌａ または Ｉｌｅ）；残基９７．のＸａａ＝（Ａｒｇ，Ｌｙｓ，Ｖａｌ，Ａｓｐ または Ｇｌｕ）；残基９８．のＸａａ＝（Ａｌａ，Ｇｌｙ，Ｇｌｕ または Ｓｅｒ）；残基１００．のＸａａ＝（Ｇｌｙ または Ａｌａ）；残基１０２．のＸａａ＝（Ｈｉｓ または Ａｒｇ）．

本発明によるモルフォゲンとして有用な配列には、特にＶｇｌ、Ｖｇｒ－１、ＤＰＰ、ＯＰ－１、ＯＰ－２、ＣＢＭＰ－２Ａ、ＣＢＭＰ－２Ｂ、ＧＤＦ－１のＣ末端９６－１０２アミノ酸残基（下記の表IIと配列番号5-14を参照）などのＣ末端ドメインと、６０Ａ、ＢＭＰ３、ＢＭＰ５、ＢＭＰ６のＣ末端ドメイン（配列番号24-28参照）（いずれも少なくとも保存された６つあるいは７つのシステイン骨格を有する）を含む。また、ＣＯＰ－１、３－５、７、１６のような一般配列に基づいて生合成された配列（米国特許第5,011,691号）も有用である。さらにインヒビン／アクチビン（inhibins／activin）タンパク質（例：米国特許第4,968,590号および5,011,691号参照）を含む。従って、他の有用配列も上記いずれかの配列と少なくとも７０％、望ましくは８０％の相同性あるいは「類似性」を

共有する。これらの有用配列は、モルフォゲンファミリーの新規タンパク質に加え、天然に存在するかあるいは生合成されるかいずれにしても、対立遺伝子変異および種間変異および他の配列変異（「ムテイン」すなわち「変異タンパク質」を含む）を含むと考えられる。ここで言う「アミノ酸配列相同性」とは、アミノ酸配列の類似性を意味し、相同配列は同一あるいは類似アミノ酸を共有する。ここで類似アミノ酸とはDayoff et al.、Atlas of Protein Sequence and Structure；vol.5,Suppl. ３、pp.345-362（M.O.Dayoff、ed. Nat'l BioMed. Research Fdn., Washington D.C.1978.）によって規定される保存されたアミノ酸である。従って、参照配列と７０％のアミノ酸相同性を共有する候補配列は、その参照配列と並べてみた場合に候補配列中のアミノ酸の７０％が参照配列の対応するアミノ酸と同一であるか、参照配列に対して保存されたアミノ酸変化を構成している必要がある。「アミノ酸配列の同一性」という場合は、２つの配列を並べた場合にその配列間に同一なアミノ酸があることが必要である。従って、参照配列と６０％のアミノ酸同一性を共有する候補配列は、その参照配列と並べてみた場合に、候補配列中の６０％のアミノ酸が参照配列中の対応するアミノ酸と同等である必要がある。

ここでは相同性および同一性の計算はすべてＯＰ－１を参照配列として行う。また、相同性および同一性の計算では、Needleman et al.(1970)J.Mol.Biol.48:443-453の方法を用いて配列を並べ、同一性計算ではAlign program（DNAstar,Inc.）に従う。いずれの場合も、並べてみた候補配列中の内部ギャップとアミノ酸挿入は、相同性／同一性計算では無視する。本発明のモルフォゲンとして有用な最も望ましいタンパク質配列は、ｈＯＰ１の保存された６つのシステイン骨格を規定するアミノ酸配列（配列番号５の４３－１３９残基）と６０％以上、望ましくは６５％の同一性を有する。この最も望ましい配列は、ＯＰ－１およびＯＰ－２タンパク質（キイロショウジョウバイ由来６０Ａタンパク質を含む）の対立遺伝子変異および種間変異を含む。本発明の別の望ましい態様では、有用モルフォゲンには、「ＯＰＸ」という一般アミノ酸配列を有する各種ポリペプチド鎖から成る活性タンパク質が含まれ、ＯＰ１およびＯＰ２として同定される各種配列間の相同配列（配列番号29）がまれる。

また別の望ましい態様では、有用モルフォゲンは二量体タンパク質であり、ＯＰ１あるいはＯＰ２の保存された７つのシステインドメインを規定するＣ末端配列をコードするＤＮＡあるいはＲＮＡと緊縮又は厳密ハイブリダイゼーション条件（stringent hybridization condition）下でハイブリッド結合する核酸配列番号１６の１０３６－１３４１ヌクレオチドおよび配列番号２０の１３９０－１６９５ヌクレオチド）によりコードされるアミノ酸配列から成る。ここでいう緊縮ハイブリダイゼーションとは、４０％ホルムアミド、５ｘ　ＳＳＰＥ、５ｘ　Denhardt溶液、０．１％ＳＤＳにて３７度において一晩処置し、０．１ｘ　ＳＳＰＥ、０．１％ＳＤＳにより５０度にて洗浄することをいう。

本発明による方法、組成物、装置において有用なモルフォゲンは、天然に存在する物質から短縮されるか、組み換えＤＮＡあるいは他の合成法によって製造されるかいずれにしても前記いずれかのポリペプチド鎖を有するタンパク質であり、対立遺伝子変異、種間変異、天然に存在する変異体、生合成変異体、各種短縮形、各種融合体を含む。欠失あるいは付加変異体も活性を有すると考えられ、これには、保存されたＣ末端システイン骨格を変化させたものも含まれる（ただし、この変化により折り畳み構造におけるシステインの機能が影響されないことを条件とする）。従って、このような活性体は本明細書で特に述べる構造体と同等であると考えられる。このようなタンパク質としては、異なるグリコシレーションパターンを有するもの、異なるＮ末端を有するもの、アミノ酸配列相同性を有する領域を含む関連タンパク質ファミリー、天然タンパク質の、あるいは宿主細胞における組み換えＤＮＡ発現により作成される生合成タンパク質の短縮形、キメラ体、および／または変異体（いずれも活性を有する）が挙げられる。

モルフォゲンタンパク質は、そのままの形、キメラ体、および／または短縮形ｃＤＮＡにより、あるいは原核生物または真核生物宿主細胞において生成されたＤＮＡにより発現され、生成され、切断され、再度折り畳まれ、二量体にしてモルフォゲン活性組成物となる。現在望ましい宿主細胞としては、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）あるいはＣＨＯ、ＣＯＳ、Ｂ

ＳＣ細胞などの哺乳動物細胞が挙げられる。本発明による方法、組成物、装置において有用なモルフォゲンの詳細な説明は、出願中の米国特許出願第752764号（1991年8月30日出願）と667274号（1991年3月11日出願）に記載されている（これらは参考文献として引用した）。

上記特許出願に開示されている説明を見れば、当該分野の専門家であれば、適切なアミノ酸配列をコードする各種ｃＤＮＡあるいは遺伝子ライブラリーから遺伝子を単離し、あるいはオリゴヌクレオチドからＤＮＡを作成し、原核生物あるいは真核生物の各種宿主細胞で発現させ、哺乳動物（ヒトを含む）における肝機能を維持する（肝機能障害の補正、肝組織再生の促進および修復を含む）ことのできる活性タンパク質を大量に生産することができる。

以上の他の本発明による目的、特徴、利点を、さらに以下の詳細な説明により明確にする。

【図面の簡単な説明】

以上のまた他の本発明による目的と特徴は、添付図面と以下の図面の説明によりさらに明確となる。

第１図は、マウス胚および出生後マウスの成長肝組織におけるＯＰ－１特異的ｍＲＮＡ発現を同定するノーザンブロットを示している。レーン２と３は各々１５日および２０日胚組織由来のＲＮＡであり、レーン４－８は各々出生後３、７、１４、２１、２８日目のマウス組織由来のＲＮＡであり、レーン１と９は分子量マーカーラダーである。

第２図は、部分肝切除ラットに対する燐酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ，動物１）あるいはモルフォゲン（ＯＰ－１、動物２）の影響を示す顕微鏡写真である（矢印は動物１と２の処置肝葉を示す）。

第３図は、みかけ手術（レーン３、５、７、９、１１、１３、１５）および部分肝切除ラット（レーン２、４、６、８、１０、１２、１４）を術後１２－９６時間の間６時間間隔でｍＯＰ－１特異的プローブにて単離したｍＲＮＡのノーザンブロットを示す。レーン１と１６は分子量マーカーレーンである。

第４図は、ガラクトサミン処置ラットを処置後０－７日目、１０日目（レーン１－９）にｍＯＰ－１特異的プローブにて検出し単離したｍＲＮＡのノーザンプロットを示す。レーン１０は分子量マーカーである。

第５図（ＡとＢ）は、in vivo早期単核食細胞多核化のモルフォゲンによる阻害を示す。

第６図（Ａ－Ｄ）は、初代培養線維芽細胞におけるコラーゲン（６Ａと６Ｂ）とヒアルロン酸（６Ｃと６Ｄ）産生に対するモルフォゲン（ＯＰ－１、第６Ａと６Ｃ図）とＴＧＦ－Ｂ（第６Ｂ図と６Ｄ図）の影響を示すグラフである。

発明の詳細な説明

本明細書で述べるタンパク質は、哺乳動物の肝機能を維持するために効果的な物質であることがわかっている。前記のようにこのようなタンパク質（「モルフォゲン」）は、組織のモルフォゲン形成又は形態形成が通常は生成されないような条件下で肝組織の再生および修復を誘発し、肝前駆細胞の増殖および分化を促進する。またこれらのタンパク質は、免疫関連肝組織傷害に伴う組織破壊を軽減する細胞保護効果を有する。従ってこれらのタンパク質は、傷害あるいは消失した肝組織を再生し、肝機能障害を補正し、哺乳動物に移植された肝組織あるいは肝臓の生存能力を向上させるためのプロトコールの一部として用いることができる。また哺乳動物のタンパク質欠乏を直すための遺伝子治療プロトコールにも用いることができる。

これより本発明による方法、組成物、装置で有用な適切なモルフォゲンを詳細に説明する。またモルフォゲンの投与および適用の方法も説明する。さらに、１）哺乳動物における肝機能維持のための治療薬としてのモルフォゲンおよびモルフォゲン刺激性物質について、２）候補となるモルフォゲンおよびモルフォゲン刺激性物質の効果を試験するアッセイについての多数の非限定的実施例を提供する。特に、内因性モルフォゲンの発現分配（実施例１）、成長胚における肝形成時の内因性モルフォゲンの発現（実施例２）、初代肝細胞の増殖を誘発するモルフォゲンの能力（実施例３）、部分的肝切除後のモルフォゲン誘

発性肝組織形態形成（実施例４）、毒物誘発性肝組織傷害後の肝組織修復時の内因性モルフォゲン発現（実施例５）、生体細胞性免疫応答および液性免疫応答におけるモルフォゲンの阻害効果（実施例６）、線維形成におけるモルフォゲンの効果（実施例７）、肝診断過程におけるモルフォゲンの有用性（実施例８）、候補モルフォゲン刺激性物質をスクリーニングするためのアッセイ（実施例９）を提供する。

Ｉ．有用モルフォゲン

本明細書で述べるタンパク質は、新しい臓器特異的組織形成時に活動が最高となるような細胞および分子のカスケード反応を誘発し、少なくとも保存されたＣ末端における６つのシステイン骨格あるいは機能的に同等の構成を有する（上記参照）。モルフォゲンは、一般的に、形態形成許容環境において以下の生物学的機能のすべてを有する：前駆細胞の増殖を刺激する；前駆細胞の分化を刺激する：分化細胞の増殖を刺激する；分化細胞の成長および維持を支持する。

本発明による方法において、どのようにモルフォゲンが有用であるか、またモルフォゲンをどのように生成し、使用し、活性を試験するかの詳細な説明は、USSN 667,274号（1991年３月11日）およびUSSN 752,764号（1991年８月30日）に開示されている（参考文献として引用）。これらの文献に開示されているように、モルフォゲンは、天然に存在する物質から精製するか、開示されている遺伝子配列を用いて宿主の原核細胞あるいは真核細胞から遺伝子組み換え手法により作成することによって得られる。または、前記文献に開示されている手法により新規モルフォゲン配列を同定することもできる。

特に有用なタンパク質は、表IIに示される天然由来の配列を有する。他の有用配列としては、米国特許第5,011,691号に開示されているような生合成構造体（ＣＯＰ－１、ＣＯＰ－３、ＣＯＰ－４、ＣＯＰ－５、ＣＯＰ－７、ＣＯＰ－１６）が挙げられる（参考文献として引用）。

従って、本発明による方法および組成物で有用なモルフォゲンは、上記いずれかの配列と７０％あるいは望ましくは８０％の相同性（類似性）を共有するアミノ酸配列を有するモルフォゲン活性タンパク質と規定することができる。

また、６つの一般的な配列（一般配列１、２、３、４、５、６）のいずれかで規定することもできる。一般配列１と２は、Ｎ末端に下記の配列を有していてもよい：

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa （配列番号15）
1 5

下記の表IIでは、ヒトＯＰ－１（ｈＯＰ－１、配列番号５、16、17）、マウスＯＰ－１（ｍＯＰ－１、配列番号６、18、19）、ヒトおよびマウスＯＰ－２（配列番号７、８、20-23）、ＣＢＭＰ２Ａ（配列番号９）、ＣＢＭＰ２Ｂ（配列番号10）、ＢＭＰ３（配列番号26）、ＤＰＰ（キイロショウジョウバエ由来、配列番号11）、Ｖｇｌ（ツメガエル由来、配列番号12）、Ｖｇｒ－１（マウス由来、配列番号13）、ＧＤＦ－１（マウス由来、配列番号14、32、33）、６０Ａタンパク質：キイロショウジョウバエ由来、配列番号24、25）、ＢＭＰ５（配列番号27）及びＢＭＰ６（配列番号28）を含むモルフォゲンとして同定されているタンパク質の活性領域のアミノ酸配列の比較が示されている。配列はNeedleman et al.(1970)J.Mol.Biol. 48:443-453の方法に従って本質的に１列に並べ、Align Program（DNAstar,Inc.）を用いて計算する。表中の３つのドットは、この位置でのアミノ酸がｈＯＰ－１のアミノ酸と同じであることを示す。３つのダッシュは、この位置にはアミノ酸が存在しないことを示し、相同性がわかるように表示されている。例えばＣＢＭＰ－２ＡおよびＣＢＭＰ－２Ｂのアミノ酸残基６０は「欠けている（missing）」である。もちろん、この領域における両アミノ酸配列は、Ａｓｎ－Ｓｅｒ（残基５８、５９）を有し、ＣＢＭＰ－２Ａでは次にＬｙｓとＩｌｅを、ＣＢＭＰ－２ＢではＳｅｒとＩｌｅを有する。

(表ＩＩ)

hOP-1	Cys	Lys	Lys	His	Glu	Leu	Tyr	Val
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	Arg	Arg	...	...	...	...	...
mOP-2	...	Arg	Arg	...	...	...	...	...
DPP	...	Arg	Arg	...	Ser	...	...	...
Vgl	...	...	Lys	Arg	His	...	...	...
Vgr-1	...	...	...	...	Gly	...	...	...
CBMP-2A	...	...	Arg	...	Pro	...	...	...
CBMP-2B	...	Arg	Arg	...	Ser	...	...	...
BMP3	...	Ala	Arg	Arg	Tyr	...	Lys	...
GDF-1	...	Arg	Ala	Arg	Arg	...	...	...
60A	...	Gln	Met	Glu	Thr	...	...	...
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	Arg	...	...	...	...	...	...
	1				5			

hOP-1	Ser	Phe	Arg	Asp	Leu	Gly	Trp	Gln	Asp
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	Gln	...	...	...	...	Leu	...
mOP-2	Ser	...	...	...	...	...	...	Leu	...
DPP	Asp	...	Ser	...	Val	...	...	Asp	...
Vgl	Glu	...	Lys	...	Val	...	...	...	Asn
Vgr-1	...	...	Gln	...	Val	...	...	...	...
CBMP-2A	Asp	...	Ser	...	Val	...	...	Asn	...
CBMP-2B	Asp	...	Ser	...	Val	...	...	Asn	...
BMP3	Asp	...	Ala	...	Ile	...	...	Ser	Glu
GDF-1	...	...	...	Glu	Val	...	...	His	Arg
60A	Asp	...	Lys	...	...	...	...	His	...
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	Gln	...	...	...	...	...	...
		10					15		

hOP-1	Trp	Ile	Ile	Ala	Pro	Glu	Gly	Tyr	Ala
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	Val	...	...	...	Gln	...	...	Ser
mOP-2	...	Val	...	...	...	Gln	...	...	Ser
DPP	...	...	Val	...	...	Leu	...	...	Asp
Vgl	...	Val	...	...	...	Gln	...	...	Met
Vgr-1	...	...	...	...	...	Lys	...	...	...
CBMP-2A	...	...	Val	...	...	Pro	...	...	His
CBMP-2B	...	...	Val	...	...	Pro	...	...	Gln
BMP3	...	...	...	Ser	...	Lys	Ser	Phe	Asp
GDF-1	...	Val	...	...	...	Arg	...	Phe	Leu
60A	...	...	...	...	...	...	...	...	Gly
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	...	...	...	Lys	...	...	...
			20					25	

hOP-1	Ala	Tyr	Tyr	Cys	Glu	Gly	Glu	Cys	Ala
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	...	...	...	...	...	...	Ser
mOP-2	...	...	...	...	...	...	...	...	...
DPP	...	...	...	...	His	...	Lys	...	Pro
Vgl	...	Asn	...	...	Tyr	...	...	...	Pro
Vgr-1	...	Asn	...	...	Asp	...	...	...	Ser
CBMP-2A	...	Phe	...	...	His	...	Glu	...	Pro
CBMP-2B	...	Phe	...	...	His	...	Asp	...	Pro
BMP3	...	...	...	...	Ser	...	Ala	...	Gln
GDF-1	...	Asn	...	...	Gln	...	Gln	...	...
60A	...	Phe	...	...	Ser	...	...	...	Asn
BMP5	...	Phe	...	...	Asp	...	...	...	Ser
BMP6	...	Asn	...	...	Asp	...	...	...	Ser
				30					35

hOP-1	Phe	Pro	Leu	Asn	Ser	Tyr	Met	Asn	Ala
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	...	Asp	...	Cys	...	...	...
mOP-2	...	...	...	Asp	...	Cys	...	...	...
DPP	...	...	...	Ala	Asp	His	Phe	...	Ser
Vgl	Tyr	...	...	Thr	Glu	Ile	Leu	...	Gly
Vgr-1	...	...	...	...	Ala	His	...	...	...
CBMP-2A	...	...	...	Ala	Asp	His	Leu	...	Ser
CBMP-2B	...	...	...	Ala	Asp	His	Leu	...	Ser
GDF-1	Leu	...	Val	Ala	Leu	Ser	Gly	Ser**	...
BMP3	...	...	Met	Pro	Lys	Ser	Leu	Lys	Pro
60A	...	...	...	...	Ala	His	...	...	...
BMP5	...	...	...	...	Ala	His	Met	...	...
BMP6	...	...	...	...	Ala	His	Met	...	...

40

hOP-1	Thr	Asn	His	Ala	Ile	Val	Gln	Thr	Leu
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	...	...	...	Leu	...	Ser	...
mOP-2	...	...	...	...	...	Leu	...	Ser	...
DPP	...	...	...	...	Val	...	...	...	...
Vgl	Ser	...	...	...	...	Leu	...	...	...
Vgr-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
CBMP-2A	...	...	...	...	...	...	...	...	...
CBMP-2B	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP3	Ser	...	...	...	Thr	Ile	...	Ser	Ile
GDF-1	Leu	...	...	...	Val	Leu	Arg	Ala	...
60A	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	...	...	...	...	...	...	...

45 50

hOP-1	Val	His	Phe	Ile	Asn	Pro	Glu	Thr	Val
mOP-1	...	...	...	...	...	...	Asp	...	...
hOP-2	...	His	Leu	Met	Lys	...	Asn	Ala	...
mOP-2	...	His	Leu	Met	Lys	...	Asp	Val	...
DPP	...	Asn	Asn	Asn	...	...	Gly	Lys	...
Vgl	...	...	Ser	...	Glu	...	...	Asp	Ile
Vgr-1	...	...	Val	Met	...	...	...	Tyr	...
CBMP-2A	...	Asn	Ser	Val	...	Ser	---	Lys	Ile
CBMP-2B	...	Asn	Ser	Val	...	Ser	---	Ser	Ile
BMP3	...	Arg	Ala**	Gly	Val	Val	Pro	Gly	Ile
GDF-1	Met	...	Ala	Ala	Ala	...	Gly	Ala	Ala
60A	...	...	Leu	Leu	Glu	...	Lys	Lys	...
BMP5	...	...	Leu	Met	Phe	...	Asp	His	...
BMP6	...	...	Leu	Met	...	...	...	Tyr	...
		55					60		

hOP-1	Pro	Lys	Pro	Cys	Cys	Ala	Pro	Thr	Gln
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	Ala	...	...	...	...	...	Lys
mOP-2	...	...	Ala	...	...	...	...	...	Lys
DPP	...	...	Ala	...	...	Val	...	...	...
Vgl	...	Leu	...	...	...	Val	...	...	Lys
Vgr-1	...	...	...	...	...	...	...	...	Lys
CBMP-2A	...	...	Ala	...	...	Val	...	...	Glu
CBMP-2B	...	...	Ala	...	...	Val	...	...	Glu
BMP3	...	Glu	...	...	...	Val	...	Glu	Lys
GDF-1	Asp	Leu	...	...	...	Val	...	Ala	Arg
60A	...	...	...	...	...	...	...	...	Arg
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	Lys
BMP6	...	...	...	...	...	...	...	...	Lys
			65					70	

hOP-1	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Val	Leu	Tyr	Phe
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	Ser	...	Thr	...	...	...	...	Tyr
mOP-2	...	Ser	...	Thr	...	...	...	...	Tyr
Vgl	Met	Ser	Pro	...	...	Met	...	Phe	Tyr
Vgr-1	Val	...	...	...	...	...	...	...	...
DPP	...	Asp	Ser	Val	Ala	Met	...	...	Leu
CBMP-2A	...	Ser	...	...	...	Met	...	...	Leu
CBMP-2B	...	Ser	...	...	...	Met	...	...	Leu
BMP3	Met	Ser	Ser	Leu	...	Ile	...	Phe	Tyr
GDF-1	...	Ser	Pro	...	...	...	...	Phe	...
60A	...	Gly	...	Leu	Pro	...	...	...	His
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	...	...	...	...	...	...	...
				75					80

hOP-1	Asp	Asp	Ser	Ser	Asn	Val	Ile	Leu	Lys
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	Ser	...	Asn	...	...	...	...	Arg
mOP-2	...	Ser	...	Asn	...	...	...	...	Arg
DPP	Asn	...	Gln	...	Thr	...	Val	...	...
Vgl	...	Asn	Asn	Asp	...	...	Val	...	Arg
Vgr-1	...	...	Asn	...	...	...	...	...	...
CBMP-2A	...	Glu	Asn	Glu	Lys	...	Val	...	...
CBMP-2B	...	Glu	Tyr	Asp	Lys	...	Val	...	...
BMP3	...	Glu	Asn	Lys	...	...	Val	...	...
GDF-1	...	Asn	...	Asp	...	...	Val	...	Arg
60A	Leu	Asn	Asp	Glu	...	...	Asn	...	...
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	Asn	...	...	...	...	...	...
					85				

hOP-1	Lys	Tyr	Arg	Asn	Met	Val	Val	Arg
mOP-1	...	...	...	...	...	...	...	...
hOP-2	...	His	...	...	...	...	...	Lys
mOP-2	...	His	...	...	...	...	...	Lys
DPP	Asn	...	Gln	Glu	...	Thr	...	Val
Vgl	His	...	Glu	...	...	Ala	...	Asp
Vgr-1	...	...	...	...	...	...	...	...
CBMP-2A	Asn	...	Gln	Asp	...	...	...	Glu
CBMP-2B	Asn	...	Gln	Glu	...	...	...	Glu
BMP3	Val	...	Pro	...	...	Thr	...	Glu
GDF-1	Gln	...	Glu	Asp	...	...	...	Asp
60A	...	...	...	...	...	Ile	...	Lys
BMP5	...	...	...	...	...	...	...	...
BMP6	...	...	...	Trp	...	...	...	...
	90					95		

hOP-1	Ala	Cys	Gly	Cys	His
mOP-1	...	...	...	...	...
hOP-2	...	...	...	...	...
mOP-2	...	...	...	...	...
DPP	Gly	...	...	...	Arg
Vgl	Glu	...	...	...	Arg
Vgr-1	...	...	...	...	...
CBMP-2A	Gly	...	...	...	Arg
CBMP-2B	Gly	...	...	...	Arg
BMP3	Ser	...	Ala	...	Arg
GDF-1	Glu	...	...	...	Arg
60A	Ser	...	...	...	...
BMP5	Ser	...	...	...	...
BMP6	...	...	...	...	...
			100		

＊＊BMP3の56および57残基の間にはVal残基があり、GDF-1の43および44残基の間にはGly-Gly-Pro-Pro アミノ酸配列がある。

前記のアミノ酸配列比較により明らかなように、一般的な配列内で重要なアミノ酸変化があっても、モルフォゲン活性は保持されている。例えば表IIで示されるＧＤＦ－１タンパク質配列では、表IIで示されるｈＯＰ１配列と約５０％のアミノ酸しか共有していないが、アミノ酸配列の相同性（あるいは「類似性」）から見るとＧＤＦ－１配列はｈＯＰ１配列と７０％以上を共有している（ここで「相同性」（homology）あるいは「類似性（similarity）」というのは、Dayoff、et al.、Atlas of Protein Sequence and Structure vol.5,supp.3,pp.345-362（M.O.Dayoff,ed.、Nat'l BioMed. Res.Fd'n, Washington D.C.1979）で規定されているような配列内で許容された保存的アミノ酸変化を含む）。

本発明によるモルフォゲンとして有用な現在最も望ましいタンパク質配列は、ｈＯＰ１の保存された６つのシステイン骨格（例えば配列番号５の４３－１３９残基）を規定するアミノ酸配列と６０％以上、望ましくは６５％以上の同一性を有する。このような最も望ましい配列には、キィロショウジョウバエ由来６０Ａタンパク質も含む、ＯＰ－１およびＯＰ－２タンパク質の対立遺伝子変異および種間変異が含まれる。別の望ましい態様としては、「ＯＰＸ」という一般アミノ酸配列を有する各種ポリペプチド鎖（７つのシステイン骨格を規定し、各種マウスおよびヒトＯＰ１およびＯＰ２タンパク質間での同一性を有する）の種を含むモルフォゲンが挙げられる。

ＯＰＸは配列番号29に示される。ここに記載されているように、所定の位置における各Ｘａａは、マウスあるいはヒトＯＰ１あるいはＯＰ２のＣ末端配列の対応する位置における残基から独立して選択される（配列番号5-8および／または配列番号16-23を参照）。

ＩＩ．　マトリックスに関する記載

本発明によるモルフォゲンは、望ましくはin vivo生分解性の適切に調整したマトリックスに分散させて手術により移植することにより、モルフォゲンがその中で分散され、移動前駆細胞の流入、分化、増殖を許容するように構成することができる。別のまたは付加的方法として、モルフォゲンに曝露して刺激した分化肝細胞および／あるいは肝前駆細胞をマトリックス構造に接着させて手術により移植することもできる。内因性組織特異的指示シグナルがない条件でモルフォゲンが誘発されるような場合では、マトリックスにより、分化細胞の組織特異性が指示され、基本的に増殖阻害シグナルの妨害を受けずに形態形成許容環境が提供されることが望ましい。

マトリックスが手術により調整された肝臓に取り込まれるか、あるいは生体親和性関連部位に供給される場合には、モルフォゲンを具備する調整マトリックスは、手術を考慮して所望の形態に形成してもよいし、あるいは手術中に医師や技術者により形成することもできる。移植前にマトリックスへの細胞の接着（attached to）を実施する場合は、細胞を接着させる前にマトリックスを形成することが望ましい。マトリックスはin vivo生分解性であることが望ましく、生分解性であれば、生体によってゆっくりと吸収され、移植片の形状とほとんど同じ形態の新しい組織により代替される。

本発明で有用なマトリックスをどのように作成し使用するかの詳細については、以下に記載する。またこのようなマトリックスの他に、WO88/03785（1988年６月２日公開）およびWO90/12604（1990年11月１日公開）では付加重合物質とマトリックス骨格構造が開示されている（参考文献として本明細書に引用した）。

Ａ．　組織由来マトリックス

生体親和性を有するin vivo生分解性の適切な無細胞マトリックスは、天然に存在する組織より作成することができる。組織を適切な薬剤で処置し、組織の非構造性細胞成分を実質的に抽出する。得られた物質は、多孔性の無細胞性マトリックスであり、実質的に非構造的会合成分を欠くものであり、コラーゲン、ラミニン、ヒアルロン酸などの構造性分子を含有することが望ましい。

マトリックスは、マトリックスを変形させ、孔や表面の微小な凹みを増やすようにマトリックスを変形させる薬剤で処理することもできる。当該分野の専門家であれば、各種組織の非構造性成分の抽出にどのような薬剤が最も適切かわかる。例えば、肝臓や肺のような柔らかい組織は薄い切片を作成し、１００％エタノール等の非極性溶媒で処理することにより、組織の細胞構造を破壊し、非構造性成分を抽出する。次に抽出物質を乾燥させ、粉砕して非接着性多孔粒子を得る。軟骨や象牙質のような構造組織は、コラーゲンが主要成分であり、基本的にSampath et al.（1983）PNAS80:6591-6595の方法に従って脱塩し、グアニジンで抽出する。例えば粉砕し脱塩した象牙質は５倍容量の４Ｍ塩酸グアニジン、５０ｍＭトリス塩酸、pH7.0により４℃において１６時間抽出する。懸濁液を濾過し、非可溶性物質を集めてマトリックスの成形に用いる。得られた物質は大半がコラーゲン様物質であり、形態形成活性はない。マトリックス粒子はさらにコラーゲン線維修飾試薬で処理し、望ましくない成分を除去し、マトリックス物質の表面構造を変形させる。このような薬剤の例としては、酸、有機溶媒、加熱水性媒体が挙げられる。マトリックス処理の詳

細な説明は、米国特許第4975526号およびＰＣＴUS90/00912（1990年９月７日公開、WO90/10018）で開示されている。
現在最も望ましい薬剤は水のような加熱した水性線維修飾試薬であり、これによりマトリックス粒子表面積が増大し、孔の数も増える。現在最も望ましい水性媒体は、約ｐＨ４．５以下（約ｐＨ２－ｐＨ４の範囲）の酸性水性媒体であり、加熱前にコラーゲンの膨潤を促進する。このようなものとしては、０．１％酢酸（約ｐＨ３）が現在最も望ましい。０．１M酢酸も使用できる。
脱脂し脱塩しグアニジン抽出処理されたコラーゲンマトリックスは水カバー付きガラスフラスコ内で一定の撹拌条件下で水性媒体（１ｇマトリックス／３０ｍｌ水性媒体）で加熱し、所定温度で予め定められた時間維持する。処理時間は約１時間が望ましいが、約０．５時間ないし２時間の範囲内であればよい。温度は約３７℃ないし６５℃で維持する。現在の望ましい加熱温度は約４５℃ないし６０℃の範囲である。
マトリックスは加熱後、濾過し、洗浄し、凍結乾燥して移植に用いる。酸性水性媒体を用いる場合は、洗浄および凍結乾燥前にマトリックスを中性にしておくことが望ましい。現在望ましい中性緩衝液としては、２００mM燐酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．０）がある。マトリックスの中性化については、まずマトリックスを熱処理後、冷却してから酸性水性媒体（例えば０．１％酢酸）を除去し、中性緩衝液に代え、マトリックスを約３０分間撹拌することが望ましい。次に中性緩衝液を除去し、マトリックスを洗浄および凍結乾燥させる。
線維修飾試薬として他に有用なものは、酸処理（トリフルオロ酢酸やフッ化水素など）や、ジクロロメタン、アセトニトリル、イソプロパノール、クロロフォルムなどの溶媒処理、および特定の酸／溶媒を組み合わせた処理が挙げられる。線維修飾試薬で処理した後、マトリックスを洗浄して抽出成分を除去し、以下の工程に供する：
１．マトリックスをＴＢＳ（トリス緩衝生理食塩水）１ｇ／２００ｍｌにて懸濁し、４℃において２時間撹拌するか、あるいは６M尿素、５０mMトリス塩酸、５０mMＮａＣｌ、ｐＨ７．０（ＵＴＢＳ）または水にて室温において３０分間（ｐＨを中性とするのに十分な時間）撹拌して調製する。
２．遠心分離し洗浄工程を繰り返す；
３．遠心分離し、上澄みを捨て、残りを水で洗浄し、凍結乾燥させる。
Ｂ．合成マトリックス
適切なマトリックス骨格は、生体親和性を有し、望ましくはin vivo生分解性合成重合物質より作成することができる。このような重合物質の例としては、ポリ酢酸、ポリグリコール酸、ポリ無水物、ポリ酪酸、これらのコポリマー、および／またはヒドロキシアパタイト、トリカルシウムフォスフェート、他のカルシウムフォスフェートのような合成非有機性物質が挙げられる。このような重合物質については文献に十分に開示されており、市販もされている。例としては、ポリ酢酸（例：ＭＷ１００ｋＤａ）、８０％ポリアクタイド／２０％グリコシド、あるいは３－ポリヒドロキシ酪酸（例えばＭＷ３０ｋＤａ）の重合物質を、ポリ科学社（Poly Sciences,Inc.）より購入することができる。重合物質は一般的に、微粒子および骨形成装置〔重合物質の加水分解を避けるために非水性条件下（例えばエタノール／トリフルオロ酢酸溶液、すなわちＥｔＯＨ／ＴＦＡ）で成形することが望ましい〕として得られる。また、当該分野で知られる多数の特定の溶媒処置により多孔性を増大させるなど、重合物質粒子組成物の形態を変化させることもできる。
例えば、モルフォゲンタンパク質で成形し、ＥｔＯＨ／ＴＦＡで溶解する骨形成装置と、ポリ酢酸、３－ポリヒドロキシ酪酸、あるいは８０％ポリアクタイド／２０％グリコシドで構成されるマトリックスは、すべて米国特許第4,968,590号で記載されているようにラットモデルに移植しバイオアッセイにより試験を行ったところ（１２日移植片のカルシウム量、アルカリフォスファターゼレベル及び組織学的検査など）、骨形成活性を有する。
Ｃ．合成組織特異的マトリックス
前記のような天然由来組織特異的マトリックスの他にも、調整が適切ならば有用な組織特異的マトリックスを作成することができる。このような生体親和性を有するin vivo生分

解性多孔性マトリックスは、ＰＣＴ出願US91/03603（1991年12月12日公開（WO91/18558）、参考文献として本明細書に引用）で開示されている。
このマトリックスは、生体親和性、生分解性コラーゲンと適切な組織特異的グリコサミノグリカン（組織特異的細胞接着因子）の多孔の架橋構造の重合物質よりなる。このような合成マトリックスに用いるのに適当なコラーゲンは、各種由来のものがあり、例としては非溶解性コラーゲン、酸溶解性コラーゲン、中性あるいは塩基性水性溶液に可溶なコラーゲン、その他の市販されている同種のコラーゲンがある。
グリコサミノグリカン（ＧＡＧ）あるいはムコ多糖類は、組織特異的分配性を有する動物由来のヘキソサミン含有多糖類であり、モルフォゲン刺激性分化細胞の組織特異性を決定するのに有用である。ＧＡＧとの反応により、宿主動物由来の免疫反応（異物反応）の刺激を不活化するなどの他の有用な性質をコラーゲンに付加することができる。
ＧＡＧは、ヘキサウロン酸あるいはヘキソース部分が交互に幾分規則的に糖結合により結合したヘキソサミン残基より構成されている（例えば、Dodgson et al. Carbonhydrate Metabolism and its Disorders（Dickens et al. eds.）Vol.1、Academic Press(1968)参照）。有用ＧＡＧは、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパリンサルフェート、コンドロイチン－６－サルフェート、コンドロイチン－４－サルフェート、硫酸デルマタン、硫酸ケラチンが挙げられる。他のＧＡＧも上記マトリックスを形成するのに適切であり、当該分野の専門家であれば、他の適切なＧＡＧを知っているか、通常の試験により決定することができる。ムコ多糖類についてさらに詳細な説明は、Aspinall、Polysaccharides、Pergamon Press、Oxford(1970)に記載されている。米国特許第5,298,52号に開示されているように、コンドロイチン－６－サルフェートは軟骨内の骨形成に有用である。またヘパリンサルフェートは肺組織の修復に有用である。
コラーゲンとＧＡＧの反応は、望ましくは希釈酢酸溶液のような水性酸性溶液にて行う。水性コラーゲン分散液にＧＡＧを滴下することにより、ＧＡＧコーテイングされたコラーゲン線維がもつれた状態で共沈物として得られる。この線維をホモジネートして微線維の均一分散液を調整し、濾過し、乾燥させる。
コラーゲン－ＧＡＧ生成の非可溶性は、これらの物質を共有架橋結合させることにより所望の程度まで上げることができる。この処理によりこれらの物質の再吸収に対する抵抗性も上げることができる。一般的に、共有架橋結合コラーゲンを作成するのに適切な架橋結合反応は、このような複合物質の架橋結合にも適切である。特に脱水熱処理による架橋結合が望ましい。
こうして架橋結合された粒子は基本的には乾燥して球形（直径約５００μｍ）とする。走査型電子顕微鏡による観察では、表面約２０μｍで内部約４０μｍの孔が認められる。内部は線維性構造および紙のような構造のいずれもが認められ、表面が細胞に付着したようになっている。空間（void）は相互に連結されて粒子内部全体に細胞がアクセスできるようになっている。この粒子は約９９．５％が空間であり、微小担体単位ｇあたり増殖可能な潜在的細胞塊として効率がよい。
Ｄ．マトリックス表面へのモルフォゲン吸収
本明細書で述べるモルフォゲンは以下のいずれかの方法により適切なマトリックスに結合させ分散することができる。
１．エタノール沈降
モルフォゲンの塩酸グアニジン溶液に、マトリックスを添加する。次に撹拌し低温にてインキュベーションし、さらに撹拌する。得られた混合物に冷無水エタノールを添加し、撹拌、培養する。遠心分離（高速微小遠心分離）後、上澄みを捨てる。マトリックスを水性冷濃縮エタノールで洗浄し、凍結乾燥させる。
２．アセトニトリルトリフルオロ酢酸凍結乾燥
この工程ではモルフォゲンのアセトニトリルトリフルオロ酢酸（ＡＣＮ／ＴＦＡ）溶液を担体物質に添加し、何回も激しく撹拌した後、凍結乾燥させる。
３．生理緩衝液凍結乾燥
モルフォゲン生理緩衝液はマトリックスと共に撹拌し、凍結乾燥して、形態形成活性物質

を調製することもできる。

ＩＩＩ．　肝細胞に関する記載

本発明による一具体例では哺乳動物に初代肝細胞あるいは前駆細胞を移植することができる。例えば、移植された肝細胞は、哺乳動物の肝組織あるいは関連部位に移植された場合に欠乏タンパク質を発現および／または分泌することによりin vivoでタンパク質欠乏を直すことのできる遺伝子治療ツールとして作用する。肝臓の部分的機能としてタンパク質合成作用があり、肝臓より分泌されて循環系などを通して体内のあらゆる組織に機能するミリアド（myriad）タンパク質の産生を請け負っている。従って、腎臓および膵臓組織と同様に肝組織は内因系を構成し、通常は肝組織では発現されないタンパク質を含む、あらゆるタンパク質のin vivo産生（分泌を含む）のベクターとして作用するために必要なメカニズムを備える。従って、この方法により処理することができるタンパク質欠乏症に関与するタンパク質には、正常な肝機能に関与するタンパク質、通常は肝臓により産生分泌され体内のあらゆる組織に機能するタンパク質、通常は肝組織では産生されないタンパク質が含まれる。産生されるべきタンパク質が肝組織では通常発現されない場合は、なんらかの方法で肝細胞を供給し、そのタンパク質を発現させなければならない。例えば、下記のように肝細胞を遺伝子工学により処理し、そのタンパク質をコードする内因性遺伝子配列を発現させることができる。または下記のように、タンパク質をコードし適切なプロモーター（エンハンサー）の制御下にある核酸を細胞に供給することもできる。さらに細胞に１つかあるいはそれ以上の調整要素を付加することにより、関心のあるタンパク質の発現は、特に通常のタンパク質発現が分子の生理的濃度変化に依存するような場合には、内因性産生タンパク質の発現と同じようにすることができる。体内の血中グルコース濃度によるインスリン制御がその一例である。

直そうとするタンパク質欠乏は、タンパク質発現および／または分泌を含む内因性タンパク質産生障害により生じるか、あるいはその個体に元来存在していた条件によるタンパク質発現効率の低下により生じる。欠乏は発生に関与している場合もあるし、あるいはタンパク質合成組織の障害等により誘導されることもある。遺伝子治療で用いられる肝タンパク質の例としては、アルブミンおよびアルブミン合成タンパク質、フィブリノーゲンやトロンビン等の血液凝固因子、第ＶＩＩＩ因子、鉄あるいは銅結合タンパク質、ビタミンＡ結合タンパク質等が挙げられるが、これらの限定されるものではない。遺伝子治療で用いられる非肝タンパク質の例としては、インスリン、組織プラスミノーゲン活性化因子（ＴＰＡ）、エリスロポエチン、成長ホルモン等が挙げられる。同様に細胞を、哺乳動物の適切な部位に移植された場合に１つかあるいはそれ以上の治療薬を産生し分泌することのできるin vivo薬剤搬送賦形剤として作用させることもできる。また細胞を処理することにより細胞表面上の抗原発現を調整し、通常、外来物質により生じるin vivo免疫応答を限定することもできる。

細胞を遺伝子治療ツールとして用いる場合には、関心のあるタンパク質供給の可能な提供者から細胞を得ることができる。まず生検、あるいは手術により提供者より、あるいは確立細胞系より細胞を得る。生体親和性を有する提供者より同種細胞を得ることが望ましい。別の方法としては、患者から得た自己細胞を組み換えＤＮＡ技術により調整し、細胞が患者に再移植された際に関心のあるタンパク質を十分にin vivo産生できるような遺伝子配列を取り込ませることもできる。外来遺伝子物質を細胞（特にヒト細胞）に導入するためのプロトコールおよび議論の詳細は、文献によく記載されている。代表的なもの（決して陳腐ではない）としては、米国特許第4,868,116号（1989年９月19日公告）および第4,980,286号（1990年12月25日）（いずれもMorgan et al.）、米国特許4,396,601号（1983年８月２日公告）（Salser et al.）、Anderson WF（1992）Science 256:808-813、Karson et al.（1992）J.Reprod Med 37:508-514、Hoeg et al.（1990）Trans Assoc.Am Physicians 103:73-79（いずれも参考文献として引用）。

肝組織から初代肝細胞を単離するための現在望ましいプロトコールは、以下の実施例３に示されている。WO88/03785等に記載されている当該分野で知られている他の方法も有用であると考えられる。多能性造血幹細胞を用いる場合の単離方法としては、国際特許出願US

92/01968(WO92/15323)に記載されている。この文献に詳細な説明があるが簡単に述べると、移動する前駆細胞が流入できるような生体親和性を有するマトリックス物質を、移動する前駆細胞が流入できる程度の十分な長さのin vivo部位に移植する。例としては、Sampath et al.（1983）PNAS 80:6591-6595や米国特許第4975526号等に開示されているように、調整された骨由来グアニジン抽出マトリックスを、基本的にSampath et al.（ibid）の方法に従ってラットに移植する。３日後、移植片を除去し、マトリックスに伴う前駆細胞を懸濁させ、培養する。また米国特許第5,061,620号（1991年10月29日公告）（Tsukamoto et al.）にも別の方法が記載されている。

単離細胞の刺激は、基本的に実施例３で記載された方法に従って、モルフォゲンでin vitro処理することにより行うことができる。刺激処理は、細胞を刺激するモルフォゲン濃度および培養期間を適切にすることで無菌条件にて実施する。望ましい時間および濃度は、医師が経験的に決めることもできる。一般的には約１０分から７２時間で十分である。細胞をマトリックスへ付着させるには、少なくとも３－５時間、望ましくは一夜、マトリックスの存在下で細胞を培養する。マトリックスに細胞を付着させる効率的な方法は、マトリックス物質の表面に細胞の濃縮懸濁液を入れ、細胞がマトリックス物質に浸潤および吸収されるようにする。通常、細胞の付着は個々にあるいは小群にて行われる。モルフォゲンの付加がない場合は、２４時間以内に細胞が再配列を開始してクラスターを形成し、３日以内にほとんどの細胞が支持体に浸透し、有機的に結合して大きなクラスターを形成する。

特に望ましい実施例では、まずモルフォゲンをマトリックス表面に吸着させ、次に細胞を付着させる。細胞－マトリックス構造は、細胞が増殖できるようにin vitroで維持するか（モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激性物質で処理することが望ましい）、あるいは別の方法として、細胞がin vivoで増殖（および分化）できるように細胞－マトリックス複合体を動物に移植する。

モルフォゲン投与により肝特異的部位の移植細胞が損傷あるいは消失組織に代わるようにする場合には、手術により調整した部位（壊死あるいは硬変組織を手術あるいは化学的方法による除去など医療分野で知られた方法により除去した部位）に細胞を供給することが望ましい。細胞をこの部位に供給するには、マトリックスに接着させモルフォゲンあるいはモルファゲン刺激剤と共に供給することが望ましい。

肝特異的部の形態形成許容部位への細胞の供給は、壊死および／または硬変組織を除去後、あるいは十分に組織を除去後、形態形成許容部位を調整してから行うことができる。別の方法としては、腸間膜の襞の中など適切な血管形成肝関連部位に、モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤と共に細胞－マトリックス構造物を移植してもよい。

上記のようにモルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤と共に細胞を移植することにより、移植細胞の増殖およびin vivo生存能力が促進され、重要な関連細胞の消失や遅延が発生することなく新しい組織が形成される。この方法は現存するプロトコールの特徴であり、現在のところ実質的に初代の種細胞群を使用しなければならない。また、文献に記載されているような部分的肝切除の必要のない本明細書に記載された方法を用いて、肝組織成長を刺激することもできる。最後に、本明細書で述べるモルフォゲンは生体の免疫反応に伴う組織障害を阻止し、免疫抑制剤投与の必要性を低下させる。

ＩＶ．　バイオアッセイに関する記載

本発明によるモルフォゲンおよびモルフォゲン組成物のin vivo形態形成効果を評価するための各種の方法を以下に示す。このモルフォゲンタンパク質および組成物は、当該分野でよく知られている多数の方法の内のいずれかに従い、哺乳動物に注射あるいは移植手術により投与することができる。

組織学的評価

in vivo形態形成の範囲、特に組織修復過程を決定するためには、組織切片の調整および染色による組織学的検査が望ましい。取り出した移植組織をブアン溶液（Bouins Solution）に固定し、パラフィン包埋し、６－８μｍ切片に切断する。トルイジンブルーあるいはヘモキシリン／エオジン染色により、新しい組織が最大限に成長していることが明確に

認められる。通常は１２日目の移植組織を検査すれば、新しく誘導された組織が含まれていることが十分に認められる。
移植が成功している場合は、誘導された組織成長の段階で成長の進行が同定され、また組織特異的な組織成長が進行するように、組織成長の進行が制御されている。
例えば軟骨内の骨の形成では、次のような成長段階がある：（１）白血球（１日目）；（２）間葉細胞移動および増殖（２日日と３日目）；（３）軟骨細胞の発現（５日目と６日目）；（４）軟骨マトリックス形成（７日目）；（５）軟骨石灰化（８日目）；（６）血管侵襲、骨芽細胞の発現、新しい骨の形成（９日目と１０日目）；（７）破骨細胞、骨再形成、移植マトリックスの融解（１２－１８日目）；（８）小骨における造血骨髄分化（１２日目）。同様に肝組織形成においても、白血球（１日目）、間葉組織移動および増殖（２日目と３日目）、肝細胞発現（５日目と６日目）、マトリックス形成および血管形成。

生物学的マーカー

このような組織学的評価に加え、生物学的マーカーも組織形態形成のマーカーとして用いることができる。有用マーカーは、移植組織をホモジネートした後にアッセイにより（例：分光光度計）活性を評価できるような組織特異的酵素が挙げられる。このようなアッセイは、移植組織を動物から取り出してから速やかに定量して組織形成量を概算するのに有用である。例としてはアルカリフォスファターゼが破骨細胞マーカーとして有用である。
モルフォゲンにラベルをつけて（例：放射活性ラベル）新しい組織内での局在を決定することにより、および／あるいは標準的なパルス追跡ラベル化プロトコールにより循環系からの消失を監視することにより、全身に投与されたモルフォゲンの取り込みを追跡することができる。また、組織特異的な分子標識（取り込みを監視することができ、取り込みが供給されたモルフォゲン濃度と関連する標識）をモルフォゲンに付加することもできる。

Ｖ．　治療薬の調製および非経口的投与法

本発明によるモルフォゲンは、哺乳動物の罹患組織あるいは傷害組織の修復に用いることができる。修復する組織へのアクセスを容易にするため、過度の壊死あるいは妨害となる傷害組織は、必要に応じ、手術や化学的手法など医療分野で知られた方法により除去することが望ましい。
次に、無菌性の生体親和性を有する組成物の一部として、移植手術あるいは注射により、組織部位に直接モルフォゲンを投与する。または、モルフォゲン刺激性前駆細胞を含有する、無菌性で生体親和性の組成物を、組織部位に投与することもできる。現存する組織部位は罹患あるいは傷害の有無に関わらず、前駆細胞の増殖および組織特異的分化を許容するような適切なマトリックスとなる。さらに、傷害あるいは罹患組織、特に手術により傷害された組織も、形態形成許容環境となる。モルフォゲンを全身投与するのみで十分な組織もある。
組織傷害が広範囲におよんでいるような場合は、細胞流入および増殖の十分なマトリックスとはなりえない組織もある。このような場合は、組織部位にモルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激性前駆細胞を供給するに際し、以下のいずれかの方法により調整される生体親和性を有する適切なマトリックスにより供給することが必要である。マトリックスは組織特異的で、in vivo生分解性であり、大きさが７０－８５０μｍ、最大１５０－４２０μｍの範囲内であることが望ましい。
モルフォゲンの個体への投与にはいろいろな適切な方法がある。モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤（以下この両者をまとめて「治療薬」と言う）を、肝組織に直接投与する（組織部位への注射あるいは局所的に移植された浸透圧ポンプからの周期的放出による局所的投与）ことが望ましい。大半の肝組織再生には現在のところ望ましくはないが、移植組織の生存能力を向上させるためのプロトコールの一部として、あるいは手術等の治療過程における肝機能維持や加齢や免疫抑制治療等肝組織障害リスクが高い場合の肝機能維持プロトコールの一部として、経口投与あるいは全身性注射も有用である。経口投与および非経口投与を含む全身投与に関する詳細な説明は、例えば出願中の［Atty. Docket CRP-059CP］（参考文献として引用）に記載されている。形態形成活性タンパク質は、乳腺

抽出物や初乳および５７日目乳などの乳と、ヒト血清に存在しており、モルフォゲン投与経路として全身性投与、特に経口投与が有効であることが示されていることに注目されたい。

モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤が局所的注射により投与される場合は、モルフォゲンを水性溶液とすることが望ましい。溶液は、所望のモルフォゲンを患者に供給し、かつ患者の電界質および量バランスに悪影響を与えないように、生理的に許容されるものであるとする。従ってモルフォゲンの水性媒体の例としては、通常の生理食塩水（０．８５－０．９％　ＮａＣｌ、０．１５Ｍ、ｐＨ７－７．４）が挙げられる。モルフォゲン含有水性溶液は、例えばモルフォゲンタンパク質を０．１％トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）あるいは０．１％ＨＣｌ含有アセトニトリルを含む５０％エタノールあるいは等量の溶媒に溶解させることにより調製する。得られた溶液の１容量を、例えば１０容量のフォスフェート緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）（０．１－０．２％ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を含有）に添加する。得られた溶液は十分に撹拌することが望ましい。モルフォゲンの溶解度をさらに上げたい場合は、例えばモルフォゲンタンパク質のプロ形態（緩衝生理食塩水に可溶性の種から成る）などの適切な分子を用いてもよい。実際、内因性モルフォゲンはこの形成で輸送されていると考えられる。この可溶性の形態は、モルフォゲン分泌哺乳動物細胞の培養培地から得ることが出来る。または、成熟二量体（あるいはその活性フラグメント）とプロドメインの一部あるいは全部と複合して可溶性種を調製することもできる。溶解性を上げ、特に経口投与に有用な分子としては、カゼインがある。０．２％カゼイン添加により、ＯＰ－１の成熟活性体の溶解性が８０％増大する。乳および／あるいは各種血清タンパク質の成分も有用である。

非経口投与に有用な溶液は、医薬文献でよく知られているいずれかの方法（例：Remington's Pharmaceutical Sciences(Gennaro,A.,ed.)Mack Pub.,1990）により調製することができる。調製には、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、野菜由来の油、水素添加ナフタレンなどを添加してもよい。特に直接的に投与するには、グリセロール及び他の高粘度の組成物を添加してもよい。モルフォゲンのin vivo放出を制御するには、ヒアルロン酸、コラーゲン、ポリ酪酸エステル、トリカルシウムフォスフェート、ラクタイド、ラクタイド／グリコライドコポリマーなどの、生体親和性を有する、望ましくは生体吸収性の重合物質を賦形剤として添加することもできる。モルフォゲンの非経口投与系に有用なものとしては、さらに、エチレン－ビニル酢酸コポリマー粒子、浸透圧ポンプ、移植可能な注入システム、リポソームが挙げられる。

本明細書に記載されているある種のモルフォゲンの成熟体は若干可溶性であるが、乳（乳腺抽出物および初乳を含む）に含有されているモルフォゲンの形態は十分な可溶性を有する。これはおそらく、元来は以下に示す配列を有するプロドメインの一部あるいは全てとモルフォゲン活性を有する成熟体が非共有結合で結合しているか（Ｖ．１参照）、および／または１つかそれ以上の乳成分と結合しているためと思われる。従って、本発明による化合物は、in vitroあるいはin vivoの可溶性を向上させ得る分子と結合させることができる。

また本発明による化合物は、モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤の標的を肝組織とし得る分子と結合させることもできる。このような例としては、肝細胞や上皮細胞などの肝組織細胞上の表面分子と特異的に反応する抗体、抗体フラグメント、その他の結合タンパク質が挙げられる。このような有用標的分子は、米国特許第5,091,513号等に開示されている単一鎖結合部位技術などにより設計することができる。

上記のように、本発明によるモルフォゲンはＣ末端活性ドメインに重要な配列相同性を共有している。これとは対照的にプロドメインを規定する配列は通常分岐配列を有する。従って、プロドメインはモルフォゲン特異的である。上記のように、現在までに同定されている各種モルフォゲンは、それぞれ異なる組織で発現されていることが知られている。既存の理論から限定されずに考えれば、生体の自然な条件下では、選択されたモルフォゲンは通常特定の組織に作用していると考えられる。従って、溶液内のモルフォゲン活性体と結合して同定されているプロドメインの一部あるいは全部が、本発明によるモルフォゲン

の標的分子として作用する。例えば、プロドメインは標的組織の１つかあるいはそれ以上の分子に特異的に作用して、プロドメインと結合するモルフォゲンをその組織に作用させる。モルフォゲンを肝組織に標的させる有用分子としてはさらに、モルフォゲンプロドメインの一部あるいは全部が挙げられる。上記のようにプロドメインよりなるモルフォゲン種は、モルフォゲン分泌細胞の培養培地より得られる。あるいは、成熟二量体（あるいはその活性フラグメント）とプロドメインの一部あるいは全部とを複合することにより、組織標的種を調製することもできる。

最後に、上記モルフォゲンあるいはモルフォゲン刺激剤は、単独であるいは、肝機能維持に有効であることが知られている分子（「コファクター」、特に症状軽減性のコファクター）、すなわち非ステロイド系抗炎症剤、防腐剤、坑生物質などと組み合わせて投与することもできる。

本明細書で記載される化合物は、医薬的に許容される非毒性賦形剤および担体を添加することにより医薬組成物に調製することができる。上記のように、このような組成物は、特に溶液や懸濁液として局所的あるいは全身的に直接投与するか、錠剤やカプセルとして経口的に投与するか、あるいは粉末、点鼻薬、エアロゾルとして投与することができる。

ヒトあるいは他の哺乳動物に投与するための組成物の調製は、患者の病状を実質的に除去するかあるいは軽減させる（肝細胞の障害後の傷害あるいは消失肝組織の再生を刺激することを含む例付加的傷害の阻止）のに十分な時間適切な濃度を提供し、上記の肝疾患および肝障害を治療しうる量と、組織障害が予想される場合に肝組織を保護するのに効果的な量を調整することができる。

当該分野の専門家であればわかるように、医薬組成物における化合物の濃度は、投与される薬剤の用量、その化合物の化学的特徴（例：疎水性）、投与経路などの要因により変動する。投与される治療薬の望ましい用量は、肝疾患の種類と進行程度、当該患者の全身的健康状態、選択された化合物の関連する生物学的活性、賦形剤の調整、投与経路などに基づき変動する。一般的に、本発明による化合物は、液剤として投与されるためには、約０．００１ないし１０％ｗ／ｖの化合物を含有する水性生理的緩衝液として用いることができる。通常の用量範囲は、約１０ｎｇ／ｋｇ／日であり、望ましい用量は約０．１μｇ－１００ｍｇ／ｋｇ／日である。モルフォゲン用量としては、０．１－１００μｇ／ｋｇが望ましい。健康な成人ラットに２１日間成熟モルフォゲン（例ＯＰ－１、２０μｇ）を毎日投与した場合、モルフォゲン誘発性病変は観察されない。また、健康な新生児マウスに１０日間モルフォゲン（例：ＯＰ－１）を１０μｇ全身注射しても、肉眼的異常所見は認められない。

本発明による方法でモルフォゲンを全身的に投与する場合、治療初期には高用量のモルフォゲンを使用することが望ましい。それ以降は維持量でよい。その後の投与は、一定の間隔で血中モルフォゲン濃度を監視することにより決定することができる。

肝組織への傷害が、手術や他の医療行為の一部として故意に誘発される場合は、外傷が誘発される前か誘発されると同時にモルフォゲンを供給することが望ましい。また、手術においては予防的にモルフォゲンを投与することが望ましい。どのような場合においても、モルフォゲンの最適投与量は１－１００μｇ／ｋｇである。

これとは別の方法として、あるいは付加的な方法として、上記のように、内因性モルフォゲンレベルを増大させうる薬剤の有効量を、上記のいずれかの投与経路により投与してもよい。例えば、肝組織細胞あるいは遠隔細胞からのモルフォゲン産生および／または分泌を刺激することができ、肝臓を標的とする薬剤を、治療の対象となる神経組織と関連するグリア細胞に直接モルフォゲンを投与すること等により、哺乳動物に投与することができる。所定の組織の内因性モルフォゲンレベルを調整しうる薬剤を同定し、また評価する方法は、本明細書の実施例９に記載されており、さらに詳細については国際特許出願US92/07359(W093/05/72)に開示されている。簡単に述べると、化合物と試験組織あるいは細胞とを<u>in vitro</u>で、化合物がその組織の細胞により産生されるモルフォゲンの産生（発現および／または分泌）を許容するのに十分な時間培養することにより、候補化合物を同定することができる。適切な組織あるいは組織の培養細胞は、肝臓組織細胞から成っている。

モルフォゲンを候補化合物で処置しながらその濃度を評価するための望ましい検出法は、モルフォゲンと特異的に反応しかつモルフォゲンとの複合体の一部として検出される、抗体又は適当な結合タンパク質を用いるイムノアッセイである。イムノアッセイは、モルフォゲンに対するモルフォゲンに特異的な抗体と文献で知られる標準的な方法を用いて行う。内因性モルフォゲンを刺激し得る薬剤は、医薬組成物として調製し、本発明で記載された方法で投与することができる。

Ｖ．Ａ．可溶性モルフォゲン複合体

水性溶液中の改善された可溶性を持つ、基本的にアミノ酸から構成されるモルフォゲンの現在において望ましい形態は、モルフォゲンファミリー、対立遺伝子変異、同種変異又はその他の配列変異の一部のあるいは全部のプロ領域からなるペプチドと複合するモルフォゲンファミリーで特徴づけられる７つあるいはそれ以外のシステイン残基パターンを有する、少なくとも１００個のアミノ酸ペプチド配列からなる二量体モルフォゲンタンパク質である。二量体モルフォゲンタンパク質は２つのペプチドと複合することが望ましい。また、二量体モルフォゲンタンパク質がプロ領域ペプチドと複合するには、非共有結合で結合していることが望ましい。プロ領域ペプチドは、少なくともＮ末端に特定のモルフォゲンプロ領域を規定する１８のアミノ酸から構成される。最も望ましい具体例では、プロ領域の実質的に全長を規定するペプチドを用いる。

他の適切なモルフォゲン形態としては、このようなモルフォゲンタンパク質の非切断プロ形態の二量体と「ヘミ二量体」があり、二量体の１つのサブユニットはタンパク質の非切断プロ体であり、他のサブユニットはタンパク質の成熟体により構成される。また、このような形態の短縮型（非切断プロドメインペプチドと非共有結合で結合していることが望ましい）も含まれる。

上記のように有効なプロドメインとしては、全長プロ領域、各種の短縮型（特に蛋白分解のＡｒｇ－Ｘａａ－Ｘａａ－Ａｒｇ切断部位で切断された短縮型が挙げられる。例えばＯＰ－１におけるプロ配列として可能なものには、３０－２９２残基（全長体）；４８－２９２残基；１５８－２９２残基が含まれる。可溶性ＯＰ－１複合体の安定性は、プロ領域が４８－２９２残基短縮型のような短縮型よりも全長体で構成されている場合に向上する。これは３０－４７残基が他のモルフォゲンのＮ末端領域と配列相同体であり、全てのモルフォゲンの複合安定性を向上させるのに特に有用であると考えられるからである。従って現在望ましいプロ配列は、ある特定モルフォゲンのプロ領域の全長体をコードする配列である。他に有用性があると考えられるプロ配列としては、特に１つあるいはそれ以上のモルフォゲンプロ配列のＮ末端領域に由来する配列を取り込んでいるような、生合成プロ配列が挙げられる。

当該分野の通常の技術を有する専門家が予測するように、プロ領域をコードする有用配列は、既知のモルフォゲンをコードする遺伝子配列により得ることができる。または、１つあるいはそれ以上の既知モルフォゲンからはキメラプロ領域を構成することもできる。さらに、１つあるいはそれ以上の既知プロ配列の変異配列を合成することもできる。

さらに別の望ましい態様では、有用プロ領域ペプチドには、ＯＰ１あるいはＯＰ２のプロ領域配列の少なくともＮ末端の１８アミノ酸をコードするＤＮＡあるいはＲＮＡ配列と緊縮条件下でハイブリッド結合する核酸、すなわち配列番号16および20の各々の１３６－１９２と１５２－２１１のヌクレオチド、によりコードされるアミノ酸配列から構成されるポリペプチド鎖が含まれる。

Ｖ．Ａ．１　馴化培地あるいは体液からの可溶性モルフォゲン複合体の分離

モルフォゲンは可溶性複合体として哺乳動物により発現される。しかし通常はこの複合体を分離するには、精製溶液に、洗剤、アルコール、有機溶媒、カオトロピック剤（chaotropic　agent）、溶液のｐＨを低下させるために添加する化合物などの変性剤で処理するのが一般的である。馴化培地（あるいは、血清、脳脊髄液、腹水などの体液でもよい）より可溶性タンパク質を、変性剤を使用しないで精製するための現在望ましいとされるプロトコールは、下記に記載されている。この方法は高速であり、再現性があり、可溶性モルフォゲン複合体を実質的に純粋な形態で分離する。

馴化培地からの可溶性モルフォゲン複合体の分離は、変性剤を使用せずに簡単な３段階クロマトグラフィーで実施される。このプロトコールでは、培地（あるいは体液）が、アフィニテイカラム、イオン交換、ゲル濾過の３つのクロマトグラフィーにかけられる。アフィニテイカラムは、Ｚｎ－ＩＭＡＣカラムである。現在のプロトコールは各種モルフォゲンの精製に一般に適用でき、下記のプロトコールを多少変えるだけで、モルフォゲンはすべて分離可能であると考えられる。別の方法としては、特定のモルフォゲンプロドメインに特異的な抗体等を用いた標準的な方法によるイムノアフィニテイカラム（複合化、例えばプロテインＡ－共役セファロースカラム）等でも分離される。イムノアフィニテイカラムによるプロトコールは、文献に十分に記載されている（例：Guide to Protein Purification、M.Deutscher ed. Academic Press、San Diego、1990、特にVII部およびXI部参照）。

この方法では、文献に記載されているように、哺乳動物のＣＨＯ細胞（チャイニーズハムスター卵巣細胞）にＯＰ－１を発現させる（例：国際特許出願US90/05903(WO91/05802)参照）。まず０．５％ＦＢＳ含有ＣＨＯ細胞馴化培地を、固定化Metal-Ionアフィニテイクロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）を用いて精製する。馴化培地由来の可溶性ＯＰ－１複合体はＺｎ－ＩＭＡＣ樹脂への選択性が非常に高く、結合複合体の効率的溶出には高濃度のイミダゾール（５０ｍＭイミダゾール，ｐＨ８．０）が必要である。このＺｎ－ＩＭＡＣ操作により、血清汚染タンパク質塊から、フロースルーおよび３５ｍＭイミダゾール洗浄画分に可溶性ＯＰ－１が溶出され、分離することができる。次にＺｎ－ＩＭＡＣ精製可溶性ＯＰ－１を、２０ｍＭＮａＰＯ$_4$（pH7.0）で平衡化したＳ－セファロースカチオン交換カラムにかけ、５０ｍＭＮａＣｌで溶出する。このＳ－セファロース工程で、可溶性ＯＰ－１複合体がさらに精製濃縮され、次のゲル濾過工程用調製物が得られる。得られたタンパク質はＴＢＳで平衡化したセファクリルＳ－２００ＨＲカラムにかけられる。実質的に同じプロトコールを用いて、血清、脳脊髄液、腹水などの１つあるいはそれ以上の体液から、可溶性モルフォゲンを分離することもできる。

ＩＭＡＣは、3カラム量の０．２Ｍ ＺｎＳＯ$_4$で荷電されたキレートセファロース（Pharmacia）を用いて行う。馴化培地をｐＨ７．０に滴定し、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ（pH7.0）で平衡化したＺＮ－ＩＭＡＣ樹脂に直接かけ、５００ｍＭ ＮａＣｌで溶出する。Ｚｎ－ＩＭＡＣ樹脂には樹脂１ｍＬあたり８０ｍＬの開始馴化培地を流す。その後、カラムを平衡化バッファで洗浄し、汚染タンパク質の大半を平衡バッファ内の３５ｍＭイミダゾール（pH7.0）で溶出する。次に可溶性ＯＰ－１複合体を５０ｍＭイミダゾール（pH8.0）にて２０ｍＭ ＨＥＰＥＳおよび５００ｍＭ ＮａＣｌに溶出する。

可溶性ＯＰ－１複合体を含有する５０ｍＭイミダゾール溶出物は、９倍量の２０ｍＭ ＮａＰＯ$_4$で希釈し、２０ｍＭＮａＰＯ$_4$（pH7.0）で平衡化したＳ－セファロースカラム（Pharmacia）にかけ、５０ｍＭ ＮａＣｌで溶出する。Ｓ－セファロース樹脂に樹脂１ｍＬあたり８００ｍＬ等容量の開始馴化培地を流す。その後、Ｓ－セファロースカラムを平衡化バッファで洗浄し、１００ｍＭ ＮａＣｌで溶出し、２０ｍＭＮａＰＯ$_4$（pH7.0）の３００ｍＭおよび５００ｍＭ ＮａＣｌで溶出する。３００ｍＭ ＮａＣｌは、さらにゲルろ過クロマトグラフィーにより精製する。３００ｍｍ ＮａＣｌ溶出物の内の５０ｍ１を、トリス緩衝生理食塩水（ＴＢＳ）、５０ｍＭトリス、１５０ｍＭ ＮａＣｌ（pH7.4）で平衡化した５．０×９０ｃｍセファクリルＳ－２００ＨＲ（Pharmacia）にかける。カラムの溶出は、流速５ｍＬ／分で行い、１０ｍＬの分画を集める。可溶性ＯＰ－１の分子量は、アルコールデヒドロゲナーゼ（ＡＤＨ、１５０ｋＤａ）、ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ、６８ｋＤａ）、炭酸脱水酵素（ＣＡ、３０ｋＤａ）、チトクロームＣ（ｃｙｔＣ、１２．５ｋＤａ）などのタンパク質分子量標準物との比較により明確に決定される。Ｓ－２００カラム分画の純度は、コマシアンブルーで染色した標準的な１５％ポリアクリルアミドＳＤＳゲル上で分離することにより決定される。成熟ＯＰ－１とプロドメインは、プロドメインから成熟ＯＰ－１を分離した後に標準的な逆相Ｃ１８ＨＰＬＣを用いてＮ末端配列分析により同定される。

可溶性ＯＰ－１複合体は、分子量１１０ｋＤａで溶出される。これは、成熟ＯＰ－１二量

体（３５－３６ｋＤａ）と２つのプロドメイン（各３９ｋＤａ）が結合した可溶性ＯＰ－１複合体の予想された構成と一致する。最終複合体の純度は、還元１５％ポリアクリルアミドゲルに適切な分画を流すことにより証明することができる。
Ｓ－２００あるいはＳ－２００ＨＲカラムから得られた複合体含有分画を逆相Ｃ１８ＨＰＬＣカラムに流し、標準的な手法によりアセトニトリルグラジエント（０．１％ＴＦＡ）に溶出することにより、複合体の成分を確認することができる。この手法により複合体は、プロドメインと成熟種に分離される。次にこのようにして得られた分離種を、標準的な手法（例：Guide to Protein Purification、M.Deutscher ed.、Academic Press、San Diego、1990、特に602-613参照）を用いてＮ末端配列同定を行い、３６ｋＤａタンパク質と３９ｋＤａタンパク質を、各々成熟モルフォゲンと、分離切断されたプロドメインとする。哺乳動物細胞産生ＯＰ－１から分離されたプロドメインのＮ末端配列の同定により、プロ領域には、元来の形態（配列番号16の３０残基より開始）と、短縮型（配列番号16の４８残基より開始）の２つの形態があることがわかった。分離された成熟体のポリペプチドサブユニットのＮ末端配列同定により、成熟配列のＮ末端範囲が、配列番号16の２９３、３００、３１３、３１５、３１６及び３１８残基より開始されること、そしてこれらが標準的な骨誘導アッセイにより活性を有することが確認された。

Ｖ．Ａ．２．　In Vitro可溶性モルフォゲン複合体形成

培養培地あるいは体液から可溶性複合体を精製する別の方法としては、可溶性複合体を精製プロドメインおよび成熟二量体種から調製することができる。複合体の形成が成功するためには、これらの折り畳み分子構造をジスルフィド結合を損傷させずにほどくのに十分な変性条件下で構成成分を結合させることが必要である。変性条件は、細胞内小胞の環境と同様に、折り畳みがゆるんだ条件下で切断プロドメインが成熟二量体種と結合できることが望ましい。次に溶液内の変性剤の濃度を、制御条件下で、望ましくは段階的に低下させ、二量体とプロ領域が再度適切に折り畳み構造をとるように、しかもプロドメインと二量体との結合は維持されるようにすることが望ましい。有用変性剤としては、４－６Ｍ尿素あるいは塩酸グアニジン（ＧｕＨＣｌ）の緩衝溶液（ｐＨ４－６、望ましくはｐＨ６－８）が挙げられる。次に可溶性複合体を制御条件下に透析するか、あるいは最終変性剤濃度が０．１－２Ｍ以下の、望ましくは１－２Ｍの尿素あるいはＧｕＨＣｌ溶液に希釈し、望ましくはさらに生理食塩緩衝液に希釈することにより、複合体を形成する。タンパク質精製／復元操作と理論については文献によく記載されており、適切な復元プロトコールを実施するための詳細は、当該分野の専門家であれば十分にわかる。参考文献としては、Guide to ProteinPurification、M.Deutscher ed.、Academic Press、San Diego,1990、特に第Ｖ部が挙げられる。複合体の形成は、１つかあるいはそれ以上のシャペロン（chaperone）タンパク質を添加することによって促進することもできる。

Ｖ．Ａ．３　可溶性モルフォゲン複合体の安定性

高度に精製された可溶性モルフォゲン複合体の生理食塩水溶液（例：トリス緩衝生理食塩水（ＴＢＳ）および燐酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ））中における安定性は、多数の手段により向上させることができる。現在望ましい方法としては、プロ配列の少なくとも初めの１８アミノ酸（例：配列番号16の３０－４７残基）から成り、望ましくはプロ領域の全長から成るプロ領域の手段によるものである。残基３０－４７は他のモルフォゲンのＮ末端領域と相同性を有する配列であり、全てのモルフォゲンの複合体安定性を促進する特別有用な部分であると考えられる。可溶性モルフォゲン複合体の安定性を向上させる別の手段としては、３種の添加剤を使用するものがある。添加剤の例としては、塩基性アミノ酸（例：Ｌ－アルギニン、リジン、ベタイン）；非イオン性界面活性剤（例：Ｔｗｅｅｎ８０あるいはＮｏｎＩｄｅｔ　Ｐ－１２０）；キャリアタンパク質（例：血清アルブミンおよびカゼイン）が挙げられる。これらの添加剤の有用な濃度は、塩基性アミノ酸の場合１－１００ｍＭ、望ましくは１０－７０ｍＭであり（５０ｍＭを含む）、非イオン性界面活性剤の場合０．０１－１．０％、望ましくは０．０５－０．２％であり（０．１％（Ｖ/Ｖ）を含む）、キャリアタンパク質の場合、０．０１－１．０％、望ましくは０．０５－０．２％（０．１％（ｗ/ｖ）を含む）である。

ＶＩ．実施例

実施例１．　モルフォゲン発現組織の同定

モルフォゲンの組織内分布の測定は、一組織内に発現する異なるモルフォゲンの同定、および新しい関連モルフォゲンの同定に用いることができる。また、組織内分布を用いて、モルフォゲン刺激剤として可能性があるもののスクリーニングおよび同定に使用できる有用なモルフォゲン生成組織の同定を行なうことができる。モルフォゲン（又はそのmRNA転写体）は、異なる組織内で標準的な分析法により、また発現が少ない組織内で標準的な分析法をわずかに変形して、容易に同定される。例えば、タンパク質分布は、標準的なウェスタンブロット分析法又は蛍光イムノ法により、モルフォゲン又は目的のモルフォゲンに特異性を示す抗体を用いて測定することができる。同様に、モルフォゲン転写体の分布を、標準的なノーザンハイブリッド形成プロトコルおよび転写体特異プローブを用いて測定することができる。

転写体と特異的にハイブリッドを形成し、目的の転写体を他の類縁の転写体と区別できる任意のプローブを使用することができる。本明細書で説明するモルフォゲンは、活性なＣ末端ドメインにおける配列の相同性が高いので、特異モルフォゲン転写体の組織内分布は、未熟タンパク質のプロ領域及び／又は成熟タンパク質のＮ末端領域に特異なプローブを用いて測定するのが最良である。その他の有用な配列は、3'非コード化領域にフランキングする停止コドン直後の配列である。配列のこれらの部分は、本明細書に記載したモルフォゲンの中でも相当違いがあり、従って各タンパク質に特異的である。例えば、特に有用なVgr-1特異プローブ配列はPvuII-SacIフラグメント、つまり翻訳されていないプロ領域の一部分と成熟配列のＮ末端の両者をコード化する265bpのフラグメントである（cDNA配列の説明についてはLyons et a1.（1989）PNAS 86:　4554-4558を参照）。同様に、特に有用なmOP-1特異プローブ配列は、BstX1-BglIフラグメントつまりmOP-1プロ領域の約３分の２を占める0.68Kb配列、StuI-StuIフラグメントつまり7-システイン領域の直ぐ上流の0.2Kb配列、およびEar1-Pst1フラグメントつまり3'未翻訳配列の一部分を含む0.3Kbフラグメントである（配列番号No.18参照、ここでプロ領域は本質的に30-291残基で規定される）。同様な方法を、たとえばhOP-1(配列番号No.16)あるいはヒト又はマウスのOP-2（配列番号No.20および22）を用いて行なうことができる。

合成により、又は配列のクローンにより得たこれらのモルフォゲン特異プローブを用いて、当業者によく知られた標準的な方法で哺乳類の組織中のモルフォゲン転写体を同定することができる。簡単に言えば、Chomoczyaski et al.（(1987)Anal.Biochem 162:156-159）の方法および次に説明するような標準的な方法により、様々な成熟したネズミ（murine）組織（たとえば、肝臓、腎臓、睾丸、心臓、脳、胸腺および胃）から全部のRNAが調製される。Poly(A)+RNAは、オリゴ(dT)-セルロースクロマトグラフィー（たとえば、Pharmacia LKB Biotechnology, Inc.のタイプ７）により調製する。各組織からのPoly(A)+RNA（通常15μg）を１％のアガロース／ホルムアルデヒドゲル上で分画し、ナイトラン(Nytran)膜（Schleicher & Schuell）上に移す。移した後、ナイトラン膜を80℃で熱し、RNAをUV光下（通常1mW/cm2で30秒）で架橋結合させる。ハイブリッド形成の前に、適当なプローブを熱により変性させる。ハイブリッド形成は、40%ホルムアミド、5 x Denhardts、5 X SSPE、0.1% SDSの混合ハイブリダイゼーションにより、37℃で約15時間、およそ1 rev/minで、ローラーボトル装置内で回転するルサイトシリンダー内で行なう。ハイブリッド形成の後、非特異的なものは50℃で0.1 x SSPE、0.1% SDS中において、フィルターから洗浄する。

Vgr-1、OP-1、BMP2、BMP3、BMP4、BMP5、GDF-1およびOP-2を含む、発達中のおよび成熟した組織中の様々なモルフォゲンの組織内分布を示す例は、国際特許出願US92/01968（WO92/15323）、および、Ozkaynak, et al., (1991) Biochem. Biophys. Res. Commn. 179:116-123、およびOzkaynak. et al., (1992)(J. Biol. Chem. 267:25220-25227）に開示されている。その開示は本明細書中に援用する。本明細書で説明する一般的なプローブ法を用いて、これらのモルフォゲンの特異プローブによるノーザンブロットハイブリッド形成分析法により、脳、脾臓、肺、心臓、肝臓および腎臓の組織をプローブすると、腎臓に関連

する組織がOP-1の主たる発現源であり、脳、心臓および肺の組織が第二の発現源であるらしいことが分かる。肺組織はVgr-1、BMP5、BMP4およびBMP3の主たる組織発現源のようである。より低濃度のVgr-1はまた、腎臓組織および心臓組織に見られ、肝臓はBMP5の第二発現源で、脾臓はBMP4の第二の発現源であるように見える。GDF-1は主として脳組織に発現するようである。

現在のところ、OP-2は主として初期の胚組織に発現するようである。具体的には、ネズミの胚および生後６日の動物のノーザンブロットにより、８日目の胚に豊富なOP2の発現が見られる。発現は、17日目の胚において有意に減少し、生後の動物では検知されない。

実施例２．　発達中の肝臓組織中のモルフォゲンの限局化

発達中の胚における肝臓の形成開始は、14日目に生じる。実施例１で説明したハイブリッド形成プロトコルにより、胚発生中の肝臓形成開始時にモルフォゲン発現が同定された。具体的には、ネズミの胚の肝臓組織（15日目および20日目にプローブされた）と生後のマウスの肝臓組織（生後７、14、21および28日目にプローブされた）から分離したmRNAのノーザンブロットにより、発生する肝臓組織中のmOP-1の発現は、肝臓形成中のみであることが分かった。詳しくは、図１に示すように、mOP-1 RNAは15日目の胚において顕著に発現し、その後健康な肝臓組織中でずっと少ない量が発現する。同図において、レーン２および３は、各々15日目と20日目の胚組織から得たRNAを含有し、レーン４－８はそれぞれ生後３、７、14、21および28日目の動物から得たRNAを含有し、レーン９は分子量はしご（molecular weight ladder）である。レーン１および９は標識である。ノーザンブロットで、mOP-1 RNAは、約4kbおよび2.2kb又は2.4kbの単独のバンドおよび1.8kbの短いバンドとして発現する（たとえば、Ozkaynak, et al.（1991）Biochem. Biophys Res. 179：116-123参照）。

実施例３．　ラットの肝細胞に対するモルフォゲンの分裂誘発効果

モルフォゲンが初代肝細胞の増殖を誘起する能力は、ラットの肝臓から分離した初代肝細胞を用いる次のアッセイによりin vitroで実証することができる。特に断らない限り、使用した化学物質は、標準的な市販の試薬であり、Sigma Chemical, Co., St. Louis、Calbiochem, Corp,, San DiegoおよびAldrich Chemical Co., Milwaukeeを含むいくつかのメーカーから容易に入手できる。

ラットの初代肝細胞の培地は、実質的にFausto等（Fausto et al.(1987) Cell Separation: Methods and Selected Applications（細胞分離:方法および応用例）4:45-77、これは引用により本明細書中に援用する）が記述している２段階コラゲナーゼ消化により調製した。簡単に述べると、オスのラット（たとえば、CD strain, Charles River Laboratories, Wilmington, Ma）の肝臓に、Ca^{2+}フリー且つMg^{2+}フリーのハンクスの平衡塩類溶液を30－40ml/minのフローで10分間、門静脈を経由し潅流させ、次にCa^{2+}を含む媒体（Hepes緩衝液）中の0.05%コラゲナーゼにより10分間潅流させる。肝臓の被膜を除去し組織からの細胞を振とうにより結合をゆるめ（loose）、ろ過した肝細胞を細胞懸濁液を50xgで25分間、繰り返し遠心分離器で回収した。

肝細胞懸濁液には、それ以外の細胞（non-parencymal cell）は事実上混合していなかった。細胞（一皿あたり2x105）を、ウシの胎児の5%血清（fetal bovine serum: FBS）、1mMのピルビン酸塩、0.2mMのアスパラギン酸塩、1mMのプロリン、0.2mMの血清、2mMのグルタミン、および1mlあたり0.5μgのヒドロコチゾンと1μgのインシュリンを含むMEM（modified Eagle's medium：変性したイーグルの媒体、Gibco, Long Island）中のラットの尾のコラーゲンでコーティングした35-mmの皿上で、平板培養した。細胞は37℃の標準下で24時間定温放置し、その後、増殖媒体は血清フリーのMEMと取り替えた。

次に細胞培地を、（１）媒体1mlあたり1-100ngの範囲内のモルフォゲン量でモルフォゲンを投与されるウェル、および（2）このような投与を受けない比較対象基準、の二群に分けた。この実施例では、OP-1を試験対象のモルフォゲンとした。次に、細胞をさらに18-24時間定温放置し、その後ウェルは2μCi/wellの^{3}H-チミジンでパルス標識され、さらに６時間定温放置した。次に、過剰の標識を0.15MのNaClの冷却溶液を用いて洗い流した。次に、10%トリクロロ酢酸250μlを各ウェルに添加し、そのウェルを室温で30分間定温放置

した。次に、細胞を冷蒸留水で三回洗浄し、37℃で30分間にわたり1%硫酸ドデシルナトリウム（sodium dodecyl sulfate:SDS）250μlを添加し溶解させた。次に、細胞溶解液を当業でよく知られる標準的な方法により採取し、^{3}H-チミジンの細胞DNAへの取り込みの程度を、細胞の分裂促進活度を示す液体シンチレーションにより測定した。
初代肝細胞培地のモルフォゲン処理により、DNAへの^{3}H-チミジン取り込みが有意に刺激され、従って肝細胞増殖が促進される。血清フリーの媒体1ml中の20ngのOP-1によって刺激される有糸分裂誘発は、10%のフレッシュな血清のみによる分裂誘発効果に匹敵する。これに対して、TGF-Bのように局所的に作用する他の増殖要因は、初代肝細胞の増殖を刺激しない（Fausto et al.(1991) Ciba Found Symp 157:165-174参照）。

実施例４．　モルフォゲン誘発による肝組織再生

肝細胞は、組織の損失の後に欠損を補う増殖をする顕著な能力を有するが、肝臓の修復性は胚の形態形成とは著しく異なる。具体的には、肝葉が部分的に又は完全に除去される部分的肝切除の後に、無傷の葉内で分化する肝細胞の限定的な増殖能力により、残された無傷の葉（lobe）は急速に増殖し重量が倍増する。しかしながら、切除された葉自体は再生しない。次の実施例は、切除した組織葉の再生を含めて、部分的肝切除後に失った肝組織をモルフォゲンが再生させる能力を実証する。次に説明するプロトコルは、たとえば、Higgins、Braun等（Higgins et al.（1931）Arch. Pathol. 12:136-202およびBraun et al.（1969）PNAS 86:1558-1562（引用により本明細書中に援用する））記述している標準的な部分的肝切除プロトコルの変性である。
モルフォゲン、たとえば精製した組換え体のヒトOP-1成熟型を、0.1%のトリフロロ酢酸（又は相溶性がある酸）を含有する50%エタノール（又は相溶性がある溶媒）中に溶解化した（1mg/ml）。注射可能なOP-1溶液を、1容のOP-1/溶媒-酸ストック溶液を、9容の滅菌PBS（リン酸緩衝溶液）中の0.2%ラット血清アルブミンで希釈することにより調製した。
成長期のラット又は老齢のラットをケタミンを使用して麻酔した。二枚の肝葉（左と右）を切除し（葉の約1/3）、モルフォゲンを切り端に沿った複数の部位に局所的に注射した。注射したOP-1の量はPBS/RSA（リン酸緩衝溶液／ラット血清アルブミン）注射用緩衝液100中の100μgであった。プラシーボ（placebo）サンプルはOP-1を含まない注射用緩衝液であった。各群においてそれぞれ５匹のラットを使用した。標準的な外科的処置により傷を閉じ、ラットに通常の餌を食べさせ水道水を飲ませた。
12日後、ラットを殺し肝臓の再生を目視により観察した。図２の顕微鏡写真は、OP-1の肝組織形成に与える再生効果を劇的に表している。同図で、矢印は処理した葉を示す。OP-1を注射した群は切除した葉組織の再生を含む肝組織の完全な再生を示し、肝臓に傷跡は見られなかった（マウス２）。それに対して、PBSのみを注射した対照群では、切除した葉組織は再生されなかった（マウス１）。このサンプルは、元の切り傷を残している。
関連した実験において、マウスを部分的に肝切除し又は疑似手術し、肝組織から分離したRNAにノーザンブロットを実施した。どのマウスもモルフォゲン処理をしなかった。ノーザンブロット分析法（mOP-1-特異標識オリゴヌクレオチドでプローブして、図３参照）により測定されるように、モルフォゲン処理を行わないと、部分的肝切除後に内因性モルフォゲンの濃度が有意に上昇することはない。同図において、レーン２、４、６、８、10、12および14は、部分的肝切除を施したラットから得たサンプルであり、レーン３、５、７、９、11、13および15は疑似手術を施したラットから得たサンプルであり、およびレーン１と16は標識である。サンプルは術後12時間から96時間まで、６時間間隔で採取した。

実施例５．　毒素誘導による組織損傷後に再生する肝臓組織中のモルフォゲン発現

毒物誘導による組織損傷後の肝臓組織の修復は、肝細胞始原細胞の増殖および分化を含む。この組織修復は、胚形成中に生じる組織の形態発生カスケードを擬態しているように見える（Fausto, et al.（1989）Lab. Investigation 60:4-13）。次の実施例で実証するように、ガラクトサミン又は四塩化炭素（CCl_4）誘導による肝臓損傷後の肝組織再生中、モルフォゲン発現は有意に増大する。実験は本質的に、Kuhlmann等（Kuhlmann et al.,（1980）Virchows Arch 387:47-57（引用により本明細書に援用する））が記述している方法で実施した。

この実験で、雄のラットに、体重1kgあたり0.75gのガラクトサミン-HClの腹腔内注射を0日目に一回投与し、1-7日後と10日後に採取した肝組織サンプルの標準的なノーザンブロットによりモルフォゲン発現をモニターした。OP-1の発現は、この肝組織再生期間中に有為に増大し、モルフォゲンが組織再生において果たす有意な役割を果たすことを示した。図４に、ノーザンブロットの結果を示す。図４において、レーン1-8は0-7日後に採取したサンプルであり、レーン９は10日後に採取したサンプルである。レーン10は分子量標識を含有する。OP-1 mRNAは3-7日目に、顕著な発現スパイクを表す。CCl_4誘導による組織損傷（体重1kgあたり1.5gのCCl_4の経口投与によりCCl_4中毒を誘導する）後、刺激される組織再生に同様の結果が見られる。12時間後、およびその後少なくとも72時間後まで継続するハイブリッド形成のスパイク（spike）により、モルフォゲン（標準的なノーザンブロットにより測定されるmOP-1 mRNA）の有意な発現が同定される。

実施例６．　細胞性および体液性炎症反応のモルフォゲン阻害

本明細書に記述するモルフォゲンは、免疫学的応答の媒介による肝組織の損傷を伴う組織損傷を軽減するために用いることができる。この組織損傷の詳細、およびこの損傷が予期される場合、たとえば移植中の組織損傷を軽減し、且つ細胞保護効果を与えるモルフォゲンの効用の詳細は、国際特許出願US92/07358（WO93/04672）に開示されている。このような損傷の主因は、たとえば肝臓への血液供給量の減少、及び／又は門動脈の部分的又は完全閉塞に起因する。国際特許出願US92/07358（WO93/04672）に記述されるように、モルフォゲンは虚血-再潅流損傷による心筋組織の損傷を軽減することが示されている。モルフォゲンはまた、肝組織に類似する組織の損傷を軽減する。

本明細書に記述するモルフォゲンは、単核食細胞が正常に活性化する条件下で、たとえば組織損傷又は異物の存在に対する応答において、単核食細胞の多核化を阻害する。たとえば、モルフォゲンが存在しない場合、無機物を含んだ骨、二酸化チタン等のセラミック、又は多核巨大細胞形成を誘発するその他の任意の基質等を含む移植基質物質（皮下移植等）は、多核巨大細胞、たとえば異物に応答し破壊するよう刺激され活性化した食細胞により迅速に包囲される。しかしながら、モルフォゲンが存在する場合は、補充された食細胞は、単核の始原細胞のままであり、マトリックス物質は影響を受けない。図５で、皮下移植した二酸化チタン基質の組織学的な結果の図示により、モルフォゲンの上記の効用を表す。同図で、”mg”は多核巨大細胞（multinucleated giant cells）であり、”ob”は骨芽細胞（osteoblasts）である。図5Bに示す基質はモルフォゲン（OP-1）とともに移植され、基質周囲に新規に形成した骨芽細胞を明白に表す。それに対して、図5Aに示す基質はモルフォゲンなしで移植され、基質周囲に広範囲に及ぶ多核巨大細胞形成を明白に表す。即ち、哺乳類の過剰な骨塊の損失に対するモルフォゲンの抑制効果はまた、これらの巨大細胞の活性化を阻害することを含む。

さらに、本明細書に記述するモルフォゲンはまた、哺乳類における異抗原に対する応答により刺激された抗体の生成を阻害する。具体的には、ウシの骨のコラーゲンマトリックスが単独でラットの骨部位に移植された場合、移植後４週間間隔で（たとえば12-20週の間）採取した血液サンプルで実施した標準的なアンチ-ウシコラーゲンELISAの実験により分析すると、コラーゲンに対し標準的な抗体の応答が刺激される。本質的に、Nagler-Anderson等（Nagler-Anderson et al,（1986）PNAS 83:7443-7446（引用により本明細書に援用する））記述の処置に従ってELISAにより測定される血清アンチコラーゲン抗体滴定量は実験中一貫して上昇した。しかしながら、マトリックスがモルフォゲン（たとえば、実質的にU.S. Pat. No. 4,968,590に記述されているように、マトリックス内で分散し吸収されるOP-1）とともに移植された場合、アンチ-ウシコラーゲン抗体生成は顕著に抑制された。モルフォゲンが体液性応答を抑制する上記の効能により、リウマチ様関節炎等の自己抗体疾患を含む自己免疫疾患に伴う組織の損傷を軽減するモルフォゲンの効用をさらに明白にする。

実施例７．　線維形成及びはん痕組織形成におけるモルフォゲン効果

本明細書に記述するモルフォゲンは、損傷組織又は喪失組織の組織形態形成を誘導する。これらのタンパク質が新しい組織を再生させる能力は、また、これらのタンパク質の抗炎

症効果により増大する。次に示すのは、モルフォゲンの間葉細胞の移動と蓄積を誘導する能力を実証する、一連のin vitroにおける実験である。さらに、実験によりモルフォゲンはTGF-βと異なり、線維形成又ははん痕組織形成を刺激しないことが実証される。具体的には、モルフォゲンは原発性線維芽細胞のコラーゲン、ヒアルロン酸（HA）又はメタロプロテナーゼの生成を刺激しない。これらの物質は、全て線維形成又ははん痕組織形成に必要である。それに対し、線維症を誘導することで知られているTGF-βは、本明細書で説明する組織形態発生は誘導しないが、これらの線維症標識の生成を刺激する。

間葉始原細胞の化学走性および移動は、実質的に、Fava,R.A.等（Fava, R.A. et al(1991) J. Exp. Med. 173: 1121-1132（引用により本明細書に援用する））が記述している変性したボイデン室中で測定し、好中球始原細胞（progenitor neutrophils）、単核細胞および線維芽細胞の移動の測定には２ミクロン、３ミクロンおよび８ミクロンのポートのポリカーボネートフィルターを用いた。化学走性は、モルフォゲン濃度の範囲、たとえば、10^{-20}Mから10^{-12}MのOP-1において測定された。好中球始原細胞および単核細胞では、10^{-18}Mから10^{-17}MのOP-1が一貫して最大の移動を誘導し、10^{-14}Mから10^{-13}MのOP-1は好中球始原細胞の移動を最大に誘導した。全てのケースで、化学走性的活動をアンチ-OP-1抗体により阻害することができた。また、TGF-βについて、同様の移動活動が測定および観察された。

線維形成に対するモルフォゲン効果は、ヒアルロン酸（HA）、コラーゲン、コラゲネーゼおよびメタロプロテナーゼの組織阻害（TIMP）の線維芽細胞形成を評価することにより測定できる。

ヒト線維芽細胞を乳児の包皮の外植により樹立し、標準的な培養法を用いて単層培地で維持した（たとえば、(1976)J. Exp. Med. 144: 1188-1203参照）。簡単に述べると、イーグルのMEMから成り、非必須アミノ酸、アスコルビン酸（50μg/ml）、$NaHCO_3$およびHEPES緩衝液（pH7.2）、ペニシリン（100U/ml）、ストレプトマイシン（100μg/ml）、アンフォテリシンB（1μg/ml）および熱不活化FCSを補った維持媒体中で、線維芽細胞を増殖させた。化学走性を測定する標的細胞として用いた線維芽細胞を、直径150mmのガラス製のペトリ皿内で維持した。コラーゲン、ヒアルロン酸、コラゲナーゼ、およびメタロプロテナーゼを阻害する線維（TIMP）の合成を測定するアッセイで用いる線維芽細胞を、直径100mmのプラスチック製の組織培養ペトリ皿内で増殖させた。

モルフォゲンがヒアルロン酸、コラーゲン、コラゲナーゼおよびTIMPの線維芽細胞形成に及ぼす効果は、標準的なアッセイ（たとえば、J. Clin. Invest. 83: 629-636、Postteth waithe（1988）、J./ Cell Biol. 106:311-318およびClark et al. (1985)Arch. Bio-chem Biophys. 241: 36-44参照（引用により本明細書に援用する））により測定した。これらのアッセイで、線維芽細胞を１ウェルあたり$8x10^4$細胞の密度の24-ウェル組織培養皿に移植した。線維芽細胞は9% FCSを含む維持媒体中で72時間、交会増殖し、次に血清フリーの維持媒体中で24時間増殖した。次に、各ウェルから媒体を取り除き、50μl PBS中の異なる濃度のOP-1（組換えにより生成した成熟型又は可溶型）又はTGF-β-1（R & D Systems, Minneapolis）を添加し、融合性の線維芽細胞単層を含むウェルを三組つくった。コラゲナーゼとTIMPの生成を測定するアッセイで、5% FSCを含む維持媒体（450μl）を各ウェルに添加し、48時間後、培養上澄を各ウェルから採取し、アッセイするまで-70℃で保存した。HAの生成を評価する実験で、2.5% FCSを含む維持媒体（450μl）を各ウェルに添加し、培養により48時間増殖した。コラーゲンの線維芽細胞生成を測定する実験で、非必須アミノ酸を含まない血清フリーの維持媒体（450μl）を各ウェルに添加し、培養して72時間増殖させた。HAの線維芽細胞の生成は、新規に合成したグリコサミノグリカン（GAG）を[^{3}H]-酢酸で培養の最後の24時間標識し、特異的にヒアルロン酸を分解するStreptmyces hyalurolyticus（ICN Biochemicals, Cleveland, OH）のヒアルロニダーゼを加え、定温放置した後、放出した放射能を定量することにより測定した。線維芽細胞による全コラーゲンの生成は、培養の最後の24時間における、新規に合成されたコラーゲンへの[^{3}H]-プロリンの取り込みを反映するコラゲナーゼ感受性タンパク質アッセイを用いて測定した。線維芽細胞培養の上澄中のコラゲナーゼおよびTIMPタンパク質の濃度を、特異的なELISAs

により測定した。
図６に示すように、OP-1はTGF-βと比較してコラーゲン又はHAの生成を有意に刺激しない。同図で、パネルAはコラーゲンの生成に対するOP-1の効果、パネルBはコラーゲンの生成に対するTGF-βの効果、およびパネルC、DはHA生成に対するOP-1（パネルC）およびTGF-β（パネルD）の効果を表す。OP4-1の可溶型、成熟型のいずれを用いても、モルフォゲンの結果は同じであった。それに対し、潜在型のTGF-β（たとえば、TGF-βのプロドメイン結合形態）は活性ではなかった。
実施例８．　肝組織用診断薬
発達するおよび再生する肝組織中のモルフォゲンの限局化を、in vivoで肝機能障害を診断する方法の一部として用いることができる。モルフォゲンの限局化は特に、肝細胞損傷を伴う初期の肝機能障害の診断に有用である。具体的には、危険にさらされている患者に対し、医療分野で知られている標準的な方法により肝組織生検を実施する。次に、モルフォゲン特異抗血清又は単クローン抗体を用いる標準的な蛍光イムノ法により、標準的な方法を用いて、生検によって得られた組織でのモルフォゲン発現をアッセイする。具体的には、当業で知られる標準的な方法により生検した組織を薄切片にし、モルフォゲンに特異性を持つ蛍光により標識した（又は他の方法で検出可能にした）抗体を組織と一緒にして、特異的な抗原－抗体複合体の形成に十分な条件で定温放置した。その時形成した複合体の存在と量を検知し、予め定めた基準値又は参考値と比較する。組織中に存在するモルフォゲンの濃度変化の検知は、組織機能障害の尺度として用いることができる。又は、標準的なノーザンブロット分析法又は原位置でのハイブリッド形成により、モルフォゲンRNAと特異的にハイブリッド形成する標識したプローブ、および当業によく知られ、実施例１、２、５、６で説明する標準的なRNAハイブリッド形成プロトコルを用いてモルフォゲン転写体の濃度をモニターすることにより、モルフォゲン濃度の変化をアッセイすることができる。
血流又は腹腔液中に存在するモルフォゲンの変動により、また、肝臓組織の生育可能性を評価することができる。たとえば、モルフォゲンは、肝臓組織再生に伴い検出され、及び／又は死滅する細胞から周囲の腹腔液中に放出される。最近ではOP-1がヒトの血液中で同定されたが、ヒトの血液もまた、モルフォゲンの輸送手段になることができる。
血清サンプルを標準的な静脈穿刺により得て、血清を10分間3,000RPMの遠心分離で調製する。同様に、腹腔液サンプルを標準的な体液抽出法により得る。次に、血清又は腹腔液中のモルフォゲンの存在を、標準的なウェスタンブロット（イムノブロット）、ELISA又はRIAの方法により測定する。簡単に述べると、たとえば、ELISAでは、サンプルをリン酸緩衝溶液のような適切な緩衝液中で希釈し、50μlのアリコートをモルフォゲン特異抗体でプレコートしたマイクロタイター皿中の平底のウェルに吸収させ、４℃で18時間定温放置する。次に、皿を標準的な緩衝液で洗浄し、検知剤、たとえばビオチン、と共役する第二のモルフォゲン特異性抗体の50μlのアリコートと一緒に、適当な緩衝液中で90分間室温で放置する。次に、モルフォゲン-抗体複合体を標準的な方法を用いて検出する。
又は、たとえば、カラムマトリックスに吸収したモルフォゲン特異抗体を用いて、目的のモルフォゲンを選択的に抽出するために体液サンプルがマトリックスを通過するようにし、モルフォゲン特異アフィニティカラムを作成する。次に、モルフォゲンを溶離する。まず、比較対照基準（たとえば、精製し、組換えにより生成したモルフォゲン）に適した結合条件および溶離条件を分析することにより、適当な溶離緩衝液を経験的に決定する。次に、標準的なイムノブロットにより分画中のモルフォゲンの存在を調べる。次に、血清又は他の体液サンプル中のモルフォゲンの濃度を、吸光光度法又はELISA又はRIAの抗体アッセイを含む標準的なタンパク質定量法を用いて測定する。この方法により、OP-1が血清中で同定された。
OP-1を次のアッセイによりヒト血清中で検出した。当業でよく知られ、実施例13で一般的に説明する標準的な免疫学的な技術により、哺乳類における組換えにより生成したOP-1に対して発生した単クローン抗体を、活性化したアガロースゲル（たとえばBio-Rad Laboratories, Richmond, CAのAffi-Gel™、製造者の指示に従って調製した）上を通過させるこ

とにより固定化し、血清からOP-1を精製するのに用いた。次に、ヒトの血清を、カラム上を通過させ、3MのK-チオシアネートで溶離した。次に、K-チオシアネート分画を6M尿素、20mM PO_4、（pH7.0）中で透析し、C8 HPLCカラムに加え、20分間の25-50%アセトニトリル／0.1%TFAのグラジエントで溶離した。成熟した、組換えにより生成したOP-1ホモダイマーが、20-22分で溶離する。従って、アフィニティー精製したヒトの血清サンプルからの分画を回収し、OP-1特異抗体を用いる標準的なイムノブロットによりOP-1の存在を調べ、タンパク質の同一性をN-末端配列決定法により確認した。

体液モルフォゲンの濃度変化は肝臓組織の状態の変化を示すので、体液サンプル中に存在するモルフォゲンの量を予め定めた参考値と比較することにより、モルフォゲンを診断上に応用することができる。また、特異的に内因性モルフォゲン抗体と相互作用する抗体又は他の結合タンパク質を用いて上記の方法により、特に血清中の内因性モルフォゲン抗体の濃度変化を検知することができる。検知される内因性抗体の濃度変化は組織の状態の尺度として用いることができる。

実施例９．　内因性モルフォゲンレベルを変化させる候補化合物のスクリーニングアッセイ

或るモルフォゲンの濃度を変化させるために投与する候補化合物は、次のスクリーニングアッセイにより確認することができる。このスクリーニングアッセイでは、測定可能なレベルのモルフォゲンを生成するタイプの細胞により生成するモルフォゲンのレベルを、培地で化合物と細胞を定温放置し、および定温放置しないで測定し、化合物が細胞のモルフォゲン生成に与える効果をアッセイする。このアッセイは、タンパク質又はRNAレベルでのモルフォゲン検出により達成できる。また、国際特許出願US92/07359（WO93/05172）に、より詳細な記述がある。

９．１　培地における細胞増殖

腎臓、副腎、膀胱、脳、又はその他の臓器の細胞培地を、広く文献に記述されている方法により調製する。たとえば、新生期、若齢期、成熟期の齧歯類（マウス又はラット）から腎臓を外植し、組織全体又は薄切片（1-4mm）の臓器培地として用いる。腎臓、副腎、膀胱、脳、乳房、又はその他の組織から採取した原発性組織の培地および株化細胞を、従来の細胞培養技術によりマルチウェル皿（６ウェル又は24ウェル）内に樹立し、一定期間（1-7日）、血清を加え又は加えずに培養する。細胞の培養は、たとえば、血清（例、1%-10%のウシ胎児の血清、Gibco）を含むダルベコの（Dulbecco's）変性したイーグルの媒体（Gibco, Long Island, NY）、又は所望により血清を除去した媒体、又は規定媒体（たとえば、インシュリン、トランスフェリン、グルコース、アルブミン、又はその他の培養要因を含有する）中で培養する。

生成するモルフォゲンの濃度を調べるサンプルには、定期的に収集したイムノブロット分析法（Sambrook et al., eds., 1989, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY）によりOP-1の生成を測定する培養上澄み又は細胞溶解産物、あるいは定期的に回収し、mRHA分析用にpolyA+RHAを調製するのに使用する細胞培地そのものの一部分が含まれる。新しい(de novo)OP-1の合成をモニターするために、いくらかの培地を従来の方法によって、35S-メチオニン/35S-システイン混合物で6-24時間標識し、次に従来の免疫沈降法でOP-1合成を測定する。

９．２　モルフォゲンタンパク質の濃度測定

或る細胞型によるモルフォゲンタンパク質の生成を測定するには、そのタンパク質に特異な多クローン性、又は単クローン性の抗体を用いて、イムノアッセイによりモルフォゲンを検知する。たとえば、ELISAで多クローン性のOP-1特異抗体を用いて、次のように、OP-1を検知する。

アフィニティ精製したOP-1特異の多クローン性ウサギIgG（1μg/100μl）を、96ウェル皿の各ウェルに添加し、37℃で１時間定温放置する。0.1%のトゥイーン20を含有する、pH8.2の0.15M NaCl（BSB）を含む0.167Mのホウ酸ナトリウム緩衝液で、ウェルを四回洗浄する。非特異性の結合を最小限にするために、BSB中の1%のウシ血清アルブミン（BSA）をウェル一杯に満たし、37℃で１時間定温放置して、ウェルを遮断する。次に、0.1%のトゥイー

ン20を含むBSBで、ウェルを四回洗浄する。適度に希釈した細胞培養上澄みの各試験サンプルの100μlアリコートを、各ウェルに添加しこれを三セットつくり、37℃で30分間定温放置する。定温放置後、ビオチンを投与したウサギのアンチ-OP-1血清（ストック溶液は約1mg/mlで、使用前に1% BSAを含むBSB中で1:400に希釈する）100μlを、各ウェルに添加し、37℃で30分間定温放置する。次に、0.1%のトゥイーン20を含むBSBで、ウェルを四回洗浄する。アルカリ性ストレパビジン（Southern Biotechnology Associates, Inc. Birmingham, Alabama,使用前に0.1%のトゥイーン20を含むBSBで1:2000に希釈する））を各ウェルに添加し、37℃で30分間定温放置する。皿を、pH7.2の0.5Mトリス緩衝液（TBS）で四回洗浄する。50μlの基質（ELISA増幅システムキット、Amplification System Kit、Life technologies, Inc., Bethesda, MD）を各ウェルに添加し、室温で15分間定温放置する。次に、50μl増幅剤（上記の増幅システムキットより）を添加し、室温でさらに15分間定温放置する。50μlの0.3M硫酸の添加により、反応を停止する。各ウェル中の溶液490nmでODを記録する。培養媒体中のOP-1を測定するために、試験サンプルと同時に標準的な曲線を作る。

多クローン性抗体を、次のように調製する。500μlの完全フロインドアジュバント（Complete Freund's Adjuvant）と混合した0.1%のSDS中の大腸菌（E.coli）により生成したOP-1モノマー（配列番号NO:5のアミノ酸328-431）100ug/500μlを、それぞれウサギに投与する。ウサギの背部および側腹部の複数の部位に、抗原を皮下注射する。１月後、不完全フロイントアジュバントを用いて、同様にOP-1モノマーをウサギに投与する。７日後、試験血液を耳の静脈から採取する。ELISAアッセイにより血清中にOp-1に対する抗体が検出されるまで１月間隔で、さらに二回の投与と試験血液採取を実施する。次に、１月間隔でウサギに抗原100μgを投与し、投与から７日後および10日後に試験血液（15ml per bleed）を採取する。

或るモルフォゲンに特異な多クローン性の抗体を、次のように調製する大腸菌により生成したOP-1モノマーを、マウスに二回注射する。最初の注射は、完全フロイントアジュバント中に100μgのOP-1を含有し、皮下に投与する。二回目の注射は不完全アジュバント中に50μgのOP-1を含有し、腹腔内に投与する。次に、８ヶ月間にわたり異なった時期に、マウスに投与総量230μgのOP-1（配列番号NO:5のアミノ酸307-431）を四回、腹腔内注射する。融合の1週間前に、100μgのOP-1（307-431）、およびウシ血清アルブミンに添加したシステインによりSMCC架線結合剤と共役するN末端ペプチド（Ser293-Asn309-Sys）30μgを、マウスに腹腔内投与する。この投与を、融合の５日前（IP）、４日前（IP）、３日前（IP）および１日前（IV）に繰り返し行った。次に、PEG1500（Boeringer Mannheim）により1:1の比率で、マウスの脾臓細胞（たとえば653）と骨髄腫細胞を融合し、融合した細胞を平板培養し、OP-1（307-431）を抗原として用いてOP-1特異抗体をスクリーニングする。細胞融合と単クローンスクリーニングは、当業で広く使用される標準的な書籍に記述されている標準的な方法による。

本発明は、本発明の精神や本質的な特徴から逸脱することなく、他の具体的な形態で実施することができる。従って本実施例は、いかなる観点においても例証的なものであり、限定的なものではない。発明の範囲は、先に記載した説明でなく特許請求の範囲により示されており、従って特許請求の範囲と同等の意味および範囲での全ての変形例は、本特許請求の範囲に含まる。

配列表

（１）一般的情報

（ｉ）出願人

（A）名称：クリエイティブ　バイオモレキュルズ，インコーポレイテッド（Creative Biomolecules, Inc.）

（B）通り：45　サウス　ストリート（South Street）

（C）市：ホプキントン（Hopkinton）

（D）州：マサチューセッツ州（MA）

（E）国：米国（USA）

(F) 郵便番号：01748
(G) 電話番号：1-508-435-9001
(H) ファックス：1-508-435-0454
(I) テレックス
(ii) 発明の名称：モルフォゲン誘発性肝再生
(iii) 配列数：３３
(iv) 連絡先住所：
(A) あて先：クリエイティブ　バイオモレキュルズ，インコーポレイテッド（Creative Biomolecules Inc.）
(B) 通り；45　サウス　ストリート（South Street）
(C) 市：ホプキントン（Hopkinton）
(D) 州：マサチューセッツ州（MA）
(E) 国：米国（USA）
(F) 郵便番号：01748
(v) コンピュータ　リーダブル　フォーム
(A) 媒体型：フロッピー　ディスク
(B) コンピュータ：IBM PC適合
(C) オペレーティングシステム：PC-DOS/MS-DOS
(D) ソフトウエア：PatentIn Release No.1.0、Version 1.25
(vi) 当該出願（CULLENT APPLICATION）データ
(A) 出願番号：
(B) 出願日：
(C) 分類：
(vii) 基礎出願（PRIOR APPLICATION）データ
(A) 出願番号：
(B) 出願日：
(viii) 代理人に関する情報
(A) 名称：キリー　エスク，ロビン　ディ．(Kelley Esq, Robin D.)
(B) 登録番号：34,637
(C) 参照番号：CRP-072
(ix) 通信情報
(A) 電話番号：617/248-7477
(B) ファックス：617/248-7100
（２）配列番号１に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：９７アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..９７
(D) その他の情報：／ラベル＝一般配列１
／ただし、各ＸAAは独立的に、天然に存在する２０個のＬ異性体の内の１つのアミノ酸、α－アミノ酸、あるいはその誘導体を表わす
(xi) 配列：配列番号１：

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys
85 90 95

Xaa

（２）配列番号２に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：９７アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..９７
(D) その他の情報：／ラベル＝一般配列２
／ただし、各ＸAAは独立的に、天然に存在する２０個のＬ異性体の内の１つのアミノ酸、α－アミノ酸、あるいはその誘導体を表わす
(xi) 配列：配列番号２：

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys
85 90 95

Xaa

（２）配列番号３に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：９７アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形

（ii）分子の種類：タンパク質
（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..９７
（D）その他の情報：／ラベル＝一般配列３
／ただし、各ＸAAは独立的に、明細書に記載したように、特定された１つ以上のアミノ酸群から選択される。
（xi）配列：配列番号３：

```
Leu Tyr Val Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Ala
1               5                  10                  15

Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Pro
            20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
        35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Pro
    50                  55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65                  70                  75                  80

Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa Xaa Cys Gly Cys
                85                  90                  95

Xaa
```

（２）配列番号４に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
（A）長さ：１０２アミノ酸
（B）型：アミノ酸
（C）鎖の数：１本鎖
（D）トポロジー：線形
（ii）分子の種類：タンパク質
（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..１０２
（D）その他の情報：／ラベル＝一般配列４
／ただし、各ＸAAは独立的に、明細書に記載したように、特定された１つ以上のアミノ酸群より選択される。
（xi）配列：配列番号４：

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Tyr Val Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa
1 5 10 15

Xaa Trp Xaa Xaa Ala Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly
20 25 30

Xaa Cys Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Cys Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val
85 90 95

Xaa Xaa Cys Gly Cys Xaa
100

（２）配列番号５に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１３９アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(F) 組織の種類：海馬
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..１３９
(D) その他の情報：／ラベル＝ｈＯＰ－１－成熟
(xi) 配列：配列番号５：

```
Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys
1               5                  10                  15

Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg
        35                  40                  45

Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn
65                  70                  75                  80

Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro
                85                  90                  95

Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile
            100                 105                 110

Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr
        115                 120                 125

Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
    130                 135
```

（２）配列番号６に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１３９アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(vi) 由来：

(A) 生物：ネズミ

(F) 組織の種類：胚

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１３９

(D) その他の情報：／ラベル＝ＭＯＰ１－成熟

(xi) 配列：配列番号６：

```
Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys
1               5                  10                  15

Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg
        35                  40                  45

Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala
    50                  55                  60

Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn
65                  70                  75                  80

Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro
                85                  90                  95

Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile
            100                 105                 110

Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr
        115                 120                 125

Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
    130                 135
```

（２）配列番号７に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１３９アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(vi) 由来：

(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）

(F) 組織の種類：海馬

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１３９

(D) その他の情報：／ラベル＝ＨＯＰ－２－成熟

(xi) 配列：配列番号７：

```
Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu
1               5                  10                  15

Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser
            20                  25                  30

His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln
        35                  40                  45

Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn
65                  70                  75                  80

Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro
                85                  90                  95

Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr
            100                 105                 110

Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His
        115                 120                 125

Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
    130                 135
```

（２）配列番号８に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１３９アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(vi) 由来：

(A) 生物：ネズミ

(F) 組織の種類：胚

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１３９

(D) その他の情報：／ラベル＝ＭＯＰ２－成熟

(xi) 配列：配列番号８：

```
Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys Thr Asn Glu Leu
1               5                  10                  15

Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser
            20                  25                  30

Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg
        35                  40                  45

Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn
65                  70                  75                  80

Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro
                85                  90                  95

Asp Val Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr
            100                 105                 110

Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His
        115                 120                 125

Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
    130                 135
```

（２）配列番号９に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１０１アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(vi) 由来：

(A) 生物：ウシ

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１０１

(D) その他の情報：／ラベル＝ＣＢＭＰ－２Ａ－ＦＸ

(xi) 配列：配列番号９：

```
Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn
1               5                  10                  15

Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly
            20                  25                  30

Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala
        35                  40                  45

Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala
    50                  55                  60

Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp
65                  70                  75                  80

Glu Asn Glu Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu
                85                  90                  95

Gly Cys Gly Cys Arg
            100
```

（２）配列番号１０に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１０１アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(F) 組織の種類：海馬
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..１０１
(D) その他の情報：／ラベル＝ＣＢＭＰ－２Ｂ－ＦＸ
(xi) 配列：配列番号１０：

```
Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn
1               5                  10                  15

Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr Cys His Gly
            20                  25                  30

Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala
        35                  40                  45

Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile Pro Lys Ala
    50                  55                  60

Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp
65                  70                  75                  80

Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Val Val Glu
                85                  90                  95

Gly Cys Gly Cys Arg
            100
```

（２）配列番号１１に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１０２アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(vi) 由来：
(A) 生物：ショウジョウバエ
(vi) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..１０１
(D) その他の情報：／ラベル＝ＤＰＰ－ＦＸ
(xi) 配列：配列番号１１：

Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp
1 5 10 15

Asp Trp Ile Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asp Ala Tyr Tyr Cys His Gly
20 25 30

Lys Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala
35 40 45

Val Val Gln Thr Leu Val Asn Asn Asn Asn Pro Gly Lys Val Pro Lys
50 55 60

Ala Cys Cys Val Pro Thr Gln Leu Asp Ser Val Ala Met Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Asn Asp Gln Ser Thr Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Thr Val
85 90 95

Val Gly Cys Gly Cys Arg
100

（２）配列番号１２に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１０２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(vi) 由来：

(A) 生物：ツメガエル

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１０２

(D) その他の情報：／ラベル＝ＶＧＬ－ＦＸ

(xi) 配列：配列番号１２：

Cys Lys Lys Arg His Leu Tyr Val Glu Phe Lys Asp Val Gly Trp Gln
1 5 10 15

Asn Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Met Ala Asn Tyr Cys Tyr Gly
20 25 30

Glu Cys Pro Tyr Pro Leu Thr Glu Ile Leu Asn Gly Ser Asn His Ala
35 40 45

Ile Leu Gln Thr Leu Val His Ser Ile Glu Pro Glu Asp Ile Pro Leu
50 55 60

Pro Cys Cys Val Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Ser Met Leu Phe Tyr
65 70 75 80

Asp Asn Asn Asp Asn Val Val Leu Arg His Tyr Glu Asn Met Ala Val
85 90 95

Asp Glu Cys Gly Cys Arg
100

（２）配列番号１３に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１０２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

（ii）分子の種類：タンパク質
（vi）由来：
（A）生物：ネズミ
（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..１０２
（D）その他の情報：／ラベル=ＶＧＲ－１－ＦＸ
（xi）配列：配列番号１３：

```
Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Val Gly Trp Gln
1               5                  10                  15

Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
            20                  25                  30

Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
        35                  40                  45

Ile Val Gln Thr Leu Val His Val Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
    50                  55                  60

Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Val Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65                  70                  75                  80

Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
                85                  90                  95

Arg Ala Cys Gly Cys His
            100
```

（２）配列番号１４に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
（A）長さ：１０６アミノ酸
（B）型：アミノ酸
（C）鎖の数：１本鎖
（D）トポロジー：線形
（ii）分子の種類：タンパク質
（iii）仮説：ＮＯ
（iv）アンチセンス：ＮＯ
（vi）由来：
（A）生物：ホモサピエンス（ヒト）
（B）組織の種類：脳
（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..１０６
（D）その他の情報：／付記=”ＧＤＦ－１（ｆｘ）”
（xi）配列：配列番号１４：

```
Cys Arg Ala Arg Arg Leu Tyr Val Ser Phe Arg Glu Val Gly Trp His
1               5                  10                  15

Arg Trp Val Ile Ala Pro Arg Gly Phe Leu Ala Asn Tyr Cys Gln Gly
            20                  25                  30

Gln Cys Ala Leu Pro Val Ala Leu Ser Gly Ser Gly Gly Pro Pro Ala
        35                  40                  45

Leu Asn His Ala Val Leu Arg Ala Leu Met His Ala Ala Ala Pro Gly
    50                  55                  60

Ala Ala Asp Leu Pro Cys Cys Val Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile Ser
65                  70                  75                  80

Val Leu Phe Phe Asp Asn Ser Asp Asn Val Val Leu Arg Gln Tyr Glu
                85                  90                  95

Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Arg
            100                 105
```

（２）配列番号１５に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：５アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：ペプチド

(xi) 配列：配列番号１５：

```
Cys Xaa Xaa Xaa Xaa
1               5
```

（２）配列番号１６に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１８２２塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：ｃＤＮＡ

(iii) 仮説：ＮＯ

(iv) アンチセンス：ＮＯ

(vi) 由来：

(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）

(F) 組織の種類：海馬

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：ＣＤＳ

(B) 位置：４９..１３４１

(C) 同定法：実験

(D) その他の情報：／機能＝”骨形成タンパク質”

／生産物：”ＯＰ１”

／証拠：実験

／標準名：”ＯＰ１”

(xi) 配列：配列番号１６：

```
GGTGCGGGCC CGGAGCCCGG AGCCCGGGTA GCGCGTAGAG CCGGCGCG ATG CAC GTG        57
                                                      Met His Val
                                                        1

CGC TCA CTG CGA GCT GCG GCG CCG CAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCA        105
Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala
      5                  10                  15

CCC CTG TTC CTG CTG CGC TCC GCC CTG GCC GAC TTC AGC CTG GAC AAC        153
Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn
 20                  25                  30                  35

GAG GTG CAC TCG AGC TTC ATC CAC CGG CGC CTC CGC AGC CAG GAG CGG        201
Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg
                 40                  45                  50

CGG GAG ATG CAG CGC GAG ATC CTC TCC ATT TTG GGC TTG CCC CAC CGC        249
Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg
            55                  60                  65

CCG CGC CCG CAC CTC CAG GGC AAG CAC AAC TCG GCA CCC ATG TTC ATG        297
Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met
        70                  75                  80

CTG GAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GAG GGC GGC GGG CCC GGC        345
Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly Gly Pro Gly
     85                  90                  95

GGC CAG GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GGC        393
Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly
100                 105                 110                 115

CCC CCT CTG GCC AGC CTG CAA GAT AGC CAT TTC CTC ACC GAC GCC GAC        441
Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp
                120                 125                 130

ATG GTC ATG AGC TTC GTC AAC CTC GTG GAA CAT GAC AAG GAA TTC TTC        489
Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe
            135                 140                 145

CAC CCA CGC TAC CAC CAT CGA GAG TTC CGG TTT GAT CTT TCC AAG ATC        537
His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile
        150                 155                 160
```

```
CCA GAA GGG GAA GCT GTC ACG GCA GCC GAA TTC CGG ATC TAC AAG GAC      585
Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp
    165                 170                 175

TAC ATC CGG GAA CGC TTC GAC AAT GAG ACG TTC CGG ATC AGC GTT TAT      633
Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile Ser Val Tyr
180                 185                 190                 195

CAG GTG CTC CAG GAG CAC TTG GGC AGG GAA TCG GAT CTC TTC CTG CTC      681
Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu
                200                 205                 210

GAC AGC CGT ACC CTC TGG GCC TCG GAG GAG GGC TGG CTG GTG TTT GAC      729
Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp
            215                 220                 225

ATC ACA GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAT CCG CGG CAC AAC CTG      777
Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu
        230                 235                 240

GGC CTG CAG CTC TCG GTG GAG ACG CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC CCC      825
Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro
    245                 250                 255

AAG TTG GCG GGC CTG ATT GGG CGG CAC GGG CCC CAG AAC AAG CAG CCC      873
Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro
260                 265                 270                 275

TTC ATG GTG GCT TTC TTC AAG GCC ACG GAG GTC CAC TTC CGC AGC ATC      921
Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe Arg Ser Ile
                280                 285                 290

CGG TCC ACG GGG AGC AAA CAG CGC AGC CAG AAC CGC TCC AAG ACG CCC      969
Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro
            295                 300                 305

AAG AAC CAG GAA GCC CTG CGG ATG GCC AAC GTG GCA GAG AAC AGC AGC     1017
Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu Asn Ser Ser
        310                 315                 320

AGC GAC CAG AGG CAG GCC TGT AAG AAG CAC GAG CTG TAT GTC AGC TTC     1065
Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe
    325                 330                 335

CGA GAC CTG GGC TGG CAG GAC TGG ATC ATC GCG CCT GAA GGC TAC GCC     1113
Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala
340                 345                 350                 355

GCC TAC TAC TGT GAG GGG GAG TGT GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG     1161
Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met
                360                 365                 370

AAC GCC ACC AAC CAC GCC ATC GTG CAG ACG CTG GTC CAC TTC ATC AAC     1209
Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn
            375                 380                 385
```

```
CCG GAA ACG GTG CCC AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACG CAG CTC AAT GCC      1257
Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala
        390                 395                 400

ATC TCC GTC CTC TAC TTC GAT GAC AGC TCC AAC GTC ATC CTG AAG AAA      1305
Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys
    405                 410                 415

TAC AGA AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCCTCC           1351
Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
420                 425                 430

GAGAATTCAG ACCCTTTGGG GCCAAGTTTT TCTGGATCCT CCATTGCTCG CCTTGGCCAG    1411

GAACCAGCAG ACCAACTGCC TTTTGTGAGA CCTTCCCCTC CCTATCCCCA ACTTTAAAGG    1471

TGTGAGAGTA TTAGGAAACA TGAGCAGCAT ATGGCTTTTG ATCAGTTTTT CAGTGGCAGC    1531

ATCCAATGAA CAAGATCCTA CAAGCTGTGC AGGCAAAACC TAGCAGGAAA AAAAAACAAC    1591

GCATAAAGAA AAATGGCCGG GCCAGGTCAT TGGCTGGGAA GTCTCAGCCA TGCACGGACT    1651

CGTTTCCAGA GGTAATTATG AGCGCCTACC AGCCAGGCCA CCCAGCCGTG GGAGGAAGGG    1711

GGCGTGGCAA GGGGTGGGCA CATTGGTGTC TGTGCGAAAG GAAAATTGAC CCGGAAGTTC    1771

CTGTAATAAA TGTCACAATA AAACGAATGA ATGAAAAAAA AAAAAAAAAA A              1822
```

（２）配列番号１７に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：４３１アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号１７：

```
Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
 1               5                  10                  15

Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
            20                  25                  30

Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
        35                  40                  45

Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
    50                  55                  60

Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro
65                  70                  75                  80
```

Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly
85 90 95

Gly Pro Gly Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser
100 105 110

Thr Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr
115 120 125

Asp Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys
130 135 140

Glu Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu
145 150 155 160

Ser Lys Ile Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile
165 170 175

Tyr Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile
180 185 190

Ser Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu
195 200 205

Phe Leu Leu Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu
210 215 220

Val Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg
225 230 235 240

His Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser
245 250 255

Ile Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn
260 265 270

Lys Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe
275 280 285

Arg Ser Ile Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser
290 295 300

Lys Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu
305 310 315 320

Asn Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr
325 330 335

Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu
340 345 350

Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn
355 360 365

Ser Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His
370 375 380

Phe Ile Asn Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln
385 390 395 400

Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile
405 410 415

Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
420 425 430

（２）配列番号１８に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１８７３塩基対
(B) 型：核酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：ｃＤＮＡ
(iii) 仮説：ＮＯ
(iv) アンチセンス：ＮＯ
(vi) 由来：
(A) 生物：ネズミ
(F) 組織の種類：胚
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：ＣＤＳ
(B) 位置：１０４..１３９３
(C) 同定法：実験
(D) その他の情報：／機能＝”骨形成タンパク質”
／生産物：”ＭＯＰ１”
／付記：”ＭＯＰ１（ｃＤＮＡ）”
（xi）配列：配列番号１８：

```
CTGCAGCAAG TGACCTCGGG TCGTGGACCG CTGCCCTGCC CCCTCCGCTG CCACCTGGGG      60

CGGCGCGGGC CCGGTGCCCC GGATCGCGCG TAGAGCCGGC GCG ATG CAC GTG CGC       115
                                                Met His Val Arg
                                                  1

TCG CTG CGC GCT GCG GCG CCA CAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCG CCT       163
Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala Pro
  5                  10                  15                  20

CTG TTC TTG CTG CGC TCC GCC CTG GCC GAT TTC AGC CTG GAC AAC GAG       211
Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn Glu
                 25                  30                  35
```

```
GTG CAC TCC AGC TTC ATC CAC CGG CGC CTC CGC AGC CAG GAG CGG CGG        259
Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg Arg
            40                  45                  50

GAG ATG CAG CGG GAG ATC CTG TCC ATC TTA GGG TTG CCC CAT CGC CCG        307
Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg Pro
        55                  60                  65

CGC CCG CAC CTC CAG GGA AAG CAT AAT TCG GCG CCC ATG TTC ATG TTG        355
Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met Leu
    70                  75                  80

GAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GAG AGC GGG CCG GAC GGA CAG        403
Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly Pro Asp Gly Gln
85                  90                  95                  100

GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GGC CCC CCT        451
Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly Pro Pro
                105                 110                 115

TTA GCC AGC CTG CAG GAC AGC CAT TTC CTC ACT GAC GCC GAC ATG GTC        499
Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp Met Val
            120                 125                 130

ATG AGC TTC GTC AAC CTA GTG GAA CAT GAC AAA GAA TTC TTC CAC CCT        547
Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe His Pro
        135                 140                 145

CGA TAC CAC CAT CGG GAG TTC CGG TTT GAT CTT TCC AAG ATC CCC GAG        595
Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile Pro Glu
    150                 155                 160

GGC GAA CGG GTG ACC GCA GCC GAA TTC AGG ATC TAT AAG GAC TAC ATC        643
Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp Tyr Ile
165                 170                 175                 180

CGG GAG CGA TTT GAC AAC GAG ACC TTC CAG ATC ACA GTC TAT CAG GTG        691
Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr Val Tyr Gln Val
                185                 190                 195

CTC CAG GAG CAC TCA GGC AGG GAG TCG GAC CTC TTC TTG CTG GAC AGC        739
Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu Asp Ser
            200                 205                 210

CGC ACC ATC TGG GCT TCT GAG GAG GGC TGG TTG GTG TTT GAT ATC ACA        787
Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp Ile Thr
        215                 220                 225

GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAC CCT CGG CAC AAC CTG GGC TTA        835
Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu Gly Leu
    230                 235                 240

CAG CTC TCT GTG GAG ACC CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC CCC AAG TTG        883
Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro Lys Leu
245                 250                 255                 260
```

```
GCA GGC CTG ATT GGA CGG CAT GGA CCC CAG AAC AAG CAA CCC TTC ATG      931
Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro Phe Met
                265                 270                 275

GTG GCC TTC TTC AAG GCC ACG GAA GTC CAT CTC CGT AGT ATC CGG TCC      979
Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg Ser Ile Arg Ser
            280                 285                 290

ACG GGG GGC AAG CAG CGC AGC CAG AAT CGC TCC AAG ACG CCA AAG AAC     1027
Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys Asn
        295                 300                 305

CAA GAG GCC CTG AGG ATG GCC AGT GTG GCA GAA AAC AGC AGC AGT GAC     1075
Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser Asp
    310                 315                 320

CAG AGG CAG GCC TGC AAG AAA CAT GAG CTG TAC GTC AGC TTC CGA GAC     1123
Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp
325                 330                 335                 340

CTT GGC TGG CAG GAC TGG ATC ATT GCA CCT GAA GGC TAT GCT GCC TAC     1171
Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Tyr
                345                 350                 355

TAC TGT GAG GGA GAG TGC GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG AAC GCC     1219
Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn Ala
            360                 365                 370

ACC AAC CAC GCC ATC GTC CAG ACA CTG GTT CAC TTC ATC AAC CCA GAC     1267
Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro Asp
        375                 380                 385

ACA GTA CCC AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACC CAG CTC AAC GCC ATC TCT     1315
Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile Ser
    390                 395                 400

GTC CTC TAC TTC GAC GAC AGC TCT AAT GTC GAC CTG AAG AAG TAC AGA     1363
Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu Lys Lys Tyr Arg
405                 410                 415                 420

AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCTTCC TGAGACCCTG       1413
Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
                425                 430

ACCTTTGCGG GGCCACACCT TTCCAAATCT TCGATGTCTC ACCATCTAAG TCTCTCACTG    1473

CCCACCTTGG CGAGGAGAAC AGACCAACCT CTCCTGAGCC TTCCCTCACC TCCCAACCGG    1533

AAGCATGTAA GGGTTCCAGA AACCTGAGCG TGCAGCAGCT GATGAGCGCC CTTTCCTTCT    1593

GGCACGTGAC GGACAAGATC CTACCAGCTA CCACAGCAAA CGCCTAAGAG CAGGAAAAAT    1653

GTCTGCCAGG AAAGTGTCCA GTGTCCACAT GGCCCCTGGC GCTCTGAGTC TTTGAGGAGT    1713

AATCGCAAGC CTCGTTCAGC TGCAGCAGAA GGAAGGGCTT AGCCAGGGTG GGCGCTGGCG    1773

TCTGTGTTGA AGGGAAACCA AGCAGAAGCC ACTGTAATGA TATGTCACAA TAAAACCCAT    1833

GAATGAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAGAATTC                          1873
```

（２）配列番号１９に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：４３０アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

（ii）分子の種類：タンパク質

（xi）配列：配列番号１９：

```
Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
 1               5                  10                  15

Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
            20                  25                  30

Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
        35                  40                  45

Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
    50                  55                  60

Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro
65                  70                  75                  80

Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly
                85                  90                  95

Pro Asp Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr
            100                 105                 110

Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp
        115                 120                 125

Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu
    130                 135                 140

Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser
145                 150                 155                 160

Lys Ile Pro Glu Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr
                165                 170                 175

Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr
            180                 185                 190

Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe
        195                 200                 205
```

Leu Leu Asp Ser Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val
210 215 220

Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His
225 230 235 240

Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile
245 250 255

Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys
260 265 270

Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg
275 280 285

Ser Ile Arg Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys
290 295 300

Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn
305 310 315 320

Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val
325 330 335

Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly
340 345 350

Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser
355 360 365

Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe
370 375 380

Ile Asn Pro Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu
385 390 395 400

Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu
405 410 415

Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
420 425 430

（２）配列番号２０に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１７２３塩基対
(B) 型：核酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：ｃＤＮＡ
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(F) 組織の種類：海馬
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：ＣＤＳ
(B) 位置：４９０..１６９６
(D) その他の情報：／機能＝”骨形成タンパク質”
／生産物：”ｈＯＰ２－ＰＰ”
／付記：”ｈＯＰ２（ｃＤＮＡ）”
(xi) 配列：配列番号２０：

```
GGCGCCGGCA GAGCAGGAGT GGCTGGAGGA GCTGTGGTTG GAGCAGGAGG TGGCACGGCA      60

GGGCTGGAGG GCTCCCTATG AGTGGCGGAG ACGGCCCAGG AGGCGCTGGA GCAACAGCTC     120

CCACACCGCA CCAAGCGGTG GCTGCAGGAG CTCGCCCATC GCCCCTGCGC TGCTCGGACC     180

GCGGCCACAG CCGGACTGGC GGGTACGGCG GCGACAGAGG CATTGGCCGA GAGTCCCAGT     240

CCGCAGAGTA GCCCCGGCCT CGAGGCGGTG GCGTCCCGGT CCTCTCCGTC CAGGAGCCAG     300

GACAGGTGTC GCGCGGCGGG GCTCCAGGGA CCGCGCCTGA GGCCGGCTGC CCGCCCGTCC     360

CGCCCCGCCC CGCCGCCCGC CGCCCGCCGA GCCCAGCCTC CTTGCCGTCG GGGCGTCCCC     420

AGGCCCTGGG TCGGCCGCGG AGCCGATGCG CGCCCGCTGA GCGCCCCAGC TGAGCGCCCC     480

CGGCCTGCC ATG ACC GCG CTC CCC GGC CCG CTC TGG CTC CTG GGC CTG          528
          Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu
            1               5                  10

GCG CTA TGC GCG CTG GGC GGG GGC GGC CCC GGC CTG CGA CCC CCG CCC       576
Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro
     15                  20                  25

GGC TGT CCC CAG CGA CGT CTG GGC GCG CGC GAG CGC CGG GAC GTG CAG       624
Gly Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln
 30                  35                  40                  45

CGC GAG ATC CTG GCG GTG CTC GGG CTG CCT GGG CGG CCC CGG CCC CGC       672
Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg
                 50                  55                  60

GCG CCA CCC GCC GCC TCC CGG CTG CCC GCG TCC GCG CCG CTC TTC ATG       720
Ala Pro Pro Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met
             65                  70                  75

CTG GAC CTG TAC CAC GCC ATG GCC GGC GAC GAC GAC GAG GAC GGC GCG       768
Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala
         80                  85                  90

CCC GCG GAG CGG CGC CTG GGC CGC GCC GAC CTG GTC ATG AGC TTC GTT       816
Pro Ala Glu Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val
     95                  100                 105
```

```
AAC ATG GTG GAG CGA GAC CGT GCC CTG GGC CAC CAG GAG CCC CAT TGG        864
Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp
110                 115                 120                 125

AAG GAG TTC CGC TTT GAC CTG ACC CAG ATC CCG GCT GGG GAG GCG GTC        912
Lys Glu Phe Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val
                130                 135                 140

ACA GCT GCG GAG TTC CGG ATT TAC AAG GTG CCC AGC ATC CAC CTG CTC        960
Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu
            145                 150                 155

AAC AGG ACC CTC CAC GTC AGC ATG TTC CAG GTG GTC CAG GAG CAG TCC       1008
Asn Arg Thr Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser
        160                 165                 170

AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG ACG CTC CGA GCT       1056
Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala
    175                 180                 185

GGA GAC GAG GGC TGG CTG GTG CTG GAT GTC ACA GCA GCC AGT GAC TGC       1104
Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys
190                 195                 200                 205

TGG TTG CTG AAG CGT CAC AAG GAC CTG GGA CTC CGC CTC TAT GTG GAG       1152
Trp Leu Leu Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu
                210                 215                 220

ACT GAG GAC GGG CAC AGC GTG GAT CCT GGC CTG GCC GGC CTG CTG GGT       1200
Thr Glu Asp Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly
            225                 230                 235

CAA CGG GCC CCA CGC TCC CAA CAG CCT TTC GTG GTC ACT TTC TTC AGG       1248
Gln Arg Ala Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg
        240                 245                 250

GCC AGT CCG AGT CCC ATC CGC ACC CCT CGG GCA GTG AGG CCA CTG AGG       1296
Ala Ser Pro Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg
    255                 260                 265

AGG AGG CAG CCG AAG AAA AGC AAC GAG CTG CCG CAG GCC AAC CGA CTC       1344
Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu
270                 275                 280                 285

CCA GGG ATC TTT GAT GAC GTC CAC GGC TCC CAC GGC CGG CAG GTC TGC       1392
Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys
                290                 295                 300

CGT CGG CAC GAG CTC TAC GTC AGC TTC CAG GAC CTC GGC TGG CTG GAC       1440
Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp
            305                 310                 315

TGG GTC ATC GCT CCC CAA GGC TAC TCG GCC TAT TAC TGT GAG GGG GAG       1488
Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu
        320                 325                 330
```

```
TGC TCC TTC CCA CTG GAC TCC TGC ATG AAT GCC ACC AAC CAC GCC ATC      1536
Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile
    335                 340                 345

CTG CAG TCC CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA AAC GCA GTC CCC AAG GCG      1584
Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala
350                 355                 360                 365

TGC TGT GCA CCC ACC AAG CTG AGC GCC ACC TCT GTG CTC TAC TAT GAC      1632
Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp
                370                 375                 380

AGC AGC AAC AAC GTC ATC CTG CGC AAA GCC CGC AAC ATG GTG GTC AAG      1680
Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys
            385                 390                 395

GCC TGC GGC TGC CAC T GAGTCAGCCC GCCCAGCCCT ACTGCAG                  1723
Ala Cys Gly Cys His
        400
```

（２）配列番号２１に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：４０２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

（ii）分子の種類：タンパク質

（xi）配列：配列番号２１：

```
Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys
 1               5                  10                  15

Ala Leu Gly Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro Gly Cys Pro
            20                  25                  30

Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln Arg Glu Ile
        35                  40                  45

Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg Ala Pro Pro
    50                  55                  60

Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu
65                  70                  75                  80

Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala Pro Ala Glu
                85                  90                  95

Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val Asn Met Val
            100                 105                 110

Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe
        115                 120                 125
```

```
Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu Asn Arg Thr
145                 150                 155                 160

Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser Asn Arg Glu
                165                 170                 175

Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala Gly Asp Glu
            180                 185                 190

Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys Trp Leu Leu
        195                 200                 205

Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Glu Asp
    210                 215                 220

Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Gln Arg Ala
225                 230                 235                 240

Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Pro
                245                 250                 255

Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Arg Gln
            260                 265                 270

Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile
        275                 280                 285

Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His
    290                 295                 300

Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile
305                 310                 315                 320

Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe
                325                 330                 335

Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser
            340                 345                 350

Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala
        355                 360                 365

Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn
    370                 375                 380

Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly
385                 390                 395                 400

Cys His
```

（２）配列番号２２に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１９２６塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(vi) 由来：

(A) 生物：ネズミ

(F) 組織の種類：胚

(ix) 特徴：

（A）名称／キー：ＣＤＳ
（B）位置：９３..１２８９
（D）その他の情報：／機能＝”骨形成タンパク質”
／生産物：”ｍＯＰ２－ＰＰ”
／付記：”ｍＯＰ２　ｃＤＮＡ”
（xi）配列：配列番号２２：

```
GCCAGGCACA GGTGCGCCGT CTGGTCCTCC CCGTCTGGCG TCAGCCGAGC CCGACCAGCT      60

ACCAGTGGAT GCGCGCCGGC TGAAAGTCCG AG ATG GCT ATG CGT CCC GGG CCA         113
                                    Met Ala Met Arg Pro Gly Pro
                                      1               5

CTC TGG CTA TTG GGC CTT GCT CTG TGC GCG CTG GGA GGC GGC CAC GGT         161
Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly His Gly
        10                  15                  20

CCG CGT CCC CCG CAC ACC TGT CCC CAG CGT CGC CTG GGA GCG CGC GAG         209
Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu
    25                  30                  35

CGC CGC GAC ATG CAG CGT GAA ATC CTG GCG GTG CTC GGG CTA CCG GGA         257
Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly
 40                  45                  50                  55

CGG CCC CGA CCC CGT GCA CAA CCC GCC GCT GCC CGG CAG CCA GCG TCC         305
Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser
                60                  65                  70

GCG CCC CTC TTC ATG TTG GAC CTA TAC CAC GCC ATG ACC GAT GAC GAC         353
Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Thr Asp Asp Asp
            75                  80                  85

GAC GGC GGG CCA CCA CAG GCT CAC TTA GGC CGT GCC GAC CTG GTC ATG         401
Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met
        90                  95                  100

AGC TTC GTC AAC ATG GTG GAA CGC GAC CGT ACC CTG GGC TAC CAG GAG         449
Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu
    105                 110                 115
```

```
CCA CAC TGG AAG GAA TTC CAC TTT GAC CTA ACC CAG ATC CCT GCT GGG        497
Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly
120                 125                 130                 135

GAG GCT GTC ACA GCT GCT GAG TTC CGG ATC TAC AAA GAA CCC AGC ACC        545
Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr
                140                 145                 150

CAC CCG CTC AAC ACA ACC CTC CAC ATC AGC ATG TTC GAA GTG GTC CAA        593
His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile Ser Met Phe Glu Val Val Gln
            155                 160                 165

GAG CAC TCC AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG ACG        641
Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr
        170                 175                 180

CTC CGA TCT GGG GAC GAG GGC TGG CTG GTG CTG GAC ATC ACA GCA GCC        689
Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala
    185                 190                 195

AGT GAC CGA TGG CTG CTG AAC CAT CAC AAG GAC CTG GGA CTC CGC CTC        737
Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu
200                 205                 210                 215

TAT GTG GAA ACC GCG GAT GGG CAC AGC ATG GAT CCT GGC CTG GCT GGT        785
Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly
                220                 225                 230

CTG CTT GGA CGA CAA GCA CCA CGC TCC AGA CAG CCT TTC ATG GTA ACC        833
Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser Arg Gln Pro Phe Met Val Thr
            235                 240                 245

TTC TTC AGG GCC AGC CAG AGT CCT GTG CGG GCC CCT CGG GCA GCG AGA        881
Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg
        250                 255                 260

CCA CTG AAG AGG AGG CAG CCA AAG AAA ACG AAC GAG CTT CCG CAC CCC        929
Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys Thr Asn Glu Leu Pro His Pro
    265                 270                 275

AAC AAA CTC CCA GGG ATC TTT GAT GAT GGC CAC GGT TCC CGC GGC AGA        977
Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser Arg Gly Arg
280                 285                 290                 295

GAG GTT TGC CGC AGG CAT GAG CTC TAC GTC AGC TTC CGT GAC CTT GGC       1025
Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly
                300                 305                 310

TGG CTG GAC TGG GTC ATC GCC CCC CAG GGC TAC TCT GCC TAT TAC TGT       1073
Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys
            315                 320                 325

GAG GGG GAG TGT GCT TTC CCA CTG GAC TCC TGT ATG AAC GCC ACC AAC       1121
Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn
        330                 335                 340
```

```
CAT GCC ATC TTG CAG TCT CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA GAT GTT GTC      1169
His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asp Val Val
    345                 350                 355

CCC AAG GCA TGC TGT GCA CCC ACC AAA CTG AGT GCC ACC TCT GTG CTG      1217
Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu
360                 365                 370                 375

TAC TAT GAC AGC AGC AAC AAT GTC ATC CTG CGT AAA CAC CGT AAC ATG      1265
Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His Arg Asn Met
                380                 385                 390

GTG GTC AAG GCC TGT GGC TGC CAC TGAGGCCCCG CCCAGCATCC TGCTTCTACT     1319
Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
            395

ACCTTACCAT CTGGCCGGGC CCCTCTCCAG AGGCAGAAAC CCTTCTATGT TATCATAGCT    1379

CAGACAGGGG CAATGGGAGG CCCTTCACTT CCCCTGGCCA CTTCCTGCTA AAATTCTGGT    1439

CTTTCCCAGT TCCTCTGTCC TTCATGGGGT TTCGGGGCTA TCACCCCGCC CTCTCCATCC    1499

TCCTACCCCA AGCATAGACT GAATGCACAC AGCATCCCAG AGCTATGCTA ACTGAGAGGT    1559

CTGGGGTCAG CACTGAAGGC CCACATGAGG AAGACTGATC CTTGGCCATC CTCAGCCCAC    1619

AATGGCAAAT TCTGGATGGT CTAAGAAGGC CCTGGAATTC TAAACTAGAT GATCTGGGCT    1679

CTCTGCACCA TTCATTGTGG CAGTTGGGAC ATTTTTAGGT ATAACAGACA CATACACTTA    1739

GATCAATGCA TCGCTGTACT CCTTGAAATC AGAGCTAGCT TGTTAGAAAA AGAATCAGAG    1799

CCAGGTATAG CGGTGCATGT CATTAATCCC AGCGCTAAAG AGACAGAGAC AGGAGAATCT    1859

CTGTGAGTTC AAGGCCACAT AGAAAGAGCC TGTCTCGGGA GCAGGAAAAA AAAAAAAAAC    1919

GGAATTC                                                             1926
```

（２）配列番号２３に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：３９９アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号２３：

Met Ala Met Arg Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys
1 5 10 15

Ala Leu Gly Gly Gly His Gly Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln
20 25 30

Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu
35 40 45

Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala
50 55 60

Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr
65 70 75 80

His Ala Met Thr Asp Asp Asp Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu
85 90 95

Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp
100 105 110

Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp
115 120 125

Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg
130 135 140

Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile
145 150 155 160

Ser Met Phe Glu Val Val Gln Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu
165 170 175

Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Trp Leu
180 185 190

Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His
195 200 205

Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser
210 215 220

Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser
225 230 235 240

Arg Gln Pro Phe Met Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val
245 250 255

Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys
260 265 270

Thr Asn Glu Leu Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp
275 280 285

Gly His Gly Ser Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr
290 295 300

Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln
305 310 315 320

```
Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp
                325                 330                 335

Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His
            340                 345                 350

Leu Met Lys Pro Asp Val Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys
        355                 360                 365

Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile
    370                 375                 380

Leu Arg Lys His Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
385                 390                 395
```

（２）配列番号２４に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１３６８塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：ｃＤＮＡ

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：ＣＤＳ

(B) 位置：１..１３６８

(xi) 配列：配列番号２４：

```
ATG TCG GGA CTG CGA AAC ACC TCG GAG GCC GTT GCA GTG CTC GCC TCC      48
Met Ser Gly Leu Arg Asn Thr Ser Glu Ala Val Ala Val Leu Ala Ser
  1               5                  10                  15

CTG GGA CTC GGA ATG GTT CTG CTC ATG TTC GTG GCG ACC ACG CCG CCG      96
Leu Gly Leu Gly Met Val Leu Leu Met Phe Val Ala Thr Thr Pro Pro
            20                  25                  30

GCC GTT GAG GCC ACC CAG TCG GGG ATT TAC ATA GAC AAC GGC AAG GAC     144
Ala Val Glu Ala Thr Gln Ser Gly Ile Tyr Ile Asp Asn Gly Lys Asp
        35                  40                  45

CAG ACG ATC ATG CAC AGA GTG CTG AGC GAG GAC GAC AAG CTG GAC GTC     192
Gln Thr Ile Met His Arg Val Leu Ser Glu Asp Asp Lys Leu Asp Val
    50                  55                  60

TCG TAC GAG ATC CTC GAG TTC CTG GGC ATC GCC GAA CGG CCG ACG CAC     240
Ser Tyr Glu Ile Leu Glu Phe Leu Gly Ile Ala Glu Arg Pro Thr His
65                  70                  75                  80

CTG AGC AGC CAC CAG TTG TCG CTG AGG AAG TCG GCT CCC AAG TTC CTG     288
Leu Ser Ser His Gln Leu Ser Leu Arg Lys Ser Ala Pro Lys Phe Leu
                85                  90                  95
```

```
CTG GAC GTC TAC CAC CGC ATC ACG GCG GAG GAG GGT CTC AGC GAT CAG        336
Leu Asp Val Tyr His Arg Ile Thr Ala Glu Glu Gly Leu Ser Asp Gln
            100                 105                 110

GAT GAG GAC GAC GAC TAC GAA CGC GGC CAT CGG TCC AGG AGG AGC GCC        384
Asp Glu Asp Asp Asp Tyr Glu Arg Gly His Arg Ser Arg Arg Ser Ala
        115                 120                 125

GAC CTC GAG GAG GAT GAG GGC GAG CAG CAG AAG AAC TTC ATC ACC GAC        432
Asp Leu Glu Glu Asp Glu Gly Glu Gln Gln Lys Asn Phe Ile Thr Asp
    130                 135                 140

CTG GAC AAG CGG GCC ATC GAC GAG AGC GAC ATC ATC ATG ACC TTC CTG        480
Leu Asp Lys Arg Ala Ile Asp Glu Ser Asp Ile Ile Met Thr Phe Leu
145                 150                 155                 160

AAC AAG CGC CAC CAC AAT GTG GAC GAA CTG CGT CAC GAG CAC GGC CGT        528
Asn Lys Arg His His Asn Val Asp Glu Leu Arg His Glu His Gly Arg
                165                 170                 175

CGC CTG TGG TTC GAC GTC TCC AAC GTG CCC AAC GAC AAC TAC CTG GTG        576
Arg Leu Trp Phe Asp Val Ser Asn Val Pro Asn Asp Asn Tyr Leu Val
            180                 185                 190

ATG GCC GAG CTG CGC ATC TAT CAG AAC GCC AAC GAG GGC AAG TGG CTG        624
Met Ala Glu Leu Arg Ile Tyr Gln Asn Ala Asn Glu Gly Lys Trp Leu
        195                 200                 205

ACC GCC AAC AGG GAG TTC ACC ATC ACG GTA TAC GCC ATT GGC ACC GGC        672
Thr Ala Asn Arg Glu Phe Thr Ile Thr Val Tyr Ala Ile Gly Thr Gly
    210                 215                 220

ACG CTG GGC CAG CAC ACC ATG GAG CCG CTG TCC TCG GTG AAC ACC ACC        720
Thr Leu Gly Gln His Thr Met Glu Pro Leu Ser Ser Val Asn Thr Thr
225                 230                 235                 240

GGG GAC TAC GTG GGC TGG TTG GAG CTC AAC GTG ACC GAG GGC CTG CAC        768
Gly Asp Tyr Val Gly Trp Leu Glu Leu Asn Val Thr Glu Gly Leu His
                245                 250                 255

GAG TGG CTG GTC AAG TCG AAG GAC AAT CAT GGC ATC TAC ATT GGA GCA        816
Glu Trp Leu Val Lys Ser Lys Asp Asn His Gly Ile Tyr Ile Gly Ala
            260                 265                 270

CAC GCT GTC AAC CGA CCC GAC CGC GAG GTG AAG CTG GAC GAC ATT GGA        864
His Ala Val Asn Arg Pro Asp Arg Glu Val Lys Leu Asp Asp Ile Gly
        275                 280                 285

CTG ATC CAC CGC AAG GTG GAC GAC GAG TTC CAG CCC TTC ATG ATC GGC        912
Leu Ile His Arg Lys Val Asp Asp Glu Phe Gln Pro Phe Met Ile Gly
    290                 295                 300

TTC TTC CGC GGA CCG GAG CTG ATC AAG GCG ACG GCC CAC AGC AGC CAC        960
Phe Phe Arg Gly Pro Glu Leu Ile Lys Ala Thr Ala His Ser Ser His
305                 310                 315                 320
```

```
CAC AGG AGC AAG CGA AGC GCC AGC CAT CCA CGC AAG CGC AAG AAG TCG      1008
His Arg Ser Lys Arg Ser Ala Ser His Pro Arg Lys Arg Lys Lys Ser
                325                 330                 335

GTG TCG CCC AAC AAC GTG CCG CTG CTG GAA CCG ATG GAG AGC ACG CGC      1056
Val Ser Pro Asn Asn Val Pro Leu Leu Glu Pro Met Glu Ser Thr Arg
            340                 345                 350

AGC TGC CAG ATG CAG ACC CTG TAC ATA GAC TTC AAG GAT CTG GGC TGG      1104
Ser Cys Gln Met Gln Thr Leu Tyr Ile Asp Phe Lys Asp Leu Gly Trp
        355                 360                 365

CAT GAC TGG ATC ATC GCA CCA GAG GGC TAT GGC GCC TTC TAC TGC AGC      1152
His Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Cys Ser
    370                 375                 380

GGC GAG TGC AAT TTC CCG CTC AAT GCG CAC ATG AAC GCC ACG AAC CAT      1200
Gly Glu Cys Asn Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His
385                 390                 395                 400

GCG ATC GTC CAG ACC CTG GTC CAC CTG CTG GAG CCC AAG AAG GTG CCC      1248
Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Leu Glu Pro Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

AAG CCC TGC TGC GCT CCG ACC AGG CTG GGA GCA CTA CCC GTT CTG TAC      1296
Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Arg Leu Gly Ala Leu Pro Val Leu Tyr
            420                 425                 430

CAC CTG AAC GAC GAG AAT GTG AAC CTG AAA AAG TAT AGA AAC ATG ATT      1344
His Leu Asn Asp Glu Asn Val Asn Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Ile
        435                 440                 445

GTG AAA TCC TGC GGG TGC CAT TGA                                     1368
Val Lys Ser Cys Gly Cys His
    450                 455
```

（２）配列番号２５に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：４５５アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号２５：

```
Met Ser Gly Leu Arg Asn Thr Ser Glu Ala Val Ala Val Leu Ala Ser
 1               5                  10                  15

Leu Gly Leu Gly Met Val Leu Leu Met Phe Val Ala Thr Thr Pro Pro
            20                  25                  30

Ala Val Glu Ala Thr Gln Ser Gly Ile Tyr Ile Asp Asn Gly Lys Asp
        35                  40                  45

Gln Thr Ile Met His Arg Val Leu Ser Glu Asp Asp Lys Leu Asp Val
    50                  55                  60

Ser Tyr Glu Ile Leu Glu Phe Leu Gly Ile Ala Glu Arg Pro Thr His
65                  70                  75                  80

Leu Ser Ser His Gln Leu Ser Leu Arg Lys Ser Ala Pro Lys Phe Leu
                85                  90                  95

Leu Asp Val Tyr His Arg Ile Thr Ala Glu Glu Gly Leu Ser Asp Gln
            100                 105                 110

Asp Glu Asp Asp Asp Tyr Glu Arg Gly His Arg Ser Arg Arg Ser Ala
        115                 120                 125

Asp Leu Glu Glu Asp Glu Gly Glu Gln Gln Lys Asn Phe Ile Thr Asp
    130                 135                 140

Leu Asp Lys Arg Ala Ile Asp Glu Ser Asp Ile Ile Met Thr Phe Leu
145                 150                 155                 160

Asn Lys Arg His His Asn Val Asp Glu Leu Arg His Glu His Gly Arg
                165                 170                 175

Arg Leu Trp Phe Asp Val Ser Asn Val Pro Asn Asp Asn Tyr Leu Val
            180                 185                 190

Met Ala Glu Leu Arg Ile Tyr Gln Asn Ala Asn Glu Gly Lys Trp Leu
        195                 200                 205

Thr Ala Asn Arg Glu Phe Thr Ile Thr Val Tyr Ala Ile Gly Thr Gly
    210                 215                 220

Thr Leu Gly Gln His Thr Met Glu Pro Leu Ser Ser Val Asn Thr Thr
225                 230                 235                 240

Gly Asp Tyr Val Gly Trp Leu Glu Leu Asn Val Thr Glu Gly Leu His
                245                 250                 255

Glu Trp Leu Val Lys Ser Lys Asp Asn His Gly Ile Tyr Ile Gly Ala
            260                 265                 270

His Ala Val Asn Arg Pro Asp Arg Glu Val Lys Leu Asp Asp Ile Gly
        275                 280                 285

Leu Ile His Arg Lys Val Asp Asp Glu Phe Gln Pro Phe Met Ile Gly
    290                 295                 300

Phe Phe Arg Gly Pro Glu Leu Ile Lys Ala Thr Ala His Ser Ser His
305                 310                 315                 320

His Arg Ser Lys Arg Ser Ala Ser His Pro Arg Lys Arg Lys Lys Ser
                325                 330                 335
```

Val Ser Pro Asn Asn Val Pro Leu Leu Glu Pro Met Glu Ser Thr Arg
340 345 350

Ser Cys Gln Met Gln Thr Leu Tyr Ile Asp Phe Lys Asp Leu Gly Trp
355 360 365

His Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Cys Ser
370 375 380

Gly Glu Cys Asn Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His
385 390 395 400

Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Leu Glu Pro Lys Lys Val Pro
405 410 415

Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Arg Leu Gly Ala Leu Pro Val Leu Tyr
420 425 430

His Leu Asn Asp Glu Asn Val Asn Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Ile
435 440 445

Val Lys Ser Cys Gly Cys His
450 455

（２）配列番号２６に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１０４アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(iv) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１０４

(D) その他の情報：／付記＝”ＢＭＰ３”

(xi) 配列：配列番号２６：

Cys Ala Arg Arg Tyr Leu Lys Val Asp Phe Ala Asp Ile Gly Trp Ser
1 5 10 15

Glu Trp Ile Ile Ser Pro Lys Ser Phe Asp Ala Tyr Tyr Cys Ser Gly
20 25 30

Ala Cys Gln Phe Pro Met Pro Lys Ser Leu Lys Pro Ser Asn His Ala
35 40 45

Thr Ile Gln Ser Ile Val Ala Arg Ala Val Gly Val Val Pro Gly Ile
50 55 60

Pro Glu Pro Cys Cys Val Pro Glu Lys Met Ser Ser Leu Ser Ile Leu
65 70 75 80

Phe Phe Asp Glu Asn Lys Asn Val Val Leu Lys Val Tyr Pro Asn Met
85 90 95

Thr Val Glu Ser Cys Ala Cys Arg
100

（２）配列番号２７に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：１０２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：タンパク質
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..１０２
(D) その他の情報：／付記＝”ＢＭＰ５”
(xi) 配列：配列番号２７：

```
Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln
1               5                  10                  15

Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Phe Tyr Cys Asp Gly
            20                  25                  30

Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
        35                  40                  45

Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Phe Pro Asp His Val Pro Lys
    50                  55                  60

Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65                  70                  75                  80

Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
                85                  90                  95

Arg Ser Cys Gly Cys His
            100
```

（２）配列番号２８に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１０２アミノ酸
(B) 型：アミノ酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(vii) 分子の種類：タンパク質
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：タンパク質
(B) 位置：１..１０２
(D) その他の情報：／機能＝”ＢＭＰ６”
(xi) 配列：配列番号２８：

Cys Arg Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Gln
1 5 10 15

Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
20 25 30

Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35 40 45

Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
50 55 60

Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65 70 75 80

Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Trp Met Val Val
85 90 95

Arg Ala Cys Gly Cys His
100

（２）配列番号２９に関する情報：

（ｉ）配列の特徴

(A) 長さ：１０２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：タンパク質

(B) 位置：１..１０２

(D) その他の情報：／ラベル＝ＯＰＸ

付記／各ＸＡＡは独立的に、明細書に定義された（セクションII.B.）１つ以上の特定のアミノ酸群から選択される。

(xi) 配列：配列番号２９：

Cys Xaa Xaa His Glu Leu Tyr Val Xaa Phe Xaa Asp Leu Gly Trp Xaa
1 5 10 15

Asp Trp Xaa Ile Ala Pro Xaa Gly Tyr Xaa Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly
20 25 30

Glu Cys Xaa Phe Pro Leu Xaa Ser Xaa Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35 40 45

Ile Xaa Gln Xaa Leu Val His Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Val Pro Lys
50 55 60

Xaa Cys Cys Ala Pro Thr Xaa Leu Xaa Ala Xaa Ser Val Leu Tyr Xaa
65 70 75 80

Asp Xaa Ser Xaa Asn Val Xaa Leu Xaa Lys Xaa Arg Asn Met Val Val
85 90 95

Xaa Ala Cys Gly Cys His
100

（２）配列番号３０に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：９７アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：１本鎖

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..９７
（D）その他の情報：／ラベル＝一般配列５
付記／各ＸAAは独立的に、明細書に定義された１つ以上の特定のアミノ酸群から選択される。
（xi）配列：配列番号３０：

Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Pro
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Pro
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75 80

Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa Xaa Cys Xaa Cys
85 90 95

Xaa

（２）配列番号３１に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
（A）長さ：１０２アミノ酸
（B）型：アミノ酸
（C）鎖の数：１本鎖
（D）トポロジー：線形
（ii）分子の種類：タンパク質
（ix）特徴：
（A）名称／キー：タンパク質
（B）位置：１..１０２
（D）その他の情報：／ラベル＝一般配列６
付記／各ＸAAは独立的に、明細書に定義された１つ以上の特定のアミノ酸群から選択される。
（xi）配列：配列番号３１：

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa
1 5 10 15

Xaa Trp Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly
20 25 30

Xaa Cys Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Cys Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val
85 90 95

Xaa Xaa Cys Xaa Cys Xaa
100

（２）配列番号３２に関する情報：
（ｉ）配列の特徴：
(A) 長さ：１２４７塩基対
(B) 型：核酸
(C) 鎖の数：１本鎖
(D) トポロジー：線形
(ii) 分子の種類：ｃＤＮＡ
(vi) 由来：
(A) 生物：ホモサピエンス（ヒト）
(F) 組織の種類：脳
(ix) 特徴：
(A) 名称／キー：ＣＤＳ
(B) 位置：８４..１１９９
(D) その他の情報：／生産物＝”ＧＤＦ－１”
付記／”ＧＤＦ－１　ＣＤＮＡ”
(xi) 配列：配列番号３２：

```
GGGGACACCG GCCCCGCCCT CAGCCCACTG GTCCCGGGCC GCCGCGGACC CTGCGCACTC      60

TCTGGTCATC GCCTGGGAGG AAG ATG CCA CCG CCG CAG CAA GGT CCC TGC          110
                          Met Pro Pro Pro Gln Gln Gly Pro Cys
                            1               5

GGC CAC CAC CTC CTC CTC CTC CTG GCC CTG CTG CTG CCC TCG CTG CCC        158
Gly His His Leu Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Leu Pro Ser Leu Pro
 10                  15                  20                  25

CTG ACC CGC GCC CCC GTG CCC CCA GGC CCA GCC GCC GCC CTG CTC CAG        206
Leu Thr Arg Ala Pro Val Pro Pro Gly Pro Ala Ala Ala Leu Leu Gln
                 30                  35                  40

GCT CTA GGA CTG CGC GAT GAG CCC CAG GGT GCC CCC AGG CTC CGG CCG        254
Ala Leu Gly Leu Arg Asp Glu Pro Gln Gly Ala Pro Arg Leu Arg Pro
             45                  50                  55

GTT CCC CCG GTC ATG TGG CGC CTG TTT CGA CGC CGG GAC CCC CAG GAG        302
Val Pro Pro Val Met Trp Arg Leu Phe Arg Arg Arg Asp Pro Gln Glu
         60                  65                  70

ACC AGG TCT GGC TCG CGG CGG ACG TCC CCA GGG GTC ACC CTG CAA CCG        350
Thr Arg Ser Gly Ser Arg Arg Thr Ser Pro Gly Val Thr Leu Gln Pro
     75                  80                  85
```

```
TGC CAC GTG GAG GAG CTG GGG GTC GCC GGA AAC ATC GTG CGC CAC ATC      398
Cys His Val Glu Glu Leu Gly Val Ala Gly Asn Ile Val Arg His Ile
 90                  95                  100                 105

CCG GAC CGC GGT GCG CCC ACC CGG GCC TCG GAG CCT GTC TCG GCC GCG      446
Pro Asp Arg Gly Ala Pro Thr Arg Ala Ser Glu Pro Val Ser Ala Ala
                110                 115                 120

GGG CAT TGC CCT GAG TGG ACA GTC GTC TTC GAC CTG TCG GCT GTG GAA      494
Gly His Cys Pro Glu Trp Thr Val Val Phe Asp Leu Ser Ala Val Glu
            125                 130                 135

CCC GCT GAG CGC CCG AGC CGG GCC CGC CTG GAG CTG CGT TTC GCG GCG      542
Pro Ala Glu Arg Pro Ser Arg Ala Arg Leu Glu Leu Arg Phe Ala Ala
        140                 145                 150

GCG GCG GCG GCA GCC CCG GAG GGC GGC TGG GAG CTG AGC GTG GCG CAA      590
Ala Ala Ala Ala Ala Pro Glu Gly Gly Trp Glu Leu Ser Val Ala Gln
    155                 160                 165

GCG GGC CAG GGC GCG GGC GCG GAC CCC GGG CCG GTG CTG CTC CGC CAG      638
Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Asp Pro Gly Pro Val Leu Leu Arg Gln
170                 175                 180                 185

TTG GTG CCC GCC CTG GGG CCG CCA GTG CGC GCG GAG CTG CTG GGC GCC      686
Leu Val Pro Ala Leu Gly Pro Pro Val Arg Ala Glu Leu Leu Gly Ala
                190                 195                 200

GCT TGG GCT CGC AAC GCC TCA TGG CCG CGC AGC CTC CGC CTG GCG CTG      734
Ala Trp Ala Arg Asn Ala Ser Trp Pro Arg Ser Leu Arg Leu Ala Leu
            205                 210                 215

GCG CTA CGC CCC CGG GCC CCT GCC GCC TGC GCG CGC CTG GCC GAG GCC      782
Ala Leu Arg Pro Arg Ala Pro Ala Ala Cys Ala Arg Leu Ala Glu Ala
        220                 225                 230

TCG CTG CTG CTG GTG ACC CTC GAC CCG CGC CTG TGC CAC CCC CTG GCC      830
Ser Leu Leu Leu Val Thr Leu Asp Pro Arg Leu Cys His Pro Leu Ala
    235                 240                 245

CGG CCG CGG CGC GAC GCC GAA CCC GTG TTG GGC GGC GGC CCC GGG GGC      878
Arg Pro Arg Arg Asp Ala Glu Pro Val Leu Gly Gly Gly Pro Gly Gly
250                 255                 260                 265

GCT TGT CGC GCG CGG CGG CTG TAC GTG AGC TTC CGC GAG GTG GGC TGG      926
Ala Cys Arg Ala Arg Arg Leu Tyr Val Ser Phe Arg Glu Val Gly Trp
                270                 275                 280

CAC CGC TGG GTC ATC GCG CCG CGC GGC TTC CTG GCC AAC TAC TGC CAG      974
His Arg Trp Val Ile Ala Pro Arg Gly Phe Leu Ala Asn Tyr Cys Gln
            285                 290                 295

GGT CAG TGC GCG CTG CCC GTC GCG CTG TCG GGG TCC GGG GGG CCG CCG     1022
Gly Gln Cys Ala Leu Pro Val Ala Leu Ser Gly Ser Gly Gly Pro Pro
        300                 305                 310
```

```
GCG CTC AAC CAC GCT GTG CTG CGC GCG CTC ATG CAC GCG GCC GCC CCG      1070
Ala Leu Asn His Ala Val Leu Arg Ala Leu Met His Ala Ala Ala Pro
    315                 320                 325

GGA GCC GCC GAC CTG CCC TGC TGC GTG CCC GCG CGC CTG TCG CCC ATC      1118
Gly Ala Ala Asp Leu Pro Cys Cys Val Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile
330                 335                 340                 345

TCC GTG CTC TTC TTT GAC AAC AGC GAC AAC GTG GTG CTG CGG CAG TAT      1166
Ser Val Leu Phe Phe Asp Asn Ser Asp Asn Val Val Leu Arg Gln Tyr
                350                 355                 360

GAG GAC ATG GTG GTG GAC GAG TGC GGC TGC CGC TAACCCGGGG CGGGCAGGGA     1219
Glu Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Arg
            365                 370

CCCGGGCCCA ACAATAAATG CCGCGTGG                                       1247
```

（２）配列番号３３に関する情報：

（ｉ）配列の特徴：

(A) 長さ：３７２アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：線形

(ii) 分子の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号３３：

```
Met Pro Pro Pro Gln Gln Gly Pro Cys Gly His His Leu Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15

Leu Ala Leu Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Thr Arg Ala Pro Val Pro
            20                  25                  30

Pro Gly Pro Ala Ala Ala Leu Leu Gln Ala Leu Gly Leu Arg Asp Glu
        35                  40                  45

Pro Gln Gly Ala Pro Arg Leu Arg Pro Val Pro Pro Val Met Trp Arg
    50                  55                  60

Leu Phe Arg Arg Arg Asp Pro Gln Glu Thr Arg Ser Gly Ser Arg Arg
65                  70                  75                  80

Thr Ser Pro Gly Val Thr Leu Gln Pro Cys His Val Glu Glu Leu Gly
                85                  90                  95

Val Ala Gly Asn Ile Val Arg His Ile Pro Asp Arg Gly Ala Pro Thr
            100                 105                 110

Arg Ala Ser Glu Pro Val Ser Ala Ala Gly His Cys Pro Glu Trp Thr
        115                 120                 125
```

Val Val Phe Asp Leu Ser Ala Val Glu Pro Ala Glu Arg Pro Ser Arg
130 135 140

Ala Arg Leu Glu Leu Arg Phe Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Pro Glu
145 150 155 160

Gly Gly Trp Glu Leu Ser Val Ala Gln Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
165 170 175

Asp Pro Gly Pro Val Leu Leu Arg Gln Leu Val Pro Ala Leu Gly Pro
180 185 190

Pro Val Arg Ala Glu Leu Leu Gly Ala Ala Trp Ala Arg Asn Ala Ser
195 200 205

Trp Pro Arg Ser Leu Arg Leu Ala Leu Ala Leu Arg Pro Arg Ala Pro
210 215 220

Ala Ala Cys Ala Arg Leu Ala Glu Ala Ser Leu Leu Leu Val Thr Leu
225 230 235 240

Asp Pro Arg Leu Cys His Pro Leu Ala Arg Pro Arg Arg Asp Ala Glu
245 250 255

Pro Val Leu Gly Gly Gly Pro Gly Gly Ala Cys Arg Ala Arg Arg Leu
260 265 270

Tyr Val Ser Phe Arg Glu Val Gly Trp His Arg Trp Val Ile Ala Pro
275 280 285

Arg Gly Phe Leu Ala Asn Tyr Cys Gln Gly Gln Cys Ala Leu Pro Val
290 295 300

Ala Leu Ser Gly Ser Gly Gly Pro Pro Ala Leu Asn His Ala Val Leu
305 310 315 320

Arg Ala Leu Met His Ala Ala Ala Pro Gly Ala Ala Asp Leu Pro Cys
325 330 335

Cys Val Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile Ser Val Leu Phe Phe Asp Asn
340 345 350

Ser Asp Asn Val Val Leu Arg Gln Tyr Glu Asp Met Val Val Asp Glu
355 360 365

Cys Gly Cys Arg
370

【図１】

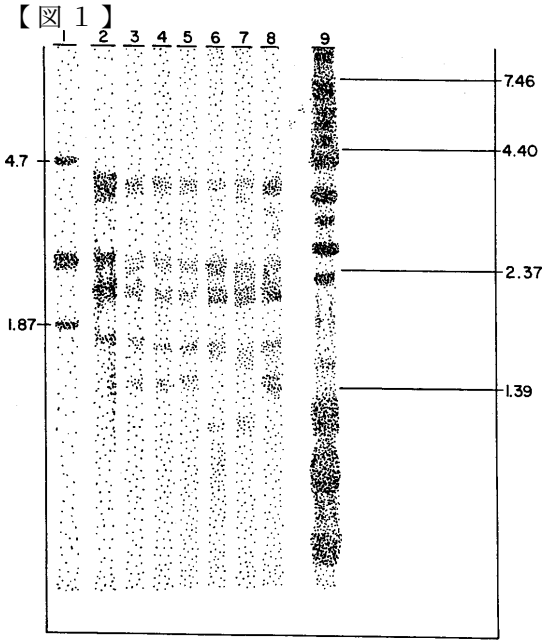


Fig. 1

【図２】



Fig. 2

【図３】

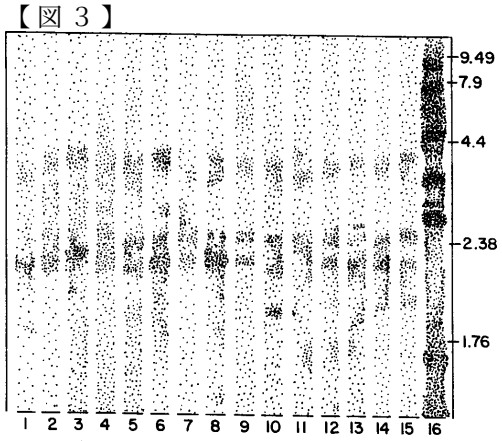


Fig. 3

【図４】

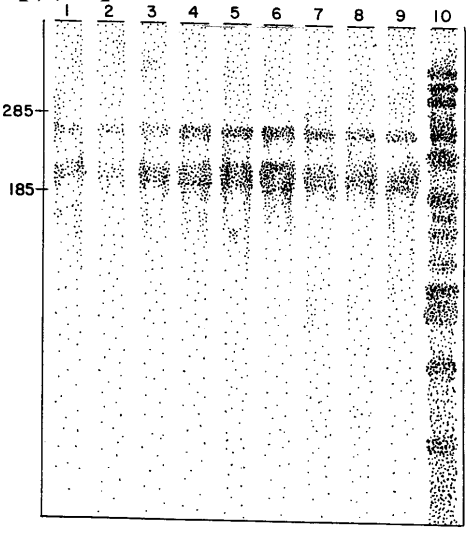


Fig. 4

【図５Ａ】

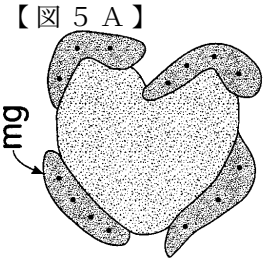


Fig. 5A

【図５Ｂ】

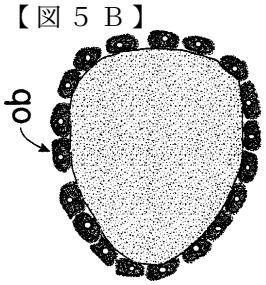


Fig. 5B

【図６Ａ】

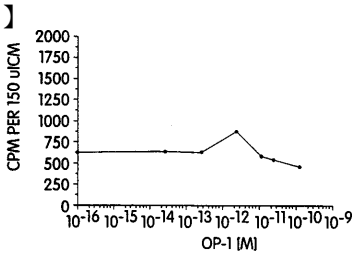


Fig. 6A

【図６Ｂ】

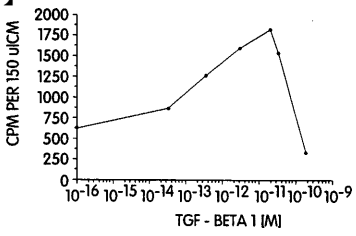


Fig. 6B

【図６Ｃ】

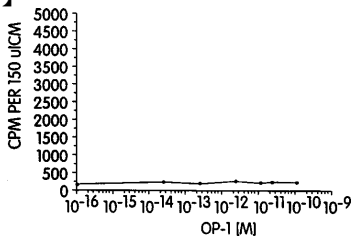


Fig. 6C

【図６Ｄ】

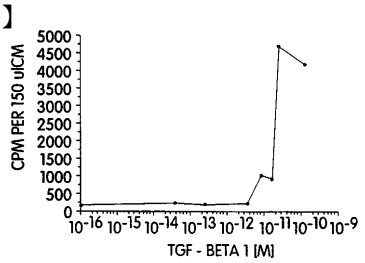


Fig. 6D

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 040,510
(32)優先日 平成5年3月31日(1993.3.31)
(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 オパーマン，ハーマン
アメリカ合衆国 ０２０５３ マサチューセッツ，メドウェイ，サマー ヒル ロード ２５
(72)発明者 パング，ロイ エッチ．エル．
アメリカ合衆国 ０３７５０ ニュー ハンプシャー，エトナ，パートリッジ ロード １５
(72)発明者 コーエン，チャールズ エム．
アメリカ合衆国 ０２０５３ マサチューセッツ，メドウェイ，ウインスロプ ストリート ９８
(72)発明者 オズカイナック，エンジン
アメリカ合衆国 ０１７５７ マサチューセッツ，ミルフォード，パーデュー ドライブ ４４
(72)発明者 スマート，ジョン イー．
アメリカ合衆国 ０２１９３ マサチューセッツ，ウエストン，メドウ ブルック ロード ５０

審査官 小堀 麻子

(56)参考文献 特表平６－５０６３６０（ＪＰ，Ａ）
特表平３－５０２５７９（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 38/00 - 38/58
CA(STN)
REGISTRY(STN)