

細胞学部門

Department of Molecular and Cellular Biology

細胞学部門の構成員は教授 勝木元也，助教授 谷口俊一郎，助手 貞野宏之（休職中），事務官 木村美保子の4名のスタッフに加え，前年度からの6名の院生，田中秀欣，伊藤健一，細川 哲，山口浩雄，伊勢和宏，塩山善之，特別研究院生として砂原昭一（鹿児島大学院医学系），研究員として三好 淳（阪大助手）と4月から院生として加わった井上琢哉，古恵良桂子である．11月に米国マサチューセッツ工科大学がん研究所から饗場 篤が助手として着任した．前年度からの日本クレア（株）外丸裕介，石崎宏好に加え，新たに九動（株）から本田正治，鶴井和孝，大塚製薬（株）から高野雅明，谷口吉弘，三共から高市康博が発生工学の研修を行った．研究補助員，室井佐和子，横山俊子に加え4月から牟田晴美が発生工学を行う研究室に協力した．助手貞野宏之は，米国に留学中．院生黒木りえは学位を取得し，本学皮膚科学教室に戻り，宮戸健二は，東海大学医学部の研究員として就職し，呉 啓貴は，別府生医研の秋吉 毅教授のもとで臨床研修を行うことになった．また，理学部4年生の山下達也が卒業研修を行った．

A. 発生工学を利用した生体機能の研究

発生工学は遺伝子操作を自在に施したマウス個体を作成することに始まる．本年度は，ようやく研究室の体制も整い，発生工学実験施設と共同で研究を行った．

a. P53ノックアウトマウスの悪性リンパ腫発生制御の抑制（田中秀欣，権藤洋一，中尾和貴，中村健司，谷口俊一郎，勝木元也）

がん抑制遺伝子P53のノックアウトマウスを，新しく開発した標的遺伝子置換法によって作成した．P53遺伝子の異常は，ヒトの多くの悪性腫瘍で高頻度に検査され，大腸がんや肺がんが多い．しかしこのノックアウトマウスは，悪性リンパ腫を多発する．

そこで，このノックアウトマウスを用いて，リンパ球細胞のみで野生型P53遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの作成した．目的はP53ノックアウトマウスにおいて，1）野性型P53遺伝子をリンパ球で発現させれば，悪性リンパ腫発生が抑制できるか，2）その場合新たに悪性リンパ腫と異なる組織型腫瘍が発生するか，の2点を検証するためである．

野生型P53遺伝子を免疫グロブリン重鎖エンハンサーの支配下にリンパ球のみで発現する様に導入遺伝子を構築した．これをP53ノックアウトマウス受精卵に導入し，8系統のトランスジェニックマウスを得た．導入遺伝子がリンパ球で発現された結果，悪性リンパ腫で死亡するマウスは急減した．一方，血管肉腫，グリオーマ，肉腫など，組織型の異なる腫瘍が発生した．

b. マウス P 53 遺伝子コドン 248 のヒト型への標的置換 (細川 哲, 権藤洋一, 中村健司, 中尾和貴, 伊藤健一, 田中秀欣, 勝木元也)

種々のヒトがん細胞から P 53 遺伝子の突然変異が高頻度に検出され, 細胞増殖におけるこの遺伝子の役割が最近注目されている. ヒト癌細胞で検出される変異は, 種間で高度に保存されている領域に認められ, いくつかの特定アミノ酸残基に偏りがあることが知られている. このようなアミノ酸残基の一つであるコドン 248 はアルギニンをコードしており, ヒトでは CGG, マウスでは CGC である. ヒトのがん細胞に認められるコドン 248 の変異は CGG (Arg) → TGG (Trp) であるが, マウスではコドン 248 の同様な変化は CGG (Arg) → TGC (Cys) となり, 異なったアミノ酸へと変化する. このことが, ヒトとマウスの発がん機構の差に関与している可能性がある. そこで 1) コドン 248 の変異の種類と発がんとの関係, 2) ヒトとマウスにおけるコドン 248 の違いが発がんの組織特異性に与える影響を調べることにした. そのために, マウス P 53 遺伝子のコドンをヒト野生型 CGG とヒトがん認められる TGG に置換した遺伝子を構築した. この遺伝子を用いて, 標的遺伝子置換法により, ヒト型 P 53 遺伝子をもつマウスの作成とトランスジェニックマウスの作成を行った.

c. Eco-gpt 遺伝子を用いた遺伝子置換法の開発 (伊藤健一, 中村健司, 中尾和貴, 権藤洋一, 三好 淳, 勝木元也)

二段階の相同組換えにより, 選択マーカーを残さず標的遺伝子を任意の塩基配列に置換した ES 細胞の単離法を開発した. 第一段階で標的遺伝子に neo^R と HSV-tk 遺伝子カセットが導入された G 418 耐性細胞を選択する. 二段階目でカセット部分が失われたガンシクロビル (GANC) 耐性細胞を選択し, 標的遺伝子を目的の塩基配列と置換する. 既にこの方法で我々はマウス ES 細胞の P 53 遺伝子を lacZ 配列に置換することに成功しそのマウス個体も得られた. しかし GANC 選択による二段階目の標的置換の効率が低かったので現在改良を試みている. 今回, HSV-tk に代わる遺伝子として Eco-gpt を検討した. HPRT 遺伝子欠損細胞は 6-チオグアニン (6 TG) 耐性であるが, これに Eco-gpt 遺伝子を導入すると 6 TG 感受性となる. そこで HPRT 遺伝子欠損細胞に Eco-gpt 遺伝子を導入し, 第二段階に Eco-gpt 遺伝子が目的の遺伝子と置換されると再び 6 TG 耐性となることを利用する. まず ES 細胞 CCE 株を 6 TG で選択し, HPRT 欠損した株 CCH を得た. CCH 細胞株の P 53 遺伝子に neo^R と gpt 遺伝子カセットを導入した細胞を 9 クローン得た. これを用いて二段階目の標的置換を行い, ヒト型 P 53 遺伝子を単離した.

d. H-ras 遺伝子欠損マウス (三好 淳, 伊勢和宏, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也)

ras 群遺伝子はその変異が発がんに関与するだけでなく, 正常細胞の増殖や分化のシグナル伝達においても重要な役割を果たしていると考えられている. しかし個体細胞における発現の

調節や組織特異性などについては不明な点が多い。我々は ras 遺伝子の個体レベルでの機能を解析するため H-ras 遺伝子欠損マウスの作成を試みた。三好、伊勢の両名は、未だクローン化されていなかったマウス H-ras ゲノム遺伝子を、v-H-ras をプローブとしマウス 129sv/J ゲノムライブラリーから 2 個のクローンを得ることに成功した。このクローンのエクソン部分を中心に全塩基配列を決定した。標的遺伝子組換えにはジフテリア毒素 A 断片 (DT-A) 選択法を採用した。

つぎに、ゲノム遺伝子を使い、エクソン I から V までを含む領域を neo^R 遺伝子に置換し、選択遺伝子として 3' 端に DT-A 遺伝子を組み込んだターゲティングベクターを ES 細胞に導入し、相同組換えを起こしたクローンを得た。これを用いてキメラマウスを作成し、ヘテロ型の子孫が得られたことを確認した。ヘテロ型マウスは、野生型マウスと比べて外観的にはまったく差異が認められなかった。さらにヘテロ型マウス同士を交配し、ホモ型マウスを作成したが、明らかな異常は認められなかった。

e. N-ras, K-ras 遺伝子欠損マウス (古恵良桂子, 三好 淳, 勝木元也)

培養細胞を使った実験から推定された ras 群遺伝子の機能は、発がんに関与するだけでなく、正常細胞の増殖や分化のシグナル伝達においても重要な役割を果たしていると考えられている。しかし個体細胞における発現の調節や組織特異性などについては不明な点が多く、H-ras 遺伝子欠損マウス (ヘテロ型) は、野生型マウスと比べて外観的にはまったく差異が認められなかった。そこで H-ras 遺伝子欠損マウスに続き、N-ras および K-ras 遺伝子欠損マウスの作成を試みた。N-ras は第 0 エクソンより第 2 エクソンを、K-ras は第 1 エクソンをそれぞれ neo 遺伝子と置き換えたターゲティングベクターを作成し、選択遺伝子として 3' 端に DT-A 遺伝子を組み込んだ。今後この遺伝子を用いてターゲティングを行い、さらにはキメラマウスを作る予定である。

f. ドーパミン受容体欠損マウスの作成 (山口浩雄, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也)

ドーパミンは、神経伝達物質の一つであり、さまざまな神経の活動に重要な役割を果たしている。また、パーキンソン病、分裂病、アルコールや薬物に対する依存等とドーパミン受容体との関係が注目されている。これまでに、ドーパミン受容体は D 1 ~ D 5 の 5 種の受容体に分類され、遺伝子が単離されている。また、それぞれの脳内分布が異なることも知られている。

我々は、個体レベルにおけるドーパミン系ニューロン機能の解析のため、D 2 ドーパミン受容体欠損マウスの作成を試みた。129sv/J マウスゲノム DNA ライブラリーより、D 2 ドーパミン受容体遺伝子を単離した。ポジティブ、ネガティブ選択法を採用し、3' 末に HSV-tk 遺伝子を含む、全長約 10kb のターゲティングベクターを構築した。エレクトロポレーションにより、ターゲティングベクターを ES 細胞に導入し、サザンブロット解析により、相同組換

えを起こしたD2ドーパミン受容体遺伝子欠損ES細胞を選択した。得られたD2ドーパミン受容体遺伝子欠損ES細胞の効率は、他の遺伝子とほぼ同等であった。これらの細胞を正常マウスBDF1の胚盤胞に注入し、キメラマウスを作り、D2ドーパミン受容体遺伝子欠損マウスを作成した。

g. インプリンティング (砂原昭一, 権藤洋一, 勝木元也)

理研林崎グループによって見出されたインプリンティング遺伝子 spot 2 (U2 afbp-rs) は、従来にないユニークなものである。そのインプリンティングの様式とメチル化の機構を知るには、遺伝子を単離し、それを遺伝子置換法によって種々の標識や種々の部位に置き換え、個体の生殖細胞を通していかなる塩基と部位がメチル化されるかを検討する必要がある。

そこでまず、spot 2 を遺伝子置換法によって他の遺伝子の位置に置き換えるための準備を行った。

h. セロトニン受容体 (荒木栄一, 三好 淳, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也)

セロトニン受容体1B (5HT1B) に対する薬理作用は、ヒトとマウスで異なっている。ヒトの第355番アミノ酸スレオニンが、マウスの相同部位ではアスパラギンであって、1アミノ酸の相違がアンタゴニストやアゴニストとの結合定数を100倍以上異なっていることが原因であることが最近知られるようになった。このことは、マウスを用いた動物実験が無意味であることを意味している。

これを解決するため、セロトニン受容体1Bの中樞神経系および血管系で果たす役割に注目し、マウスのセロトニン受容体1Bをヒト型に変換することを試みた。

これには、CRE-loxP法を用い、現在点突然変異をもつセロトニン受容体遺伝子を導入したES細胞を単離した。

B. 転移関連分子の生物学的機能解析

マウスB16黒色腫において転移能を抑制する因子について検討した。その結果 β mアクチンや低分子型トロポミオシン, YL41/hm3168 (リボソーム蛋白分子) 遺伝子が見出された。一方、腫瘍内血管では α アクチンやカルボニンなど細胞骨格分子の発現低下が観察された。これは血管を構築する細胞間の接着が弱まることが原因であることを示すもので、癌の浸潤にとって極めて重要な現象と考えられた。従って、これらの遺伝子、特にカルボニンに着目し、この遺伝子をクローン化して発生工学的にカルボニン欠失マウスの作成を試みた。

a. 二段階相同組換え法による β アクチンの β mアクチンへの置換の試み（谷口俊一郎，勝木元也）

B16メラノーマ細胞で変異 β アクチン（ β m）の発現やその欠失が細胞の悪性形質に関与することを観察し， β アクチンの変化が転移に関与する可能性を示唆してきた。そこで β アクチンや β mアクチンの機能を宿主レベルで解析することを目的として β アクチンの欠失あるいは変異 β アクチンを有するマウスを作成するため，マウスゲノム β アクチン遺伝子を単離し，ノックアウトおよび変異アクチンに変換するためのベクターを構築した。このベクターは β アクチン遺伝子のエクソン2とエクソン4の間にneo-gpt遺伝子を挿入したもので第1段階目はG418耐性，2段階目は6TG耐性細胞を選択して相同組換えが生じた細胞を同定できるようにした。

b. 低分子型トロポミオシンによる悪性形質抑制の試み（谷口俊一郎，宮戸健二，勝木元也）

B16-F10細胞やsrc癌遺伝子で悪性形質転換した3Y1細胞などにおいて低分子型トロポミオシンの発現が増強することを観察してきたが，このcDNA（ヒトトロポミオシンTM30に対応する）をラットより単離した。また，このcDNAを用いてメタロチオネインプロモーターを有し，金属で誘導のかかるアンチセンス発現ベクターを作製した。このベクターをB16-F10細胞やsrc形質転換3Y1細胞に導入し Zn^{2+} でTM30のアンチセンスを上昇させ，結果としてTM30の発現を低下させると，細胞運動性が抑制されることを画像解析によって観察した。また，酵母より興味深い構造を有するトロポミオシン様cDNA STRPを単離した。

c. カルポニン欠失マウス作成（谷口俊一郎，井上琢哉，中村健司，中尾和貴，勝木元也，1高橋克仁，1柴田宣彦）（1大阪成人病セ）

腫瘍血管における平滑筋型 α アクチン（ α ）やアクチン結合蛋白質であるカルポニンの発現低下が観察された。また，ヒト舌癌組織での α およびカルポニン発現と悪性度には逆相関関係があることが観察された（九大・放射線科との協同）。これらの細胞骨格分子の変化は血管構築細胞間の接着を弱くする可能性があり，癌の転移機構を考えるうえで重要な意義を有するものと考えられた。そこで，とくにカルポニンに着目し，カルポニン遺伝子ジーンターゲットングにより，カルポニン遺伝子欠失マウスの作成に成功した。現在，カルポニン遺伝子をホモに欠失したマウスの経過を観察している。

カルポニンは動脈硬化を生じた血管部位や腫瘍部位の血管で発現が低下し，平滑筋や腫瘍細胞にカルポニンを導入すると細胞の増殖や運動性が抑制される。従って，カルポニンをホモに欠失するマウスは生育の過程では，血管構築や機能に異常を示す可能性が考えら

れる。あるいはカルボニンには細胞増殖抑制能があることから考えるとカルボニン欠失マウスは高発癌マウスになる可能性もある。カルボニン欠失により血管病変をもつことが期待されるが、それは血管を構築する細胞間の接着が弱く癌が浸潤しやすいことが考えられ、血管透過のバリエーションが弱まった転移アッセイ系として有用になることが期待される。

d. 膜型メタロプロテアーゼのトランスジェニックマウスの作成 (谷口俊一郎, 中尾和貴, 勝木元也)

最近, 金沢大・がん研の清木らによって, 膜貫通型メタロプロテアーゼ (MT-MMP) が分離され, これがゼラチナーゼAを活性化することが明らかにされた。この遺伝子の個体レベルでの機能解析を目的としてEF1 α のプロモーターにつないだMT-MMPのトランスジェニックマウスを作成した。現在のところ, 顕著な病変は見られていないが, 現在経過観察中である。

原著論文

1. Tsunematsu, S., Saito, H., Kagawa, T., Morizane, T., Hata, J., Nakamura, T., Ishii, H., Tsuchiya, M., Nomura, T. and Katsuki, M. 1994.
Hepatic tumors induced by carbon tetrachloride in transgenic mice carrying a human C-H-ras proto-oncogene without mutations.
Int J Cancer, 59, 554-559.
2. Sato, M., Sasahara, T., Nakamura, Y., Osaki, T., Hasegawa, T., Tadakuma, T., Arata, Y., Kumagai, Y., Katsuki, M. and Habu, S. 1994.
Naive T cells can mediate delayed-type hypersensitivity response in T cell receptor transgenic mice.
Eur J Immunol, 24, 1512-1516.
3. Lafaille, J.J., Nagashima, K., Katsuki, M. and Tonegawa, S. 1994.
High incidence of spontaneous autoimmune encephalomyelitis in immunodeficient anti-myelin basic protein T cell receptor transgenic mice.
Cell, 78, 399-408.
4. Gondo, Y., Nakamura, K., Nakao, K., Sasaoka, T., Ito, K., Kimura, M. and Katsuki, M. 1994.
Gene replacement of the p53 gene with the lacZ gene in mouse embryonic stem cells and mice by using two steps of homologous recombination.
Biochem Biophys Res Commun, 202, 830-837.

5. Doi, S.T., Kimura, M. and Katsuki, M. 1994.
Tissue-specific tumorigenesis Induced by Dimethylbenzanthracene in transgenic mice carrying human c-Ha-ras proto-oncogenes.
Jpn J Can Res, 85, 801-807.
6. Miyado, K., Katsuki, M. and Taniguchi, S. 1994.
Isolation of a yeast cDNA clone that encodes a novel trans-membrane protein having a c-terminal highly basic region.
Biochem Biophys Res Commun, 199, 1363-1371.
7. Hayashizaki, Y., Shibata, H., Hirotsune, S., Sugino, H., Okazaki, Y., Sasaki, N., Hirose, K., Imoto, H., Okuizumi, H., Muramatsu, M., Komatsubara, H., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Katsuki, M., Hatano, N., Sasaki, H., Ueda, T., Mise, N., Takagi, N., Plass, C. and Chapman, V.M. 1994.
Identification of an imprinted U2af binding protein related sequence on mouse Chromosome 11 using the RLGS method.
Nature Genetics, 6, 33-40.
8. Shibata, H., Hirotsune, S., Okazaki, Y., Komatsubara, H., Muramatsu, M., Takagi, N., Ueda, T., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Katsuki, M., Chapman, V.M., and Hayashizaki, Y. 1994.
Genetic mapping and systematic screening of mouse endogenously imprinted loci detected with restriction landmark genome scanning method (RLGS).
Mammal Genome, 5, 797-800.
9. Shimokawa-Kuroki, R., Sadano, H. and Taniguchi, S. 1994.
A Variant Actin (β m) Reduces Metastasis of Mouse B16 Melanoma.
Int J Cancer, 56, 689-697.
10. Sadano, H., Shimokawa-Kuroki, R. and Taniguchi, S. 1994.
Intracellular localization and biochemical function of variant β -actin, which inhibits metastasis of B16 melanoma.
Jpn J Cancer Res, 85, 735-743.
11. Urabe, A., Nakayama, J., Taniguchi, S., Kuroki, R. and Hori, Y. 1994.
Expression of the fos oncogene in basal cell carcinoma.
J Dermatol Sci, 8, 50-53.
12. Inoue, M., Nakayama, J., Taniguchi, S., Urabe, K., Kuroki, R., Hori, Y. 1994.
Malignant schwannoma in a case of type 1 neurofibromatosis with decreased immunoreactivity of smooth muscle α -actin in tumor vessels.
J Dermatol. Sci, 8, 157-161.

13. Miyagi,T., Hata,K. and Taniguchi,S. 1994.
Metastatic potential of transformed rat 3Y1 cell lines is inversely correlated with lysosomal type sialidase activity.
FEBS Lett, 349, 255-259.
14. Iwamoto,Y., Tanaka,K., Okuyama,K., Sugioka,Y. and Taniguchi, S. 1994.
In vitro assay of the invasive potential of malignant bone and soft tissue tumors through basement membranes.
Int. Orthopaedics, 18, 240-247.
15. Nakayama,J., Tsuchida,T., Toyofuku,K., Shimokawa-Kuroki,R., Taniguchi,S and Hori,Y. 1994.
Different sensitivities of the murine melanomas BL-6 and BL-6- β m to local injections of interleukin-2 (IL-2). Analysis of gangliosides after the treatment.
Melanoma Res, 4, 297-302.
16. Nakayama,J., Urabe A., Toyofuku,K., Taniguchi,S. and Hori,Y. 1994.
Suppression of murine melanoma growth with a combination of microwave hyperthermia and local injection of Interleukin 2.
British J Dermatol, 130, 717-724.

総 説

1. 勝木元也. 1994.
遺伝子操作の展開と神経系の研究.
臨床神経学, 34, 1210-1215.
2. 勝木元也. 1994.
新しい実験医学の展開
日本皮膚科学会雑誌, 104, 1497-1502.
3. 勝木元也. 1994.
新春特集 バイオテクノロジーの新潮流: 発生工学—その新しい展開—
バイオインダストリー, 11, 33-38.
4. 権藤洋一, 池田由美子, 茂手木淑子, 高橋美千江, 竹下 綾, 中尾和貴, 勝木元也. 1994.
トランスジェニックマウスを用いた変異原の高感度解析法の開発
環境変異原研究, 16, 53-65.

著 書

1. 権藤洋一, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也. 1994.

- I. トランスジェニックマウスの基礎と方法論 5-c 標的遺伝子組換えの新しい戦略ー 自
在な標的遺伝子置換法。
山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編 Molecular Medicine (臨時増刊) マニュアル疾患モデルマ
ウス pp54-59, 中山書店, 東京。
2. 勝木元也. 1994.
II. 疾患モデルマウスの実際 3-d. プリオン病のモデルマウス。
山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編 Molecular Medicine (臨時増刊) マニュアル疾患モデルマ
ウス pp107, 中山書店, 東京。
3. 鎌滝哲也, 横井 毅, 勝木元也. 1994.
II. 疾患モデルマウスの実際 14-b. チトクローム p 450関連のモデルマウス。
山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編 Molecular Medicine (臨時増刊) マニュアル疾患モデルマ
ウス pp248-250, 中山書店, 東京。
4. 勝木元也. 1994.
II. 疾患モデルマウスの実際 16-a. 活性型癌トランスジェニックマウス。
山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編 Molecular Medicine (臨時増刊) マニュアル疾患モデルマ
ウス pp257-260, 中山書店, 東京。
5. 権藤洋一, 勝木元也. 1994.
II. 疾患モデルマウスの実際 18. HITEC マウス: トランスジェニックマウスを用いた体細
胞突然変異解析系。
山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編 Molecular Medicine (臨時増刊) マニュアル疾患モデルマ
ウス pp343-347, 中山書店, 東京。
6. 勝木元也. 1994.
II-4. マウスを用いた病態解析, 疾患モデル作成。
出月康夫, 北島政樹編, 外科臨床ハンドブック [5] 外科臨床の分子生物学 pp95-107, 中山
書店, 東京。
7. 勝木元也. 1994.
I. マウス個体の遺伝子操作。
青木延雄等編, 血小板の分子生物学 pp1-12, 金芳堂, 京都。
8. 勝木元也. 1994.
2. 遺伝子と脳機能。
伊藤正男編 続脳のはたらき pp33-51, 講談社サイエンティフィク, 東京。
9. 勝木元也. 1994.
病気は遺伝子の一形態か。
第8回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会編 遺伝子から生命を探るー遺伝子導入動
物研究の展開ー, pp15-22, クバプロ, 東京。

10. 勝木元也. 1994.
Gene Targeting によるヒト遺伝子型マウスの開発と研究.
武部和夫等編 内分泌学の進歩 12 pp156-163, トプロコ, 東京.
11. 勝木元也. 1994.
トランスジェニックマウス.
小池克郎等編 分子生物学プロトコール pp333-338, 南江堂, 東京.
12. 谷口俊一郎. 1994.
分子生物学・バイオテクノロジー編「先端医学キーワード辞典」.
分担執筆, 印刷中 編集:長野 敬, 永田和宏, 宮坂富之, 宮坂信之.

学会発表

1. 勝木元也. (1994, 1/22)
病気は遺伝子の一形態か.
文部省公開シンポジウム「第7回大学と科学」, 大阪.
2. Gondo, Y. and Katsuki, M. (1994, 1/25-28)
Hypersensitive *in vivo* test of carcinogenicity : Detection of somatic mutations by using transgenic mice.
The 24th Joint Scientific Conference on Novel Methods to Assess Environmental Mutagens and Carcinogens, US/Japan Cooperative Medical Science Program, Joint Panel of Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, Harriman, New York, U.S.A.
3. 権藤洋一. (1994, 2/3)
招待講演－発がん性検定のためのHITECマウスの開発.
平成5年度がん特別研究 公開・合同シンポジウム, 東京.
4. 権藤洋一, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也. (1994, 2/15)
二段階相同組換えを用いた標的遺伝子置換と組換え修復.
第11回染色体ワークショップ, 孺恋.
5. 勝木元也. (1994, 4/22)
特別講演－新しい実験医学の展開.
第93回日本皮膚科学会総会・学術大会, 福岡.
6. Katsuki, M. (1994, 4/23-26)
Universal gene replacement of mouse genome.
1st Jpn/France Joint Meeting on Immunology, Bordeaux, France.

7. 勝木元也. (1994, 5/11-12)
教育講演－遺伝子治療に用いる実験動物の開発.
遺伝子治療シンポジウム, 東京.
8. 勝木元也. (1994, 5/14)
個体の遺伝子操作.
三学合同シンポジウム, 福岡.
9. 勝木元也. (1994, 5/19)
特別講演－遺伝子操作の展開と神経系の研究.
第35回日本神経学会総会, 福岡.
10. Gondo, Y. and Katsuki, M. (1994, 5/25-26)
Universal gene replacement by using two-step homologous recombination.
National Cancer Institute US/Japan Meeting, Gene Manipulation in Malignant Cells.
Maui Prince Hotel, Maui, Hawaii.
11. Katsuki, M. and Gondo, Y. (1994, 6/6-7)
Universal Gene Replacement in Mouse Genome.
Joint Japan-Canada Symposium on Molecular Medicine and Science, Japan Research
and Development Corporation and Canadian Genetic Diseases Network, Toronto
Canada.
12. 勝木元也. (1994, 6/7)
新しい実験医学の展開.
宮崎医科大学創立20周年記念学術講演, 宮崎.
13. 塩山善之, 権藤洋一, 勝木元也. (1994, 6/8)
招待講演 トランスジェニックマウスを用いた遺伝毒性の検定と解析.
第3回日本毒科学会サテライトシンポジウム, 札幌.
14. 勝木元也. (1994, 7/6)
特別講演－個体の遺伝子操作とバイオテクノロジー.
農林省関東甲信越バイオテクノロジー研究会, 高山.
15. 権藤洋一. (1994, 7/15)
招待講演－トランスジェニックマウスによる体細胞突然変異の検出と解析.
第4回原医研学術講演会, 広島.
16. 勝木元也. (1994, 7/16)
個体の遺伝子操作.
第12回富士ホルモンカンファレンス, 神奈川.

17. Katsuki, M. (1994, 7/24-29)
Transgenic animal models for human disease.
XIIth Int. Congress of Pharmacology, Montreal, Canada.
18. 権藤洋一, 勝木元也. (1994, 8/30)
招待講演—二段階相同組換え法と遺伝子治療の可能性.
厚生省特定疾患難病の宿主要因調査研究班公開シンポジウム, 福岡.
19. Gondo, Y., Nakamura, K., Nakao, K., Sasaoka, T., Ito, K., Kimura, M., and Katsuki, M. (1994, 8/31-9/4)
Gene Replacement of the p53 gene with *lacZ* by using two steps of homologous recombination: The expression of the p53 gene during the mouse development.
Mouse Molecular Genetics. Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y., U.S.A.
20. 勝木元也. (1994, 9/30)
招待講演—標的遺伝子置換法を用いた遺伝子制御ネットワークの可能性.
重点領域研究「遺伝子制御」班会議, 神奈川.
21. 権藤洋一, 塩山善之, 勝木元也. (1994, 10/8)
トランスジェニックマウス (HITEC マウス) を用いた体細胞突然変異の解析: MNU 投与と臓器別体細胞突然変異.
日本遺伝学会第66回大会, 大阪.
22. 権藤洋一, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
ワークショップ招待講演—トランスジェニックマウスを用いた生体内における体細胞突然変異の検出と解析.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
23. 井上理恵, 牛島俊和, 串田浩美, 勝木元也, 杉村 隆, 長尾美奈子. (1994, 10/19-21)
c-Ha-ras 遺伝子導入マウスに Glu-P-1 により誘発された血管肉腫および肝腫瘍における Ha-ras 遺伝子の変化.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
24. 黎 勇, 佐々木 誠, 北村龍司, 勝木元也, 横井 毅, 鎌滝哲也. (1994, 10/19-21)
変異原物質を活性化するヒト胎児型チトクローム P 450 (CYP3A7) を導入したトランスジェニックマウスの作出.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
25. 塩山善之, 権藤洋一, 中尾和貴, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
HITEC マウスを用いた体細胞突然変異の解析: I. 導入遺伝子 *rpsL* に生じる塩基変化.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.

26. 三好 淳, 伊勢和宏, 中村健司, 中尾和貴, 豊島久真男, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
標的遺伝子組換えによるH-ras 遺伝子欠損マウスの作成.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
27. 中村健司, 権藤洋一, 中尾和貴, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
個体形成過程におけるP53遺伝子の発現.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
28. 伊藤健一, 中村健司, 中尾和貴, 権藤洋一, 三好 淳, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
gpt 遺伝子を用いた遺伝子置換法の開発.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
29. 田中秀欣, 権藤洋一, 中尾和貴, 中村健司, 谷口俊一郎, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
P53遺伝子欠損マウスの悪性リンパ腫発生抑制の試み.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
30. 細川 哲, 権藤洋一, 中村健司, 中尾和貴, 伊藤健一, 田中秀欣, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
マウスP53遺伝子コドン248のヒト型への標的置換.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
31. 伊勢和宏, 三好 淳, 勝木元也. (1994, 10/19-21)
マウスH-ras ゲノム DNA および cDNA の単離とその塩基配列.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
32. 谷口俊一郎, 宮戸健二, 黒木りえ, 田中秀欣, 高橋克仁, 柴田宣彦, 勝木元也.
(1994, 10/19-21)
悪性腫瘍内の血管におけるアクチン結合蛋白質カルポニンの発現変化.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
33. 呉 啓貴, 勝木元也, 谷口俊一郎. (1994, 10/19-21)
マウス黒色腫B16-F10における β mアクチン遺伝子(β m)の欠失.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
34. 勝木元也. (1994, 10/19-21)
生命体システムⅢ「アポトーシス」.
加藤記念バイオサイエンス研究財団シンポジウム, 東京.
35. 法村俊之, 野本 論, 権藤洋一, 勝木元也. (1994, 10/27-29)
自爆遺伝子p53欠損マウスの放射線催奇感受性.
日本放射線影響学会第37回大会, 福岡.
36. 勝木元也 (1994, 11/2)
哺乳動物での体細胞突然変異系の開発—新しい発癌リスク評価系—
(財)食品農医薬品安全評価センター第2回学術講演会, 静岡.

37. 勝木元也 (1994, 12/13-16)
標的遺伝子置換法による生体機能解析.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
38. 権藤洋一, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也. (1994, 12/13-16)
HSV-tk 遺伝子を標的導入したマウス P53 アリルにみられる分離の歪み.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
39. 伊勢和宏, 三好 淳, 中村健司, 中尾和貴, 豊島久真男, 勝木元也. (1994, 12/13-16)
H-ras 遺伝子欠損マウスの作成.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
40. 中村健司, 伊藤健一, 中尾和貴, 権藤洋一, 三好 淳, 勝木元也. (1994, 12/13-16)
ES 細胞を用いた新しい遺伝子置換法の開発Ⅳ.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
41. 山口浩雄, 中村健司, 中尾和貴, 勝木元也. (1994, 12/13-16)
D2 ドーパミン受容体欠損マウスの作成.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
42. 広常真治, 廣瀬健二, 高原得栄, 日下部守昭, 吉木 淳, 勝木元也, 中尾和貴, 村末正寶,
Chapman, VM., 林崎良英. (1994, 12/13-16)
マウス染色体 5 番におけるリーラー locus 周辺の物理的地図の作成.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
43. 松永浩子, 川本祥子, 勝木元也, 大久保公策, 松原謙一. (1994, 12/13-16)
マウス 8 細胞期における遺伝子発現の解析.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
44. 廣瀬健二, 岡崎康司, 広常真治, 吉木 淳, 日下部守昭, 中尾和貴, 勝木元也, 河合 純,
渡辺幸彦, 村末正実, Plass, C., Chapman, VM., 林崎良英. (1994, 12/13-16)
Pooled DNA を RLGS 法に用いた新しい標的遺伝子近傍の DNA マーカーの検索法 (Spot-bombing 法).
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
45. 梶原景正, 湯山徳行, 西川慶子, 菅原英一, 永沢秀子, 大倉多美子, 本木昌宏, 津田 整,
菅谷愛子, 木村 穰, 勝木元也. (1994, 12/13-16)
けいれん関連遺伝子 SEZ-17 の機能とその特性.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.

46. 芝田英夫, 吉野 潔, 砂原昭一, 権藤洋一, 勝木元也, 村松正實, 佐々木裕之, 植田孝之, 高木信夫, Plass,C. Kalcheva,I. Chapman,VM., 林崎良英. (1994, 12/13-16)
RLGSを用いた系統的検索法により同定された内在性インプリント遺伝子U2afbp-rsのゲノム領域の解析.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
47. 宮戸健二, 谷口俊一郎, 木村 穰. (1994, 12/13-16)
酵母トロポミオシン関連蛋白質STRPの構造と機能.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
48. 饗場 篤, Chen,C., Fox,G., Herrup,K., Kano,M., Rosenmund,C., Stanton,ME., Stevens,CF., and Tonegawa,S. (1994, 12/13-16)
Analysis of metabotropic glutamate receptor (mGluR1) mutant mice.
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.