

## 生化学部門

### Department of Biochemistry

本部門では引き続き生命現象の根幹をなす遺伝子に関して「その突然変異の制御と複製の精度維持機構」について大腸菌からヒトまで広く研究を進めている。これまでの研究で生物は自らの遺伝情報を守る巧妙な仕組みをいくつか持っていることが分かってきた。それらは便宜的に誘導突然変異と自然突然変異に対するシステムに分けることができる。これまで大腸菌を中心とするこれら2つの突然変異についてその修復酵素系及びそれらの遺伝子構造と発現調節について調べてきたが、数年前から哺乳類についてもそのカウンターパートを調べることで、研究を始めている。また細胞複製の制御についても研究を始めている。現在の研究テーマの柱はO<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA-メチルトランスフェラーゼ（以下MGMT）、8-oxo-dGTPase及びJun, Fosによる細胞複製制御の3つである。

人事異動は次の通りであった。助手の作見邦彦はアメリカカリフォルニア大（バークレイ校）での研究のため9月より渡米した。9月1日付けで續輝久がUtah州立大より助教授として赴任した。11月1日には中別府雄作が医学部生化学より配置換え（助手）となった。

教授の関口は一連のDNA修復機構の研究業績に対して、日本遺伝学会木原賞を受賞した。

#### A. 突然変異原性を持つDNA中のO<sup>6</sup>-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と反応し、その塩基やリン酸基にアルキル基を付加し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メカニズムを明かにする為に、アルキル化DNAの修復酵素を欠く大腸菌株を用いてアルキル化剤によってどのような誘発突然変異がどのような頻度で標的遺伝子*rpsL*（ストレプトマイシン耐性遺伝子）に起こるか、解析を行った。アルキル化剤の中でメチル化剤としてよく知られているメチルニトロソグアニジンやメチルメタンスルホン酸はG:C塩基対のA:T塩基対への変異のみを特異的に誘発することが既に知られている。メチル化剤でDNA中に生じるメチル化塩基の中で、グアニンのO<sup>6</sup>位がメチル化されたO<sup>6</sup>-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。解析の結果変異の塩基配列変化はすべてGC→ATであった。また変異部は*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）に局在することがわかった。このような特異的な突然変異はアルキル化DNAの修復酵素、MGMT遺伝子を導入し発現させることで著しい減少を示した。

##### b. ヒトMGMT遺伝子の研究

(1) 遺伝子の構造と発現制御

ヒトの癌細胞の約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が知られており、この修復酵素の欠損と発癌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<sup>-</sup>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ている。

ヒトMGMTのmRNAは約1 kbと小さく、分子量約25,000のMGMTをコードするが、その遺伝子はクローニングの結果150kbp以上にも及ぶ事が明かになった。図1にその構造の概略を示す。ヒトMGMT遺伝子は4つのエクソンからなり、そのプロモーター領域にはTATAboxがなくG:Cに富む配列が幾つも含まれることから、典型的なhouse keeping geneの1つと考えられる。Mer<sup>-</sup>細胞ではMGMT mRNAが検出されずMGMTも産生されてはいない。しかしながら、Mer<sup>-</sup>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突然変異などは見つかっていない。面白いことに、多くのMer<sup>-</sup>細胞ではこのMGMT遺伝子の全領域にわたってシトシン残基の5位のメチレーションが正常細胞のMGMT遺伝子と比べて極端に減少しており、その表現型との関連が注目される。以上の研究から、Mer<sup>-</sup>細胞はMGMT mRNAを発現していないため、MGMTを欠きアルキル化剤に高度に感受性である事が明かになったが、このMGMT遺伝子非発現の原因は全く不明である。現在、転写開始から転写後のRNAプロセッシング、mRNAの細胞質への移行に至るまで各ステップごとに詳細な解析を進めている。

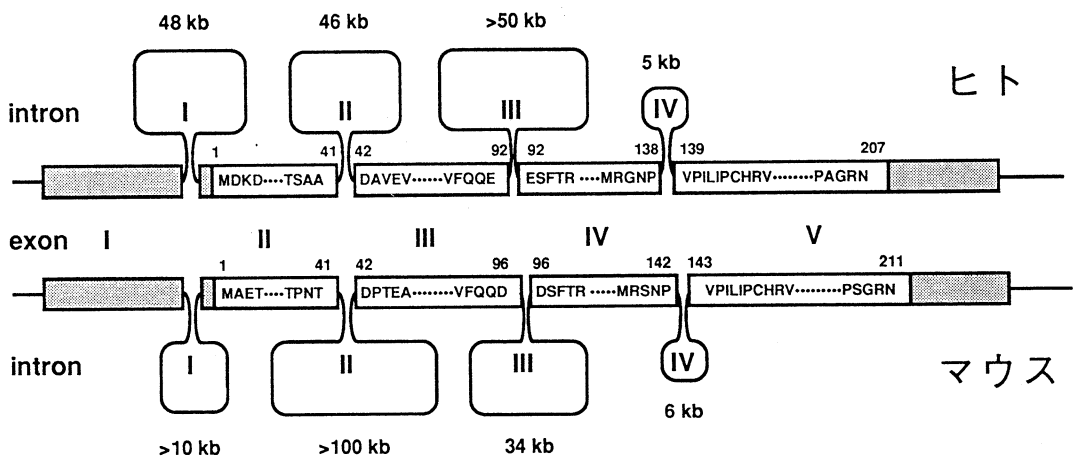


図1. ヒトとマウスのMGMT遺伝子の構造比較  
それぞれの遺伝子についてエクソン、イントロンの構造を示す。

## (2) ヒト MGMT 細胞内分布と機能

真核生物の場合、MGMTのようなDNA修復酵素は核染色体DNAの修復に関与することから、核内に存在して機能するものと期待される。我々は、ヒト細胞におけるMGMTの細胞内分布を解析するため、精製したヒトの酵素に対してポリクローナル抗体を作成した。抗原アフィニティーカラムを用いてMGMT特異的な抗体を分画することに成功した。本抗体でMer<sup>+</sup>細胞を免疫染色すると典型的な細胞質染色の像が得られ、我々の予想に反してヒトMGMTは主として細胞質に存在することが示唆された。現在、人工的にMGMTの細胞内分布を制御するシステムを構築し細胞内分布を確認するとともに、染色体DNAの修復の場、すなわちMGMTの機能する場所を明かにしようとしている。

### c. マウス MGMT 遺伝子及び MGMT の研究

#### (1) 遺伝子のクローニングと構造解析並びに MGMT 遺伝子欠損モデル動物の作成

MGMTの突然変異生成抑制、さらに発癌抑制における役割及びその効果を理解するには、MGMT遺伝子欠損モデル動物を作成しこれを用いて突然変異生成や発癌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 (gene targeting) の手法を用いて、MGMT遺伝子欠損マウスの作成を目指している。これまで、マウスMGMT遺伝子のcDNA及び全遺伝子領域のクローニングに成功している。詳細な解析の結果、図1に示すようにマウスMGMT遺伝子もヒトMGMT遺伝子とほとんど同じ構造をもつことが明らかになった。MGMT遺伝子欠損マウスにおける自然発癌並びに化学発癌への影響さらには個体の老化との関係を研究することにより、ヒトにおける本酵素の生理学的な機能を理解できるのではないかと考えている。

#### (2) マウス MGMT の機能解析

マウスMGMTに関してもその細胞内分布、組織レベルでの発現の解析を目指して抗体を作成している。また、本酵素の生化学的な解析を進めるため、cDNAを大腸菌で大量に発現させて得られた酵素を精製し、詳細な解析を行なっている。酵素の生化学的な性質、特に基質特異性と、MGMT遺伝子欠損マウスの種々のアルキル化剤に対する感受性とを比較解析することにより、生体内での本酵素の真の生理的役割解明に迫れるであろう。

### d. その他の哺乳動物の MGMT 遺伝子の研究

種々の哺乳動物におけるMGMTの存在の普遍性とその構造及び修復機能の保存度を理解するために、ラット及びウサギからMGMT cDNAを分離しその構造解析を行なっている。図2にこれまでにcDNA等の解析から明かにされた種々の生物のMGMTの一次構造をまとめて示す。ヒトを始めとする哺乳動物のMGMTは、アルキル基受容部位であるCystein残基の周辺のアミノ酸配列を始め全領域に渡って約60%以上のホモロジーを有している。特にこのアルキル基受容部位であるCystein残基の周辺のアミノ酸配列は細菌及び酵母のMGMTに於てもほぼ完全に保存されておりその機能発現上の重要性が示唆される。

Consensus	M...C.MK....SPLGK.EL.G	23
Human	MDKDCMKRTTLDSP <sup>1</sup> LGKLEISG	23
Mouse	MAETCKMKYSVLDSP <sup>1</sup> LGKMEISG	23
Rat	MAETCKMKYTVDSP <sup>1</sup> LGKIEISG	23
Hamster	MAETCKMKYTVFHSPLGKIEISG	23
Yeast (SC)	MTMITPSLHACRSTLEDLNGPTMKELLYTFIETEV <sup>1</sup> TGAFVLFREK	56
<i>Ec</i> Ada'	...RLRESLAKGESVTT <sup>1</sup> SILNAGFPDSSSYRKADETLGMTAKQFRHGGENLAVRYALAD	195
<i>Ec</i> Ogt	MLRLLEEKIATPL	13
<i>St</i> Ada'	...RLREALAKGEPITAAIYRAGFPDSSSYRHADQTLGMTAKQFRKGGDNVSVRYALTD	194
<i>Bs</i> AdaB	METNKPTLYWSLLMF	15
<i>Bs</i> Dat	MNYY	4
Consensus	CE.GLH.I..L.. T.....PA...LGG...PE.L.OCT.WL.AYF..P A.E..	83
Human	CEQGLHEIKLLGKGTSAADAVEVFAPAAVLGG---PEFLMOCTAWLNA <sup>1</sup> YFHQFEATIEF	79
Mouse	CERGLHGIRLLSGKTPNTDPT <sup>1</sup> TEAPATPEVLGGPEGVPEFLVQCTAWLEAYFREPAATEGL	83
Hamster	CERGLHGIRLLSGKTPSSDPKEAPASPELLGGPEDLPE <sup>1</sup> SLVQCTTWLEAYFQFEPAATEGL	83
Rat	CERGLHGIRLLSGKTPNTDPT <sup>1</sup> TEAPACPEVLGGPEGVPEFLVQCTAWLEAYFHFEPAATEGL	83
Yeast (SC)	TQNLVFASLGNDKLFLLLGKVEGFLKKHKEQDTMYDLQELKEAETYKKS <sup>1</sup> ENYTTICLENKM	116
<i>Ec</i> Ada'	CELGRCLVAESERGICAILLGD <sup>1</sup> DDATLISELQQMFPADNAPADLMFQQHVREVIASLNQ	255
<i>Ec</i> Ogt	GPLWVICDEQFRLRAVEWEEYSEAMVQLLDIHYRKEGYERISATNPGGLSDKLRDYFAGN	73
<i>St</i> Ada'	WVYGRCLVAESERGICAILPGD <sup>1</sup> SDDALLAELHTLFPSARHEPADALFQQRV <sup>1</sup> RQVVAINT	254
<i>Bs</i> AdaB	KDWNFYIASTLKLGLVFGV <sup>1</sup> SONKPIEELFEWARKRFP <sup>1</sup> GSLLVEDDDKLEPYAVEITQYLEG	75
<i>Bs</i> Dat	TTAETPLGELIIAEEDRITRLFLSQEDVWDKETVQ <sup>1</sup> NTEHKETPNLAEAKQQLQYEFAG	64
Consensus	P.PALHHPVFQQ.SFTRQ-VLWKLKVKVKGFE..SYQQLAALAGNPKAARAVGGAMR.NP	142
Human	PV <sup>1</sup> PALHHPVFQQSFTRQ-VLWKLKVKVKGFEVISYQQLAALAGNPKAARAVGGAMRGNP	138
Mouse	PLPALHHPVFQQSFTRQ-VLWKLKVKVKGFE <sup>1</sup> TVSYQQLAALAGNPKAARAVGGAMR <sup>1</sup> SNP	142
Rat	PLPALHHPVFQQSFTRQ-VLWKLKVKVKGFE <sup>1</sup> MVSYQQLAALAGNPKAARAVGGAMR <sup>1</sup> SNP	142
Hamster	PLPALHHPVFQQSFTRQ-VLWKLKVKVKGFE <sup>1</sup> MVSYQQLAALAGNPKAARAVGGAMR <sup>1</sup> NP	142
Yeast (SC)	PLPSGAIPEFFFLGTD <sup>1</sup> FORKVVNELLNVEHGHVVTYGDI <sup>1</sup> AKRIGKPTAARSVGRACGSNN	176
<i>Ec</i> Ada'	RDTP <sup>1</sup> LTLP-LDIRGTAFQQVWQALRTIPCGETVSYQQLANAIGKPKAVRAVASACAANK	314
<i>Ec</i> Ogt	LSIIDTLP-TATGGTP <sup>1</sup> PREVVKTLRTIPCQVMHYGQLAEQLGRPGAARAVGAANGSNP	132
<i>St</i> Ada'	RDVLLSLP-LDIQGTAFQQVWQALCAIPCGETVSYQQLAATIGKPTAVRAVASACGANK	313
<i>Bs</i> AdaB	KRKNFTVP-VEYAGTQ <sup>1</sup> QLAVWALCEIPYGGT <sup>1</sup> KSYSDIANDINKPAAVRAVGAIGANP	134
<i>Bs</i> Dat	ERKTFSLP-LSQKGT <sup>1</sup> PFQKVVQALERIPYGESRSYADIAAVGSPKAVRAVGAQANKRND	123
Consensus	VPILIPCHR.V.S.G..G.YSGG...VKEWLLAHEG.....P.....GL...LK....	202
Human	VPILIPCHR <sup>1</sup> VVCSGAVGNYSGG-LAVKEWLLAHEG <sup>1</sup> HLGKPLGLGSSGLAGAWLKGAGA	197
Mouse	VPILIPCHR <sup>1</sup> VVRSDGAI <sup>1</sup> GHYSGGQAVKEWLLAHEGIP <sup>1</sup> TGQPA-SKGLIGTGTW <sup>1</sup> LKSSFE	201
Rat	VPILIPCHR <sup>1</sup> VIRSDGAI <sup>1</sup> GNYSGGQTVKEWLLAHEGIP <sup>1</sup> TGQPA-SKGLIGLIGSW <sup>1</sup> LKPSFE	195
Hamster	VPILIPCHR <sup>1</sup> VITCSNGS <sup>1</sup> GNYSGGQAVKEWLLAHEGIP <sup>1</sup> TRQPA-CKDLIGTGT <sup>1</sup> PLKPSGG	201
Yeast (SC)	LALLVPCHRIVGSNRKLTGYKWS-CKLKEQLLNNEKENSLSL <sup>1</sup> SRL	210
<i>Ec</i> Ada'	LAIIPCHR <sup>1</sup> VVRGDGTL <sup>1</sup> SGYRWG-VSRKAQLLRREAENEER	354
<i>Ec</i> Ogt	ISIVVPCHR <sup>1</sup> VIGRNGTMTGYAGG-VQRKEWLLRHEGYLLL	171
<i>St</i> Ada'	LAMVIPCHR <sup>1</sup> VVRD <sup>1</sup> GALSGYRWG-VRRKAQLLRREAQKEE	352
<i>Bs</i> AdaB	VLIITVPCHR <sup>1</sup> VIGKNSLTGYRGG-FEMK <sup>1</sup> TLLDLEKRASSEM <sup>1</sup> DVPH	179
<i>Bs</i> Dat	LP <sup>1</sup> IFVPCHR <sup>1</sup> VIGKNSALTGYAGSKTEIKAFLLNIERISYKKE	165
Consensus	.....G..	
Human	TSGSP <sup>1</sup> PAGRN	207
Mouse	STSSE <sup>1</sup> PSGRN	211
Rat	SSSPK <sup>1</sup> PSG	203
Hamster	STSKL <sup>1</sup> SG	209

図2. メチルトランスフェラーゼのアミノ酸配列比較

□ はヒト、マウス、ラット、ハムスターの酵素間で同一のアミノ酸であることを、■ はここに挙げた全ての酵素で同一のアミノ酸となっていることを示している。右側の数字はN端からのアミノ酸の数を示す。*Ec* Ada'と*St* Ada'はC端側の配列のみを表示していることを示す。

#### e. アミノ酸置換変異体による MGMT の機能解析

図 2 に示すように、大腸菌からヒトに至るまでほとんどの生物が MGMT を有しており、その構造もよく保存されている。なかでも、アルキル基受容部位である Cystein 残基の周辺のアミノ酸配列は完全に保存されている。我々は、MGMT のこの一次構造が酵素の機能にとってどの程度重要かを明かにする目的で、ヒト MGMT、大腸菌 Ogt および Ada 蛋白質に関して変異蛋白質を作成して解析を進めている。我々は、大腸菌の *ogt* および *ada* 遺伝子欠損株にこのような変異蛋白質をコードする遺伝子を導入し、その大腸菌のアルキル化剤に対する感受性をモニターすることにより、変異遺伝子の機能を解析するシステムを構築した。このシステムを用い、特定の一アミノ酸置換により機能を喪失した変異遺伝子の変異部位に再度新たな変異を導入し、機能を回復した復帰変異遺伝子を分離する方法で、どのようなアミノ酸で機能を保持できるかを非常に簡単に解析できるようになった。これまでの所、いずれの蛋白質においてもアルキル基受容部位である Cystein 残基は必須で他のいかなるアミノ酸にも置換できない事が明かになった。Cystein 残基周辺のアミノ酸のなかには他の類似のアミノ酸で置換可能なものも存在するが、本来のアミノ酸以外では蛋白質の安定性が著しく低下することが明かになり、これらのアミノ酸は蛋白質の構造維持に関与している可能性が示唆される。

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

#### a. 8-oxo-guanine をめぐる大腸菌の修復系

大腸菌の *mutT mutator* 変異株では、AT→CG トランスバージョンが野生株の1000倍以上上昇することが知られていた。我々はその遺伝子産物 MutT 蛋白質が、dC と dA のいずれに対しても同程度に対合し得る酸化型傷害塩基 8-oxo-guanine をもつ 8-oxo-dGTP を特異的に加水分解して DNA 合成時に取り込まれるのを防ぐ働きをしているのを既に明らかにした。本年度はこの結果新たに生じた疑問点、8-oxo-guanine は本当に生体内では突然変異原と成り得るのか、また大腸菌 *mutT* 変異株では、GC→TA トランスバージョンが起こらず、なぜ、AT→CG トランスバージョンのみが特異的に上昇するのか、について調べた。大腸菌では、GC→TA トランスバージョンが起こる *mutator* 変異株に *mutM* 変異株と *mutY* 変異株とが知られており、これらの遺伝子が GC→TA トランスバージョンを抑えているのではないかと考えられた。そこで *mutT*、*mutM* 及び *mutY* の 3 つの変異株について種々のダブル若しくはトリプル変異株を作製して、突然変異率及び変異生成物について調べた結果、*mutM*、*mutY* 遺伝子が GC→TA トランスバージョンを抑えており、*mutY* の方が寄与率が大きいことが明かとなった。これまでに MutM 蛋白質は 8-oxo-dG : dC の 8-oxo-G を切り出す N-グリコシラーゼの活性を、MutY 蛋白質は 8-oxo-dG : dA 及び dG : dA の A を切り取る N-グリコシラーゼの活性を持つことが明らかにされており、このことは我々の推定を支持するものである。

### b. ヒトの 8-oxo-dGTPase cDNA クローニング

ヒトやマウスなどの哺乳動物細胞でも 8-oxo-dGTPase 活性が存在することを見だし、ヒトについては酵素の精製をほぼ完了しつつあったことは既に報告した。本年度はそれを受けて cDNA をクローニングすることを試みた。基本的にはその精製の方法に準じて酵素の大量精製を試み、得られた精製標品を使って酵素の一部のアミノ酸配列を決定することができた。決定したアミノ酸配列の中には大腸菌の MutT 蛋白質中央部 N 端側とホモロジーの見られる部分を認めた。この部位のアミノ酸配列をもとに PCR primer を作成し、RT-PCR を行って本酵素の cDNA の一部をクローニングすることができた。図 3 に最終的に得られた cDNA の基本的な構造と大腸菌の MutT 蛋白質とホモロジーを示す領域に相当する部位を示す。解析の結果予想される産物は分子量約 17,900, 156 アミノ酸から構成されていることがわかった。続いて、得られた配列を発現ベクターに連結して大腸菌 *mutT* 変異株に導入したところ、かなりのレベルまで突然変異生成の抑制が見られた。このことは得られた cDNA が目的の 8-oxo-dGTPase 活性をもつヒトの配列であること、及びこの酵素がヒト細胞中で突然変異の生成を抑制している可能性を示唆するものである。今後はゲノム構造の解析を行い、種々の疾患、癌化との関連についても研究を進めていきたいと考えている。

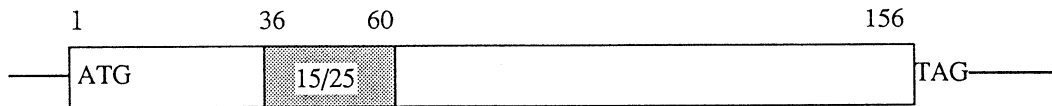


図 3. ヒト 8-oxo-dGTPase cDNA の構造

上側の数字はコードする蛋白質のアミノ酸のナンバーを示している。■は大腸菌 MutT 蛋白質と類似性を示す領域 25 アミノ酸のうち 15 が同一のアミノ酸であったことを示す。

### c. その他の哺乳動物の 8-oxo-dGTPase cDNA のクローニング

ヒト以外の 8-oxo-dGTPase の cDNA クローンについても、マウス、ラット、ラビットなどで、現在単離を試している。特にマウスについては標的遺伝子組換えの手法により遺伝子欠損マウスを作成することで、生体内で本酵素がどの程度突然変異の生起を抑えているのに寄与しているのか、また生理学的にどのような役割を果たしているのかについての知見が得られるものと期待される。さらには、発生分化、癌化との関連などについても有益な情報が得られるものと期待され、現在ヒトのゲノム遺伝子の構造解析も合わせて解析が進行している。

### 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 蛋白質と Fos 蛋白質はヘテロダイマーを形成し, AP-1 結合配列 (TGACTCA) 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  $\Delta$ 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  $\Delta$ 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-1 A 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  $\Delta$ 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 システムを用いて解析を行いつつある.

## 業 績 目 録

### 原著論文

1. Maki,H., and Sekiguchi,M.  
MutT protein specifically hydrolyzes a potent mutagenic substrate for DNA synthesis.  
*Nature* 355, 273-275.
2. Fukuhara,M., Hayakawa,H., Sakumi,K., and Sekiguchi,M.  
Induced synthesis of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase in rat hepatoma cells exposed to DNA damaging agents.  
*Jpn.J.Cancer Res.* 83, 72-77.
3. Shiraiishi,A., Sakumi,K., Nakatsu,Y., Hayakawa,H., and Sekiguchi,M.  
cDNA and genomic sequences for mouse O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase.  
*Carcinogenesis* 13, 289-296.
4. Chueh,L.-L., Nakamura,T., Nakatsu,Y., Sakumi,K., Hayakawa,H., and Sekiguchi,M.

Specific amino acid sequences required for O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase activity : Analyses of three residues at or near the methyl acceptor site.

*Carcinogenesis* 13, 837-843.

5. Matijasevic, Z., Sekiguchi, M., and Ludlum, D.B.

Release of N<sup>2</sup>, 3-ethenoguanine from chloroacetaldehyde-treated DNA by *Escherichia coli* 3-methyladenine DNA glycosylase II.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 9331-9334.

6. Furuichi, M., Guo, Y.-C., Anai, M., Sakumi, K., and Sekiguchi, M.

Regulatory elements for expression of the *alkA* gene in response to alkylating agents.

*Molec. Gen. Genet.* 236, 25-32.

7. Mo, J.-Y., Maki, H., and Sekiguchi, M.

Hydrolytic elimination of a mutagenic nucleotide, 8-oxo-dGTP, by human 18-kilodalton protein: Sanitization of nucleotide-pool.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 11021-11025.

## 学会賞

関口睦夫 (10/23).

日本遺伝学会木原賞受賞

受賞講演「DNA修復と突然変異の制御機構」

第64回日本遺伝学会大会, 仙台.

## 学会発表等

1. 中別府雄作, 織田信弥, 関口睦夫 (1/16-1/18).

Fos, Junによる細胞増殖の制御.

「細胞制御」ワークショップ, 蒲郡.

2. Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M. (1/25-2/8).

Proliferative activation of resting cells by two forms of FosB proteins.

Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology, U.S.A.

3. Hayakawa, H., and Sekiguchi, M. (6/1-6/6).

Role of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase in mutagenesis and carcinogenesis.

First International Union of Biochemistry Conference : Biochemistry of Diseases  
Nagoya, Japan

4. 関口睦夫 (6/6).

細胞の癌化とその制御機構.



- 第33回日本臨床細胞学会特別講演, 福岡.
5. Sekiguchi, M. (7/14-7/16).  
Formation and cleavage of 8-oxo-dGTP, a potent mutagenic substrate for DNA synthesis.  
International Symposium on Cancer Seminar, Sapporo, Japan
  6. Sekiguchi, M., Mo, J.-Y., and Maki, H. (9/7-9/12).  
Formation and Csmull captal of 8-oxo-dGTP, a potent mutagenic substrate for DNA synthesis.  
11th International Congress on Photobiology, Kyoto, Japan
  7. 中別府雄作, 織田信弥, 関口睦夫 (9/29-10/1).  
FosB および  $\Delta$ FosB タンパク質による細胞複製の活性化.  
第52回日本癌学会総会, 大阪.
  8. 伊藤隆康, 中村宗規, 真木寿治, 関口睦夫 (9/29-10/1).  
 $O^6$ -アルキルグアニン修復酵素完全欠損株でのアルキル化剤による誘発突然変異の解析  
第52回日本癌学会総会, 大阪.
  9. 石橋 徹, 中別府雄作, 作見邦彦, 関口睦夫 (9/29-10/1).  
ヒト  $O^6$ -メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼの細胞内局在と修復機能  
第52回日本癌学会総会, 大阪.
  10. 河手久弥, 真木寿治, 作見邦彦, 白石明子, 関口睦夫 (9/29-10/1).  
マウス  $O^6$ -メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼの大量発現, 精製及び解析  
第52回日本癌学会総会, 大阪.
  11. 中別府雄作 (10/8).  
Jun · Fos 複合体 (AP 1) による細胞増殖の制御.  
公開シンポジウム「細胞周期の制御」, 福岡.
  12. 田尻達郎, 真木寿治, 関口睦夫 (10/23).  
グアニンヌクレオチドの酸化による自然突然変異とその抑制機構.  
第64回日本遺伝学会大会, 仙台.
  13. 田尻達郎, 真木寿治, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
8-オキソグアニンによる自然突然変異とその抑制機構  
第15回分子生物学会大会, 京都.
  14. 莫 錦堯, 真木寿治, 古市正人, 早川 浩, 作見邦彦, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
ミュータジェニックな GA ペア形成を防ぐヒト由来の MutT 様蛋白質  
第15回分子生物学会大会, 京都.
  15. 福原正生, 中別府雄作, 関口睦夫 (12/7-12/10).

- ヒト癌細胞株における 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  
第15回分子生物学会大会, 京都.
16. 石橋 徹, 中別府雄作, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
ヒト O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼによる修復と細胞周期  
第15回分子生物学会大会, 京都.
17. 井原健二, 中村宗規, 関 玲玲, 早川 浩, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
変異型大腸菌 Ogt タンパク質の解析  
第15回分子生物学会大会, 京都.
18. 中別府雄作, 織田信弥, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
Jun, Fos タンパク質と細胞複製  
第15回分子生物学会大会, 京都.
19. 高橋和彦, 鈴木 任, 川添 豊, 作見邦彦, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
金属イオンによる *ada* 遺伝子の転写阻害機構  
第15回分子生物学会大会, 京都.
20. 関口 猛, 林田敏郎, 中島寅彦, 織田信弥, 中別府雄作, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
サイクリン遺伝子群の tsBN 462株における高温での転写抑制  
第15回分子生物学会大会, 京都.
21. 織田信弥, 中別府雄作, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
△FosB タンパク質による細胞複製の活性化と細胞周期関連遺伝群の発現  
第15回分子生物学会大会, 京都.
22. 真木寿治, 関口睦夫 (12/7-12/10).  
強力な変異原性ヌクレオチド (8-oxo-dGTP) に起因する DNA 複製の誤りと MutT 蛋白質によるその抑制機構  
第15回分子生物学会大会, 京都.
23. Sekiguchi, M., Mo, J.-Y., Tajiri, T., and Maki, H (12/7-12/12)  
Cleavage of 8-oxo-dGTP, a potent mutagenic substrate for DNA synthesis, by *E.coli* MutT and related proteins.  
AACR Symposium on "Chemicals, Mutations, and Cancer". Banff, Canada