

## 生化学部門 Department of Biochemistry

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」の解明を目指して、(A) アルキル化剤による DNA 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-oxo-dGTPase (MTH 1) の解析を中心に研究を進めている。さらに、(C) 細胞複製の制御における Jun, Fos プロトオンコジーン産物の機能を解析している。本部門の助手・中別府雄作は (C) の研究により平成 6 年度日本癌学会奨励賞を受賞した。

人事異動は次の通りであった。佐賀医科大学から当教室に派遣されていた伊山明宏が 3 月末で共同研究を終え、同大学に帰任した。4 月より臨床系大学院生 2 名、大坪俊夫 (第 2 内科)、藤井喜充 (小児外科) そして佐賀医科大学より薬師寺浩之 (外科) が特別研究学生として新たに加わった。9 月 1 日付けで助手の作見邦彦が留学先の米国カリフォルニア州立大学バークレー校より帰国した。また、助手の古市正人が 9 月 10 日よりフランス Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) に留学中である。12 月末には、日本学術振興会特別研究員白石明子が留学先の米国スタンフォード大学より帰国した。

### A. アルキル化剤による DNA 損傷とその修復機構

#### a. 大腸菌 Ada 蛋白質の構造と機能

微量のアルキル化剤で前処理された大腸菌は、高濃度のアルキル化剤に対して抵抗性を獲得する。この適応応答の中心的役割を担っているのが Ada 蛋白質である。Ada 蛋白質は、メチル化 DNA から Cys69 と Cys321 にそれぞれメチルホスホトリエステルおよび O<sup>6</sup>-メチルグアニン、O<sup>4</sup>-メチルチミンのメチル基を受け取る。この中で Cys69 のメチル化が Ada 蛋白質の転写因子としての活性化に関与し、*ada regulon* の各プロモーター領域へ Ada 蛋白質が結合することにより一連の修復酵素群の転写を活性化すると考えられている。我々は、Ada 蛋白質のメチル化が、その転写活性化能に与える影響を検討するために、部位指定変異導入法によって Cys69 を特異的に他の 19 種のアミノ酸に置換した変異蛋白質を作成した。*ada* 遺伝子プロモーターの下流に *lacZ* コーディング領域を結合した融合遺伝子 (*Pada: lacZ*) をレポーターとし、変異 Ada 蛋白質を発現させ、*ada*, *lacZ* 欠損株にてその転写活性化能を検討した。その結果、69 番目の Cys はほとんどのアミノ酸では置換し得なかったが、唯一 His 69 変異体は野生型に比べ約 10% の転写活性化能を有し、さらにアルキル化剤処理による約 5 倍の増強が認められた。この結果は、もう一つのメチル基受容部位である 321 番目の Cys 残基のメチル化が Ada 蛋白質の転写活性化能の増強に関与する可能性を強く示唆する。そこで Cys321 を Alanine に置換した Ala321

変異を導入し、アルキル化剤処理による転写活性化能の変化を解析したところ、もはやアルキル化剤の効果は観察されなくなった。His69/Ala321二重変異 Ada 蛋白質はメチル基受容活性をまったく持たないことから、Ada 蛋白質の転写調節能の活性化には Cys69のみならず Cys321のメチル化も重要な役割を持つことが証明された。

#### b. マウス MGMT 遺伝子の構造と発現制御

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) は、アルキル化剤により形成される DNA 上の傷を特異的に修復する酵素であり、アルキル化剤に対する感受性や突然変異の抑制に関与する。我々は、すでに O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼの遺伝子をマウスから分離し、その構造を明らかにしている。この遺伝子は5つのエクソンが非常に大きなイントロンで分断された構造を持ち、遺伝子領域は少なくとも150kbに達する。本遺伝子の発現制御機構を明らかにする目的でそのプロモーター領域の配列を決定した。CAAT box, TATA box は特に認められず、比較的 G : C に富む配列であった。さらに、CAT 遺伝子をレポーターとして用いて最小プロモーター領域を特定し、さらに転写開始点をプライマー伸長法と S1 ヌクレアーゼプロテクション法により決定した。マウス MGMT 遺伝子の転写開始点を含むプロモーター領域の塩基配列はヒト MGMT 遺伝子と比較するとよく保存されており、ヒトとマウス間で同様な転写因子あるいはメカニズムがその発現制御に関与している可能性が示唆される。

#### c. マウス O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼの発現および機能の解析

マウス MGMT 蛋白質に対する抗体を作製し、培養細胞株および各種マウス臓器における発現をウエスタンブロットニングにて解析した。その結果、調べた細胞のなかで BALB/c3T3, NIH3T3, CCE28ES 細胞では発現を認めたが、F9 細胞では MGMT のバンドを検出できなかった。マウスの臓器別では、肝臓で最も強い発現を認めた。マウス MGMT の基質特異性を調べるために、O<sup>6</sup>-メチルグアニンおよび O<sup>4</sup>-メチルチミンを含む合成オリゴヌクレオチドと精製マウス MGMT 蛋白質を用いて解析を行った。その結果、O<sup>4</sup>-メチルチミンはマウス MGMT により修復されるものの、O<sup>6</sup>-メチルグアニンと比べるとその修復速度はかなり遅いことが明らかになった。さらに、MGMT はシトシンと対合した O<sup>6</sup>-メチルグアニンあるいはアデニンと対合した O<sup>4</sup>-メチルチミンのみならず、複製をへて生じると考えられている誤塩基対合、すなわちチミンと対合した O<sup>6</sup>-メチルグアニンそしてグアニンと対合した O<sup>4</sup>-メチルチミンも修復することが明らかになった。

#### d. MGMT 欠損細胞およびマウスの作製とその解析

細胞及び個体レベルでの MGMT の役割を解明する目的で標的遺伝子組換えによりマウス

MGMT 遺伝子について対立遺伝子の片方あるいは両方を欠損する細胞を以下の方法で樹立し、その性質を解析した。マウスの ES 細胞由来の遺伝子ライブラリーより単離した DNA 断片を用いて、MGMT 第 2 エクソン中の翻訳領域内に G418 耐性遺伝子を挿入したターゲティングベクターを構築した。ベクターの両端には、ネガティブ選別用に HSV のチミジンキナーゼ遺伝子を配置した。エレクトロポレーション後、ガンシクロビル・G418 二重耐性クローン 192 個についてサザンプロット法にて染色体 DNA の構造を解析したところ、約 3 割が目的とするもの（ヘテロ接合体）であった。さらに得られた変異細胞（ヘテロ接合体）を高濃度（1.5mg/ml）の G418 選択下で培養を継続し、耐性を示すクローンにつき染色体 DNA の構造を解析した。その結果この方法で得られた G418 高濃度耐性クローン全てにおいて MGMT 遺伝子の両方の対立遺伝子が不活化遺伝子に置換されていた（ホモ接合体）。この MGMT 完全欠損細胞のアルキル化剤に対する感受性および誘発突然変異頻度は、野生株に比較して著しく増大していた。またヘテロ接合体の ES 細胞をマウスの胚盤胞に導入し、キメラマウスを経て変異マウス（ヘテロ及びホモ接合体）を樹立した。現在、得られたマウスについてアルキル化剤に対する感受性を調べている。

## B. 酸素ラジカルによる自然突然変異とその抑制機構

### a. ヒト MTH 1 遺伝子構造の解析と染色体マッピング

代謝の過程で発生する活性酸素等のフリーラジカルは DNA やヌクレオチドなどを自然酸化し、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-oxoguanine (8-oxoG) は正常なヒトや動物個体からも検出され、老化と共にその量は増加するようである。8-oxoG は自然突然変異の生起や発がんに関係するものと考えられている。実際 8-oxoG は *in vitro* DNA 合成系でシトシンとアデニンとほぼ同じ割合で対合し得ることが知られており、その結果 A : T → C : G あるいは G : C → T : A トランスバージョンを引き起こす。大腸菌の MutT 蛋白質 (8-oxodGTPase) はヌクレオチドプール中の 8-oxodGTP を加水分解して、この変異原性ヌクレオチドの DNA への取り込みを抑制することにより A : T → C : G 突然変異の生起を特異的に防いでいる。我々はヒト細胞においても同様の酵素（ヒト MutT homologue : MTH 1）が存在することを明らかにし、本酵素を精製し決定した部分アミノ酸配列に基づいて得た cDNA クローンの解析について報告した (JBC 268, 23524, 1993)。ヒト MTH 1 遺伝子のゲノム構造解析を行なった結果、全長約 10kbp で少なくとも 4 つのエクソンから成り、3'側の 3 つのエクソンに蛋白質がコードされることが判明した。さらにゲノム配列の一部をプローブとして用いた FISH 法により染色体マッピングを行ない、本遺伝子の座位を 7 p 22 と決定した。

#### b. ヒト集団における MTH 1 遺伝子異常のスクリーニング

ヒトをはじめとする哺乳動物においても 8-oxodGTPase (MTH 1) 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る. 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癌ともにその発生頻度が上昇する可能性が示唆される. 我々は, このような考えに基づき, 正常人, 高発がん家系および多重がん患者におけるヒト MTH 1 遺伝子の異常をスクリーニングしている. これまでに, 1 アミノ酸の置換を伴う MTH 1 allele を見いだした. この allele では制限酵素 *Nsi*I の認識部位が新たに生じるため, PCR 産物の *Nsi*I 切断パターンから簡単にその存在が判定できる. これまで約100例を解析しているが, この allele の頻度は約10%でその全てがヘテロ接合性であった. これまでのところ, 発癌との相関性は認められていないが, ホモ接合体の存在が確認されていないので今後さらにスクリーニングを続ける必要がある.

#### c. ラット MTH 1 cDNA のクローニングとゲノム構造の解析

ヒトの MTH 1 cDNA 配列をもとに RT-PCR 法にてラットの cDNA を単離して解析した. ラット MTH 1 cDNA はヒトと同じく156個のアミノ酸からなる, 約18KDa の蛋白質をコードしていた. ヒト cDNA の配列と比較して塩基配列で82%, アミノ酸配列で84%の相同性があること, そしてラット, ヒト及び大腸菌を含む3種類の MutT ホモログ蛋白質の配列の比較から, 種を越えてアミノ酸配列がよく保存されている領域があることを認めた. また発現ベクターに組み込んだラットの cDNA は, 大腸菌 *mutT* 変異株においてそのミューター活性を完全に抑制した. ラット cDNA をプローブとして単離した染色体クローンの解析から, ラットの遺伝子は約10kbp の大きさで, 少なくとも3つのエクソンから構成されており, 種を越えてアミノ酸配列が保存されている領域は, 2つのエクソンに分割してコードされていた. このことは活性に重要と思われるこの領域が, 2つのドメインにより構成されている可能性を示唆している.

#### d. マウス MTH 1 cDNA のクローニングとその産物の解析

ヒト MTH 1 cDNA をプローブにして, マウス ES 細胞由来の cDNA ライブラリーより cDNA クローンを単離し, その塩基配列を決定した. マウスの cDNA はヒトと同じく156個のアミノ酸より成る蛋白質をコードしており, ヒト cDNA の配列と比較して塩基配列で81%, アミノ酸配列で83%の相同性が認められた. マウス cDNA を発現ベクターに組み込み大腸菌の *mutT* 変異株で発現させたところ, *mutT* 変異株のミューター活性を抑制した. また cDNA に由来する分子量約18KDa の蛋白質が大腸菌粗抽出液に検出され, 8-oxodGTPase 活性の増加も確認された. さらに, 大腸菌で発現したマウス MTH 1 蛋白質は, ヒトの MTH 1 蛋白質に対する抗体と特異的に反応した. 以上の結果は, 自然突然変異を抑制するメカニズムの1つとして,

8-oxo-dGTPaseによるヌクレオチドプールの浄化機構が大腸菌から哺乳動物まで普遍的に存在することを示唆する。

#### e. マウス MTH 1 遺伝子の構造解析

マウス129sv系由来の遺伝子ライブラリーより染色体 DNA 領域を単離しその構造を解析した。(1) 遺伝子は約7 kbpの大きさで5つのエクソンより成り、第1、第2の2つのエクソンは5'側非翻訳領域で、開始コドンは第3エクソンに含まれていた。ヒト、マウス及び大腸菌を含む3種の細菌由来のMutTホモログ蛋白質間でアミノ酸配列がよく保存されている領域が認められるが、その部分はマウスの遺伝子上で2つのエクソンに分かれてコードされていた。(2) 遺伝子の5'上流領域においてTATA boxは認められず、複数の転写開始点が存在した。CAT遺伝子をレポーターとして5'上流領域の種々の長さのDNA断片につきプロモーター活性を調べたところ、第1エクソンを含む約160bpのフラグメントがプロモーター活性をもつ最小領域であることが明らかになった。また第1イントロン内に正の転写調節に参与する領域を見出した。(3) マウス MTH 1 遺伝子には偽遺伝子が存在した。

#### f. MTH 1 欠損細胞およびマウスの作製

MGMT 遺伝子の場合と同様に、標的遺伝子、MTH 1 の両端にネガティブ選別用の2種類のHSVチミジンキナーゼ遺伝子を、またポジティブ選別用にG418耐性マーカー・カセットをMTH 1 のコーディング領域に挿入したターゲティング・ベクターを構築した。ES細胞(CCE細胞株)へ上記ターゲティング・ベクターをエレクトロポレーション法により導入し、G418耐性細胞の中から目的とする細胞クローンを単離した。得られたヘテロ接合体の細胞から更に対立遺伝子の両方を不活化したホモ接合体を分離するため、G418高濃度耐性細胞をスクリーニングした。得られたホモ接合体の細胞株を6-TG耐性コロニーの出現頻度を指標に自然突然変異率を測定したところ、野生株と比べて2倍の上昇が認められた。さらに、対立遺伝子の片方の遺伝子を不活化した細胞をマウスの胚盤胞に導入し、キメラマウスを経て変異マウス(ヘテロ及びホモ接合体)を樹立した。

#### g. 8-oxodGTPのヒト細胞での生成と排除の機構

突然変異誘発能をもつ8-oxodGTPが細胞内でどのようにして生成し、かつどのような経路で排除されるのかヒト細胞を用いて解析した。(1) Nucleoside diphosphokinaseは8-oxo-dGDPをリン酸化し8-oxodGTPに変換するとともに、8-oxoGDPもリン酸化し8-oxoGTPに変換する。(2)(1)で生じた8-oxo(d)GTPは、細胞内分解酵素(8-oxodGTPase)により一リン酸に加水分解される。(3) 8-oxodGTPaseの分解産物である8-oxodGMPをリン酸化する活性はヒト細胞抽出液中には認められず、また部分精製されたヒトのguanylate kinases

にもその活性は無い。(4) 8-oxodGMPを8-oxodeoxyguanosineに分解する特異的な酵素, 8-oxodGMPaseが存在する。8-oxodGMPaseによる8-oxodGMPの8-oxodeoxyguanosineへの分解は, これら酸化ヌクレオチドの細胞外への排出に重要と考えられる。細胞内のグアニンヌクレオチドの大部分はリボヌクレオチドであり, またこれらは活性酵素の発生が特に多いと考えられるミトコンドリア内で盛んに代謝されている。8-oxodGMPはリン酸化され8-oxodGTPになることが示されたが, dGDPはさらに前駆体であるGDPからレダクターゼにより合成される。レダクターゼは4種類のリボヌクレオシド二リン酸に作用し, 特に塩基特異性を持たないのでヌクレオチドプール中の8-oxoGDPもこの酵素によって8-oxodGDPに変換され, 生体内における8-oxodGTPの主要な生成源となっている可能性が考えられる。

### C. Jun, Fos プロトオンコジーンによる細胞複製の制御

血清飢餓や接触阻止により増殖サイクルを離脱した細胞は, 血清や細胞増殖因子で刺激されると速やかに前初期遺伝子群を発現し細胞増殖を再開する。前初期遺伝子群の中で*fos*, *jun*, *c-myc*は, 転写調節因子をコードしその構成的発現が細胞をトランスフォームすることから細胞増殖を促進的に制御すると考えられる。*fos*ファミリーの1つである*fosB*遺伝子はそのmRNAの択一的スプライシングにより2つのタンパク質, FosBとΔFosBをコードする。ΔFosBタンパク質は, FosBのC末端領域にある転写活性化ドメインを欠きAP-1依存性の転写を活性化しないが, 休止期のRat-1 A細胞で発現させると, 血清刺激時同様に増殖を開始させる。この事実から, いわゆるAP-1依存性の転写活性化に依存しない細胞増殖制御系の存在が示唆される。我々は, 細胞増殖制御におけるΔFosBの役割を明らかにする目的でΔFosBの発現により増殖を開始した細胞での細胞周期制御遺伝子群の発現を解析し, G1-S期移行に必須なサイクリンEとCdk2のmRNAが血清刺激時と同様に増加することを明らかにした。さらに, サイクリンE, Cdk2遺伝子の転写頻度とmRNAの安定性に注目して解析し, ΔFosBの発現によりCdk2, サイクリンEのmRNAが安定化されることを見出した。血清刺激時にも同様なmRNAの安定化が観察されることから, ΔFosBはmRNAの安定化を介して細胞周期制御遺伝子群の発現を制御し, 細胞の増殖を活性化していると考えられる。

### 原著論文

1. Ishibashi,T., Nakabeppu,Y., Kawate,H., Sakumi,K., Hayakawa,H., and Sekiguchi,M. 1994.  
Intracellular localization and function of DNA repair methyltransferase in human cells.  
Mutation Res., 315, 199-212.
2. Ihara,K., Kawate,H., Chueh,L.L., Hayakawa,H., and Sekiguchi,M. 1994.

- 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.  
Mol. Gen. Genet. 243, 379-389.
3. Ishibashi, T., Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M. 1994.  
Artificial control of nuclear translocation of DNA repair methyltransferase.  
J. Biol. Chem., 269, 7645-7650.
  4. Ito, T., Nakamura, T., Maki, H., and Sekiguchi, M. 1994.  
Roles of transcription and repair in alkylation mutagenesis.  
Mutation Res., 314, 273-285.
  5. Iyama, A., Sakumi, K., Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M. 1994.  
A unique structural feature of rabbit DNA repair methyltransferase as revealed by cDNA cloning.  
Carcinogenesis, 15, 627-633.
  6. Ito, M., Izuhara, M., Shimizu, K., and Sekiguchi, M. 1994.  
Genetic dominance of metastatic potential of B16 melanoma cells.  
Cancer Lett., 78, 33-39.
  7. Belguise-Valladier, P., Maki, H., Sekiguchi, M., and Fuchs, R.P.P. 1994.  
Effect of single DNA lesions on *in vitro* replication with DNA polymerase III holoenzyme.  
Comparison with other polymerases.  
J. Mol. Biol., 236, 151-164.
  8. Ohkubo, T., Sakashita, H., Sakumi, K., Kainosho, M., Sekiguchi, M., and Morikawa, M. 1994.  
Methylation dependent functional switch mechanism newly found in the *Escherichia coli* Ada protein.  
J. Am. Chem. Soc., 116, 6035-6036.
  9. Furuichi, M., Yoshida, M.C., Oda, H., Tajiri, T., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T., and Sekiguchi, M. 1994.  
Genomic structure and chromosome location of the human *mutT* homologue gene *MTH1* encoding 8-oxo-dGTPase for prevention of A:T to C:G transversion.  
Genomics, 24, 485-490.
  10. Hope, B.T., Nye, H.E., Kelz, M.B., Self, D.W., Iadarola, M.J., Nakabeppu, Y., Duman, R.S., and Nestle, E.J. 1994.  
Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in

brain by chronic cocaine and other chronic treatments.  
Neuron 13, 1235-1244.

## 総説

1. 中別府雄作. 1994.  
細胞増殖の制御と初期応答遺伝子  
蛋白質核酸酵素, 39, 960-966.
2. 中別府雄作. 1994.  
細胞増殖と転写調節  
Mebio, 11, 84-90.
3. 中別府雄作. 1994.  
突然変異制御機構の異常と発癌  
医学のあゆみ, 171, 414-420.

## 学会発表

1. 関口睦夫 (1994, 1/21)  
活性酸素による DNA 損傷と突然変異.  
愛知県がんセンター研究所公開シンポジウム, 愛知.
2. Mutsuo Sekiguchi (1994, 3/14-19)  
Human genes for enzymes controlling spontaneous and induced mutagenesis.  
日米がん研究協力事業による「発がんの分子機構」のセミナー, Hawaii, USA
3. Mutsuo Sekiguchi (1994, 6/25-7/1)  
Mammalian enzymes that prevent occurrence of spontaneous mutations.  
Gordon Research Conference, New Hampshire, USA
4. 續 輝久, 古市正人, 関口睦夫. (1994, 9/7-10)  
シンポジウム「DNA修復に関与する蛋白質」: 活性酸素による DNA 障害を防ぐ蛋白質.  
第67回日本生化学会大会, 大阪.
5. 康 東天, 中別府雄作, 古市正人, 関口睦夫, 竹重公一郎. (1994, 9/7-10)  
8-oxodGTPase (*mutT* タンパク質) 活性の細胞内局在について.  
第67回日本生化学会大会, 大阪.
6. 小田尚伸, 古市正人, 吉田勉弘, 田尻達郎, 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 10/8-10)  
ヒトの突然変異制御遺伝子 MTH 1 の構造と染色体マッピング.  
第66回日本遺伝子学会大会, 大阪.
7. 岩熊智雄, 白石明子, 福原正生, 河手久弥, 関口睦夫. (1994, 10/8-10)



マウス 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プロモーター領域の解析.

第66回日本遺伝子学会大会, 大阪.

8. 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

ワークショップ-遺伝子導入・欠失マウスを用いた発がん抑制がん：突然変異原性を持つ DNA 中の O<sup>6</sup>-メチルグアニンの特異的修復機構.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

9. 小田尚伸, 古市正人, 吉田勉弘, 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

ヒトの突然変異制御遺伝子 *mutT* ホモログの構造解析および染色体マッピング.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

10. 加隈哲也, 續 輝久, 西田純一, 中別府雄作, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

変異原性ヌクレオチドを排除する酵素 8-oxodGTPase のマウス cDNA の単離と解析.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

11. 中別府雄作, 湯浅保仁, 古市正人, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

高発がん家系由来細胞株における突然変異制御遺伝子 *mutT* ホモログの変化.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

12. 呉 崎, 長崎弘美, 中別府雄作, 関口睦夫, 湯浅保仁. (1994, 10/19-21)

遺伝子性非腺腫症性大腸癌患者細胞におけるミューテーター遺伝子 *mutT* ホモログの解析.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

13. 織田信弥, 中別府雄作, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

Δ FosB による細胞周期制御遺伝子群の発現制御.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

14. 河手久弥, 作見邦彦, 白石明子, 関口睦夫. (1994, 10/19-21)

マウス O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼの組織分布と基質特異性.

第53回日本癌学会総会, 名古屋.

15. 関口睦夫 (1994, 10/28)

特別講演：突然変異と発癌をコントロールする遺伝子群.

第37回日本放射線影響学会大会, 福岡.

16. 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 12/5-6)

公開シンポジウム「遺伝情報の維持と DNA トランスアクション」：活性酸素による DNA 障害を防ぐ蛋白質.

京大会館

17. Mutsuo Sekiguchi, (1994, 12/8-10)

Molecular mechanisms for preventing mutations caused by oxygen radicals.

第1回韓国フリーラジカル学会, Seoul, Korea

18. 續 輝久, 五十嵐久人, 河手久弥, 岩熊智雄, 富永洋平, 加隈哲也, 古市正人, 作見邦彦, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
シンポジウム「突然変異制御の分子機構」: 自然突然変異を抑制する哺乳動物遺伝子系.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
19. 五十嵐久人, 加隈哲也, 富永洋平, 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
マウス MTH 1 (*mutT* homolog) 遺伝子の単離と構造解析.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
20. 蔡 劍平, 加隈哲也, 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
自然突然変異発生を抑制する酵素, 8-oxo-dGTPase のラット cDNA 及び染色体 DNA の単離と解析.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
21. 早川 浩, 川畑万寿代, 桑野信彦, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
突然変異の原因となる酸化ヌクレオチド, 8-oxo-dGTP のヒト細胞での生成と排除の機構.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
22. 武富紹信, D.J. Hart, 井原健二, 中別府雄作, 古市正人, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
適応応答における Ada 蛋白質メチル基受容部位の役割: 部位指定変異導入法による解析.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.
23. 富永洋平, 白石明子, 續 輝久, 関口睦夫. (1994, 12/13-16)  
標的遺伝子組換えによるマウス MGMT 遺伝子変異細胞株 (ヘテロ接合体, ホモ接合体) の樹立と解析.  
第17回日本分子生物学会年会, 神戸.