

## [010]九州大学生体防御医学研究所年報 : 1995年

<https://hdl.handle.net/2324/2195860>

---

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 10, pp.1-, 1996. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :

## 生化学部門

### Department of Biochemistry

DNA の遺伝情報は生殖細胞を通じて親から子へ、また体細胞の分裂によって個体を構成するすべての細胞へ伝えられる。このような遺伝的連続性を保証しているのは細胞の正確な DNA 複製と効率の良い DNA 修復の機構である。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」の解明をメインテーマに研究をおこなっている。これまでの研究の流れから、(A) DNA のアルキル化損傷とその修復機構を O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) に注目して、また (B) 酸素ラジカルによる自然突然変異とその抑制機構を 8-oxodGTPase (MTH1) の解析を中心に研究を進めながら、酸素ラジカルによる DNA 障害を修復する新たな酵素系およびその遺伝子群の検索もすすめている。さらに、(C) DNA 複製の制御機構に関して Jun/Fos プロトオンコジーンに注目して解析している。

人事異動は次の通りであった。1995年3月、臨床系大学院生の田尻達郎（小児外科）、井原健二（小児科）、織田信弥（第2外科）が博士号を取得し、それぞれの医局へ戻った。4月には大分医科大学から特別研究学生として派遣されていた加隈哲也が、研究を終了し大分医科大学へ戻った。助手の古市正人は CNRS の研究所（フランス、ストラスブール）に留学中である。

#### A. DNA のアルキル化損傷とその修復機構

細胞がアルキル化剤にさらされるとその DNA 上に種々のアルキル化塩基が生じるが、これらのなかで O<sup>6</sup>-メチルグアニンと O<sup>4</sup>-メチルチミンは突然変異の誘起に主要な役割を果たしている。たとえば O<sup>6</sup>-メチルグアニンが DNA 中に存在しても複製は進行するが O<sup>6</sup>-メチルグアニンはシトシンとだけではなくチミンとも同程度対合することができるので、2回の複製の結果 G:C 塩基対は高い頻度で A:T 塩基対に変化する。量的には比較的少ない O<sup>4</sup>-メチルチミンもこのような塩基対合の変化を引き起こす作用をもっている。この2種類の修飾塩基は O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) によって DNA から特異的に取り除かれる。MGMT はグアニン（およびチミン）塩基に結合したメチル基を酵素分子中のシステイン残基に転移することによって取り除く DNA 修復酵素である。これまでの我々の研究などからこの酵素は大腸菌からヒトにいたるまで広く存在しており、かつその構造はよく保存されていることが明らかになっている。

哺乳類細胞での MGMT の役割を調べる目的で MGMT ノックアウト ES 細胞株 (MGMT<sup>-/-</sup>) を樹立、解析したところ、MGMT<sup>-/-</sup> 細胞はアルキル化剤であるメチルニトロソウレア (MNU) やメチルニトロニトロソグアニジン (MNNG) に対してきわめて高い感受性を示した。アルキル化剤処理した細胞を DNA ラダーや FACS 等で解析したところアポトーシスを起こし

ていることが明らかになった。また  $MGMT^{-/-}$  細胞ではアルキル化剤による突然変異頻度が約 30 倍上昇しており、 $MGMT$  が細胞レベルでアルキル化剤による細胞死や突然変異頻度の上昇を抑制していることが明らかになった。今後、DNA 上の  $O^6$ -メチルグアニン（あるいは  $O^4$ -メチルチミン）が原因で誘導されるアポトーシスの分子メカニズムについて明らかにしていきたいと考えている。

ヒトの病気の中でもがんは主として体細胞の突然変異によって起こると考えられている。がんは多細胞生物の個体ではじめて生じる（観察できる）現象であるため、ある遺伝子（産物）が発がん抑制に働いているかどうかを知るためには、その遺伝子を欠損させた動物を作製、解析する必要がある。動物個体における  $MGMT$  の役割を明らかにする目的で我々は  $MGMT$  ノックアウトマウスを作製し、その解析を行った。

$MGMT$  ノックアウトマウス ( $MGMT^{-/-}$ ) は形態、生殖能力とも野生型と同様であったが、体重がやや軽めで（雄、雌とも野生型の約 85%）、脾臓は逆にやや大きめであった。このマウスに MNU を投与したところ、1 回の腹腔内注射 (50mg/kg) で全ての  $MGMT^{-/-}$  マウスが 17 日以内に死亡した（野生型はすべて 90 日以上生存）。MNU を投与した  $MGMT^{-/-}$  マウスでは体重減少、胸腺の萎縮、臓器出血、下血、脂肪組織の消失、骨髓細胞の死滅、末梢血中の白血球、血小板の減少、感染などが観察された。 $MGMT^{-/-}$  マウスは野生型マウスと比べて少なくとも 10 倍以上アルキル化剤に感受性であり、細胞レベルだけでなく個体レベルでも  $MGMT$  がアルキル化剤による死を抑制するのに働いていることが明らかになった。現在、MNU やジメチルニトロソアミン (DMNA) を用いた発がん実験を行い、アルキル化発がんの抑制における  $MGMT$  の役割について調べている。またアルキル化剤の中でも ACNU やダカルバジンなどは制がん剤として用いられている。これらの薬剤が  $MGMT^{-/-}$  マウスにどのような影響をあたえるかについても現在検討中である。

$MGMT$  遺伝子が欠損したマウスが野生型のマウスと同様に生存、繁殖できることから、同様の欠損をもったヒト個体がヒト集団中に存在することは十分予想される。また遺伝子レベルではなく酵素の発現レベルで  $O^6$ -メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ活性を持たない細胞 ( $Mer^{-}$ ) が存在することから、同様のヒト個体が存在することも考えられる。これらの  $MGMT^{-/-}$  ヒト個体では体細胞の突然変異頻度が上昇し、がんを生じやすくなっている可能性があり、またアルキル化制がん剤に対しても正常人に比べて高感受性になっているかもしれない。このような考えに基づいて  $MGMT$  遺伝子多型のスクリーニングを行っており、これまでに 4 種類の遺伝子多型を見出し現在もスクリーニングを続行中である。

## B. 酸素ラジカルによる自然突然変異とその抑制機構

細胞内の代謝過程で発生する活性酸素等のフリーラジカルは DNA やヌクレオチドを自然酸化し、突然変異を引き起こす原因となる。酸化ヌクレオチドの中でグアニン塩基の酸化体 8-オ

キソグアニン (8-oxoG) はシトシン以外にアデニンとも対合し、塩基置換突然変異を高頻度に誘発する。我々は、DNA合成の基質となる酸化型ヌクレオチド3リン酸、8-oxodGTPを8-oxodGMPとピロリン酸に分解するヒト酵素(8-oxodGTPase)を発見し、そのcDNAおよび遺伝子(MTH1: *mutT* homologue-1)をクローニングした。本酵素はヌクレオチドプール中の8-oxodGTPを分解、浄化することによりDNA中へ取り込まれないようにし、突然変異の生成を抑制すると考えられ、本酵素を欠損する個体は8-oxodGTPを浄化できず、自然突然変異、さらに発がんともにその発生頻度が上昇することが予想される。

我々は、MTH1遺伝子の異常が発癌の遺伝子要因の1つになり得ると考え、健常人および癌患者を対象にスクリーニングを行い、アミノ酸の置換をとまなうMTH1遺伝子多型、Val<sup>83</sup>とMet<sup>83</sup>の存在を明らかにした。今回さらに例数を増やしてスクリーニングを行ったところ、肝細胞癌患者143例、肺癌患者184例中にMet<sup>83</sup>型のホモ接合体をそれぞれ2例ずつ認めた。Met<sup>83</sup>型のホモ接合体は健常人200例には認められず、Val<sup>83</sup>/Met<sup>83</sup>ヘテロ接合体の頻度は各グループで有意差はなく、約15%であった。以上の結果は、Met<sup>83</sup>のホモ接合性個体がVal<sup>83</sup>のホモおよびVal<sup>83</sup>/Met<sup>83</sup>ヘテロ接合性個体よりも発癌リスクが高いことを示唆する。癌部、非癌部組織でのMTH1蛋白質の発現をイムノブロットィングにより解析したところ、非癌部組織でのMTH1蛋白質の発現がMet<sup>83</sup>のホモ接合性の患者では他の遺伝子型の患者よりも低レベルであった。さらにMet<sup>83</sup>-MTH1蛋白質はVal<sup>83</sup>には見られない修飾を受けることが示唆された。

一方で正常及び多型遺伝子由来cDNAを大腸菌で発現させ、それぞれの蛋白質を精製してその酵素活性について詳細な解析を進めている。これまでのところ、大腸菌内での突然変異抑制活性と蛋白質の熱安定性で両者の間で差が観察されている。また、これまで報告されている7種類の*mutT* homologueのアミノ酸配列の比較から、7種の蛋白質の間で完全に保存され酵素活性に重要と思われるアミノ酸部位に突然変異を導入、作製した変異MTH1蛋白質についても同様の解析を行なう予定である。さらに、精製して得られたこれらの酵素標品を物理化学的な手法を用いて解析し、この酵素の構造と機能について分子レベルで明らかにしていきたいと考えている。ヒトのMTH1遺伝子をクローニングし、そのプロモーター領域の解析をおこなったところ、この遺伝子からの転写は細胞増殖刺激によって誘導されること、また複数種類のmRNAが転写されていることが明らかになった。現在、それぞれのmRNAがコードしている酵素の一次構造、臓器別の発現パターンや誘導されるmRNAタイプの種類を調べている。

一旦DNA中に取り込まれてしまった8-oxoGは8-oxodGTPaseでは除去出来ない。またDNA上のグアニンが酸化されて生じる8-oxoGもまた8-oxodGTPaseの守備範囲外である。大腸菌ではDNA中の8-oxoGを取り除く酵素として、やはりミューテーター遺伝子にコードされているMutMグリコシラーゼとMutYグリコシラーゼが知られている。我々は同様の酵素活性をヒト細胞抽出液中に見いだしており、ヒト培養細胞やウシ胸腺を材料に用いてこれらの酵素を精製、そのアミノ酸配列を決定し、それぞれのcDNAおよび遺伝子をクローニングしようと試みてい

る。

酸素ラジカルによる DNA 損傷と自然突然変異および発がんの関連を明らかにするためには、この過程に関わる酵素系の遺伝子群をクローニング、解析すると同時に、本当にその遺伝子が個体レベルで発がん抑制に関わっているかどうかを明らかにする必要がある。我々はヒトの MTH1cDNA をプローブに用いてマウス MTH1 の cDNA およびその遺伝子をクローニングし、それらを用いて MTH1 ノックアウトマウスを作製した。現在このノックアウトマウスの自然発がんについて調べている。

### C. Jun/Fos による細胞複製の制御機構

哺乳動物細胞の増殖は、増殖刺激に応答した多数の遺伝子の発現や機能によって制御されている。培養系で増殖している線維芽細胞は接触阻止や血清飢餓により休止期 (G0期) にはいり増殖を停止するが、このような休止期の細胞は血清や増殖因子で刺激すると、一連の新たな遺伝子発現を伴って再び増殖サイクルに移行し、同調して細胞周期を進行する。休止期の細胞を増殖因子で刺激した際に発現が誘導される遺伝子は、その発現時間の特徴により DNA 複製開始以前に発現される「初期遺伝子」と、その後発現される「後期遺伝子」に大別される。初期蛋白質 (初期遺伝子の産物) は細胞の G0期から S 期への移行に際して機能していると考えられているが、これはさらに 2 つのグループに分けられる。このうち「前初期遺伝子群」と呼ばれる第 1 のグループは、血清や増殖因子による刺激後数分で転写が誘導され、G0期から G1 期への移行に必須と考えられている。前初期遺伝子群に続いて発現が誘導される第 2 のグループは、「後初期遺伝子群」と呼ばれ、その発現は血清刺激の数時間後に見られる。後初期遺伝子の誘導は、蛋白質合成阻害剤で抑制されるため、前初期蛋白質に依存していると考えられている。

多くの前初期遺伝子の中で、*jun*, *fos*, *myc* といった細胞をトランスフォームする能力を持った核内プロトオンコジンは G0期から増殖サイクルへの移行を促進的に制御すると考えられる。我々は、c-Myc 蛋白質や *fosB* 遺伝子産物の 1 つである  $\Delta$ FosB 蛋白質を休止期のラット線維芽細胞で人為的に発現させると、細胞は再び増殖サイクルに移行することを明かにした。Jun, Fos, Myc 蛋白質は転写因子として機能することから、増殖制御に関与する後初期遺伝子群の発現を制御し、その結果細胞の G1/S 移行を促進すると考えられる。

G1/S 移行期には G0/G1 移行期同様、多くの遺伝子が関与している。特に、サイクリンとサイクリン依存性キナーゼ (Cdk) は細胞周期制御装置の重要な構成因子である。サイクリン D1 やサイクリン E といった G1 サイクリンの構成的発現は、非同調下に増殖している Rat-1A 細胞や HeLa 細胞の G1 期を短縮し、血清刺激による休止期 Rat-1A 細胞の G0 期から S 期への移行を加速することから、G1 サイクリンあるいは、そのパートナーである Cdk の発現が哺乳動物細胞の G1/S 移行期に重要であると考えられる。一般に休止期の細胞では、サイクリンおよび Cdk の発現は少なく、増殖刺激により *jun*, *fos*, *myc* といった前初期遺伝子群の発現に引き続

いてそのレベルが上昇することが知られている。サイクリン D1はその発現に新たな蛋白質合成が必要であることが示されており、前初期転写因子の制御対象、すなわち後初期遺伝子の一つと考えられる。

我々は、G1/S移行の制御に関与する後初期遺伝子群としてサイクリンおよび Cdk に注目して解析し、サイクリン E とそのパートナーである Cdk2 の mRNA が G1/S 移行期に安定化され、そのレベルがともに増加することを見出した。休止期の細胞ではサイクリン E および Cdk2 の発現は非常に低レベルであるが、血清刺激により細胞が増殖サイクルに移行する際にその mRNA レベルが増加する。このとき、両遺伝子の転写頻度はほとんど増加せず、G1/S 移行期に見られる mRNA の安定化が各々の mRNA レベルの増加につながっているようである。前初期蛋白質  $\Delta$ FosB を人為的に休止期の Rat1-A 細胞に発現させると細胞は増殖を開始するが、このときにもサイクリン E と Cdk2 の mRNA は安定化され、両 mRNA のレベルが増加する。

$\Delta$ FosB 蛋白質は、択一的スプライシングを受けた短いタイプの  $\Delta$ fosB mRNA によりコードされる前初期蛋白質である。FosB は Jun 蛋白質と協調して AP-1 依存性の遺伝子の転写を活性化するが、 $\Delta$ FosB は FosB の C 末端に存在する転写活性化ドメインを欠く。そのため、AP-1 に依存して転写される *transin* 遺伝子の発現は、FosB 発現細胞では誘導されるのに対し、 $\Delta$ FosB 発現細胞ではまったく誘導されない。すなわち、 $\Delta$ FosB は転写活性化能を欠く AP-1 複合体を構成すると考えられ、これは  $\Delta$ FosB 発現細胞ではサイクリン E と Cdk2 の転写の活性化が見られないという事実と矛盾しない。転写活性化能を持たない  $\Delta$ FosB は、サイクリン E と Cdk2 の mRNA の安定性を変化させることでこれら mRNA レベルを調節していると考えられ、 $\Delta$ FosB を含む AP-1 複合体が、このステップに直接、間接に関与していると考えられる。

## 業績目録

### 原著論文

1. Hayakawa, H., Taketomi, A., Sakumi, K., Kuwano, M., and Sekiguchi, M. 1995.  
Generation and elimination of 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate, a mutagenic substrate for DNA synthesis, in human cells.  
Biochemistry 34, 89-95.
2. Oda, S., Nishida, J., Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M. 1995.  
Stabilization of cyclin E and Cdk2 mRNAs at the G1-S transition in rat-1A cells emerged from the G0 state.  
Oncogene 10, 1343-1351.
3. Tajiri, T., Maki, H., and Sekiguchi, M. 1995.

- Functional cooperation of MutT, MutM and MutY proteins in preventing mutations caused by spontaneous oxidation of guanine nucleotide in *Escherichia coli*.  
Mutation Res. 336, 257-267.
4. Kawate,H., Ihara,K., Kohda,K., Sakumi,K., and Sekiguchi,M. 1995.  
Mouse methyltransferase for repair of O<sup>6</sup>-methylguanine and O<sup>4</sup>-methylthymine in DNA.  
Carcinogenesis 16, 1595-1602.
  5. Kang,D., Nishida,J., Iyama,A., Nakabeppu,Y., Furuichi,M., Fujiwara,T., Sekiguchi,M., and Takeshige,K. 1995.  
Intracellular localization of 8-oxo-dGTPase in human cells, with special reference to the role of the enzyme in mitochondria.  
J. Biol. Chem. 270, 14659-14665.
  6. Tanaka,K., Iwamoto,Y., Ito,Y., Ishibashi,T., Nakabeppu,Y., Sekiguchi,M., and Sugioka, Y. 1995.  
Cyclic AMP-mediated synthesis of the tissue inhibitors of metalloproteinases suppresses the invasive potential of the human fibrosarcoma cell line, HT1080.  
Cancer Res. 55, 2927-2935.
  7. Cai,J.-P., Kakuma,T., Tsuzuki,T., and Sekiguchi,M. 1995.  
cDNA and genomic sequences for rat 8-oxo-dGTPase that prevents occurrence of spontaneous mutations due to oxidation of guanine nucleotide.  
Carcinogenesis 16, 2343-2350.
  8. Kakuma,T., Nishida,J., Tsuzuki,T., and Sekiguchi,M. 1995.  
Mouse MTH1 protein with 8-oxo-dGTPase activity that prevents transversion mutation : cDNA cloning and tissue distribution.  
J. Biol. Chem. 270, 25942-25948.
  9. Wu,C., Nagasaki,H., Maruyama,K., Nakabeppu,Y., Sekiguchi,M., and Yuasa,Y. 1995.  
Mutations in the human MTH1 gene in hereditary nonpolyposis colorectal cancer.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 214, 1239-1245.
  10. Rancourt,D.E., Tsuzuki,T., and Capecchi, M. R. 1995.  
Genetic interaction between *hoxb-5* and *hoxb-6* is revealed nonallelic noncomplementation.  
Genes & Development 9, 108-122.
  11. Tsuji,Y., Akebi,N., Lam,T.K., Nakabeppu,Y., Torti,S.V., and Torti,F.M. 1995.  
FER-1, an enhancer of the ferritin H gene and a target of E1A-mediated transcripti-

onal repression.

Mol. Cell. Biol. 15, 5152-5164.

12. Chen, J., Nye, H.E., Kelz, M.B., Hiroi, N., Nakabeppu, Y., Hope, B.T., and Nestler, E. J. 1995.

Regulation of  $\Delta$ FosB and FosB-like proteins by electroconvulsive seizure (ECS) and cocaine treatments.

Mol. Pharmacol. 48, 880-889.

13. Hiramatsu, R., Akagi, K., Matsuoka, M., Sakumi, K., Nakamura, H., Kingsbury, L., David, C., Hardy, R.R., Yamamura, K., and Sakano, H. 1995.

The 3' enhancer region determines the B/T specificity and pro-B/pre-B specificity of immunoglobulin V $\kappa$ -J $\kappa$ -joining.

Cell 83, 1113-1123.

## 総 説

1. 井原健二, 関口陸夫. 1995.

DNA 修復酵素の突然変異と発癌抑制機構.

Molecular Medicine 32, 292-299.

2. 中別府雄作. 1995.

PCR-Tips : RT-PCR (Reverse Transcription PCR).

細胞工学 14, 217-222.

3. 中別府雄作. 1995.

PCR-Tips : 蛍光標識プライマーを用いた PCR-SSCP.

細胞工学 14, 468-479.

4. 中別府雄作. 1995.

PCR-Tips : SLIC (Single-strand ligation to ss cDNA)-PCR.

細胞工学 14, 827-833.

5. 河手久弥, 関口陸夫. 1995.

ミスマッチ修復と細胞のアルキル化剤感受性.

実験医学 13, 1741-1746.

6. 早川 浩, 續 輝久. 1995.

活性酸素による突然変異を防ぐヒト酵素系.

実験医学 13, 38-44.

7. 續 輝久, 富永洋平. 1995.

ヒト突然変異抑制遺伝子のクローニングとその機能.



日本臨牀 53, 225-235.

## 著 書

1. Nakabeppu, Y., Maki, H., and Sekiguchi, M. 1995.  
DNA Replication and Transcription.  
Molecular Biology and Biotechnology : A Comprehensive Desk Reference.  
pp.234-238. VCH Publishers. Inc., New York.
2. 中別府雄作. 1995.  
遺伝子変異の機構.  
図説分子病態学.  
pp.81-93. 一瀬白帝, 鈴木宏治編集 : 中外医学社.
3. 中別府雄作. 1995.  
mRNA 解析.  
実験医学別冊バイオマニュアル UP シリーズ「分子生物学的アプローチによる癌研究プロトコール」  
pp.79-107. 横田 淳, 山本 雅編集 : 羊土社.

## 学会発表

1. Oda, S., Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M. (1995, 1/5-1/11).  
 $\Delta$  FosB-mediated stabilization of cyclin E and cdk2 mRNA at the G1-S transition in Rat-1A cells emerged from G0 state.  
Keystone Symposia on Oncogenes : 20 Years Later, Keystone, USA.
2. Sekiguchi, M., Furuichi, M., Sakumi, K., Nakabeppu, Y., Tajiri, T., Oda, H., Kakuma, T., Kawabata, S., Maki, H., Yoshida, M.C., and Tsuzuki, T. (1995, 2/13-2/18).  
The Human Mutator Gene Homologue *MTH1* and Its Role in suppression of Mutation and Cancer.  
Molecular Biology of Cancer : Implications for Prevention and Therapy. Maui, USA.
3. Sekiguchi, M., Furuichi, M., Yoshida, M.-C., Oda, H., Tajiri, T., Nakabeppu, Y., Hayakawa, H., and Tsuzuki, T. (1995, 3/23-3/25).  
The Human *mutT* Homologue Gene *MTH1* and its possible Role in Preventing Mutations and Cancers.  
US-Japan Cancer Workshop : Experimental Studies on Genetic Interaction for Cancer Prevention, Hawaii, USA.

4. Tajiri, T., Maki, H., Sakumi, K., and Sekiguchi, M. (1995, 3/23-3/29).  
Functional cooperation of *mutT*, *mutM* and *mutY* proteins in preventing mutations caused by spontaneous oxidation of guanine nucleotide in *Escherichia coli*.  
Keystone Symposia on Repair and Processing of DNA Damage, Taos, USA.
5. Ihara, K., Kawate, H., Sakumi, K., and Sekiguchi, M. (1995, 3/23-3/29).  
Requirement of the Pro-Cys-His-Arg sequence for O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase activity revealed by saturation mutagenesis with negative and positive screening.  
Keystone Symposia on Repair and Processing of DNA Damage, Taos, USA.
6. Kawate, H., Ihara, K., Kohda, K., Shiraishi, A., Sakumi, K., and Sekiguchi, M. (1995, 3/23-3/29).  
Characterization and immunodetection of mouse methyltransferase for DNA repair.  
Keystone Symposia on Repair and Processing of DNA Damage, Taos, USA.
7. Sekiguchi, M., Sakumi, K., Shiraishi, A., Kawate, H., Igarashi, H., Iwakuma, T., Tominaga, Y., Kawabata, M., Fukuhara, M., and Tsuzuki, T. (1995, 7/9-7/13).  
Artificial control of DNA repair methyltransferase activity in mice.  
日独癌ワークショップ (6th Charles Heidelberg Conference), Essen, Germany.
8. Sakumi, K., Tsuzuki, T., Furuichi, M., Kakuma, T., Tominaga, Y., Igarashi, H., and Sekiguchi, M. (1995, 7/9-7/13).  
Structure and function of human and mouse MTH1 (*mutT* homologue) protein with 8-oxo-dGTPase activity.  
日独癌ワークショップ (6th Charles Heidelberg Conference), Essen, Germany.
9. Hayakawa, H., Taketomi, A., Sakumi, K., Kuwano, M. and Sekiguchi, M. (1995, 7/9-7/13).  
Generation and elimination of 8-oxo-dGTP, a mutagenic substrate for DNA synthesis, in human cells.  
日独癌ワークショップ (6th Charles Heidelberg Conference), Essen, Germany.
10. Tsuzuki, T., Sakumi, K., Shiraishi, A., Kawata, H., Igarashi, H., Iwakuma, T., Tominaga, Y., Kawabata, M., and Sekiguchi, M. (1995, 8/23-8/27).  
Targeted disruption of the DNA repair methyltransferase gene in mice.  
Mouse Molecular Genetics, Heidelberg, Germany.
11. Sekiguchi, M. (9/14, 1995).  
Molecular mechanisms for controlling mutations in mammalian cells.  
Pathology Research Seminar, Boston, USA.
12. Shiraishi, A., Iwakuma, T., Tsuzuki, T., Sakumi, K., Kawate, H., Tominaga, Y., Igarashi, H.,

- Kawabata, M., and Sekiguchi, M. (1995, 9/22-9/27).  
Genomic structure for the mouse O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase : studies toward gene targeting.  
European Research Conferences : Mechanisms of DNA repair, Giens, France.
13. Sekiguchi, M. (1995, 11/14-11/16,).  
The human *mutT* homologue gene *MTH1* encoding 8-oxo-dGTPase for prevention of A : T to C : G transversion.  
The twenty-sixth International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund : Genomic Instability and Carcinogenesis, Tokyo.
14. Tsuzuki, T., Sakumi, K., Shiraishi, A., Kawate, H., Igarashi, H., Iwakuma, T., Tominaga, Y., Kawabata, M., and Sekiguchi, M. (1995, 11/29-11/30).  
Targeted disruption of the DNA repair methyltransferase gene in mice.  
The US-Japan Joint Workshop on Transgenic Animal and Carcinogenesis, Honolulu, USA.
15. 續 輝久 (1995, 2/14).  
突然変異を抑制する哺乳動物遺伝子系.  
第12回京都大学ウイルス研究所コロキウム「突然変異の生成とその修復不全による疾患」, 京都.
16. 関口睦夫 (1995, 4/1).  
突然変異と発癌を抑制する遺伝子系.  
第5回別府ハーバーシンポジウム, 別府.
17. 関口睦夫 (1995, 4/6-4/9).  
ミューテーターと発癌の抑制.  
第24回日本医学会総会, 名古屋.
18. 関口睦夫 (1995, 7/6).  
発癌を抑制する遺伝子とその機能.  
九州癌学会特別講演, 佐賀.
19. 関口睦夫 (1995, 9/4-9/7).  
遺伝子の安定性と発がん.  
第1回「先端がん」若手カンファレンス—細胞増殖の制御, 蓼科.
20. 作見邦彦 (1995, 9/4-9/7).  
Targeted disruption of the DNA repair methyltransferase gene in mice.  
第1回「先端がん」若手カンファレンス—細胞増殖の制御, 蓼科.
21. Kawate, H., Ihara, K., Kohda, K., Shiraishi, A., Sakumi, K., and Sekiguchi, M., (1995, 9/4-

- 9/7).
- Mouse O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase for DNA repair.  
第1回「先端がん」若手カンファレンス—細胞増殖の制御, 蓼科.
22. 佐久間孝彦, 阪下日登志, 大久保忠恭, 楯 真一, 小野 晶, 関口睦夫, 森口耿右, 甲斐 莊正恒 (1995, 9/15-9/18).  
大腸菌 Ada 蛋白質の DNA 結合領域と ada box との相互作用.  
第68回日本生化学会大会, 仙台.
23. 関口睦夫 (1995, 9/9).  
突然変異抑制遺伝子の異常と発癌.  
第10回 Biomedicine Symposium 疾病と遺伝子異常, 京都.
24. 富永洋平, 白石明子, 河手久弥, 續 輝久, 関口睦夫 (1995, 10/3-10/5).  
標的組換えによる DNA 修復メチルトランスフェラーゼ遺伝子欠損細胞株の樹立とその解析.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
25. 武富紹信, 中別府雄作, 薬師寺浩之, 鈴木友和, 竹中賢治, 杉町圭蔵, 関口睦夫 (1995, 10/3-10/5).  
ヒト集団における突然変異制御遺伝子の解析.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
26. 松崎洋一郎, 福原正生, 中別府雄作, 関口睦夫, 吉田光昭 (1995, 10/3-10/5).  
HTLV-1感染細胞における O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子の発現抑制.  
第18回日本分子生物学会年会, 名古屋.
27. 續 輝久, 作見邦彦, 白石明子, 富永洋平, 河手久弥, 五十嵐久人, 岩熊智雄, 川畑万寿代, 関口睦夫 (1995, 10/3-10/5).  
アルキル化剤感受性を支配する遺伝子のターゲティング.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
28. 湯浅保仁, 秋山好光, 呉 崎, 睦 世龍, 長崎弘美, 丸山和夫, 岩間毅夫, 野水 整, 馬場正三, 中別府雄作, 関口睦夫 (1995, 10/3-10/5).  
遺伝性腫瘍における突然変異関連遺伝子の解析—hMTH1と hMSH2を中心として.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
29. 関口睦夫, 作見邦彦, 中別府雄作, 白石明子, 河手久弥, 蔡 劍平, 續 輝久 (1995, 10/3-10/5).  
発癌における DNA の内的損傷と複製エラー.  
第54回日本癌学会総会, 京都.

30. 中別府雄作, 石橋 徹, 河手久弥, 関口睦夫 (1995, 10/3-10/5).  
アルキル化剤による DNA 損傷とその修復機構.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
31. 呉 崎, 長崎弘美, 中別府雄作, 関口睦夫, 湯浅保仁 (1995, 10/3-10/5).  
遺伝性非腺腫症性大腸癌におけるミューテーター関連遺伝子 hMTH1の解析.  
第54回日本癌学会総会, 京都.
32. 関口睦夫 (1995, 10/12-10/14).  
哺乳動物の突然変異抑制遺伝子系.  
日本遺伝学会第67回大会, 岡山.
33. 眞木寿治, 藤井慎吾, 青木和博, 菅谷 豊, 秋山昌弘, 田尻達郎, 関口睦夫, Arthur Kornberg (1995, 10/12-10/14).  
自然突然変異の起原.  
日本遺伝学会第67回大会, 岡山.
34. 作見邦彦, 白石明子, 河手久弥, 岩熊智雄, 五十嵐久人, 富永洋平, 續 輝久, 中尾和貴, 中村健司, 勝木元也, 張 紹敏, 清水誠一郎, 石川隆俊, 関口睦夫 (1995, 10/12-10/14).  
MGMT 遺伝子ノックアウトマウス.  
日本遺伝学会第67回大会, 岡山.
35. 関口睦夫 (1995, 10/12-10/14).  
遺伝学のすすめ.  
日本遺伝学会第67回大会公開講演会, 岡山.
36. 関口睦夫 (1995, 11/20).  
DNA に働きかけるタンパク質.  
第 2 回構造生物学フォーラム「蛋白質と核酸の相互作用」, 大阪.
37. 續 輝久, 作見邦彦, 白石明子, 河手久弥, 富永洋平, 五十嵐久人, 岩熊智雄, 川畑万寿代, 藤井喜充, 関口睦夫 (1995, 12/6-12/9).  
標的遺伝子組換えによる突然変異を制限する遺伝子系の解析.  
第18回日本分子生物学会年会, 名古屋.
38. 松崎洋一郎, 福原正生, 中別府雄作, 関口睦夫, 吉田光昭 (1995, 12/6-12/9).  
HTLV-1感染細胞における O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子の発現抑制.  
第18回日本分子生物学会年会, 名古屋.
39. 蔡 劍平, 井原健二, 河手久弥, 藤井喜充, 中別府雄作, 續 輝久, 関口睦夫 (1995, 12/6-12/9).  
部位特異的アミノ酸置換法によるヒト MTH1変異型蛋白質の作製と解析.

第18回日本分子生物学会年会，名古屋。

40. 薬師寺浩之，中別府雄作，Z.S.Deng，大坪俊夫，関口睦夫（1995，12/6-12/9）。

Polymorphic alteration of human MTH1 protein and its function for suppression of spontaneous mutagenesis.

第18回日本分子生物学会年会，名古屋。

41. 五十嵐久人，加隈哲也，富永洋平，西田純一，續 輝久，関口睦夫（1995，12/6-12/9）。

マウス *MTH1* 遺伝子の発現機構の解析：MTH1蛋白質の臓器別分布とプロモーター領域の解析。

第18回日本分子生物学会年会，名古屋。

42. 小田尚伸，中別府雄作，古市正人，関口睦夫（1995，12/6-12/9）。

自然突然変異を制御するヒト *MTH1* 遺伝子の構造と発現。

第18回日本分子生物学会年会，名古屋。

43. 武富紹信，中別府雄作，D.J.Hart，井原健二，古市正人，関口睦夫。（1995，12/6-12/9）。

Ada 蛋白質メチル基受容部位の転写活性化における役割。

第18回日本分子生物学会年会，名古屋。