

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23247021

研究課題名(和文)組織機能論的なカルパイン作用機序の解析とその普遍性抽出

研究課題名(英文)Tissue-specific functional studies on calpains

研究代表者

反町 洋之(SORIMACHI, Hiroyuki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・分野長

研究者番号：10211327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,400,000円

研究成果の概要(和文)：カルパイン(CAPN)は、限定分解により基質機能を調節するプロテアーゼである。CAPN1/2は古くから研究されながら、その普遍性のため機能解明が難航している。申請者らは組織特異的分子種を発見し、発現組織機能と関連づけて生理機能を解析してきた。その結果CAPN3、8/9の機能不全は筋ジストロフィー、胃疾患の原因となることを明らかにした。しかし各分子の作用機序は不明な点が多い。そこで組織特異的CAPNに注目し、組織機能制御の分子機構を解析した。特にKO/KIマウスとプロテオミクスを基軸とした解析で、ヒト疾患や遺伝子改変マウス表現型を参照し、CAPN不全疾患発症機序へも迫った。

研究成果の概要(英文)：Calpains (CAPNs) are intracellular proteases that modulate substrate proteins by limited proteolysis. Although CAPN1/2 have well been studied so far, their physiological functions are still elusive because of their ubiquitous expression profiles. We have identified several tissue-specific calpains, and analyzed their functions in relation to the functions of the tissues where they are expressed. As a result, we revealed that defects of CAPN3 proteolytic activity cause muscular dystrophy, and that deficiencies of CAPN8/9 result in stress-induced gastric ulcer. Furthermore, other tissue-specific calpains were analyzed in terms of tissue functions. Proteomic analysis suggested that several novel substrates of these new members of calpains play important roles on pathophysiology of calpain-deficient diseases, "calpainopathies".

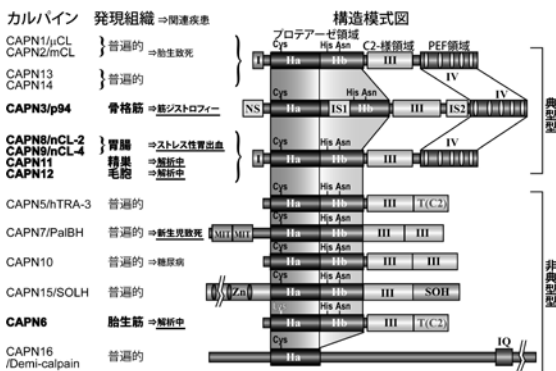
研究分野：分子生化学

キーワード：カルパイン 性 プロテオリシス 質量分析 筋ジストロフィー 胃腸疾患 自己消化 酵素学 基質特異

1. 研究開始当初の背景

申請者は、タンパク質分解酵素「カルパイン (CAPN)」の生理機能について一貫して研究を行ってきた。カルパインは、様々なシグナルに応答して基質タンパク質を限定的に分解することで、その機能・構造を調節するため「モジュレーター・プロテアーゼ」と呼ばれる。

ヒトのカルパインは15遺伝子にコードされ、古くから研究されているCAPN1, 2は、組織普遍的に存在する。一方申請者らは、骨格筋特異的に発現するCAPN3及び胃腸特異的CAPN8, 9を発見し、「組織特異的カルパイン」という概念を確立した。ヒトでは、組織普遍的及び特異的な発現を示す分子種に二分されるが(図1参照)、前者は細胞の基本機能を構築するが故に、Capn2やCapn7のノックアウトマウスは致死となり、細胞レベルでの解析も困難が多く、その生理機能の解明は難航していた。



(図1) ヒトのカルパイン15分子種とその発現組織

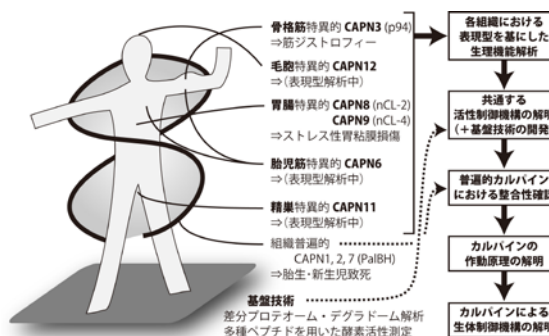
太字が組織特異的に発現する分子種である。関連疾患で下線は申請者が解析中。構造的にはCAPN1, 2と全長で相同なものを典型型、他を非典型型と分類できる。

一方、組織特異的カルパインは発現組織特有の機能に重要で、遺伝的・後天的不全により発現組織を中心とした疾患が発症することから、研究分野を超えて広く注目されていた。申請者らは、骨格筋特異的CAPN3が筋収縮など筋機能に伴う種々のストレス・シグナルに応答するセンサーとして働き、その機能不全が筋ジストロフィーを発症すること、胃腸特異的CAPN8とCAPN9が複合体G-カルパインを形成して粘液分泌細胞に局在し、胃ストレスに対する粘膜防御機構に関与すること、などを見出してきた。即ち、組織特異的カルパインを解析対象とすることで、その機能不全と相関する発現組織の組織機能論的解析により、カルパインの作用点を特定しうる、という大きなメリットがあると考えられた。

2. 研究の目的

カルパインが哺乳類の生命維持や各組織機能に必須であること、即ち個体レベルでのモジュレーター・プロテアーゼの重要性が、マウス遺伝学などにより示されていた。一方でカルパインはCa<sup>2+</sup>、阻害タンパク質など様々な相互作用因子が見出されているものの、*in vivo*の活性制御機構は殆ど明らかではなかった。細胞・組織が恒常性を維持するメカニズムの中での、これら相互作用因子の作用機序の理解こそが不可欠であると考えられた。そこで本研究は、組織特異的カルパインのメリット「機能すべき組織が特定、他のカルパインとは非縮重的作用が想定される」を生かし、各カルパインの作用点において活性化機構に関わる*in vivo*の分子ネットワークを解明することを目指した。特に、遺伝子改変マウスを用いることにより活性制御機構を含めた生理機能の特定を試みた。これらは組織特異的カルパインの解析であるが、普遍的分子種との進化的位置関係について検討することにより、共通する活性制御機構に関する知見の抽出を試行した。最終的にはカルパインに広く保存された作動原理の理解にも発展させるべく、以下の4点から研究を進めた(図2参照)。

- (1) 骨格筋特異的CAPN3による骨格筋の恒常性維持機構の解析
- (2) CAPN8/9複合体(G-カルパイン)による胃粘膜保護作用の解析
- (3) 新規の組織特異的カルパイン(CAPN6, 11, 12)の解析
- (4) カルパイン研究のための基盤解析技術の開発



(図2) 本研究の目的とその解析ストラテジー  
組織特異的カルパインに注目し、各組織におけるノックアウトマウスの表現型を基にした生理機能解析により、カルパインに特有の方法論を開発しつつ、カルパインの作動原理を明確にし、カルパインによる生体制御機構解明を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では組織特異的カルパイン分子種 CAPN3, 6, 8, 9, 11, 12 に焦点を当てて解析する。既にこれら全てに関しての遺伝子改変マウスを作出済みであった。よって、下記の研究計画を直ちに遂行できる上、マウス遺伝学によるカルパイン生理機能の横断的な理解や、差分プロテオーム法のような相互比較解析によって、基質を含めたカルパイン関連分子の網羅的同定が可能となった。

#### (1) 骨格筋特異的 CAPN3 による骨格筋の恒常性維持機構の解析

CAPN3は強力なNa<sup>+</sup>依存性自己分解活性などプロテアーゼとしても特異な分子である。そのため通常の方法論では解析不能が多く、新規方法論の開発も合わせて行った。酵素機能を抽出し、また酵素以外の機能も考慮し、*Capn3* ノックイン (*Capn3<sup>CS/CS</sup>*) [活性中心に変異 (Cys129→Ser) を有し不活性な CAPN3:C129S を野生型の代わりに発現する] とノックアウト (*Capn3<sup>-/-</sup>*) [タンパク質自体が存在しない] マウスを比較解析した。

① *Capn3<sup>CS/CS</sup>*, *Capn3<sup>-/-</sup>* マウスを用いたディフアレンシャル (差分) プロテオーム解析  
申請者は、所属機関の共通機器である超高度 2D-LC/MS (DiNa 2D+ABI 4800, QSTAR Elite) システムの管理者を務め、操作に精通しており、これらと *Capn3* 遺伝子改変マウスを用いた差分プロテオーム法によって、基質や相互作用分子を網羅的に解析した。

② *Capn3<sup>CS/CS</sup>*, *Capn3<sup>-/-</sup>* マウスからの初代培養骨格筋細胞を用いた解析

*Capn3* 遺伝子改変マウスから骨格筋初代培養細胞を樹立し、CAPN3の活性やタンパク質の欠損が骨格筋の分化・成熟・質に与える影響を様々な培養条件下で解析した。さらに、分化過程の時間軸に沿った解析を 1)と同様に行い、筋組織の構築・再生と関連する分子ネットワークを解析した。

③ 筋ジストロフィーモデルマウスを用いた遺伝学的解析

申請者らは筋ジストロフィーモデルマウスとして、*mdx* (ジストロフィン欠損;デュシャンヌ型)、*SJL/J* (ジスファエリン欠損;肢帯型 2B 型)、*mdm* (コネクチン部分欠損;重症型) マウスも有する。そこで、これらと *Capn3* 遺伝子改変マウスとを交配し、筋ジストロフィー発症機序における CAPN3 の役割を解析した。特に、*Capn3<sup>CS/CS</sup>* と *Capn3<sup>-/-</sup>* との間で差が生じる可能性に注目し、CAPN3 のプロテアーゼ以外の機能を示唆する現象が見出されたケースについて、1)と同様に解析を行った。

#### (2) CAPN8 及び CAPN9 複合体 (G-カルパイン) による胃粘膜保護作用の解析

CAPN8 及び CAPN9 は、両者が相互依存的に活性複合体 G-カルパインを形成して胃粘膜保護に機能する。CAPN3 同様、CAPN8:C105S

ノックイン (*Capn8<sup>CS/CS</sup>*) 及び各ノックアウト (*Capn8<sup>-/-</sup>*, *Capn9<sup>-/-</sup>*) マウスを用い、その機能不全で増悪されるストレス性胃出血の表現型を基に、粘膜防御因子の挙動を検討した。

① G-カルパイン不全によるストレス性胃粘膜損傷の増悪機構の解析

胃粘膜防御作用では、粘液分泌などによる粘膜バリアーの形成と、損傷した粘膜の修復が重要である。*Capn8/9* 遺伝子改変マウスを用いて、G-カルパインが発現する表層粘液細胞の微細構造や分化移動能の解析、粘膜修復因子の発現レベルや炎症性サイトカインの定量を行うことで、G-カルパインの作用点を検討した。また、プロテオミクス、酵母 Three-Hybrid 解析により G-カルパインの基質・相互作用因子を絞り込んだ。

② *Capn8/9* 遺伝子改変マウスを用いた G-カルパイン不全による胃粘膜損傷の傷害因子依存性の検討

アルコール以外のストレスとして、胃に負荷をかける高脂肪食、胃疾患危険因子の非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs) やピロリ菌の投与を行い、影響が見られた場合はその分子機構について上記と同様に解析した。

③ ヒト CAPN8, CAPN9 遺伝子の一塩基多型 (SNP) と胃疾患の相関についての解析

ヒト CAPN8/9 には SNP によるアミノ酸置換が複数報告されており、一部の SNP は G-カルパインの活性を消失・減弱させることを発現系を用いて明らかにした。アルコール過摂取や抗炎症剤長期投与は、しばしば潰瘍性胃疾患を引き起こすが、その程度には個人差がある。そこで共同研究により、胃疾患患者の血液サンプルを用いて SNP 解析を行い、CAPN8/9 の SNP と胃疾患発症リスクとの相関解析を計画した。

④ G-カルパインの立体構造解析

G-カルパインは、2種のカルパインのヘテロ 2量体形成が明らかとなった初めての例であり、その構造は極めて興味深い。共同研究により立体構造解析を行うべく、ほぼ確立しつつある CAPN8, 9 各分子の大腸菌発現系を用いて、結晶化を計画した。また、CAPN2, 8, 9 間の高い相同性を基に、CAPN2 の立体構造に CAPN8, 9 各々の構造をスーパーインポーズし、全構造を推定した。

#### (3) 新規の組織特異的カルパイン (CAPN6, 11, 12) の解析

CAPN6 は、ヒトカルパイン中で唯一活性中心の Cys が置換された「非プロテアーゼ型」分子種である。胎児筋及び数種の培養細胞株に発現し、後者では微小管を介した細胞機能の調節が報告されていたが、*in vivo* での役割は不明である。また、精巣及び毛包特異的 CAPN11 及び 12 は、どちらも CAPN1, 2 と高い相同性を持つ典型型である。これらのカルパインは、現在まで殆ど解析されていない。よって、これらのノックアウトマウスの表現型を解析し、生理機能解明に繋げた。また、

構造的独自性を獲得した分子種の解析から、カルパインの新しい作動原理を考察した。

① CAPN6 の骨格筋分化過程における生理機能の解析

*Capn6*<sup>-/-</sup>の胎児の筋径は野生型より太いことを示唆する所見が得られており、CAPN6 と筋発生の関係を[1]-2)と同様に解析した。さらに、*Capn6*<sup>-/-</sup>マウスと *Capn3*<sup>-/-</sup>マウスなど筋ジストロフィーモデルマウスとを交配させ、その二重変異マウスの表現型から、筋ジストロフィーの表現型 (=筋の壊死・再生が高進)に CAPN6 が与える影響を解析した。

② *Capn11*<sup>-/-</sup>及び *Capn12*<sup>-/-</sup>マウスの表現型の解析と生理機能の解明

精巣特異的 CAPN11 は、精細管と精子アクロソームへの局在が報告されていた。前者は精子の形成器官、後者は受精時の卵透明帯通過に必要な多くのプロテアーゼを含む領域であるため、CAPN11 はこれらの機能と関連することが予想された。*Capn11*<sup>-/-</sup>マウス交配試験や *in vitro* 系での精子の形態や運動・受精能を検討した。CAPN11 は、鳥類では CAPN1, 2 に代わって組織普遍的に発現するため、その機能は従来型カルパインの機能と両者の進化的変容を考える大きなヒントとなった。毛包特異的 CAPN12 は、毛周期の成長期(毛母細胞が活発に分裂増殖し、毛形成される時期)のみに発現し、医療的にも興味深い。毛包における CAPN12 の局在を組織染色で解析した。*Capn12*<sup>-/-</sup>マウスの体毛形成の有無・速度や毛質を出生・剃毛直後から目視、免疫染色、電顕等で観察した。

(4) カルパイン基盤解析技術拡充・特異的解析技術の開発による活性化機構の解析

CAPN3 で見られる強力な Na<sup>+</sup> 依存的自己分解活性などの解析系として、2 種の蛍光タンパク質を融合した特異的基質(カルパスタチンなど)を用いて開発した検出技術の特異性・感度をさらに改善した。この基質を骨格筋で発現するトランスジェニックマウスを作出し、CAPN3 活性化と骨格筋の状態との関係を計測する。他の組織特異的カルパイン分子についても同様のアプローチを試みた。

(5) プロテオミクスの結果分析と応用、及びカルパインの作用機序に関する総合的理解

遺伝子改変マウスを用いた差分解析の結果は、適切に解釈・解析されることで従来の概念を覆すような分子ネットワークを提示できる可能性がある。そこで、必要に応じて酵母 Two-Hybrid 系、siRNA や遺伝子ターゲットングの手法を適応して、システムとしてのカルパイン分子群の相互関係を念頭に解析の拡大を繰り返した。同時に、組織特異的カルパイン共通の活性制御機構を明らかにし、CAPN1, 2 での実験系に当てはめて、特異性・共通性を検証した。これら全ての知見を総合して、新しい作用機序についての検討、カルパインの共通作動原理に関する考察を行い、

統合的な理解を試みた。

#### 4. 研究成果

組織特異的カルパインに注目し、発現組織機能と関連づけて生理機能を解析した結果、CAPN3、8/9 の機能不全は筋ジストロフィー、胃疾患の原因となることを明らかにした。しかし各分子の作用機序は不明な点が多かった。そこで各組織特異的 CAPN を詳細に比較検討し、組織機能制御の分子機構を解析した。特に KO/KI マウスとプロテオミクスを基軸とした解析で、ヒト疾患や遺伝子改変マウス表現型を参照し、CAPN 不全疾患発症機序へも迫った。詳細は発表論文を参考にされたい。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 29 件) (全て査読有)

- ① Ono Y, Shindo M, Doi N, Kitamura F, Gregorio CC, Sorimachi H (2014) The N- and C-terminal autolytic fragments of CAPN3/p94/calpain-3 restore proteolytic activity by intermolecular complementation *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111:E5527-5536. doi: 10.1073/pnas.1411959111.
- ② Ojima K, Ono Y, Hata S, Noguchi S, Nishino I, Sorimachi H (2014) Muscle-specific calpain-3 is phosphorylated in its unique insertion region for enrichment in a myofibril fraction *Genes Cells*. 19:830-841. doi: 10.1111/gtc.12181.
- ③ Maemoto Y, Ono Y, Kiso S, Shibata H, Takahara T, Sorimachi H, Maki M (2014) Involvement of calpain-7 in epidermal growth factor receptor degradation via the endosomal sorting pathway *FEBS J*. 281: 3642-3655. doi: 10.1111/febs.12886.
- ④ Buck D, Smith JE, 3rd, Chung CS, Ono Y, Sorimachi H, Labeit S, Granzier HL (2014) Removal of immunoglobulin-like domains from titin's spring segment alters titin splicing in mouse skeletal muscle and causes myopathy *J Gen Physiol*. 143:215-230. doi: 10.1085/jgp.201311129.
- ⑤ Tonami K, Hata S, Ojima K, Ono Y, Kurihara Y, Amano T, Sato T, Kawamura Y, Kurihara H, Sorimachi H (2013) Calpain-6 deficiency promotes skeletal muscle development and regeneration *PLoS Genet*. 9:e1003668. doi: 10.1371/journal.pgen.1003668.
- ⑥ Ono Y, Iemura S, Novak SM, Doi N, Kitamura F, Natsume T, Gregorio CC, Sorimachi H (2013) PLEIAD/SIMC1/C5orf25, a novel autolysis regulator for a skeletal-muscle-specific calpain, CAPN3, scaffolds a CAPN3 substrate, CTBP1 *J Mol Biol*. 425:2955-2972. doi: 10.1016/j.jmb.2013.05.009.
- ⑦ Hata S, Kitamura F, Sorimachi H (2013)

- Efficient expression and purification of recombinant human  $\mu$ -calpain using an *Escherichia coli* expression system. *Genes Cells*. 18:753-763. doi: 10.1111/gtc.12071.
- ⑧ Ozaki T, Nakazawa M, Yamashita T, Sorimachi H, Hata S, Tomita H, Isago H, Baba A, Ishiguro SI (2012) Intravitreal injection or topical eye-drop application of a  $\mu$ -calpain C2L domain peptide protects against photoreceptor cell death in Royal College of Surgeons' rats, a model of retinitis pigmentosa *Biochim Biophys Acta*. 1822:1783-1795. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.07.018.
- ⑨ Sorimachi H, Mamitsuka H, Ono Y (2012) Understanding the substrate specificity of conventional calpains *Biol Chem*. 393:853-871. doi: DOI: 10.1515/hsz-2012-0143.
- ⑩ Sorimachi H, Ono Y (2012) Regulation and physiological roles of the calpain system in muscular disorders *Cardiovasc Res*. 96:11-22. doi: 10.1093/cvr/cvs157.
- ⑪ Harada E, Nakagawa J, Asano T, Taoka M, Sorimachi H, Ito Y, Aigaki T, Matsuo T (2012) Functional evolution of duplicated odorant-binding protein genes, *Obp57d* and *Obp57e*, in *Drosophila* *PLoS One*. 7:e29710. doi: 10.1371/journal.pone.0029710.
- ⑫ Hata S, Ueno M, Kitamura F, Sorimachi H (2012) Efficient expression and purification of recombinant human m-calpain using an *Escherichia coli* expression system at low temperature *J Biochem*. 151:417-422. doi: 10.1093/jb/mvs002.
- ⑬ Ono Y, Sorimachi H (2012) Calpains: An elaborate proteolytic system *Biochim Biophys Acta*. 1824:224-236. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.08.005.
- ⑭ Saenz A, Ono Y, Sorimachi H, Goicoechea M, Leturcq F, Blazquez L, Garcia-Bragado F, Marina A, Poza JJ, Azpitarte M, Doi N, Urtaun M, Kaplan JC, Lopez de Munain A (2011) Does the severity of the LGMD2A phenotype in compound heterozygotes depend on the combination of mutations? *Muscle and Nerve*. 44:710-714. doi: 10.1002/mus.22194.
- ⑮ duVerle DA, Ono Y, Sorimachi H, Mamitsuka H (2011) Calpain cleavage prediction using multiple kernel learning *PLoS One*. 6:e19035. doi: 10.1371/journal.pone.0019035.
- ⑯ Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2011) Impact of genetic insights into calpain biology *J Biochem*. 150:23-37. doi: 10.1093/jb/mvr070.
- ⑰ Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2011) Calpain chronicle--an enzyme family under multidisciplinary characterization *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 87:287-327. doi: JST.JSTAGE/pjab/87.287 [pii].
- ⑱ Tonami K, Kurihara Y, Arima S, Nishiyama K, Uchijima Y, Asano T, Sorimachi H, Kurihara H (2011) Calpain-6, a microtubule-stabilizing protein, regulates Rac1 activity and cell motility through interaction with GEF-H1 *J Cell Sci*. 124:1214-1223. doi: 10.1242/jcs.072561.
- ⑲ Ojima K, Ono Y, Ottenhejm C, Hata S, Suzuki H, Granzier H, Sorimachi H (2011) Non-proteolytic functions of calpain-3 in sarcoplasmic reticulum in skeletal muscles *J Mol Biol*. 407:439-449. doi: 10.1016/j.jmb.2011.01.057.
- ⑳ Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2013) Calpain. In: *Encyclopedia of Biological Chemistry, 2nd Edition* (Lane MD, Lennarz WJ, eds), pp 353-361. Waltham, MA: Academic Press.
- [学会発表] (計 45 件)
- ① Sorimachi H, Tonami K, Shinkai-Ouchi F, Hata S, Ojima K, Ono Y Muscle homeostasis modulated by calpains. *XIVth Symposium on Proteases, Inhibitors and Biological Control*, 2014.9.9, Portoroz (Slovenia).
- ② Sorimachi H, Shinkai-Ouchi F, Tonami K, Ojima K, Doi N, Kitamura F, Hata S, Ono Y Calpain functions and muscle homeostasis/dystrophies. *2014 YONSEI BK21Plus - IGAKUKEN Joint Symposium*, 2014.6.19, Seoul (Korea).
- ③ Sorimachi H Regulation of Calpain 3 Activity. *202nd ENMC International Workshop: "Clinical Characteristics, Pathomechanisms and Trial Design for Calpainopathy (LGMD2A)"*, 2013.11.8, Naarden (Netherlands).
- ④ Sorimachi H, Tonami K, Shinkai-Ouchi F, Hata S, Ojima K, Ono Y Extended concept for calpain "activity"--non-proteolytic functions of unconventional calpains. *FASEB science research conferences--Biology of calpains in health & disease*, 2013.7.23, Vermont (USA).
- ⑤ Sorimachi H, Davies PL Calpain nomenclature: Introduction and Discussion. *FASEB science research conferences--Biology of calpains in health & disease*, 2013.7.22 & 23, Vermont (USA).
- ⑥ Sorimachi H, duVerle D, Hata S, Tonami K, Shinkai-Ouchi F, Ojima K, Takigawa I, Mamitsuka H and Ono Y Towards understanding the enigmatic substrate specificity of calpains. *XIIIth Symposium on Proteases, Inhibitors and Biological Control*, 2012.9.25, Portoroz (Slovenia).
- ⑦ Sorimachi H. Muscle-specific calpain

modulates stress response in muscle cells. *The 3rd Japan-Korea Joint Symposium on Life Science*, 2012.2.16, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science (Tokyo).

- ⑧ Sorimachi H. Calpain-3 and connectin/titin as physical stress sensor system for skeletal muscle. *4th Sensing Biology Symposium*, 2012.1.30, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo.
- ⑨ Sorimachi H., Ojima K, and Ono Y.: Studies of titin signaling and CAPN3. *LGMD2A Workshop: Coalition to Cure Calpain 3 (C3)*, 2011.10.27, California (USA).
- ⑩ Sorimachi H., Ojima K, and Ono Y.: Unique properties of muscle-specific calpain and muscular dystrophy caused by its defect. *IPS2011 - Seventh General Meeting of the International Proteolysis Society*, 2011.10.20, California (USA).
- ⑪ Sorimachi H., Ojima K, Takaya E, and Ono Y.: Skeletal muscle-specific calpain is an intracellular  $Ca^{2+}$ - and  $Na^{+}$ -dependent protease. *CaBP17 - The 17th International Symposium on  $Ca^{2+}$ -binding proteins and  $Ca^{2+}$  function in health and disease*. 2011.7.18, Beijing (China).

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

- ① 名称: 組換えヒト m-カルパインの調製方法  
発明者: 反町洋之、秦勝志  
権利者: 公益財団法人東京都医学総合研究所  
種類: 特許  
番号: 2012-153870  
出願年月日: 2012.7.9  
国内外の別: 国内
- ② 名称: 組換えヒト  $\mu$ -カルパインの調製方法  
発明者: 反町洋之、秦勝志  
権利者: 公益財団法人東京都医学総合研究所  
種類: 特許  
番号: 2013-146253  
出願年月日: 2013.7.12  
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/calpain/>

<http://calpain.org/>

<http://calpain.net/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

反町 洋之 (SORIMACHI, Hiroyuki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・分野長

研究者番号: 10211327

(2) 連携研究者

小野 弥子 (ONO, Yasuko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・主席研究員

研究者番号: 20392376

秦 勝志 (HATA, Shoji)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・主席研究員

研究者番号: 10392375

松岡 邦枝 (MATSUOKA, Kunie)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・主席研究員

研究者番号: 40291158

礪波 一夫 (TONAMI, Kazuo)

公益財団法人東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・研究員

研究者番号: 70511393