

[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 :

細胞学部門

Department of Molecular and Cellular Biology

細胞学部門では、細胞の基本的性質である細胞周期と細胞死を制御する分子メカニズムを、遺伝学的・生化学的・細胞生物学的・発生工学的手法を用いて研究を進めている。つまり細胞周期や細胞死の制御に関わっていると推測される分子の遺伝子を単離同定し、最終的にはその遺伝子を破壊したマウス（ノックアウトマウス）を人工的に作製し、その異常を調べることによって、その分子の生理的役割を個体レベルで明らかにしようというものである。特に免疫系と神経系の細胞の分化段階特異的な細胞周期と細胞死の制御因子の量的制御機構を選択的蛋白分解の視点から取り組んでいる。

細胞学部門は昨年に引き続き、中山敬一教授、北川雅敏助教授、畠山鎮次助手の教官を中心に大学院生（14名）、日本学術振興会特別研究員（2名）、非常勤研究員（1名）、訪問研究員（1名）科学技術振興事業団派遣職員（研究補助員4名、事務員1名）の体制で研究を進めてきたが、2000年10月1日付けで助教授の北川 雅敏が浜松医科大学医学部第一生化学講座教授として転出し、畠山 鎮次が2000年11月1日付けで助教授に昇格した。助手の後任として嘉村 巧がオクラホマ医学研究機関ハワードヒューズ研究所より2001年1月1日付けで赴任した。

その他の人事異動について、新規参加者としては大学院生として2000年4月より原 太一（九大・農修）が入学し、さらに臨床大学院生として金子 千恵（九大・医・耳鼻科）が研究に参加している。さらに白根 道子（前年度までJST 派遣職員）と服部 公彦（前年度まで研究生）が日本学術振興会特別研究員として、2000年4月より参加している。また訪問研究員として Abbas Fotovati（九大・農博）が2001年3月より参加している。

次いで退職者として前述のように2000年10月1日付けで助教授の北川 雅敏が浜松医科大学医学部第一生化学講座教授として転出した。さらに2001年3月末で大学院生の築山 忠維、山中 篤志、三浦 正徳が学位取得の上卒業した。

1997年11月より当研究室は科学技術振興事業団（JST）による戦略的基礎研究推進事業（CREST）の支援を受けることとなり、研究補助員として安河内亮子（継続）、下原田加代子（継続）、松下純恵（継続）、西村直子（継続）を、事務員として木村美保子（継続）をJST 派遣職員として受け入れている。

A. 新規 I κ B キナーゼ NAK の発見

I κ B の I κ B キナーゼ（IKK）複合体によるリン酸化は I κ B の分解とそれに続く転写因子 NF- κ B の活性化に重要なステップである。IKK 複合体は2つの触媒サブユニットである IKK α と IKK β を含んでいるが、後者はノックアウトマウスを用いた実験によって NF- κ B の活性化には必須でないことが明らかになっている。IKK は IKK β の活性化ループのリン酸化によって活性化されることはわかっているが、外的シグナルに反応する真の I κ B キナーゼは不明であった。我々は IKK 関連キナーゼとして NAK（NF- κ B-activating kinase）と名付けた分子を単離同定し、それが IKK 活性化を引き起こすことを発見した。NAK は IKK β の

上流に位置し、I κ B の分解と NF- κ B の活性化を引き起こす。NAK はホルボールエステルや増殖因子刺激によって活性化される。触媒機能を喪失した変異 NAK はプロテインキナーゼ C (PKC) - ϵ による NF- κ B の活性化を特異的に阻害することから、NAK は PKC- ϵ を活性化するような増殖因子に反応して IKK をリン酸化し、NF- κ B の活性化を引き起こす因子であることが明らかとなった(Tojima *et al.*, Nature 404: 778-782, 2000)。

B. サイクリン E と p27^{Kip1} をユビキチン化する SCF^{Skp2} 複合体の生物学的解析

我々はサイクリン E のユビキチン化依存性タンパク質分解機構に Skp2 が関与していることを明らかにした。Skp2 は SCF 複合体のレセプターサブユニット (F-box タンパク質) であり、サイクリン E や p27^{Kip1} と結合してユビキチンを付加する反応を媒介する分子であることが判明した。サイクリン E と Skp2 の結合はサイクリン E の生理的パートナーである CDK2 が存在すると競合的に阻害されることから、Skp2 は CDK2 に結合していないフリーのサイクリン E のユビキチン化に関与していることが推定される。

Skp2 の個体における生理的重要性を検討するために ES 細胞において Skp2 遺伝子座をジーンターゲットング法によって破壊し、それをマウス胚に顕微注入してキメラマウスを作製し、交配によって Skp2 ノックアウトマウスを作製した。Skp2 ノックアウトマウスはほぼメンデルの法則に則った比率で出生し、特に発癌等の疾病は認められないが、成長が遅延し、その体重は正常コントロールの約 2/3 でしかない。細胞中にはサイクリン E と p27^{Kip1} の特異的な蓄積を認めた。またサイクリン E の細胞周期における量的変動が消失し、サイクリン E が常時発現するようになっていた。Skp2 の基質として報告されていたサイクリン A や E2F-1 は量的には変化を認めなかった。細胞学的には Skp2 を欠失した細胞は増殖が障害され、アポトーシスに陥る細胞が増加していた。細胞は核の腫大、染色体倍数性の増加、中心体数の過剰等の異常が出現し、これは Endoreduplication が起こっているものと推測された。特に肝臓・腎臓・肺・精巣等でこの傾向が強く観察された (Nakayama *et al.*, EMBO J. 19: 2069-2081, 2000)。

C. p27^{Kip1} の主要リン酸化部位に関する生化学的解析

p27^{Kip1} はサイクリン-CDK 複合体と結合することによりそれらのキナーゼ活性を抑制し、細胞増殖を負に制御する CDK インヒビターである。In vivo で p27^{Kip1} はリン酸化され、そのリン酸化の結果、電気泳動度の異なる 2 本のバンドとして検出された。p27^{Kip1} の Ser10 を Ala に置換した変異体(S10A)のリン酸化は顕著に減少し、電気泳動度の変化も消失した。リン酸化ペプチドマッピングとリン酸化アミノ酸解析により、in vivo での Ser10 部位のリン酸化は p27^{Kip1} の全リン酸化量の約 70% を占め、Ser178 部位や Thr187 部位のリン酸化に比べてそれぞれ約 25 倍、75 倍程度強いことが明らかになった。p27^{Kip1} のリン酸化は Ser10 と Pro11 の位置を逆転させると顕著に減少することから、Ser10 部位をリン酸化しているのはプロリン指向性キナーゼであることが示唆された。内在性 p27^{Kip1} の Ser10 部位のリン酸化は、細胞周期の S 期や M 期に比べ、G₀-G₁ 期において明らかに増加していた。Ser10 リン酸化型 p27^{Kip1} は非リン酸化型に比べて、明らかにタンパク質が安定化していた。さらに Ser10 のリン酸化を模した変異体(S10E)では in vivo、in vitro の

両方で wild-type や S10A に比べてそのタンパク質安定性が増していた。これらの結果は、Ser10 部位が p27^{Kip1} の主要リン酸化部位であり、この部位のリン酸化は Thr187 部位のリン酸化と同様 p27^{Kip1} タンパク質安定性に関わることが示唆されたが、そのリン酸化による効果は Thr187 と反対に p27^{Kip1} の安定化に働くことが明らかになった (Ishida *et al.*, J. Biol. Chem. 275: 25146-25154, 2000)。

D. p27^{Kip1} トランスジェニックマウスの作製と解析

T 細胞の増殖は分化特異的に制御されているが、その増殖が分化に必須であるかどうかは依然不明である。CDK インヒビターである p27^{Kip1} は T 細胞の全分化過程を通じて高い発現を示すが、増殖能の高い CD4⁺CD8⁺ ステージの胸腺細胞と活性化された成熟 T 細胞においては例外的にその発現が低下する。その発現低下の生理的な意義を調べるために、我々は p27^{Kip1} を LCK 近位プロモーター下に挿入して T 細胞に強制的に発現させるようなトランスジェニックマウスを作製した。その結果、発現レベルの異なる 3 つのラインを確立した。胸腺における細胞数は p27^{Kip1} の発現が高いラインほど低下し、それは末梢における成熟 T 細胞においても同様であった。T 細胞の分化は CD4⁺CD8⁺CD25⁺CD44^{low} ステージで阻害されていた。トランスジェニックマウスにおける末梢 T 細胞は、抗原刺激に対する免疫応答性が弱く、抗体の産生上昇が強く阻害されていた。さらに二次濾胞の形成も著しく障害されていることなどから、結果として p27^{Kip1} の生理的な発現低下は、T 細胞の分化や増殖、さらには免疫反応において必須の機構であることが明らかとなった (Tsukiyama *et al.*, J. Immunol. 166: 304-312, 2001)。

E. p27^{Kip1} と p57^{Kip2} のマウス胚発生における時空間的発現解析

細胞周期を負に制御する分子であるサイクリン依存性キナーゼ阻害分子である p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} は互いに構造的、機能的に類似した分子である。我々はマウス胎子の発生過程における p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} の組織内発現の経時的变化とその発現様式について免疫染色を行いその解析、比較を行った。胎子の脳、レンズ、神経節、腎臓、心臓、肺、肝臓、皮膚においては、p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} の発現は部位、時期ともに概ね一致することが明らかとなった。またそれが増殖能の喪失や終末分化の時期とほぼ一致することが判明した。一方で網膜、胸腺、脾臓、精巣、卵巣では p27^{Kip1} のみの発現が認められ、逆に口蓋、消化管、膵臓、軟骨、骨格筋においては p57^{Kip2} のみの発現が認められた。副腎においては p27^{Kip1} は髄質のみに発現を認めたのに対し、p57^{Kip2} は皮質においてのみ発現が認められ、また心臓においては p27^{Kip1} が内皮細胞及び心筋細胞において発現が認められるのに対し、p57^{Kip2} は内皮細胞のみにその発現が認められるといった、同一臓器において p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} が異なる発現様式を示す場合も認められた。p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} の組織内発現の経時的变化の解析により p57^{Kip2} は主に胎仔期における器官形成に主にその役割があり、一方 p27^{Kip1} は成体組織における発現が p57^{Kip2} に比べて多く認められることにより、いくつかの臓器においては器官形成のみならず、器官の維持にもその役割があることが推測された。抗 p27^{Kip1} 抗体又は抗 p57^{Kip2} 抗体と抗 BrdU 抗体の蛍光二重染色による解析により p27^{Kip1} 及び p57^{Kip2} の発現は BrdU を取り込んでいない細胞のみに発現が認められることから、これらの分子が実際に個体発生過程においても細胞増殖に関して負の役

割を果たすことが予測された。p27^{Kip1}及びp57^{Kip2}の空間的・時間的な発現様式はそれぞれのノックアウトマウスの表現型をうまく説明することができ、これらの分子が胎仔期の器官発生に重要な役割を担っていることを示唆している (Nagahama *et al.*, *Anat. Embryol* 203: 77-87, 2001)。

F. 哺乳類 E2-C ホモログの細胞周期依存的な分解機構の解明

M 期の進行・脱出において、様々な基質の時期特異的なユビキチン・プロテアソーム系を介したタンパク質分解を必要とする。E2-C はユビキチンリガーゼ(E3)である anaphase-promoting complex (APC/C)と共に M 期の進行・脱出に重要な役割を持つユビキチン結合酵素(E2)の一つである。我々は哺乳類の E2-C (マウス E2-C とヒト E2-C) を単離同定し、は G₂-M 期から出現し始め、M 期を脱出すると急速に分解・消失することを発見した。哺乳類 E2-C は自己ユビキチン化能を有し、自身に数個のユビキチンを共有結合することができる。さらに、E2-C のユビキチン化は APC/C を介して増強され、プロテアソームにより認識されるポリユビキチン化まで進むことがわかった。この哺乳類 E2-C のポリユビキチン化は M 期を脱出した後に起こる。哺乳類 E2-C には APC/C により基質として認識される配列 (デストラクションボックス) と予想される部位が 2 ヶ所存在し、この部位に変異のはいった哺乳類 E2-C ではポリユビキチン化が抑えられ、それにより分解も抑えられた。これらの結果は哺乳類 E2-C はそれ自身も APC/C に依存したタンパク質分解における基質であり、それによる哺乳類 E2-C の周期的な発現は APC/C の活性調節や基質特異性における主要な自己調節機構であることが示唆される (Yamanaka *et al.*, *Mol. Biol. Cell* 11: 2821-2831, 2000)。

業績目録

原著論文

1. Tojima, Y., Fujimoto, A., Delhase, M., Chen, Y., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-i., Kaneko, Y., Nimura, Y., Motoyama, N., Ikeda, K., Karin, M., Nakanishi, M. 2000.
NAK is an I κ B kinase-activating kinase.
Nature 404, 778-782.
2. Tanaka, T., Tatsuno, I., Uchida, D., Moroo, I., Morio, H., Nakamura, S., Noguchi, Y., Yasuda, T., Kitagawa, M., Saito, Y., Hirai, A. 2000.
Geranylgeranyl-pyrophosphate, an isoprenoid of mevalonate cascade, is a critical compound for rat primary cultured cortical neurons to protect the cell death induced by 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibition.
J. Neurosci. 20, 2852-2859.
3. Dobashi, Y., Shoji, M., Kitagawa, M., Noguchi, T., Kameya, T. 2000.
Simultaneous suppression of cdc2 and cdk2 activities induces neuronal differentiation of PC12 cells.
J. Biol. Chem. 275, 12572-12580.

4. Nakayama, K., Nagahama, H., Minamishima, Y. A., Matsumoto, M., Nakamichi, I., Kitagawa, K., Shirane, M., Tsunematsu, R., Tsukiyama, T., Ishida, N., Kitagawa, M., Nakayama, K.-i., Hatakeyama, S. 2000.
Targeted disruption of *Skp2* results in accumulation of cyclin E and p27^{Kip1}, polyploidy and centrosome overduplication.
EMBO J. 19, 2069-2081.
5. Ishimi, Y., Komamura-Kohno, Y., You, Z., Omori, A., Kitagawa, M. 2000.
Inhibition of Mcm4,6,7 helicase activity by phosphorylation with cyclin A/Cdk2.
J. Biol. Chem. 275, 16235-16241.
6. Takai, H., Tominaga, K., Motoyama, N., Minamishima, Y. A., Nagahama, H., Tsukiyama, T., Ikeda, K., Nakayama, K., Nakanishi, N., Nakayama, K.-i. 2000.
Aberrant cell cycle checkpoint function and early embryonic death in *Chk1*^{-/-} mice.
Genes Dev. 14, 1439-1447.
7. Kitagawa, K., Kawamoto, T., Kunugita, N., Tsukiyama, T., Okamoto, K., Yoshida, A., Nakayama, K., Nakayama, K.-i. 2000.
Aldehyde dehydrogenase (ALDH) 2 associates with oxidation of methoxyacetaldehyde; in vitro analysis with liver subcellular fraction derived from human and *Aldh2* gene targeting mouse.
FEBS Lett. 476, 306-311.
8. Yamanaka, A., Hatakeyama, S., Kominami, K.-i., Kitagawa, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.-i. 2000.
Cell cycle-dependent expression of mammalian E2-C regulated by the anaphase-promoting Complex/Cyclosome.
Mol. Biol. Cell 11, 2821-2831.
9. Ishida, N., Kitagawa, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-i. 2000.
Phosphorylation at serine 10, a major phosphorylation site of p27^{Kip1}, increases its protein stability.
J. Biol. Chem. 275, 25146-25154.
10. Shimoda, K., Kato, K., Aoki, K., Matsuda, T., Miyamoto, A., Shibamori, M., Yamashita, M., Numata, A., Takase, K., Kobayashi, S., Shibata, S., Asano, Y., Gondo, H., Sekiguchi, K., Nakayama, K., Nakayama, T., Okamura, T., Okamura, S., Niho, Y., Nakayama, K.-i. 2000.
Tyk2 plays a restricted role in IFN α signaling, although it is required for IL-12-mediated T cell function.
Immunity 13, 561-571.
11. Hara, H., Kishihara, K., Matsuzaki, G., Takimoto, H., Tsukiyama, T., Tigelaar, R. E., Nomoto, K. 2000.
Development of dendritic epidermal T cells with a skewed diversity of $\gamma\delta$ TCRs in *V δ 1*-deficient mice.
J. Immunol. 165, 3695-3705.
12. Sato, N., Mizumoto, K., Nakamura, M., Ueno, H., Minamishima, Y. A., Farber, J. L., Tanaka, M. 2000.
A possible role for centrosome overduplication in radiation-induced cell death.

- Oncogene 19, 5281-5290.
13. Tsukiyama, T., Ishida, N., Shirane, M., Minamishima, Y. A., Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Nakayama, K., Nakayama, K.-i. 2001.
Down-regulation of p27^{Kip1} expression is required for development and function of T cells.
J. Immunol. 166, 304-312.
 14. Nagahama, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Nagata, M., Tomita, K., Nakayama, K.-i. 2001.
Spatial and temporal expression patterns of the cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors p27^{Kip1} and p57^{Kip2} during mouse development.
Anat. Embryol. 203, 77-87.

総説

1. 北川雅敏. 2000.
RB 経路による細胞周期の制御機構
実験医学 (増刊)「細胞周期研究のフロンティア」 18, 857-862.
2. 白根道子. 2000.
p27^{Kip1} における 2 つの分解機構.
実験医学 (増刊)「細胞周期研究のフロンティア」 18, 910-916.
3. 畠山鎮次. 2000.
サイクリン E のユビキチン依存性分解機構.
実験医学 (増刊)「細胞周期研究のフロンティア」 18, 884-890.
4. 中山敬一, 中山啓子. 2000.
SCF 複合体: 千の顔を持つユビキチンリガーゼ.
実験医学 18, 1457-1464.
5. 中西真, 中山敬一. 2000.
G2/M 期チェックポイントにおける Chk1 の機能.
実験医学 18, 1814-1816.
6. 畠山鎮次, 中山敬一. 2000.
NF-κB と Wnt シグナルを制御するユビキチン-プロテアソーム依存性タンパク質分解システム.
Molecular Medicine (増刊)「免疫 2000-01」 37, 52-68.
7. 服部公彦, 中山敬一. 2000.
細胞内タンパク質の分解制御を担うユビキチンシステム: SCF 複合体によるユビキチン化
化学と生物 38, 653-660.
8. 矢田雅佳, 中山敬一. 2000.
真核生物におけるユビキチン-プロテアソーム介在性蛋白質分解機構.

臨床免疫 34, 495-503.

9. 中山敬一. 2000.
ノックアウトマウスリスト 細胞死：制御
生体の科学（増刊） 51, 424-425.
10. 畠山鎮次. 2001.
I κ B の分解を制御するユビキチンリガーゼ複合体 SCF^{Fbw1}.
実験医学（増刊）「タンパク質分解の最前線 2001」 19, 168-175.
11. 中山敬一, 中山啓子. 2001.
SCF 複合体の多面的な作用機構.
実験医学（増刊）「タンパク質分解の最前線 2001」 19, 132-141.

著書

1. 中山啓子, 中山敬一. 2000.
マウスを用いた細胞周期異常の解析
医学&サイエンスシリーズ わかる細胞周期と癌（田矢洋一 編, 羊土社, 東京）102-109
2. 北川雅敏. 2000.
タンパク質分解システムと細胞周期の制御機構
医学&サイエンスシリーズ わかる細胞周期と癌（田矢洋一 編, 羊土社, 東京）68-76
3. 白根道子, 中山敬一. 2000.
Bcl-2 ファミリー分子群
バイオサイエンス新用語ライブラリー：免疫（斉藤隆・竹森利忠 編, 羊土社, 東京）222-223
4. 中山啓子, 中山敬一. 2001.
CDK インヒビターの機能と発現調節
わかる実験医学シリーズ「細胞周期がわかる」(中山敬一 編, 羊土社, 東京) 44-53
5. 畠山鎮次. 2001.
SCF 複合体型ユビキチンリガーゼによる細胞周期制御
わかる実験医学シリーズ「細胞周期がわかる」(中山敬一 編, 羊土社, 東京) 100-109
6. 中山敬一. 2001.
細胞周期という名のエンジン - その精緻なメカニズムの探究
わかる実験医学シリーズ「細胞周期がわかる」(中山敬一 編, 羊土社, 東京) 12-21
7. 松本雅記, 北川雅敏. 2001.
ユビキチン-プロテアソームシステムによるシグナル分子の量的制御機構
わかる実験医学シリーズ「シグナル伝達がわかる」(秋山徹 編, 羊土社, 東京) 110-117

学会発表

1. Hatakeyama, S., Nakayama, K., Matsumoto, M., Shirane, M., Tsukiyama, T., Minamishima, Y. A., Nakamichi, I., Ishida, N., Kitagawa, M., Nakayama, K.-i. (2000, 5/18).
Ubiquitin-dependent degradation of cyclin E is mediated by a ubiquitin ligase SCF^{Skp2}.
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle", Cold Spring Harbor, NY.
2. Tsukiyama, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Nakayama, K.-i. (2000, 5/19).
Down-regulation of p27^{Kip1} is required for T cell development.
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle", Cold Spring Harbor, NY.
3. Shirane, M., Kitagawa, M., Nakayama, K.-i. (2000, 5/19).
Down-regulation of p27^{Kip1} by two mechanisms, ubiquitin-mediated degradation and proteolytic processing.
Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle", Cold Spring Harbor, NY.
4. 小口健, 中辻祐司, 佐古田三郎, 中山敬一 (2000, 5/25).
反応性グリオース抑制への試み-2.
第41回日本神経学会総会, 松本.
5. 北川雅敏, 中山敬一 (2000, 10/5).
CDK 阻害蛋白質 p27^{Kip1} のリン酸化と分解の制御機構.(ミニシンポジウム)
第59回日本癌学会総会, 横浜.
6. 中山啓子, 畠山鎮次, 北川雅敏, 小南欽一郎, 中山敬一 (2000, 10/6).
染色体倍数性及び中心体複製に異常をきたすノックアウトマウスの解析.(シンポジウム)
第59回日本癌学会総会, 横浜.
7. 中山敬一, 畠山鎮次, 北川雅敏, 小南欽一郎, 中山啓子 (2000, 10/6).
Rb 経路の上流に位置するサイクリン E と p27^{Kip1} の蛋白分解機構.(シンポジウム)
第59回日本癌学会総会, 横浜.
8. 中山敬一, 畠山鎮次, 北川雅敏, 小南欽一郎, 中山啓子 (2000, 10/12).
サイクリン E 及び p27^{Kip1} のユビキチン化因子のノックアウトマウスによる機能解析.(シンポジウム)
第73回日本生化学会大会, 横浜.
9. 李勝範, 東島由一郎, 藤田史岳, 北村賢三, 山田千里, 畠山鎮次, 中山敬一, 本山昇, 池田恭治, 中西真 (2000, 10/14).
IKK 活性化キナーゼとしての NAK の同定とその遺伝子構造.
第73回日本生化学会大会, 横浜.
10. 兼松隆, 吉村研治, 鍋倉淳一, 赤池紀生, 中山啓子, 中山敬一, 平田雅人 (2000, 10/14).
GABAA 受容体情報伝達における p130, 新規 IP3 結合蛋白質の役割.
第73回日本生化学会大会, 横浜.

11. 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一 (2000, 11/15).
NF- κ B シグナル及び細胞周期制御に関するユビキチンリガーゼ: FWD1 と Skp2 .
第 30 回日本免疫学会年会, 仙台 .
12. Nakayama, K.-i. (2000, 11/17).
SCF ubiquitin ligase regulating cell cycle and NF- κ B signaling .(Invited speaker)
US-Japan and German-Japan Joint Immunology Meeting , Sendai, Japan .
13. 中山敬一 (2000, 12/8).
細胞周期をコントロールするユビキチン化システム: 肝細胞を中心に .(招待講演)
肝再生研究会, 東京 .
14. 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一 (2000, 12/15).
ユビキチンリガーゼ SCF^{Skp2} によるサイクリン E と p27^{Kip1} の発現制御: ノックアウトマウスを用いた解析から .(シンポジウム)
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
15. 山中篤志, 矢田雅佳, 今木裕幸, 大島靖美, 中山敬一 (2000, 12/15).
C. elegans SKP1 ファミリーの生化学的及び機能的解析 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
16. 北川恭子, 川本俊弘, 樺田尚樹, 中山啓子, 中山敬一 (2000, 12/15).
Aldehyde dehydrogenase(ALDH)2 遺伝子多型の methoxyacetaldehyde(MALD)代謝への影響 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
17. 石田典子, 北川雅敏, 畠山鎮次, 中山敬一 (2000, 12/16).
p27^{Kip1} の安定性に関わる主要リン酸化部位 Ser10 の機能解析 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
18. 北川雅敏, 原太一, 石田典子, 三浦正徳, 中山啓子, 中山敬一 (2000, 12/16).
CDK 阻害蛋白質 p27^{Kip1} のリン酸化シグナルと分解の制御機構 .
第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸 .
19. Nakayama, K., Nagahama, H., Kitagawa, M., Nakayama, K.-i. (2001, 1/11).
Generation and characterization of *Skp2*^{-/-} *p27*^{-/-} doubly knockout mice .
Keystone Symposia "Cell Cycle 2001" , Taos, NM .
20. Ishida, N., Kitagawa, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K.-i. (2001, 1/11).
Phosphorylation at serine-10, a major phosphorylation site of p27^{Kip1}, increases its protein stability .
Keystone Symposia "Cell Cycle 2001" , Taos, NM .
21. Nakayama, K.-i. (2001, 1/31).
Regulation of the cell cycle at the G₁-S transition by proteolysis of cyclin E and p27^{Kip1} .(Invited speaker)
Molecular network of G₁-S regulation in eukaryotic cells: from G₁ regulators to DNA replication machinery ,

Tokyo, Japan .

22. Nakayama, K.-i. (2001 , 2/24).

Gene targeting of SCF ubiquitin ligase in mice . (Invited speaker)

The 10th Hot Spring Harbor Symposium "Molecular aspects of complex systems" , Beppu, Japan .