

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号： 82609  
 研究種目： 特定領域研究  
 研究期間： 2006～2010  
 課題番号： 18076007  
 研究課題名（和文） カルパインによる生体のモジュレーション

研究課題名（英文） Biomodulation by calpain

## 研究代表者

反町 洋之 (SORIMACHI HIROYUKI)

財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・参事研究員

研究者番号： 10211327

## 研究成果の概要(和文):

「カルパイン」はヒトでは 15 遺伝子にコードされている、細胞内カルシウム依存性タンパク質「調節切断」酵素である。カルパインは生体が健康に維持されるように機能し、例えば、カルパイン 3 や 8 の遺伝子に変異が入ると、それぞれ筋ジストロフィーおよびストレス性胃腸疾患を発症する。本研究では、組織特異的に機能するカルパインに注目してその機能を解析した。その結果、カルパイン 3、8、9 などが不全になるとどのように疾患が発症してしまうかというメカニズムの一部を明らかにすることが出来た。

## 研究成果の概要(英文):

“Calpains”, which are encoded by 15 genes in humans, constitute a family of intracellular  $Ca^{2+}$ -dependent “modulator” proteases. They function to maintain homeostasis of various living organisms, and, therefore, defects in calpain functions result in lethality or diseases like muscular dystrophy and stress-induced stomach ulcer. In this study, we focused on tissue-specific calpains, which is involved in tissue-specific functions where they are expressed. As a result, we could elucidate at least a part of molecular mechanisms how defects of calpains cause various disorders.

## 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	4,200,000	0	4,200,000
2007 年度	4,500,000	0	4,500,000
2008 年度	25,500,000	0	25,500,000
2009 年度	26,200,000	0	26,200,000
2010 年度	23,000,000	0	23,000,000
総計	83,400,000	0	83,400,000

研究分野: 生物学

科研費の分科・細目: 生物科学・機能生物化学

キーワード: 細胞内タンパク質分解、カルパイン、カルシウム、骨格筋、胃腸

## 1. 研究開始当初の背景

カルパイン (CAPN) はヒトで 15 種類の遺伝子にコードされる  $Ca^{2+}$ -要求性細胞内「モジュレータ・プロテアーゼ」のファミリーである。各 CAPN は様々な生物現象とリンクしていることが、これまで主に遺伝学的に示されてきた。特に、組織普遍的に発現する m-カルパインを構成する 2 つのサブユニット (各々 CAPN2 (mCL とも呼ばれた) 及

び CAPNS1 (30K とも呼ばれた) のどちらの遺伝子を欠損してもマウスは胚性致死となることが明らかとなっており、カルパインが生命に必須であることが明確となっている。一方、1989 年には申請者らは、組織特異的に発現する「組織特異的カルパイン」を見出し、その研究は、骨格筋特異的に発現する CAPN3 (p94 とも呼ばれた) の病原性変異に起因するプロテアーゼ活性の不全が

筋ジストロフィーを発症することに代表されるように、組織をその組織たらしめる機能と深く結びついており、その不全は様々な病態と関連することも明らかとなってきた。

しかし、カルパインの生理機能・作用機序に関しては、決定的なものは無く、未だに不明な部分が多い。そのような中で、申請者らは15年ほど前に自ら見出した組織特異的カルパインの一つで、胃の表層粘液細胞に極めて特異的に発現するCAPN8 (nCL-2と呼ばれた)の解析を行っていたところ、膜輸送に關与するCOPI小胞のサブユニットβ-COPを基質とし、切断によってその機能を修飾しうることなどを見出した。哺乳類カルパインと膜系との関係は、カルパインの初期の研究段階から示唆されてはいたが、その詳細な分子機構は不明であり、また膜輸送系への関与を分子レベルで記述したのは初めてであった。

一方、酵母にはカルパインホモログ Rim13 (Cpl1とも呼ばれた)が一種のみ存在する。Rim13 はアルカリ環境適応系のシグナル伝達を担っており、アルカリ刺激により転写因子Rim101のC末端部分を切断することにより活性化して、アルカリ適応に必要な遺伝子の発現を制御する。申請者らは共同研究によりその分子機構を解析した結果、Rim13 はエンドソーム膜上で、その膜輸送に關与するVpsタンパク質群と協同してRim101のプロセッシングを行うことを見出した。酵母Rim13はカビで見出されたカルパインPalBのホモログであり、酵母・カビ・動物に広く保存されて、酵母ヒト間で唯一保存されるカルパインである。ヒトのホモログはCAPN7 (PalBHとも呼ばれた)であり、これまでほとんど解析されていなかった。CAPN7も申請者らがPalBのホモログとして同定したものであり、申請者らは酵母Rim13及びその關与する膜輸送系との関連で、興味深い対象と考えていた。

以上のように、組織普遍的なCAPNの研究が壁に当たってきた中、組織特異的CAPNやCAPN7に関する興味深い知見が次々と蓄積されていったのである。そこで申請者らは、これらのCAPNの遺伝子改変マウスを利用して、CAPNの生理機能及び關連するヒト疾患について解析し、カルパインの全く新しい作用機序概念を確立していくことを思い立った。

## 2. 研究の目的

本研究では、CAPNの作用機序を個体、細胞、*in vitro*の各レベルから解析し、CAPN不全による生体システム破綻のメカニズムを明確にし、CAPN不全による疾患の克服に寄与するとともに、CAPNが生体をモジュレーションする分子機構を明らかにすることを目的とする。そこで重要なのは、CAPNが特定の基質を特異的に切断する仕組みの解明であり、(1) Scaffold (膜系や土台タンパク質などからなる切断の場)、(2) Recognition (CAPN分子自体の構造変化による基質特異性)、及び(3) Activation ( $\text{Ca}^{2+}$ や活性

化タンパク質による活性の時空間的制御)の3点について分子レベルで解析を行なう。特に申請者らが自ら見出した骨格筋特異的CAPN3、胃特異的CAPN8/9、及び線虫性決定遺伝子の哺乳類ホモログCAPN6に注目し、筋肉・胃腸の機能に焦点を当てるもので、これらの分子に關する10年以上にわたる基礎研究の成果(知見と材料)を存分に利用できる。またCAPN3とCAPN8/9については、活性のみを失った変異体を発現する「ノックインマウス」の作出にも成功しており、変異マウスを正常個体と生化学的、細胞生物学的に比較解析することで、カルパインのプロテアーゼ活性に焦点を当てた極めて独創的な解析が可能となる。

## 3. 研究の方法

上述した3点について、既に作出の終わったCAPN3及びCAPN8のノックインマウス、CAPN3と相互作用するコネクチンの変異マウス(*mdm*)、コネクチンを介してCAPN3と相互作用するユビキチンリガーゼMURF1のノックアウトマウス、カルパイン關連分子の遺伝子改変マウスなどを利用して、以下の解析を行った。

(1) Scaffold: 申請者らは、CAPN8がゴルジ膜に局在し、ゴルジ-ER逆輸送に關与するβ-COPを切断すること、酵母カルパインがその基質とともに膜上に集積して作用することを見出した。また酵母Two-Hybrid法(YTH)によりhnRNP-Kやコネクチンを土台タンパク質候補として同定した。そこで、YTHや免役沈殿法などによる検索を継続しつつ、細胞透過性蛍光基質、蛍光タンパク質発現や免疫電顕を用いて、基質切断の場の時空間的解析を行なうとともに、*in vitro*での複合体機能再構築を試みた。

(2) Recognition: カルパインの特徴は、一分子中に活性ドメインと基質認識ドメインが内包され、10原子以上の $\text{Ca}^{2+}$ が結合する点である。申請者らは、その $\text{Ca}^{2+}$ 結合数や自己消化によって、基質特異性が変化する可能性を明らかにした。そこで、その構造に關しての構造生物学的解析や $\text{Ca}^{2+}$ 結合サイトや自己消化部位に変異を入れたカルパイン(CAPN3, 8, 9, 6)を用いた基質特異性の解析を行なった。

(3) Activation: CAPN3の活性化機構については、最近 $\text{Ca}^{2+}$ だけでなく $\text{Na}^{+}$ によっても協調的に活性制御されることを見出した。このことは、p94が骨格筋膜系の $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$ -チャンネルとの機能關連を示唆する。そこで、上記変異マウス及びその交配種を用いて、①平常状態及び過負荷時の野生型との差異、②初代培養細胞を用いた細胞レベル及び*in vitro*系での差異、を所属研究機関既設のDNAマイクロアレイシステム、二次元電気泳動・マススペクトルシステムを用いて詳細に解析した。また、幼若骨格筋に発現するCAPN6との機能關連も、CAPN3ノックインマウスの発生過程において解析した。

#### 4. 研究成果

本研究は、CAPNの活性化機構・基質認識機構を解析し、様々な生物機能に関与しつつ生理機能が明確ではないカルパインが、生体をモジュレーションする機構の解明を目的とした。組織機能と密接に関係すると考えられる組織特異的カルパインに焦点を当てて解析を行い、まず胃腸特異的 CAPN8/9 については胃表層粘液分泌細胞への限局を見出し、細胞内ではゴルジ体—小胞体間の膜輸送に関与する COPI 複合体の  $\beta$ -COP サブユニットを基質として、膜輸送系をモジュレートする可能性を示した。さらに CAPN8 の酵素学的に解析から、組織普遍的カルパインとは異なり、自己消化速度が著しく速く、CAPN1 とは結合せずモノマー～オリゴマーで存在し比活性を変化させることを明らかとした。さらに、*Capn8<sup>-/-</sup>*、*Capn9<sup>-/-</sup>*、*Capn8<sup>C105S/C105S</sup>* の3種の遺伝子改変マウスを用いた解析の結果、CAPN8と9は複合体を形成し、その両方が胃粘膜防御機能に関与することを明らかにした。骨格筋特異的 CAPN3 については、これも急速な自己消化活性を見出していたが、さらに、巨大筋弾性蛋白質コネクチンとの部位特異的結合により活性制御されることを明らかとした。また、CAPN3 結合部位付近に結合する転写調節因子の筋アンキリン反復蛋白質 MARP2 が、コネクチンを足場として CAPN3 に限定分解を受けること、CAPN3 の活性はコネクチンの局所構造に依存すること、を明らかにした。一方、CAPN3 は筋原線維内ではいくつかの異なる領域に局在するが、その存在比は筋細胞分化過程で変化し、さらに、成熟筋細胞では筋の伸縮に応じて CAPN3 の局在が変化すること、その局在変化は自己消化活性に依存することを明らかとした。以上から、CAPN3 の生理的役割の一つは筋原線維の伸縮を監視し、過剰な伸長ストレス時に MARP2 を介して核へシグナルを伝達するモジュレーターである事を示した。また、*Capn3<sup>C129S/C129S</sup>* ノックインマウスを用いて CAPN3 は細胞内 Na<sup>+</sup>依存性酵素の初めての例であること、プロテアーゼ活性以外に筋小胞体モジュレーター構造タンパク質でもあること、を見出した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 58 件)

1. Sorimachi H, Ono Y, Hata S (2012) Chapter 453-6 and 458.  $\mu$ -calpain, m-calpain, Muscle calpain, Gastrointestinal calpain, and other calpains. In: *Handbook of Proteolytic enzymes, 3rd Edition* (Rawlings ND, Salvesen G, eds), in press. Oxford, UK: Elsevier Academic Press, URL: <http://store.elsevier.com/product.jsp?isbn=9780123822192&pagename=search>. (査読有)
2. Sorimachi H (2012) Calpain. In: *Encyclopedia of Biological Chemistry 2nd Edition* (Lane MD, Lennarz WJ, eds), in press. Oxford, UK: Elsevier Academic Press, URL: <http://store.elsevier.com/product.jsp?isbn=9780080547756&pagename=search>. (査読有)

3. Ono Y, Sorimachi H (2012) Calpains - An elaborate proteolytic system. *Biochim Biophys Acta* 1824:224-236, DOI: 10.1016/j.bbapap.2011.08.005. (査読有)
4. 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. (査読有)
5. 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. (査読有)
6. Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2011) Calpain chronicle--an enzyme family under multi-disciplinary characterization. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 87:287-327, DOI: JST.JSTAGE/pjab/87.287 [pii]. (査読有)
7. 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. (査読有)
8. Saenz A, Ono Y, Sorimachi H, Goicoechea M, Leturcq F, Blazquez L, Garcia-Bragado F, Marina A, Poza JJ, Azpitarte M, Doi N, Urtasun 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. (査読有)
9. Ojima K, Ono Y, Ottenheijm 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. (査読有)
10. Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2011) Impact of genetic insights into calpain biology. *J Biochem* 150:23-37, DOI: 10.1093/jb/mvr070. (査読有)
11. 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. (査読有)
12. Ojima K, Kawabata Y, Nakao H, Nakao K, Doi N, Kitamura F, Ono Y, Hata S, Suzuki H, Kawahara H, Bogomolovas J, Witt C, Ottenheijm C, Labeit S, Granzier H, Toyama-Sorimachi N, Sorimachi M, Suzuki K, Maeda T, Abe K, Aiba A, Sorimachi H (2010) Dynamic distribution of muscle-specific calpain in mice has a key role in physical-stress adaptation and is impaired in muscular dystrophy. *J Clin Invest* 120:2672-

- 2683, DOI: 10.1172/JCI40658. (査読有)
13. Ojima K, Ono Y, Doi N, Kitamura F, Kawabata Y, Suzuki K, Maeda T, Abe K, Nakao H, Aiba A, Suzuki H, Kawahara H, Witt C, Ottenheijm C, Labeit S, Ottenheijm C, Granzier H, Toyama-Sorimachi N, Sorimachi M, Sorimachi H (2010) Skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain-3, dynamically distributes in skeletal muscle cells to adapt to physical stress, defects of which cause muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 20:598-599, URL: [http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/973/description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/973/description). (査読有)
  14. Ono Y, Ojima K, Torii F, Takaya E, Doi N, Nakagawa K, Hata S, Abe K, Sorimachi H (2010) Redundant and non-redundant effects of Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> on the activation of p94/calpain-3. *Neuromuscul Disord* 20:608, URL: [http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/973/description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/973/description). (査読有)
  15. Sorimachi H, Hata S, Ono Y (2010) Expanding members and roles of the calpain superfamily and their genetically modified animals. *Exp Anim* 59:549-566, URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21030783>. (査読有)
  16. Fardeau M, Beckmann JS, Sorimachi H, Urtizberea JA (2010) Une contribution à l'histoire de la découverte des calpainopathies. (in French). *Les Cahiers de Myologie* 2:5-10. (査読無)
  17. duVerle DA, Takigawa I, Ono Y, Sorimachi H, Mamitsuka H (2010) CaMPDB: a resource for calpain and modulatory proteolysis. *Genome Inform* 22:202-213, DOI: 9781848165786\_0017 [pii]. (査読有)
  18. Ono Y, Ojima K, Torii F, Takaya E, Doi N, Nakagawa K, Hata S, Abe K, Sorimachi H (2010) Skeletal muscle-specific calpain is an intracellular Na<sup>+</sup>-dependent protease. *J Biol Chem* 285:22986-22998, DOI: 10.1074/jbc.M110.126946. (査読有)
  19. Hata S, Abe M, Suzuki H, Kitamura F, Toyama-Sorimachi N, Abe K, Sakimura K, Sorimachi H (2010) Calpain 8/nCL-2 and calpain 9/nCL-4 constitute an active protease complex, G-calpain, involved in gastric mucosal defense. *PLoS Genet* 6:e1001040, DOI: 10.1371/journal.pgen.1001040. (査読有)
  20. Yamada M, Yoshida Y, Mori D, Takitoh T, Kengaku M, Umeshima H, Takao K, Miyakawa T, Sato M, Sorimachi H, Wynshaw-Boris A, Hirotsune S (2009) Inhibition of calpain increases LIS1 expression and partially rescues *in vivo* phenotypes in a mouse model of lissencephaly. *Nat Med* 15:1202-1207, DOI: 10.1038/nm.2023. (査読有)
  21. Koyama S, Hata S, Witt CC, Ono Y, Lerche S, Ojima K, Chiba T, Doi N, Kitamura F, Tanaka K, Abe K, Witt SH, Rybin V, Gasch A, Franz T, Labeit S, Sorimachi H (2008) Muscle RING-finger protein-1 (MuRF1) as a connector of muscle energy metabolism and protein synthesis. *J Mol Biol* 376:1224-1236, DOI: 10.1016/j.jmb.2007.11.049. (査読有)
  22. Sasuga Y, Iwasawa T, Terada K, Oe Y, Sorimachi H, Ohara O, Harada Y (2008) Single-cell chemical lysis method for analyses of intracellular molecules using an array of picoliter-scale microwells. *Anal Chem* 80:9141-9149, DOI:10.1021/ac8016423. (査読有)
  23. Ono Y, Hayashi C, Doi N, Tagami M, Sorimachi H (2008) The importance of conserved amino acid residues in p94 protease sub-domain IIB and the IS2 region for constitutive autolysis. *FEBS Lett* 582:691-698, DOI: 10.1016/j.febslet.2008.01.044. (査読有)
  24. Hayashi C, Ono Y, Doi N, Kitamura F, Tagami M, Mineki R, Arai T, Taguchi H, Yanagida M, Hirner S, Labeit D, Labeit S, Sorimachi H (2008) Multiple molecular interactions implicate the connectin/titin N2A region as a modulating scaffold for p94/calpain 3 activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* 283:14801-14, DOI:10.1074/jbc.M708262200. (査読有)
  25. Ono Y, Hayashi C, Doi N, Kitamura F, Shindo M, Kudo K, Tsubata T, Yanagida M, Sorimachi H (2007) Comprehensive survey of p94/calpain 3 substrates by comparative proteomics--possible regulation of protein synthesis by p94. *Biotech J* 2:565-576, DOI: 10.1002/biot.200700018. (査読有)
  26. Ojima K, Ono Y, Doi N, Yoshioka K, Kawabata Y, Labeit S, Sorimachi H (2007) Myogenic stage, sarcomere length, and protease activity modulate localization of muscle-specific calpain. *J Biol Chem* 282:14493-14504, DOI: 10.1074/jbc.M610806200. (査読有)
  27. Kamei H, Saito T, Ozawa M, Fujita Y, Asada A, Bibb JA, Saido TC, Sorimachi H, Hisanaga S (2007) Suppression of calpain-dependent cleavage of the CDK5 activator p35 to p25 by site-specific phosphorylation. *J Biol Chem* 282:1687-1694, DOI: 10.1074/jbc.M610541200. (査読有)
  28. Hata S, Doi N, Kitamura F, Sorimachi H (2007) Stomach-specific calpain, nCL-2/calpain 8, is active without calpain regulatory subunit and oligomerizes through C2-like domains. *J Biol Chem* 282:27847-56, DOI:10.1074/jbc.M703168200. (査読有)
  29. Hata S, Koyama S, Kawahara H, Doi N, Maeda T, Toyama-Sorimachi N, Abe K, Suzuki K, Sorimachi H (2006) Stomach-specific calpain, nCL-2, localizes in mucus cells and proteolyzes the  $\beta$ -subunit of coatamer complex,  $\beta$ -COP. *J Biol Chem* 281:11214-24, DOI: 10.1074/jbc.M509244200. (査読有)
  30. Nakajima K, Asakura T, Maruyama J, Morita Y, Oike H, Shimizu-Ibuka A, Misaka T, Sorimachi H, Arai S, Kitamoto K, Abe K (2006) Extracellular production of neoculin, a sweet-tasting heterodimeric protein with taste-modifying activity, by *Aspergillus oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 72:3716-3723, DOI:

- 10.1128/AEM.72.5.3716-3723.2006.(査読有)
31. Nakajima K, Asakura T, Oike H, Morita Y, Shimizu-Ibuka A, Misaka T, Sorimachi H, Arai S, Abe K (2006) Neoculin, a taste-modifying protein, is recognized by human sweet taste receptor. *Neuroreport* 17:1241-44, DOI: 10.1097/01.wnr.0000230513.01339.3b.(査読有)
  32. Ojima K, Ono Y, Doi N, Labeit S, Sorimachi H (2006) Spatio-temporal expression of muscle-specific calpain, p94/calpain 3, during myogenesis. *Neuromuscul Disord* 16:S56, URL: [http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/973/description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/973/description).(査読有)
  33. Yajima Y, Sato M, Sorimachi H, Inomata M, Maki M, Kawashima S (2006) Calpain system regulates the differentiation of adult primitive mesenchymal ST-13 adipocytes. *Endocrinology* 147:4811-4819, DOI: 10.1210/en.2005-1647.(査読有)
  34. Ono Y, Torii F, Ojima K, Doi N, Yoshioka K, Kawabata Y, Labeit D, Labeit S, Suzuki K, Abe K, Maeda T, Sorimachi H (2006) Suppressed disassembly of autolyzing p94/CAPN3 by N2A connectin/titin in a genetic reporter system. *J Biol Chem* 281: 18519-31, DOI: 10.1074/jbc.M601029200.(査読有)
  35. Takahara T, Hara K, Yonezawa K, Sorimachi H, Maeda T (2006) Nutrient-dependent multimerization of the mammalian target of rapamycin through the N-terminal HEAT repeat region. *J Biol Chem* 281:28605-28614, DOI: 10.1074/jbc.M606087200.(査読有)
  36. Sorimachi H, Ojima K, Yanagida M, Ogawa H, Hayashi C, Doi N, Ono Y (2006) How do defects in proteolytic functions of skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain 3, cause calpainopathy/LGMD2A? *Neuromuscul Disord* 16:S148, URL: [http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/973/description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/973/description).(査読有)
  37. Shimizu-Ibuka A, Morita Y, Terada T, Asakura T, Nakajima K, Iwata S, Misaka T, Sorimachi H, Arai S, Abe K (2006) Crystal structure of neoculin: insights into its sweetness and taste-modifying activity. *J Mol Biol* 359:148-158, DOI: 10.1016/j.jmb.2006.03.030.(査読有)
  38. Ono Y, Torii F, Ojima K, Doi N, Yoshioka K, Labeit D, Labeit S, Suzuki K, Abe K, Maeda T, Sorimachi H (2006) Effect of N2A connectin/titin on disassembly of p94/CAPN3 caused by autolysis in IS2. *FEBS Journal* 273 Suppl.:50, URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-4658.2006.05276.x/pdf>.(査読有)
  39. Ono Y, Ojima K, Doi N, Hayashi C, Torii F, Abe K, Labeit D, Labeit S, Suzuki K, Abe K, Maeda T, Sorimachi H (2006) Relationships between p94/CAPN3 and N2A connectin/titin in skeletal muscle under the normal and dystrophic conditions. *Neuromuscul Disord* 16:S72, URL: [http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/973/description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/973/description)
- ion.(査読有)
- [学会発表](計 127 件)
1. Sorimachi, H., Ojima, K., and Ono, Y. Studies of titin signaling and CAPN3. LGMD2A Workshop: Coalition to Cure Calpain 3 (C3), 2011.10.27, Santa Monica, USA.
  2. 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 (10/16-20), San Diego, USA.
  3. Sorimachi, H., Ojima, K., Takaya, E., and Ono, Y. Skeletal muscle-specific calpain is an intracellular Ca<sup>2+</sup>- and Na<sup>+</sup>-dependent protease. CaBP17 - The 17th International Symposium on Ca<sup>2+</sup>-binding proteins and Ca<sup>2+</sup> function in health and disease., 2011.7.18 (7/16-21), Beijing, China.
  4. Ono, Y., Hata, S., and Sorimachi, H. Calpains - introduction CHUV (Le Centre Hospitalier Universitaire Vaudois) Special Seminar, 2010.10.01, Lausanne, Switzerland.
  5. Ono, Y., Hata, S., Ojima, K., Tonami, K., Kitamura, F., Ueno, M., Takaya, E., Granzier, H., Labeit, S., and Sorimachi, H. [The closing lecture] In Memoriam Koichi Suzuki: Calpains in muscles and stomach XIIth Symposium on Proteases, Inhibitors and Biological Control, 2010.09.28 (9/25-9/29), Portoroz, Slovenia.
  6. Matsushita, G., Hata, S., and Sorimachi, H. (Murachi Award-winning oral presentation) Possible interacting proteins for G-calpain, a novel gastrointestinal calpain complex of calpain 8/nCL-2 and calpain 9/nCL-4. FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2010.07.30 (7/25-7/30), Arizona, USA.
  7. Sorimachi, H., Hata, S., Ojima, K., Labeit, S., and Ono, Y. Unique functions of mammalian unconventional calpains. FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2010.07.30 (7/25-7/30), Arizona, USA.
  8. Sorimachi, H. A Koichi Suzuki Legacy: Structure-function relationships of calpain. FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2010.07.29 (7/25-7/30), Arizona, USA.
  9. Hata, S., Abe, M., Suzuki, H., Kitamura, F., Toyama-Sorimachi, N., Abe, K., Sakimura, K., and Sorimachi, H. (Selected for oral presentation) Calpain 8/nCL-2 and Calpain 9/nCL-4 constitute an active protease complex, G-calpain, involved in gastric mucosal defense FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2010.07.29 (7/25-7/30), Arizona, USA.

10. Ono, Y., Ojima, K., Torii, F., Takaya, E., Doi, N., Nakagawa, K., Hata, S., Abe, K., and Sorimachi, H. (Selected for oral presentation) Characteristics of p94/calpain 3 as an intracellular Na<sup>+</sup>-dependent protease FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2010.07.28 (7/25-7/30), Arizona, USA.
11. Sorimachi, H., Ojima, K., Hata, S., and Ono, Y. Calpain-3 and molecular interactions. Calpaines et Calpainopathies. VIIes Journées annuelles de la SFM (Société Française de Myologie) 2009.10.30 (10/29-10/31), Hendaye, France.
12. Sorimachi, H., Hayashi, C., Hata, S., Ojima, K., Koyama, S., Doi, N., Kitamura, F., Takaya, E., Ueno, M., Kaneko, N., and Ono, Y. Roles of skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain 3, on multiple molecular interactions using connectin/titin N2A region as a modulating scaffold. 11th International Symposium on PROTEINASE INHIBITORS AND BIOLOGICAL CONTROL: 2008.09.02 (8/30-9/3), Portoroz, Slovenia.
13. Sorimachi, H. La calpaína como “proteína moduladora” en la enfermedad y la salud. (Calpain as a "modulator protease" in health and muscle disease.) UPV/EHU (Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea) Summer Course Symposium: Distrofias por Déficit de Calpaína-3: Una Visión General, 2008.07.14 (7/14-15), San Sebastián, Spain.
14. Ono, Y., Ojima, K., Hata, S., and Sorimachi, H. Toward Understanding Relationships between Proteolytic Activity of Skeletal Muscle-Specific Calpain and Calpainopathy. 2007 Korea-Japan Joint Symposium “Protein Modification and Degradation in Human Diseases”, 2007.09.05, Seoul, South Korea.
15. Ono, Y., Ojima, K., Hayashi, C., Doi, N., Kitamura, F., Koyama, S., Hata, S., Labeit, S., Yanagida, M., Maeda, T., and Sorimachi, H. Unconventional calpains. FASEB Summer Research Conferences – The Biology of Calpains in Health & Disease, 2007.07.15 (7/14-7/19), Colorado, USA.
16. Ono, Y., Ojima, K., Hayashi, C., Doi, N., Kitamura, F., Koyama, S., Hata, S., Labeit, S., Yanagida, M., Maeda, T., and Sorimachi, H. Novel approaches for analysis of proteolytic activity of muscle-specific calpain p94/calpain 3 Xth International Symposium on PROTEINASE INHIBITORS AND BIOLOGICAL CONTROL: From single molecules to degradomics, 2007.06.24 (6/23-6/27), Portoroz, Slovenia.
17. Ono, Y., Torii, F., Ojima, K., Doi, N., Yoshioka, K., Kawabata, Y., Labeit, D., Labeit, S., Suzuki, K., Abe, K., Maeda, T., Hata, S., Koyama, S., and Sorimachi, H. A novel genetic assay system for a rapidly autolyzing muscle-specific calpain p94/calpain 3. 5<sup>th</sup> International Conference on Cysteine Proteinases and Their Inhibitors: From Structure to Regulation and Biology. 2006.9.4 (9/2-9/6), Portoroz, Slovenia.
18. Sorimachi, H., Ojima, K., Yanagida, M., Ogawa, H., Hayashi, C., Doi, N., and Ono, Y. How do defects in proteolytic functions of skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain 3, cause calpainopathy/LGMD2A? XIth International Congress on Neuromuscular Diseases. 2006.7.6 (7/2-7/7), Istanbul, Turkey.
19. Sorimachi, H., Maeda, T., Suzuki, K. Novel function of calpain at the membranes. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. 2006.6.22 (6/18-6/23), Kyoto, Japan.

[その他]

ウェブサイト

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

<http://calpain.org/viewer.rb>

<http://calpain.net/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

反町 洋之 (SORIMACHI HIROYUKI)

財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨

床医学総合研究所・参事研究員

研究者番号:10211327

### (2)研究分担者

小野 弥子 (ONO YASUKO)

財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨

床医学総合研究所・主席研究員

研究者番号:20392376

(H21→H22:連携研究者)

秦 勝志 (HATA SHOJI)

財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨

床医学総合研究所・主席研究員

研究者番号:10392375

(H21→H22:連携研究者)

尾嶋 孝一 (OJIMA KOICHI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合

研究機構・畜産草地研究所・食肉プロテオーム

研究チーム・研究員

研究者番号:60415544

(H20→H22:連携研究者)