

[0015]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2000年

<https://doi.org/10.15017/6246>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 15, 2001-09. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン :
権利関係 :

生化学部門

Department of Biochemistry

生物にとって、その遺伝情報を担うゲノム DNA を細胞から細胞へ、親から子へと正確に伝え維持することは最も基本的な生物学的機能であるが、ゲノム DNA やその前駆体であるヌクレオチドは、酸素呼吸の過程で必然的に発生する活性酸素や生体防御のために生体が能動的に産生する活性酸素によって酸化される危険に常に曝されている。活性酸素に曝された DNA やヌクレオチドプール中には種々の塩基あるいはヌクレオチドの酸化体が生じるが、このような酸化的 DNA 損傷は修復されないと突然変異を引き起こすことで細胞のがん化の原因となり、あるいは細胞死を引き起こすことで脳・神経変性疾患など多くの変性疾患の原因になると考えられる。本部門では、活性酸素による増殖性細胞の障害として「がん」に、また非増殖性細胞の障害として「神経細胞死」に注目し、「活性酸素によるゲノム障害とその防御機構」の解明を進めている。

ゲノムが障害を受けると多くの遺伝子の発現が変動し、その後の細胞運命が決定されるようである。Jun や Fos は、ゲノムの障害により発現が誘導される一群の核内転写因子であり、その発現は細胞の増殖・分化そして細胞死など細胞運命の決定に関わる。本部門では、さらにゲノム障害を受けた細胞の運命がいかなるメカニズムで決定されるのか、jun/fos ファミリの遺伝子を中心に細胞レベルと個体レベルで「jun/fos 遺伝子による細胞運命決定機構」の解明を進めている。

当部門の研究課題の「活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構」は、平成 10 年 12 月 1 日より平成 15 年 11 月 30 日までの 5 年間、科学技術振興事業団の戦略的基礎研究推進事業（研究領域「脳を守る」）からの研究費のサポートを受けている。

平成 12 年度の人事異動は次の通りであった。平成 12 年 4 月 1 日付けで、大野みずき、足立尚美の 2 名が科学技術振興事業団からの派遣職員として赴任した。医学系研究科大学院生として一年次の三浦智史（分子常態医学専攻）、久留島秀朗（臓器機能医学専攻）、吉村大輔（臓器機能医学専攻）の 3 名と、山崎勝久が東京医科歯科大学大学院から特別研究学生として新たに加わった。科学技術振興事業団からの派遣職員の青木奈緒が、平成 12 年 9 月 30 日付けで退職した。日本学術振興会外国人特別研究員の許萍は、平成 12 年 9 月 30 日付けで研究員を終了し、引き続き科学技術振興事業団からの派遣職員として平成 12 年 10 月 1 日付けで赴任した。また、イランからの国費留学生 Mehrdad Behmanesh が研究生として平成 12 年 10 月 1 日付けで入学した。

A. 活性酸素によるゲノム障害とその防御機構に関する研究

DNA の酸化損傷の中でもプリン塩基（アデニンとグアニン）の酸化体、8 - オキシグアニン

(8-oxoG) と 2 ヒドロキシアデニン (2-OH-A) による脳・神経細胞の障害とその防御機構の解明を目的として、酸化プリンヌクレオチドの DNA への取込みを抑制する酵素と DNA 中に取り込まれた酸化プリンあるいは DNA の直接酸化によって生じた酸化プリンの除去修復に関わる 4 つの遺伝子 (MTH1 , OGG1 , MYH , APE2) とその産物の解析を進め、以下に述べる成果をあげた (表 1) .

表 1 . 核酸の酸化に起因する DNA 障害を抑制する酵素群

酵素	2-OH-A/Adenine DNA グリコシラーゼ	8-oxoG DNA グリコシラーゼ	脱塩基部位特異的 エンドヌクレアーゼ	酸化プリンヌクレオチド 三リン酸分解酵素
機能				
遺伝子	human: <i>hMYH</i>	human: <i>hOGG1</i>	human: <i>hAPE2</i>	human: <i>hMTH1</i>
細胞内 局在	Nucleus Mitochondria	Nucleus Mitochondria	Nucleus Mitochondria	Nucleus/Cytoplasm Mitochondria
発現 組織	Thymus > Brain, Testis, Kidney, Spleen, Ovary	Brain > Thymus, Testis, Kidney, Spleen, Ovary	Kidney, Brain	Thymus, Testis, Kidney, Spleen, Ovary > Brain
疾患で の発現	ND	SAH (), ALS () AD (): NFT(+)	ND	PD (), ALS () AD (CA3), Tumor()
KO mice	(-/-): 生存 (Lung Cancer)	(-/-): 生存 (Lung Cancer)	(-): 生存	(-/-): 生存 (Lung Cancer) (Liver Cancer) (Stomach Cancer)

SAH : クモ膜下出血, ALS : 筋萎縮性側索硬化症, AD : アルツハイマー病, PD : パーキンソン病, ND 未解析
GO : 8-oxoguanine, AO : 2-hydroxyadenine, □ : 脱塩基部位

a. 新規 AP エンドヌクレアーゼ (APE2) のクローニングと解析

MYH や OGG1 により損傷塩基が除去された後に生じる脱塩基部位は、脱塩基部位特異的エンドヌクレアーゼ (AP エンドヌクレアーゼ) が作用して一本鎖が切断された後、DNA ポリメラーゼやリガーゼによる修復合成が行われ、塩基除去修復反応が完了する。OGG1 と MYH は核に加えてミトコンドリアで機能することから、ミトコンドリアで機能する AP エンドヌクレアーゼが必須である。しかし、これまで核型の AP エンドヌクレアーゼ (APE1) の存在は明らかにされていたが、ミトコンドリア型の酵素については不明であった。我々はヒトゲノムデータベースからミトコンドリア移行シグナル (MTS) を持つ AP エンドヌクレアーゼをコードすると予想されるゲノム領域を特定し、その配列から予想される cDNA クローンを単離することにより、新たな AP エンドヌクレアーゼ (APE2) を同定した。我々は、APE2 蛋白質の MTS-GFP 融合蛋白質がミトコンドリアに移行すること、さらに免疫電顕法により APE2 蛋白質がヒト細胞のミトコンドリアの内膜近傍に局在する事を明らかにした。

APE2 のカルボキシ末端に PCNA 結合配列と相同なアミノ酸配列が見いだされたので、その PCNA

との会合の可能性を免疫沈降法および *in vitro* Pull-down 法により解析したところ、APE2 はそのカルボキシ末端の PCNA 結合配列を介して PCNA と細胞内で結合することが明らかになった。さらに、複製にカップルした塩基除去修復反応で修復される塩基損傷を誘発すると、細胞核内で PCNA と APE 2 の共存フォーカスが顕著に増加し、APE2 が複製にカップルした塩基除去修復に関与することが示唆された (Nucleic Acids Res. 29(11):2349-2360.)。

b. マウス *ape2* 遺伝子のクローニングと遺伝子欠損 ES 細胞及びマウスの樹立

ヒト APE2 cDNA をプローブとしてマウス *ape2* cDNA および遺伝子をクローニングした。マウス *ape2* 遺伝子はヒト同様 X 染色体上に位置し、5-アミノレブリン酸合成酵素をコードする ALAS2 遺伝子の下流に逆方向に存在する。マウス *ape2* 遺伝子は 16.5Kb のサイズで、6 つの exon からなる (論文準備中)。intron 5 の一部と exon 6 の一部をネオマイシン耐性遺伝子カセットで置換する標的遺伝子組換えベクターを作製し、このベクターを ES 細胞に導入後相同組換えを起こした 10 クローンを樹立した。2 クローンの *ape2* 遺伝子欠損 ES 細胞から遺伝子欠損マウスを樹立し、現在長期観察ともどし交配を進めている。

c. ヒト MTH1 蛋白質の基質認識機構の解析

ヒト MTH1 (hMTH1) は大腸菌ホモログ MutT と異なり、8-oxo-dGTP に加えて dATP の酸化体 (2-OH-dATP/8-oxo-dATP) と ATP の酸化体 (2-OH-ATP/8-oxo-ATP) をより効率良く分解する (Nucleic Acids Res., 28, 3240-3249, 29, 449-454)。hMTH1 による酸化ヌクレオチド認識の分子機構を明らかにする目的で、まず hMTH1 の基質認識に関わる可能性のある 2 つの領域として hMTH1 の活性中心である phosphohydrolase module と MutT に存在しない MTH1 の C 末端の 25 アミノ酸付加配列に注目して解析した。しかしながら、この 2 つの領域はそれぞれ活性中心として、あるいは蛋白質の構造の安定化に必須であるものの、基質認識には関与しないことが明らかになった。次に、hMTH1 蛋白質と 8-oxo-dGDP あるいは 2-OH-dADP の複合体の NMR 解析をおこなったところ、3 つのアミノ酸残基 (Phe27, Trp117, Asp119) に同程度の化学シフト変化が観察され、8-oxo-dGDP と 2-OH-dADP がこれら 3 つのアミノ酸残基に同様に相互作用することが示唆された。そこで、これらの 3 つの残基についてそれぞれにアミノ酸置換変異体を作成しその基質特異性の変化を詳細に解析した。その結果、Trp117 が 2 つの酸化ヌクレオチドの認識に必須であること、Phe27 が 2-OH-dATP より 8-oxo-dGTP の認識により重要であること、さらに Asp119 が 2-OH-dATP の認識に不可欠であることが明らかになった (論文準備中)。

d. Alzheimer 病における hOGG1 および hMTH1 の免疫組織化学的検討

hMTH1 とミトコンドリア型 OGG1 (hOGG1-2a) の発現を Alzheimer 病 (AD) について免疫組織化学的に検討した。hMTH1 と hOGG1-2a (ミトコンドリア型) は正常脳で主に神経細胞に認めら

れ、hMTH1 は海馬（特に苔状線維系）に、hOGG1-2a は大脳新皮質に強く発現する傾向がみられた。AD において hMTH1 は CA3 で、hOGG1-2a は前頭葉で染色性が低下し、酸化損傷に対する防御機構が減退していると考えられた。hOGG1-2a は神経原線維変化の見られる部位にも一致して発現しており、その形成にミトコンドリアの機能障害や活性酸素ストレスが関与する可能性が示唆された（Acta Neuropathol., 印刷中）。

e. 脳腫瘍における 8-oxo-dG および hMTH1 の免疫組織化学的検討

種々の脳腫瘍における 8-oxo-dG の蓄積と hMTH1 の発現を免疫組織化学的に解析したところ、グリオーマなどにおいて悪性度が高いほど 8-oxo-dG の蓄積が亢進し、かつ hMTH1 が高発現していることが明らかになり、脳腫瘍において活性酸素ストレスが亢進している可能性が示唆された。以上の結果は、脳腫瘍の悪性化に何らかの酸化ストレスが関与し、さらに hMTH1 の発現レベルが脳腫瘍の悪性度の指標として有効である事を意味する（Neuro-oncol., 3, 73-81）。

なお、ヒト脳・神経変性疾患については医学研究院附属脳神経病研究施設病理部門（岩城徹教授）のグループとの共同研究である。

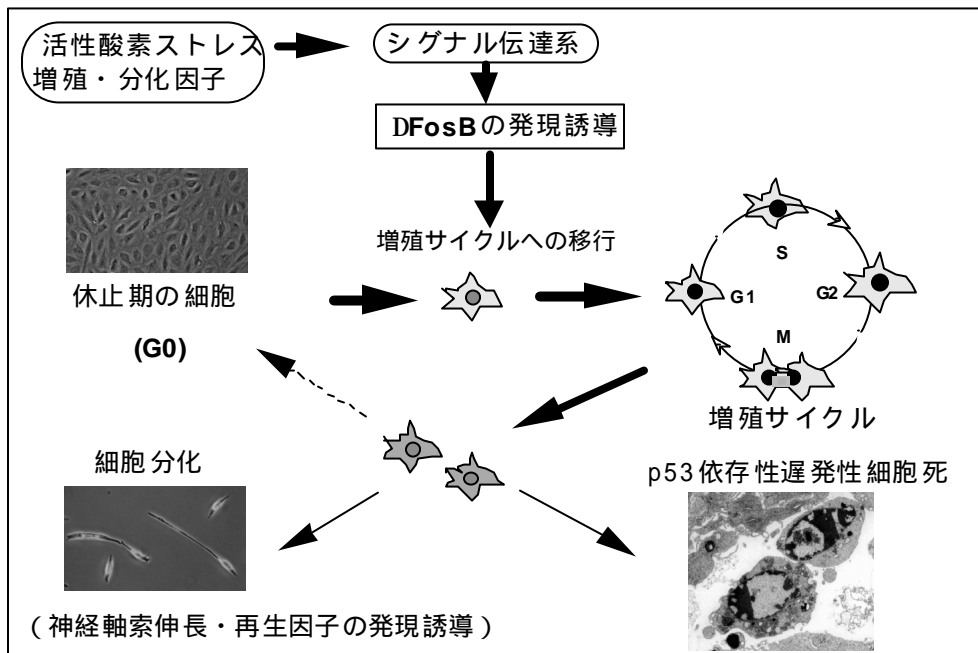
B. jun/fos 遺伝子による細胞運命決定機構に関する研究

海馬の神経細胞は虚血再還流障害に対し異なる感受性を示す。歯状回や CA3 の神経細胞は虚血後ほとんど脱落しないが、CA1 の神経細胞は遅発性の細胞死に陥る。前初期遺伝子 fosB の発現は、虚血再還流直後に歯状回や CA3 で顕著に増加する。一方、CA1 では細胞死の直前にその発現が増加する。我々はこれらの結果から fosB が神経細胞の運命の決定に関わると仮定し、2 つのラット胚由来培養細胞株で fosB 遺伝子産物の機能解析を進めた（図 1）。また、ラット大脳での fosB 遺伝子発現の詳細な解析を行い、fosB 遺伝子の脳内発現パターンの解明を進めている（Neuroscience, 98, 535-547; Synapse, 39, 122-132; Exp. Neurol., 168, 392-401）。

a. ΔFosB 発現による Rat3Y1 細胞の分化の制御機構の解析

FosB を強制発現させた Rat3Y1 細胞は 1 回細胞分裂した後増殖を停止し、細胞内アクチンの重合低下を伴った頻繁な形態変化と運動性の亢進を示した。FosB 発現細胞でも同様の現象が観察されたが、その程度は FosB 発現細胞より軽度であった。2 次元電気泳動法により FosB 誘導後に顕著に発現が変化した蛋白質を複数同定し、それぞれの配列を解析したところ、このうち 2 つの蛋白質が神経軸索伸長因子あるいは軸索再生因子として機能する Galectin-1 とその新規イソフォームであることが明らかになった（論文準備中）。

図 1 . DFosBによる細胞運命の制御



b. Δ FosB 発現による Rat1a 細胞の遅発性細胞死制御機構の解析

FosB を強制発現させた Rat1a 細胞では 1 回の DNA 複製・核分裂・細胞分裂が同調して進行する。しかし、72 時間後にはほとんどの細胞が死滅した。このような細胞死は FosB 発現細胞では全く観察されなかった。 Δ FosB の発現誘導 4-8 時間後には電子顕微鏡観察でアポトーシス小体が確認され、さらに核の凝縮と核 DNA の断片化が観察された。以上より、FosB は Rat1A 細胞に遅発性のアポトーシスを誘発すると結論された。FosB に依存した細胞増殖は Cdk2, Cdc2 特異的な阻害剤で抑制されたが細胞死は抑制されなかったことより、FosB によるアポトーシスは細胞増殖に依存しない経路であることが明らかになった。さらに FosB によるアポトーシスは、Caspase-3 及び Caspase-9 の阻害剤の添加により阻害されたが、Caspase-8 の阻害剤では阻害されなかった。FosB によるアポトーシスは p53 の antisense oligonucleotide により部分的抑制されたことから、p53 依存性である可能性が示唆された(論文準備中)。

c. JSAP1 による神経分化の制御機構の解析

FosB は機能複合体として Jun とヘテロダイマーを形成して作用するが、この複合体の機能は Jun のリン酸化によって制御される。我々は、Jun リン酸化酵素 (JNK) のスキャフォールド蛋白質として同定した JSAP1 の生理的機能を明らかにする目的で jsap1 遺伝子および cDNA を

単離しその構造を決定した (Gene, 255, 229-234). さらに, jsap1 遺伝子欠損 ES 細胞株を樹立し, 得られたキメラマウスから jsap1 遺伝子ヘテロ欠損マウスの樹立を進めたが, これまでのところ 2 系統の ES 細胞から得られた複数のキメラマウスからは, jsap1 遺伝子ヘテロ欠損マウスは得られていない. jsap1 はヘテロ欠損でも胚性致死となる可能性が示唆された. そこで, ヘテロの jsap1 遺伝子欠損細胞株を高濃度の G418 存在下で選択し, ホモの jsap1 遺伝子欠損細胞株を樹立した. これら細胞株の *in vitro* 分化系における表現形質の解析から, JSAP1 は ES 細胞からの神経細胞の分化過程に重要であることを示す結果を得た. 現在, jsap1 欠損細胞の詳細な解析を進めている.

なお, 本研究は, 金沢大学がん研究所の善岡克次博士との共同研究である.

業績目録

原著論文

1. Morifuji, M., Taniguchi, S., Sakai H., Nakabeppu, Y., and Ohishi, M. 2000. Differential Expression of Cytokeratin in Newly Established Human Tongue Cancer Cell Lines of Defined Metastatic Ability with Orthotopic Implantation. *Am. J. Pathol.* 156 (4), 1317-1326.
2. Miyako, K., Takamatsu, C., Umeda, S., Tajiri, T., Furuichi, M., Nakabeppu, Y., Sekiguchi, M., Hamasaki, N., Takeshige, K. and Kang, D. 2000. Accumulation of Adenine DNA Glycosylase-sensitive Sites in Human Mitochondrial DNA. *J. Biol. Chem.*, 275 (16), 12326-12330.
3. Schwartz, W.J., Carpino, JR, A., De La Iglesia, H.O., Baler, R., Klein, D.C., Nakabeppu, Y. and Aronin, N. 2000. Differential regulation of *fos* family genes in the ventrolateral and dorsomedial subdivisions of the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*, 98 (3), 535-547.
4. Takama, F., Kanuma, T., Wang, D., Nishida, J., Nakabeppu, Y., Wake, N. and Mizunuma, H. 2000. Mutation analysis of the hMTH1 gene in sporadic human ovarian cancer. *Int. J. Oncol.*, 17(3):467-471.
5. Shimokawa, H., Fujii, Y., Furuichi, M., Sekiguchi, M. and Nakabeppu, Y. 2000. Functional significance of conserved residues in the phosphohydrolase module of *E. coli* MutT protein. *Nucleic Acid Res.*, 28 (17), 3240-3249.
6. Shiraishi A, Sakumi K, Sekiguchi M. 2000. Increased susceptibility to chemotherapeutic alkylating agents of mice deficient in DNA repair

methyltransferase.

Carcinogenesis. 21(10), 1879-83.

7. Ito, M., Akechi, M., Hirose, R., Ichimura, M., Takamatsu, N., Xu, P., Nakabeppu, Y., Tadayoshi, S., Yamamoto, K. and Yoshioka, K. 2000.
Isoforms of JSAP1 scaffold protein generated through alternative splicing. *Gene*, 255, 229-234.
8. Fujikawa, K., Kamiya, H., Yakushiji, H., Nakabeppu, Y. and Kasai, H. 2001.
The human MTH1 protein hydrolyzes the oxidized ribonucleotide, 2-hydroxy-ATP.
Nucleic Acids Res., 29 (2), 449-454
9. Liang, R., Igarashi, H., Tsuzuki, T., Nakabeppu, Y., Sekiguchi, M., Kasprzak, K.S. and Shiao, Y-H. 2001.
Presence of potential nickel-responsive element(s) in the mouse *MTH1* promoter.
Ann. Clin. Lab. Sci., 31, (1) 91-98.
10. Rodriguez, J.J., Garcia, D.R., Nakabeppu, Y. and Pickel, V.M. 2001.
FosB in rat striatum: normal regional distribution and enhanced expression after 6-month haloperidol administration.
Synapse, 39 (2), 122-132.

総説

1. 中別府雄作 . 2000 .
パーキンソン病における酸化ストレスとミトコンドリア障害
神経研究の進歩, 「特集 パーキンソン病最前線」, 第44巻, 第4号, 505-515 .
2. 作見邦彦 . 2001 .
DNA修復酵素MGMTによってコントロールされるアルキル化抗がん剤感受性
最新医学 (特集 癌の分子標的療法), 第56巻, 第3号, 404-410.

著書

1. 中別府雄作, 2000 .
「アポトーシスを抑制して病気の進展を予防することは可能か？」
アポトーシスと疾患 中枢神経疾患編 . (水野美邦編), 医薬ジャーナル社, p198-213 .
2. 作見邦彦, 服部和枝, 関口睦夫, 穴井元昭, 中別府雄作 (共訳), 2000 .
遺伝子操作の原理, PRINCIPLES OF GENE MANIPULATION 5RD ED . 培風館, (R.W. オールド, S.W. プリムローズ共著)

学会発表

1. 酒井康成, 小田尚伸, 古市正人, 中別府雄作 . (2000, 4/15)
遺伝子多型にともなうヒト MTH1 蛋白質の細胞内局在の変化 .
第一回日本がん分子疫学研究会, 東京 .
2. 作見邦彦 . (2000, 6/15)
アルキル化抗癌剤に対する感受性を制御する遺伝子 MGMT .
第 4 回がん分子標的治療研究会総会, 第 13 回日本臨床腫瘍研究会, 名古屋 .
3. 中別府雄作 . (2000, 7/10)
活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構 : DNA の損傷と修復の関わり .
新適塾第 41 回「千里神経懇話会」, 大阪 .
4. 中別府雄作 . (2000, 9/13)
核酸の自然酸化に起因する生体の障害とその防御機構 .
ワークショップ「DNA Repair and Mutagenesis 2000」, 仙台 .
5. 中別府雄作 . (2000, 9/28)
活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構 .
岡崎国立共同研究機構生理学研究所・大阪大学蛋白質研究所合同セミナー「ポストゲノム時代の脳科学」, 岡崎 .
6. 中別府雄作 . (2000, 10/12)
活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構 .
第 7 3 回日本生化学会大会, 横浜 .
7. 中別府雄作 . (2000, 10/19)
活性酸素による脳・神経細胞の障害とその防御機構 : DNA の損傷と修復の関わり .
第 43 回日本神経化学会大会, 金沢 .
8. 田原一樹, 北川雅敏, 富永洋平, 中別府雄作 . (2000, 12/13)
FosB による遅延型アポトーシスの誘導 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
9. 中別府雄作 . (2000, 12/14)
ヒト神経組織における酸化的 DNA 損傷とミトコンドリア DNA 修復酵素の発現 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
10. 許萍, 善岡克次, 富永洋平, 児矢野聡, 伊藤道彦, 西岡智子, 木下徳彦, 中別府雄作 . (2000, 12/14)
JNK カスケードスキャフォールド蛋白質 JSAP1 欠損 ES 細胞株の樹立と解析 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
11. 藤川勝義, 紙谷浩之, 薬師寺浩之, 中別府雄作, 葛西宏 . (2000, 12/14)
ヒト MTH1 による酸化リボヌクレオチド, 2-ヒドロキシ-ATP の特異的分解 .

- 第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
12. 大西克典，作見邦彦，富永洋平，中別府雄作．(2000， 12/15)
標的遺伝子組換えによるマウス fosB 遺伝子の択一的スプライシングの制御．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 13. 井手康人，富永洋平，土本大介，酒井康成，今磯泰幸，中別府雄作．(2000， 12/16)
マウス新規 AP endonuclease 候補遺伝子 APE2 のクローニングと遺伝子欠損 ES 細胞株の樹立．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 14. 山口浩雄，富永洋平，作見邦彦，古市正人，許萍，續輝久，関口睦夫，中別府雄作．(2000， 12/16)
マウス中脳ドパミンニューロンにおける酸化障害と DNA 修復酵素の発現．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 15. 酒井康成，古市正人，岩井成憲，中別府雄作．(2000， 12/16)
ヒト MTH1 蛋白質のカルボキシル末端領域の機能解析．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 16. 松倉史朗，副島英伸，中川内哲治，薬師寺浩之，小川明臣，宮崎耕治，中別府雄作，関口睦夫，向井常博．(2000， 12/16)
MGMT と hMLH1 プロモーター領域の DNA メチル化の検討．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 17. 大野みずき，古市正人，作見邦彦，富永洋平，許萍，續輝久，関口睦夫，中別府雄作．(2000， 12/16)
マウス脳海馬における酸化障害と DNA 修復酵素の発現．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 18. 平野世紀，富永洋平，中別府雄作．(2000， 12/16)
マウス MYH 遺伝子ホモ欠損 ES 細胞株の樹立とその解析．
第 23 回日本分子生物学会年会，神戸．
 19. Tsuchimoto, D., Sakai, Y., Sakumi, K., Nishioka, K., Sasaki, M., Fujiwara, T. and Nakabeppu, Y. (2001/1/21-1/26)
Human APE2 protein is mostly localized in the nuclei and to some extent in the mitochondria, while nuclear APE2 is partly associated with proliferating cell nuclear antigen.
Gordon Research Conference on Mammalian DNA Repair, Ventura, California, USA.
 20. 田原一樹，北川雅敏，富永洋平，中別府雄作．(2001， 2/23)
FosB による遅延型アポトーシスの誘導．

- 第4回九州大学生体防御医学研究所 リトリート，別府．
21. 井手康人，富永洋平，土本大介，中別府雄作．(2001，2/23)
マウス新規 AP endonuclease 候補遺伝子 APE2 のクローニングと遺伝子欠損 ES 細胞株の樹立．
第4回九州大学生体防御医学研究所 リトリート，別府．
22. 酒井康成，古市正人，岩井成憲，中別府雄作．(2001，2/23)
ヒト MTH1 蛋白質のカルボキシル末端領域の機能解析．
第4回九州大学生体防御医学研究所 リトリート，別府．
23. 大西克典，作見邦彦，富永洋平，中別府雄作．(2001，2/23)
標的遺伝子組換えによるマウス fosB 遺伝子の択一的スプライシングの制御．
第4回九州大学生体防御医学研究所 リトリート，別府．
24. 平野世紀，富永洋平，中別府雄作．(2001，2/23)
マウス MYH 遺伝子ホモ欠損 ES 細胞株の樹立とその解析．
第4回九州大学生体防御医学研究所 リトリート，別府．