# 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

加藤たん白生態プロジェクト(1995~2000) 総括責任者 加藤誠志

2006年3月報告

## 「加藤たん白生態プロジェクト」追跡調査報告書要旨

加藤たん白生態プロジェクトが立ち上げられた 1995 年はヒトゲノム時代の黎明期に当たっており、 日本発のテーマ cDNA についても mRNA からの合成法やライブラリー作製など、研究の成果が 開花しつつあった。加藤総括責任者自身も「まず細胞を構成する蛋白質を完全長 cDNA の形で すべて集め、その中から有用な蛋白質を探す」というホモ・プロテインバンク構想を打ち出した上で、 その出発点となる 2,000 クローンのライブラリーを作り上げていた。

このような状況を背景に発足したプロジェクトの狙いは、手持ちのとト完全長cDNAライブラリーを 出発材料に、それがコードする蛋白質間の相互作用と、それに基づく蛋白質ネットワーク構造を個 別的に明らかにし、「物質から機能への研究」の方法論的有効性を実証することにあった。

その結果、細胞周期制御にかかわる新規の NEDD8 修飾経路、WW ドメインを含む新しい核蛋白複合体、細胞内蛋白質の糖鎖修飾、ヒト完全長クローンの大規模局在解析、遺伝子免疫法による抗体作製、2八イブリッド局在化法による蛋白質相互作用の検出など、いくつかの成果を生み出した。これら個々の発見を通じて、体系的ではないにせよ一応の研究道筋はつけられたし、分子ネットワークの次元でそれなりの機能解析も成し得たという点で、未知の領域に一歩を踏み入れたことは一つの業績と評価される。また加藤総括責任者の実務家的体質を反映して、特許の出願数は ERATO プロジェクトとしては多い。ただし一面では、蛋白質ネットワークの実例が 2,000 クローン中の数件では ERATO の規模に比べて少なすぎるし、それにともない報文数も少ないとの批判も寄せられている。

プロジェクト終了後も一部のテーマは継続され、それぞれ独自の展開を見せている。WW ドメイン関連ではRNAポリメラーゼと結合して転写制御を行うPCIF1 や脳性疾患の原因遺伝子の発見、糖鎖修飾ではがん遺伝子の修飾とりん酸化との関係探索、遺伝子免疫では細胞内局在状態と免疫機能との相関、さらに網膜色素変性症の原因遺伝子同定などが例に挙げられる。

その中で特筆すべきは、加藤氏によって完成された完全長 cDNA 作製法"V キャッピング"であるう。この方法は専門家筋からも高く評価され、その後ライブラリー作製受託事業として収益をあげつつある。原材料(RNA)が微量ですみ、ヒトや特定の動物に限定されず、昆虫や植物にも適用できるため今後の広がりが約束されている。

本プロジェクトが目指した「完全長 cDNA バンクから網羅的に蛋白質機能を解析する」研究方法は現在ではそのままポストシーケンス時代の主流となり、その意味では今日的遺伝子ネットワーク研究の先導的な役割を果たした。実際、その後実施された「ゲノムネットワーク(文科省/理研)」および「タンパク質機能解析・活用(NEDO/産総研)」の2大国家プロジェクトの意図するところは加藤プロジェクトのそれと同一であり、直接の動機づけとは言えないまでも、本プロジェクトの行き方が何らかの背景になっていると考えてよい。

また NEDD8 や WW ドメインでの成果は、その後これら分野の研究を誘発・加速し、それぞれの流れを作るひとつのきっかけになったことも注目される。

# 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	2
2.1. 全 般	2
2.2. 個別テーマ関連	4
2.3. プロジェクトの展開状況	12
3. 科学技術へのインパクト	13
3.1. プロジェクトからの新しい潮流	13
3.2. 統計資料に見た科学技術への影響	15
4. 研究成果の実用化例	19
4.1.完全長 cDNA ライブラリー作製受託事業	19
4.2. 網膜色素変性症の展開	20
4.3. 遺伝子免疫法の実用化	20
4.4. がん・糖尿病および脊髄小脳失調症の診断・治療への方向	21
4.5. NEDD8 修飾経路の応用	21
5. 参加研究者の活動状況	21
5.1. プロジェクトから育った人材の状況	21
5.2. 学位取得	21
6. プロジェクトに関する内外からの意見	22
6.1. プロジェクト全般	22
6.2. 個別テーマ	23
6.3. 総括責任者	24
7. 創造科学技術推進事業に関する意見	25
7.1. 事業の意義	25
7.2. 仕組み、 運営面に関する意見	26
8. アンケート調査結果	
8.1. 当該分野の研究水準・技術水準への寄与	
8.2. 新たな科学・技術分野の開拓	29
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	29
9. 出典	31
9.1 参老資料	31

#### 1. はじめに

加藤たん白生態プロジェクトがテイクオフした 1995 年当時は、ヒトゲノムに関する研究はすでに世界的な潮流となり、翌 1996 年 2 月にはワトソンを中心とする国際コンソーシアムによりヒトゲノムシーケンスの全解読作業が始まった。また日本発のテーマ cDNA についても、mRNA の逆転写によるヒト完全長 cDNA の作製法が菅野純夫氏、加藤誠志総括責任者、林崎良英氏らの手で独立に開発されており、ある程度の規模を有するライブラリーも整理されていた。とくにヒト完全長cDNA ライブラリーを単なるゲノムシーケンシングの段階にとどまらず、これを利用して蛋白質の機能解析に役立たせる考え方も提唱されており、加藤総括責任者自身も、「まず細胞を構成する蛋白質を完全長cDNAの形ですべて集め、その中から有用な蛋白質を探す」という「ホモ・プロテインバンク構想」を早々と打ち出した(1993)上で、その出発点として2,000個のクローンからなるライブラリーを作り上げていた(科研費および神奈川科学技術アカデミー「ヒューマンプロテインプロジェクト」)。

このような状況を背景に加藤たん白生態プロジェクトはスタートした。その目的とするところは、手持ちのクローン 2,000 個からなるヒト完全長 cDNA バンクを出発材料にして細胞という蛋白生態系へアプローチを行なうための道筋をつけ、その結果として、このようなやり方が、「物質から機能」」を指向するゲノム新時代の研究推進のための有効な方法(逆遺伝学的方法)として成り立つことを実証するにあった。

具体的な目標は、とト完全長 cDNA バンクに属するクローンがコードしている蛋白質をインビトロないし細胞内で発現させ、翻訳産物として得られた蛋白質分子間の相互作用を探索し、それにより構成される「蛋白質ネットワーク(一次ないし高次構造)」を明らかにすること、同時にそのための研究手法を開発することにあった。この線に沿った研究は当時としては先例がなく、企画の時点では上記の目標自体がたしかな成果が見通せない困難なもので、その意味ではすぐれて意欲的・挑戦的な発想であったと言えよう。

ただしプロジェクト開始当時は 25,000 個と称されるヒトクローンについて、塩基配列の解読はわずかしか進められておらず、したがって、「すべてのクローンを集めたヒト完全長 cDNA バンクから網羅的に蛋白質の機能解析を行なう」ことは時期尚早であった。本プロジェクトの狙いは、あくまでも「このような方向に沿った研究の道筋をつけること」であり、手持ちの部分的なバンクを用いていく

<sup>1</sup> 物質から機能へ: 機能・形質から、そのもとになる遺伝子を探索する従来のアプローチではなくまず物質(遺伝子)の形で収集したcDNA の集合から出発して、それらがコードしている蛋白質の機能を調べようとするもの。逆遺伝学的方法とも呼ばれる。

つかの蛋白質ネットワーク機構を明らかにすることにより、その方法論的有効性を示すことにあった。 本プロジェクトの成果を評価する上で、この点は十分考慮に入れておく必要があろう。

## 2. プロジェクトの研究成果とその後の展開

#### 2.1. 全般

#### 2.1.1. 発足時の課題を取り巻〈研究・技術水準

mRNAから逆転写によりとト完全長 cDNAを作製する手法は、すでに加藤総括責任者のものを含めていくつかの技術が提案されており、品質や収率の面は別としてほぼ出来上がっていた。またそれらの技術を用いた cDNA ライブラリーもクローン数が数千程度のものは存在していた。加藤総括責任者の場合は、自ら創案したキメラオリゴヌクレオチドキャッピング法により 2,000 個のクローンからなるライブラリーを手持ちしていた。

一方、ヒト完全長 cDNA ライブラリーから出発して様々な遺伝子機能を明らかにする、「物質から機能へ」の逆遺伝学的解析手法については、基本的な考え方こそ加藤総括責任者らにより提案されていたが、研究の現場では、分子・分子ネットワーク・細胞・個体いずれのレベルでも機能の解明は実行されておらず、将来の課題として残されている状況にあった。

## 2.1.2. 目標達成状況と成果の概要

## (1) 成果の概要

加藤プロジェクトの成果はすべて個別的なレベルにとどまっており、蛋白質ネットワークの体系的な整理や方法論確立の段階には至っていない。この結果は、「個々の研究者が独立に "自らの面白いクローン"を探す」という基本方針の必然の帰結というべきかもしれないが、そのかぎりにおいてはいくつかの価値ある発見を成し遂げている。主なものとして、細胞周期制御にかかわる新規修飾システム NEDD82経路、WW ドメイン3を有する新規核蛋白質複合体、細胞内蛋白質の新規

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> NEDD8: 標的蛋白質と共有結合して機能を発現させる蛋白質ユビキチンに類似の修飾蛋白質。活性化酵素・結合酵素・リガーゼからなる。他の修飾蛋白質として SUMO がある。

糖鎖修飾、ヒト完全長 cDNA クローンの大規模局在解析、cDNA 免疫による抗体作製(遺伝子免疫)、2 ハイブリッド局在化法による蛋白質相互作用の検出などがあげられる(2.2 参照)。

なお加藤総括責任者の傾向を反映して、本プロジェクトからの国内特許出願は 25 件(対応する海外出願 119 件)と他の ERATO プロジェクトに比べて多数に上っている(全 ERATO プロジェクトの平均出願数は 12.6 件)。

#### (2) 目標達成状況

体系的な蛋白質ネットワークの整備までは至っていないが、個々の新しい発見を通じて小さいながらも「物質から機能へ」の研究道筋はつけられたと評価できる。そのかぎりでは一応の目標は達成できたと言えよう。また「機能」の定義にもよるが、分子ネットワークの次元でそれなりの機能解析も成し得たと思われる。その意味で未踏の領域に一歩を踏み入れたことは一つの成果である。ただ、以後の研究者が、完全長cDNAを出発点とするこの種のやり方で「蛋白質の機能解析」にアクセスするための方法論を、具体的なレベルで確立できたかとなると問題が残されている4。

## (3) 問題点・実施されなかったテーマ

プロジェクトの性格にもよるが、特許出願数の多いことに比較して総体に成果や報文の数が少なく、その点で研究の効率に問題があった。とくに ERATO プロジェクトの規模を考えると、対費用効果の面でいささかの物足りなさもある。

研究の出発点として自家製のとト完全長 cDNA ライブラリー(最初は 2,000 個のクローンからなるもの)を選んだこともあり、この中から「面白い遺伝子」を見出すのに手間がかかった5。当初から自家製にこだわらず、より素性のはっきりしている(たとえば疾病遺伝子に関連するライブラリー)ものを外部から導入していたら、より豊かな成果が得られた可能性がある。

<sup>3</sup> WW ドメイン): 約 40 のアミノ酸からなる、2トリプトファン残基 - 1 プロリン残基を含む蛋白質の部分的構造単位。プロリンに富んだ蛋白質の領域と結合する。

<sup>4</sup> たとえば蛋白質間の相互作用を検出、解析するためのさらに有効な方法を開発する必要がある。

<sup>5</sup> 加藤総括責任者の cDNA ライブラリー作製における基本的なスタンスは、もっぱら「自ら開発したcDNA合成法の利用」にあり、遺伝子の機能や形質について共通性をもつグループを意図的に選択するものではなかった。

新しい蛋白質ネットワークの発見や機能解析を実現するための決定的な研究手法を確立できなかった。遺伝子免疫法や2ハイブリッド局在化法などの開発はあったが、普遍的な研究方法として広く利用されるまでには至っていない。

当初の計画にあった、「顕微鏡観察と組み合わせた蛋白質ネットワークのリアルタイム動態解析」は、しかるべき研究者の不在のため実施できなかった。

#### (4) 目標および成果の継続・展開状況の概要

核内複合体、糖鎖修飾、遺伝子免疫などのテーマについては、プロジェクト終了後もそれぞれの担当研究者の手で研究が展開されており、一定の成果をあげている。またプロジェクトテーマの直接的な展開ではないが、総括責任者によって、完全長 cDNA の作製法 - V キャッピング法が実質的に完成され、ヒト以外の(植物を含む)ライブラリーを作製する道が開かれた(この意味ではプロジェクトの間接的展開と位置付けられる)。この方法はその後実用化され、各種生物の完全長cDNA ライブラリー作製受託事業として成立している(4.1.)。さらにプロジェクトでは扱わなかった疾病原因遺伝子研究の一環として網膜色素細胞から完全長 cDNA ライブラリーを作製し、この中から網膜色素変性症の原因となる新遺伝子を確定した。なお終了後その他の成果にもとづく特許出願は21件(対応する海外出願91件)に上っている。

## 2.2. 個別テーマ関連

## 2.2.1. 新規 cDNA クローンの全長塩基配列とインビトロ翻訳解析

- (1) ヒト完全長 cDNA ライブラリーの中から、未登録の新規 cDNA を選択し、2,000 クローンについて全長塩基配列を解析した。配列を決定したものについては、インビトロ翻訳により翻訳産物の分子量を求めた上、緑色蛍光蛋白質(GFP)を融合した蛋白質の発現による局在解析に供した。
- (2)これら cDNA の ORF(Open Reading Frame)から推定されるアミノ酸配列を、親水性・疎水性度を縦軸に、アミノ酸残基を色別バーの形で横軸に表示する方式(プロテオグラムと命名)により可視化した。この図表をインビトロ翻訳産物の分子量や局在データと併せてターゲット蛋白質を選択するための基礎資料として活用した。

(3)プロジェクト終了後も完全長 cDNA クローンの収集は続けられ、現在までに収集したものは 6,000 クローンに達している(国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所 - 略称リハビリ 研)。

## 2.2.2. 蛋白質の新規修飾系 NEDD8 経路

- (1) cDNA クローンの網羅的インビトロ翻訳の過程で、ユビキチン様蛋白質 NEDD8 をコードして Nる cDNA クローンが本来の 9kDa 産物の他に 60kDa,100kDa,300kDa の各産物を生成することを見出した。これらは NEDD8 本来の 9kDa 翻訳産物がウサギ網状赤血球中の蛋白質と共有結合して生成したもので、100kDa の蛋白質はカリン-4A、また 60,300kDa の翻訳産物はそれぞれ ユビキチン経路の E1、E2 に対応する新規蛋白質であることを突き止めた。さらにカリン-1,-2,-3,-4B,-5 のいずれもが NEDD8 修飾を受けることが判明した。
- (2) NEDD8 修飾の生理的役割を調べるため分裂酵母を用いた遺伝子破壊実験を行った結果、この修飾システムが分裂酵母の生存に必要であることを確かめた。さらに、カリン-1が細胞周期の制御因子 SCF(ユビキチンリガーゼ)の複合成分であること、SCF の機能発現のためにはカリン-1の NEDD8 化が必須であり、結果として NEDD8 化が細胞周期の制御に直接関与していることを実証した(NEDD8 化はカリンファミリーのマスター制御を行なっている可能性が大きい)。NEDD8 のターゲット蛋白質がユビキチンリガーゼ  $E_3$  (カリン SCF) であることは当初の予想にない発見であった。
- (3) ユビキチンが複数個結合した翻訳産物に由来するラダーバンドは、膜貫通蛋白質のドメインを有し、小胞体膜に局在することを確認した。今後のユビキチン化メカニズムの解明に cDNA のインビトロ翻訳系が有力な手段となり得る。
- (4) 本テーマを担当した研究者はプロジェクト終了後、米国ハーバード大学でプロテアソーム関連 テーマを扱うとともに、NEDD8 にかかわる新たな活性制御システムを検討する予定であったが、 個人的な事情で研究を中断、帰国したため、その後の展開は進んでいない。

## 2.2.3. WW ドメインを介する新規蛋白質複合体

(1) 手持ちの cDNA バンクの中から、WW ドメイン配列を有する蛋白質をコードするクローンを選

び、この蛋白質を一成分とする複合体を探索した(酵母 2 ハイブリッドスクリーニング系による)。この蛋白質は細胞核に局在しており、Npw38 と命名された。WW ドメインは転写活性化能を有しており、Npw38 は RNA 結合蛋白質であることを認めた。

- (2) さらに Hela 細胞の核抽出物から Npw38 と細胞内で結合している蛋白質 NpwBP を単離精製し、この蛋白質がプロリンに富む領域および酸性領域を含むこと、Npw38 と NpwBP の結合はWWドメイン プロリン領域の相互作用によることを見出した。また NpwBP が WWドメインと結合する時のモチーフとしてアルギニンが近接する PPGPPP の特異配列を認め、これを PGR モチーフと名付けた。Npw38-NpwBP 複合体は、mRNA ファクトリーとして核中で転写からスプライシングまでのプロセスの一部に関与している可能性が強い。
- (3) プロジェクト末期から金沢大との共同研究を行ない、Npw38 以外の WW ドメインを含む核蛋白質として PCIF1 を発見した。この物質は RNA ポリメラーゼ の C 末端ドメインと結合し、転写制御の機能を担っている。プロジェクトの展開として重要なアイテムである。
- (4) プロジェクト終了後、担当研究者は Yale 大, Mount Sinai Sch.Med., Northwestern 大などで核蛋白質の研究を続け、Mount Sinai Sch.Med.ではこの分野の権威者 Sudol 教授の下で、WW ドメインを有する蛋白質 YAP が ErbB-4(チロシンキナーゼ)の転写機能を活性化することを見出している。現在は Northwestern 大でウィルス感知に関する分子のシグナル伝達解析を自然免疫の立場から進めている。

## 2.2.4. 細胞内蛋白質の新規糖鎖修飾

(1) 完全長 cDNA がコードする蛋白質の中からレクチン活性を持つものを探す目的で高感度のレクチン検出法を開発した。蛋白質を SDS-PAGE<sup>6</sup>で分離した後、糖-ビオチン化アクリルアミドポリマーをプローブに用いて検出するシステムで、支持体をポリアクリルアミドに選んだことによりプローブ / レクチン以外の非特異的蛋白質相互作用が起こらず、バックグラウンドが低下して高感度が達成された(従来法の 10 倍以上)。

<sup>6</sup> ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動(PAGE)のうち、陰イオン界面活性剤ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の存在下で行うもので、蛋白質の分子量を測定できる。

- (2) 前記の新検出法を用いて、既知の N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)による以外の糖鎖修飾系を探索した結果、ウサギ筋細胞質蛋白質(酵素)中のクレアチンキナーゼ(CK)が O-結合グルコースによりセリン、スレオニン残基のところで部分的にグリコシル化されることを発見した。ある種のウィルス感染時にこのメカニズム(グルコース修飾)が働き、ウィルスの増殖につながっていることがわかった。新たな細胞内蛋白質ネットワークから蛋白質の調節機能の解明につながるものと期待される。
- (3) プロジェクト終了後も担当者は Johns Hopkins 大 Hart 教授の下で糖鎖修飾の研究を継続し、がん遺伝子産物 c-Myc の O- GlcNAc 修飾とりん酸化との関係 c-Myc 代謝とこれら2種の翻訳後修飾の起こる機序 を解析した。その結果、細胞が増殖刺激に応じて c-Myc 蛋白質を翻訳すると、c-Myc は直ちに O- GlcNAc 化されること、りん酸化は脱 O- GlcNAc 修飾の後に起こること、りん酸化 c-Myc がプロテアソームによって分解されることを明らかにした。これら2種の翻訳後修飾により、蛋白質の局在、半減期、機能が調節される。
- (4) 担当研究者は現在、長浜バイオ大(滋賀県)で糖尿病に関連するメカニズムを検討している。 りん酸化のシグナルによりインシュリンに糖を取り込む指示を与える際、すでにグルコサミンで糖自 身が修飾されていると、このシグナルが作用しなくなることを発見した(Hart 教授との共同研究)。

#### 2.2.5. ヒト完全長 cDNA クローンの大規模局在解析

- (1) ヒト完全長 cDNA クローンと、ウロキナーゼ cDNA や緑色蛍光蛋白質(GFP)との融合遺伝子発現による局在解析を行ない、新規膜蛋白質、新規スプライセオソーム構成成分、新規 RNA ヘリカーゼ、不死化細胞特異的核蛋白質など多くの新しい蛋白質の同定に成功した。
- (2) 上記の GFP 融合蛋白質発現による局在解析の過程で、核内に斑点状パターンで局在するクローンを見出し、検討の結果、スプライセオソームを構成する蛋白質と判明した。この新規蛋白質は Nps20 と名付けられた。さらに Nps20 の局在化シグナルを調べ、N 末端に核内移行シグナル、C 末端に新しい核外移行シグナルがそれぞれ同定され、Nps20 は細胞質と核の間をシャトルしながらスプライシングに関与する蛋白質と結論した。Nps20 とスプライセオソームとの結びつきは予想を超えた発見であり、従来の解析法では得られなかった新蛋白質を完全長 cDNA による局在解析で見出した例となった。

- (3) 疎水性膜貫通ドメインを有するクローンについて、蛋白質のタイプを同定するためにウロキナーゼを利用する方法を考案した。膜貫通ドメイン配列の下流にウロキナーゼのプロテアーゼドメイン融合物を培養細胞中で発現させ、細胞表面のウロキナーゼ活性の有無を測定するもので、この手法を膜貫通ドメイン蛋白質に適用することにより新規蛋白質の同定を行ない、さらに各ドメインの細胞膜に対するトポロジーを決定した。
- (4) プロジェクト終了後、担当者はGeneve大でKramer教授の指導下にスプライセオソームの研究を続行した。Nps20の核外・核内各シグナルを分断して移行パターンを調べた結果、疎水領域 (前者)だけでは核内に移行せず、逆に疎水領域を削ったものでは核内移行の後スプライセオソーム (SF3a60)と相互作用せず均一に拡散してしまうことがわかった。蛋白質機能解析の上で一つの突破口になる知見である。

また Nps20 とスプライセオソーム(SF3a60)との相互作用を掘り下げる目的で Nps20 の局在解析を進めたが、試料が不溶化しやすく断念した。親水基と疎水基のバランスで蛋白質の凝集構造が定まり、疎水基を外側に向けて逆ミセル状に配列すると不溶化する。

- (5) 担当者はその後産総研に移籍し、プロジェクトの一つの展開として、バイオインフォマティックスをフルに活用しながら、ヒト完全長 cDNA をヒトゲノムにマップして遺伝子の座を確定する作業(ヒト遺伝子地図の作成)を進めた(タンパク質機能解析・活用プロジェクト-NEDO / 産総研)。
- 2.2.6. cDNA 免疫による抗体作製(遺伝子免疫)
- (1) とト完全長 cDNA 発現ベクターを注射や遺伝子銃で細胞内に直接投与するだけで cDNA がコードしているとト蛋白質に対する抗体が作れることを実証した。モデル蛋白質として GFP や ・ガラクトシターゼを選び、これらの cDNA 発現ベクターをマウスやラットに注入した結果、いずれの蛋白質に対しても抗体が産生されることが確認された。ただし ・ガラクトシターゼに対する抗体は6種類のマウスすべてについて産生したが、GFPについては2種のマウスのみに抗体産生が認められた(抗体産生能は抗原や動物の系統により差のあることが分かった)。ベクター注入方式は注射より遺伝子銃による導入がより効率的であった。この方法は、抗原蛋白質の分離精製工程を必要としない点が大きい特徴である(大腸菌を用いる従来法で抗原を作る場合、目的物以外に大腸菌に由来する多くの抗原が混入して精製が難しい)。

- (2) さらにとト cDNA を免疫源に用いた場合についても、従来法では組替え蛋白質を単離精製するのが困難な分泌蛋白質および膜蛋白質を対象に検討を進め、膜抗原を主体に 15 種類のcDNA で免疫を行なった結果、11 種類について抗体の産生を認めた。膜蛋白質については、いずれも得られた抗体が膜表面の抗原蛋白質と結合していることをたしかめた。また抗体産生がなかった中の2種(分泌型、核型)についても、膜蛋白質の膜貫通ドメインを融合させた蛋白質ベクターを用いて膜型に改質することにより産生に成功した。膜型および改質膜型に対して遺伝子免疫法が有効であることは予想にない結果であった。
- (3) プロジェクト終了後も担当者により遺伝子免疫の研究は続行され(北里大・ステムセル研究所)、 細胞内抗体の局在状態と免疫機能の関係についての基礎検討や、遺伝子免疫法を応用した臍 帯血大量生産方式の開発などが進められている。

## 2.2.7. 2ハイブリッド局在化法による蛋白質相互作用の検出

(1) GFP のようなレポーターを融合した蛋白質を、局在化シグナルを融合した蛋白質とともに培養細胞内で同時発現させ、レポーター融合蛋白質の局在変化を指標として両者の結合を検出するシステムを創出し、2 ハイブリッド局在化法と命名した。具体的には GFP を融合した目的蛋白質 X から局在化シグナルを除いたものと、完全長 cDNA バンクの中から選んだ、X と同じ局在パターンを示す分子 Y とを動物細胞内で同時発現させる。両者間に相互作用があれば X-GFP と Y は結合し、前者は Y の局在する場所に移動することになる(相互作用がない場合は X の局在パターンは変化しない)。

実際に結合が確認されている(2.2.3.(2))Npw38-NpwBP 複合体についてこの方法の有効性を実証した。

(2) この方法により蛋白質間相互作用を細胞内環境で迅速に検出することが可能になり、従来の酵母 2 ハイブリッド法では困難とされていた転写活性を有する蛋白質間の相互作用や、さまざまな局在パターンをもつ蛋白質同士の相互作用を検出できるようになった。

しかしこのシステムで得られた局在化挙動だけでは分子間相互作用の直接的な解明にはならないこともあって、その後普遍的な手法として広汎に利用されるまでには至っていない。

## 2.2.8. 完全長 cDNA の新規合成法とそれによるライブラリー作製

(1) この研究テーマ自体は加藤プロジェクトのものではなく、もともと相模中研および神奈川科学技術アカデミー(KAST - ヒューマンプロテイン・プロジェクト)のそれであった。とくに相模中研では本プロジェクトと同時進行の形で新しいクローンが生産され、塩基配列が決定されていた。ここで得られたクローンはそのまま本プロジェクトに提供されており、クローン数も当初の 2,000 が終了時には 4,000 まで増加していた。

本来、完全長 cDNA バンクは本プロジェクトの前提であり、出発点でもある。バンクの充実はプロジェクト研究成果の質的向上につながるから、その意味ではプロジェクトの重要な基本要素ということができる。

- (2) 本プロジェクト終了後も、国立身体障害者リハビリテーション研究所(リハビリ研)に移った加藤の手で「全ての遺伝子収集のための技術開発」は続けられ、その結果、"V(ベクター)キャッピング法"と称せられる完全長 cDNA 作製法の完成を見た。この成果は前項に述べた意味で本プロジェクトの(間接的)展開の一つと位置付けられるので、以下にその内容を紹介しておく。
- (3) V キャッピング法は、T テール末端のベクタープライマー(チミン連鎖を末端に有するベクター)とcDNA 一本鎖をT4RNAリガーゼを用いて結びつける、3段階の工程からなる高品質完全長cDNA の高効率作製法である。大きい特長として、

PCR や制限酵素を用いないため、変異や切断による不純物の混入がない。

mRNA のキャップ構造 $m^7G$  (7-メチルグアノシン) に由来する G が、得られた cDNA の 5 末端 に存在することが完全長の裏づけとなる。

完全長 cDNA クローンの収率が 95%とこれまでの最高値を示す (培養細胞や新しい組織を用いた場合)。

出発材料が、全 RNA(mRNA に精製する必要がない)数 µ gの少量で足りる。 があげられる。

本法の優秀性はこの分野でつとに高い評価を受けており、従来法に比べて完全長 cDNA の収率が高く、高品質のライブラリーが得られることも実証されている。個別のクローンやライブラリー作製で、各方面での利用度も高まりつつある。

また本法は、昆虫や植物など、これまで微量の mRNA しか調製できなかった多くの生物種に適用することが可能であり、その面でも今後の広汎な展開が期待されている。これらの特徴をベースに、「各種生物の完全長 c-DNA ライブラリー作製受託事業」がはじめられ、収益をあげつつある(4.1.参照)。

#### 2.2.9. 疾患原因遺伝子の探索

- (1) プロジェクト期間中には疾患にかかわる遺伝子の探索をテーマとして取り上げることはなかったが、終了後総括責任者はリハビリ研へ移籍し、ここでプロジェクトの意図を継承した形で網膜細胞に特化した完全長 cDNA プロジェクトを立ち上げた(厚生労働省:「網膜色素変性症の原因遺伝子の探索に関する研究」、2002-2004)。
- (2) 前項のプロジェクトでは、新たに開発した V キャッピング法(2.2.8.)を用いてとト網膜色素上皮細胞から完全長 cDNA ライブラリーを作製し、存在するクローンの部分塩基配列を網羅的に解析した。その結果、既存のデータベースに登録されていない新規なクローン 30 個を含む 1,663 種類の遺伝子を分類し、網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子を同定した。さらに多数の患者について遺伝子の変異を調べ、新しい一塩基型多型や欠失部位などを発見した。

## 2.2.10 特許出願.

- (1) 加藤総括責任者は、出身母体相模中研の性格に関連して実務家的な傾向が強く、出願特許数もプロジェクト期間中25件(対応する海外出願119件)と、他のERATOプロジェクト(平均出願数12.6件)に比べて多い。その内容は「ヒト蛋白質とcDNA」に関する発明が半数以上を占め、他にNEDD8関連、WWドメイン関連、遺伝子免疫法による抗体作製、蛋白質間相互作用の検出など、プロジェクト成果の全面にわたって出願されている。
- (2) プロジェクト終了後もリハビリ研 / JST、あるいはリハビリ研 / 日立計測器サービス共願の形で出願作業が継続され、現在までに 21 件(対応する海外 91 件)が出願されている。この中 1 件は V キャッピング法(完全長 cDNA 作製法)に関するもので、これが成立すれば有力な権利になる。

## 2.2.11. JST 権利化試験

プロジェクト終了後、JST の権利化試験として、「蛋白質間相互作用解析技術に関する研究」を継続実施し、「識別コード付き細胞集団」という新しい概念にもとづく手法を開発して特許出願を行なった。現在ライセンス先を探している。

## 2.3. プロジェクトの展開状況

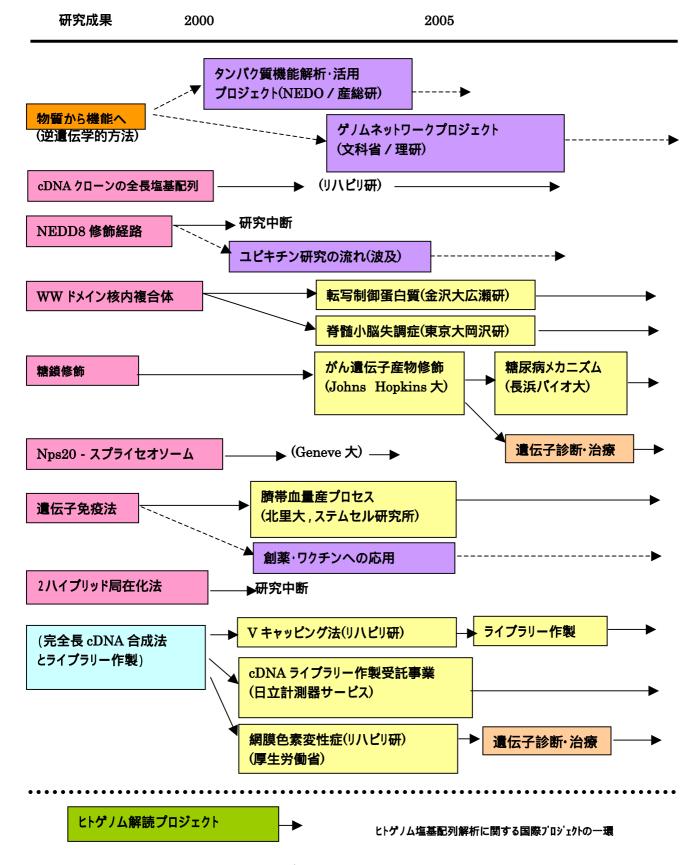


図 1 プロジェクトの継続・継承フロー図

## 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

## 3.1.1. 完全長 cDNA バンクから蛋白質機能解析へ(研究の潮流)

加藤プロジェクトの目指した、「mRNA の逆転写と塩基配列解読からまずすべてのクローンをそろえた完全長 cDNA バンクを作り、ここから出発して網羅的に全蛋白質を発現、研究手法の開発を含めてそれらの機能を解析する」という研究の方法は、現在ではそのままポストシーケンス時代の主流となっている。その意味では加藤プロジェクトの方向付けは、現在広く手がけられている完全長 cDNA バンクを用いた遺伝子ネットワーク研究の先導的役割を果たした。ERATO プロジェクトの成果としては量的にやや不足の感もあり、また蛋白質ネットワークの体系的な整理にまでは至っていないにしても、少なくとも他に先んじてこのような研究方法論の有効性を実例をもって示したことはたしかであり、その点で現在の「逆遺伝学的な研究の流れ」を誘起する一因になったということができる。

#### 3.1.2. 大型国家プロジェクト立ち上げへの影響

前項の具体的な現われとして、本プロジェクト終了後、全遺伝子を対象とし整備された完全長 cDNA バンクをベースに本格的な分子ネットワークの解析を進める2件の大型国家プロジェクトが 立ち上げられている。いずれも意図するところは加藤プロジェクトと同一、ないしそれを発展させた ものであり、直接の動機付けとは言えないまでも、加藤プロジェクトの成果が背景のひとつになっていると考えてよい。

## (1) ゲノムネットワーク・プロジェクト(文科省/理化学研究所,2004-)

2003年のヒトゲノム解読完了に続いて、翌2004年からゲノムネットワークプロジェクトがスタートした。ヒト遺伝子同士の相互作用を解明し、得られた情報を生命科学分野の進展や疾患の新治療法開発につなぐことを目標に推進されている。研究の具体的な内容は、 遺伝子ネットワークの構造解析、 情報の体系化・プラットフォームの構築、 次世代ゲノム解析技術の開発、ネットワーク活用による個体生命機能の解析、からなり、各グループが連携して研究を総合的に推進する方式を取っている(推進委員会主査:笹月武彦氏,実施会議議長:榊佳之氏)。

(2) タンパク質機能解析・活用プロジェクト(NEDO/産総研生物情報解析研究センター, 2000-2005)

とト完全長 cDNA(3万個のクローンからなるバンク) およびヒトゲノム塩基配列情報を活用して、ヒトの生命活動を担う蛋白質機能解明のための技術開発とそれによる機能解析を行なう。具体的には cDNA から蛋白質を発現させるための基盤整備、生体内蛋白質の相互作用解明、ヒト多量遺伝子の自動注入システム、細胞変化の解析などをバイオインフォマティックス技術を駆使して進める。(プロジェクトリーダー:野村信夫氏)

#### 3.1.3. 高効率・高収率完全長 cDNA 作製法の利用

プロジェクト終了後開発された完全長 cDNA の作製法 V キャッピング法(2.2.8.)は、広くその優秀性を認められ、各方面の研究に利用されるようになった。たとえば慶応義塾大の岡部教授はマーモットの実験で、加藤方式を使って cDNA ライブラリーを作製している。また加藤氏自身も、現在進行中のゲノムネットワークプロジェクト(3.1.2.(1))で V キャッピング法により完全長 cDNA ライブラリーを作製し、蛋白質機能解析の出発材料としてプロジェクトに提供している。今後ともその利用範囲は増加の方向を辿ると考えられる。

#### 3.1.4. ユビキチン研究へのインパクト

本プロジェクトで解明されたNEDD8 - カリン修飾経路は、その後カリンリング-ユビキチンリガーゼの制御系として注目を集め、この発見を一つの契機としてユビキチン活性に関する研究が加速された。基本文献としての引用も数多N(3.2.)。たまたまプロジェクトの 5 年間で基本的なコンセプトはほぼ出尽くし、おおよその枠組みが出来上がった。

## 3.1.5. 核内蛋白質複合体に関するプロジェクト成果の波及

核内蛋白質複合体 Npw38 / NpwBP(2.2.3)については、その後東大岡沢研究室でポリグルタミン結合蛋白質として脳変性疾患との関係が検討されている。ポリグルタミンが増加すると疾患につながる。前記の結合蛋白質 PQBP1 が NpwBP と同一物質であることが判明し、転写機構を不活性にしていることが見出された(Npw38 が脊髄小脳失調症の原因遺伝子であることが推定

されている)。ポリグルタミン領域は多くのトリプレットリピート病の原因蛋白質に含まれている。ポリグルタミン領域を有し、神経疾患の一つである SCA1 の原因蛋白質といわれている ataxin-1 を Npw38 / PQBP1 と培養細胞内で共発現させると細胞死を引き起こすことから、Npw38 / PQBP1 と神経疾患との関係が示唆された。本プロジェクトの成果が疾患遺伝子の究明とメカニズムの解明に寄与する例となった。

#### 3.1.6. 高感度レクチン検出法の広がり

本プロジェクトで開発された新しい高感度レクチン活性度検出法は、その後札幌医大若宮研究 室をはじめ多くの場で利用され、現在では有力な研究手法として定着している。

## 3.2. 統計資料に見た科学技術への影響

## 3.2.1. 研究テーマ別被引用件数

加藤プロジェクトから発表された学術報告 15 件(邦文は除く)を対象とする 2005 年末までの被引用件数は 345 件、研究テーマ別の内訳は表 1 のとおりで、報文の数にも関係するが、ユビキチン様蛋白質 NEDD8 と WW ドメインを含む核内複合体の引用が全体の 85%を占めている。ただし被引用件数は論文の発表時期が後になるほど少なくなるから、表の数字はその点を考慮して受け取る必要がある。なお報文別の被引用件数については参考資料 1 を参照されたい。

また一報当りの被引用件数は NEDD8 に関するものが 81.7 件と圧倒的に多く、この研究に対する関心と評価の高さがうかがわれる。

	報文数	被引用件数	B/A
	Α	В	D/A
NEDD8 修飾経路	3	245	81.7
WWドメイン含有複合体	4	91	22.8
遺伝子免疫による抗体作製	2	14	7.0
糖鎖修飾	1	3	3.0

表 1 研究テーマ別に見たプロジェクト報文の被引用件数

ヒトリポソーム蛋白質	1	23	23.0
その他	4	19	4.8
計	15	345	26.3

被引用件数上位の個別 7 報文について、発表後の被引用件数年次推移をまとめたのが表 2、また発表年度を起点として累積値の年次推移(経過年)を図示したものが図 2 である。

表 2 被引用件数の年次推移(年度別)

番号	研究テーマ・内容	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
3	NEDD8(カリン4修飾)	3	22	14	8	11	15	15	8
8	NEDD8(全カリン修飾)		0	11	10	14	20	15	13
9	NEDD8(細胞調節制御)			2	11	22	15	18	8
5	WW ドメイン(新規蛋白質)		1	11	8	3	3	1	3
7	WW ドメイン(核内複合体)		0	8	7	3	2	5	4
12	ヒトリボソーム蛋白質					3	14	11	8
13	WW ドメイン(疾患との関係)					3	14	11	8

表中の番号は、参考資料1「プロジェクト報文リスト」のもの

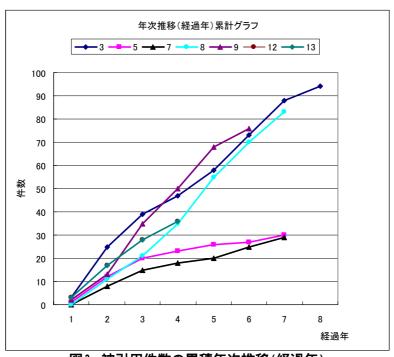


図2 被引用件数の累積年次推移(経過年)

やはり NEDD8 修飾経路に関する論文が長期にわたって引用され、しかもその数が年を追って増加の傾向にあることは注目に値する(一般には発表後 3-4 年でピーク達し、後は下降する)。 その学術的な価値が現在に至るまで維持されていることを示す。

## 3.2.2. 関連分野報文数の年次推移(プロジェクト期間との関係)

本プロジェクトを特徴付けるキーワードを選び、そのテーマを扱った全世界での報文数が、本 プロジェクトからの報文発表前後でどのように変化しているかを調査した。

図 3、図 4、図 5 はそれぞれ NEDD8、カリンおよび(NEDD8 + カリン)をキーワードに、報文数の年次推移を調べた結果である。NEDD8 やカリンに関する研究が、本プロジェクトの最初の発表(1998)以後急激に増加していることがわかる。とくに(NEDD8 + カリン)については本プロジェクトの発表がはじめてであり、以後の研究は何らかの形でそれに誘発された可能性が大きい。

WW ドメインを含む核内複合体についても、同様な結果を見ることができる(図 6)。それぞれの研究分野における本プロジェクトの影響力を示唆する結果である。

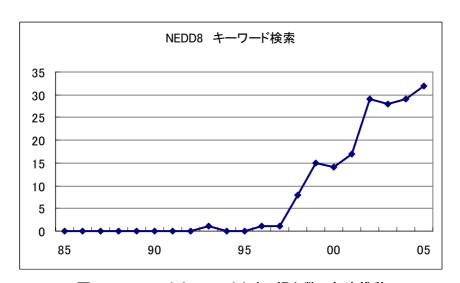


図3 NEDD8をキーワードとする報文数の年次推移

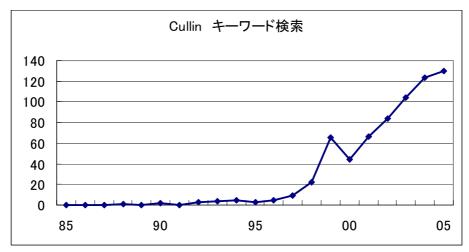


図 4 カリンをキーワードとする報文数の年次推移

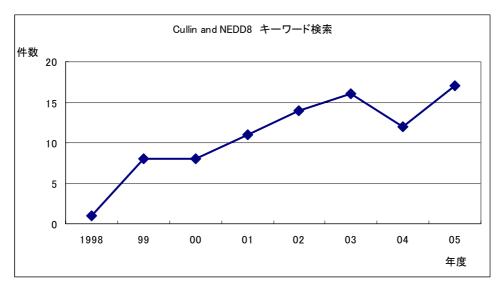


図 5 (NEDD8+カリン)をキーワードとする報文数の年次推移

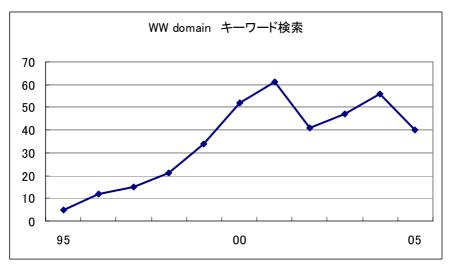


図 6 WW ドメインをキーワードとする報文数の年次推移

#### 3.2.3. 招待講演

- (1)Kato,S.: "The cytoprotein network project: Solving a protein jigsaw puzzle." Beyond the Human Genome Project from Genes to Proteins, San Francisco, June 9-10, 1997
- (2)加藤誠志: "遺伝子解析から蛋白質ネットワーク解析へ-蛋白質ジグソーパズルを解く"文部省重点領域研究,: 分子系超構造の設計・創成第5回全体会議、福岡,July3-4,1997,45
- (3) Kato,S.: "Synthesis of full-length cDNA using a DNA-RNA oligo-capping method. Full-Length DNA Cloning" A Workshop on Problems and Solutions, New York, March 22-25, 1998
- (4)加藤誠志: "ホモ・プロテイン cDNA バンク ゲノムとプロテオームの掛け橋", Amersham Pharmacia Biotech Symposium, 東京, May 18,1998,12-13.
- (5)Kato,S.: "Towards funcional analysis of human full-lemgth cDNA clones." Kazusa cDNA Workshop, Kisarazu, March 22-23,1999
- (6) 加藤誠志: "ゲノム·プロテオーム·創薬" 第 172 回有機合成化学懇談会「明日への創薬」, 東京, July 30,1999.
- (7) 加藤誠志: "完全長 cDNA バンクから蛋白質ネットワークへ 細胞周期制御に関わる NEDD8 経路の発見 - " 日本ロシュ,鎌倉, Oct.3,2000.
- (8)Kato,S.: "Homo-Protein cDNA bank bridging the gap between human genome and proteome", The 11th Korea Genome Conference, Seoul; 2002.8.22-23
- (9) 伊藤巧一: "パーティクルデリバリー法を用いた遺伝子接種による抗体産生および細胞傷害 T 細胞の誘導", 日本分子生物学会バイオテクノロジーセミナー、横浜 ; 1998

## 3.2.4. 表彰

加藤誠志: 平成 15 年度全国発明表彰発明賞(キメラオリゴキャッピング法)

#### 4. 研究成果の実用化例

## 4.1. 完全長 cDNA ライブラリー作製受託事業

プロジェクト終了後、総括責任者の手で開発された高効率・高収率完全長 cDNA クローン (ライブラリー) の作製法 (2.2.8) は、日立計測器サービス (株) と共同で事業化され、すでに 100 件以上の受注、2億円を超える売上を達成している。対象はヒトその他の特定種に限定されず、これまでに動物細胞以外の植物や昆虫細胞からも高品質 cDNA ライブラリーが作製され、多くの分野で遺伝子解析の研究に寄与している。特に試料として数  $\mu$ g 程度の全 RNA があれば十分という点で、微量サンプルしか入手できない昆虫などの組織からライブラリーを作る必要のある向きに利用され、高い評価を得ている。今後、ゲノム配列が決定された多くの生物種について様々の遺伝子機能解析が計画されることになろうが、これらのプロジェクトにおいて本技術が幅広く活用され、その都度作製された cDNA ライブラリーが遺伝子解析のために必要不可欠な出発材料になることが期待される。

## 4.2. 網膜色素変性症の展開

網膜色素変性症の原因遺伝子同定(2.2.9)により、病気治療への道が開けた。網膜細胞内の 変異蛋白質が疾患の原因なら、正常な遺伝子を導入して機能回復を図ることが可能になる。今 後の実用面での展開が期待される所以である。

#### 4.3. 遺伝子免疫法の実用化

- (1) 本プロジェクトで開発した遺伝子免疫法による抗体作製技術(2.2.6.)については、創薬に利用できる期待の下に国内外から大きい関心が寄せられており、担当研究者のところに照会や引き合いが相次いでいる。技術ノウハウをクラックス、スミスクラインなど海外各社に提供した例(東欧圏からの接触が多い)があり、プロジェクトの成果を応用した創薬のさきがけになる可能性もある。
- (2) 遺伝子免疫法を利用してキラーT 細胞 ワクチンを効率よく製造する研究も、国立感染症研究所予防医学研究室などで積極的に推進されている。この場合、キラーT 細胞を誘導するには分泌型の抗原が適している。この方向は予想外の展開であったが、うまく行けばワクチンづくりとして大規模な実用化につながる期待を持てる。

## 4.4. がん・糖尿病および脊髄小脳失調症の診断・治療への方向

本来、疾患原因遺伝子ないし疾患関連遺伝子の研究は、究極的には実用化を視野に入れた形で進められるものである。この意味で、本プロジェクトあるいはその展開で扱われたがん遺伝子産物 (2.2.4.(3)) や糖尿病メカニズム (2.2.4.(4))、さらに脊髄小脳失調症(3.1.4.)に関する諸研究は、成功の確率や実現の時期についてはテーマにより異なるにしても、将来病気診断・治療・創薬などの方向に進むことは必至で、今後の動向を注目したい。

## 4.5. NEDD8 修飾経路の応用

細胞周期の制御因子 SCF(ユビキチンリガーゼ)が機能発現するためには NEDD8 による修飾プロセスが必須という本プロジェクトの発見は、「細胞周期制御」のメカニズムを疾患遺伝子の機能に結びつけることで広く診断や治療の分野に適用できるものと考えられる。実際にカリン 4A/NEDD8 の結合と色素性乾皮症の遺伝子との関係を扱った研究も行なわれている。

## 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

プロジェクト終了後、4 人の研究員が海外の研究室(Yale 大学 / Northwestern 大学、Johns Hopkins 大学、Geneve 大学、Harvard 大学)へポスドクとして留学し、一定の成果をあげている。

## 5.2. 学位取得

該当者なし(参加研究者の大部分はポスドク出身者)

## 6. プロジェクトに関する内外からの意見

本プロジェクトの推進・運営状況や業績について内外から寄せられた意見を(アンケート記述分を含む)、プロジェクト全般、個別テーマ、総括責任者の3項目に分類し、さらにその内容を、肯定的、中間的、否定各レベルに分けて示した。

## 6.1. プロジェクト全般

#### 6.1.1. 肯定的意見

- ・早い時期にとト cDNA の全長塩基配列解析を目指し、「物質から機能へ」のスローガンを掲げて プロジェクトを立ち上げた意欲と先見性は高く評価できる。(外部7)
- ・研究の進め方や問題点の浮き彫りなどで、後のプロジェクトに大きい影響を及ぼした。(外部)
- ・V キャッピングは一般的、普遍的で使いやすく、究極の完全長 c-DNA 作製法である。波及効果も大きく、今後も広く利用されるであろう(外部)
- ・多くの有為な人材を育成した(外部)
- ・すぐれた先見性によりポストシーケンス時代の先駆的役割を果たした。(内部8)
- ·文科省(理研)、NEDO(産総研)の蛋白機能解析2大プロジェクトの背景となった。(内部)
- ·V キャッピング法の確立とそれによる事業化は高く評価できる。(内部)
- ・現在の目で見ても、加藤 cDNA ライブラリー中には使いたいクローンが多くある(内部)

## 6.1.2. 中間的意見

- ·ERARO の他のプロジェクトに比べて、テクノロジーの面でいい仕事をしたが、反面サイエンスの立場からはやや物足りない(外部)
- ・従来の ERATO プロジェクトと異なり、特許取得に重点を置いた実用化指向のスタンスを取った 点が特徴である。(内部)

## 6.1.3. 否定的意見

・自家製ライブラリーにこだわらず、より広い範囲から対象を選ぶべきだったし、その内容も膜型や

<sup>7</sup> ヒアリングに伺った外部評価者

<sup>8</sup> プロジェクト内研究員

分泌型に特化すべきだった。2,000 個の中から 3,4 のクローン生産物を調べただけでは十分活用 したとは言えない。(外部)

- ・蛋白質機能解析では成果が上がっていない。(外部)
- ・成果の量や報文数の点で、ERATO プロジェクトとしては対費用効果が小さすぎる。(外部)
- ・スローガンやコンセプトは斬新だったが、時期的に早すぎて十分な結果が得られなかった。(外部)
- ・たとえば解析するクローン数を増やすことなど、中間評価のアドバイスが取り込まれていない。 (外部)
- ・成果数や報文数が少ない。自分自身のライブラリーに限定したことが原因である。(内部)
- ・中途から NEDD8 や WW ドメインなど、それまでに成果の出ているテーマに集中して進めるべきだった。(内部)
- ・バンク作製以後の段階をどう進めるかが重要だが、その方法論がなかった。(内部)

内外ともにプロジェクトの先見性や、その後の国家プロジェクトに与えた影響が評価されている。 とくに内部からは、ポストシーケンス時代の先駆的役割を果たしたことを指摘する声があった。否 定的な面では、蛋白質機能解析で十分な結果が出ていない、成果の量や報文の数が ERATO の規模に対して物足りないなどの意見がある。

#### 6.2. 個別テーマ

## 6.2.1. 肯定的意見

- ・V キャッピング法は高収率・高品質の点で画期的な完全長 cDNA ライブラリーの作製法である。 対象を昆虫や植物まで拡大したことは大きい成果であった。(外部)
- ・NEDD8 のカリン修飾や WW ドメインを含む核内複合体はすぐれた成果といえる。(外部)
- ・糖鎖修飾もチャレンジングな試みであり、それなりの結果を出した。(外部)
- ・遺伝子免疫法による抗体作製もよい発想で、今後の展開が期待される。(外部)
- ·V キャッピング法は特筆すべき展開であり、完全長 cDNA ライブラリーの作製法として究極のものと思われる。(内部)
- ・網膜色素の結果は遺伝子治療につながる。(内部)
- ・遺伝子免疫法の今後の発展が注目される。(内部)
- ·NEDD8-カリン修飾経路や、WWドメインと相互作用するモチーフの発見もすぐれた業績である。

## (内部)

## 6.2.2. 中間的意見

- ・加藤総括責任者の cDNA へのアプローチは、ライブラリーの数を増やすことよりも品質の向上を第一義としているのが特徴である。(外部)
- ·2 ハイブリッド局在化法はトリッキーな方法だが、これだけでは生理的な効果と結びつかない(状況証拠になるだけ)。局在確認後の進め方が重要になる。(外部)

## 6.2.3. 否定的意見

- ・局在解析・動態解析・遺伝子免疫法などは本プロジェクトで新たに見出されたものではない。(外部)
- ·V キャッピング法は厚生労働省の資金で進めた結果であり(リハビリ研)、これを「ERATO プロジェクトの展開」と位置付けるのは問題がある。(外部)

内外ともにプロジェクト終了後に完成された "V キャッピング法"に対する評価がきわめて高い。 個別テーマでは、NEDD8 修飾経路や WW ドメインを有する核内複合体に関する成果が指摘され、遺伝子免疫法による抗体作製の今後に期待が寄せられている。

## 6.3. 総括責任者

## 6.3.1. 肯定的意見

- ・「物質から機能へ」の方法提唱や「ホモプロテインバンク構想」は時代を先取りする先見性があった。(外部)
- ・自らの手になる完全長 cDNA バンクだけを使って研究を進めるやり方を貫いたことが、結果として大きい成果につながった。(外部)
- ・プロジェクトの成果や V キャッピング法の業績により、評価はとみに高まっている。(外部)
- ・「物質から機能へ」のスローガンに先見性があった。(内部)
- ・完全長 cDNA の作製技術にかけては当時から最先端を行く研究者であった。(内部)
- ·V キャッピング法の業績で声価がさらに高まった。(内部)

#### 6.3.2. 中間的意見

·ERATO の他のリーダーがアカデミックな色彩の濃い先生が多いのに対し、加藤総括責任者は最初から実用化指向のスタンスを取るユニークなリーダーだった(一匹狼、職人肌などと呼ばれることもある)。(外部)

## 6.3.3. 否定的意見

- ·研究推進を「個人の自由」に委ねすぎてリーダーシップを十分発揮する場を作れなかった。(外部)
- ・リーダーの資質が拡散的に過ぎた結果、科学水準向上への寄与が小さかった。(外部)
- ・「物質から機能へ」は勇気ある発言だったが、一面では無謀さも伴っていた。またこの種の発想は、当時のこの分野の研究者なら誰でも持っており、とくに「先見性」の名に値しない。(外部)
- ・リーダーとして仕事を拡散すぎるきらいがあった。(内部)
- ・加藤総括責任者の情熱はもっぱら「完全長 cDNA ライブラリーつくり」に向けられていた感がある。 (内部)

ここでも V キャッピング法や、「物質から機能へ」の先駆的提言に対する評価が高い。反面、リーダーとして研究を拡散しすぎた、研究推進を個人の自由裁量にまかせた結果、十分なリーダーシップを発揮できなかった、との批判も出されている。

#### 7. 創造科学技術推進事業に関する意見

## 7.1. 事業の意義

## 7.1.1. 基本的性格

- (1) すでに成果が得られている研究を単に発展させる形ではなく、進んで新しい分野を開拓する研究を行なうところに ERATO 事業の根本的な意義がある(総括)。
- (2) ERATO は人間中心の事業であり、「個人へのファンディング」であるところに意義がある。この考え方は今後も残すべきと思う(外部)。
- (3) ERATO 以外のプロジェクトでは研究の考え方や方法が限定され、自由なアイディアが出に 〈いように思われる(内部)。
- (4) 科研費はいわば苗代のようなもの。あるところまで育ったら、たとえば ERATO で重点的にや らせるのがよい(外部)。

#### 7.1.2. 戦略指向について

- (1)「出口の見える研究」が望ましい(内部)。
- (2) 出口論にこだわるのはよくないが、多少は戦略目標的な思考も必要である(外部)。
- (3) 戦略目標の設定など、事業にややあいまいな部分も出てきた(外部)。

#### 7.1.3. テーマのあるべき姿

- (1) 当初からの、「失敗してもよいからユニークなものをやる」コンセプトを維持する限り、ERATO は存続させるべきである。その意味では、加藤プロジェクトはすぐれて ERATO 向きだったかもしれない(外部)。
- (2) ERATO は玉石混淆の感がある。生物関連では成功率は 20%くらいか。その点では、「壮大な無駄遣い」といえなくもない(むしろ、CREST やさきがけによいものが多い)(外部)。

## 7.1.4. 国家プロジェクトの一つの役割

- (1) 旧文部省系のプロジェクトがいずれもボトムアップ的に運営されているのに対し、経産省・厚生省・旧科技庁系のそれは、たとえば「理研や国研を支えるための資金注入」といった類の「政策的目標」につながるケースが多いようである(外部)。
- (2) たとえばゲノム研究のような新たな分野を開拓する場合、国家プロジェクトには、「そのための新しいパラダイム作り」を進める意味がある。すなわち現代のゲノムサイエンスやゲノムテクノロジーは単にゲノムを研究対象とするだけでなく、従来の研究とは全く異なったゲノム的研究の推進パターンや研究の枠組みがあって、それに沿った形で新たなパラダイムを構築する必要があり、国家プロジェクトはそのような役割も担っている。たとえば、基礎研究 技術開発 実用化研究を結ぶ有効なインフラストラクチャーを作り上げ、整備することが重要である(外部)。

## 7.2. 仕組み、運営面に関する意見

## 7.2.1. プロジェクトの選定

- (1) 合議制では最大公約数的な結果になりやすく、その場合 ERATO のテーマとしては時期的に遅すぎる(外部)。
- (2) プロジェクトの選び方に問題があり、はじめの選考から、とことん研究者の手で選ぶべきだろう(外部)。

#### 7.2.2. 総括責任者の選定

- (1) 推薦公募/合議制では、「無難なもの、隙間のないもの」は出てくるが、「予想外のとんでもなくよいもの」が突然飛び出す確率は小さい(外部)。
- (2)「全てが当たる必要はない」立場にたてば、トップダウン方式も有効と思う(外部)。
- (3)「この人でないとこの分野の研究はうまく進まない」という状況は現代ではなくなった(外部)。

#### 7.2.3. 評価システムについて

- (1) 評価する側に、「企業の人間、ないし企業マインドを持った人間」の入っていることが望ましい - とくに加藤プロジェクトのように実用化指向の強いものでは(内部)。.
- (2)「公平かつ正当に評価できる人材」の選定も重要な要因である(内部)。
- (3) 報文の数だけで評価する姿勢には問題がある。プロジェクトの特質を理解してほしい(内部)。
- (4) 研究成果の評価は、大所高所から、peer review の立場からの両面が必要である(外部)。

#### 7.2.4. 具体的運営の内容

- (1) 研究の場所、設備、人件費、消耗品費などから、現状の予算規模は必要と思う(総括)。
- (2) 場所は出来れば同一のところが便利である(総括)。
- (3) 計画修正・変更への柔軟な対応が有難かった(内部)。
- (4) 人材育成・研究環境・予算・処遇・福利厚生の各面でも全く問題なかった(内部)。
- (5) 自由な雰囲気の下に、自由な研究を推進できた。雑用が一切なく、研究に集中できたこともよかったと思う(内部)。
- (6) 研究者間のチームプレーがなく、完全独立の形で推進されたことには一長一短があった。ある段階で成果の上がった特定のテーマに複数の人間を配置していたら、より豊かな業績に結びついたであろう(内部)。

#### 7.2.5. その他

- (1) 問題の多いプロジェクトは途中で打ち切ることも考慮すべきである(外部)。
- (2) 失敗例が多くなると、真面目な研究者がやる気をなくし、「取り込むための術策」に精力を使う弊害が生じる(外部)。
- (3) プロジェクト終了 5 年後に追跡調査を実施することに意味があるか疑問に思う。終了後の展開は ERATO 以外の資金で運営されることが多い(外部)。

## 8. アンケート調査結果

今回の取材者の中、総括責任者を除く12名(プロジェクト参加者・外部有識者各6名)を対象に、3項目についてアンケート調査を行った結果を以下の図表に示した。

## 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〈寄与したと思われますか?

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	4	3	7
3.あまり寄与していない	1	1	2
4.寄与していない	1	0	1
評価(回答1を3として)	1.50	2.17	1.83

表3 設問1に対するアンケート結果

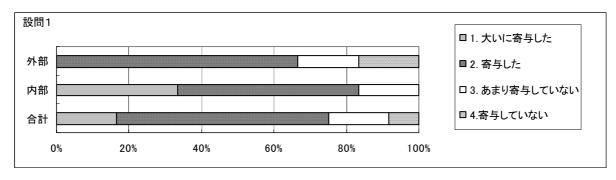


図7 設問1に対するアンケート結果

内外とも「寄与した」とする回答が過半数を占めているから、前向きの評価と解してよいであろう。 ただし外部からは「大きく寄与した」がゼロ、「寄与していない」も1/3あるから、特別に高いとも言えず、まずまずの評価というところか。内部研究者からも、「あまり寄与していない」が1票投じられているのが注目される。

## 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?

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	4	6
3.きっかけにはなった	3	1	4
4.切り開いていない	1	0	1
評価(回答1を3として)	1.17	1.67	1.42

表 4 設問2に対するアンケート結果

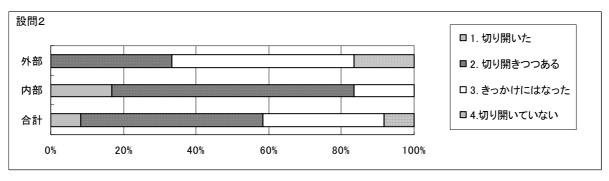


図8 設問2に対するアンケート結果

「切り開いていない」は外部の 1 票のみで、他はすべて貢献を認めている。しかし実際に「切り開いた」とするのは内部の 1 票だけだから、プロジェクトの成果自体が新分野開拓の実を結んだとは評価されておらず、今後の進展に期待が寄せられていると考えるべきである。

## 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: 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 5 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	1	4	5
3.大きな評価の向上は認められない	5	2	7
4.評価が下がった	0	0	0
評価(回答1を3として)	1.17	1.67	1.42

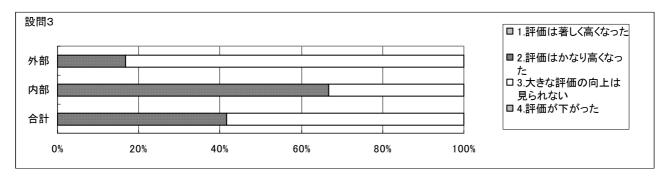


図9 設問3に対するアンケート結果

「評価が高くなった」と「向上は見られない」がほぼ拮抗しており、この点については毀誉褒貶相 半ばというところであろう。外部からは否定的な見解が強く、内部にも「向上が見られない」が 1 票 入っている。ただし、「評価が下がった」は内外を通してゼロとなっている。

もっとも最近の「V キャッピング法による完全長 cDNA ライブラリーの作製」の成果については、 内外ともその価値を認めているから、ここまで考慮に入れると評価の結果も大きく変るかもしれない。

# 9. 出典

# 9.1. 参考資料

## 1. プロジェクト報文リスト

No	書誌事項	被引用 件数
1	K.Kamemura, S.Kato, , "Detection of lectins using ligand blotting and polyacrylamide-type glycoconjugate probes.", Anal. Biochem. 258:305-310,1998.	3
2	NS.Kim, T.Yamaguchi, S.Sekine, M.Saeki, S.Iwamuro, and S.Kato,, "Cloning of human polyubiquitin cDNAs and a ubiquitin-binding assay involving its in vitro translation product.", J. Biochem. 124: 35–39,1998.	5
3	F.Osaka, H.Kawasaki, N.Aida, M.Saeki, T.Chiba, S.Kawashima, K.Tanaka, S.Kato, , "A new NEDD8-ligating system for cullin-4A.", Genes Dev. 12: 2263-2268,1998.	91
	M.Yokoyama-Kobayashi, T.Yamaguchi, S.Sekine, and S.Kato, , "Selection of cDNAs encoding putative type II membrane proteins on the cell surface from a human full-length cDNA bank.", Gene 228:161–167,1999.	9
5	A.Komuro, M.Saeki, and S.Kato,, "Npw38, a novel nuclear protein possessing a WW domain capable of activating basal transcription.", Nucl.Acids Res. 27:1957–1965,1999.	28
6	S.Iwamuro, M.Saeki, and S.Kato, , "Multi-ubiquitination of a nascent membrane protein produced in a rabbit reticulocyte lysate.", J. Biochem. 126:48–53,1999.	1
	A.Komuro, M.Saeki, and S.Kato,, "Association of two nuclear proteins, Npw38 and NpwBP, via the interaction between the WW domain and a novel proline-rich motif containing glycine and arginine.", J. Biol. Chem. 274:36513-36519, 1999.	27
8	T.Hori, F.Osaka, T.Chiba, C.Miyamoto, K.Okabayashi, N.Shimbara, S.Kato, and K.Tanaka, , "Covalent modification of all members of human cullin family proteins by NEDD8.", Oncogene 18:6829–6834, 1999.	80
9	F.Osaka, M.Saeki, N.Aida, A.Toh-e, K.Kominami, T.Toda, T.Chiba, K.Tanaka, and S.Kato,, "Covalent modifier NEDD8 is essential for function of SCF ubiquitin-ligase in fission yeast.", EMBO J. 19:3475-3484, 2000.	74
10	JK.Kim, R.Ryll, Y.Ishizuka, and S.Kato,, "Identification of cDNAs encoding two novel nuclear proteins, IMUP-1 and IMUP-2, upregulated in SV40-immortalized human fibroblasts.", Gene 257:327-334, 2000.	4
11	K.Ito, Y.Takeuchi, K.Ito and S.Kato, , "Strain-dependent antibody response induced by DNA immunization.", Immunol. Lett. 74:245–250, 2000.	11
12	M.Yoshihama, T.Uechi, S.Akasawa, K.Kawasaki, S.Kato, S.Higa, N.Maeda, S.Minoshima, T.Tanaka, N.Shimizu and N.Kenmochi, , "The human ribosomal protein genes: Sequencing and comparative analysis of 73 genes. ", Genome Res. 12:379–390, 2002	
13	H.Okazawa, T.Richi, A.Chang, X.Lin, M.Waragai, M.Kajikawa, Y.Enokido, A.Komuro, S.Kato, M.Shibata, H.Hatanaka, M.Mouradian, M.Sudol, and I.Kanazawa, , "Interaction between mutant ataxin-1 and PQBP-1 affects transcription and cell death.", Neuron 34:701-713, 2002.	33
14	K.Ito, K.Ito, N.Shinohara, and S.Kato, , "DNA immunization via intramuscular and intradermal routes using a gene gun provides different magnitudes and durations on immune response.", Mol. Immunol. 39:847–854, 2003.	3
15	H.Fan, K.Sakuraba, A.Komuro, S.Kato, F.Harada, and Y.Hirose,, "PCIF1, a novel human WW domain-containing protein, interacts with the phosphorylated RNA polymerase II.", Biochem. Biophys. Res. Commun. 301:378–385, 2003.	2

# 2. プロジェクト出願特許リスト

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	H10-182692	アミノ酸配列の表示方法	加藤 誠志	科学技術振興事業 団、 加藤 誠志	96/12/20	
2	H11-046766	ヒト核蛋白質とこの蛋白質 をコードするとト遺伝子 お よび(DNA	小室 晃彦 加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団、 加藤 誠志	97/07/31	
3	H11-046765	膜蛋白質のトポロジー決定 方法	小林 みどり 加藤 誠志	科学技術振興事業 団、 小林 みどり 加藤 誠志	97/07/31	
4	H11-332576	ヒト蛋白質hUbc12とこの 蛋白質をコードする cDN A	逢坂 文男加藤 誠志	科学技術振興事業団、 加藤 誠志	98/05/29	
5	2000-060562	ヒト転写関連蛋白質とこの 蛋白質をコードする(DNA	小室 晃彦 佐伯 美帆呂 加藤 誠志	科学技術振興事業 団、 加藤 誠志	98/08/21	
6	2000-197489	ドレブリン様配列とSH3ドメインを有するとト蛋白質とこの蛋白質をコードするCDNA	ローランド·リ ル 佐伯 美帆呂 加藤 誠志	科学技術振興事業団	99/01/07	
7	2001-037482	ビト蛋白質とc D N A [1]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	99/07/28	
8	2001-149075 (WO0138531)	WWドメインを有するヒト核 蛋白質とそれをコ・ドするC DNA	加藤 誠志 小室 晃彦 広瀬 豊	科学技術振興事業団	99/11/24	JP3593482 patent family7件
9	2001-161367 (WO0142302)	<b>ヒト蛋白質とcDNA[2]</b>	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	99/12/06	patent family11 件
10	2001-161368 (WO0142302)	ヒト蛋白質とc DNA[3]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	99/12/06	patent family11 件
11	2001-218585	ヒト核蛋白質とこれをコード するcDNA	加藤 誠志 金 鎮京 ローランド リ ル	科学技術振興事業団	00/02/08	
12	2001-218584 (WO0142302)	ヒト蛋白質とc D N A [ 4 ]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	00/02/08	patent family11 件
13	2001-224375 (WO0142302)	<b>ヒト蛋白質とc D N A</b> [5]	加藤 誠志 江口 睦志	科学技術振興事業団	00/02/10	patent family11 件
14	2001-224374 (WO0142302)	ヒト蛋白質とcDNA[6]	加藤 誠志 江口 睦志	科学技術振興事業団	00/02/10	patent family11 件
15	2001-224378 (WO0142302)	ヒト蛋白質とcDNA[7]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	00/02/14	patent family11 件
16	2001-224379 (WO0142302)	ヒト蛋白質とcDNA[8]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	00/02/14	patent family11 件
17	2001-327296 (WO0168885)	蛋白質 - 蛋白質相互作用 検出方法	加藤 誠志 江口 睦志 長田 直樹 大竹 美弥子	科学技術振興事業団	00/03/15	patent family 6件
18	2001-252083 (WO0142302)	ヒト蛋白質とcDNA[9]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂 江口 睦志	科学技術振興事業団	00/03/14	patent family11 件
19	2001-333781 (WO0142302)	ヒト蛋白質とcDNA[10]	加藤 誠志 佐伯 美帆呂	科学技術振興事業団	00/05/30	patent family11 件
20	再表 02/008416 (WO0208416)	遺伝子免疫による抗体作製法	加藤 誠志 長田 直樹 藤村 尚子 小林 みどり	科学技術振興事業団	00/08/24	patent family 5件

			伊藤 巧一石塚 芳子			
21	再表 02/008416 (WO020008416)	遺伝子免疫による抗体作製法	加長 藤 小 伊 石塚 勝	科学技術振興事業団	00/07/24	
22	2003-294750 (WO03083112)	細胞チップ作製方法と標 的蛋白質スクリーニング方 法	加藤 誠志 藤森 史江	科学技術振興事業団 国立身体障害者リハ ビリテーションセンタ 一総長	02/04/01	patent family 8件
23	2003-294736 (WO03083112)	蛍光蛋白質融合プローブ を用いたスクリーニング方 法	加藤 誠志 藤森 史江	科学技術振興事業 団、国立身体障害者 リハビリテーションセン ター総長、	02/04/01	patent family 8件
24	2003-289857	識別コード付き細胞集団	加藤 誠志 藤森 史江	科学技術振興事業 団、国立身体障害者 リハビリテーションセン ター総長	02/04/01	
25	2003-235577	膜局在化蛋白質を発現す る細胞の作製法	加藤 誠志藤森 史江	科学技術振興事業団、国立身体障害者 リハビリテーションセンター総長	02/02/18	

## 3. プロジェクト終了後の関連報文リスト

- 1. 亀村他, J.Biol.Chem. 277(21):19229-19235, 2002
- 2 . 亀村他 , Rpog.Nucleic Acid Res.Mol.Biol. 73:107-136 , 2003
- 3. 小室他, J.Biol.Chem. 278: 33334-33341, 2003
- 4 . 小室他 , Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101:4053-4058 , 2004
- 5. 大竹他, DNA Research 11:305-309, 2004
- 6.加藤他, DNA Research 12:53-62, 2005
- 7. 加藤他, Nephrology Dialysis Transplantation, in press.

## 4. プロジェクト終了後及び関連の出願特許リスト

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	特願 2003-091373 (WO2004087916)	CDNA 合成方法 METHOD OF SYNTHESIZING cDNA	加藤 誠志 木村 知子 大床 国世	国立身体障害者リハ ビリテーションセンタ 一総長、 日立計測器サービス (株)	03/03/28	patent family 3件
2	2003-504056 (WO0104297)	疎水性ドメインを持つヒト 蛋白質とそれをコードす るDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	99/07/08	patent family 5 件
3	2003-504021	疎水性ドメインを有すると	加藤 誠志	財団法人相模中央化	99/07/02	patent

	(WO0102563)	トプロテイン並びにそれを コードするDNA	木村 知子	学研究所、 株式会社プロテジー ン		family 5 件
4	2003-503054 (WO0100824)	疎水性ドメインを有するヒ トプロテイン及びそれをコ ードするDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	99/06/24	patent family 5 件
5	2002-522018 (WO0005367)	疎水性ドメインを有すると ト蛋白質およびそれをコ ードするDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/07/24	patent family 6件
6	2002-519016 (WO0000506)	疎水性ドメインを有すると ト蛋白質とそれをコードす るDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/06/26	
7	2002-518053 (WO9967399)	ヒトグリコプロテアー ゼ様 蛋白質およびそれをコー ドするDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/06/25	patent family 5 件
8	2002-517178 (WO9927094)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質並びにそれをコ ードするDNA	加藤 誠志 木村 知子 関根 伸吾	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	97/11/25	patent family6 件
9	2002-512797 (WO9955862)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質及びそれをコー ドするDNA	加藤 誠志	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	99/04/27	patent family 6 件
10	2002-512524 (WO9855508)	膜貫通ドメインを有するヒ ト蛋白質及びそれをコー ドするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 木村 知子	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	97/06/03	patent family7件
11	2002-506615 (WO9943802)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質とそれをコードす るDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 木村 知子 中村 修子	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/02/27	patent family6件
12	2001-522581 (WO9910490)	ヒトガレクチン - 9様蛋白 質およびそれをコードす るCDNA	加藤 誠志 木村 知子 関根 伸吾 鎌田 貢壽	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/08/19	patent family6件
13	2001-519155 (WO9918204)	分泌シグナル配列を持つ ヒト蛋白質およびそれをコ ードするcDNA	加藤 誠志 木村 知子 関根 伸吾 小林 みどり	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/10/05	patent family 6 件
14	2001-519154 (WO9918203)	膜貫通ドメインを有するヒ トタンパク質及びそれをコ ードするDNA	加藤 誠志 木村 知子 関根 伸吾 小林 みどり	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/10/05	patent family 6件
15	2001-519153 (WO9918202)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質及びそれをコー ドするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/10/05	patent family7件
16	2001-519152 (WO9918200)	ヒト補体因子 H 様蛋白質 およびそれをコードするC DNA	加藤 誠志 関根 伸吾	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/10/02	patent family 5 件
17	2001-519151 (WO9918199)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質をコードする(D NA	加藤 誠志 関根 伸吾	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	98/10/02	patent family7件
18	2001-508407 (WO9821328)	膜貫通ドメインを有すると ト蛋白質およびそれをコ ードするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 木村 知子	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー	96/11/13	patent family 7件

			小林 みどり	ン		
19	2001-506484 (WO9811217)	分泌シグナル配列を有す るヒト蛋白質およびそれを コードするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 木村 知子 小林 みどり	財団法人相模中央化学研究所、 株式会社プロテジーン	96/09/13	patent family 6 件
20	2001-506483 (WO9811215)	ヒト▲I▼型膜蛋白質およ びそれをコードするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 小林 みどり	財団法人相模中央化 学研究所、 株式会社プロテジー ン	96/09/13	patent family 6件
21	2001-516442 (WO033993)	ヒト膜抗原TM4スーパー ファミリー蛋白質およびそ れをコードするDNA	加藤 誠志 関根 伸吾 山口 知子	財団法人相模中央化 学研究所	96/03/15	