

生化学部門

Department of Biochemistry

本部門では、「哺乳動物細胞における突然変異の制御と DNA 複製の精度維持機構」を研究テーマに、(1) O⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT), (2) 8-oxo-dGTPase (MTH1) 遺伝子を中心とした哺乳動物細胞におけるミューテーター遺伝子ホモログの遺伝子並びに酸素の生化学的解析, 及び (3) Jun, Fos 蛋白質による細胞増殖制御機構の 3 つについて研究を進めている。

人事異動: 4月より臨床系大学院生一五十嵐久人(3内), 岩熊智雄(整外), 小田尚伸(1内), 富永洋平(1外), 武富紹信(2外)の5人が研究に加わった。4月1日付で生体防御医学研究所(別府地区)生殖生理内分泌学部門から出向中の西田純一が元の所属に復帰した。また7月1日付で白石明子が学術振興会の特別研究員に採用され, 12月1日より米国スタンフォード大学に1年間の予定で留学中である。8月末にはフルブライト研究留学生 David Hart が1年間の滞在を終えて帰国した。10月から中国政府派遣研究員として鄧征遂が研究に参画している。

A. 突然変異性を持つ DNA 中の O⁶-アルキルグアニンの特異的修復システム

a. アルキル化剤により誘発される突然変異の解析

アルキル化剤は DNA に作用して, その塩基やリン酸基にアルキル基を付加することにより, その生物活性を障害することが知られている。我々は, アルキル化剤による突然変異誘発の分子機構を明らかにする目的で, アルキル化 DNA の修復酵素を欠く大腸菌株を用い, アルキル化剤による誘発突然変異の頻度並びに変異のタイプにつき, *rpsL* (ストレプトマイシン耐性遺伝子) を標的遺伝子として用いて解析した。アルキル化剤のニトロソグアニジンやメチルメタンサルホン酸は GC→AT の変異のみを特異的に誘発することが知られている。これらアルキル化剤で DNA 中に生じるアルキル化塩基の中で, グアニンの O⁶位がメチル化された O⁶-メチルグアニンは, 正常な塩基対の相手であるシトシン(C) 以外にチミン(T) とも塩基対を形成できるからである。解析の結果は, 変異をもたらす塩基配列の変化はすべて GC→AT であり, また変異部位は *rpsL* 上にランダムに存在するのではなく, 数箇所の特定の位置 (ホットスポット) に局在することが分かった。更に DNA 修復系と転写の関連を明らかにする系を確立して詳細に解析した。

b. ヒト MGMT 遺伝子の研究

これまでの解析から, ヒト MGMT の mRNA は約 1 kb と小さく, 分子量約 25,000 の蛋白質

をコードしているが、その遺伝子はクローニングの結果150キロ塩基対以上にも及ぶことが明らかになった。ヒト MGMT 遺伝子は5つのエクソンからなり、そのプロモーター領域には TATA box がなく GC に富む配列が認められ、典型的な house keeping gene の特徴を有していた。

ヒトのがん細胞の約20パーセントは、MGMT を欠きアルキル化剤に高感受性であることから、この修復酵素の欠損と発がんの関連が注目されている。我々はヒト正常細胞及びヒト MGMT 欠損細胞（以下、Mer-細胞）から MGMT 遺伝子をクローニングし、その構造及び発現の制御機構に注目して解析を進めた。その結果、Mer-細胞では MGMT の mRNA は検出されず、また酵素も産生されていなかった。しかしながら、Mer-細胞の MGMT 遺伝子の構造及びプロモーターの活性はともに正常で、大きな変異は認められていない。ただ多くの Mer-細胞において、この MGMT 遺伝子の全領域にわたってシトシン残基の5位のメチル化が正常細胞の MGMT 遺伝子と比べて極端に減少していたことから、その表現型との関連が注目される。

c. マウス MGMT 遺伝子の研究

MGMT による突然変異生起の抑制、さらに発がん抑制における役割およびその効果を理解するには、MGMT 遺伝子欠損モデル動物を用いて突然変異生起や発がんの研究を行なうことが必須である。我々は、標的遺伝子組換えの手法により MGMT 遺伝子欠損マウスの作製を目指しており（次項参照）、これまでにマウス MGMT 遺伝子の cDNA およびプロモーター領域を含む染色体遺伝子を単離し解析した。その結果、マウス遺伝子もヒトの MGMT 遺伝子と基本的に同じ構造をもつことが明らかになった。

マウス MGMT について、その細胞内分布・組織レベルでの発現を解析する目的で、マウス MGMT に対するポリクローナル抗体を作製した。また cDNA を大腸菌内で大量に発現させて得られた酵素標品を精製し、酵素の詳細な生化学的な解析を進めている。酵素の生化学的な性質のうち、基質特異性と、MGMT 遺伝子欠損マウスにおける種々のアルキル化剤に対する感受性とを比較検討することにより、生体内での本酵素の真の生理的役割解明に迫れるものと考えている。

d. 動物個体レベルでの研究

従来分子遺伝学は、様々な生命現象を遺伝子の変異を手掛かりとして、遺伝子の構造・機能を知ることで発展してきた。ヒトを含む哺乳動物において、変異体の蓄積が限られていることが、個体レベルでの現像解析に大きな制約となってきた。この制約を克服するものとして、標的遺伝子組換えが登場した。この技法による研究は、培養条件下で生殖細胞系へ分化する能力を保持している胚性幹細胞（ES 細胞）を用いることに特徴がある。1980年代後半から急速に展開してきている標的遺伝子組換えを応用したマウス遺伝学の利点は、これまでのように偶然の産物である突然変異体を解析するのに比べ、研究者が注目している特定の遺伝子あるいは遺

伝子群について、系統的かつ計画的に変異体を作り出し、系を簡略化して解析することである。

我々はこれまでに、大腸菌の系を基にアルキル化剤に対する適応応答の分子機構を解明してきた。その結果、アルキル化剤によって DNA 中に生じた傷を修復する酵素として、O⁶メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼが大腸菌からヒトに至るまで生物界に広く存在しており、(1) この酵素を欠く培養細胞で大腸菌の酵素遺伝子を発現させることでその欠損を相補できること、(2) さらにトランスジェニック・マウスで大腸菌の酵素遺伝子を発現させる実験では、アルキル化剤投与に対する発癌の抑制効果が認められることを実証した。そこで、DNA の傷と突然変異および発癌の関連を明らかにし、その過程を分子レベルで解析する目的で、本年度から標的遺伝子組換えの手法により MGMT 遺伝子を欠損する変異細胞・変異マウスを作製する実験に着手した。

(1) 相同的組換えの頻度を上げるため、ES 細胞と同じ129系マウス由来の遺伝子ライブラリーから単離した MGMT 遺伝子の 5' 端領域を含む染色体 DNA クローンを使用し、ターゲティング・ベクターを構築した。ベクターの両端にはネガティブ選別用に 2 種類の HSV-TK 遺伝子を結合させ、また相同的組換えによって遺伝子を不活化し併せてポジティブ選択を行うため、第 2 エクソンの翻訳領域の中に G418耐性マーカー・カセットを挿入した。

(2) ターゲティング・ベクターをエレクトロポレーションにより ES 細胞へ導入後、GANC 存在下で G418耐性の細胞の DNA をサザンブロット解析によりスクリーニングし、目的とするクローンを選択した。現在ダブル・ノックアウトにより対立遺伝子の両方が不活化した細胞株（ホモ接合体）を確立する作業を行っている。また対立遺伝子の片方の遺伝子を不活化した細胞をマウスの胚盤胞に導入し、キメラマウスを経て変異マウス（ヘテロ及びホモ接合体）を得る操作を試みている。

標的遺伝子組換えを利用した MGMT 遺伝子の変異細胞・変異マウスの作製は、従来の研究方法では不可能だった、DNA 修復酵素遺伝子の発現異常・変異酵素の影響を、細胞レベルで詳細に解析かすることを可能にするだけでなく、直接個体レベルで発癌の分子機構と結び付けて解析する方向に発展できる系を提供する。すなわち DNA 修復酵素系を完全に欠損する細胞や個体での DNA 損傷・遺伝子の変異さらに分化・発生の異常としての発癌を解析することにより、直接実際に自然界で起こっている(1) DNA 損傷の程度(2) DNA に損傷を引き起こしている物質の特定(3) DNA 修復系の効率及び生物学的意義を解明できると考える。

B. 突然変異原性ヌクレオチド8-oxo-dGTP の特異的加水分解によるヌクレオチドプールの浄化

生命を支える必須の要素である酸素は、それ自身の高い反応性のため細胞の遺伝子 DNA 上に傷を生じ、突然変異や発がんさらには生体の老化に深く関わっていることが示唆されてきた。突然変異が発がんの第一義的な原因であることは、がん研究の最も基本的な概念の 1 つになっ

ているが、突然変異生成の分子機構については、これまで大腸菌のミューテーター遺伝子の研究を中心として進められてきた。中でも *mutT* 遺伝子はその遺伝子欠損により AT から CG へのトランスバージョンが特異的に引き起こされるミューテーターであり (*mutT⁻* 株では AT→CG トランスバージョンの頻度が約1,000倍上昇する), これまでの解析の結果大腸菌においては, *mutT* 遺伝子がコードする蛋白質はヌクレオチドプールにおいて, 変異原性が強い酸化型の8-oxo-dGTPを8-oxo-dGMPに加水分解する酵素: 8-oxo-dGTP分解酵素であることが明らかになった。我々はこれと同様な性質を示す蛋白質が哺乳動物においても存在することを見出し, ヒトの培養細胞から酵素を精製後, その部分的なアミノ酸配列を決定した。さらにこの情報を基にして, この酵素をコードするヒトのcDNAクローンを単離し解析した。これまでの研究の結果, 酸素による遺伝子DNA上の障害の中で, 活性酸素によって生じる8-オキソグアニンが自然突然変異の生起に大きく影響し, それを取り除く8-oxo-dGTPase等の酵素系が哺乳動物においてもDNA上の障害防止に極めて重要な役割を果たしていると思われる。

DNA中に存在するグアニンもまた酸化されて8-oxoGとなる。次の複製の際にも8-oxoGはシトシンのみならずアブニンと誤対合をおこすので, その結果GC→TAトランスバージョンが引き起こされることになる。大腸菌はそのような突然変異の生起を抑える機構として8-oxoGをDNAから取り除く酵素活性をもっている。最近の研究の結果, この酵素は元来フォルムアミドピリミジン (Fapy) をDNAからとり除くFapyグリコシラーゼ (FPG) として同定されたタンパクと同じものであることが明らかになった。その後の研究から, この酵素の遺伝子 *fpg* はGC→TAトランスバージョンをおこすミューテーターとして分離された *mutM* と同じものであることが明らかにされた。大腸菌には同じくGC→TAトランスバージョンをひき起こす *mutY* ミューテーターが知られている。MutYタンパク質は8-oxo-G:AおよびG:A塩基対に作用してアデニンを切り取るN-グリコシラーゼ活性をもつことが明らかにされた。GC→TAトランスバージョンの頻度は *mutM⁻* 株では野生株の約10倍, *mutY⁻* 株では約100倍となる。

活性酸素に伴うDNA上の傷と自然突然変異および発がんの関連を明らかにし, その過程を分子レベルで解明するには, DNA上の傷を排除・修復することができない変異細胞あるいは変異動物を用いる研究が必要と考えられる。ここで計画している標的遺伝子組換えを利用した8-oxo-dGTPase遺伝子 (MTH1遺伝子) の変異細胞・変異マウスの作製は, 従来の研究方法では不可能だった, DNA修復酵素遺伝子の発現異常・変異酵素の影響を, 細胞レベルで詳細に解析することを可能にするだけでなく, 直接個体レベルで発がんの分子機構と結び付けて解析する方向に発展できる系を提供する。すなわちDNA修復酵素系を完全に欠損する細胞や個体でのDNA損傷・遺伝子の変異さらに分化・発生の異常としての発がんを解析することにより, 直接実際に自然界で起こっている(1)DNA損傷のタイプ及びその程度(2)DNA修復系の効率及び生物学的意義を解明できると考える。このような研究は, 標的遺伝子組換えの手法を用いて始めて可能であり, 生命の維持に不可欠な遺伝子DNAの障害を防止する機構を細胞レベ

ル・個体レベルで研究することにより、生命現象の中でも最も基本的な遺伝情報の維持の分子機構を明らかにすることを通して、発がんさらには老化並びに活性酸素障害に起因する遺伝子病という医学の重要課題の解明に寄与することを目的としている。

a. ヒトの8-oxo-dGTP 分解酵素の解析

i) ヒトの8-oxo-dGTP 分解酵素の精製

大腸菌で明らかにされた特異的な突然変異抑制機構がヒトを含む高等生物の細胞中にも存在するかどうかを調べる目的で、哺乳動物の各細胞株・マウスの各種組織について酵素活性を検索したところ、T細胞性リンパ腫由来の Jurkat 細胞株に特に高い活性を認めた。Jurkat 細胞の抽出液から、4段階のクロマトグラフィーにより8-oxo-dGTPase 活性をもつ蛋白質を約400倍に精製した。この活性はゲル濾過で約18,000の分子量をもつ蛋白質に相当するピークとして溶出された。この部分精製標品は、8-oxo-dGTPを8-oxo-dGMPに加水分解する活性をもっているが、そのほかのdNTPに対してはごく低い分解活性しか示さなかった。Mono Q カラムで蛋白質を精製してきたフラクションをプールして、分子量約18,000付近を中心に蛋白質をゲルから溶出後、リジルエンドペプチダーゼにより蛋白質を分解し、各ペプチドのアミノ酸配列を決定した。得られたペプチドのアミノ酸配列の中で、ペプチド32に含まれる26個のアミノ酸のうち大腸菌の MutT 蛋白質と相同性の高い領域が存在するのを認めたので、この領域に対応する部分の59塩基対が増幅されるようなオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、以下の手順でヒトの cDNA クローンを単離した。

ii) ヒトの8-oxo-dGTP 分解酵素の cDNA クローン単離

Jurkat 細胞よりポリ A +RNA を抽出し、RT-PC 法により目的の59塩基対部分を増幅し塩基配列を決定した。この部分の塩基配列から推定されるアミノ酸配列は、前述のペプチド32のものと完全に一致したので、新たに2セットのプライマーを設定し、ヒトの cDNA ライブラリーから cDNA の 5' 側領域、3' 側領域を増幅し完全長の cDNA を単離するのを試みた。単離した cDNA は、ノーザンブロッティング法で調べた mRNA とほぼ同じ大きさ約850塩基に相当していた。8-oxo-dGTPase の cDNA のコーディング領域は471塩基対で、156個のアミノ酸をコードしており、開始コドン近傍には哺乳動物の翻訳開始領域に共通して認められる GACCATGG 配列 (Kozak のコンセンサス配列) が存在した一方 3' 非翻訳領域は144塩基対で、ポリ A の 15塩基対上流にポリ A 添加シグナル (AATAAA) を認めた。また精製した酵素より決定したペプチドのアミノ酸配列の全てが、単離した cDNA のコーディング領域内に同定できた。ヒトの 8-oxo-dGTPase のアミノ酸配列と大腸菌の MutT 蛋白質のアミノ酸配列を比較した結果、ヒトの 8-oxo-dGTPase は、大腸菌の MutT 蛋白質 (129個のアミノ酸) に比べて大きく、これら2つの蛋白質の間には相同性の高い領域が存在していた。この領域はヒトでは36番目から60番目、大腸菌では37番目から61番目のアミノ酸に対応し、25個のアミノ酸のうち15個のアミノ酸が一致していたことから、この領域が酵素の活性にとって、重要な部分であることが予想された。

iii) ヒトの cDNA クローンの大腸菌内での発現

クローン化したヒトの cDNA が、8-oxo-dGTPase の活性を有することを、大腸菌 *mutT⁻* 株内で cDNA を発現させることにより調べた。DEAE Bio GelA カラムで部分精製した標品を用いて調べた結果、ヒトの cDNA を発見させた大腸菌においてのみに酵素活性が検出できた。更にこの菌における自然突然変異の出現を調べた結果は、ヒトの cDNA がコードする 8-oxo-dGTPase が、大腸菌内で突然変異の頻度を減少させていることを示した。以上の結果、今回単離したヒトの cDNA がコードする 8-oxo-sGTPase が、ヌクレオチドプールの中から異常塩基である 8-oxo-dGTP を取り除くことにより、DNA 損傷を防止し遺伝情報維持に重要な役割を果たしているものと考えられる。

iv) ヒトの 8-oxo-dGTP 分解酵素の遺伝子の解析

クローン化したヒトの cDNA をプローブとして、ヒト遺伝子ライブラリーから 8-oxo-dGTP 分解酵素の遺伝子 (hMTH1) を単離し構造解析を行った。その結果、ヒトの MTH1 遺伝子は染色体上に約 9 キロ塩基対にわたって存在し、少なくとも 4 個のエクソンから成ることが明らかになった。また、北海道大学の理学部染色体研究施設との共同研究で、この遺伝子の染色体上の位置も明らかとなった。

b. 動物個体レベルでの研究

酸素ラジカルに伴う DNA 損傷と自然突然変異及び発がんの関連を明らかにし、その過程を分子レベルで解明するには、8-oxo-dGTPase の遺伝子を欠損した変異細胞・変異動物を用いることが必要と考えられる。この目的のために、標的遺伝子組換え (ジーン・ターゲティング) の手法により 8-oxo-dGTPase を欠損した細胞を樹立し、この細胞をマウスの胚盤胞に導入することで、キメラマウスを経て変異マウスを作製する研究に着手した。その後欠損個体における種々の生物学的指標や突然変異率・発がん率の検討を行うことを予定している。

i) マウスの cDNA クローン及び染色体 DNA 領域の単離

ヒトの cDNA をプローブとしてノーザンブロットング法により、マウスの培養細胞 (線維芽細胞及び ES 細胞) から抽出した RNA 中に 8-oxo-dGTPase のメッセージを確認した。そして、ES 細胞由来の cDNA ライブラリーおよび遺伝子ライブラリーから単離したマウスのクローンにつき構造解析を行った。

ii) ターゲティング・コンストラクトの作製

ポジティブ・ネガティブ選別を適用するために、ターゲティング・コンストラクトの両端にはネガティブ選別用の 2 種類の HSVTK 遺伝子を結合させ、またポジティブ選別用には ES 細胞で発現するように構築された G418 耐性マーカー・カセットを 8-oxo-dGTPase のコーディング領域に挿入するタイプのターゲティング・ベクターを構築した。

iii) 8-oxo-dGTPase の遺伝子を欠損した変異細胞の確立

ES 細胞 (CCE 細胞株) へ上記ターゲティング・コンストラクトをエレクトロポレーション法により導入し, G418耐性細胞の中から目的とする細胞クローンを単離した. 得られた細胞株 (ヘテロ接合体) は更に対立遺伝子の両方を不活化する (ホモ接合体の作製) 実験に使用している. この目的には, G418の濃度を上昇させた時に得られる高濃度耐性細胞をスクリーニングする方法をとった. このようにして得られるホモ接合体の細胞株について, 正常細胞・ヘテロ接合体細胞と比較して *hprt* 遺伝子座での突然変異率 (6-TG 耐性コロニーの出現頻度) や変異の種類を解析を行っている.

iv) 8-oxo-dGTPase の遺伝子を欠損した変異マウスの作製

このようにして得られた ES 細胞株 (ヘテロ接合体) をマウスの胚盤胞に導入することで, キメラマウスを経て変異マウス (ヘテロ接合体) を作製した. 更にヘテロ接合体同士の掛け合わせにより, 現在ホモ接合体の作製を試みている.

このような個体についての研究は, これまで不可能であった自然突然変異の生起をコントロールするシステムの意義を明確にするものと考えている. ここでは現在のところ最も研究の進んでいる *mutT* 遺伝子について述べたが, *mutM* や *mutY* に対応する哺乳動物の遺伝子の解析も同様の方法で進めることができると考えられ, 現在鋭意取り組んでいる. またそれぞれの対応するヒトの遺伝子の分離は, 高発がん性遺伝病の解析などヒトの病気と直接関連する問題にも有用な手段を提供することになるであろう.

C. 核内プロトオンコジーンによる DNA 複製と修復遺伝子発現の調節

核内プロトオンコジーン産物 Jun 蛋白質はヘテロダイマーを形成し, AP-1結合配列 (TGAC TCA) に結合する. Jun 及び Fos 蛋白質の構成的な発現は細胞の癌化を引き起こすことから, AP-1配列を有する細胞増殖促進遺伝子のプロモーターに Jun/Fos 蛋白質ヘテロダイマーが結合し, その発現を促進することにより細胞の癌化をもたらすと考えられてきた. しかし, 近年 Jun 及び Fos 蛋白質は遺伝子転写調節のみならず, ウイルス DNA の複製を促進的に制御する事が報告された. このことから, 我々は Jun 及び Fos 蛋白質が細胞のゲノム複製を直接制御している場合もあるのではないかと考えた. この仮説を検討する目的で, Fos ファミリーの 1 つである FosB 及び Δ FosB 遺伝子を薬剤により任意に誘導発現できるシステムを構築した. 即ちヒトエストロゲンレセプターとの融合蛋白質として FosB と Δ FosB 遺伝子を発現させるシステムを構築した. この時いずれの融合蛋白質もエストロゲン存在下でのみ核に移行し機能を発現できる筈である. 実際この融合蛋白質を発現する Rat-1A 細胞を血清飢餓下, 休止期に同調し, エストロゲン刺激により融合蛋白質を活性化させたところ, 細胞は DNA 複製を開始し, 30時間後には 1 回の分裂を完了した. この結果は, FosB と Δ FosB 蛋白質のいずれもがゲノム DNA の複製を制御している可能性を強く示唆する. 今後, このシステムを用いてゲノム複製の調

節機構を解析したいと考えている。

また我々が分離した MGMT 遺伝子のプロモーターには AP-1 結合配列が複数存在することが明らかになった。このような遺伝子の発現調節に Jun もしくは Fos 蛋白質がどのように関与するのか、上記の conditional expression のシステムを用いて解析を行いつつある。

原著論文

1. Nakatsu, Y., Hattori, K., Hayakawa, H., Shimizu, K. and Sekiguchi, M. 1993.
Organization and expression of the human gene for O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase.
Mutation Res. 293, 119-132.
2. Sakumi, K., Igarashi, K., Sekiguchi, M. and Ishihama, A. 1993.
The Ada protein is a class I transcription factor of *Escherichia coli*.
J. Bacteriol. 175, 2455-2457.
3. Sakashita, H., Sakuma, T., Ohkubo, T., Kainosho, M., Sakumi, K., Sekiguchi, M. and Morikawa, K. 1993.
Folding topology and DNA binding of the N-terminal fragment of Ada protein.
FEBS Letters 323, 252-256.
4. Nakabeppu, Y., Oda, S. and Sekiguchi, M. 1993.
Proliferative activation of quiescent rat-1A cells by Δ FosB.
Mol. Cell. Biol. 13, 4157-4166.
5. Nakatsuru, Y., Matsukuma, S., Nemoto, N., Sugano, H., Sekiguchi, M. and Ishikawa, T. 1993.
O⁶-Methylguanine-DNA methyltransferase protects against nitrosamine-induced hepatocarcinogenesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 6468-6472.
6. Sakumi, K., Furuichi, M., Tsuzuki, T., Kakuma, T., Kawabata, S., Maki, H. and Sekiguchi, M. 1993.
Cloning and expression of cDNA for a human enzyme that hydrolyzes 8-oxo-dGTP, a mutagenic substrate for DNA synthesis.
J. Biol. Chem. 268, 23524-23530.

総 説

1. 中別府雄作. 1993.
fosB と細胞増殖.

- 実験医学, 11, 1796-1803.
2. 中別府雄作. 1993.
細胞増殖と転写調節.
Mebio, 11, 84-90.
3. 績 輝久, 五十嵐久人. 1993.
Hox 遺伝子変異マウス.
バイオメディカ, 8, 1121-1127.

学会発表

1. Fukuhara, M., Nakabeppu, Y. and Sekiguchi, M. (1993, 1/12-1/15)
Expression of O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene in various cell lines derived from human tumors.
The Second Asian Conference on Transcription, Cheju, Korea.
2. Furuichi, M., Sakumi, K. and Sekiguchi, M. (1993, 1/12-1/15)
Regulatory elements for expression of the *alkA* gene in response to alkylating agents.
The Second Asian Conference on Transcription, Cheju, Korea.
3. 関口睦夫. (1993, 1/22)
DNA 修復酵素と突然変異の抑制.
遺伝子損傷と突然変異の分子基盤シンポジウム, 岡山.
4. Tsuzuki, T. (1993, 2/1-2/5)
The O⁶-alkyltransferase gene.
Mammalian DNA Repair, Gordon Research Conference, Ventura, CA, U.S.A.
5. 関口睦夫. (1993, 2/5)
発癌における DNA 修復と突然変異の制御.
平成 4 年度がん特合同シンポジウム 東京.
6. Sekiguchi, M. (1993, 2/21-2/26)
Molecular mechanisms for preventing mutations due to oxidation damage.
6th International Conference on Environmental Mutagens, Melbourne, Australia
7. 関口睦夫. (1993, 3/22-3/23)
突然変異をコントロールするタンパク質.
基生研ワークショップ「DNA ダイナミックス」, 岡崎.
8. Sekiguchi, M., Ihara, K. and Chueh, L-L. (1993, 5/10-5/11)
Structure-function relationship of DNA repair enzymes that recognize specific DNA lesions.

5th Annual Meeting of the Protein Engineering Society of Japan, Kyoto.

9. 績 輝久. (1993, 6/21)
標的遺伝子組換えによる変異マウスの作製へ向けて.
大阪大学遺伝情報実験施設シンポジウム'93, 大阪.
10. Sekiguchi, M. (1993, 6/23-6/27)
Mechanisms for prevention of incorporation of 8-hydroxy-dGMP residues into DNA.
European Research Conference on Mechanisms of DNA Repair. Oxidative Damage,
Oslo, Norway.
11. Sekiguchi, M., Natatsu, Y., Shiraishi, A., Ishibashi, T., Fukuhara, M., Nakabeppu, Y. and Hayakawa, H. (1993, 9/2-9/4)
Human and mouse O⁶-methylguanine-DNA methyltransferases and their genomic structures.
Japaness-German 4th Workshop on Molecular and Cellular Aspects of Carcinogenesis.
Essen, Germany.
12. Nakabeppu, Y., Oda, S., Nishida, J. and Sekiguchi, M. (1993, 9/8-9/12)
Proliferative activation of quiescent rat-1A cells by Δ FosB that lacks the trans-activation capacity.
Cold Spring Harbor Meeting on Eukaryotic DNA Replication. Cold Spring Harbor,
NY, U.S.A.
13. 古市正人, 作見邦彦, 績 輝久, 加隈哲也, 川畑俊一郎, 真木寿治, 関口睦夫. (1993, 9/17-9/19)
変異原性ヌクレオチド8-oxo-dGTPを分解する酵素のヒト cDNA の単離と解析.
第65回日本遺伝学会大会, 三島.
14. 真木寿治, 秋山昌広, 関口睦夫, Arther Krnberg. (1993, 9/17-9/19)
oriC プラスミド試験管内 DNA 複製系における突然変異の解析.
第65回日本遺伝学会大会, 三島.
15. 井原健二, 関 玲玲, 中村崇規, 早川 浩, 関口睦夫. (1993, 10/5-10/7)
O⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼのメチル基受容部位周辺のアミノ酸置換ミュータントタンパク質の作製と解析.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
16. 中別府雄作, 織田信弥, 西田純一, 関口睦夫. (1993, 10/5-10/7)
fosB による細胞増殖制御.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
17. 田尻達郎, 真木寿治, 関口睦夫. (1993, 10/5-10/7)

- 8-オキシグアニンに起因する自然突然変異。
第52回日本癌学会総会，仙台。
18. 續 輝久，作見邦彦，古市正人，加隈哲也，川畑俊一郎，真木寿治，関口睦夫。(1993, 10/5-10/7)
変異原性ヌクレオチドを排除する酵素，8-オキシ-デオキシグアノシン三リン酸分解酵素のヒト cDNA の単離と解析。
第52回日本癌学会総会，仙台。
19. 伊山明宏，作見邦彦，中別府雄作，関口睦夫。(1993, 10/5-10/7)
ラビット O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ cDNA のクローニングと解析。
第52回日本癌学会総会，仙台。
20. 能見貴人，中別府雄作，金澤 浩。(1993, 10/5-10/7)
2つの Fos/JunB 転写調節因子による活性化 *H-ras* に応答したストロメリシン遺伝子の発現誘導機構。
第52回日本癌学会総会，仙台。
21. 田中 誠，中別府雄作，遠藤 剛。(1993, 10/20-10/22)
SV40largeT による筋細胞分化阻害と脱分化の過程における *jun* ファミリーと *fos* ファミリーの誘導。
第46回日本細胞生物学大会，前橋。
22. 関口睦夫。(1993, 10/21-10/23)
人類遺伝学への分子生物学的アプローチ。
第38回日本人類遺伝学会大会，東京。
23. Sekiguchi, M. (1993, 11/9-11/13)
Enzymic mechanisms for preventing mutations caused by oxygen radicals.
AACR-IARC Symposium on Interactions of Cancer Susceptible Genes and Environmental Carcinogens, Lyon, France.
24. Furuichi, M., Sakumi, K., Tsuzuki, T., Kakuma, T., Kawabata, S., Maki, H. and Sekiguchi, M. (1993, 11/9-11/13)
Cloning and expression of cDNA for a human enzyme that hydrolyzes 8-oxo-dGTP, a mutagenic substrate for DNA synthesis.
AACR-IARC Symposium on Interactions of Cancer Susceptible Genes and Environmental Carcinogens, Lyon, France.
25. 岩熊智雄，白石明子，福原正生，関口睦夫。(1993, 12/10-12/14)
マウスの O⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子のプロモーター領域

の解析.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.

26. 織田信弥, 中別府雄作, 関口睦夫. (1993, 12/10-12/14)

△FosB タンパク質による細胞周期制御遺伝子群の発現制御.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.

27. 真木寿治, 伊藤隆康, 中村崇規, 関口睦夫. (1993, 12/10-12/14)

アルキル化剤による突然変異誘発に及ぼす転写の影響.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.

28. 加隈哲也, 續 輝久, 古市正人, 関口睦夫. (1993, 12/10-12/14)

変異原性ヌクレオチドを排除する8-oxo-dGTPaseのマウス cDNA の単離と解析.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.

29. 早川 浩, 武富紹信, 作見邦彦, 桑野信彦, 関口睦夫. (1993, 12/10-12/14)

突然変異の原因となる酸化ヌクレオチドの排除機構.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.

30. 坂下日登志, 大久保忠芳, 佐久間孝彦, 甲斐荘正恒, 関口睦夫, 森川耿右. (1993, 12/10-12/14)

大腸菌 Ada タンパク質のメチル化による構造変化.

第16回日本分子生物学会年会, 千葉.