(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第4344012号
(P4344012)
(45)発行日　平成21年10月14日(2009.10.14)　(24)登録日　平成21年7月17日(2009.7.17)

(51)Int.Cl.　　F I
A61K 38/00 (2006.01)　　A61K 37/02
A61P 25/00 (2006.01)　　A61P 25/00

請求項の数 8　(全 94 頁)

(21)出願番号　特願平6-505485
(86)(22)出願日　平成5年7月29日(1993.7.29)
(65)公表番号　特表平7-509721
(43)公表日　平成7年10月26日(1995.10.26)
(86)国際出願番号　PCT/US1993/007231
(87)国際公開番号　WO1994/003200
(87)国際公開日　平成6年2月17日(1994.2.17)
審査請求日　平成12年7月28日(2000.7.28)
審判番号　不服2007-12813(P2007-12813/J1)
審判請求日　平成19年5月7日(2007.5.7)
(31)優先権主張番号　922,813
(32)優先日　平成4年7月31日(1992.7.31)
(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　507025881
ストライカー・コーポレーション
アメリカ合衆国ミシガン州４９００２，カラマズー，エアビュー・ブールヴァード・２８２５
(74)代理人　100090941
弁理士　藤野　清也
(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
(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
最終頁に続く

(54)【発明の名称】組織形成因子誘導による神経の再生と修復

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ｉ）哺乳動物の末梢神経系の神経経路を維持する；又は（ｉｉ）神経由来の形質転換細胞の再分化を誘導するための組成物であって、
前期組成物はOP-1を含有し、かつ、
前記OP-1は、前記細胞中でN-CAM異性体又はL1異性体の生成を刺激する二量体蛋白質からなる、前記組成物。
【請求項２】
前記組成物が、インビボで、ある部位に蛋白質を保持するために適した生体適合性があり、インビボでの生体吸収性があるキャリアーを更に含み、及び、
（ａ）該キャリアーが、軸索成長の方向性を補助するために構造的に満足できるものであり；及び/又は、
（ｂ）該キャリアーが、ポリマー物質、ラミニン、コラーゲン、又は脳組織由来細胞外マトリックスを含む、請求項1に記載の組成物。
【請求項３】
前記組成物が、更に塩基性アミノ酸、洗浄剤、又はキャリアー蛋白質を含む、請求項1又は2に記載の組成物。
【請求項４】
前記組成物が、インビボで神経細胞による分化した神経の表現型の発現を回復又は維持するために充分な量のOP-1を含有し、

（a）該形質転換細胞が、神経芽腫、神経膠芽腫、網膜芽腫又は神経膠腫細胞を含む形質転換された細胞であり、及び前記組成物が、正常で健康な細胞に特徴的である表現型を回復させるためのものであり、ただし該表現型が、軸索の成長、細胞凝集、及び／又は細胞接着を含む；
（b）該表現型が、N-CAM異性体、L1異性体、又は任意の細胞接着分子の1又は複数の表現を含む；
（c）該末梢神経系の神経経路の神経細胞が、細胞性毒物への曝露による化学的損傷、及び神経の切断をもたらす機械的損傷を含む任意の原因によりダメージを受けている；又は
（d）該末梢神経系の神経経路の神経細胞が、腫瘍性病巣の存在に伴う圧迫又は炎症による損傷の危険にある、請求項1に記載の組成物。

【請求項５】
前記細胞が、ニューロン又はグリアであり、かつ
（a）末梢神経系の一部分である、請求項4に記載の組成物。

【請求項６】
前記組成物が、末梢神経系の神経経路の維持のために充分な条件下に投与され、
（a）損傷した末梢神経系の神経経路の細胞修復を刺激する；
（b）損傷を招く危機にある末梢神経系の神経経路を維持する；又は
（c）前記経路を脱ミエリン化から防ぐ、
請求項1～5のいずれかに記載の組成物。

【請求項７】
末梢神経系の神経経路の切断を修復するための器具の製造方法であって、
（i）該器具はOP-1を含み、
（ii）該器具は、外部表面及び内部表面を含む生体内適合性の管状ケーシングを含み、該内部表面は、神経突起が再生できる通路を形成し、該器具は、末梢神経系の神経経路の切断を覆うために充分な形と寸法を有し、かつ切断された神経末端を受け入れるために適する開口部を有するものであり、かつ、
（iii）該OP-1は、前記通路に配置され、当該OP-1に曝された神経細胞中でN-CAM異性体又はL1異性体の生成を刺激する二量体蛋白質からなる、前記製造方法。

【請求項８】
外部表面及び内部表面を含む生体内適合性の管状ケーシングを含む末梢神経系の神経経路の切断を修復するための器具であって、
該内部表面は、神経突起が再生できる通路を形成し、
該ケーシングは所望により実質的に不浸透性であり、
該器具は、末梢神経系の神経経路の切断を覆うために充分な形と寸法を有し、かつ切断された神経末端を受け入れるために適する開口部を有するものであり、
該器具は、該通路内に配置された組成物をさらに含み、
該組成物は、OP-1を含み、
該OP-1は、OP-1に曝された細胞中においてN-CAM異性体又はL1異性体の生成を刺激する二量体蛋白質からなる、前記器具。

【発明の詳細な説明】
発明の背景
本発明は、インビボで神経細胞の生存性を増強する方法、及びインビボで神経回路を維持するための方法、組成物と器具に関する。特に、本発明は、瀕死の細胞の生存性を促進させる方法であって、神経の母細胞を形質転換させて再分化させるための方法を包含する方法、および分化した神経細胞に形質発現を維持させるための方法を提供する。さらにまた、本発明は、傷害を受けた神経回路を修復するための手段を提供する。この手段には長い距離にわたる軸索の成長を促進するための方法を含んでおり、さらに免疫学的に関連している神経組織傷害を軽減するための方法を提供するものである。本発明の代表的な実施態様としては、細胞中の細胞接着性分子の発現であって、特に、神経細胞中の神経細胞接着性分子の発現を促進する方法を提供するものである。最終的には、本発明は神経組織の鬱

血状態を評価し、哺乳動物における神経系の機能不全を評価するための手段を提供するものである。

哺乳動物の神経系は、末梢神経系（PNS）および中枢神経系（CNS、脳および脊髄からなる）からなっており、二種類の代表的な細胞から構成されている。これはニューロンとグリア細胞である。グリア細胞はニューロンの間を満たしており、それを保護し、その機能を調節している。PNS中のシュワン細胞とCNS中の寡突起神経膠細胞のような、ある種のグリア細胞は、神経軸索を取り巻き、保護している保護性ミエリン鞘を形成する。神経軸索は、ニューロン細胞本体から延びて、ニューロンの電気的なインパルスを伝達してゆく突起である。末梢神経系では、複数のニューロンの長軸索が束になって、神経または神経繊維を形成している。次にこれらが何本か組みあわさって、神経束になる。ここにおいて神経繊維は、神経内の血管補充と一緒になって、保護性の複層式鞘を結合させたゆるやかなコラーゲンマトリックス中に埋め込まれた状態の神経束を形成している。中枢神経系では、ニューロン細胞本体は、これらのミエリン鞘化された突起とは視覚的に見分けがつく。そして夫々灰色と白の物質として言及されている。

成長中には、中枢神経系と末梢神経系からの分化したニューロンは、軸索を発生させる。この軸索は成長し、目的の標的細胞に接続する。ある場合には、成長した軸索は、相当な距離までとどく必要がある。あるものは、末梢にまで成長してゆくのに対して他のものは中枢神経系中にとどまる。哺乳動物において、神経発生の段階は、胎芽期間に完成し、神経細胞は、一旦十分に分化すると増殖することはない。

従って、例えばニューロンが機械的あるいは化学的損傷をうけた場合、さらにはまた回路を形成するニューロンを死の危険にさらすに十分な神経病変が起こった場合は、哺乳動物の神経系は、特別に危険な状態になる。ある亜集団または末梢或いは中枢神経系において神経の系統のみに影響を与えるような多くの神経病変（ニューロパシー）が、今日までに認識されている。神経細胞それ自身またはそれに付随するグリア細胞が影響を受けているニューロパシーは、細胞代謝機能不全、感染、毒性物質に対する露出、自己免疫性機能不全、栄養不全あるいは虚血などの原因によって起こる。それ以外にも、細胞の機能不全が直接的な細胞死を誘発することがあると考えられている。その他の場合として、ニューロパシーは、生体の免疫／炎症系を促進することで完全な組織壊死を引き起こすと考えられている。さらに最初の神経性障害に対する免疫応答メカニズムが、ニューロンおよびこれらのニューロンによって特定されている神経伝達系を破壊する。

現在、これらのニューロパシーによって引き起こされた下記の損傷を修復するための、満足すべき方法は存在していない。この損傷としては多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチントン舞踏病、アルツハイマー病、パーキンソン病（パーキンソン症）および肝性脳症のような代謝由来疾患などがある。近年、激しい外傷性病変あるいは脳及び/または脊髄の神経変性病変を阻止することを目的とする、欠失したり、欠損のあるニューロンを機能的に他のものと換えるか、またはそのようなニューロンを補償するような試みにおいて、胎児ニューロンの移植が今日迄では第一義的なものとなっている。しかし、ヒト胎児細胞の移植研究は厳しく制限されている。さらにまた神経成長因子およびインシュリンライクグロースファクターのような神経栄養因子を投与することによってCNS内の神経成長を促進させることが提案されている（Lundborg,1987,Acta Orthop. Scand. 58:145-169および米国特許第5,093,317号等を参照）。CNSに神経栄養因子を投与するには、脳－血液バリアーを通過させる必要がある。バリアーは、直接注入によって、又は化学的な変性や抱合のような、バリアー通過を促進するために分子を変性することによって、又は分子トランケーションによって通過させることができる。さらにシュワン細胞が、損傷をうけた神経突起の成長を促進し、維持することを目的にCNS病変部位に移植されている。（Paino et al.,1991,Exp.Neurology,114（2）:254-257）。

神経経路障害は、CNSの軸索の障害によりおこるものの場合、自己末梢神経の移植が、中枢神経系の病巣をつなぎ合わせ、その正常なターゲット領域に軸索を戻させている。CNSニューロンとは対照的に、末梢神経系ニューロンは、軸索性の障害に反応して新しい末梢突起を伸長させることができる。末梢神経系軸索のこの再生機能があることは、CNS軸索

に対する脊髄分節の移植を可能にするものと予想される。しかしながら、好ましい移植は、細胞本体に近接して得られる満足すべき移植に関係した複数の因子によって制限されている。この制限因子としては、バイパスを形成させるべきCNSの軸索障害の長さ、CNS神経性細胞本体から移植部位への距離がある。

末梢神経系においては、ニューロンの細胞再生機能は、ダメージを受けた神経回路に対して機能修復する能力に限定されている。特に、新しい軸索は、ランダムに伸長し、しばしば方向を誤まり、そして異常な機能を引き起こすような不適切なターゲットに接続することがある。たとえば、自律神経が障害を受けた場合、再生した軸索は、麻痺をもたらす誤った筋肉に接続する場合がある。さらに切断された神経突起が、数ミリメーター以上、例えば10mm以上の長さののギャップを形成する場合、好ましい神経再生とはならず、神経突起が必要な長さに伸長しないか、方向違いの軸索の伸長となる場合がある。外科的な手法によって末梢神経の障害を修復する試みは、特に障害が広い範囲にわたる場合には色々な結果が生じる。場合によっては、切断された神経末端の適切な配列を得るために行われる縫合操作は、軸索の再生を阻害すると考えられる傷痕組織の形成を促進する。たとえ傷痕の組織形成が元に戻ったしても、神経案内通路あるいはそれ以外の管状プロテーゼを用いる場合、再生がうまくゆくのは一般的に、10mm以下の長さの神経損傷に限られている。さらに、末梢ニューロンの修復能力は、障害やニューロパシーが細胞本体自身に影響を与えるか、あるいはまた末端軸索の拡大性変性をもたらす場合には極端に抑制されてしまう。さらにまた、哺乳動物の神経回路は腫瘍性の病巣によって引き起こされる障害によってもリスクにさらされる。ニューロンとグリア細胞両方の異常増殖が確認されている。一般的には、神経由来の形質転換細胞は、正常な分化した細胞のしめす機能を喪失しており、そしてその機能喪失によって神経回路を破壊する。さらに腫瘍の増殖は、正常な神経組織を破壊し、神経を圧迫して経路の阻害を行い、脳脊髄液や血液の通過を阻害し、および/または生体の免疫反応を促進することによって、病巣を発生させる。さらにまた、脳および脊髄内の腫瘍性病巣の重要な原因である転移性の腫瘍は、神経回路に障害を与え、神経細胞の死を引き起こす。

神経細胞の成長、分化および発達に関連のある形態形成正常化分子の一つのタイプは細胞接着性分子（CAM）であり、特に特徴的なものとして神経細胞接着性分子（N-CAM）である。CAMは免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、特異的な結合即ち並んでいる細胞同士のCAM-CAM結合を通じて、発達中のそして成熟した組織内での細胞と細胞のインターラクションを媒介している。現在までに多くの異なったCAMが特定された。これらの内で、もっとも徹底して研究されたものはN-CAMとL-CAM（肝臓細胞接着分子）であり、いずれも様々な成熟した組織におけると同様に、発達の初期段階における全ての細胞から同定された。神経組織の発達において、N-CAMの発現は、組織形成、神経の遊走、神経-筋肉組織接着、網膜形成、シナプス形成そして神経変性等において重要であると考えられている。さらにまた、N-CAMの発現の低下は神経機能不全と係わっていることが予想されている。例えば、少なくとも1つのN-CAM、N-CAM-180型の発現は、ミエリン形成不全マウスで低下している（Bhat,1988,Brain Res.,452:373-377）。またN-CAMのレベルの低下は正常な圧力の水頭症と関連付けられており（Werdelin,1989,Acta Neurol. Scand.,79:177-181）、タイプII精神分裂病についても同様である（Lyons et al.,1988,Biol. Psychiatry,23:769-775）。さらに、N-CAMに対する抗体は、障害を受けた神経の機能回復を妨げることが確認された（Remsen,1990,Exp.Neurobiol.110:268-273）。

本発明の目的の一つは、哺乳動物において死のリスクを持つニューロンの生存性を増強するための方法を提供することである。さらに別の目的は、物理的化学的外傷、ニューロパシーまたは腫瘍性病巣等による神経組織の損傷又はそれに続くダメージの危険にさらされている神経回路をインビボで維持するための方法を提供することにある。さらに別の目的は、末梢神経系の神経回路のギャップを修復するための組成物または器具を提供することにある。さらにその他の目的としては、神経回路を特徴付けている形質転換細胞であって特に神経由来の形質転換細胞を再分化させるための手段を提供することである。別の目的は細胞におけるCAMの発現であって、特にN-CAMの発現を促進するための方法を提供すると

ころにある。さらにまた別の目的は神経組織、血清及び/または脳脊髄液中に存在する蛋白質のレベルの変動をモニターすることによって神経組織の状態をモニタリングする方法を提供することである。本発明のこれらの目的と方法は以下に示す説明、図およびクレームから明白となるはずである。

発明の要約

本発明は、神経細胞の生存性を増強するための方法を含み、インビボで哺乳動物の神経回路を維持するための方法と組成物を提供する。

一つの態様では、本発明は、神経回路の障害あるいはこのような障害が予見される場合に対して、障害を受けた経路の修復あるいはそれらのが層のダメージを抑制することを含む神経回路を維持するために十分な時間と濃度で、ここに定義する形態形成蛋白質（モルフォゲン）の治療上有効な量を哺乳類に投与するためのステップからなる治療方法および組成物を特徴としている。

別の態様において、本発明は組成物および治療方法を特徴としており、この治療法と組成物とは、神経回路に障害を有しているかまたはこのような障害をうけることが予見されている。哺乳類に対して特定の化合物を投与することを含むような、ダメージをうけた神経回路を修復したり、ダメージの進行を抑制することを含むインビボで哺乳類の神経回路を維持するためのものである。上記の化合物は、哺乳類の生体において神経回路を保持するために十分な内因性のモルフォゲンの治療上有効な濃度を誘発するようなものである。これらの化合物は、ここではモルフォゲン促進剤と呼び、哺乳動物に投与した場合に、モルフォゲンを生産するかまたはモルフォゲンの生産が可能であり及び／またはモルフォゲンを分泌する組織や臓器に作用する物質を包含するものであり、または、モルフォゲンの生体内濃度を変化させるものであると理解される。

例えばこの薬剤は内因性モルフォゲンの発現および／又は分泌を刺激することにより作用する。

特に、本発明は瀕死のニューロンの生存を増強するための方法を提供ものであり、神経の傷害に対する生体の免疫/炎症反応に関連した組織破壊性の作用からニューロンを保護する方法を含んでいる。さらにまた、本発明は分化した表現型を維持するようにニューロンを刺激するための方法を提供するものであり、神経由来形質転換細胞を再分化させて非形質転換ニューロンの形態学的特性を示すように誘導する方法を含んでいる。一つの実施態様において、本発明は細胞内の細胞接着分子、特にニューロンの神経細胞付着分子（N-CAM）の生産を促進するための手段を提供する。さらにまた、本発明は障害を受けたニューロンと神経回路の細胞修復を促進する方法、組成物、器具を提供する。この修復促進は、末梢および中枢神経系の障害を受けた軸索を再生させることをふくんでいる。さらにまた、本発明は哺乳動物の血清または脳脊髄液に存在すモルフォゲンや内因性モルフォゲン抗体の濃度の変動をモニターすることによって、哺乳類の神経組織の状態を評価したり、ニューロパシーを検出してモニターするための手段を提供するものである。

ここに使用する”神経回路”とは、刺激側から標的細胞側へ電気的信号を通過させるための神経回路を意味している。回路とは、電気的インパルスが伝達されるニューロンを含み、相互接続しているニューロンの群、さらに束ねられた状態の神経軸索によって形成されている神経繊維及びニューロンを取り巻き、ニューロンに関係したグリア細胞を含むものである。

本発明の実施態様において、ここに説明するモルフォゲンとは末梢神経系の障害を受けた神経回路の修復に有用である。特に、モルフォゲンは障害を受けた回路を修復するために有用である。この回路としては、神経それ自身または神経とシナプス後細胞のギャップを長い距離にわたって橋渡しして、神経突起とくに軸索の再生をさせることが必要な切断や障害を受けた神経繊維（神経）をも含む。特にここで述べられているモルフォゲンは、保護性ミエリン鞘の脈管形成と再構成を含む完全な軸索性神経再生を促進できるものである。モルフォゲンは、好ましくは投与部位においてモルフォゲンを保持できる生体内適合性であって生体吸収性のキャリアー物質中に分散させて、障害の部位に供給される。そして必要な場合には、切断されたニューロンまたは神経の近位側から遠位末端側に、軸索の成

長が向かうような方法で供給される。例えば軸索の成長を方向づける方法は、10㎜以上の長い距離にわたって神経再生を誘導させる場合に必要であるかもしれない。これらの機能を備えた多数のキャリアーが想定されている。例えば有用なキャリアーとしては、以下に示すような基本的に不溶解性の物質又は以下に開示されているように調製された粘性溶液を含む。これらは、ラミニン、ヒアルロン酸、コラーゲン、あるいはポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ酪酸及び/またはこれらの共重合体のような適当な合成された生体内適合性のあるポリマー物質である。最近供給されているキャリアーとしては、現在好まれている実例を上げると、例えばマウスザルコマー細胞由来の細胞外マトリックス組成物がある。また特に有用性が予想されるものとしては、脳組織由来細胞外マトリックスがある。

特に好ましい実施態様としては、モルフォゲンは障害を受けた回路の距離にまたがっている神経案内導管中にモルフォゲンが分配する器具の部品として局所投与される。回路は、軸索のような神経突起の成長を誘導するために、保護的なカバーとして、そして物理学的手段としても作用する。有用な回路は、生体内適合性膜またはケーシングからなっており、チューブ状構造をとり、修復される神経のギャップまたは切断箇所を結びつけるのに十分な大きさを有しており、分断された神経末端を受け入れるために開口されている。ケーシングまたは膜はシリコンのような生体内適合性で、非刺激性の素材またはポリエチレンやポリエチレンビニール酢酸のような生体内適合性ポリマーで作られる。さらにまた、ケーシングは、例えばコラーゲン、ヒアルロン酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ酪酸を含む生体内適合性、生体吸収性ポリマーから構成される。

特に好ましい実施態様としては、回路の外部表面は基本的には不浸透性である。モルフォゲンは生体内適合性のキャリアー物質を使用して導管中に分配される。この場合モルフォゲンが、分断された神経の末端に接触できるように、米国特許5,011,486号に記載されたように、ケーシングの内部表面に吸着させるかまたはその他の方法で結合させておく必要がある。さらに、ここに述べた神経案内導管は、一般的には形状としてはチューブ状であれば、種々の異なった形状を採用できることは当業者には明白である。案内導管の内腔が、例えば断面では長円形または方形であっても良い。さらに案内導管が、神経切断端を結び付けるように２またはそれ以上のパーツをつなぎあわせて構築されていても良い。神経の末端は、フィブリングルーのような生体内適合性のある接着物質による縫合手段か、あるいはまた医学的な技術として公知の手段によって、神経案内導管を確実に結合させておく。

またここに述べたモルフォゲンは、障害を受けたりまたは分離した網膜、視神経に対するその他の障害の修復のように、中枢神経系内に障害を受けた神経回路のバイパスを形成させるために、自己の末梢神経分節を移植する際に有用であると推測される。ここでモルフォゲンは移植部位で軸索の成長を促進させるために接続部位に投与される。特に、バイパスを形成させるべきダメージを受けた軸索の分節が、神経細胞本体から離れて発生する場合に投与される。

さらにまた、ここで述べたモルフォゲンは、瀕死の神経細胞の生存性を増大させ、それによって神経回路に対するダメージを予防し、限定しあるいは抑制するのに有用である。非有糸分裂性のニューロンは、死のリスクをもっており、この死はニューロパシーの結果、または細胞死を誘発するニューロンあるいはグリア細胞の機能不全によって起こるか、細胞またはその細胞を取り巻く組織に対する化学的または物理的傷害に引き続いておこる。化学的な傷害は公知の毒性物質に由来しており、この毒性物質はタバコの煙と阿片中の毒性物質と同様に鉛、エタノール、アンモニア、ホルムアルドヒドおよび複数の有機溶媒を含むものである。さらにまたグルタミン酸塩のような興奮性アミノ酸もまた、神経細胞死の原因として作用している（Freese et al.,1990,Brain Res.,521:254-264）。神経細胞死もまた、多くの神経変性疾患において明らかな寄与因子になると考えられている。神経変性疾患にはアルツハイマー病、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、筋萎縮性遅延型硬化症、多発性硬化症等がふくまれる。これらのニューロパシーの病因は、肝性脳症を原因とする代謝性、感染性、毒物性、自己免疫性、栄養あるいは虚血性であると考えられる。さらにエタノールといくつかの毒物は、神経変質性疾患においては明らかな寄与性因子

であるとして確認されている。ここで述べているモルフォゲンは、瀕死の細胞に対して、それらの細胞の生存性を増大させて、神経回路の完全性を保護するために投与することができる。モルフォゲンはその部位に直接投与するか、または全身的に投与することもできる。さらにまた、上記に示したように、好ましくは目的とする神経組織に関与している細胞内において、内因性のモルフォゲンの発現および／または分泌を促進する物質を哺乳動物に投与することができる。

本発明の別の実施態様において、開示されている方法は、モルフォゲン処置細胞が非形質転換細胞の形態学的特性を示すように、形質転換細胞、特に神経またはグリア細胞由来の形質転換細胞を再分化させるために有用である。形質転換細胞が神経由来の細胞である場合、モルフォゲン処理は好ましくは細胞を丸くし、細胞を凝集させ（クランピングさせ）細胞-細胞の接着をおこさせ、神経突起の外成長と伸長を引き起こし、N-CAMを生産させる。ここで述べた方法で、基本的に神経組織中で神経細胞腫瘍の発生および/または増殖を阻害または減少させることが期待されている。本発明の方法は、網膜芽腫、神経芽腫、神経膠腫、神経膠芽細胞腫等の神経組織由来の種々の腫瘍の作用を基本的に抑制する目的に有用であろうことが予測される。さらに本方法は、転移性組織によっておこる腫瘍性の病変を抑制する目的にも有効であると考えられる。転移性腫瘍はCNSの最も普通の腫瘍の一つであって、血流を介して頭蓋内室へ到達する。転移性腫瘍は、例えば正常神経組織の構造を破壊し、神経を圧迫し、脳組織に栄養供給している脳脊髄液や血液の流れをブロックし、および/または生体の免疫反応を促進することによって、神経回路に障害を与える。

本発明の別の実施態様において、ここに述べたモルフォゲンは、神経組織に最初におこる損傷に対する生体の免疫/炎症反応に由来した神経回路の傷害を緩和するための、神経保護効果を提供する目的に有用である。このような反応は、神経組織の損害にひきつづいて起きる。神経組織の損傷はたとえば自己免疫性機能不全、腫瘍性病巣、感染、化学的または物理的外傷、ニューロンまたはグリア細胞への血流の停止による疾患（例えば虚血性または低酸素性によるもの）さらには神経あるいは神経周囲の器官に対する傷害などによって起きる。例えば、閉塞性卒中のように神経への血液供給が閉塞したことによっておこる低酸素または虚血-再灌流によっておこる一次的な傷害は、免疫的に発生すると考えられている。さらに多くの初期的な脳腫瘍に伴なう傷害の少なくとも一部分は、免疫学的に関連しあっていることが認められている。治療される細胞に直接モルフォゲンを投与するか、哺乳動物に経静脈的にあるいは経口投与によって間接的な方法で全身的にモルフォゲンを投与することは、神経傷害に対する免疫学的に関連した反応を緩和及び/または抑制するために使用される。さらにまた、好ましくは傷害の部位に、インビボでモルフォゲンの発現及び/または分泌を促進できる物質を投与することも採用できる。外科手術やその他の積極的な医療的処置でで傷害が発生する場合には、モルフォゲンまたは作用薬はリスクにある神経組織に対して神経保護的作用を与えるために傷害の誘発より前に投与することもできる。

本発明のさらに別の態様では、ここに説明した発明は、ニューロンにその発現型を発現させ続けることを含む、分化型ニューロンの成長と維持を支援するための方法をも提供する。この活性は、神経組織の疾病の治療に特に有用であると考えられる。神経組織の疾病とは、細胞加齢によって発生し、アルツハイマー病で明らかにされていると考えれているような、細胞の代謝機能を減少又は喪失、さらに細胞が老化し静止した状態になることによって発生する機能喪失をさす。治療されるべきに細胞に直接モルフォゲンを投与したり、非経口的にまたは経口的に投与することによって行う全身的供給は、あきらかに細胞代謝機能不全の作用を抑制および/または逆転させ、それによってリスクを持った神経回路を維持することによって、これらの細胞にその発現型を発現させ続けるように促進する。さらにまた、インビボで内因性モルフォゲンの発現および／または分泌を促進できる物質の投与も行っても良い。

本発明のさらに別の態様では、本発明は細胞内のCAMの発現レベル、特にニューロン中のN-CAM発現を促進するための方法を提供する。CAMは組織形成のために必須の細胞-細胞間のインターラクションを行わせる分子として特定される。CAMは組織境界形成、胚誘導およ

び遊走を含む組織発達と組織の安定化と再生において、基本的なな制御作用を担当していると考えられている。CAMのレベル変化は先天性疾患、腫瘍および変性疾患を含む組織変性の多くに関連している。

特に、N-CAMの発現は、網膜形成、シナプス形成および神経-筋肉組織接着を含む正常な神経細胞の発達と分化に関係している。N-CAMの異性体の1またはそれ以上の抑制は、正常な組織の発達を抑制することが知られている。N-CAM発現レベルの変化は、正常な内圧の水頭症とタイプIIの分裂病を含む複数のニューロパシーと同様に、神経芽腫を含む腫瘍と関係している。治療するべきに細胞に直接モルフォゲンを投与したり、非経口的にまたは経口的に投与することによって行う全身的供給は、1またはそれ以上のCAM、特にN-CAMの細胞性発現を誘導する目的で使用することができる。さらにまた、インビボでのモルフォゲンの発現及び/または分泌を刺激するような物質を、好ましく傷害の部位に投与して、CAMの生産を誘導することができる。

CAMはまた、形質形成制御経路の一部であると仮定されている。この経路の活性は、まだ特定されていない分子によって誘導される（Edelman,G.M.,1986,Ann. Rev. Cll Biol.,2:81-116を参照のこと）。どの特定のセオリーに制限されることなく、ここで説明したモルフォゲンはこの経路の物質として作用する。

最終的に、内因性モルフォゲンレベルの変化は神経組織の機能不全を検出する方法の一部としてモニターすることができる。特に内因性モルフォゲンレベルの変化は、神経組織の変化を反映しているものと予想される。モルフォゲンの発現はバイオプシーした細胞、脳脊髄液、血清から直接測定できる。さらにまた、モルフォゲンレベルはモルフォゲンに対する内因性抗体のレベル変化を検出することで評価できる。例えば、哺乳動物から血清サンプルを採取し、先行技術として公知の標準的な蛋白質検出手段によって溶液中のモルフォゲンまたは抗体の含有量を検出できる。一例としては、抗モルフォゲン抗体のような目的のモルフォゲンに特異的に作用する結合蛋白質は、標準的なイムノアッセイにおいてモルフォゲン検出の目的に使用可能である。検出されたモルフォゲンレベルは、検出レベルの変化をもちいて組織の状態を示すために、あらかじめ決定された標準または参照レベルと比較することができる。

本発明の好ましい実施態様において、モルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤は、経口または非経口的に全身的に投与される。本発明のその他の実施態様では、モルフォゲンは脳脊髄液または神経組織内に注入することによって神経組織に直接投与できる。

本発明のどの治療方法においても、「モルフォゲンの投与」とはモルフォゲン単独またはそれ以外の分子と組み合わせて投与することを示している。例えば、モルフォゲンの成熟型は、プレカーサである「プロ」ドメインを含む形で供給されるが、これは蛋白質の溶解性を促進することが知られている。蛋白質の溶解性を促進することが知られているその他の有用な分子としては、種々の血清蛋白質と同様にカゼインおよび乳成分が含まれる。モルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤に関連したその他の有用な分子としては、神経組織に対してモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤を直接送り込むことのできる組織ターゲッティング分子が含まれる。本発明の治療プロトコールにおいて有用であると考えられる組織ターゲッティング性分子としては、抗体、抗体フラグメントあるいは神経組織細胞の表面分子と特異的に作用する結合性蛋白質が含まれる。

また別の有用な組織ターゲティング分子はモルフォゲンのプレカーサ、「プロ」ドメイン、特にOP-1またはGDF-1の「プロ」ドメインの一部または全部である。これらの蛋白質は天然には神経組織に関連して見出されるが、その他の組織で合成されて、そして合成された組織から分泌後に神経組織に移送される。例えば、この蛋白質は骨組織中で活性であることが見出されており、OP-1合成の一次ソースは泌尿器系の組織（腎臓および膀胱組織）であるらしい。第二の発現レベル箇所は脳、心臓、肺（下記）にあることがわかっている。さらにこの蛋白質は血清、唾液、種々の乳中から分離されている。さらにこの蛋白質の分泌型は、完全型のモルフォゲン配列のプロドメインと共に成熟型二量体からなっている。従って関連したモルフォゲンのプロドメインはインビボでは異なった組織に特異的なモルフォゲンを輸送するために作用している。

さらにまた関連した組織ターゲッティングあるいは溶解性-増強分子は、酸-不安定性結合をもっていて、一般的な化学的手段でモルフォゲンに共有的に結合している。この結合は、骨の再構成部位の酸性条件下において選択的に切断される。
最後に、ここで提供されるモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤は神経成長因子および抗炎症剤などを含む神経回路を維持するに有用であることが知られているその他の分子と組み合わせて投与することができる。
モルフォゲンをCNSの障害を治療する目的で用いようとする場合には、付随的な問題を考慮しなければならない。いわゆる「脳-血液バリアー」と呼ばれている脳の毛細血管壁の構造を通過しなければならない。この構造は、血液中に存在する分子の種類を選別して、脳内への通過を予防する。脳-血液バリアーは、脳内へのモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤の直接注入によって、効果的にバイパスさせることができる。さらにまたモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤は、脳血液バリアーを超えて移送されやすくするために修飾することもできる。例えば、モルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤の切断型は最も有望と考えられる。
さらにモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤は、より親油性に変更するために修飾することができ、また自然にバリアーを通過することのできるその他の分子と当業者には公知の標準的手段を用いて共有結合させることができる。このような技術としてはPardridge, Endocrine Revew 7:314-330（1980）や米国特許4,801,575に記載された技術を例示することができる。
従って、モルフォゲンの機能的な「アナログ」の用語は、蛋白質が形質形成性の生物活性を有しているが、ここに定義したモルフォゲンと比較して付加的な構造的な違いを有するものをさす。例えばモルフォゲンの一部分が一般的でない付加的な化学成分を有しているものである。このような成分（例えば例を上げて示すと、アシル化、アルキル化、陽イオン化、グリコシル化反応あるいはその他モルフォゲンにこの成分を共有結合させるための手段）は分子の溶解性、吸収性、生物学半減期あるいは脳-血液バリアーを超えた移送などを改善すると考えられる。
本発明における有用なモルフォゲン本来は骨形成蛋白質として特定される蛋白質である。ＯＰ－１、ＯＰ－２、およびＣＢＭＰ蛋白質、同様なアミノ酸配列を持つ蛋白質として、ＤＰＰ（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5,011,691、Opperman他）、ＧＤＦ－１（マウス由来、Lee（1991）PNAS 88: 4250-4254）、これらの蛋白質の配列は配列表配列番号５－１４と表２に示した）。そして最近６０Ａの蛋白質が特定された（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号２４、Wharton他、1991、PNAS 88:9214-9218）。蛋白質のＴＧＦβスーパーファミリーのメンバーを含むこのファミリーのメンバーは、Ｃ末端領域のアミノ酸配列に高いホモロジーを有する。この蛋白質は、典型的には３０残基より少ないＮ末端シグナルペプチド配列を持つ前駆体として翻訳され、次いで「プロ」ドメインとなり、それが切断されて成熟配列となる。シグナルペプチドは、翻訳後速やかに切断され、Von Heijneの方法（1986,Nucleic Acids Research 14:4683-4691）を用いて特定のアミノ酸配列を予想することができる。以下の表Ｉは、今日特定されている種々のモルフォゲンを示す。そのここで使用されている学名と配列番号、配列表に含まれない全長蛋白質のアミノ酸配列を記載した出典を示しているが、これらの文献の開示内容は、引用によって本発明と一体化されている。

表　I

ＯＰ－１	OP-1蛋白質をコードするDNA 配列の全てまたは一部から発現された形態形成活性蛋白質のグループを総称的にさす。対立形質型および種の変異型を含む。例えばヒトOP-1(hOP-1，配列表配列番号5 、成熟蛋白質アミノ酸配列) マウスOP-1(mOP-1，配列表配列番号6 、成熟蛋白質アミノ酸配列) 保存された７個のシステイン骨格が配列表配列番号5 、6 の38から

139 番目の残基によって特定されている。蛋白質の全長をコードするcDNA配列と全アミノ酸が配列表配列番号16と17(hOP-1) および配列表配列番号18と19(mOP-1) に示されている。成熟蛋白質は残基293-431(hOP-1)と292-430(mOP-1)によって特定されている。そこが切断されることにより成熟蛋白質が得られる。蛋白質のプロ領域は開裂して、成熟で、形態形成活性を有する蛋白質を生じるが、本質的に残基30-292(hOP-1) と残基30-291(mOP-1) よって本質的に特定される。

ＯＰ－２　OP-2蛋白質をコードするDNA 配列の全てまたは一部から発現された活性蛋白質のグループを総称的にさす。対立形質型および種変異型を含む。例えばヒトOP-2(hOP-2，配列表配列番号7 、成熟蛋白質アミノ酸配列) マウスOP-2(mOP-2，配列表配列番号8 、成熟蛋白質アミノ酸配列) 。保存された７個のシステイン骨格が配列表配列番号7 、8 の38から139 番目の残基によって特定されている。蛋白質の全長をコードするcDNA配列と全アミノ酸が配列表配列番号20と21(hOP-2) および配列表配列番号22と23(mOP-2) に示されている。成熟蛋白質は残基264-402(hOP-2)と261-399(mOP-2)によって特定されている。蛋白質のプロ領域は開裂して、成熟で形態形成活性を有する蛋白質が生じるが、本質的に残基18-263(hOP-2)と残基18-260(mOP-1) よって本質的に特定される。(両方のOP-2蛋白質とも上流21残基に別の開裂部位を有する。)

ＣＢＭＰ２

CBMP2 蛋白質をコードするDNA 配列から発現された形態形質活性蛋白質を総称的にさす。対立形質型および種変異型を含む。ヒトCBMP2A(CBMP2A(fx) 配列表配列番号9 、ヒトCBMP2B-DNA(CBMP2B(fx) 配列表配列番号10。全長の蛋白質のアミノ酸配列はBMP2AおよびBMP2B あるいはBMP2およびBMP4として文献、Wozeny,et al.(1988) Science 242:1528-1534 に示されている。BMP2(BMP2A) のプロドメインは残基25-248または残基25-282を含む。成熟蛋白質は残基249-396 または残基283-396 を含む。BMP4(BMP2B) のプロドメインは残基25-256または残基25-292を含み成熟蛋白質は残基257-408 または残基293-408 を含む。

DPP(fx)

ショウジョウバエDPP 遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存された7個のシステイン骨格(配列表配列番号11) で特定される。全長の蛋白質のアミノ酸配列はPadgett,et al.(1987) Nature 325:81-84 に示されている。プロドメインはシグナルペプチドの開裂箇所から残基456 までである。成熟蛋白質の領域は残基457-588 で特定されている。

Vgl(fx)

ツメガエルVgl 遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存された7個のシステイン骨格(配列表配列番号12) で特定される。全長の蛋白質のアミノ酸配列はWeeks(1987) Cell 51:861-867に示されている。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から残基246 までである。成熟蛋白質は残基

247-360 で特定されている。

Vgr-1(fx)

マウスVgr-1 遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存された７個のシステイン骨格（配列表配列番号13）で特定される。全長の蛋白質のアミノ酸配列はLyons, et al. (1989) PNAS 86: 4554-4558 に示されている。プロドメインはのシグナルペプチド開裂部位から残基299 までである。成熟蛋白質は残基303-438 で特定されている。

GDF-1(fx)

ヒトGDF-1 遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存された７個のシステイン骨格（配列表配列番号14）で特定される。全長蛋白質に対するcDNAとコードされるアミノ酸配列が配列表配列番号32に示される。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基2-14内までである。成熟蛋白質残基215-372 で特定されている。

60A　60A 蛋白質（全長蛋白質に対するcDNAとコードされるアミノ酸配列が配列表配列番号24に示されている）をコードしているDNA 配列（ショウジョウバエ60A 遺伝子）の一部または全部より発現された形態形成性活性蛋白質をさす。60A(fx) は保存された７個のシステイン骨格（配列表配列番号24の残基354 から455)で特定される蛋白配列をさす。プロドメインは、シグナルペプチド開裂部位から残基324 までてある。成熟蛋白質は残基325-455 で特定される。

BMP3(fx)

ヒトBMP3遺伝子によってコードされている蛋白質配

列をさし、保存されている７個のシステイン骨格で特定される（配列表配列番号26）。全長の蛋白質のアミノ酸配列はWozeny et al. (1988) Science 242:1528-1534 に示されている。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から残基290 までである。成熟蛋白質は残基291-472 で特定されている。

BMP5(fx)

ヒトBMP5遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存されている７個のシステイン骨格で特定される（配列表配列番号27）。全長の蛋白質のアミノ酸配列はCeleste,et al. (1991) PNAS 87: 9843-9847 に示されている。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から残基316 までである。成熟蛋白質は残基317-454 で特定されている。

BMP6(fx)

ヒトBMP6遺伝子によってコードされている蛋白質配列をさし、保存されている７個のシステイン骨格で特定された（配列表配列番号28）。全長の蛋白質のアミノ酸配列はCeleste,et al. (1990) PNAS 87: 9843-9847 に示されている。プロドメインはシグナルペプチド開裂部位から残基374 までである。成熟蛋白質は残基375-513 で特定されている。

OP-2蛋白質はこのファミリーのその他の蛋白質とおなじ保存されたシステイン骨格に加えて、この領域（配列表配列番号7および8の残基41に付加的なシステイン残基を持つ。GDF-1蛋白質は保存された骨格（配列表配列番号14の残基44-47）に4個のアミノ酸が挿入されている。しかしこの挿入は、折りたたみ構造においてはシステインの相互関係を阻害しないようだ。さらにCBMP2蛋白質はシステイン骨格からアミノ酸残基１個が失なわれている。

モルフォゲンは還元すると失活する。しかし、酸化してできるホモダイマーは活性だし、本発明の他のモルフォゲンと組み合わせて酸化すると活性化される。ここに示したように、モルフォゲンは一対のポリペプチド鎖からなる2量体蛋白質であり、それぞれのポリペプチド鎖は、配列表配列番号5の残基43-139によって特定されるC末端側の少なくとも6個のシステイン骨格からなるが、これらのシステインと機能的には等しいアレンジメントを含む（即ち、配列中のシステインの直線的な配置を変えるようなアミノ酸の挿入や欠失を行っても折りたたみ構造におけるシステイン相互間の関係は変わらない）。すなわち、ポ

リペプチド鎖が折りたたまれる時、ポリペプチド鎖の１対からなっている2量体蛋白質種は、適当な3次元構造をとる。この場合、ここに定義するようにモルフォゲンとして蛋白質が活性であるように、鎖間または鎖内で適当なジスルヒド結合を含んでいる。特徴的なことには、モルフォゲンは、通常、形態形成的に許容される環境では、次の生物学的機能をの全てをそなえている。未分化細胞の増殖促進。未分化細胞の分化促進。分化細胞の増殖促進。分化細胞の成長と維持の補助。さらに、これらのモルフォゲンは、好ましい環境条件に拘束された細胞の再分化を誘導できることが期待される。

好ましい一つの実例において、本発明のモルフォゲンは一般的なアミノ酸配列の2種の内の1つを含む。一般配列1（配列表配列番号1）または一般配列2（配列表配列番号2）である。Xaaは20の天然型L-型αアミノ酸またはその誘導体の一つを示している。一般配列1は保存された6つのシステイン骨格からなり、そして一般配列2はOP-2で確認される付加的なシステインを付けた保存された6つのシステイン骨格からなる（配列表配列番号2、残基36）。別の好ましい実例では、この配列はN末端に次の付加配列を結合させたものからなる。

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa (配列表配列番号15)

1 5

上記の一般配列中の好ましいアミノ酸配列は次のものを含む。一般配列3（配列表配列番号3）、一般配列4（配列表配列番号4）、一般配列5（配列表配列番号30）、一般配列6（配列表配列番号31）、列リストは以下に示す。これらの一般配列は、表IIに示したこのモルフォゲンファミリーの種々の好ましいメンバーの中で共有されるホモロジーを、それらのアミノ酸配列に変化を加えたものと同様に含んでいる。特に一般配列3と4は表IIに表され配列表配列番号5-14で特定される次の蛋白質の複合アミノ酸配列である。ヒトOP-1（hOP-1，配列表配列番号5および16-17）、マウスOP-1（mOP-1，配列表配列番号6および18-19）、ヒトおよびマウスOP-2（配列表配列番号7、8および20-22）、CBMP2A（配列表配列番号9）、CBMP2B（配列表配列番号10）、DPP（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号11）、Vgl（ツメガエル由来、配列表配列番号12）、Vgr-1（マウス由来、配列表配列番号13）GDF-1（マウス由来、配列表配列番号14）。一般配列は、配列中の可変位置の可変性残基と同様に、表IIの配列によって明示されたアミノ酸配列を含んでいる。これらの一般配列は、一般配列3または4の41または46位に分子間又は分子内ジスルヒド結合を形成することができる適当なシステイン骨格を提供するような付加的システインを加えることができるし、蛋白質の三次元構造に影響を及ぼすある種の臨界的なアミノ酸を含む。

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 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Xaaは以下に示す1又はそれ以上のアミノ酸の群から他とは無関係に、選択されたものである。Res.は残基residueを意味している。res.4でのXaa=（Ser,AspまたはGlu）。res.6でのXaa=（Arg,Gln,SerまたはLys）。res.7でのXaa=（AspまたはGlu）。res.8でのXaa=（LeuまたはVal）。res.11でのXaa=（Gln,Leu,Asp,His,またはAsn）。res.12でのXaa=（Asp,Arg, またはAsn）。res.14でのXaa=（IleまたはVal）。res.15でのXaa=（IleまたはVal）。res.18でのXaa=（Glu,Gln,Leu,Lys,ProまたはArg）。res.20でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.21でのXaa=（Ala,Ser,Asp,Met,His,LeuまたはGln）。res.23でのXaa=（Tyr,As

nまたはPhe）。res.26でのXaa=（Glu,His,Tyr,AspまたはGln）。res.28でのXaa=（Glu,Lys,AspまたはGln）。res.30でのXaa=（Ala,Ser,ProまたはGln）。res.31でのXaa=（Phe,LeuまたはTyr）。res.33でのXaa=（LeuまたはVal）。res.34でのXaa=（Asn,Asp,AlaまたはThr）。res.35でのXaa=（Ser,Asp,Glu,LeuまたはAla）。res.36でのXaa=（Tyr,Cys,His,SerまたはIle）。res.37でのXaa=（Met,Phe,GlyまたはLeu）。res.38でのXaa=（AsnまたはSer）。res.39でのXaa=（Ala,SerまたはGly）。res.40でのXaa=（The,LeuまたはSer）。res.44でのXaa=（IleまたはVal）。res.45でのXaa=（ValまたはLeu）。res.46でのXaa=（GlnまたはArg）。res.47でのXaa=（Thr,AlaまたはSer）。res.49でのXaa=（ValまたはMet）。res.50でのXaa=（HisまたはAsn）。res.51でのXaa=（Phe,Leu,Asn,Ser,AlaまたはVal）。res.52でのXaa=（Ile,Met,Asn,AlaまたはVal）。res.53でのXaa=（Asn,Lys,AlaまたはGlu）。res.54でのXaa=（ProまたはSer）。res.55でのXaa=（Glu,Asp,Asn,またはGly）。res.56でのXaa=（Thr,Ala,Val,Lys,Asp,Tyr,SerまたはAla）。res.57でのXaa=（Val,Ala,またはLys）。res.58でのXaa=（ProまたはAsp）。res.59でのXaa=（LysまたはLeu）。res.60でのXaa=（ProまたはAla）。res.63でのXaa=（AlaまたはVal）。res.65でのXaa=（ThrまたはAla）。res.66でのXaa=（Gln,Lys,ArgまたはGlu）。res.67でのXaa=（Leu,Met, またはVal）。res.68でのXaa=（Asn,SerまたはAsp）。res.69でのXaa=（Ala,ProまたはSer）。res.70でのXaa=（Ile,ThrまたはVal）。res.71でのXaa=（SerまたはAla）。res.72でのXaa=（ValまたはMet）。res.74でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.75でのXaa=（Phe,TyrまたはLeu）。res.76でのXaa=（AspまたはAsn）。res.77でのXaa=（Asp,Glu,AsnまたはSer）。res.78でのXaa=（Ser,Gln,AsnまたはTyr）。res.79でのXaa=（Ser,Asn,AspまたはGlu）。res.80でのXaa=（Asn,ThrまたはLys）。res.82でのXaa=（IleまたはVal）。res.84でのXaa=（LysまたはArg）。res.85でのXaa=（Lys,Asn,GlnまたはHis）。res.86でのXaa=（TyrまたはHis）。res.87でのXaa=（Arg,GlnまたはGlu）。res.88でのXaa=（Asn,GluまたはAsp）。res.90でのXaa=（Val,ThrまたはAla）。res.92でのXaa=（Arg,Lys,Val,AspまたはGlu）。res.93でのXaa=（Ala,GlyまたはGlu）。res.97での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 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Xaaは以下に示すアミノ酸の1またはそれ以上の群から他とは無関係に、選択されたものである。Res.は残基residueを意味している。res.2でのXaa=（LysまたはArg）。res.3でのXaa=（LysまたはArg）。res.4でのXaa=（HisまたはArg）。res.5でのXaa=（Glu,Ser,His,Gly,ArgまたはPro）。res.9でのXaa=（Ser,AspまたはGlu）。res.11でのXaa=（Arg,Gln,SerまたはLys）。res.12でのXaa=（AspまたはGlu）。res.13でのXaa=（LeuまたはVal）。res.16でのXaa=（Gln,Leu,Asp,HisまたはAsn）。res.17でのXaa=（Asp,ArgまたはAsn）。res.19でのXaa=（IleまたはVal）。res.20でのXaa=（IleまたはVal）。res.23でのXa

a=（Glu,Gln,Leu,Lys,ProまたはArg）。res.25でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.26でのXaa=（Ala,Ser,Asp,Met,His,LeuまたはGln）。res.28でのXaa=（Tyr,AsnまたはPhe）。res.31でのXaa=（Glu,His,Tyr,AspまたはGln）。res.33でのXaa=（Glu,Lys,AspまたはGln）。res.35でのXaa=（Ala,SerまたはPro）。res.36でのXaa=（Phe,LeuまたはTyz）。res.38でのXaa=（LeuまたはVal）。res.39でのXaa=（Asn,Asp,AlaまたはThr）。res.40でのXaa=（Ser,Asp,Glu,LeuまたはAla）。res.41でのXaa=（Tyr,Cys,His,SerまたはIle）。res.42でのXaa=（Met,Phe,GlyまたはLeu）。res.44でのXaa=（Ala,SerまたはGly）。res.45でのXaa=（Thr,LeuまたはSer）。res.49でのXaa=（IleまたはVal）。res.50でのXaa=（ValまたはLeu）。res.51でのXaa=（GlnまたはArg）。res.52でのXaa=（Thr,AlaまたはSer）。res.54でのXaa=（ValまたはMet）。res.55でのXaa=（HisまたはAsn）。res.56でのXaa=（Phe,Leu,Asn,Ser,AlaまたはVal）。res.57でのXaa=（Ile,Met,Asn,AlaまたはVal）。res.58でのXaa=（Asn,Lys,AlaまたはGlu）。res.59でのXaa=（ProまたはSer）。res.60でのXaa=（Glu,AspまたはGly）。res.61でのXaa=（Thr,Ala,Val,Lys,Asp,Tyr,SerまたはAla）。res.62でのXaa=（Val,AlaまたはIle）。res.63でのXaa=（ProまたはAsp）。res.64でのXaa=（LysまたはLeu）。res.65でのXaa=（ProまたはAla）。res.68でのXaa=（AlaまたはVal）。res.70でのXaa=（ThrまたはAla）。res.71でのXaa=（Gln,Lus,ArgまたはGlu）。res.72でのXaa=（Leu MetまたはVal）。res.73でのXaa=（Asn,SerまたはAsp）。res.74でのXaa=（Ala,ProまたはSer）。res.75でのXaa=（Ile,ThrまたはVal）。res.76でのXaa=（SerまたはAla）。res.77でのXaa=（ValまたはMet）。res.79でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.80でのXaa=（Phe,TyrまたはLeu）。res.81でのXaa=（AspまたはAsn）。res.82でのXaa=（Asp,Glu,AsnまたはSer）。res.83でのXaa=（Ser,Gln,AsnまたはTyr）。res.84でのXaa=（Ser,Asn,AspまたはGlu）。res.85でのXaa=（Asn,ThrまたはLys）。res.87でのXaa=（IleまたはVal）。res.89でのXaa=（LysまたはArg）。res.90でのXaa=（Lys,Asn,GlnまたはHis）。res.91でのXaa=（TyrまたはHis）。res.92でのXaa=（Arg,GlnまたはGlu）。res.93でのXaa=（Asn,GluまたはAsp）。res.95でのXaa=（Val,ThrまたはAla）。res.97でのXaa=（Arg,Lys,Val,AspまたはGlu）。res.98での。Xaa=（Ala,GlyまたはGlu）。res.102でのXaa=（HisまたはArg）。

同様に一般配列5（配列表配列番号30）と一般配列6（配列表配列番号31）は、表IIに示したモルフォゲン蛋白質のファミリーメンバーの間に共有されるホモロジーを含んでいる。特に一般配列5および6は次のアミノ酸配列の複合である。ヒトOP-1（hOP-1，配列表配列番号5および16－17）、マウスOP-1（mOP-1，配列表配列番号6および18－19）、ヒトおよびマウスOP-2（配列表配列番号7,8および20－22）、CBMP2A（配列表配列番号9）、CBMP2B（配列表配列番号10）、DPP（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号11）、Vgl（ツメガエル由来、配列表配列番号12）、Vgr-1（マウス由来、配動表配列番号13）、GDF-1（マウス由来、配列表配列番号14）、ヒトBMP3（配列表配列番号26）、ヒトBMP5（配列表配列番号27）、ヒトBMP6（配列表配列番号28）、60（A）（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号24－25）。一般配列は、配列中の可変位置の可変性残基と同様に、6および7個のシステイン骨格（一般配列5と6に対応する）によって特定され、そしてC末端ドメイン中のこれらの配列と同一のアミノ酸配列を含んでいる。一般配列3と4、一般配列5と6において、41位（一般配列5）あるいは46位（一般配列6）にシステインを更に付加することができ、適当なシステイン骨格を提供すると、分子間に又は分子内にジスルヒド結合を形成させることができる。システインは付加物はその蛋白質の3次構造に影響を与えるある種の臨界的なアミノ酸を含んでいる。

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Xaaは以下に示すアミノ酸の1またはそれ以上の群から独立的に、選択されたものである。Res.は残基residueを意味している。res.2でのXaa=（TyrまたはLys）。res.3でのXaa=（ValまたはIle）。res.4でのXaa=（Ser,AspまたはGlu）。res.6でのXaa=（Arg,Gln,SerまたはLys）。res.7でのXaa=（Asp,LysまたはGlu）。res.8でのXaa=（Leu,IleまたはVal）。res.11でのXaa=（Gln,Leu,Asp,His,SerまたはAsn）。res.12でのXaa=（Asp,Arg,GluまたはAsn）。res.14でのXaa=（IleまたはVal）。res.15でのXaa=（IleまたはVal）。res.16でのXaa=（AlaまたはSer）。res.18でのXaa=（Glu,Gln,Leu,Lys,ProまたはArg）。res

.19でのXaa=（GlyまたはSer）。res.20でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.21でのXaa=（Ala,Ser,Asp,Met,His,LeuまたはGly）。res.23でのXaa=（Tyr,AsnまたはPhe）。res.26でのXaa=（Glu,His,Tyr,Asp,SerまたはGln）。res.28でのXaa=（Glu,Lys,Asp,AlaまたはGln）。res.30でのXaa=（Ala,Ser,Pro,AsnまたはGln）。res.31でのXaa=（Phe,LeuまたはTyr）。res.33でのXaa=（Leu,MetまたはVal）。res.34でのXaa=（Asn,Asp,Ala,ProまたはThr）。res.35でのXaa=（Ser,Asp,Glu,Leu,LysまたはAla）。res.36でのXaa=（Tyr,Cys,His,SerまたはIle）。res.37でのXaa=（Met,Phe,GlyまたはLeu）。res.38でのXaa=（Asn,LysまたはSer）。res.39でのXaa=（Ala,Ser,ProまたはGly）。res.40でのXaa=（Thr,LeuまたはSer）。res.44でのXaa=（Ile,ValまたはThr）。res.45でのXaa=（Val,IleまたはLeu）。res.46でのXaa=（GlnまたはArg）。res.47でのXaa=（Thr,AlaまたはSer）。res.48でのXaa=（LeuまたはIle）。res.49でのXaa=（ValまたはMet）。res.50でのXaa=（His,ArgまたはAsn）。res.51でのXaa=（Phe,Leu,Asn,Ser,AlaまたはVal）。res.52でのXaa=（Ile,Met,Asn,Ala,LeuまたはVal）。res.53でのXaa=（Asn,Lys,Ala,Gly,PheまたはGlu）。res.54でのXaa=（Pro,ValまたはSer）。res.55でのXaa=（Glu,Asp,Asn,Val,LysまたはGly）。res.56でのXaa=（Thr,Ala,Val,Lys,Asp,Tyr,Ser,Pro,HisまたはAla）。res.57でのXaa=（Val,Ala，またはIle）。res.58でのXaa=（ProまたはAsp）。res.59でのXaa=（Lys,GluまたはLeu）。res.60でのXaa=（ProまたはAla）。res.63でのXaa=（AlaまたはVal）。res.65でのXaa=（Thr,GluまたはAla）。res.66でのXaa=（Gln,Lys,ArgまたはGlu）。res.67でのXaa=（Leu,Met，またはVal）。res.68でのXaa=（Asn,Ser,GlyまたはAsp）。res.69でのXaa=（Ala,ProまたはSer）。res.70でのXaa=（Ile,Thr,LeuまたはVal）。res.71でのXaa=（Ser,ProまたはAla）。res.72でのXaa=（Val,IleまたはMet）。res.74でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.75でのXaa=（Phe,Tyr,HisまたはLeu）。res.76でのXaa=（Asp,LeuまたはAsn）。res.77でのXaa=（Asp,Glu,AsnまたはSer）。res.78でのXaa=（Ser,Gln,Asn,AspまたはTyr）res.79でのXaa=（Ser,Asn,Asp,LysまたはGlu）。res.80でのXaa=（Asn,ThrまたはLys）。res.82でのXaa=（IleAsnまたはVal）。res.84でのXaa=（LysまたはArg）。res.85でのXaa=（Lys,Asn,Gln,ValまたはHis）。res.86でのXaa=（TyrまたはHis）。res.87でのXaa=（Arg,Gln,ProまたはGlu）。res.88でのXaa=（Asn,GluまたはAsp）。res.90でのXaa=（Val,Thr,IleまたはAla）。res.92でのXaa=（Arg,Lys,Val,AspまたはGlu）。res.93でのXaa=（Ala,Gly,GluまたはSer）。rer.95でのXaa＝（GlyまたはAla）。res.97での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Xaaは以下に示すアミノ酸の1またはそれ以上の群から他とは無関係に、選択されたものである。Res.は残基residueを意味している。res.2でのXaa=（Lys,Arg,AlaまたはPro）。res.3でのXaa=（Lys,ArgまたはMet）。res.4でのXaa=（His,ArgまたはGln）。res.5でのXaa=（Glu,Ser,His,Gly,Arg,Pro,Thr,Tyr）。res.7でのXaa=（TyrまたはLys）。res.8でのXaa=（LeuまたはVal）。res.9でのXaa=（Ser,AspまたはGlu）。res.11でのXaa=（Arg,Glu,Ser,AlaまたはLys）。res.12でのXaa=（Asp,GluまたはLys）。res.13でのXaa=（Leu,IleまたはVal）。res.16でのXaa=（Gln,Leu,Asp,His,AsnまたはSer）。res.17でのXaa=

（Asp,Arg,AsnまたはGlu）。res.19でのXaa=（IleまたはVal）。res.20でのXaa=（IleまたはVal）。res.21でのXaa=（AlaまたはSer）。res.23でのXaa=（Glu,Gln,Leu,Lys,ProまたはArg）。res.24でのXaa=（GlyまたはSer）。res.25でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.26でのXaa=（Ala,Ser,Asp,Met,His,Gln,LeuまたはGly）。res.28でのXaa=（Tyr,AsnまたはPhe）。res.31でのXaa=（Glu,His,Tyr,Asp,GlnまたはSer）。res.33でのXaa=（Glu,Lys,Asp,GlnまたはSer）。res.35でのXaa=（Ala,Ser,Pro,GlnまたはAsn）。res.36でのXaa=（Phe,LeuまたはTyr）。res.38でのXaa=（Leu,ValまたはMet）。res.39でのXaa=（Asn,Asp,Ala,ThrまたはPro）。res.40でのXaa=（Ser,Asp,Glu,Leu,AlaまたはLys））。res.41でのXaa=（Tyr,Cys,His,SerまたはIle）。res.42でのXaa=（Met,Phe,GlyまたはLeu）。res.43でのXaa=（Asn,SerまたはLys）。res.44でのXaa=（Ala,Ser,GlyまたはPro）。res.45でのXaa=（Thr,LeuまたはSer）。res.49でのXaa=（Ile,ValまたはThr）。res.50でのXaa=（Val,LeuまたはIle）。res.51でのXaa=（GlnまたはArg）。res.52でのXaa=（Thr,AlaまたはSer）。res.53でのXaa=（LeuまたはIle）。res.54でのXaa=（ValまたはMet）。res.55でのXaa=（His,AsnまたはArg）。res.56でのXaa=（Phe,Leu,Asn,Ser,AlaまたはVal）。res.57でのXaa=（Ile,Met,Asn,Ala,ValまたはLeu）。res.58でのXaa=（Asn,Lys,Ala,Glu,GlyまたはPhe）。res.59でのXaa=（Pro,SerまたはVal）。res.60でのXaa=（Glu,Asp,Gly,ValまたはLys）。res.61でのXaa=（Thr,Ala,Val,Lys,Asp,Tyr,Ser,Ala,ProまたはHis）。res.62でのXaa=（Ala,ValまたはIle）。res.63でのXaa=（ProまたはAsp）。res.64でのXaa=（Lys,LeuまたはGlu）。res.65でのXaa=（ProまたはAla）。res.68でのXaa=（AlaまたはVal）。res.70でのXaa=（Ala,ThrまたはGlu）。res.71でのXaa=（Gln,Lys,ArgまたはGlu）。res.72でのXaa=（Leu,ValまたはMet）。res.73でのXaa=（Asn,Ser, AspまたはGly）。res.74でのXaa=（Ala,ProまたはSer）。res.75でのXaa=（Ile,Thr,ValまたはLeu）。res.76でのXaa=（Ser,AlaまたはPro）。res.77でのXaa=（Val,MetまたはIle）。res.79でのXaa=（TyrまたはPhe）。res.80でのXaa=（Phe,Tyr,LeuまたはHis）。res.81でのXaa=（Asp,AsnまたはLeu）。res.82でのXaa=（Asp,Glu,AsnまたはSer）。res.83でのXaa=（Ser,Gln,AsnTyrまたはAsp）。res.84でのXaa=（Ser,Asp,Asn,GluまたはLys）。res.85でのXaa=（Asn,ThrまたはLys）。res.87でのXaa=（Ile,ValまたはAsn）。res.89でのXaa=（LysまたはArg）。res.90でのXaa=（Lys,Asn,Gln, HisまたはVal）。res.91でのXaa=（TyrまたはHis）。res.92でのXaa=（Arg, Gln,GluまたはPro）。res.93でのXaa=（Asn,GluまたはAsp）。res.95でのXaa=（Val,Thr,AlaまたはIle）。res.97でのXaa=（Arg,Lys,Val,AspまたはGlu）。res.98でのXaa=（Ala,Gly,GluまたはSer）。res.100でのXaa=（GlyまたはAla）。res.102でのXaa=（HisまたはArg）。

本発明においてモルフォゲンとして使用するために特に有用な配列は、C末端ドメインを含むものである。この配列は次のものをさす。少なくとも保存された6または7個のシステイン骨格を含むもの全てで、60A,BMP3,BMP5およびBMP6（配列表配列番号24－28）のC末端ドメインからなる蛋白質と同様のVgl,Vgr-1,DPP,OP-1,OP-2,CBMP-2A,CBMP-2B,GDF-1（配列表配列番号5－14および表II）のC末端96－102アミノ酸残基を持つものである。さらに、米国特許５，０１１，６９１号に開示されているCOP-1,3-5,7,16のように一般配列からデザインされた生物的合成物は有用性がある。その他の配列としては、インヒビン/アクチビン蛋白質（米国特許４，９６８，５９０、５，０１１，６９１号を参照）が含まれる。さらにまた、その他の有用性のある蛋白質は上記の配列のいずれかと少なくとも７０％のアミノ酸配列ホモロジー「相似性」を好ましくは８０％ホモロジーか相似性を持ち、形態形成活性を示す。これらの物質は、このモルフォゲン蛋白質ファミリーの新規メンバーと同様に、自然発生的であろうと生合成的に製造されたものであろうと対立形変異、種特異型およびその他の配列変異型（「ミューテイン」または「ミュータント」蛋白質）をもつことが予想される。

ここにおいて用いている「アミノ酸配列のホモロジー」はアミノ酸配列の相似性を意味していると理解される。ホモローガスの配列は同一または相似のアミノ酸を有し、相似性のアミノ酸はDayoffらによって、Atlas of Protein Sequence and Structure:vol.5,Suppl.3,pp.345-362（M.O.Dyoff,ed.,Natl BioMed.esearch Fdn.,Washington,D.C. 1978）に定

義されたような保存性アミノ酸である。このように参照配列と７０％のアミノ酸配列のホモロジーを持つ候補配列は、参照アミノ酸配列に続いて候補アミノ酸配列を並べてみた場合、候補配列中のアミノ酸の７０％は、参照配列のアミノ酸配列に一致しているか、あるいは保存性アミノ酸変化を構成していることが必要とされる。
「アミノ酸配列同一性」は、二つの一連をなす配列の間でアミノ酸の同一性が必要であることと理解される。このように参照配列に対して候補配列が６０％の同一性を有するということは、参照アミノ酸配列と候補アミノ酸配列を並べたとき、候補アミノ酸配列中のアミノ酸の６０％が参照アミノ酸の配列に一致することが必要である。
ここで使用したホモロジーと同一性の計算には参照配列としてOP-1を用いた。またここで使用した配列は、ホモロジーと同一性の計算のためにNeedlemanらの方法（1970,J.Mol.Biol.48:443-453）を使用して配列が並べられ、アラインプログラム（DNAstar,Inc）で同一性を計算した。全例において、並べられた時の候補配列中の内部欠落とアミノ酸の挿入は、ホモロジー/同一性計算を行っている時には無視した。
現在、本発明のモルフォゲンとして有用な最も好ましい蛋白質の配列は、hOPIの6個の保存されたシステイン骨格（例えば配列表配列番号5の残基43-139）で特定されているアミノ酸配列と60%以上の同一性好ましくは65%以上の同一性を持つもつもである。これらの最も好ましい配列は、ショウジョウバエ60A蛋白質を含むOP-1とOP-2蛋白質の対立形質型と種変異型の両方を含む。さらにまた、本発明の別の好ましい観点において、有用なモルフォゲンは、「OPX」としてここに示した一般アミノ酸配列を有するポリペプチド鎖の種類から構成される、活性な蛋白質を含んでいる。このOPXは、OP1およびOP2（配列表配列番号29）の色々な同定された種とホモロジーを持つ。
本発明の別の好ましい観点において、有用なモルフォゲンは、以下のDNA又はRNA配列に厳密なハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする核酸によってコードされるポリペプチド鎖から成る活性蛋白質を含む。このDNA又はRNA配列は、OP1又はOP2の保存されるシステインドメインを特定するC-末端配列をコードするもので、夫々配列表配列番号16と20のヌクレオチド1036～1341、ヌクレオチド1390～1695である。
本発明の装置、方法、組成物に有用なモルフォゲンは、上記のポリペプチド鎖のいずれかから構成される蛋白質であり、天然の原料から単離されるか、あるいは遺伝子組換えDNAまたはその他の合成方法で調製される。更にこれらの蛋白質の対立形質型と種変異型、それらの自然発生的な又は生合成的な突然変異株、種々の切断または融合形成物を含む欠失または付加変異体も活性を有すると予想され、これらは保存性C末端システイン骨格を変更していても、折りたたみ構造においてこれらのシステインの相互関係を機能的に妨げないような骨格変更であればそれらも含まれる。さらにまた、このような活性型は、ここに開示し特徴的に述べられている構成物と等質であると考えられる。蛋白質は、次のような変異形態を含む。異なるグリコシレーションパターン、異なるN末端、アミノ酸配列ホモロジーの領域を有する関連蛋白質のファミリー、天然あるいは宿主細胞で遺伝子組換えDNAの発現によって調製した生物合成蛋白質の活性化切断型又は変異型などである。
形態形成性蛋白質は、原核細胞または真核宿主細胞中で、完全または切断cDNAあるいは合成DNAから発現させることができる。そして形態形成的に活性な組成物を形成するために精製、切断、リフォールディング、及び二重化される。現在好ましい宿主細胞としては、大腸菌、CHO、COS、BSC細胞のような哺乳動物細胞がある。本発明の方法、組成物および装置に有用なモルフォゲンの詳細な説明は、1991年3月11日出願667,274および1991年8月30日出願752,764の米国特許出願に開示されており、ここに引用することによって一体化して開示される。
本開示を考慮すると、熟練した遺伝子技術者は、種々の異なる種のcDNAまたはゲノムライブラリーから適切なアミノ酸配列をコードしている遺伝子を単離することができる。またオリゴヌクレオチドからDNAを構築し、原核細胞と真核細胞の両方を含む種々のタイプの宿主で発現させ、哺乳動物の神経回路を維持することのできる活性な蛋白質を大量に生産することができる。この神経回路保護には、瀕死のニューロンの生存性を増強するヒトを含む色々な哺乳動物における神経の再生と修復を促進することを包含するものである。

本発明の先に示した目的、特性、利点はその他の目的と特性および利点と共に、以下に示す詳細な説明からより一層明白なものとなるであろう。

図面の簡単説明

本発明それ自身と同じく、本発明の前述の及び他の目的と特性および利点は、添付されている図とともに読むことによって、以下の説明からより一層理解できるであろう。

図1（AおよびB）は、形質転換された神経芽腫Xグリオマー細胞（1A）を再分化させて、非形質転換ニューロンの形態形成特性をひきだすモルフォゲン（OP-1）の作用（1B）を示した微小写真である。

図2Aは、モルフォゲン処理されたNG108-15細胞の180kDaと140kDaのN-CAM異性体の誘導に対する容量反応曲線である。

図2Bは、モルフォゲン処理されたNG108-15細胞からの全細胞抽出物のN-CAM特異的抗体によるウエスタンブロット写真である。

図3は、モルフォゲン濃度の函数として、ランダムに選択した20の領域中の細胞凝集の平均数をプロットしたものである。

図4はヒト血清中のOP-1の存在をイムノブロットで確認した写真である。

発明の詳細な説明

ここに説明した蛋白質はニューロンの生存性を増強するための有効物質であり、特に瀕死のニューロンに有効である。そして哺乳類の神経回路を維持するために有効である。ここに開示したように、これら蛋白質（「モルフォゲン」）は非分裂性ニューロンの生存性を増強することができ、神経細胞性CAMの発現を刺激し、分化したニューロンの表現型発現を維持し、神経由来の形質転換細胞の再分化を誘導し、そして神経突起の破壊部分、特に遠位軸索の大きなギャップを超えて軸索成長を促進する。さらにまた、この蛋白質は、免疫学的に関係した神経組織の損傷に伴なう組織破壊作用を緩和するために神経保護作用を与えることができる。最後に蛋白質は哺乳動物の神経組織の生存性をモニターするための方法の一部分として使用できる。

投与および使用方法、複数の限定されない実施例と同様に本発明の方法、組成物と装置において有用な適切なモルフォゲンの詳細な説明が以下に開示される。1）死のリスクを持った神経細胞の生存性を増強し、哺乳動物の神経回路を維持するための治療剤としてここに説明するモルフォゲンおよびモルフォゲン促進剤の適合性を説明し、2）モルフォゲンとモルフォゲン促進剤としての候補物質の有効性を評価する分析方法を提供する。

I.有用なモルフォゲン

細胞及び分子の発達性カスケードを誘導して新しい臓器特異的組織の形成を導き、保存された少なくともC末端の6個のシステイン骨格又はそれと機能的に等価のもの（上記参照）から構成されているものであるならば、ここに定義するように、その蛋白質は形態形成性である。特に、モルフォゲンは一般的には、形態形成可能環境においては、次の生物学的機能全てを示すことができる。始原細胞増殖促進、始原細胞分化促進、分化細胞増殖促進、分化細胞の成長と維持を手助けする。

本発明の方法において有用なモルフォゲンが、最初にどのように特定されたかは、モルフォゲンをどのように製造し、使用し、モルフォゲン活性を試験するかと同様に国際出願US92/01968（WO92/15323）に開示されており、引用により本発明と一体化する。ここに開示するように、モルフォゲンは天然の原料や、ここに開示した遺伝子配列を用いた遺伝子操作による原核宿主細胞や真核宿主細胞の生産物から精製できる。さらにまた、新規モルフォゲン性配列がここに開示した方法に従って特定できる。

特に有用な蛋白質は、表IIに開示した天然由来の配列からなるものである。その他有用な配列は、米国特許5,011,691に開示されているような生物合成物である。この開示は引用により本発明と一体化される（COP-1,COP-3,COP-4,COP-5,COP-7 COP-16等）

さらに、本発明の方法と組成物において有用なモルフォゲンは、上に述べた配列のいずれかと、そのアミノ酸配列のホモロジー（相似性）が70%、好ましくは80%である。形態発生的に活性の蛋白質として記述される。ここで「ホモロジー」は上記に定義したものである。

本発明の方法において有用なモルフォゲンは、また、ここに記述した6個の一般配列（一般配列1,2,3,4,5,6）で記述できるものである。一般配列1と2はN末端に次の配列を含む。

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa（配列表配列番号15）

1 5

以下にしめした表IIは天然蛋白質の活性領域のアミノ酸配列を比較したもので、それはモルフォゲンとして特定され、次のものを含む。ヒトOP-1（hOP-1，配列表配列番号5および16－17）、マウスOP-1（mOP-1，配列表配列番号6および18－19）、ヒトおよびマウスOP-2（配列表配列番号7,8および20－23）、CBMP2A（配列表配列番号9）、CBMP2B（配列表配列番号10）、BMP3（配列表配列番号26）、DPP（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号11）、Vgl（ツメガエル由来、配列表配列番号12）、Vgr-1（マウス由来、配列表配列番号13）、GDF-1（マウス由来、配列表配列番号14,32および33）、60（A）蛋白質（ショウジョウバエ由来、配列表配列番号24－25）、BMP5（配列表配列番号27）、BMP6（配列表配列番号28）。配列はNeedlemanらの方法（1970,J.Mol.Biol.48:443-453）を使用して、直列に並べアラインプログラム（DNAstar,Inc）で同一性を計算した。表中の3つのドット（...）は、その位置のアミノ酸はhOP-1のアミノ酸と同じであることを示している。3つのダッシュは、その位置にはアミノ酸がないことを示し、かつホモロジーを説明するために含まれている。例えば、CBMP-2AとCBMP-2Bの残基60は欠失している。もちろんこの領域の両方のアミノ酸配列はAsn-Ser（残基58、59）からなり、CBMP-2Aでは次にLysとIleが、CBMP-2BではSerとIleが続く。

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の残基56と57の間はVal 残基である。

GDF-1の残基43と44の間には、アミノ酸配列Gly-Gly-Pro-Proがある

先のアミノ酸配列の比較から明白になったように、意味のあるアミノ酸の変更を、モルフォゲン活性を保持しつつ一般配列の範囲で行なうとが可能である。例えば、表IIに示したGDF-1蛋白質の配列は、ここに説明したhOP1と50％位しかアミノ酸の同一性を持たないに

もかかわらず、GDF-1配列は、hOP-1配列と70％以上のアミノ酸配列のホモロジー（或いは相似性）を持つ。ここで言う「ホモロジー」、「相似性」は、Dayoffらにより、Atlas of Protein Sequence and Structure:vol.5,Suppl.3,pp.345-362（M.O.Dyoff,ed.,Natl Bio Med.Research Fdn.,Washington,D.C. 1979）に示されている方法によって特定される、配列中の許容された保存性アミノ酸の変化を含む。

本発明のモルフォゲンとして有用な特に好ましい配列は、hOP1（配列表配列番号5の残基43-139）の保存された6個のシステイン骨格で特定されるアミノ酸配列と60％以上、さらに好ましくは65％以上の同一性をもつ。これらの最も好ましい配列は、ショウジョウバエ60A蛋白質、OP-1,OP-2の対立形質および種変異体の双方を含む。さらに、他の好ましい観点において、本発明は、7個のシステイン骨格を持ち、種々の特定されたマウスおよびヒトのOP1、OP2蛋白質に共通する、「OPX」としてここに示した一般アミノ酸配列を有するポリペプチドの種からなるモルフォゲンを含む。OPXは配列表配列番号29に示している。そこに記載するように、夫々のXaaはその位置で、マウスまたはヒトOP1またはOP2のC末端配列（配列表配列番号5-8及び/または配列表配列番号16-23）の相当する位置で得られる残基から他とは無関係に選択される。

II. 治療剤を投与するための製剤と方法

モルフォゲンは好ましい方法で個体に投与される。投与は好ましくは直接的（神経組織への注射のように局部的に）または全身的（非経口投与または経口投与）である。モルホゲンは非経口的に投与できる。静脈内、皮下、筋肉、眼窩、目、頭蓋、関節嚢、心室、脳槽、腹膜、頬、直腸、膣、鼻腔内又はエアロゾール投与をあげることができる。モルホゲンは好ましくは水溶液にすることもできる。溶液は患者に対して所望のモルフォゲンを与えるのに加え、患者の電解質と容量バランスに悪影響を与えないので生理的に受容可能である。モルフォゲンの水性媒体は通常の生理食塩水（9.85%食塩、0.15M）pH7-7.4である。モルフォゲンを含有する水性溶液は、一例を上げると、0.1%トリフロロ酢酸（TFA）または0.1%塩酸含有アセトニトリルの50%エタノール溶液、あるいは同等の溶媒に蛋白質を溶解させて調製することができる。得られた溶液1容量に10容量のリン酸緩衝食塩水（PBS）を加え、さらに0.1-0.2%ヒト血清アルブミン（HSA）を加えてもよい。得られた溶液は、好ましくは持続的に攪拌する。必要であれば、与えられたモルフォゲンはその他の適切な分子とを結合させて溶解度をあげることができる。例えばモルフォゲンのプロドメインを成熟２量体と結合させると、蛋白質の溶解性を相当あげることができる。（下記セクションII.1を参照）。実際、内因性蛋白質はこの形態で移送されると考えられる。溶解性を促進するものとして、特に経口投与に有用なその他の分子は、カゼインをあげることができる。例えば、0.2%カゼインの添加はOP-1の成熟活性型の溶解度を80%増加させる。牛乳及び/または種々の血清蛋白質に見出されるその他の成分も有用である。

非経口的投与に有用な溶液は、製薬技術として公知の方法で、例えばRemngton’s Pharmaceutical Science（Gennaro,A,ed.）Mack Pul.,1990に記載されている方法で調製できる。製剤化材料としては、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、植物油、水素添加したフタレンおよび類似物があげられる。特に、直接投与製剤は、グリセロールと高い粘度をもつ他の組成物を含む。例えばヒアルロン酸、コラーゲン、トリカルシウムリン酸塩、ポリブチレート、ラクチド、ラクチド/グリコリド共重合ポリマーなどを含む生体内適合性、好ましくは生体吸収性ポリマーがモルフォゲンのインビボ放出を制御する賦型剤として有用である。このモルフォゲンを非経口的に投与するシステムとして特に有用なものは、エチレンビニル酢酸共重合体粒子、浸透圧ポンプ、埋め込み式注入システム、リポゾームなどを含む。ラクトースを賦型剤として含有する吸入式投与のための処方は、例えば、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル、グリココレート、デオキシコレートを含有する水性溶液あるいは油性溶液であって鼻腔内にゲルとして投与するかあるいは、鼻腔に滴下する形態のものである。非経口的処方はバッカル投与のためにグリコレートを含有するか、直腸内投与のためメトキシサリチレートを含有するか、膣内投与のためカットリック酸を含有するものである。

さらにまた、ここに説明したモルフォゲンは経口的に投与できる。一般的に、治療薬とし

て蛋白質を経口投与することは、殆ど行われていない。大部分の蛋白質は、哺乳動物の消化器系で消化酵素と酸によってすぐに分解されて、血液中に吸収されない。しかし、ここに述べたモルフォゲンは、典型的に酸に安定でプロテアーゼ抵抗性がある（たとえば米国特許4,968,590を参照のこと）。さらに、少なくとも一つのモルフォゲン、OP-1は乳腺分泌物で、初乳および57日めの乳から同定されている。さらに乳腺分泌物から精製したOP-1はモルフォゲンの活性を有している。特に、米国特許4,968,590に開示されている、標準的に採用されているインビボ骨アッセイ法を使用して、適切なマトリックス素材と共に皮下に移植した場合、この蛋白質は哺乳動物の軟骨形成を誘導する。さらに、モルフォゲンは血流から検出される（下記実施例9を参照）。最終的に、溶解型モルフォゲン、例えばプロドメインと結合させた成熟モルフォゲンは哺乳類の神経経路を維持する作用ををを有している（下記実施例4および6を参照のこと）。これら知見は、経口および非経口投与物は、個体に対して投与した場合、モルフォゲンが生物活性を示すことを意味している。さらに、ここに示したモルフォゲンの成熟型は、典型的には非常に低い溶解性を示すが、乳（および乳腺分泌物と初乳）に見出されるモルフォゲンの形態は、非常にとけやすい。恐らく成熟型のモルフォゲン活性形が、完全な配列のプロドメインの一部又は全部と結合するか、１つ又はそれ以上の乳成分と結合しているかによるのであろう。したがって、ここで提供される化合物はインビトロ、インビボでその溶解性を促進できる分子と結合させてもよい。

ここで提供される化合物は、神経組織に対してモルフォゲンまたはモルフォゲン促進物質をターゲッティングすることができる分子と結合させることもできる。例えば、神経またはグリア細胞を含む神経組織細胞上の表面分子に特異的に作用する抗体、抗体フラグメント、他の結合蛋白質は使用可能である。有用なターゲッティング分子は、米国特許5,091,513に開示された一本鎖結合部位技術を用いて、デザインすることができる。

上記したように、ここで提供されるモルフォゲンはC末端活性ドメインの配列にホモロジーが高い。比較すると、プロドメインとして定義される配列では配列はかなり異なっている。したがって、プロドメインはモルフォゲン特異的といえる。今日迄に同定されているモルフォゲンは、異なる組織で特異的に発現されることが公知である。さらに、どのような既存の理論に制限されることなく、体内での自然条件下では、一定の組織には、特に選択されたモルフォゲンが典型的に作用しているらしい。さらに、溶液中のモルフォゲンの活性型と結合していることが確認されたプロドメインの一部まは全部が、ここに記載したモルフォゲンに対するターゲット化物質として使用できる。例えば、プロドメインは、ターゲット組織の1又はそれ以上の分子と特異的に反応するのでプロドメインと結合したモルフォゲンをその組織に方向づけることができる。さらにまた、神経組織に対してモルフォゲンをターゲッティングさせるための別な有用な分子は、モルフォゲンプロドメインの1部または全部であり、特に、自然に神経組織に結合することが確認されているOP-1またはGDF-1のプロドメインの一部または全部はである。

最後に、ここで提供されるモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤は単独で投与するか、または神経経路の維持に有効であることが知られている神経成長因子と抗炎症剤とを含むその他の分子と組み合わせて投与できる。

ここで提供される化合物は、薬剤学的に受容されうる無毒性の賦型剤およびキャリアーと混合して製剤化できる。上記のように、このような組成物は以下のような投与のために調製できる。非経口的投与、特に溶液あるいは懸濁液の形態；経口投与、特に錠剤あるいはカプセル剤の形態；鼻腔内投与、特に粉末、鼻腔内滴下剤またはエアロゾール。

組成物は、治療上有効な量をヒトまたはその他の哺乳動物に非経口的または経口的に投与するための形態に調製できる。治療上有効な量は、患者の病理学的な状態を除去するか低減するために十分な時間にわたって適切な濃度で提供できる量であり、上記に述べた神経学的な病気や障害を治療するのに十分な量である。さらにまたこの量は、神経組織に対する傷害が予測される時に神経細胞の生存性を増強し、そして／またニューロンと神経経路を保護することができる量である。

当業者には理解できるように、治療用組成物中に説明した化合物の濃度は多くの因子によ

って変動する。この因子は投与する薬剤の投与量、使用する化合物の化学的特性（疎水性など）、投与経路などである。投与する薬剤の好ましい投与量もまた、以下のような変動因子に依存している。これらの変動因子としては神経学的な疾患のタイプとその進行の程度、個々の患者の全体的な健康状態、選定した化合物の相対的な生物学的な有効性、化合物賦型剤の配合そしてその投与経路などである。一般的に言えば、本発明の化合物は、非経口的投与のためには、約0.1-10%W/Vの化合物を含有する水溶性の生理学的緩衝液として製造される。代表的な投与範囲は一日体重1kg当たり10ngから1gである。好ましい投与範囲は一日体重1kg当たり0.1μgから100mgである。最適には、全ての場合において投与されるモルフォゲンの量は、一日患者の1kg当たり2-20μgの間である。21日間連続して正常な成長期のラットに毎日成熟型モルフォゲン（OP-1，20μg）を投与した時、OP-1による生理学的問題はなにも認められない。さらに、正常な新生マウスに10日間毎日モルフォゲン（OP-1）を10μg全身的に注射したところ、どのような異常も発生しなかった。

脳血液関門を通過するための蛋白質および蛋白質フラグメントが脳-血液バリアを通過する能力は、そのサイズ、親油性またはその実際のイオンチャージに関係しているため、標準的な公知の方法を用いて、バリアを通過する機能を増強させるためにモルフォゲンの適切な変換をすることができる（フェニルアラニンをペンタフロロフェニルアラニンに置換するかまたはアルブミンのような陽イオン化された蛋白質と共役結合させる）。例えば以下のものを参照のこと。Kastin et al.,Pharmac. Biochem.Behav.,1979,11:713-716; Rapoport et al.,Science,1980,207:84-86;Pardrige et al.,1987,Biochem.Biophys.Res.Commun.,146:307-313; Riekkine et al.,1987,Peptides,8,261-265。これらの機能的アナログの有効性は、たとえばこれらの化合物が、ここに示した実施例に記述されているように、形質転換細胞の再分化を誘導したり、瀕死のニューロンの生存性を増強したりする能力を測定することによって評価できる。

本発明の方法において全身的にモルフォゲンを投与する場合に、好ましくは大容量の負荷投与量が治療の初めに採用される。次いで治療は維持量で持続される。それに続く投与は血液中のモルフォゲンレベルを一定間隔でモニターして決定することができる。

神経経路のニューロンに対する傷害が、例えば外科的な方法の一部として慎重に引き起こされる場合、好ましくはモルフォゲンは傷害の誘発のほんの少し前に投与しておくか、傷害の誘発と同時に投与される。好ましくは、モルフォゲンは手術の準備中に予防的に投与しておく。最適な条件では、全ての場合に投与されるモルフォゲンの量は患者の体重キログラム当たり2-20μgである。

さらにまた、内因性モルフォゲンレベルを促進できる物質の有効量は上記に説明したどの様な投与経路であっても投与可能である。例えば、神経組織細胞からのモルフォゲンの生産及び/または分泌を促進する物質を、哺乳動物に対して与えることができるが、これは治療されるべき神経組織に結合しているグリア細胞に対してモルフォゲンを直接投与して行なう。一定の組織中の内因性モルフォゲンのレベルを変更させることのできる物質の特定と試験を行うための方法は、ここでは実施例13に一般的に説明してあるが、国際出願US92/07359（WO93/015172）に詳細に説明してあり、引用によってここに一体化して開示される。要約すれば、候補化合物は、試験組織の細胞によって生産されるモルフォゲンの生産、即ち発現及び/または分泌にその化合物が影響を与えるのに十分な時間、試験組織またはその細胞と共にインビトロで試験化合物をインキュベートすることによって、同定し試験することができる。ここで適切な組織または培養された組織細胞は、このましくはニューロン及び/またはグリア細胞からなっている。例えば、試験のための適切な組織は黒質、下垂体グリア細胞および類似組織から単離された培養細胞を含んでいる。

候補化合物に対してさらされたとき、生成するモルフォゲンのレベルを測定するための特に好ましい検出方法としては、モルフォゲンに対して特異的に反応し、さらにモルフォゲンとのコンプレックスの一部として検出される抗体あるいは結合性蛋白質を用いたイムノアッセイがあげられる。イムノアッセイは、公知の一般的な技術とモルフォゲンに対して培養され、そのモルフォゲンに特異的である抗体を使用して行われる。ここに述べたように、モルフォゲンは天然の原料物質から単離するか、遺伝子操作によって調製できる。内

因性モルフォゲンを促進できる物質はここで説明するように製剤学的な方法によって製剤化され、投与される。
モルフォゲンを軸索の再生を促進するためにある部位に投与する場合には、好ましくはモルフォゲンは、インビボでその部位に蛋白質を保持できる適切な生体内適合性で好ましくは生体吸収性のある、それを通じて神経突起が再生するところのキャリアーと共に投与する。現在、好ましいキャリアーは、軸索の成長を方向づけるのを助けるのに十分な構造をもったものからなっている。現在好ましいキャリアーとしては、コラーゲン、ヒアルロン酸、ラミニン及び/またはポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ酪酸のような合成ポリマーまたは合成共重合体のような構造性分子である。現在もっとも好ましいキャリアーは、組織細胞外マトリックスからなるものである。これらは、市販されている。さらにまた、脳組織由来細胞外マトリックスは、引用によって本発明と一体化している国際出願US92/01968（WO92/15323）に記載の手段、及び／またはその他の公知手段によって調製できる。
神経経路特に末梢神経系の経路の切断を修復するための現在の好ましい手段としては、切断を覆うために十分な大きさを持ち、切断神経末端を受け入れることができる開口部を有する生体内適合性の隔膜またはケーシングを含む器具の一部分としてその部位にモルフォゲンを供給することを含んでいる。モルフォゲンはケーシングに配置され、好ましくは適切なキャリアー全体に分散され、そして切断された神経の末端に接触可能である。さらにまた、モルフォゲンはケーシングの内部表面に吸着されるか、そこに結合する。さらに現在の好ましいケーシングは不透過性の外表面を有している。ケーシングは神経の案内回路として作用し、さらに軸索成長の方向付けを補助する。さらにまた、ケーシングは傷痕組織の形成を助ける免疫関連物質から損傷をうけた神経を保護する。適切な回路とケーシングの素材は、シリコンあるいはコラーゲン、ヒアルロン酸、ラミニン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ酪酸および類似物質等の生体吸収性物質を含む。さらに、ここに一般的に説明した神経案内回路は、形状がチューブ状であるが、種々のその他の形状が使用され得ることが当業者には明らかである。案内回路の内腔は、例えば横断面が長円または方形であっても良い。さらにまた案内回路は、神経の切断端を守るようにしっかりと結びつけられた2またはそれ以上のパーツで構築しても良い。神経末端は、医学的技術において公知の縫合糸、フィブリングルーのような生体内適合性の接着物質又はその他手段によって神経案内回路に結び付けられる。

II.1　可溶性モルフォゲンコンプレックス

水溶液の溶解性が改善され、本質的にアミノ酸で構成されている、治療用の製剤として有用なモルフォゲンの好ましい形態は、少なくとも100のアミノ酸ペプチド配列からなる二量体モルフォゲン蛋白質又はその対立形質体、種変異体又は他の配列変異体である。このアミノ酸ペプチド配列は、モルフォゲンファミリーのメンバーのプロ領域の一部又は全部からなるペプチドと複合したモルフォゲンファミリーに特徴的な、7又はそれ以上のシステイン残基のパターンを持つ。また対立形質、種特異的あるいはそれらの変異体からなるものである。好ましくは、二量体モルフォゲン蛋白質は2つのペプチドと複合している。さらにまた、二量体モルフォゲン蛋白質は、好ましくは非共有的にプロ領域ペプチドまたはペプチドと複合している。また、プロ領域ペプチドは、好ましくはもとのモルフォゲンプロ領域を特定するN末端側18アミノ酸を少くとも持っている。もっとも好ましい実施態様では、実質的にプロ領域の全長を特定するペプチドが使用される。
その他のモルフォゲンの溶解型は、これらの蛋白質の切断されていないプロ型の二量体、二量体の一つのサブユニットは蛋白質の切断されないプロ型であり、そしてもう一方のサブユニットは蛋白質の成熟型である「半二量体」、さらにそれらの切断型を含んでおり、好ましくは切断されたプロドメインペプチドに非共有的に結合している。
上記に示したように、有用なプロドメインは、プロ領域の全長または種々のこれらの切断型を含んでいる。特にこの切断型はArg-Xaa-Xaa-Argのプロテアーゼ開裂部位で切断されるようになっている。例えば、OP-1においては可能性のあるプロ配列は残基30-292（全長型）、48-292および158-292によって特定される配列を含む。溶解性OP-1コンプレックスの安定性は、プロ領域が48-292切断型のような切断型であるよりも、むしろ全長型である

時に増強される。なぜなら残基30-47は他のモルフォゲンのN末端部分と配列のホモロジーを示していて、全てのモルフォゲン対してコンプレックスの安定性を増強するので有用性が高いと考えられている。したがって、一般的に好ましいプロ配列は、与えられたモルフォゲンのプロ領域の全長をコードしたものである。有用性のあることが期待されているその他のプロ配列は生物合成プロ配列であって、特に1またはそれ以上のモルフォゲンプロ配列のN末端部に由来した配列を組み込んだものである。

当業者には容易に理解されるように、プロ領域をコードする有用な配列は、公知のモルフォゲンをコードする遺伝子配列から得ることができる。さらにまた、キメラのプロ領域は1またはそれ以上の公知のモルフォゲンの配列から構築することができる。更にまた、別の可能性としては、1またはそれ以上の公知のプロ領域の合成配列の変異体をつくり出すことである。

別の好ましい実施態様においては、有用なプロ領域ペプチドは核酸配列によってコードされるアミノ酸配列からなるポリペプチド鎖をふくんでいる。この核酸は、配列表配列番号16および20のヌクレオチド136-192と152-211に夫々対応するOP1または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またはRNA配列と厳密な限定条件下でハイブリダイズするものである。

A.培養液または体液からの可溶性モルフォゲンコンプレックスの単離

モルフォゲンは可溶性コンプレックスとして哺乳動物細胞に発現される。しかし、通常コンプレックスは、精製溶液中にしばしば添加される洗浄剤、アルコール、有機溶媒、カオトロピック剤及び溶液のpH低下のために添加される化合物等の変質剤にさらされることによって、精製中に解離する。以下に示すものは、非変質条件下で調製された培地（または場合により、血清、脳脊髄液あるいは腹膜液のような体液）から可溶性蛋白質を精製するための一般的に好ましいプロトコールである。本方法は、素早く、再現可能であり、そして実質的に純粋な状態で単離された可溶性モルフォゲンコンプレックスを産出する。

可溶性モルフォゲンコンプレックスは、変性剤の存在下で行なわれる簡単な3ステップのクロマトグラフィプロトコールを使用して調製培地から単離することができる。プロトコールには培地（あるいは体液）をアフィニティーカラムに流し、続いてイオン交換とゲル濾過クロマトグラフィーを通過させることからなっている。ここに述べたアフィニティーカラムはZn-IMACカラムである。本プロトコールはモルフォゲンの変異体の精製にも一般的には適用可能である。なお、変異体全てが以下に説明するプロトコールのマイナーな変更を行うだけで単離できると予想される。さらにまた他のプロトコールは与えられたモルフォゲンのプロドメイン（例えばプロテインA結合セファロースカラムに対して結合した）に対して特異的に結合する抗体を用いるなどの標準的な手法で作られたイムノアフィニティカラムにおいて有用性を持つことが想定している。イムノアフィニティカラムを調製するためのプロトコールは先行技術に開示されている（例えばGiede to Protein Purification, M.Deutscher,ed.,Academic Press,San Diego,1990, のセクションVIIとXIを特に参照のこと）。

本実験において、OP-1は先行技術（例えば国際出願US90/05903（WO91/5802））に開示されたように哺乳動物細胞であるCHO（chinese hamster ovary）細胞で発現させた。0.5%FBSを含むCHO細胞調整培地は最初にImmobilized Metal-Ion Affinity Chromatografy（IMAC）を使用して精製した。調製培地からの可溶性OP-1は非常に選択的にZn-IMAC樹脂に結合し、高濃度のイミダゾール（50mMイミダゾールpH8.0）で結合したコンプレックスを効率的に溶出した。Zn-IMACのステップでは、フロースルーと35mMイミダゾールで洗浄したフラクションに溶け出す大量の夾雑血清蛋白質から可溶性OP-1を分離する。Zn-IMACで精製した可溶性OP-1は、次いで50mMNaClを含む20mM$NaPO_4$（pH7.0）で平衡化したS-セファロース　陽イオン交換樹脂カラムにかける。このS-セファロースステップはさらに精製を行い、そして次のゲル濾過ステップのための前処理として可溶性OP-1コンプレックスを濃縮する。蛋白質はTBSで平衡化したセファクリルS-200HRカラムにかける。基本的には同一のプロトコールを用いて、可溶性のモルフォゲンを血清、脳脊髄液、腹腔内液などの1またはそれ以上の体液から単離することができる。

IMACは、カラムの3倍容量の0.2M $ZnSO_4$でチャージしたキレート化セファロース（Pharmacia製）を使用して行う。調製培地はpH7.0に調整し、500mM NaCl含有20mM HEPES（pH7.0）で平衡化したZn-IMAC樹脂に直接負荷した。Zn-IMAC樹脂は、樹脂1mlあたり調製培地80mlを負荷させる。負荷後カラムを平衡化緩衝液で洗浄し、夾雑蛋白質の大部分を35mMイミダゾールを含む平衡化緩衝液（pH7.0）で溶出した。次いで可溶性OP-1コンプレックスを50mMイミダゾール（pH8.0）を含む20mMHEPES-500mM食塩溶液で溶出した。

可溶性OP-1コンプレックスを含む50nMイミダゾール溶出液は20mM$NaPO_4$（pH7.0）9倍容量で希釈し、50mM NaClを含む20mM $NaPO_4$（pH7.0）で平衡化したS-セファロース（Pharmacia製）カラムにかけた。S-セファロース樹脂は、樹脂1mlあたり調製培地800mlを負荷した。負荷後、S-セファロースカラムを平衡化緩衝液で洗浄し、100mM NaClで溶出し、続いて300mM、および500mM NaClを含む20mM $NaPO_4$（pH7.0）で溶出した。300mM NaClのプールはさらにゲル濾過クロマトグラフィーで精製した。300mM NaCl溶出液50mlを、トリス緩衝食塩水（TBS）・50mM Tris・150mM NaCl（pH7.4）で平衡化した5.0×90cm セファクリルS-200HR（Pharmacia製）に適用した。カラムは5ml/分の流下速度で溶出し、10mlずつ分画した。見たところでは溶性OP-1の分子は蛋白質分子量標準と比較して決定した。分子量標準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）、カルボニックアンヒドラーゼ（CA 30kDa）およびチトクロームC（cyt C 12.5kDa）である。S-200カラムのフラクションの精製度は標準的な15%SDSポリアクリルアミドゲルのクーマシーブルー染色による分離によって決定した。成熟OP-1とプロドメインの特定は、標準的な逆相C18HPLCを用いてプロドメインから成熟OP-1を分離してN末端アミノ酸配列を分析して決定した。

可溶性OP-1コンプレックスはおよそ110kDaの分子量で溶出される。これは、2つのプロドメイン（各39kDa）に1つの成熟OP-1二量体（35-36kDa）が結合したという可溶性OP-1コンプレックスの組成の予想値に一致した。最終的なコンプレックスの純度は還元型15%ポリアクリルアミドゲルに適切なフラクションを流下させて証明することができる。

コンプレックスのコンポーネントは、S-200またはS-200HRカラムからのコンプレックスを含むフラクションを、標準的な手法によるアセトニトリルのグラジエント（0.1%TFA中）で逆相C18HPLCカラムにかけ、溶出して決定できる。コンプレックスはこのステップで解離し、プロドメインと成熟種は分離した種として溶出する。ついでこれらの分離した種は標準的な手法（例えばGuide to Protein Purification,M. Deutscher,ed.,Academic Press,San Diego,1990,特に602-613ページを参照）を用いてN末端配列を決定する。そして分離した36kDaと39kDaの蛋白質は夫々成熟モルフォゲンおよび単離され、切断されたプロドメインであることが確認された。哺乳動物細胞の生産したOP-1からの単離したプロドメインのN末端配列は、プロ領域の2つの型を示していた。これは完全型（配列表配列番号16の残基30からはじまる）と切断型（配列表配列番号16の残基48からはじまる）である。単離した成熟種のポリペプチドサブユニットのN末端配列は成熟配列のN末端が配列表配列番号16の残基293、300、313、315、316および318からはじまっていることを明らかにした。さらにこれらのすべてが標準的な骨誘導分析法で活性を示していた。

B.インビトロの可溶性モルフォゲンコンプレックス形成

培養培地または体液から可溶性コンプレックスを精製するかわりに、可溶性コンプレックスを精製したプロドメインと成熟型二量体種から構築することもできる。明らかに、上手なコンプレックス形成は、SS結合に影響しないように、これらの分子の折り畳み構造を緩めるのに十分な変性条件の下で成分を結合させることが必要となる。好ましくは、変性条件は、切断されたプロドメインが、緩められた折り畳み条件下で成熟型二量体種と結合する機会を持つように細胞内小嚢の条件に十分に似せておく。そのときの溶液中の変質剤の濃度は、二量体とプロドメインの結合を維持する一方で、二量体とプロ領域とが適切なリフォールディングを行えるように、好ましくは段階的にコントロールして減らしていく。有用な変質剤は、pH4-10、好ましくはpH6-8の緩衝溶液中に4-6M尿素またはグアニジン塩酸塩（GuHCl）を含むものである。そのとき可溶性コンプレックスは、透析で制御するか、または尿素あるいはGuHClの0.1-2M以下、好ましくは1-2M以下の最終変質剤濃度に溶液

を希釈することで形成される。尿素あるいはGuHCl濃度は、好ましくは生理的な緩衝液で希釈する。蛋白質の精製/再生手段と要件は先行技術に開示されており、適切な再生プロトコールを開発するための詳細は、当業者によって容易に決定することができる。この問題に対する一つの有用なテキストは、Guide to Protein Purification, M.Deutscher,ed.,Academic Press,San Diego,1990,とくにセクションVをあげることができる。コンプレックス形成はまた、1またはそれ以上のシャペロン蛋白質を加えることで補助される。

C.可溶性モルフォゲンコンプレックスの安定性

生理学的緩衝液、例えばトリス緩衝食塩水（TBS）及びリン酸緩衝食塩水（PBS）中の高純度可溶性モルフォゲンコンプレックスの安定性は、多くの手段のうちどれでもで増強できる。一般的に好ましい方法は、少なくともプロ配列の最初の18アミノ酸配列表配列番号16のOP-1の残基30-47）からなるプロ領域を使用することであり、プロ領域の全長を使うことは特に好ましい。残基30-47はその他のモルフォゲンのN末端部分と配列にホモロジーがあり、そして全てのモルフォゲンにとってコンプレックス安定性を増強するために特に有用であると考えられている。可溶性モルフォゲンコンプレックスの安定性を増強するためのその他の有用な手段は、3種類の添加物を含む。これらの添加物は塩基性アミノ酸（L-アルギニン、リジンおよびベタイン等）、非イオン性洗浄剤（Tween-80またはNonIdet p-120）およびキャリアー蛋白質（血清アルブミンおよびカゼイン等）を含む。これらの添加物の有効濃度は塩基性アミノ酸の場合1-100mM、好ましくは50mMを含む10-70mMであり、非イオン性界面活性剤の場合0.01-1.0%、好ましくは0.1%（v/v）を含む0.05-0.2%、キャリアー蛋白質の場合0.01-1.0%、好ましくは0.1%（w/v）を含む0.05-0.2%である。

このアミノ酸ペプチド配列は、モルフォゲンファミリーのメンバーのプロ領域の一部又は全部からなるペプチドと複合したモルフォゲンファミリーに特徴的な、7又はそれ以上のシステイン残基のパターンを持つ。

III.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分布を測定することは、得られた組織で発現した異なるモルフォゲンを、関連するモルフォゲンと同様に、同定するために使用される。組織分布は、候補モルフォゲン誘導物質のスクリーニングと同定の為に有用なモルフォゲン生産組織を同定するのに使用される。組織分布はさらに候補モルフォゲン誘導物質をスクリーニングし同定する為に有用なモルフォゲン産生組織を同定するのに使用されるモルフォゲン（あるいは、mRNAの転写物）は、発現が低い組織でも、標準的な手法と一部変法を用いて異なった組織で容易に同定される。例えば、蛋白質の分布は標準的なウエスタンブロットや免疫蛍光操作とモルフォゲンあるいは目的のモルフォゲン群に特異的な抗体で同定できる。同様にモルフォゲン転写物の分布は、標準的なノーザンハイブリダイセーション法と転写物特異的プローブを用いて特定される。

転写物に特異的にハイブリダイズし、その他の関連した転写物から目的の転写物を区別するプローブを使用できる。なぜならば、ここでいうモルフォゲンはその活性C末端ドメインと高いホモロジーを以ているため、特異的なモルフォルゲンの転写物の組織識別が未成熟蛋白質のプロドメイン、および/または成熟蛋白質のN末端領域をプローブを用いて識別できる。その他の有用な初列は3’非コード領域のフランキングとそれに続く明らかなストップコドンである。配列のこの部分は、本発明のモルフォゲンの間でも、実質的に異なっている。そしてそれゆえに蛋白質特異的である。例えば特に有用なVgr-1特異的プローブ配列は、PvuII-SacI断片であり、非翻訳プロドメインと成熟N末端領域の両方をコードする265bpのフラグメントからなる（Lyons et al.（1989）PNAS 86:4554-4558にcDNA配列が記載されている。同様に、特に有用なmOP-1特異的プローブ配列は、BstXI-BgIIフラグメント、mOP-1のプロ領域の約２／３をカバーする0.68Kb配列；StuI-StuIフラグメント、７システインドメインの直ぐ上流の0.2Kb配列；及びEarI-PstIフラグメント、３’非翻訳配列の一部分を含む0.3Kbフラグメントである（配列表配列番号18参照、そのプロ領域は残基30-291で基本的に規定されている）。同様のアプローチが使用され、例えばhOP-1（配列表配列番号16）、ヒトまたはマウスOP-2（配列表配列番号20及び22）に使用。

合成操作あるいはクローン化した配列から得たこのモルフォゲン特異的プローブを使い、従来技術として良く知られている手法により、モルフォゲン転写を哺乳動物組織から同定した。要約すると、全RNAは種々の成熟マウス組織（肝臓、腎臓、睾丸、心臓、脳、胸腺、胃）から、Chomezyaskiらの方法（1987、Anal. Biochem 162:156-159）及び以下に示した方法のような標準的な方法で調製した。ポリ（A）+RNAはオリゴ（dt）-セルロースクロマトグラフィー（ファルマシアLKBバイオテクノロジーInc.）を用いて調製した。各組織からのポリ（A）+RNA（通常15μg）を1%アガロース/ホルムアルデヒドゲルで分離し、Nytran膜（Schleicher & Schuell）に移した。転移に続いて、メンブランは80℃に加温し、RNAはUV光で架橋させた（通常1mw/cm^2で30秒間）。ハイブリダイゼーションに先立ち、加熱により適当なプローブを変性させた。

ハイブリダイゼーションはローラーボトル中で回転しているルーサイト製シリンダー中で行った。1rev/分、37℃ 15時間、40%フォルムアミド、5×Denhardts、5×SSPE、0.1%SDSの条件とした。ハイブリダイゼーションに引き続いて、50℃で0.1%SDS,0.1×SSPEでフィルターの非特異的カウントを洗浄した。

種々のモルフォゲンの組織分布を実施例に示している。Vgr-1,OP-1,BMP2,BMP3,BMP4,BMP5,GDF-1,OP-2について行い、成人組織について米国出願USSN 752,7264に開示し、またOzkaynak et al. 1991, Biochem. Biophys. Res. Commn. 179:116-423, およびOzkaynak et al. 1992,JBC（印刷中）に開示しており、引用により本発明と一体化する。ここに記載した通常のプローブ技術を用いて、脳、脾臓、肺、心臓、肝臓及び腎臓組織に対するこれらのモルフォゲンに特異的なプローブを使ったノーザンブロットハイブリダイゼーションは、腎臓関連組織がOP-1の最大の発現ソースであることを示しており、脳、心臓、肺組織が第二のソースであることを示している。OP-1 mRNAもまた、このプローブ法によって唾液腺、特にラット耳下腺中に特定されている。肺組織は、Vgr-1,BMP5,BMP4およびBMP3の最大の組織発現ソースであるとおもわれる。Vgr-1の低レベルは腎臓と心臓組織に認められ、一方、肝臓はBMP5の第二の発現ソースであり、脾臓はBMP4の第二の発現ソースであることが示された。GDF-1は脳中で一番多く発現されている。今日ではOP2は、初期の栓塞組織において一番多く発現していることが確認されている。特異的にマウス胚と出生後6日めの動物のノーザンブロットでは、8日めの胚にOP2の発現が認められた。発現は17日目の胚で顕著に減少し、出生後の動物では検出されなかった。

実施例2. 神経系のモルフォゲンの分布

モルフォゲンは成長中および成熟ラットの脳および脊髄組織に特定されており、成長期および成熟ラットの神経組織（上記実施例１）から抽出したmRNAにたいしてモルフォゲン特異的プローブのノーザンブロット法と免疫組織学的研究法によって特定されている。例えば、成長期ラット組織のノーザンブロット分析ではCNS中で明らかにOP-1 mRNAの転写発現が確認されている（国際出願US92/01968（WO92/15323）、Ozkaynak et al.,1991,Biochem.Biophys. Res. Comm.,179:11623、Ozkaynak,et al.,1992,J.Biol.Chem.,267:25220-25227）。GDF-1 mRNAは成長期および成熟ラットの神経組織で最も多く発現することが確認されている。特に小脳および脳幹を含む脳、脊髄および末梢神経で確認されている（Lee,S.,1991,PNAS 88:4250-4254）。BMP2B（BMP4として先行技術を参照）およびVgr-1の転写は神経組織で発現することが報告されている（Jones et al.,1991,Development,111:531-542）。しかし神経組織ではこれらの遺伝子の初期発現組織は知られていない（Ozkaynak,et al.,1992,J.Biol.Chem.,267:25220-25227）。特にCBMP2の転写は、下垂体の発達に伴って間脳の領域で発現することが知られており、Vgr-1のmRNAは、発達中の神経管の底板にきわめて隣接した細胞中と同様に、発達中の神経管の上衣板を含む、CNSの腹背軸で報告されている。老齢ラットでは、Vgr-1のmRNAが、発達した海馬組織で報告されている。さらにOP-1とBMP-2を本来的にコードする遺伝子は、ヒト海馬cDNAライブラリーをプローブして特定された。

公知技術の一般的な方法とここに一体化されている国際出願US92/01968（WO92/15323）の開示内容を用いて免疫組織学的研究は、成長期の特定の領域及び成熟ラットの脳と脊髄の組織にOP-1の発現が極在化していることを確認した。公知の先行技術による標準的な抗体

のプロトコールを用いて作成し、好ましくはOP-1アフィニティーカラムで精製した標準的なモルフォゲン特異的抗血清を用いて、特にウサギ抗-OP1抗血清を用いて、特異的にOP-1蛋白質の発現が、成熟（2-3カ月齢）マウスおよび5-6日齢胎児性神経組織で評価されている。抗体それ自身は標準的な蛍光ラベル化技術を用いてラベルし、あるいはラベル化抗ウサギIgG分子が結合OP-1抗体を視覚化するために用いられている。

免疫染色によって成熟ラット中枢神経系（CNS）にOP-1の存在を示すことができる。同一のそして広い範囲に染色が、脳（1A）と脊髄（1B）に認められた。同一のそして広い範囲に染色が、脳（1A）と脊髄(1B）に認められた。OP-1は、灰白質（神経細胞体）の細胞外マトリックスに一番多く分布していることが確認されており、細胞体それ自身を除いて全体に明らかに存在している。ミエリン鞘化した神経繊維で主に形成された白質には、染色は神経膠星状細胞（グリア細胞）限定されていることが確認された。さらにまた同様の染色パターンが新生ラット（10日齢）の脳部分に観察された。

さらにまた、OP-1は特異的に黒質に分布しており、黒質は線条体基底節、大脳皮質に結合している副運動ニューロン系および皮質脊髄を構成している。これらのサブポピュレーションあるいはニューロンの系の機能不全はハンチントン舞踏病とパーキンソン病を含む多くのニューロパシーと関係している。

OP-1はまたアデンデマグリア細胞に分布している。これは脳脊髄液中に各種の因子を分泌することが知られており、成長期および成熟ラットの心室弁、コロイド溝、脳の中心溝の周辺でみられる。

最終的に、成長期の胚のモルフォゲンの抑制が神経組織の発達を抑制している。特に、標準的な条件でインビトロで培養している9-日目のマウス胚細胞を、遺伝子操作で調製し、精製し、免疫源として用いて調製したOP-1特異的モノクローナル抗体の存在下および非存在下でインキュベートを行った。抗体は先行技術と実施例13に一般的に開示した標準的な抗体生産手段で生産した。2日後に成長期の胚への抗体の作用を組織学的に観察して評価した。組織学的試験によって測定したところ、OP-1特異的抗体は、特異的に、成長期の胚において眼葉の形成を阻害した。特に間脳の外成長が発達しなかった。さらに心臓は奇形化した。さらにまた、ラベル化したOP-1特異的抗体を用いて胚の断面の免疫組織学的研究方法で分離したところ、OP-1特異的抗体は神経上皮に分布した。

神経細胞に作用する内因性モルフォゲンは、神経組織細胞例えばニューロン及び/またはニューロンに結合するグリア細、胞によって発現し分泌され、脳脊髄液および/または血流によってニューロンへ移送される。最近、OP-1はヒト血液中に確認された（下記実施例9）。さらに、最近になって移送されたシュワン細胞が、少なくとも、いくつかの新しい神経突起の周辺に管腔形成とミエリン鞘形成誘導することを含む、ラット脊髄の神経繊維形成を促進することが発見された（Bung,1991,Exp.Neurology,114:254-257）。これらの細胞の再生能力はシュワン細胞によるモルフォゲンの分泌によって媒介させることができる。

実施例3. モルフォゲンによる神経細胞生存性の増強

ここに述べたモルフォゲンは細胞の生存性を増強するが、特に瀕死の神経細胞の生存性を増強する。例えば、十分に分化したニューロンは非分裂性であり、公知の合成培地あるいは低血清培地を用いて、標準的な哺乳動物細胞培養条件下で培養した時、インビトロでは死滅する（Charness,1986,J.Biol.Chem.,26:3164-3169、Freese et al.,1990,Brain Res.,521:254-264を参照のこと）。しかし、もし非分裂性神経細胞の初代培養がモルフォゲンで処理されたばあい、これらの細胞の生存性は大幅に増強される。例えば、成熟ラット脳の黒質から単離された線条体基底節の初代培養は、標準的な方法を使用して行われた。即ち黒質組織をパスツールピペットを使って均質化して分離し、標準的な組織培養プロトコールをを使用し、低血清培地、例えば50% DMEM（Dulbecco’s modified Eagle’s medium）、50%F-12培地、ペニシリン/ストレプトマイシン添加不動化馬血清、4g/lのグルコースを用いて増殖させた。標準的な培養条件の下では、これらの細胞は無血清培地で培養した時3週間で明らかに死滅していった。細胞死は、細胞接着性の不活性化とその超微細構造的な特徴の変化例えばクロマチン凝集とオルガネラ崩壊などにより、形態学的に明らか

な事実であった。
この例においては、培養基底節は、0.1-100ng/mlのOP-1を配合した合成培地で処理した。新鮮なモルフォゲン-調製培地は、3-4日ごとに細胞に供給した。細胞の生存性は明らかに増強され、添加したOP-1のレベルに依存していた。OP-1の濃度が細胞培養中で増加したとき、明らかに細胞死が減少した。特異的に、細胞は接着性を残し、生存分化ニューロンの形態学的特性の保持が持続した。モルフォゲン処理がない場合には、培養細胞の殆どが解離し、細胞壊死をきたした。
黒質の基底節の機能不全は、インビボではハンチントン舞踏病とパーキンソン病に関係している。ここで説明するニューロンの生存性を増強できるモルフォゲンの機能は、このモルフォゲンがニューロパシまたは化学的、物理的傷害のため、インビボで、瀕死の神経性細胞の生存性を増強する治療の一部分として有用であることを明示している。臨床応用のためには、モルフォゲンを投与するか、あるいはまたモルフォゲン産生刺激剤を投与することができる。
実施例4. 形質転換細胞のモルフォゲン誘導性再分化
ここに述べたモルフォゲンは形質転換細胞を、非形質転換細胞に特徴的な形態学的特性への再分化を誘導する。特にモルフォゲンは神経由来の形質転換細胞を非形質転換ニューロンの形態学的特性への再分化を誘導することができる。神経由来の形質転換ヒトNG108-45株の再分化を誘導したモルフォゲンについて、以下に示す実施例で詳細を説明する。また形質転換細胞のモルフォゲン誘導再分化はマウス神経芽腫細胞（N1E-115）およびヒト胎児カルシノーマ細胞についてである（国際出願US92/01968（WO92/15323）を参照）。
NG108-15は神経芽腫とグリオマー細胞を融合させて作製した形質転換融合細胞株であり（America Type Tissue Culture,Rockville,MDから入手）、形質転換胎児ニューロンの形態学的特徴を有している。即ち繊維芽細胞の形態学性を有している。特に細胞はポリゴナルな細胞体を有し、短い、スパイク様の突起を有し、近接細胞にまれに接触する（図1A）。NG108-15細胞を無血清の合成倍地中で0.1から300ng/mlのOP-1をいれて4時間インキュベーションすると、確実に濃度依存性の細胞形態学的変化が誘導される。
実験中NG108-15細胞は、ポリL-リジンコートの6穴プレートで予備培養した。各ウエルには2.5mlの合成培地中に細胞を40-50,000個を含有させた。3日めに0.025%のトリフルオロ酢酸を含む60%エタノールにOP-1 2.5μlを各ウエルに添加した。OP-1の濃度は0-300ng/mlで試験を行った。通常、培地は新しいOP-1のアリコートで毎日交換し、さらにモルフォゲンは、OP-1での4時間のインキュベーションによって誘導できた。さらにOP-1の濃度を10ng/mlにすることで再分化を十分誘導した。1日後に、hOP-1処理細胞は明らかにその細胞の超微細構造が変化した。その変化は細胞体の周囲を含んでおり、相の鮮やかさが増加しそして短い神経突起が長くなった。2日後、OP-1で処理した細胞は上皮性シートを形成し始めた。このシートは処理後3日目にはじまる多層凝集成長の基を供給している。4日目までにOP-1処理細胞の殆どが密着した多層凝集状態に結合した（図1B）。図2は、モルフォゲン濃度の作用として、6つの独立した実験群からランダムに選択した20の視野中の多層凝集あるいは細胞凝集の平均数をプロットしたものである。40ng/mlのOP-1は細胞凝集の最大値の半分を誘導した。
モルフォゲン誘導の再分化が、DNA合成、細胞分裂、または細胞の生存性などの、どのような変化ももたらさずに起こり、これは、形態学的変化が細胞の分化あるいはhOP-1の毒性作用にとって２次的なものではないということを示している。さらにOP-1誘導性形態形成は、形質転換細胞の分化を増強することがわかっている酪酸塩、DMSO、レチノイン酸、フォルスコリンのようなその他の分子とは異なり、トリチウムチミジンの取り込みによって測定したように、細胞分裂を阻害しなかった。データは、OP-1が細胞の安定性と生存性を再分化誘導後も維持できることを示している。さらに効果はモルフォゲンに特異的であって、NG108-15細胞を0.1-40ng/mlのTGF-βでインキュベートした時には再分化は誘導されなかった。
また、実験は高純度可溶性モルフォゲン（成熟型OP-1とそのプロドメインを結合させたもの等）を用いて行い、これはまた特異的にNG108-15細胞の再分化を誘導した。

従って、ここに述べたモルフォゲンは神経系の腫瘍或いは腫瘍性病変の処置の、特に網膜芽腫瘍および神経膠腫を含む神経芽腫の処置において、有用な治療剤を提供する。モルフォゲンそれ自身を投与することもできるし、さらにモルフォゲン産生刺激剤を投与することもできる。

実施例5. 化学的損害からの神経組織の保護

正常細胞の生存性を増強し、再分化細胞の細胞凝集および細胞-細胞接着を誘導するここに説明するモルフォゲンの機能は、モルフォゲンが化学的に引き起こされた損傷から回路を保護している細胞を保護していることによって、神経回路を維持するための治療剤として有用であることを示している。特にモルフォゲンはニューロンを保護することができる。これは、ニューロンの増殖と遊走を阻害し、細胞と細胞の接着を邪魔することが知られている毒物の作用からニューロンを保護して発達させることを含んでいる。このような毒物の例としてはエタノールが含まれ、タバコの煙中に含まれる1またはそれ以上の毒物および種々の阿片化合物がある。ニューロンの発達におよぼすエタノールの毒性作用は、胎児性アルコール症候群であきらかにされた神経学的損傷を誘発させる。モルフォゲンはまた、グルタミン酸塩のような興奮性アミノ酸に関連した細胞毒性からニューロンを保護することができる。

例えば、エタノールは、モルフォゲン処理したNG108-15細胞の細胞-細胞接着作用に対して、これらの細胞に20-50mM濃度で与えた時、これを阻害する。最大阻害の半量値は5-10mMエタノール濃度であることが試験されている。この濃度は一本のアルコール飲料を飲んだ後の成人の血液中のアルコール濃度である。モルフォゲン誘導N-CAMレベルがエタノールによって影響されないので、むしろエタノールはCAMの誘導より細胞とCAMの特異的な結合を恐らく障害している。さらに、抑制的な作用はモルフォゲン濃度に逆比例している。従って、エタノールのような毒物に露出することからの損害のリスクにあるニューロンであって、特に発達中のニューロンに対してモルフォゲンまたはモルフォゲン促進剤を投与することは、毒物の阻害作用を回復することによって神経組織の損害からこれらの細胞を保護することになると予想される。ここに述べたモルフォゲンは、これらの毒物に露出して誘導されたニューロパシーからもたされる損傷した神経経路を処置するための治療に有用である。

実施例6. モルフォゲン誘導CAM発現

ここに説明したモルフォゲンは、形態形成誘導の一部としてCAMの発現を誘導し、特にN-CAM発現を誘導する。CAMは組織発達の必須段階として、全ての組織から同志された形態形成制御分子である。N-CAMは少なくとも3種の異性体からなっており（N-CAM-180、N-CAM-140、N-CAM-120、ここで180、140、120はポリアクリルアミドゲル電気泳動で測定したおよその分子量である）少なくとも、一時的に発達中の組織で発現されており、そして神経組織では永続的である。N-CAM-180、N-CAM-140どちらの異性体も発達中の組織と成熟組織両方で発現している。N-CAM-120は、成熟組織のみで見出される。他に中間型CAMであるL1がある。

N-CAMは適切な神経の発達に組み込まれている。この発達は適切な神経胚形成、神経細胞凝集、束化、シナプス形成等を含む。N-CAM特異的抗体を用いて分子を複合化することによるN-CAM生産の阻害は網膜の形成を阻害する。網膜の形成阻害には網膜の軸索の凝集、標的の筋細胞への軸索の接合のような末梢神経系での軸索形成がある。さらに、物理学的あるいは化学的ニューロンの損傷、癌性形質転換およびなんらかの遺伝性神経疾患が、細胞の接着性と凝集性を変更する、CAMの発現における変化によって組み合わさっていることが明白な事実として示されている。特にN-CAMレベル増加はハンチントン舞踏病の線条体（線条体基底節など）で増加し、接着性減少はアルツハイマー疾患で記録されている。ここで説明したモルフォゲンはCAMの生産、特にN-CAM分子の全ての異性体を含むN-CAMとL1の生産を刺激することが可能である。例えば、N-CAMの発現はモルフォゲン処理NG108-15細胞では顕著に促進されている。未処理NG108-15細胞は繊維芽細胞性の、あるいはほんの少しだけ分化した形態学的特性を示し通常は分化細胞に見られるN-CAMの180と140のみを発現する。モルフォゲン処理に引き続いて、これらの細胞は成熟ニューロンの形態学的特

性を示し、N-CAMの3種の異性体すべての発現レベルが増強された。下記の実施例に示したと同様なプロトコールを用いると、さらにまたモルフォゲン処理NG108-15細胞のL1発現が誘導された。

本実施例においてNG108-15細胞をOP-1を添加して濃度が増加した状態で4日間培養し、そして標準的なウエスタンブロットを全細胞抽出物について行った。N-CAM異性体が、3種の異性体全てに交差反応する抗体mAb H28.123を用いたところ検出された。抗体はSigma Chemical Co.St.Louisから入手できる。異なった異性体はゲル電気泳動の異なった移効度によって区別することができる。対照のNG108-15細胞（未処理）は、100μgの蛋白質を用いてウエスタンブロットを行って確認した所、140kDaと180kDaの異性体を発現しているが、120kDaは発現していない。OP-1処理NG108-15細胞は、120kDa異性体を誘導すると同時に、濃度に依存して180kDaと140kDaの異性体の発現が増加する。図2A、図2BではmAb H28,123をプローブとして行ったOP-1処理NG108-15細胞抽出物のウエスタンブロットを示しており、3つの異性体全ての誘導が認められる。図2Aはモルフォゲン濃度の作用としてN-CAM-180とN-CAM-140の容量反応曲線をである。N-CAM-120はグラフ中に認められず、対照細胞中では定量できなった。しかし図2Aのウエスタンブロットであきらかなように、N-CAM-120はモルフォゲン処理に応答して誘導されている。N-CAM-180とN-CAM-140の異性体に認められる誘導の違いは、140異性体の構成的発現が最大値に近く、ことによるものと考えられる。

N-CAM発現の増加は、多細胞凝集のモルフォゲン誘導に応答していた。図2Aと図3Bを比較した。図3は6つの独立した実験でランダムに選択した20のフィールド当たりのモルブォゲン濃度に対する、多層性凝集（凝集）の平均数をグラフ化したものである。120異性体の誘導はモルフォゲン誘導された形質転換細胞の再分化は形質転換された発現型細胞からの細胞の再分化を促進するだけでなく、成熱細胞へ作用して発現型への分化も促進したことを示している。モルフォゲン処理細胞にmAb H28.123を用いて行った免疫組織学的研究では、末梢と処理細胞の神経突起を結びつけるN-CAMクラスター形成が認められ、未処理細胞では反応していなかった。さらにまた、モルフォゲン処理は、細胞数の計数またはトリチュウムチミジンの取り込みによって測定したところ、細胞分裂は抑制しなかった。最後に、フォルスコリンとジメチルスルフォキシドのような公知の化学的分化剤はN-CAM生産を誘導しなかった。

さらに、NG108-15細胞に対するOP-1の細胞凝集作用は抗N-CAM抗体またはアンチセンスN-CAMオリゴヌクレオチドで抑制できる。アンチセンスオリゴヌクレオチドは公知技術の一般的な手段でヌクレオチドシンセサイザーを使用して合成できる。好ましくはホスホロチオレートオリゴヌクレオチド（S-オリゴ）を調製して、細胞膜のヌクレオチドの透過を促進させる。N-CAM誘導を阻害するために十分なN-CAM抗体とN-CAMアンチセンスオリゴヌクレオチドの両者の濃度は、多層化細胞凝集の形成をも阻害する。特に0.3-3μMのN-CAMアンチセンスS-オリゴ、5-500μM非修飾N-CAMアンチセンスオリゴあるいはまた10μg/ml mAb H28.123とモルフォゲン処理細胞をインキュベーションすると、明らかに細胞の凝集が抑制される。阻害が完全でない場合には、モルフォゲンがその他のCAMを増強させるらしい。

可溶性モルフォゲン（プロドメインを結合させた成熟OP-1）を用いて行った実験でも特異的にCAM発現が誘導された。

ここに述べたモルフォゲンは、CAMレベル、特にN-CAMレベルを変えて、神経学的障害、例えばハンチントン舞踏病およびアルツハイマー病それらの類似疾患を治療するための治療剤として有用である。臨床的な応用ではモルフォゲンそれ自身を投与するか、あるいはまたモルフォゲン産生刺激剤を投与する。

ここに記載したN-CAM発現に影響するモルフォゲンの有効性は、適切な細胞とここに示した方法を用いて、インビトロで評価できる。さらに形質転換細胞株に対するN-CAMの発現は、ここに記載した方法に従って、神経性細胞またはグリア細胞の初代培養で評価できる。インビボでのN-CAM発現におけるモルフォゲン処置の有効性は、以下の実施例9で述べたような組織バイオプシーと、実施例11で述べた動物モデルを用いるかmAb H28.123のよう

なN-CAM特異的抗体でN-CAM分子を検出することで評価できる。
さらに、脳脊髄液または血清のN-CAM蛋白質レベルまたは蛋白フラグメントの存在レベルは、モルフォゲン処置の効果を評価して検出できる。N-CAM分子は細胞表面から脱落することが知られており、血清および脳脊髄液の両方から検出できる。さらに、可溶性N-CAMのレベルの変化は、正常圧の水頭症とタイプIIの分裂病に関係している。N-CAMの体液レベルは実施例9に述べた方法とmAb H28.123nのようなN-CAM特異抗体を用いることで検出できる。
実施例7. モルフォゲン誘導神経ギャップ修復（PNS）
ここに述べたモルフォゲンはまた、損傷神経回路の修復と再生を行って、引き離された距離を超えて末梢神経系の軸索の成長を促進させる。末梢神経系のニューロンは誘導なしに、損傷の後に新しい神経突起を発生させることができる一方で、この発生が適切に結合しないと死滅する。切断の長さは5または10mmの場合には、再生は困難であるか、まったく不可能である。
本実施例ではモルフォゲンによる神経再生はラット座骨神経モデルを用いて評価する。ラット座骨神経は、5mmのギャップ、特別な場合には10mmのギャップを越えて自発的に再生する。この特別な場合とは、生理食塩を満たした神経誘導集管に切断末端を挿入しギャップ中におく。この実験では神経の再生は12mmのギャップを越えて試験された。
体重230-250gの成熟雌性のスプラグ-ドーリューラット（Charles River Laboratories,Inc.）をペントバルビタールナトリウム（35mg/kg体重）の腹腔内投与によって麻酔させた。皮膚の切開は、太腿骨に対して平行させ、そして、ちょうど後方側で行った。外側広筋と膝腱筋肉との間の無血管筋肉内平面が、座骨神経を取り巻く疎性線維輪紋状組織に対してくみこまれ、そして続いている。疎性組織が縦に分割されており、どの部分においても血流遮断なしに、座骨神経を十分に引き離してフリーにすることができる。外科手術顕微鏡下で座骨神経を微小鋏を用いてmid-thighで切断し、12mmに神経切断端を分離して、OP-1ゲル片を移植した。移植部分は、モルフォゲン溶液を満たした内部直径1.5mm、長さ20mmのシリコンチューブで包み込んだ。特に、チューブの中心12mmは、MATRIGEL（Collaborative Research,Inc.,Bedford,MA）の約100μlでCHOで遺伝子組換え生産した精製OP-1を1-5μgを混合して調製したOP-1ゲルからなっている。なおMATRIGELはマウス肉腫組織から抽出した細胞外マトリックスで、可溶化した組織基底膜を含有している。可溶化組織基底膜はリン酸緩衝生理食塩水中にラミニン、タイプIVコラーゲン、ヘパリン硫酸塩、プロテオグリカン、エンタクチン等を含んでいる。OP-1を満たしたチューブは、損傷部分に直接移植し、神経の切断端を、チューブそれぞれの末端に4mmを入れる。両切断端はOP-1ゲルに接しており、そして束保護鞘を神経上膜を通して市販の外科用10-0ナイロンで3針縫って、シリコンチューブ中にしっかりと固定しておく。
さらにOP-1ゲル移植に対して、空のシリコンチューブ、ゲルのみを満たしたチューブ、および「反転」自己移植、これは動物の座骨神経の12mm切断断片を縫合の前に180度回転させたものであり、対照として移植した。全ての実験は4回繰り返した。すべての傷はきずクリップでとめて塞ぎ、10日後に除去した。全ラットとも両脚に移植を行った。3週間目に動物を屠殺し、移植域を取り外し、すぐにドライアイスで凍結させた。次に凍結片の移植箇所を細かく切断し、フルロセイン（Sigma Chemical Co. から入手）でラベルした抗神経フィラメント抗体を用いて免疫蛍光染色によって軸索の再生を試験した。
ギャップがOP-1ゲルで満たされている移植箇所の全長12mmにわたり、坐骨神経の再生が起こっていた。これとは対照的に、空のシリコンチューブ及び反転自己移植は神経再生が起こらず、ゲル含有の1移植箇所のみが軸索再生を示した。
実施例8. モルフォゲン誘導神経ギャップの修復（CNS）
インビボでの軸索の損傷に引き続き、CNSニューロンは再生ができない。さらにCNS神経組織の損傷、脊髄、視神経と網膜を含む損傷はこれらの細胞によって特定される神経回路の激しい障害と破壊を引き起こす。末梢神経の移植はCNS軸索の損傷をバイパスするためにも有効に使われる。成功した自己移植修復は一般的には、移植部位がCNSニューロン細胞体の近傍にあることが必要であり、そしてCNS軸索切除の最初の結果は神経細胞死である

。ここでCNS神経修復において説明したモルフォゲンの有効性は、Bignamiらによって説明され、引用によってここに一体化した開示内容（Bignam et al.,1979, Exp.Eye.Res.28:63-69）のように、ラットの砕けた視神経モデルを用いて評価できる。最近それらに述べられているように、実験ラット（Charse River Laboratories,Willmington,MA）を標準的な実験手法で麻酔し、眼窩から眼を丁寧に摘出して引っ張ることで視神経を押しつぶした。即ち眼球の後ろに時計用鉗子を挿入し、15秒間鉗子で視覚神経を絞り、30秒間間隔をおいて15秒間さらに鉗子を絞った。ラットは時間をおいた後屠殺した。その間隔は手術後48時間、3、4、11、15、18日である。視覚神経の修復手術に対するモルフォゲンの効果は、2回の繰り返し実験で評価した。その実験はモルフォゲンまたはPBS（25μlの溶液と25μgのモルフォゲン）を操作前、操作中および操作後一定の間隔で視覚神経に与えて評価した。

治療なしで、神経を押しつぶすことで外科的にグリアに傷をつけ、グリアの傷のマーカー蛋白質であるグリア線維化酸性蛋白質（GFA）を免疫蛍光染色して、組織学的に判断した。Bignam et al.,1974, J.Comp.Neur.153:27-38に記載されたように、市販の入手可能なGFAに対する抗体（Sigma Chemical Co.,St.Lous）を使用して、空気乾燥によってクリオスタット切片の間接的蛍光染色を行った。GFAレベルの減少がモルフォゲン処理動物で認められた。これはモルフォゲンの作用はグリアの傷形成阻害と視覚神経の再生を促進していることを表している。

実施例9.神経組織の診断

神経組織のモルフォゲンの分布は神経の破壊またはニューロパシーを診断する方法の一部分として利用可能である。この方法は脳組織のニューロパシーを診断するのに特に有利である。特にバイオプシーによる脳組織は、公知技術を使用して患者のリスクを見ることに使う。バイオプシーした組織のモルフォゲンの発現は、モルフォゲン特異的抗血清またはモノクローナル抗体を使った標準的な免疫蛍光技術を使用した一般的な方法で評価できる。特に、バイオプシー組織は公知技術によって薄く切片を作り、蛍光ラベル化した（あるいは別の検出方法）抗体と組織を特異的な抗原-抗体コンプレックス形成させることのできるような条件でインキュベートする。形成したコンプレックスの存在と量を測定し、あらかじめ得た標準または参照値と比較する。組織のモルフォゲン変化レベルの検出は組織機能の指標として使用できる。さらにまた、モルフォゲンレベルの変動はモルフォゲンRNAに対して特異的にハイブリダイズするラベル化プローブを用い、先行技術に記載された標準的なハイブリダイゼーションプロトコールで、標準ノーザンブロット分析またはインサイチューハイブリダイゼーションによって、モルフォゲンの転写レベルをモニターすることで評価できる。

脳脊髄液または血液中のモルフォゲンレベルの変動は組織の生物活性を評価するために使用できる。例えばモルフォゲンは下垂体細胞に関連して検出され、これは脳脊髄液中に各種の因子を分泌することが知られている。そして一般的にはグリア細胞細胞に結合しており、細胞外マトリックスにはあるが神経細胞体には結合していない。したがって脳脊髄液はモルフォゲン移送の自然の手段である。さらにモルフォゲンは脳脊髄液中の死細胞から放出される。さらにOP-1はは最近ではヒト血液中に検出されており、血液もまた移送の手段でありそして/また死細胞の内容物の環納所でもある。

脊髄液は、公知の医学的な方法を用いて標準的な腰椎穿刺によって得ることができる。同様に血清サンプルは静脈穿刺によって血液を得て、3000RPM 10分間遠心分離して血清を調製する。血清または脳脊髄液のモルフォゲンの存在は一般的なウエスタンブロット（イムノブロット）、ELISAまたはRIA法によって評価できる。簡単には例えばELISAの場合サンプルは適切な緩衝液で希釈して、この緩衝液はリン酸緩衝生理食塩水など、そして50μlアリコートをモルフォゲン特異的抗体を用いてプレコートしたマイクロタイタープレートのウエルの底に吸着させ、そして4℃で18時間インキュベートする。次いでプレートは標準緩衝液で洗浄し、適切な緩衝液中のビオチンのような検出剤をコンジュゲートさせた第二のモルフォゲン特異抗体の液を50μl加えて室温で90分間インキュベートする。モルフォゲン-抗体コンプレックスは一般的な方法で検出する。

さらにモルフォゲン特異的アフィニティカラムは、カラムマトリックスに吸着させたモルフォゲン特異的抗体を用いて作製することができる。そして目的のモルフォゲンを選択的に抽出するためにマトリックスに液体サンプルを通過させる。適切な溶出緩衝液は、最初にコントロール（例えば精製した遺伝子組換え生産モルフォゲン）と結合および溶出条件を予測して測定することによって、経験的に定めることができる。次いでフラクションは標準的なイムノブロットによってモルフォゲンの存在を試験し、N末端配列により確認する。血清あるいはその他の体液中のモルフォゲン濃度は、吸光光度法、ELISAあるいはRIAによる抗体分析法を含む、標準的な蛋白質定量方法を使用して測定する。この方法によりOP-1が血液中から特定された。

ヒト血液中から以下の分析方法によってOP-1が検出された。実施例13に記載され、公知技術である免疫学的手法を用いて、遺伝子操作によって生産された哺乳動物細胞のモルフォゲンに対して結合するモノクローナル抗体を、活性化アガロースゲル（Afi-Gel Bio-Rad Laboratories,Richmond,CAメーカーの使用説明に従って調製）を通過させて固定化し、精製OP-1を血清から得るのに使用した。ヒト血清を次いでカラムに通過させ、3MKチオシアン酸塩で溶出した。K-チオシアン酸塩のフラクションは6M尿素、20mM PO_4、pH7.0中で透析し、C8HPLCカラムにかけ、20分で25-50%アセトニトリル/0.1%TFAのグラジュエントで溶出した。遺伝子組み換え生産成熟型OP-1のホモダイマーは20-22分で溶出された。次いでフラクションを回収し、OP-1の存在をイムノブロットで試験した。図4は還元条件と酸化条件のヒト血清中のOP-1のイムノブロットを示した。図においてレーン1とレーン4はOP-1の標準であり、酸化条件（レーン1）、還元条件（レーン4）で流した。レーン5は、17、27、39kDaの分子量標準である。レーン2とレーン3はヒト血清OP-1であり、酸化条件下（レーン2）、還元条件下（レーン3）である。

モルフォゲンは、体液のモルフォゲンレベルの変動を神経組織の状態の変化として示す。体液サンプル中のモルフォゲンの量を予め得た対照値と比較して診断応用に使用することができる。さらにまた内因性モルフォゲン抗体レベルの変動はこの方法で測定でき、特に好ましくは血清中であり、内因性モルフォゲン抗体に特異的に結合するその他の蛋白質や抗体を使用する。内因性抗体レベルの変動の検出は組織状態の変化の指標とすることができる。

実施例10．免疫反応介在性神経組織損傷の軽減

ここに示したモルフォゲンは神経組織の免疫学的に関連した損傷を軽減するために使用できる。この損傷の詳細と損傷を軽減するためのモルフォゲンの使用は国際出願US92/07358（WO93/04692）に開示されている。神経組織に対するこのような損傷の最も重要な原因は、神経回路に対する低酸素症と血液供給の虚血-再灌流である。これは血栓または手術操作によっておこる。国際出願US92/07358（WO93/04692）に開示されているように、モルフォゲンは組織に対する血液供給の虚血-再灌流につづく心筋組織に対する障害を軽減できることをしめしている。神経組織に対する免疫学的に関連した損傷を軽減することに関してモルフォゲンの効果は先行技術と公知技術による方法とモデルを用いて評価できる。

例えばウサギ栓塞モデルは、脳虚血と再灌流に続く組織損傷に対するモルフォゲンの作用を評価するための有用な方法である。以下に開示したプロトコールは、本質的にPhillips（Philips et al.,1989,Anals of Neurology,25,281-285）らの方法であり、引用と公知の先行技術によってここに一体化している。要約すると、白色ニューイングランド　ウサギ（2-3kg）麻酔し、人工呼吸器を取りつけた。次いで頭蓋内循環を選択的にセリンジャーの方法でカテーテル化した。ベースラインの脳血管造影をデジタル基本ユニットによって行った。遠位内部頸動脈あるいはその枝血管を、18時間経過した自己血栓の0.035mlを使用して選択的に閉塞させた。動脈性の閉塞は、栓塞後にただちに繰り返し血管造影をおこなって記録した。脳梗塞を発生させるために十分な時間経過後（15分または90分）、TPAアナログFB-FB-CF（0.8mg/kg以上2分間）のような再灌流剤を投与して、血流を再開させた。

脳梗塞に対するモルフォゲンの効果は、OP-1のようなモルフォゲンを種々の濃度で、血栓の形成および/または再灌流に続いて異なった時間で投与して評価できる。ウサギは栓塞

後3-14日めに屠殺し、その脳を神経病理学的試験の目的で10%の中性緩衝液へ少なくとも2週間の液浸によって固定化して調製した。脳は冠状平面で2-3mm間隔で切片を作り番号をつけ、標準的な病理組織学的手段でパラフィンで処理し、神経組織の壊死の程度を肉眼的に測定した。モルフォゲン処理動物は、非処理動物との病理学的比較により、試験動物の脳虚血-再灌流のあとに起こる神経組織の壊死を減少させるか、あるいは明らかに抑制させると考えられた。

実施例11．インビボでのモルフォゲンの有効性を評価するための動物モデル

ここに述べたモルフォゲンのインビボ活性は、ここに述べた動物モデルで速やかに評価できる。好ましくは、適切な動物モデルは神経組織の損傷を示しており、例えば遺伝的あるいは環境的に誘発される。このモデルにpH7のリン酸緩衝食塩水のような適切な治療用製剤中の有効量のモルフォゲンを脳室内に直接注射する。好ましくは、モルフォゲンは損傷ニューロンの領域に注入する。損傷組織は次の時点で切除し、そして組織は形態学的に評価し、そして/または適切な生化学マーカーの評価を行う（例えばモルフォゲンまたはN-CAMの分布、CNS神経栄養活性またはCNS組織損傷の生化学的マーカーによる投与量依存性効果の測定、なお、例えばマーカーとしてはグリア線維性酸性蛋白質等を使用する）。投与量とインキュベーション時間は試験する動物で変化する。異なる種への適切な投与範囲は、樹立した動物モデルを比較して決定できる。以下に示したものはラットの脳穿刺モデルのための見本的なプロトコールである。

要約すると、雄性　ロングエバンス系ラット、これは市場で一般的に購入でき、これを麻酔し、頭の部分を手術用に準備する。頭蓋冠は標準的な外科手法で露出させ、そして穴を両耳の中心部にドリルであけ、0.035kのワイヤーを頭蓋冠に通す。モルフォゲン（OP-1 25μg）またはPBSのいずれかを含む25μlの溶液をハミルトンシリンジで穴に注入する。溶液は表面から3mmの深さまでいれ、下にある皮質、脳梁及び海馬に注入する。皮膚は縫合し、動物を回復させる。

手術の３日後に、ラットは断頭で屠殺し、脳の病理切片を作成した。傷痕組織の形成を定性的に、グリア傷痕のマーカー蛋白質であるグリア線維化酸性蛋白質を免疫蛍光染色して評価した。グリア線維化酸性蛋白質抗体は市販されている（Sigma Chemical Co.,St.Louis,MO）。切片はまたOP-1の存在を確認するため抗OP-1抗体でプローブされる。グリア線維化酸性蛋白質のレベルの減少は、モルフォゲン処理動物の組織切片においてモルフォゲンの作用がグリアの傷痕形成を抑制し、神経再生を促進した証拠と考えられた。

実施例12．モルフォゲン種の脳血液バリア通過を評価するためのインビトロモデル

脳血液バリアを容易に通過するモルフォゲン種を選別する能力を評価するためのインビトロの方法を以下に説明する。モデルとプロトコールの詳細な説明はAudusらによって示されており（Audus et al.,1987,Ann. N.Y. Acad.Sci.,507:9-18）、引用によってここに一体化されている。

要約すると、微小血管内皮細胞を新鮮なウシの脳の大脳灰白色質から単離する。脳は地方の屠殺場から入手し、そして抗生物質を含む氷で冷却した最小必須培地（MEM）に入れて実験室まで輸送する。無菌条件でおおきな表面の血管と髄膜を標準的な手法で除去する。皮質の灰白質を吸引によって除き、1mmの大きさの立方体状に切断した。刻んだ灰白質は、振盪ウオータバス中で37℃ 3時間、0.5%のディスパーゼ（BMB Indianapolis IN）とインキュベートした。3時間消化した後、混合液を遠心分離（1000×g 10分）して濃縮し、13%デキストランに再度懸濁し、5800×gで10分間遠心分離した。上清の脂肪、細胞破片、ミエリンは捨て、クルードな微小血管ペレットを1mg/mlのコラゲナーゼ/ディスパーゼに再懸濁させ、振盪ウオータバス中で37℃ 5時間、インキュベートした。5時間消化した後、微小血管懸濁液は、予備調整した50%パーコルグラジエントにいれ、1000×gで10分間遠心分離した。精製した内皮細胞（グラジエントの上から2番目の層）を含むバンドを回収して、培養液（50%MEM/50%F-12培地の混合）で2回洗浄した。細胞は後で使用するため、10%ウマ血清と20%DMSOを含む培地で凍結させた（－80℃）。分離した後、およそ5×10^5cells/cm^2で、培養皿または、コラーゲンとフィブロネクチンでコートした5-12mμのポアサイズのポリカーボネートフィルターに播種した。細胞を播種後10-12日目に、セルの単層

膜が顕微鏡でコンフルエントになったことを検査する。
これらの細胞の形態学的、組織学的、生化学的性質は、これらの細胞が脳血液バリアを通過するという顕著な特性を有していることを示していた。これらの特徴は以下の通りである。強固な細胞間結合、膜の開口部がなく、低レベルの細胞飲作用活性、ガンマーグルタミルトランスペプチダーゼ、アルカリホスファターゼ活性の存在、ファクターVIII抗原活性。
極性結合または移送のモデルが必要な場合に、培養細胞は多方面の実験に使用できる。マルチウエルプレート中の細胞をプレート化することによって、大分子と小分子のレセプター結合と非レセプター結合を誘導することができる。移送内皮細胞のフラックス測定を行うために、細胞はポーラスなポリカーボネート（Nucleopore,Pleasanton,CA）膜フィルターで成長する。大きなポアサイズのフィルター（5-12mν）が、分子フラックスに対する律連障害にならないよう使用された。大きなポアフィルターの使用はフィルターの下で細胞が成育することを受け入れないし、細胞単層の視覚検査ができる。
一度細胞がコンフルエントに達すると、それは平行放散細胞装置（Crown Glass,Sommerville,NJ）に置き換える。フラックス測定のため、拡散細胞の供給チャンバーは、試験物質でパルス化して、次いで種々の時間にパルスを流し、アリコートは分析のためチャンバーから回収する。放射能活性または蛍光ラベル化した物質は、分子のフラックスの信頼できる定量ができる。単層のインテグリティは、しょ糖やイヌリンのような非移送性試験物質の添加によって同時に測定され、そして少なくとも4回の繰り返し測定は統計的有意差を保証するために行われる。
実施例13．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法
本来のモルフォゲンレベルに影響させるために投与することのできる候補物質は以下のスクリーニング方法を用いて見いだすことができる。測定可能なレベルのモルフォゲンを生産する細胞によって生産されるモルフォゲンのレベルは、細胞への化合物の作用を評価するために、培養細胞を化合物とともにインキュベートし、そして化合物を除去してインキュベートすることで測定される。これは蛋白質またはRNAレベルのいずれかによってモルフォゲンを検出することによってもできる。また詳細な説明は国際出願US92/07358（WO92/0512）に開示されている。
13.1培養中の細胞増殖
腎臓、副腎、膀胱、脳、あるいはその他臓器の細胞培養は文献に開示されたようにして行うことができる。例えば、腎臓は出産直後、新生、若い、成熟齧歯類（マウスまたはラット）から移植でき、そして腎臓全体または切片（1－4mm）として器官培養に使用できる。腎臓、副腎、膀胱、脳、乳房、あるいはその他の組織由来の初代培養組織または樹立細胞株は、マルチウエルプレート（6または24ウエル）中で、従来の細胞培養技術を使って樹立し、そして一定時間（１－７日間）血清添加または無添加で培養を行う。例えば、細胞はDulbecco’s Modified Essential培地（Gibco, Long Island,NY）あるいは無血清培地、必要によっては合成培地（インシュリン、トランスフェリン、グルコース、アルブミン、あるいはその他の成長因子を含む）中で培養する。
モルフォゲンの生産レベルを試験するサンプルは培養上清または細胞溶解液を含み、定期的に回収を行い、OP-1の生産をイムノブロット分析（Sambrock et al.,eds.,1989, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,NY）によって評価した。あるいはまた細胞培養それ自身の一部を定期的に回収してRNA分析のためにpoly A+RNAを調製して使用した。新しいOP-1合成をモニターするために、培養物は^{35}Sメチオニン/^{35}Sシステイン混合物を用いて従来技術によって6-24時間ラベル化し、次いで従来の免疫沈降法によってOP-1の合成を評価した。
13．2 形態形成蛋白質レベルの測定
細胞型による形態形成蛋白質の生産を定量するために、イムノアッセイをモルフォゲンの検出に使用し、抗体は蛋白質に対する特異的ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を用いた。例えば以下のようなELISAでOP-1特異的抗体を用いてOP-1の検出を行った。
OP-1特異的アフィニティ精製ポリクローナルウサギIgGの1μg/100μlを96ウエルプレート

の各ウエルに加え、37℃で1時間インキュベートした。ウエルは、0.1% Tween20を含むpH8.2の0.15M NaCl-0.167Mホウ酸ナトリウム緩衝液（BSB）で4回洗浄した。非特異的吸着を最小化するため、ウエルは0.1%ウシ血清アルブミン（BSA）を含むBSBで洗浄し、37℃で1時間インキュベートした。次いでウエルは0.1% Tween20を含むBSBで4回洗浄した。試験サンプルの細胞培養上清を適当に希釈した溶液100μlをトリプレットで各ウエルに加え、37℃で30分インキュベートした。インキュベーション後100μlのビオチン化ウサギ抗-OP-1血清（保存溶液は約１mg/ml、使用前に1%BSAを含むBSB中に１：400に希釈）を各ウエルに加え、37℃で30分インキュベートした。次いでウエルは0.1% Tween20を含むBSBで4回洗浄した。100μアルカリ性ストレパビジン（Southern Biothecnology Associates,Inc. Birmingham,Alabama使用直前に0.1Tween 20を含むBSBで1:400に希釈）を各ウエルに加え、37℃で30分インキュベートした。プレートは0.5M Tris緩衝生理食塩水（TBS）pH7.2で4回洗浄した。50μlの基質（ELISA Amplification System Kit,Life Technologies,Inc.,Bethesda,MD）を各ウエルに加え、室温で15分インキュベートした。50μlのアンプリファイアー（同じアンプリフィケーションキットから）を各ウエルに加え、室温で15分インキュベートした。反応は50μlの0.3M硫酸を添加して停止させた。各ウエルの溶液を490nmのODを測定した。培養液中のOP-1を定量するために、OP-1の検量線を試験サンプルと平行して作製した。

ポリクローナル抗体は以下のようにして調製した。各ウサギに、フロインドの完全アジュバント500μlを含む0.1%SDS液に入ったOP-1モノマー（配列表配列番号5の328-431のアミノ酸配列）を生産する大腸菌100μg/500μlで一次免疫した。抗原は動物の背と脇腹の複数箇所に皮下投与した。ウサギはフロインドの不完全アジュバントを用いて同じ方法で一ヶ月後にブースター処理した。試験のため耳静脈から7日後に採血を行った。OP-1に対する抗体がELISA分析で血清中に検出されるまで、2回の追加ブースター投与と試験採血が一ヵ月の間隔をおいて行われた。次いでウサギは100μgの抗原でブースター処理し、ブースター処理後7日目と10日目に採血した（1回15ml）。モルフォゲンに特異的な抗体は以下のように調製できる。マウスにOP-1生産大腸菌を2回注射した。最初の注射ではフロインドの完全アジュバント中に100μgのOP-1を含む液を皮下に注射した。2回目には、フロインドの不完全アジュバント中に50μgのOP-1を含む液を腹腔内に注射した。マウスには次いで8カ月間に4回腹腔内投与し全量で230μgのOP-1（配列表配列番号5の307-431のアミノ酸配列）を投与した。融合に一週間先んじて、マウスの腹腔内に100μgのOP-1（307-431）とシステインにウシ血清アルブミンをSMCC交差結合剤を用いて結合させた300μgのN末端ペプチド（Ser_{293}-Asn-$_{309}$Cys）をブースター投与した。ブースター投与は融合の前5日（IP）、4日（IP）、3日（IP）、1日（IV）に行った。マウス脾臓はミエローマ（例えば653）細胞と1:1の比率でPEG1500（Boheringer Mannheim）を用いて融合させ、融合細胞はプレート化し、抗原としてOP-1（307-431）を用いてOP-1特異的抗体を選択した。融合細胞と抗体のスクリーニングは先行技術で広く利用可能な標準的な方法によって行った。

本発明は、その精神と必要な特性から外れることなくその特徴的な形態で実施可能である。本発明の実施は、全てに関連して説明のように理解され、発明の範囲は上記説明によってよりむしろ添付されたクレームによって示され、そして限定はされない。さらにクレームに均等な手法と範囲から来る全ての変更は、これらの実施を改良することである。

配列表

（1）一般情報

（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

（B）通り: サウス　ストリート 35

（C）市: ホプキントン

（D）州: マサチューセッツ

（E）国: アメリカ合衆国

（F）郵便番号:01748

（G）電話番号: 1-508-435-9001

(H) テレファックス: 1-508-435-0454
(I) テレックス:
(ii) 発明の名称: 組織形成因子誘導による神経再生と修復
(iii) 配列の数:33
(iv) 連絡先:
(A) 受信人: 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
(B) 通り: サウス ストリート 35
(C) 市: ホプキントン
(D) 州: マサチューセッツ
(E) 国: アメリカ合衆国
(F) 郵便番号:01748
(v) コンピュータ読み取り形式:
(A) 媒体: フロッピーディスク
(B) コンピュータ: IBM PC コンパチブル
(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 #1.0,Version #1.25
(viii) 代理人情報
(A) 氏名: ケリー ロビン D
(B) 登録番号:34,637
(C) レファレンス/ドケット番号:CRP070
(ix) 電話連絡先
(A) 電話:617/248－7000
(B) ファクシミリ: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: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(ix) 特徴:
(A) 名称: 蛋白質
(B) 存在位置:1....97
(D) その他情報: ラベル＝一般配列1
/ノート＝それぞれのXAAは独立して20の天然に得られるL-異性体、A-アミノ酸、または誘導体の一つを示す。
(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: 直鎖状
（ii）分子種: 蛋白質
（ix）特徴:
（A）名称／キイ: 蛋白質
（B）存在位置:1....97
（D）その他情報: ラベル＝一般配列2
/ノート＝それぞれのXAAは独立して20の天然に得りれるL-異性体、A-アミノ酸、または誘導体の一つを示す。
（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: 直鎖状
（ii）分子種: 蛋白質
（ix）特徴:
（A）名称/キー: 蛋白質
（B）存在位置:1....97
（D）その他情報: ラベル＝一般配列3
/ノート=それぞれのXAAは明細書に特定している１以上の特定のアミノ酸群から独立して選択される。
（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: 一本鎖
（D）トポロジー: 直鎖状
（ii）分子種: 蛋白質
（ix）特徴:
（A）名称/キイ: 蛋白質
（B）存在位置:1...102
（D）その他情報: ラベル＝一般配列4
/ノート=それぞれのXAAは明細書に特定した1またはそれ以上のアミノ酸からなる群から独立的に選択される。
（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: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ヒト
(F) 組織の種類: 海馬
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...139
(D) その他情報: hOP-1（成熟型）
(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: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子種: 蛋白質

(vi) 由来

(A) 生物種: ゲッ歯類

(F) 組織の種類: 胚

(ix) 特徴:

(A) 名称/キイ: 蛋白質

(B) 存在位置:1...139

(D) その他情報: MOP-1（成熟型）

(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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ヒト
(F) 組織の種類: 海馬
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...139
(D) その他情報: ラベル=HOP-2（成熟型）
(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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ゲッ歯類
(F) 組織の種類: 胚
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...139
(D) その他情報: ラベル=MOP-2（成熟型）
(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: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子種: 蛋白質

(vi) 由来

(A) 生物種: ウシ

(ix) 特徴:

(A) 名称/キイ: 蛋白質

(B) 存在位置:1...101

(D) その他情報: 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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ヒト
(F) 組織の種類: 海馬
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...101
(D) その他情報: 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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ショウジョウバエ
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...101
(D) その他情報: 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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ツメガエル
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...102
(D) その他情報: ラベル=VGR-1-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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来
(A) 生物種: ゲッ歯類
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...102
(D) その他情報: 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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(iii) ハイポセティカル:NO
(iv) アンチセンス:NO
(vi) 由来源
(A) 生物: ヒト
(F) 組織タイプ: 脳
(ix) 特徴:
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...106
(D) その他情報: ノート=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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: cDNA
(iii) ハイポセティカル:NO
(iv) アンチセンス:NO
(vi) 由来源

(A) 生物: ヒト
(F) 組織タイプ: 海馬
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: CDS
(B) 位置:49.....1441
(C) 確認法: 実験
(D) その他情報:/機能=骨形成蛋白質
/生産物=OP1
/確認=実験
/標準的名称=OP-1
(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: 直鎖状

(ii) 分子種: 蛋白質

(xi) 配列: 配列番号17

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser rne 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: 一本鎖
（D）トポロジー: 直鎖状
（ii）分子種: cDNA
（iii）ハイポセティカル:NO
（iv）アンチセンス:NO
（vi）由来源
（A）生物: ゲッ歯類
（F）組織タイプ: 胚
（ix）特徴
（A）名称/キイ: CDS
（B）位置:104....1393
（D）その他情報: /機能=骨形成蛋白質
/生産物=MOP1
/ノート-MOP-1（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: 直鎖状

（ii）分子種: 蛋白質

（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: 一本鎖
（D）トポロジー: 直鎖状
（ii）分子種: cDNA
（vi）由来源
（A）生物: ヒト
（F）粗織タイプ: 海馬
（ix）特徴
（A）名称/キイ: CDS
（B）位置:490....1696
（D）その他情報/機能=骨形成蛋白質
/生産物=hOP2-PP
/ノート=hOP-2（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 GC  CGC GCC GAC CTG GTC ATG AGC TTC GTT        816
Pro Ala Glu Arg Arg Leu Gl, 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: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(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: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(vi) 由来源

(A) 生物: ゲッ歯類

(F) 組織タイプ: 胚

(ix) 特徴

(A) 名称/キイ: CDS

（B）位置:93....1289
（D）その他情報: /機能=骨形成蛋白質
/生産物=mOP2-PP
/ノート=mOP-2（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: 直鎖状

(ii) 分子種: 蛋白質

(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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: cDNA
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 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: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 位置:1....104
(D) その他情報: ノート=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: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来源
(A) 生物: ヒト
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 位置:1....102
(D) その他情報: ノート=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
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(vi) 由来源
(A) 生物: ヒト
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 位置:1....102
(D) その他情報: 記録=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: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 位置:1....102
(D) その他情報: ラベル=OPX
ここでXAAは、明細書において特定した1またはそれ以上のアミノ酸から独立して選択される (II.B.2)
(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) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: 蛋白質
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: 蛋白質
(B) 存在位置:1...97
(D) その他情報:/ラベル=一般配列5
ノート=ここで各XAAは、明細書に示したような1またはそれ以上の特定されたアミノ酸の群から独立して選択される。
(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: 一本鎖
（D）トポロジー: 直鎖状
（ii）分子種: 蛋白質
（ix）特徴
（A）名称/キイ: 蛋白質
（B）存在位置:1...102
（D）その他情報: ラベル=一般配列6
ノート=ここで各XAAは、明細書に示したような1またはそれ以上の特定されたアミノ酸の群から独立して選択される。
（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堪基対

(B) 型: 核酸
(C) 鎖: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状
(ii) 分子種: cDNA
(vi) 由来源
(A) 生物: ヒト
(F) 組織型: 脳
(ix) 特徴
(A) 名称/キイ: CDS
(B) 位置: 84.....1199
(D) その他情報: 物質=GDF-1
ノート=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
S   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: 直鎖状

(ii) 分子種: 蛋白質

(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１Ａ】

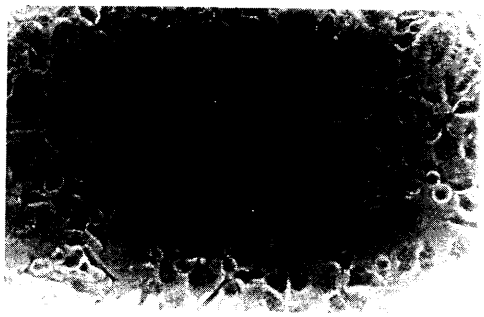


Fig. 1A

【図１Ｂ】

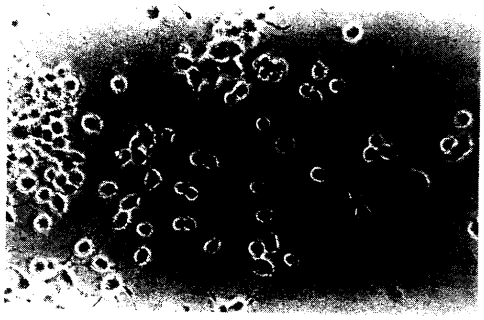


Fig. 1B

【図２Ａ】

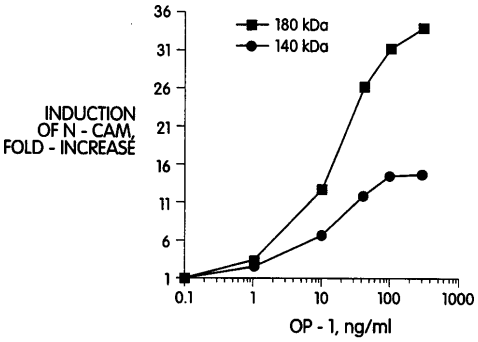


Fig. 2A

【図３】

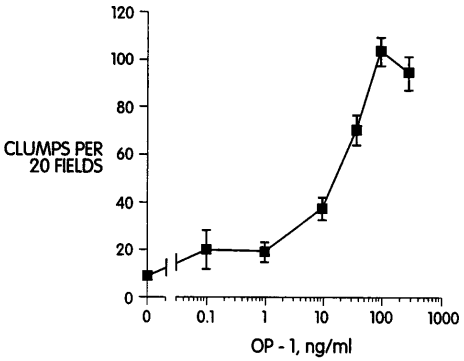


Fig. 3

【図２Ｂ】

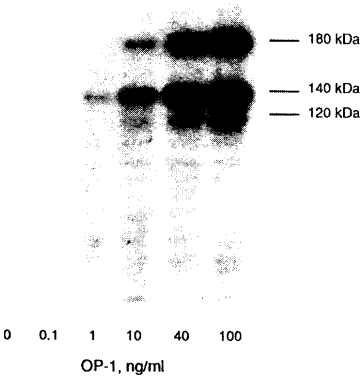


Fig. 2B

【図４】

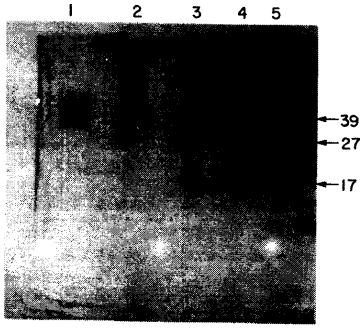


Fig. 4

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　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　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

合議体
審判長　森田　ひとみ
審判官　弘實　謙二
審判官　塚中　哲雄

(56)参考文献　国際公開第９２／００３８２（WO，Ａ１）
Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，１９９１，ＶＯＬ．１１１，Ｎｏ．２，ｐｐ．５３１－５４２

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K37/02,A61P25/00