

機関番号： 82609
 研究種目： 基盤研究(B)
 研究期間： 2008～2010
 課題番号： 20370055
 研究課題名（和文） 酵母～ヒトで保存されたカルパイン PalBH の膜輸送系における新規機能の解析
 研究課題名（英文） Novel functions of evolutionarily conserved calpain-7/PalBH in membrane trafficking system.
 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る、細胞内カルシウム依存性タンパク質切断酵素のファミリーである。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 2 や 3 の遺伝子に変異が入ると、それぞれ致死および筋ジストロフィーを発症してしまう。本研究では、今まであまり研究されていない、しかし酵母からヒトまで保存された CAPN7 (PalBH) に注目してその機能を解析した。その結果、CAPN7 は膜輸送系に機能し、その不全により致死を生じることが明らかとなった。

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 proteases. They function to protect living organisms, and, therefore, defects in calpain functions result in lethality or diseases like muscular dystrophy. In this study, we focused on calpain-7/PalBH, which is conserved from human to yeast but has not been studied well so far. As a result, it was suggested that calpain-7 also plays essential roles for mammalian life like calpain-2 and -3.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2009 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
総計	15,700,000	4,710,000	20,410,000

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、内膜輸送系

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+} -要求性細胞内システインプロテアーゼのファミリーである。約半数の遺伝子について主にマウスを用いた実験から、それぞれが様々な生物現象とリンクしていることが、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と呼ばれた) 及びCAPN1 (30Kと呼ばれた) 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、申請者らの発見 (Sorimachi, H. *et al.* (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 20106-11) で幕を開けた、組織特異的に発現する「組織特異的カルパイン」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 (Ono, Y. *et al.* (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 17073-78) 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、遺伝学的知見を説明するカルパインの生理機能・作用機序に関しては、それを示唆する多くの報告はあるものの、決定的なものは無く、未だに茫漠としている。既述のように、現在までに知られているだけでも、カルパインの活性不全が関与する疾病には、筋ジストロフィーをはじめ、糖尿病、Alzheimer病、腫瘍、虚血性疾患と枚挙に暇はないが、カルパインの作用機序が不明なため、活性昂進型不全による疾患に対してカルパイン阻害剤が対症療法的に試されているのが精一杯の現状である。そこには、カルパインに対する発想の転換、新しい概念の創成によるブレイクスルーが切望されている。

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) (Sorimachi, H. *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 19476-82) の解析を行っていたところ、CAPN8は、m-カルパインとは全く異なる分子形態や活性制御をもっていること (Hata, S. *et al.* (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 27847-56)、膜輸送に関与する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 (Hata, S. *et al.* (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 11214-24) 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 *S. cerevisiae* にはカルパインホモログ Rim13/Cpl1 が一種類のみ存在する (Futai, E. *et al.* (1999) *Mol. Gen. Genet.* **260**, 559-68)。Rim13/Cpl1 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/Cpl1 はエンドソーム膜上で、その膜輸送に関与する 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 (Hayashi, M. *et al.* (2005) *Mol. Cell. Biol.* **25**, 9478-90)。

最近では他のグループからも、 μ -カルパインのミトコンドリア内機能について報告され、カルパインと細胞内膜系という新しい方向性が姿を顕しつつある。酵母Rim13/Cpl1

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いる。また、酵母とヒトの間で唯一保存されるカルパインである。酵母、カビでは、その生理機能及び作用機序が分子レベルでかなり解明されてきているにもかかわらず、ヒトCAPN7 (PalBHと呼ばれた) は、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 (Futai, E. *et al.* (2001) *Biochim. Biophys. Acta* **1517**, 316-9)、申請者らは酵母Rim13/Cpl1及びその関与する膜輸送系との関連で、興味深い対象と考えていた。

そのような中、CAPN7遺伝子 (*Capn7*) ノックアウトマウスの存在を知り、これを入手することに成功した。現在、バッククロスを進めており、間もなく解析に使える状態となる。CAPN7は、前述のように今まで全くと言って良いほど何も研究されていないが、酵母、カビでの知見とカルパインの新しい機能としての膜輸送系への関与とは、CAPN7の生理機能に大きな興味が寄せられる所以である。preliminaryな結果ながら、現在までに30匹の新生仔のgenotypingを行ったが、野生型 (*Capn7^{+/+}*) とヘテロ型 (*Capn7^{+/-}*) が各々12匹と18匹であり、ホモ型 (*Capn7^{-/-}*) はゼロであったため、胚～胎児性致死の可能性が高い。即ち、m-カルパイン同様、個体発生に必須なカルパインであると考えられる。

そこで申請者らは、このCAPN7ノックアウトマウスと、比較解析のためにCAPN8ノックイン及びノックアウトマウスや酵母Rim13/Cpl1の系などを用いて、CAPN7の生理機能及び関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

上述のようにカルパインは、基本的には細胞質内に存在し、様々な細胞機能をモジュレートしているプロテアーゼである。そのため、組織普遍的なm-カルパインの機能不全が胚性致死、組織特異的なカルパイン3の機能不全が筋ジストロフィーという因果関係となる。量的にも多いm-カルパイン (及び μ -カルパイン) が今まで、そして現在も、カルパイン研究の中心ではあるが、上記のようにCAPN7の不全も生体に重篤な影響を与えることが強く予想されたと言うことは、今までの方法論では全く扱われてこなかったカルパイン研究分野の存在を意味する。そこで、本研究では、CAPN7ノックアウトマウス及びES細胞を含めた様々な組織の初代培養細胞

などを用いて、CAPN7のおそらく膜輸送系に関与すると考えられる新しいカルパイン機能とその作用機序について明らかにし、新たに見出される可能性の高い関連疾患に対してもその病態発生メカニズムの理解を目指すことを目的とする。酵母やカビからの知見から、CAPN7を含むシグナルフローに関与する分子群は予想されており、CAPN7が何をどこで何のためにプロセッシングするのかについて、プロテオーム解析を含む生化学とマウス遺伝学の両面から明らかにしていく。

3. 研究の方法

既述のように、15 遺伝子にコードされるヒトのカルパインには、組織特異的に発現する分子種と、組織普遍的に発現するものが約半分ずつである（中には p94 遺伝子 (*Capn3*) のように骨格筋特異的に発現するプロモーターと組織普遍的に発現するプロモーターとを、同一遺伝子内に合わせ持つものの存在も申請者らは見出している (Kawabata, Y. *et al.* (2003) *FEBS Lett.* **555**, 623-30)). CAPN7 は組織普遍的に発現する分子種であり、酵母やカビでのホモログ (Rim13/Cpl1 及び PalB) とアルカリ適応系との関係の解析は進んでいるものの、ヒトでは全く違う機能を担うと考えられる CAPN7 の解析はほぼ全く行われていない。しかし、上述のように preliminary ながら、バッククロス中の CAPN7 遺伝子ノックアウト (*Capn7*^{-/-}) マウスは、胚～新生仔性の致死であり、CAPN7 が個体発生や生体機能のモジュレーションに必須の機能を果たすことが強く予想される。

申請者らは共同研究により、以下のような興味深い知見を得た。酵母カルパイン Rim13/Cpl1 は、環境のアルカリ pH に応答して転写因子 Rim101 を切断することで活性化し、アルカリ適応的転写プログラムを誘導する経路 (Rim13/Cpl1-Rim101 経路) で機能する。Rim13/Cpl1 はカルパイン・ファミリーの中でも例外的に生理的基質 (Rim101) とプロテアーゼとしての生理的活性化条件 (アルカリ環境) が明確である。Cpl1-Rim101 経路構成因子として Rim8, 9, 20, 21 があり、いずれを欠損しても Rim101 の切断が不全となる。逆に、エンドソーム膜輸送系に関わる Vps2, 4, 24 のいずれかの欠損で、Rim101 の恒常的切断活性化を見出した。さらに遺伝学的解析からこの経路のシグナルフローが、[アルカリ刺激]→[Rim8, 9, 21]→[Rim20, Rim13/Cpl1]→[Rim101 切断]であることを明らかにした。さらに包括的な遺伝学的解析

から、ESCRT 複合体 (リソソーム/液胞内腔へと輸送されて分解されるべき膜タンパク質のエンドソーム膜上での仕分けに関与する) が、アルカリ条件下では Rim13/Cpl1 を含む活性プロテアーゼ複合体集積のための足場を提供し、Rim101 を切断するという機構を明らかとした (Hayashi, M. *et al.* (2005) *Mol. Cell. Biol.* **25**:9478-90)。

興味深いことに、ここに登場するほとんどの分子にヒトホモログが存在する。そのコンポーネントの類似性に反し、ヒトでは細胞の「アルカリ応答」が頻繁に組織普遍的に起きているとは考えにくく、この分子ネットワークの関与する生理機能は酵母・カビとは全く異なるものと考えられる。そこで、本研究では、特徴的な性質を示す組織特異的カルパインと膜系に関係深い酵母カルパインとのこれまでの実験結果と手法・マテリアルの蓄積をもとに、以下のような解析を行った。

(1) *Capn7*^{-/-}マウスの準備

まず *Capn7*^{-/-}マウスの遺伝子型タイピングの系を確立した。バッククロスを進め、最終的に N=10 までバッククロスを継続するとともに、胎生致死の可能性を考慮して、解剖によりその死亡時期の特定を行った。

(2) *Capn7*^{-/-}初代培養細胞を用いた解析

Capn7^{-/-}マウスは、新生仔致死を呈するため、ES 細胞、骨格筋や胃粘膜などの初代培養細胞を胎児組織から可能な限り採取し、細胞レベルでの実験を想定した。ES 細胞や筋芽細胞では分化能や分化後の分子プロファイルを野生型の細胞と比較解析した ((5) 参照)。胃粘膜細胞では、ムチン分泌能や小胞輸送能など膜輸送系について解析する。

(3) *Capn7*^{-/-}マウスと他のカルパイン遺伝子改変マウスの交配による遺伝学的解析

既述のように CAPN8 は胃の粘液分泌細胞においてゴルジ-小胞体間の逆輸送に関与する COPI 小胞の制御に関与すると考えられる。また、CAPN9 は胃・腸で発ガンとの関係が示唆されつつもその病態作用機序は全く不明である。一方、CAPN3 は筋ジストロフィーの責任遺伝子であるが、CAPN3 のノックインマウスの表現型は極めて軽微である。そこで、これらのカルパインのノックイン・ノックアウトマウス (既に、申請者の研究室で作出済み) と *Capn7*^{-/-}マウスと交配させることにより、表現型の変化や、細胞レベルでの膜輸送機能の変化を観察し、細胞内でのカルパイン相互ネットワークの解明を試みた。

(4) 培養細胞発現系による解析

酵母 Rim13/Cpl1 及びカビ PalB の解析から、CAPN7 は、ESCRT 複合体に含まれる Vps

タンパク質と協働して、エンドソームを足場としながら PEF タンパク質やアレクチン、基質候補の転写因子などと相互作用していることが示唆された。そこで、培養細胞に CAPN7 あるいはその siRNA を発現させることでこれらの分子との相互作用の真偽を確認し、さらに、その時の膜輸送系の挙動を様々な分子に注目して解析した。大きいために変化の解析がしやすい神経細胞や筋芽細胞などを重点的に解析した。

(5) ディファレンシャルプロテオーム解析

Capn7^{-/-}マウスは、二次元ナノスケール液体クロマトグラフィ (nLC) と高感度マスペクトル解析の組み合わせにより、非放射性同位元素を用いた iTRAQ™ と呼ばれるディファレンシャル解析方法によって、既成概念に捕らわれず、様々な分子との関連を解析した。

(6) プロテオーム的解析結果の解析と応用

ディファレンシャルプロテオーム解析の結果について、まず知識ベースにより様々な可能性を検討し、いくつかの作業仮説を構築して、その作業仮説に対して、遺伝子改変マウスやそこから得られた初代培養細胞などを用いて、詳細に検討することを計画した。

(7) カルパインの作用機序に関する総合的理解と新しい概念の確立

以上で得られた実験結果を総合し、CAPN7 と組織特異的カルパインの膜・膜輸送系での役割を明確にし、膜系を足場とした様々な分子とのネットワークの実体を明らかにし、カルパインの新しい作用機序の概念の確立を目指した。

4. 研究成果

(1) *Capn7*^{-/-}マウスについて

Capn7^{-/-}マウスは N=10 までバッククロスを達成して、ほぼ congenic の系を構築した。

(2) *Capn7*^{-/-}初代培養細胞を用いた解析

Capn7^{-/-}マウスからの MES 細胞を不死化することで、ライン化細胞を得た。

(3) *Capn7*^{-/-}マウスと他のカルパイン遺伝子改変マウスの交配による遺伝学的解析

Capn7^{-/-}マウスの表現型が *Capn7* の欠損によるものであることを確認するために、CAPN7 を発現するトランスジェニックマウスを作出し、これとの交配を行った結果、確かに *Capn7* の欠損に因ることが確認された。

(4) 培養細胞発現系による解析

CAPN7 を COS 細胞に発現させた結果、共発現させたタンパク質の量に変化が起こることが判明した。これは CAPN7 が翻訳系の機能に関与していることを示唆しており、今後さらに解析を進める予定である。

(5) ディファレンシャルプロテオーム解析

Capn7^{-/-}と野生型マウスの肝臓抽出物を用いて、iTRAQ™ ディファレンシャル解析を行った。その結果、いくつかの分子で、両マウス由来の組織間で有意な差が認められた。

(6) プロテオーム的解析結果の解析と応用

解析結果は興味深い点を含むものの、その意義の看破は難しかった。そこで、いくつかの知識ベースを利用して、様々な可能性を検討し、現在、いくつかの作業仮説を構築しつつある。さらに、いくつかの実験を追加することによって、その仮説の正当性を裏付けつつ、今後さらに発展させていきたい。

(7) カルパインの作用機序に関する総合的理解と新しい概念の確立

まだ preliminary ながら、CAPN7 が膜輸送系において、極めて重要な役割を果たしており、その破綻は致死に至ることが強く示唆された。今後は、その具体的な機能、作用機序について、さらに明らかにしていきたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 30 件)

1. Sáenz, A., Ono, Y., Sorimachi, H., Goicoechea, M., Leturcq, F., Blázquez, L., García-Bragado, F., Marina, A., Poza, J.J., Azpitarte, M., Doi, N., Urtasun, M., Kaplan, J.C., López de Munain, A. (2011) Does the severity of the LGMD2A phenotype in compound heterozygotes depend on the combination of mutations? *Muscle Nerve*, in press. (査読有)
2. duVerle, D. A., Ono, Y., Sorimachi, H., and Mamitsuka, H. (2011) Calpain cleavage prediction using multiple kernel learning. *PLoS One*, in press. (査読有)
3. Sorimachi, H., Hata, S., and Ono, Y. (2011) Calpain chronicle - an enzyme family under multidisciplinary characterization. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B*, **87**, in press. (査読有)
4. Tonami, K., Kurihara, Y., Arima, S., Nishiyama, K., Uchijima, Y., Asano, T., Sorimachi, H., and Kurihara, H. (2011) Calpain 6, a microtubule-stabilizing protein, regulates Rac1 activity and cell motility through interaction with GEF-H1. *J. Cell Sci.*, **124**, in press. (査読有)
5. Ojima, K., Ono, Y., Ottenheijm, C., Hata, S., Suzuki, H., Granzier, H., and Sorimachi, H. (2011) Non-proteolytic functions of calpain-3 in sarcoplasmic reticulum in skeletal muscles. *J. Mol. Biol.*, **407**, 439-449. (査読有)
6. 反町洋之、秦勝志、小野弥子 (2011) カルパ

- インの組織機能論 **実験医学**, 29, in press. (査読無)
7. 反町洋之, 小野弥子 (2011) 肢帯型筋ジストロフィーの発症機構 **生体の科学**, 62, in press. (査読無)
 8. 秦勝志, 反町洋之 (2011) 胃粘膜防御に果たすカルパインの役割 **日本臨床**, 69, in press. (査読無)
 9. 小野弥子, 反町洋之 (2011) 骨格筋特異的カルパイン-3 の活性制御因子は細胞内 Na⁺ ~ 例外か多様性か. **化学と生物**, 49, 229-231. (査読無)
 10. Ojima, K., Kawabata, Y., Nakao, H., Nakao, K., Doi, N., Kitamura, F., Ono, Y., Hata, S., Suzuki, H., Kawahara, H., Bogomolovas, J., Witt, C., Ottenheim, 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. (査読有)
 11. 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. (査読有, **PLoS Genet. Featured Research** 選出; **SciBX** 3(31); doi:10.1038/scibx.2010.956 で紹介された)
 12. 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⁺-dependent protease. **J. Biol. Chem.**, 285, 22986-22998. (査読有)
 13. 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. (査読有)
 14. Fardeau, M., Beckmann, J.S., Sorimachi, H. & Urtizberea, J. A. (2010) Une contribution à l'histoire de la découverte des calpainopathies. **Les Cahiers de Myologie**, 2, 5-10. (査読無)
 15. 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(PAFAH1B1) and partially rescues *in vivo* phenotypes in a mouse model of lissencephaly. **Nature Med.**, 15, 1202-1207. (査読有)
 16. duVerle, D. A., Takigawa, I., Ono, Y., Sorimachi, H. & Mamitsuka, H. (2009) CaMPDB: a Resource for Calpain and Modulatory Proteolysis. **Genome Informatics** 22, 202-214. (査読有)
 17. Sasuga, Y., Iwasawa, T., Terada, K., Oe, Y., Sorimachi, H., Ohara, O. & Harada, Y. (2008) A simple single-cell chemical lysis method for analyses of intracellular molecules using an array of picoliter-scale microwells. **Anal. Chem.**, 80, 9141-9149. (査読有)
 18. 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 connectin/titin N2A region as a modulating scaffold for p94/calpain 3 activity in skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, 283, 14801-14814. (査読有)
 19. Ono, Y., Hayashi, C., Doi, N., Tagami, M. & Sorimachi, H. (2008) The importance of conserved amino acid residues in protease sub-domain IIb and the IS2 region in p94 for constitutive autolysis. **FEBS Lett.**, 582, 691-698. (査読有)
 20. Koyama, S., Hata, S., Witt, C. C., Ono, Y., Lerche, S., Ojima, K., Chiba, T., Doi, N., Kitamura, F., Tanaka, K., Abe, K., Witt, S., Rybin, V., Gasch, A., Franz, T., Labeit, S. & Sorimachi, H. (2008) Muscle RING-finger protein MuRF1 as a connector of muscle energy metabolism and protein synthesis. **J. Mol. Biol.**, 376, 1224-1236. (査読有)
 21. 小野弥子, 反町洋之 (2008) カルパインの生理機能とその不全による病態「カルパインノパチー」 **実験医学**, 26, 306-315. (査読無)
- [学会発表] (計 18 件)
1. 秦勝志, 反町洋之 胃腸特異的カルパインはストレス性胃粘膜防御に関与する **第 29 回 Cytoprotection 研究会特別講演**, 2011.3.11, 京都
 2. 秦勝志, 阿部学, 鈴木英紀, 北村ふじ子, 反町典子, 阿部啓子, 崎村建司, 反町 洋之 胃腸特異的 G-カルパインはカルパイン 8 と 9 のヘテロ二量体であり胃粘膜保護に機能する **BMB2010 シンポジウム「生命の鍵を握るタンパク質分解」**, 2010.12.7, 神戸
 3. Ono, Y., Ojima, K., Torii, F., Takaya, E., Doi, N., Nakagawa, K., Hata, S., Abe, K., and Sorimachi, H. Skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain-3, dynamically distributes in

- skeletal muscle cells to adapt to physical stress, defects of which cause muscular dystrophy. *15th International Congress of the World Muscle Society*, 2010.10.13, Kumamoto, Japan.
4. Ojima, K., Ono, Y., Doi, N., Kitamura, F., Hata, S., Kawabata, Y., Suzuki, K., Maeda, T., Abe, K., Nakao, H., Aiba, A., Nakao, K., Suzuki, H., Kawahara, H., Witt, C., Labeit, S., Ottenheijm, C., Granzier, H., Toyama-Sorimachi, N., Sorimachi, M., and Sorimachi, H. [Selected for oral presentation] Skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain-3, dynamically distributes in skeletal muscle cells to adapt to physical stress, defects of which cause muscular dystrophy. *15th International Congress of the World Muscle Society*, 2010.10.13, Kumamoto, Japan.
 5. Ono, Y., Hata, S., and Sorimachi, H. Calpains - introduction CHUV (Le Centre Hospitalier Universitaire Vaudois) Special Seminar, 2010.10.01, Lausanne, Switzerland.
 6. Ono, Y., Hata, S., Ojima, K., Tonami, K., Kitamura, F., Ueno, M., Takaya, E., Granzier, H., Labeit, S. & Sorimachi, H. [The closing lecture] In Memoriam Koichi Suzuki: Calpains in muscles and stomach **12th Symposium on Proteases, Inhibitors and Biological Control**, 2010.9.28, Portoroz, Slovenia.
 7. 小野弥子, 秦勝志, 川原裕之, 前田達哉, 反町洋之 鈴木絃一先生追悼講演「CANP からカルパインそして CAPN へ」 **日本病態プロテアーゼ学会第 15 回大会**, 2010.8.20, 大阪.
 8. Sorimachi, H., Hata, S., Ojima, K., Labeit, S. & Ono, Y. [The closing lecture] Unique functions of mammalian unconventional calpains. **FASEB Summer Research Conferences - The Biology of Calpains in Health & Disease**, 2010.7.30, Arizona, USA.
 9. 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, Arizona, USA.
 10. 反町洋之 鈴木先生の哲学とカルパイン **鈴木絃一先生メモリアルシンポジウム**, 2010.7.6, 東京.
 11. Sorimachi, H., Ojima, K., Hata, S. & Ono, Y. Calpain-3 and molecular interactions. **Calpains et Calpainopathies. VII^{es} Journées annuelles de la Société Française de Myologie**, 2009.10.30, Hendaye, France.
 12. 反町洋之, 小野弥子, 秦勝志, 尾嶋孝一 カルパインの多彩な生理機能とその破綻による病態 **第 82 回日本生化学会大会シンポジウム「プロテオリシスの多彩な生理機能とその破綻による病態」**, 2009.10.22, 神戸.
 13. Sorimachi, H., Hayashi, C., Hata, S., Ojima, K., Koyama, S., Doi, N., Kitamura, F., Takaya, E., Ueno, M., Kaneko, N. & 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**, 2008.9.2, Portoroz, Slovenia.
 14. Sorimachi, H. Calpain as a "modulator protease" in health and muscle disease. **Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea Summer Course Symposium: Distrofias por Déficit de Calpaína-3: Una Visión General**, 2008.7.14, San Sebastián, Spain.
- [その他] ウェブサイト等
<http://www.igakuken.or.jp/calpain>
<http://calpain.org/viewer.rb>
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
 なし
 - (3) 連携研究者
 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
 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