

独立行政法人**科学技術振興機構**
創造科学技術推進事業
追跡調査報告書

土居バイオアシンメトリプロジェクト(1995～2000)
総括責任者 土居洋文

2006 年 3 月報告

「土居バイオアシンメトリプロジェクト」追跡調査報告書要旨

自然界で起こっている生命現象はランダム、即ち偶然の集積ではなく、ノンランダムな方向性をもった現象であり、広義に捉えれば非対称性であり不均衡である。このようなメインコンセプトを掲げて土居バイオアシンメトリプロジェクトは開始された。その先には“非対称性のバイオロジーの創出”が目標としてあった。具体的に 3 つのレベル、即ち染色体 DNA のもつ非対称性、細胞分裂の非対称性、蛋白質のアミノ酸配列における非対称性を研究対象とし、それらが生物発生や生命現象にどうかかわっているのかを明らかにすることであった。研究手法も、一つのコンセプト或いは理論をコンピューターによる情報解析と実験科学の両側から攻めるという、バイオ研究としてはユニークな研究スタイルをとった。

主な研究成果としては、以下のようなものがある：

- 1) マウスの初期胚で発現する約 25000 個の cDNA の塩基配列を解析し、多くの新規遺伝子を見出すとともに、理論解析に供した。
- 2) 酵母や、線虫の細胞分裂や生殖に関する遺伝子群を解析し、機能性 RNA を見出した。
- 3) ゲノム配列から転写される蛋白質のアミノ酸配列に偏りがあることをデータ解析により見出し、特異な機能の予測、或いは蛋白質間の相互作用の理論に結びつけたこと。
- 4) In situ hybridization の手法を進化させ、大量の遺伝子発現プロファイルをデータ処理するソフトを開発し、大規模 in situ hybridization 技術のベースを作った。

これら 5 年間の研究成果をどう見るかについては、本調査の面談者によって大きく見解が割れた結果となった。肯定的な見解では、発生初期の遺伝子の網羅的分離を世界で始めて行なって、発生遺伝子に関して組織的なデータベースを提供した成果は、その後のこの分野の基礎を築いたものとして高く評価されている。また、情報工学的手法で考案された、ゲノムやプロテオームの解析ソフトは、蛋白質科学やバイオインフォマティクスの進歩に貢献するものとして評価されている。研究期間終了後、これら情報計算グループのノウハウと特許などの知的資産と技術を基に、ベンチャー会社を立ち上げて研究を継続し、事業として発展させたことも、技術的成果の実用化の意味で大きな意義があった。

一方、代表的な否定的見解としては、これらの成果がどこまでメインコンセプトである“生物における非対称性”を理論付けるものであるかの点で疑問視する見方がある。理論提示に対して、それを証明するための実験としては不十分なものであり、とくに生物実験が見劣りしている。もっとフォーカスした実証研究が必要であったなどの指摘である。その意味では、創造的な科学的知見の発掘と理論構築を主たる目標におく ERATO のプロジェクトとしては、物足りない結果であった。加えて、研究成果をまとめた論文数が極めて少なく、終了後のフォローも不十分で、その後の非対称性研究に対する波及効果は少なかった。

本プロジェクトはコンセプト主導型で、総括責任者の意向と個性が表れている点では ERATO 的なプロジェクトであったといえよう。掲げられたメインコンセプトについては、まだ手探りの段階で終わっているが、理論と実験の融合という新しい手法での挑戦は、研究手法についての議論を惹起するとともに、他の研究者に刺激を与え、生命の情報工学的研究の新たな可能性を示したものであったと思われる。

以上

目 次

1. はじめに	1
2. プロジェクトの研究成果とその後の展開	1
2.1 マウスの受精後初期胚で発現する遺伝子の解析	1
2.2 他の生物種での細胞分裂、発生と分化等の研究	4
2.3 情報解析の導入による非対称性へのアプローチ	5
2.4 関連する技術開発	6
3. 科学技術へのインパクト	9
3.1 プロジェクトからの新しい潮流	9
3.2 統計的に見た科学技術への影響	10
4. 研究成果の実用化例	12
4.1 情報解析技術の事業化:ベンチャーの立上げ	12
4.2 マウス初期胚の遺伝子ライブラリーの構築と配布	13
5. 参加研究者の活動状況	14
5.1 プロジェクトから育った人材の状況	14
5.2 学位取得	14
6. プロジェクトに関する内外からの意見	15
6.1 統括責任者	15
6.2 プロジェクト参加者	16
6.3 外部有識者	16
7. 創造科学技術推進事業に関する意見	17
7.1 事業の意義、	17
7.2 仕組み、運営面に関する提言	18
7.3 その他	19
8. アンケート調査結果	19
8.1 当該分野の研究水準・技術水準への寄与	19
8.2 新たな科学・技術分野の開拓	20
8.3 ERATO プロジェクトを経ての、総括責任者に対する評価の変化	20
9. 出典	21
9.1 参考資料(論文リスト、公開特許リストなど)	21

1. はじめに

自然界で起こっている生命現象はランダム、即ち偶然の集積ではなく、ノンランダムな方向性をもった現象であり、広義に捉えれば非対称性であり不均衡である。このようなメインコンセプトを掲げて土居バイオアシンメトリプロジェクトは開始された。その先には“非対称性のバイオロジーの創出”が目標としてあった。具体的には 3 つのレベル、即ち(1)染色体 DNA のもつ非対称性、(2)細胞分裂の非対称性、(3)タンパク質のアミノ酸配列における非対称性を研究対象とし、それらが生物発生や生命現象にどうかかわっているのかを明らかにすることであった。研究手法も、1つのコンセプト或いは理論をコンピューターによる情報解析と実験科学の両側から攻めるという、バイオ研究分野ではユニークな研究スタイルをとった。

非対称性のバイオロジーとして、とくに生物の発生、ゲノムの非対称性、蛋白質のアミノ酸配列での非対称性を取り上げ、それらを解明するため、(1)理論構築グループ、(2)非対称変異体グループ、(3)ゲノム非対称性グループの 3 グループを組織して、課題に取り組める形を作った。総括責任者はコンセプトと理論を主導し、コンピューター解析と実証のための生物実験とが 2 つのアームとなる体制である。

主な研究成果としては、(1)マウスの受精後初期胚で発現する約 25,000 個の cDNA の塩基配列を解析し、多くの新規遺伝子を見出すとともに、理論解析に供した、(2)酵母や、線虫の細胞分裂や生殖に関する遺伝子群を解析した、(3)ゲノム配列から転写される蛋白のアミノ酸配列に偏りがあることをデータ解析により見出し、特異な機能の予測、或いはタンパク間の相互作用の理論に結びつけた、(4)In situ hybridization の手法を進化させ、大量の遺伝子発現プロファイルをデータ処理するソフトを開発し、大規模 in situ hybridization 技術(LISH)の基礎を作ったことなどであった。

2. プロジェクトの研究成果とその後の展開

2.1 マウスの受精後初期胚で発現する遺伝子の解析

マウスの受精卵が分裂して着床胚になるまでの段階では細胞はクローンであり、16 細胞期あるい

は 32 細胞期の段階から分化が始まるといわれている。この各段階での遺伝子発現を観察し、非対称分化の準備が始まっているかどうかを知ることを目標とし、併せて世界初の初期胚のライブラリー構築をめざした。米国の Wayne 大学にプロジェクトのラボを構えた洪らが本課題に取り組み、後に研究は NIH の NIA (National Institute of Aging) 部門 に引継がれた。

2.1.1. C-DNA のクローニングと EST¹の取得

土居プロジェクトではマウスの未着床胚を、始めて大量に取得することに取り組み、受精前、受精時、2, 4, 8, 16, 32 細胞期毎に初期胚を収集した。16 細胞期から 32 細胞期への細胞分裂で最初の細胞分化である内部細胞塊と栄養芽細胞への 2 方向への分化がおこる。1 匹のマウスから約 40 個の初期胚を得ることができるが、これを顕微鏡下で分裂数を確認しながら分別するのは、大変な手間のかかる作業であった。約 1500 個の初期胚を各細胞期ごとに集めてサンプルとした。各細胞期毎に約 3,500 個の EST が取得でき、合計約 25,438 個の EST が得られた。

2.1.2. EST の配列解析、新規遺伝子の取得およびデータベースへの公開

EST の末端部約 300 ~ 500 文字の塩基配列を解析し、それらの相同性をチェックした。そこから約 9,718 個の遺伝子を取得することができた。当時ヒトゲノムの解析が進行中であったが、哺乳類の遺伝子数は約 30,000 程度であるので、その時期に 10,000 個もの遺伝子を取得したのは、価値がある作業であった。相同性のチェック作業はコンピューターを使い、日本側(長谷川ら)との共同で行なった。また、約 10,000 個の遺伝子について特許を出願する考えもあり、JST と協議したが費用の点で見送りとなった。

次いで、マウス初期胚の新規な遺伝子と確認された 4,351 個のうち約 900 個については、染色体上の位置をマッピングした。マウスの野生株と実験室株とをバッククロスし、その中に含まれる SNP²の位置を指標に遺伝子マップを決めるという、煩雑な仕事であり、世界に先駆けるものであった。新規遺伝子 798 個については土居プロジェクトの名前を付けたコードを設定した。例えば: D5 Ertd 15e (Ertd は ERATO Doi の意味)。世界の主要3大ゲノムデータベース NCB(米国)、EBI(欧州)、DDJB(日本 国立遺伝研)にこれを公開した。

¹ EST: Expressed sequence tag, 遺伝子クローンの部分塩基配列

² スニップス(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)

これらの結果を最初の論文³として発表した。引用件数は2005年11月まで75件と、決して多くないがこれは雑誌が発生学の専門誌だったせいもある。この論文は総説のような広範な内容を収載しており、個別に出せば優に5報分には相当するものである。

次いで、田中、洪らはその後 NIH で追加された EST を含め、52,374 個のマウス初期胚 EST のうち 15,264 個を選び cDNA マイクロアレイを構築した。この中の 78%は新規な遺伝子である。これらは分裂期毎に配置され、分裂期によって発現してゆく遺伝子群の解析に使用された。この論文は哺乳動物の初期胚に関するマイクロアレイの基礎的論文となり、5 年間で約 170 件という高い引用件数を示している。

また、マウスの遺伝子とヒトの遺伝子について、遺伝子マップ上での類似を指標として (radiation mapping) 11,109 個について塩基配列の相同性の比較が行われ、3,658 個のマウスとヒトで共通する遺伝子が確認された。動物の種を超えて保存される多くの遺伝子の存在を示している。

2.1.3. ES 細胞⁴研究への関心

最近注目されているのが ES 細胞研究への応用である。16 細胞期までは、機能分化は起こらないが、32 細胞期の胚からは機能分化の発現が見られるので、この時期の胚をとりだし、各臓器や組織への分化へと誘導することにより代替の再生組織を作ることを目指している。各組織の幹細胞⁵を採取してクローンへ誘導するか、ES 細胞から分化誘導するか、いずれにしても初期胚の着床前細胞での遺伝子機能発現の研究は重要な研究分野になりつつある。

2.1.4. 動物の生殖分野への応用研究

現在、哺乳動物の発生段階での発現遺伝子 (cDNA) のライブラリーとしては、マウスのものが主体で、ラットとヒトでは無く、牛と豚が数千ある。発生段階の遺伝子発現は哺乳動物では類似しているので、マウスのもので詳細に研究して類推することができる。牛や豚では品種改良の目的があり、既に広く利用されている。また、クローン動物の作成にも成功している。これらの技術を、ヒトの初期

³ 論文リスト No. 16

⁴ embryonic stem cell

⁵ stem cell

胚の着床前におこる不妊や受精卵の異常の診断に応用するには、ヒトでの研究を待たねばならない。

2.2 他の生物種での細胞分裂、発生と分化等の研究

2.2.1. アフリカツメガエルでの発生細胞分裂の非対称性

小宮らは本プロジェクトにおいて、大規模 in situ hybridization によるマウス精巢内幹細胞における発現遺伝子の研究を進め、幹細胞から非対称分裂を介して精子形成に至る種々の段階の細胞に特異的に発現している遺伝子を多数獲得した。この成果を基に、小宮らは現在大阪市立大学で、生殖細胞での遺伝子発現の研究を推進している。ここではアフリカツメガエルをモデル実験動物として、発生の過程を解析している。このカエルの卵子は上側の動物極と下側の植物極とを持っていて、2 分裂後、夫々の極をもつ細胞に別れる。動物極を有する細胞は分化して体組織を構成するが、植物極をもつ細胞はまた 2 分裂して動物極細胞と植物極細胞にわかれる。このようにして、植物極細胞が維持され、卵子が精子になってゆく。植物極側に来る生殖細胞質⁶の中にある機能性 RNA が 5 種類報告されているが、in situ hybridization の手法でさらに 5 種類を見出した。この分裂様式はまさに非対称のモデルになる。これら RNA に対するアンチセンス RNA をクローニングして卵子に注入したところ、ノックダウン効果による機能低下がおり、機能性を証明することができた。

2.2.2. 線虫での発生遺伝学

嶋田らは線虫での発生遺伝子の研究において、システインを含有する構成蛋白 C3H -type zinc-finger proteins が果たしている機能について検討した。これらの蛋白群は生殖細胞の形成と分化に関与している。相補的な RNAi を調製し、投与すると著しい産卵数の減少が起こり、機能しなくなることから、その役割を証明した。In situ hybridization と免疫染色解析により、これらの蛋白質は卵巣に主に発現し、卵形成に関与していることを証明した論文になっている。

2.2.3. プロジェクト以外でのバイオアシンメトリー研究

⁶ germ plasma

プロジェクトでは生物非対称現象の解明は、マウス初期胚における EST 解析や、大規模 in situ hybridization によるマウス精巣幹細胞の非対称分裂と精子形成における遺伝子発現像解析など、非対称性に関する遺伝子の探索にとどまった。しかし、その後非対称或いは不均等は活発な研究テーマになっている。例えば、東北大加齢研の松崎(現 理研 発生・再生科学総合研究センター)らは、ショウジョウバエの脳の上皮細胞における不均等分裂を研究し、遺伝子が不均等分配されるという知見を得て、世界的に注目されている。神経細胞に分化するまえの上皮細胞を材料として、外側と内側の細胞で分裂と分化の様式が異なることを見出した。即ち、上皮細胞が内部へと落ち込んで分裂するとき、外側細胞は神経系の幹細胞(stem cell)として分裂、維持をつづけ、内側の細胞は細胞質 RNA 成分を取り込んで分化組織へととなってゆく。抗体やアンチセンスを使ってこれを証明している。

2.3 情報解析の導入による非対称性へのアプローチ

ゲノム情報やタンパクの分子構造など、膨大なデータの解析には、コンピューターは必須である。バイオロジーとコンピューターを結合させ、理論予測を行なうことや効率よく実験系を組み立てることができる。データの中から非対称とみられるものを引き出し、理論化することができる。当時まだ始まったばかりのバイオインフォマティクスをいち早く採り入れ、その有用性を示した。後述するベンチャー会社の主要事業になっている以下の技術は、いずれも ERATO プロジェクトから派生したものである。

2.3.1. 蛋白間相互作用の理論予測 (PPIP: Protein-protein interaction prediction)

蛋白質のアミノ酸配列を、オリゴペプチド(アミノ酸 4-6 個)について解析し、配列の特徴を計算処理して特徴づけを行なうソフトを開発した。そこから 2 つの方向が発展し、その1つが PPIP である。これは蛋白質間の相互作用をアミノ酸配列から予測するもので、新しい遺伝子から得られる蛋白質、或いは特定の疾患に伴って現れる疾病関連蛋白質が、他の蛋白質と相互作用を示すか否かを予測することができる。PPIP で予測したものの実験的な証明が必要であり、実際の流れは、計算予測—結合蛋白質の予測—蛋白質情報からクローニング—発現系へ入れる—細胞系で確認する、となる。確認は、in vivo 細胞中での蛋白質の相互作用を、抗体を利用して免疫沈降法で共沈させ測定する。PPIP での予測の 40%は実証実験で相互作用が確認されており、非常に高い予測精度といえる。蛋白質相互作用予測に関する類似の研究は世界でもほとんどなされていない。

応用方法として、その相互作用に拮抗する低分子化合物を探せば、新薬探索のアッセイ系を組むことができる。また、副作用の推定のための参考情報を得ることも可能になる。従来からの完全長 c-DNA クローンを作成し、蛋白質に転写して調べる方法に比べ、実験せずにまず情報データベースからの予測を *in silico* で加える方法ははるかに効率的である。

2.3.2. アミノ酸配列からの稀少性の予測 (Prediction of rareness)

前項で述べたもう一つの方向は、各種蛋白質のペプチド内でのアミノ酸配列の解析から、どの蛋白質にも良く現れる配列 (保存性の配列) を除外し、その蛋白質しか持っていない特徴的な稀少配列をマイニングし、その「珍しさ (rareness)」を指標化した配列を見つける研究である。理論的計算もユニークで、その後の蛋白質化学に影響を与えた。このようなアミノ酸配列の rareness は “local sequence” とも呼ばれ、その蛋白質が新しい機能を有する可能性を示唆している。これも蛋白質研究の新しい方向であり、ホットスポットの発見につながり、科学的な知見として価値がある。また、応用的には蛋白質の改良や新機能探索のツールとなりうる。また、計算機による抗体設計の基礎理論として応用されている⁷。

2.4 関連する技術開発

2.4.1. 大規模 *in situ* hybridization

In situ hybridization の技術開発は 3 つの ERATO プロジェクトを通して進化してきた。原理は土居も参加した最初の古沢発生遺伝子プロジェクトで小宮らにより考案され、広橋細胞形象プロジェクトで小腸の幹細胞において特異的に発現する遺伝子を探索する目的で技術的に完成され、そして本土居プロジェクトでマウス精巣についてデータベースを作る上で、大規模 *in situ* hybridization 法として実用化されるに至った。臓器や組織の連続切片を 96 穴のマルチプレート内に配列し、そこに対象組織の cDNA から転写した供試 RNA プローブを反応させ、結合した部位を顕微鏡撮影する。

本プロジェクトで作成したマウス精巣に関するデータベースでは、マウスが有する 2 万余の遺伝子のうち約 10,000 個の遺伝子をアッセイすることができた。遺伝子発現に関し、DNA マイクロアレイが開発されて、より簡便に、高感度で発現遺伝子を検出することができるようになっている。しか

⁷ 特許リスト No. 1, 2

し、大規模 in situ hybridization の長所は、多くの遺伝子について生体組織を壊さないで生体そのもの (in situ) で捕らえることにより、臓器内のどの器官や組織・細胞で発現しているのかが直接観察できることで、薬剤の効果発現部位、作用機序や副作用発現部位に関する多くの情報が得られることである。

最近、in situ hybridization は理研の林田らも、幹細胞の遺伝子解析に応用している。国立遺伝研究所の小原らは、線虫の小腸内コブレット細胞での腸管免疫の解明や精巣中の発現遺伝子の解析に応用している。また、後述のセレスター・レキシコ・サイエンシズ社では、大規模 in situ hybridization 技術をさらに発展させ、ゲノム科学やインフォマティクス、ラボラトリ情報管理技術を導入することにより LISH 技術として確立し、気管支喘息の創薬標的遺伝子の探索のために利用され、喘息モデルマウスの気管支に特異的に発現している多数の遺伝子を特定している。

2.4.2. DNA 増幅用酵素の改良

PCR への応用を目的として DNA 増幅に汎用されている耐熱酵素および DNA 複製に関与する蛋白質群を改良するプロジェクトが、JST の新技術委託開発事業として 2003 年 10 月から実施されている。事業名は「高忠実度・高伸長 DNA 増幅キット」で、本プロジェクトで出願した基本特許⁸がベースになっている。超高熱古細菌が有する耐熱蛋白質群を材料として、アミノ酸配列設計を計算で行い、蛋白質の遺伝子に目的の変異を入れてクローニングした。実際取得された蛋白質群について試験したところ、長い DNA の複製での正確性、増幅伸長速度の点で、従来の PCR 系より 10 倍以上の性能向上を示した。これを使って新しい DNA 増幅キットを製作する予定である。新たな特許も出願している。

2.4.3. テキストマイニング法の開発(奈良先端大学院大学との共同研究)

生物・医学文献からの情報の自動抽出と構造化をテーマに、遺伝子や蛋白質に関する大量の研究論文の中から、特に遺伝子間、蛋白質間の相互作用に関する情報を自動的に抽出し、構造化するソフトを開発している。この処理には自然言語処理 (NLP: Natural Language Processing) の技術が必要で、大学院の客員教授も兼ねて共同でソフトの開発に取り組んでいる。

⁸ 特許リスト No.12, 15

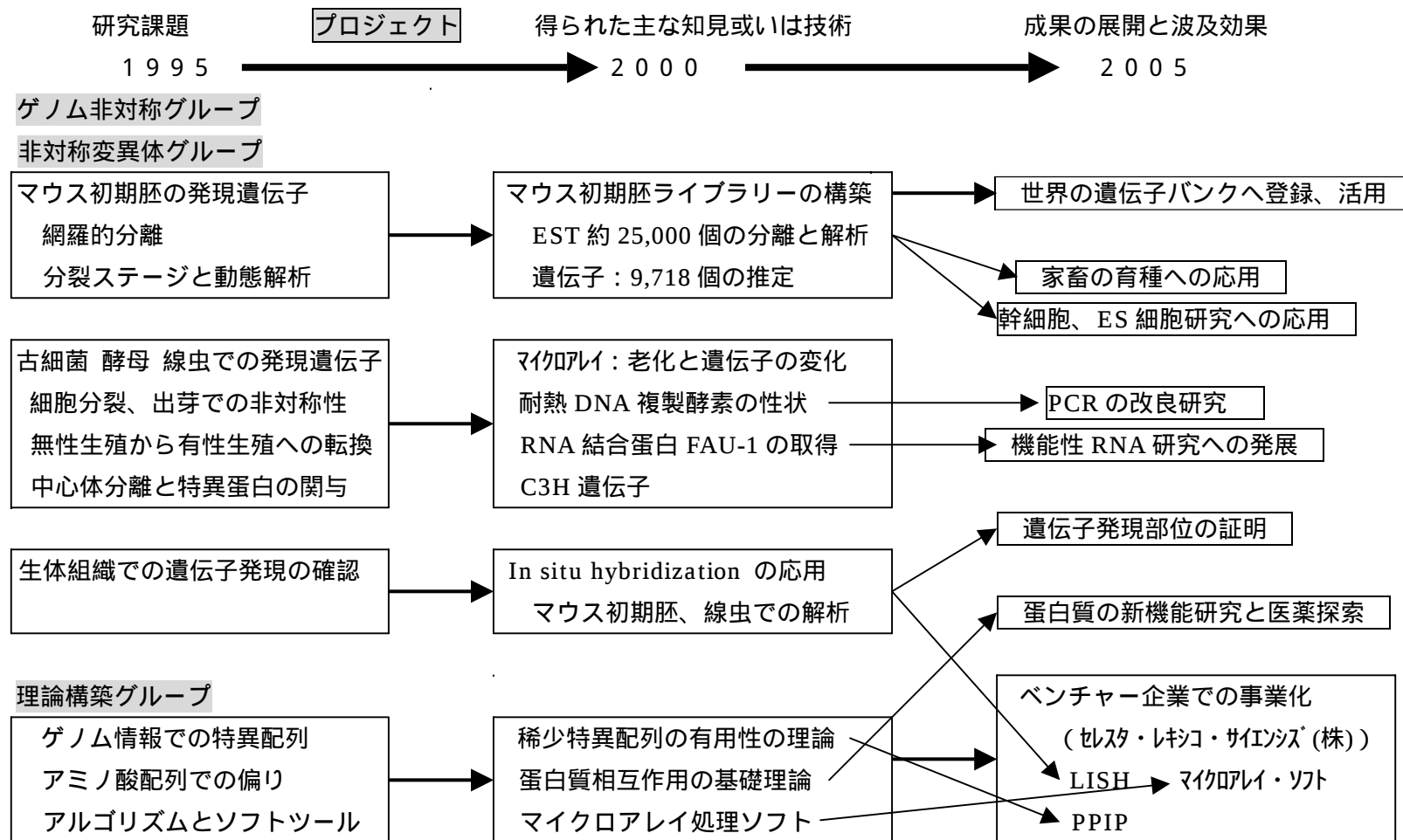


図1 土居バイオアシンメトリプロジェクトの展開状況

3. 科学技術へのインパクト

3.1 プロジェクトからの新しい潮流

このようなコンセプト主導型のテーマは、まだ良く見えていない目標に向かって船出をするところがあり、進むうちに大物に当たるか、別な思いがけない大物に巡り合いそちらへと舵を向ける楽しみもある。一方で、方向を見失って沈没する場合もある。本プロジェクトではバイオアシンメトリが概念的で、未だ進路がよく定まっていなかったとの見方がある。

3.1.1. 発生段階で発現する遺伝子の解析と分化について

2 本鎖 DNA の分裂方式での非対称性が根幹となって、細胞の発生と分裂、更には組織への分化を非対称の概念で見ることが、本プロジェクトの根底にあり、マウス、酵母、古細菌、線虫など、各種の生物で発生と遺伝子発現を検討している。特に、マウスの受精後初期胚で発現する約 25,000 個の cDNA の塩基配列を解析し、多くの新規遺伝子を見出すとともに、理論解析に供したが、非対称性を示唆するデータには至っていない。最近洪らは、マウス着床前の初期胚で分裂期ごとに出現したり、消失したりする遺伝子があり、その動態を DNA チップで解析して図式化し、2005 年 11 月に京都で開催された初期胚に関する国際学会において発表した。特に転写調節因子の安定性と動態に関心がある。これらのチップは Radiation hybrid mapping にも世界的に利用されている。本プロジェクトが先鞭をつけた発生段階の遺伝子の研究は、幹細胞や ES 細胞の研究へとつながっており、関心の高いテーマである。

3.1.2. 新規な RNA 研究へのきっかけ

グループリダーを務めた金井は、超高熱古細菌が原始の RNA 主体の遺伝子制御と代謝の研究に好適であると考えた。まず、発現クローニング法により RNA 結合蛋白質をゲノムレベルで同定する方法を考案した。これを使って新規な RNA 結合蛋白質の分離に成功し、FAU-1 と命名して学会に発表した。移籍した慶応義塾大学で本格的に RNA の研究に取り組み、non-coding RNA の探索を線虫やショウジョウバエを材料に行なっている。また、理研主導の国際プロジェクト FANTOM に参加して、マウスの完全長 cDNA ライブラリーの中から機能性 RNA を探索する研究を行なったが、本プロジェクトで培った情報解析の手法を採り入れ、60,000 個の cDNA の中から、4,000 の non-coding mRNA 候補を絞り込むことに成功している。その 7.5% はアンチセンス RNA

らしいことも明らかになった。これらの研究は、従来から本流とされた DNA - RNA - 蛋白質への基本的な転写プロセス中での RNA の役割を大きく変えるもので、非対称概念につながるものとも考えられる。金井は、現在最もホットなテーマである RNA 研究をリードする 1 人になっている。

3.1.3. LISH (Large scale in situ hybridization)

LISH 技術は3つの ERATO プロジェクトを通じて小宮らによりベースが確立され、セレスター・レキシコ・サイエンシズ社において上村によりゲノム科学・バイオインフォマティクス・ラボラトリ情報管理システムが導入され完成した。大阪市立大学ではマウス精巣における幹細胞の非対称分裂から精子形成に至るまでの特異的発現をしている遺伝子について解析を進めている。また、その成果をアフリカツメガエルの卵分裂期の非対称分裂の研究に展開している。セレスター・レキシコ・サイエンシズ社では、気管支喘息の創薬標的の探索に応用され、また創薬標的遺伝子の発現を組織科学的に見る事により、安全性・毒性科学への展開がある。

3.2 統計的に見た科学技術への影響

3.2.1. 論文数と引用件数

成果を計る重要な指標の1つが、報告される論文数であるが、本プロジェクトの成果で論文化されたものは 5 報と少なかった。これは成果の出方に依ることは勿論であるが、通常、プロジェクト後半に成果が蓄積して終了後にそれをまとめて論文化することが多いが、本プロジェクトでは終了と共にベンチャー会社での事業化が始まり、論文化のフォローが十分になされなかった嫌いがある。プロジェクト終了後の間接的に関連のある文献を検索し、13 件を加えて参考資料に収載した。

一方、プロジェクト中の学会への発表は、国内 32 件、海外 20 件と活発に行なわれている。総説なども5編ある。

プロジェクトからの論文について被引用件数を検索し、そのうち上位の3報の結果を下表に示した。

これら3報は何れも洪らによるマウス初期胚の遺伝子の分離と解析に係わるもので、その 1 つは被引用数が約 170 件に達している。昨今の ES 細胞研究ブームで胚細胞に関心が集まっていることも影響していると思われる。

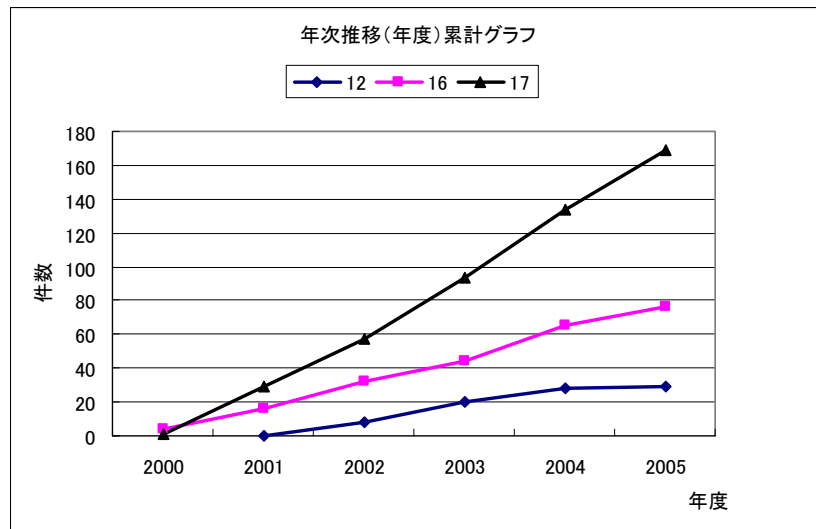


図2 主要論文被引用件数 累計グラフ(年度)

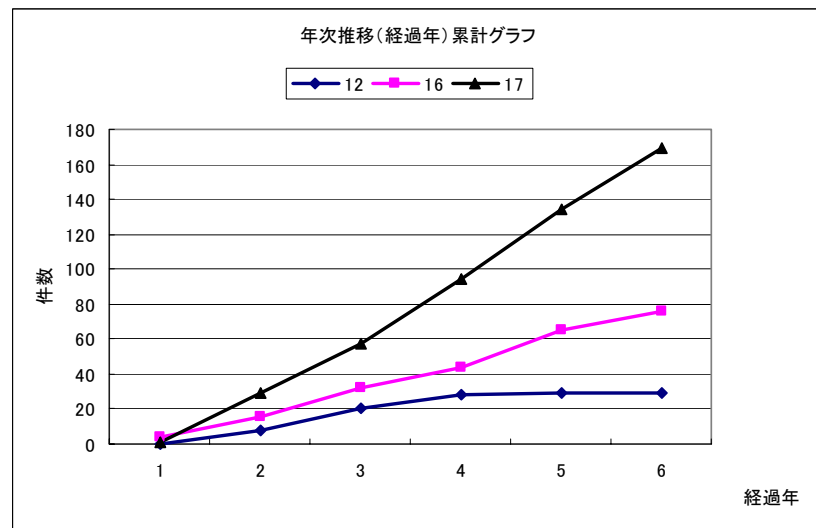


図3 主要論文被引用件数 累計グラフ(経過年)

表1 主要論文の被引用件数

No	書誌事項	被引用件数
12	Hudson TJ, Church DM, Greenaway S, Nguyen H, Cook A, Steen RG, Van Etten WJ, Castle AB, Strivens MA, Trickett P, Heuston C, Davison C, Southwell A, Hardisty R, Varela-Carver A, Haynes AR, Rodriguez-Tome P, Doi H, Ko MS, Pontius J, Schriml L, Wagner L, Maglott D, Brown SD, Lander ES, Schuler G, Denny P. , "A radiation hybrid map of mouse genes.",Nat Genet. 2001 Oct;29(2):201-5.,2001	29

16	Ko MS, Kitchen JR, Wang X, Threat TA, Wang X, Hasegawa A, Sun T, Grahovac MJ, Kargul GJ, Lim MK, Cui Y, Sano Y, Tanaka T, Liang Y, Mason S, Paonessa PD, Sauls AD, DePalma GE, Sharara R, Rowe LB, Eppig J, Morrell C, Doi H., "Large-scale cDNA analysis reveals phased gene expression patterns during preimplantation mouse development.", Development. 2000 Apr;127(8):1737-49.,2000	76
17	Tanaka TS, Jaradat SA, Lim MK, Kargul GJ, Wang X, Grahovac MJ, Pantano S, Sano Y, Piao Y, Nagaraja R, Doi H, Wood WH 3rd, Becker KG, Ko MS., "Genome-wide expression profiling of mid-gestation placenta and embryo using a 15,000 mouse developmental cDNA microarray.", Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug 1;97(16):9127-32.,2000	169

3.2.2.特許の出願件数

本プロジェクトの期間中に提出された特許は国内出願が 4 件で、そのうち 1 件は外国出願された。プロジェクト終了後に立ち上げたベンチャー会社が研究を継続し、27 件の特許が提出され、公開されている。それらのリストを参考資料 2 に示した。技術の実用化、事業化を目的とした研究は発展している。

4. 研究成果の実用化例

4.1 情報解析技術の事業化:ベンチャーの立ち上げ

情報処理と実験との連携という、土居総括責任者が専門とし、新しい研究手法の確立を目指したアプローチは、プロジェクトで原理的な開発が行なわれ、終了とともに立ち上がったベンチャー会社、セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)(以下 CLS)で本格的に事業化された。ERATO 土居プロジェクトは、バイオインフォマティクスにとって先駆的な幾つかのモデルを提示し、事業化に結びつけた。プロジェクトのメインテーマである非対称性バイオロジーの取り組みから派生してきた新たな技術的な成果であり、事業として定着し産業的に貢献している。

4.1.1. LISH (Large scale in situ Hybridization)

2.4.1. で述べた基本技術の開発に基づき、本プロジェクト終了後立ち上げた CLS 社で本格的な実用化が行なわれた。この間、組織標本の切片の自動的な切り出しと処理を経て 96 マルチウェルプレートに自動的に貼り付ける技術、自動撮影顕微鏡とコンピューターによる画像処理が追加された。さらに、アノテーションの機能を付加し、検索する cDNA プローブの量を均一化して

(normalized)発現する遺伝子を検定できるようセット化し、数千単位の遺伝子ライブラリーについて網羅的なアッセイが可能で、同社独自の高度な技術を確認した⁹。また組織中での mRNA の局在を調べることも可能である。この方式は LISH と呼称され、同社が世界をリードする技術となっており、創薬標的遺伝子の探索やバイオマーカー遺伝子の探索に使われ、大手製薬会社からアッセイ業務を受注している。現在約 30 種類の臓器組織標本について試験可能である。

4.1.2. PPIP (Protein-Protein Interaction Prediction)

2.3.1. で述べた蛋白質間相互作用の理論予測法 PPIP についての事業化は、世界的にもユニークなもので、創薬研究分野での展開が期待される。相互作用に拮抗する低分子化合物を探せば、新薬探索のアッセイ系を組むことができ、薬剤と蛋白質との相互作用の情報から副作用の推定が可能である。疾患としては、癌、喘息やアレルギーに関係する蛋白質が対象になっている。同社の強みはソフトを生かせる膨大なデータベースを有することであり、特許も多数出願している¹⁰。例えば、第一製薬(株)との共同研究では、キナーゼ MAPKAPK3 によるテロメラーゼのリン酸化を予測し、実際、このキナーゼによりテロメラーゼの活性化がコントロールされテロメアの長さが調節されていることを見出した。この共同研究では 500 組以上の予測相互作用について実証実験が行われ、220 組以上の新規の相互作用が確認された。その予測精度は 40%以上と非常に高い。また、キナーゼ PKC シータが KPNA1 蛋白質をリン酸化することを予測し、実際、このキナーゼにより KPNA1 がリン酸化され、NF- κ B と相互作用することにより核に NF- κ B を移行し、炎症性サイトカインの発現を促進することが確認された¹¹。

なお、蛋白質間の共通アミノ酸配列を検索するシステムは、蛋白質の機能予測や構造予測、相互作用予測などプロテオーム研究の基礎をなす、バイオインフォマティクスの基本技術であるが、CLS 社の基本ソフトと富士通(株)のスーパーコンピューターの提携によって、従来より大幅な高速化が図られている。

4.2 マウス初期胚の遺伝子ライブラリーの構築と配布

ERATO で取得した EST 25,000 個がベースになり、その後 NIH で取り直したものを含め 60,000 個ほどのライブラリーが構築された。

⁹ 特許リスト N0. 7

¹⁰ 特許リスト No. 23-25

¹¹ 特許リスト No. 27

次いで DNA マイクロアレイを作成し、研究用として NIH から世界に配布した。このマイクロアレイの研究は Tanaka らの論文として本プロジェクトから出されているが、2005 年 12 月までの被引用件数は 168 件で高い関心が寄せられている。マウス初期胚遺伝子のなかからユニークと思われる遺伝子約 15000 個を選び、96 穴プレート 150 枚のセットに構成した。約 50% は ERATO のプロジェクト由来のものである。これを世界の主要 10 箇所の研究施設に無償で配布した。そこから世界 200 箇所以上の研究施設に無償或いは 1 セット 30 万円ぐらいの価格で提供されている。日本は理研が配布元になっている。

5. 参加研究者の活動状況

5.1 プロジェクトから育った人材の状況

5.1.1. 参加研究員の状況

本プロジェクトの総括責任者であった土居洋文は、プロジェクト終了から間もなく、バイオインフォマティクスをベースにした分析研究受託ベンチャー会社(CLS)を設立し社長に就任している。また、奈良科学技術大学院大学の客員教授も勤めるほか、JST の新技術委託開発事業「高忠実度・高伸長 DNA 増幅キット」(2004 - 2006 年)、CREST の研究領域「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」の研究チーム「糖鎖機能を利用した組換えリソソーム酵素の脳内補充療法の開発」(2003 - 2008 年)の中の研究グループ、及び NEDO の産業技術実用化開発助成事業「個人の特性に応じた医療と創薬のための生命情報システム」(2003 - 2005 年)などの研究プロジェクトを受託している。

技術参事を勤めた金井昭夫は慶応義塾大学先端生命学科研究所の助教授として、機能性 RNA 研究をリードし、国際学会を事務局として主導した。Wayne 大学から NIH に転じた洪実は NIA (National Institute of Aging)の研究部長としてラボを率いて活躍している。また、小宮透は、大阪市立大学理学研究科動物機能生物学講座助教授として活躍している。

5.2 学位取得

このプロジェクトの成果で博士号を取った研究員はいない。

6. プロジェクトに関する内外からの意見

プロジェクトの結果に対する面談者の意見は、肯定的と否定的にはっきり分かれた。何を成果と見るかの見方にもよるが、運営面や人間関係での問題がこれを増幅させたと思われる。

6.1 統括責任者

- (1) 大学でも会社でもできない研究をやる、ということで始めた。したがって、大学のラボの延長ではないので、論文を出すという成果を求めるにはリスクの高いプロジェクトであったと思う。
- (2) 大学でも会社でもできない研究という意味で挑戦的な新しいテーマを掲げたが、自分の考えが十分に伝わったかどうか。研究者各人にはそれぞれに個別のテーマを出したため、そのベースを作るのに時間がかかった。テーマによっては5年は短い。
- (3) マウス初期胚の細胞期毎に cDNA ライブラリを作成して EST 解析を行なうテーマは、ホヤ初期胚のグラフ理論的研究から1回1回の細胞分裂にそれぞれ意味があることが分かり、1回1回の細胞分裂に伴う遺伝子発現の変化を捉えるため、まずはマウス初期胚で各細胞期毎に EST 解析をできないか、というのが出発点であった。幸い、洪さんが引き受けてくれた。
- (4) プロジェクトの途中からは、方向転換など研究者の自主性を重んじすぎた。人間関係の点で意思疎通が足りなかった点は反省している。
- (5) 論文はプロジェクトからは 5 報しか出せなかった。プロジェクト終了頃には多くのデータが出ていたので、夫々論文にするよう勧めたが、終了とともに散ってしまい、フォローができなかった。ただ、その後、本プロジェクトの延長上に位置する研究を含め、報文 10 編余りを出すことができた。
- (6) プロジェクトの結果を顧みると、まだベースの段階にあって、これから発展させられるものも多い。例えば、小宮さんのマウス精巣での大規模 in situ hybridization により見出された多くの遺伝子について、幹細胞から非対称分裂を経て精子に至る過程での役割の研究などである。

(7) プロジェクトから事業を立ち上げることができ、バイオインフォマティクスの発展に貢献できたことを感謝している。

(8) プロジェクト終了から5年後のいま、マウス初期胚での EST 解析は洪さんのお陰で大いに進展した。また、大規模 in situ hybridization 技術も LISH 技術として確立し、蛋白質アミノ酸配列の非対称性から得られる情報を基に新しい PCR 系も開発でき、ゲノムワイドでの蛋白質相互作用予測技術 PPIP も確立した。これらの技術や知見はバラバラのように見えるが、実は組み合わせると多大な威力を発揮すると考えられ、これらの技術を組み合わせて、今後5年、10年の間にマウス初期胚における非対称分裂、幹細胞と発癌に関する研究などが進む事を期待している。

6.2 プロジェクト参加者

(1) テーマであった生物の非対称性についての理論構築までは寄与できなかったが、担当したテーマについては十分成果を出せ世界的な評価もえられた。

(2) 生物種の幅を広げすぎたため、体系的整理ができなかったこと。総括責任者が実験科学者ではなかったため、現場の研究者への指導がうまく行かなかったこと。

(3) 技術的には幾つかの成果が出ていると思う。ゲノムや蛋白質の配列など、膨大なデータの解析には、コンピューターは不可欠である。情報工学的手法をいち早く取り入れ、その有用性を示した。事業化された技術は、いずれもプロジェクトから派生したものである。

(4) データの出ないのを研究員の力量不足とされたがむしろ総括責任者の性格と指導力に問題がある。生物系では途中でやめていった人も多かった。

6.3 外部有識者

(1) このプロジェクトの掲げたバイオアシンメトリ、即ち生物非対称性の概念は、単なるイメージであ

って理論といえるものではなかった。その点で、このプロジェクトは目標が不明確であったといわざるを得ない。理論を実験で証明しようという意図があるが、手法もシステムバイオロジーの域に達していない。メインテーマを徹底的につきつめて目標設定を綿密に行なわないと数理に当てはめられない。

- (2) プロジェクトが目指した“非対称性の解明”というテーマに関して言えば明らかに失敗である。ほとんど成果は出ていない。総括責任者が提唱するコンセプトを理論にするためには、実験で証明する必要がある。しかし総括責任者は生物実験に疎いので研究員に任せたが、抽象的なコンセプトを実験計画化するのは難しく、寄せ集めの研究員では到底無理であった。せめて遺伝学者がいればと惜まれる。
- (3) 数理情報系と生物系の融合を図っているが、これら 2 つは水と油のようなところがある。土居総括責任者の経歴から、情報計算の研究員とはうまく行き成果も出ているが、生物系の人たちとはうまく行かなかったと思う。これはプロジェクト全体に影響している。
- (4) 生物学がゲノム科学中心になり、配列情報の集積としてみると分子レベルの単純なものに見えるが、それが有機的な生物としての表現形になるまでには何段階もの過程がある。数理情報的手法で扱える生命現象は未だ一部に過ぎない。そのギャップを軽く見たのが今回の結果になった。しっかりした生物研究者を Co-Leader に据えたらよかった。そのような人材は大学に多くいるので、連携をとる方法もあったのではないか。
- (5) 技術開発の面では、パイオニア的成果がでており、アミノ酸配列や、タンパク相互作用など、サイエンスとしても評価できる。バイオインフォマティックスの手法の発展に寄与している。ベンチャーを立ち上げたのは評価できる。プロジェクトの成果をビジネスにするのは容易ではない。数理情報系のセンスが生きたといえる。

7. 創造科学技術推進事業に関する意見

7.1 事業の意義、

(1) 独創的なテーマに取り組む姿勢は高く評価する。成果がでないものもあるのはやむをえない。芽が出ればよい。時間が不足する場合もある。(外部¹²)

(2) 今回のプロジェクトには低い評価しか与えられないが、ERATO の試みとしては、決して間違っていない。チャレンジしたことに意義がある。無意味であるとは言っていない。要はここからどのような教訓を引き出せるかである。これからも若い研究者、思い切ったテーマを選んで、チャレンジさせることを続けてほしい。(外部)

7.2 仕組み、運営面に関する提言

(1) コンセプト的なテーマでは、データの積み上げに時間がかかり5年は短い。7年ぐらいほしい。(内部¹³)

(2) ERATO は予算が大きいので、プロジェクトがうまく行くかどうかには支出責任がある。今回のような観念的なテーマのときには、パイロット的な期間を2年ぐらいおいて、テーマの攻め方や、芽が出るかどうかをみてから、本格研究を5年組むようなやり方もある。今のシステムでは3年目で中間評価をするが、それからの軌道修正では時間が足りなくなる。(外部)

(3) JST の ERATO は、大学とは独立の場で基礎研究をやるところではあるが、テーマによっては大学と連携した方がよいものもある。土居プロジェクトはその1つではなかったかと思う。

(4) プロジェクトの成果を何で計るか、いろいろの見方があるだろうが、論文の少ないのは良くない。一番重要なアウトプットである。学会発表では研究のプロセスに関して十分推敲した結果とはいがたい。5-10年経って急にホームランのような論文が出ることはまず無い。2-3年やれば論文化できる結果はでるもので、これが積み重なって大きな成果につながるものである。(外部)

(5) 海外研究者との共同研究を組み入れることで、外から刺激を与えることになり、情報も増えていいのではないか。日本国内の研究者だけでは思考パターン、行動パターンが同じになり、新しい発想が出にくい。(内部)

¹² 外部有識者

¹³ プロジェクト内部研究者

(6) 日本は全体の層が薄く、有名者へ偏りがちではないか。やや予算規模を少なくして数を増やし、地方へもチャンスを与える方が全体の層が厚くなる。(内部)

7.3 その他

なし。

8. アンケート調査結果

本プロジェクトの成果と科学貢献に対する評価をアンケートの結果からみると、肯定と否定とに分かれ、外部有識者の見方は厳しく出ている。これは主課題である生物の非対称機構の解明が、サイエンスとしてあまり進まず、散発的な結果しか得られなかったことが主な理由と思われる。一方で、理論と実験の双方から見る研究方式を試み、バイオインフォマティックスの新しいソフトを幾つか生み出していることは実用的な面で評価を得られている。

設問とアンケート結果については、以下の各表と図に示した。

8.1 当該分野の研究水準・技術水準への寄与

設問1：本プロジェクトは当該分野の研究水準・技術水準の変化に大きく寄与したと思われるか？

表2 設問1に対するアンケート結果

回答	外部(外部有識者)	内部(プロジェクト関係者)	合計
1. 大いに寄与した	0	2	2
2. 寄与した	1	2	3
3. あまり寄与していない	1	0	1
4. 寄与していない	2	1	3
評価(回答1を3として)	0.75	2.00	1.44

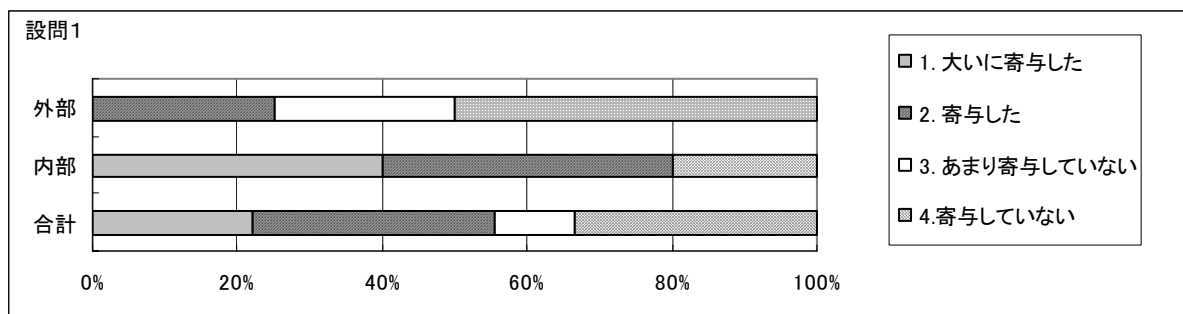


図4 設問1に対するアンケート結果

8.2 新たな科学・技術分野の開拓

設問2：本プロジェクトによって新たな科学・技術分野を切り開いたと考えられますか？

表3 設問2に対するアンケート結果

回答	外部(外部有識者)	内部(プロジェクト関係者)	合計
1. 切り開いた	0	1	1
2. 切り開きつつある	2	3	5
3. きっかけにはなった	1	0	1
4. 切り開いていない	1	1	2
評価(回答1を3として)	1.25	1.80	1.56

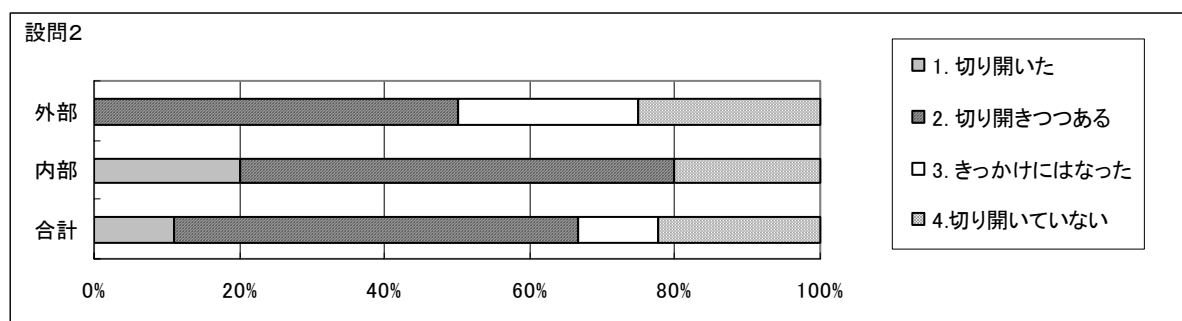


図5 設問2に対するアンケート結果

8.3 ERATO プロジェクトを経ての、総括責任者に対する評価の変化

設問3：本プロジェクトを経て総括責任者に対する評価に変化はありましたか？

表4 設問3に対するアンケート結果

回答	外部(外部有識者)	内部(プロジェクト関係者)	合計
1. 評価は著しく高くなった	0	0	0
2. 評価はかなり高くなった	0	2	2
3. 大きな評価の向上は認められない	4	2	6
4. 評価が下がった	0	1	1
評価(回答1を3として)	1.00	1.20	1.11

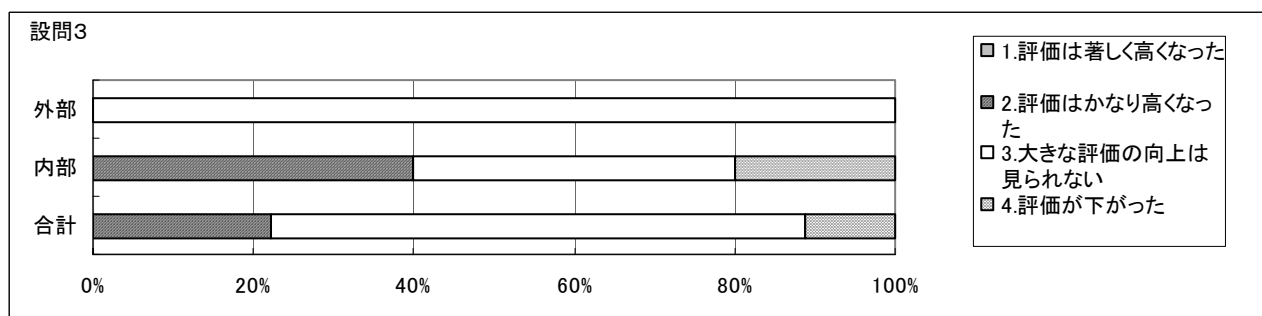


図6 設問3に対するアンケート結果

9. 出典

9.1 参考資料(論文リスト、公開特許リストなど)

参考資料 1.

論文リスト (プロジェクト期間中及びプロジェクト終了後)

No	書誌事項	被引用 件数
1	Mitsumori T, Fation S, Murata M, Doi K, Doi H. , “Gene/protein name recognition based on support vector machine using dictionary as features.”, BMC Bioinformatics. 2005;6 Suppl 1:S8. Epub 2005 May 24.,2005	0
2	Matsuzawa F, Aikawa S, Doi H, Okumiya T, Sakuraba H. , “Fabry disease: correlation between structural changes in alpha-galactosidase, and clinical and biochemical phenotypes.”, Hum Genet. 2005 Aug;117(4):317-28. Epub 2005 May 28.,2005	0
3	Saito Y, Tetsuka M, Saito S, Imai K, Yoshikawa A, Doi H, Maruyama K. , “Arginine residue 155 in the second intracellular loop plays a critical role in rat melanin-concentrating hormone receptor 1 activation.”, Endocrinology. 2005 Aug;146(8):3452-62. Epub 2005 May 12. ,2005	0
4	Satoh Y, Kadota Y, Oheda Y, Kuwahara J, Aikawa S, Matsuzawa F, Doi H, Aoyagi T, Sakuraba H, Itoh K. , “Microbial serine carboxypeptidase inhibitors--comparative analysis of actions on homologous enzymes derived from man, yeast and wheat.”, J Antibiot (Tokyo). 2004 May;57(5):316-25. Erratum in: J Antibiot (Tokyo). 2004 Jun;57(6):C-1.,2004	1
5	Tetsuka M, Saito Y, Imai K, Doi H, Maruyama K. , “The basic residues in the membrane-proximal C-terminal tail of the rat melanin-concentrating hormone receptor 1 are required for receptor function.”,Endocrinology. 2004 Aug;145(8):3712-23. Epub 2004 Apr 29.,2004	9
6	Sakuraba H, Matsuzawa F, Aikawa S, Doi H, Kotani M, Nakada H, Fukushige T, Kanzaki T. , “Structural and immunocytochemical studies on alpha-N-acetylgalactosaminidase deficiency (Schindler/Kanzaki disease).”,J Hum Genet. 2004;49(1):1-8. Epub 2003 Dec 19.,2003	7
7	Matsuzawa F, Aikawa S, Sakuraba H, Lan HT, Tanaka A, Ohno K, Sugimoto Y, Ninomiya H, Doi H. , “Structural basis of the GM2 gangliosidosis B variant.”,J Hum Genet. 2003;48(11):582-9. Epub 2003 Oct 24.,2003	0
8	Kanai A, Oida H, Matsuura N, Doi H. , “Expression cloning and characterization of a novel gene that encodes the RNA-binding protein FAU-1 from Pyrococcus furiosus.”,Biochem J. 2003 May 15;372(Pt 1):253-61.,2003	3
9	Shimada M, Kawahara H, Doi H. , “Novel family of CCCH-type zinc-finger proteins, MOE-1, -2 and -3, participates in C. elegans oocyte maturation.”,Genes Cells. 2002 Sep;7(9):933-47.,2002	2

10	Sakuraba H, Matsuzawa F, Aikawa S, Doi H, Kotani M, Lin H, Ohno K, Tanaka A, Yamada H, Uyama E. , “Molecular and structural studies of the GM2 gangliosidosis 0 variant.”,J Hum Genet. 2002;47(4):176-83.,2002	4
11	Itoh K, Naganawa Y, Matsuzawa F, Aikawa S, Doi H, Sasagasako N, Yamada T, Kira J, Kobayashi T, Pshezhetsky AV, Sakuraba H. , “Novel missense mutations in the human lysosomal sialidase gene in sialidosis patients and prediction of structural alterations of mutant enzymes.”,J Hum Genet. 2002;47(1):29-37.,2002	5
12	Hudson TJ, Church DM, Greenaway S, Nguyen H, Cook A, Steen RG, Van Etten WJ, Castle AB, Strivens MA, Trickett P, Heuston C, Davison C, Southwell A, Hardisty R, Varela-Carver A, Haynes AR, Rodriguez-Tome P, Doi H, Ko MS, Pontius J, Schriml L, Wagner L, Maglott D, Brown SD, Lander ES, Schuler G, Denny P. , “A radiation hybrid map of mouse genes.”,Nat Genet. 2001 Oct;29(2):201-5.,2001	29
13	Kawai M, Nakashima A, Ueno M, Ushimaru T, Aiba K, Doi H, Uritani M., “Fission yeast tor1 functions in response to various stresses including nitrogen starvation, high osmolarity, and high temperature.”,Curr Genet. 2001 May;39(3):166-74.,2001	18
14	Naganawa Y, Itoh K, Shimmoto M, Takiguchi K, Doi H, Nishizawa Y, Kobayashi T, Kamei S, Lukong KE, Pshezhetsky AV, Sakuraba H. , “Molecular and structural studies of Japanese patients with sialidosis type 1.”,J Hum Genet. 2000;45(4):241-9.,2000	11
15	Takiguchi K, Itoh K, Shimmoto M, Ozand PT, Doi H, Sakuraba H. , “Structural and functional study of K453E mutant protective protein/cathepsin A causing the late infantile form of galactosialidosis.”,J Hum Genet. 2000;45(4):200-6.,2000	3
16	Ko MS, Kitchen JR, Wang X, Threat TA, Wang X, Hasegawa A, Sun T, Grahovac MJ, Kargul GJ, Lim MK, Cui Y, Sano Y, Tanaka T, Liang Y, Mason S, Paonessa PD, Sauls AD, DePalma GE, Sharara R, Rowe LB, Eppig J, Morrell C, Doi H., “Large-scale cDNA analysis reveals phased gene expression patterns during preimplantation mouse development.”, Development. 2000 Apr;127(8):1737-49.,2000	76
17	Tanaka TS, Jaradat SA, Lim MK, Kargul GJ, Wang X, Grahovac MJ, Pantano S, Sano Y, Piao Y, Nagaraja R, Doi H, Wood WH 3rd, Becker KG, Ko MS., “Genome-wide expression profiling of mid-gestation placenta and embryo using a 15,000 mouse developmental cDNA microarray.”, Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug 1;97(16):9127-32.,2000	169
18	Suzuki A, Doi H, Matsuzawa F, Aikawa S, Takiguchi K, Kawano H, Hayashida M, Ohno S., “Bcl-2 antiapoptotic protein mediates verotoxin II-induced cell death: possible association between bcl-2 and tissue failure by E. coli O157:H7.”,Genes Dev. 2000 Jul 15;14(14):1734-40.,2000	0

参考資料 2

公開特許リスト

No	公開番号	発明の名称	発明者氏名	出願人	出願日	特許番号
1	2004-331569	抗体配列作成装置 抗体配列作成方法 プログラム、および、記録媒体	齋藤 静司 大野 一樹 今井 建策 和田 光人 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	03/05/07	patent family1 件
2	2004-295256	抗体結合装置 抗体結合方法 プログラム、および、記録媒体	齋藤 静司 和田 光人 大野 一樹 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	03/03/25	patent family1 件
3	2004-215624	相互作用インヒビターの検出方法 相互作用インヒビターライブラリーおよびインヒビター検出キット	檜原 理史 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	03/01/17	patent family1 件
4	2004-203880 (WO0167299)	蛋白質相互作用予測方法及び該予測プログラムを担持した記録媒体	土居 洋文 鈴木 敦	富士通(株) 第一製薬株式会社	00/03/10	patent family14 件
5	2004-147513	CYP代謝予測装置 CYP代謝予測方法、および、プログラム	土居 洋文 朝永 惇 小倉 誠	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株) 富士通(株)	02/10/28	patent family1 件
6	2004-024078	ランダムオリゴヌクレオチドライブラリーおよびタンパク質相互作用検出方法	檜原 理史 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	02/06/24	patent family1 件
7	2003-242154 (WO03081471)	遺伝子発現情報管理装置 遺伝子発現情報管理方法 プログラム、および、記録媒体	上村 泰央 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	02/02/18	patent family6 件
8	2003-228580 (WO03067471)	文庫検索装置 文庫検索管理方法 プログラム、および、記録媒体	新田 清 土居 洋文 菊地 康裕 蓬萊 尚幸	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	02/02/04	patent family8 件
9	2003-203076 (WO03058499)	知見探索装置 知見探索方法 プログラム、および、記録媒体	蓬萊 尚幸 新田 清 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	01/01/28	patent family4 件
10	2003-167883	配列情報処理装置 配列情報処理方法 プログラム、および、記録媒体	蓬萊 尚幸 土居 洋文	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株)	01/11/30	patent family1 件
11	平11-213003 (WO9833900)	蛋白質結合部位の予測方法と予測装置	土居 洋文 平木 秀明 金井 昭夫	科学技術振興事業団 土居 洋文	98/01/30	patent family10 件
12	平11-155578 (WO9833900)	DNA合成酵素	土居 洋文 金井 昭夫 石野 良純	科学技術振興事業団 土居 洋文 金井 昭夫	97/12/02	patent family10 件
13	平10-228460	遺伝的アルゴリズム実行装置 実行方法およびそのプログラム記録媒体	菊地 康裕 土居 洋文	富士通(株)	97/12/08	JP3577207 patent family3 件

14	平10-222486 (WO9833900)	蛋白質の機能密位予測方法と機能密位予測装置並びに蛋白質の機能改良方法	土居 洋文 平木 秀明 金井 昭夫	科学技術振興事業団 土居 洋文 平木 秀明	97/01/31	patent family10 件
15	平10-210979 (WO9833900)	耐熱性DNA合成酵素	土居 洋文 金井 昭夫 石野 良純	科学技術振興事業団 土居 洋文 金井 昭夫	97/01/31	JP3679536 patent family10 件
16	平10-197529	タンパク質の抗原決定基予測方法及びシステム	北島 正人 大屋 倫宏 土居 洋文	富士通(株)	96/12/27	JP3618497 patent family2 件
17	平10-045795	蛋白質データベース・システム並びに蛋白質の機能および機能密位の推定方法	土居 洋文 北島 正人 渡部 勇	富士通(株)	96/08/01	JP3476310 patent family2 件
18	平09-152434	タンパク質立体構造の行列表現方法および部分構造抽出方法並びにタンパク質の立体構造解析システム	瀧口 今日子 土居 洋文	富士通(株)	95/12/01	JP3483374 patent family2 件
19	平09-023882 (US5928866)	変異遺伝子作成方法	今本 文男 石野 良純 古沢 満 土居 洋文	新技術事業団 寶酒造(株) 富士通(株)	95/07/10	patent family4 件
20	平08-163987 (US5928866)	検定遺伝子配列作成方法	今本 文男 石野 良純 古沢 満 土居 洋文	新技術事業団 今本 文男 寶酒造(株) 古沢 満 富士通(株)	94/12/15	patent family4 件
21	平08-163986 (US5928866)	大腸菌におけるDNA複製モデル	今本 文男 石野 良純 古沢 満 土居 洋文	新技術事業団 今本 文男 寶酒造(株) 古沢 満 富士通(株)	94/12/15	patent family4 件
22	平06-030759	遺伝子突然変異予測装置	土居 洋文	富士通(株)	92/07/17	JP3102957 patent family2 件
23	再表 2004/002532 (WO2004002532)	MKK7活性化阻害剤	土居 洋文 細木 信也 和田 直也	第一製薬(株)	02/06/28	patent family2 件
24	再表 03/086462	c-Junリン酸化阻害剤	土居 洋文 和田 直也 中島 弘人	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株) 第一製薬(株)		patent family6 件
25	再表 03/063907 (WO03063907)	サーカディアンリズム障害改善剤	土居 洋文 和田 直也	セレスター・レキシコ・サイエンシズ(株) 第一製薬(株)		patent family5 件
26	再表 01/067299 (WO0167299)	蛋白質間相互作用予測方法	土居 洋文 鈴木 敦 高瀬 勤	第一製薬(株) 富士通(株)	00/03/10	JP3588605 patent family14 件

27	WO2005017146	相互作用阻害剤 相互作用阻害検出方法および相互作用阻害剤検出キット	檜原理史、土居洋文	セレスター・レキシコ・サイエンス(株)	03/8/19	
----	--------------	-----------------------------------	-----------	---------------------	---------	--