

第 74 回大会・第 15 回日本動物実験代替法学会大会合同学術大会, つくば, 8-9 月 (2001).

原田英樹, 渡邊哲, 西條薫, 石渡勇, 大野忠夫: “ウイルス腫瘍由来細胞株を用いたヒト・ナチュラルキラー細胞の増殖誘導と non-RI 細胞障害活性測定法の確立”, 日本組織培養学会第 74 回大会・第 15 回日本動物実験代替法学会大会合同学術大会, つくば, 8-9 月 (2001).

大野忠夫: “ヒトキラーリンパ球による脳腫瘍治療”, 日本組織培養学会第 74 回大会・第 15 回日本動物実験代替法学会大会合同学術大会, つくば, 8-9 月 (2001).

中村由美子, 松井裕史, 牧野維斗映, 村田靖, 中原朗, 田中直見, 大野忠夫: “過酸化水素起因性胃粘膜細胞障害に対する水素イオンの効果”, 日本組織培養学会第 74 回大会・第 15 回日本動物実験代替法学会大会合同学術大会, つくば, 8-9 月 (2001).

及川剛宏, 西條薫, 河合弘二, 大野忠夫, 赤座英之: “前立腺癌患者における NK 細胞誘導”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 (2001).

原田英樹, 渡邊哲, 西條薫, 石渡勇, 大野忠夫: “ヒト NK 細胞の増殖誘導と GFP を利用した細胞障害活性測定法の確立”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 (2001).

鶴飼英世, 鈴木恵理香, 久次米由佳里, 渡辺早苗, 広瀬めぐみ, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: “293 ゲノム及び RCA のアデノウイルス E1 遺伝子領域内の遺伝子変異の検索”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10 月 (2001).

中村由美子, 松井裕史, 村田靖, 牧野維斗映, 中原朗, 田中直見, 大野忠夫: “酸化ストレスに伴う胃粘膜上皮細胞障害に対する胃酸の役割”, 第 43 回日本消化器病学会大会, 京都, 10 月 (2001).

石川栄一, 坪井康次, 大野忠夫, 西條薫, 高野晋吾, 能勢忠男: “再発悪性神経膠腫に対する免疫細胞療法の安全性報告”, 第 10 回日本脳腫瘍カンファレンス, (日本脳腫瘍学会), 大分, 12 月 (2001).

及川剛宏, 西條薫, 河合弘二, 大野忠夫, 石渡勇, 赤座英之: “前立腺癌患者における NK 細胞誘導”, 第 14 回日本バイオセラピー学会学術大会, 東京, 12 月 (2001).

遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division

室長 横山 和尚

YOKOYAMA, Kazunari K.

国内外のライフサイエンス研究の動向を踏まえ, 研究推進に必要な遺伝子材料を収集, 管理, 保存および提供するとともに, 自ら新しい材料や関連技術の開発を行い, 国内外の官, 学, 民の研究者に広く普及させることを目的とする。更に最近の遺伝子工学技術を習得し, 次世代ライフサイエンス研究に必要な遺伝子資源の整備を行い, 中核機関としてのパイオリソースセンターの業務を遂行する。(本年度より, 研究室名を細胞材料室から遺伝子材料開発室へ変更)

1. 遺伝子材料の開発およびバンキング技術の開発

宿主, ベクター, 組換え DNA クローン, YAC, BAC, フォスミド, コスミド, cDNA クローン化ライブラリー等の遺伝子材料のバンキング技術の開発と変異同定法の技術開発(横山, 村田, 鶴飼, 久次米^{*1}, 渡辺^{*1}, 広瀬^{*1}, 上野^{*1}, 浜田^{*1})

宿主 76 株, ベクター 342 株, DNA クローン 1,296 株, 中村 & White RFLP マーカークローン 123 株, YAC クローン 35,712 株, マウス cDNA クローン化ライブラリー 45,216 株, マウス cDNA 整列化クローン 15,264 株の複製および保存, 検定, 管理技術の開発を行い, 遺伝子材料を整備し, ジーンバンクカタログ No.5 およびニュースレター 14 版を発行した。次世代型分譲業務システムの開発を継続して行っている。また遺伝子材料の保存, 輸送中の品質管理のための変異検出法の技術開発を行っている。

2. マウス発生段階特異的の整列化 cDNA ライブラリーの保存, 検定, 管理技術の開発(横山, 村田, 鶴飼, 久次米^{*1})

マウス胚発生の各ステージに特異的な独立の整列化クローン化 cDNA ライブラリー 15,264 株を米国 NIA/NIH より受入れ, これらのライブラリーの品質, 検査, レプリカ作成, さらに整列化を行った。これらの cDNA クローンをを用いた DNA チップおよびアレー化の研究開発を工学基盤部と共同で行う予定である。

3. 組換えウイルス, コアバンク創設のための組換えウイルス作成と高感度検出法の開発研究(横山, 村田, 鶴飼, 鈴木^{*2}, 渡辺^{*1}, 福田^{*3}, 瀬尾^{*3}, 濱田^{*4}, 齋藤(泉)^{*4}, 安部(井)^{*4})

DNA バンク寄託完全長 cDNA クローンの組換えウイルス化を行い, 現在までに 257 株を作成, 管理, 保存した。現在もこの作業を継続中である。組換えウイルスのプロモーターの改変, キメラ組換えウイルスの作成, ヒト p53 組換えウイルス変異部位の検出を DNA フィンガー法で解析し, その変異部位の決定を行った。また共同研究として ES 細胞への遺伝子導入や胆道がんの遺伝子治療のための基礎研究を筑波大学医学部と共同で行っている。

4. 遺伝子材料 DNA 大量調製業務に関する共同研究(横山, 孫^{*5}, 宋^{*4}, 金^{*4}, 李^{*2})

寄託遺伝子材料の大量調製業務の一部を中国瀋陽市, 中

国医科大学，中国上海市复旦大学・遺伝学研究所や中国科学院・生化学研究所に依頼し，その評価を行った。

5. 核酸・スモール分子，ウイルスベクターを用いた遺伝子治療法の技術開発と医薬品開発のための開発研究（横山，村田，鶴飼，鈴木^{*2}，久次米^{*1}，渡辺^{*1}，広瀬^{*1}，川崎^{*4}）

アンチセンスオリゴマー，リボザイムベクターを用いた遺伝子の機能研究および医薬品開発のための基礎研究のためにその作用機序の解析とレセプタータンパク質の同定を行った。

6. 機能ゲノム解析，ライブラリーセット化技術に関する開発研究（横山，村田，鶴飼，宋^{*4}，岸川^{*6}，川崎^{*4}，金^{*4}，平野^{*7}）

Zinc finger 転写因子で三重鎖 DNA に結合する MAZ の DNA 結合能の解析とゲノム解析およびプロモーター解析を行い，MAZ と Sp1 の類似性を示した。アデノウイルス E1A 結合タンパク質 p300/CBP による c-jun のトランス活性化に ATF-2 が必要であり，この ATF-2 の抑制因子 JDP2 を同定した。ショウジョウバエの poly A ポリメラーゼ hiiragi が細胞周期に同期して発現することを明らかにし，hiiragi 強制発現系と組み合わせた解析より M 期に発現低下することが必要であることを明らかにした。

7. モデル動物由来 ES 細胞への遺伝子導入法と個体発生の技術開発（横山，村田，鶴飼，渡辺^{*1}，広瀬^{*1}，岸川^{*6}，齋藤^{*4}，山本^{*4}，南橋^{*4}）

ウシ，ウマの ES 細胞を *in vitro* で神経系，血球系の細胞に分化させることに成功した。

^{*1} 業務委託，^{*2} 協力研究員，^{*3} 研修生，^{*4} 共同研究員，^{*5} 客員主管研究員，^{*6} ジュニア・リサーチ・アソシエイト，^{*7} 訪問研究員

Research and Development Subjects and Members of Gene Engineering Division

1. Development of Banking System of DNA Resources
2. Large-Scale Preparation of Ordered Mouse cDNA Cloned Library
3. Construction of Recombinant Virus-Core Banking Division
4. Collaborative Work for Large-Scale Preparation of DNA Resources
5. Therapeutic Use of Antisense and Ribozyme Technologies
6. Study of Transcriptosome for DNA Banking
7. Epigenetic Study of Animal ES Cells

Head

Dr. Kazunari K. YOKOYAMA

Members

Dr. Takehide MURATA
Mr. Hideyo UGAI
Dr. Erika SUZUKI
Dr. Hongjie LI

Visiting Members

Dr. Masato ABEI (Med. Sch. Univ. Tsukuba)
Dr. Hirofumi HAMADA (Sapporo Medical Univ.)
Dr. Tatsuo HIRANO (Hiroshima Univ.)
Mr. Chunyuan JIN (China Med. Univ., China)
Dr. Hiroaki KAWASAKI (Tokyo Univ.)
Mr. Shotaro KISHIKAWA (Tokyo Univ.)
Mr. Akira MINAMIHASHI (Hokkaido Animal Res. Cen.)
Dr. Izumu SAITO (Med. Inst., Tokyo Univ.)
Dr. Shigeo SAITO (Saito Lab. Cell Technol.)
Dr. Jun SONG (China Med. Univ., China)
Dr. Kailai SUN (China Med. Univ., China)
Dr. Yusuke YAMAMOTO (Hokkaido Animal Res. Cen.)

Trainees

Ms. Noel DAY (Univ. Tennessee, USA)
Mr. Kuniaki FUKUDA (Med. Sch., Univ. Tsukuba)
Ms. Rina KITADA (Toho Univ.)
Ms. Emiko SEO (Med. Sch., Univ. Tsukuba)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

- Huang T., Chesnokov V., Yokoyama K., Carr B. I., and Itakura K.: "Expression of the *Hoxa-13* gene correlates to hepatitis B and C virus associated HCC", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281**, 1041–1044 (2001). *
- Okada T., Sakai T., Murata T., Kako K., Sakamoto K., Ohtomi M., Katsura T., and Ishida N.: "Promoter analysis for daily expression of *Drosophila timeless* gene", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **283**, 577–582 (2001). *
- Liu Z., Zhao M., Yokoyama K., and Li T.: "Molecular cloning of a cDNA for rat TM4SF4, a homolog of human il-TMP (TM4SF4), and enhanced expression of the corresponding gene in regenerating rat liver", *Biochim. Biophys. Acta* **1518**, 183–189 (2001). *
- Murata T., Nagaso H., Kashiwabara S., Baba T., Okano H., and Yokoyama K.: "The hiiragi gene encodes a poly(A) polymerase, which controls the formation of the wing margin in *Drosophila melanogaster*", *Dev. Biol.* **233**, 137–147 (2001). *
- Wakamatsu Y., Zhao X., Jin C., Day N., Shibahara M., Nomura N., Nakahara T., Murata T., and Yokoyama K.: "Mannosylerythritol lipid induces characteristics of neuronal differentiation in PC12 cells through an ERK-related signal cascade", *Eur. J. Biochem.* **268**, 374–383 (2001). *

- Jin C., Ukai H., Song J., Murata T., Nili F., Sun K., Horikoshi M., and Yokoyama K.: "Identification of mouse Jun dimerization protein 2 as a novel repressor of ATF-2", *FEBS Lett.* **489**, 34–41 (2001). *
- Song J., Mangold M., Suske G., Geltinger C., Kanazawa I., Sun K., and Yokoyama K.: "Characterization and promoter analysis of the mouse gene for transcription factor Sp4", *Gene* **264**, 19–27 (2001). *
- Song J., Ugai H., Kanazawa I., Sun K., and Yokoyama K.: "Independent repression of a GC-rich housekeeping gene by Sp1 and MAZ involves the same *cis*-elements", *J. Biol. Chem.* **276**, 19897–19904 (2001). *
- Song J., Ugai H., Ogawa K., Wang Y., Sarai A., Obata Y., Kanazawa I., Sun K., Itakura K., and Yokoyama K.: "Two consecutive zinc fingers in Sp1 and in MAZ are essential for interaction with *cis*-elements", *J. Biol. Chem.* **276**, 30429–30434 (2001). *
- Zhao X., Murata T., Ohno S., Day N., Song J., Nomura N., Nakahara T., and Yokoyama K.: "Protein kinase C α plays a critical role in mannosylerythritol lipid-induced differentiation of melanoma B16 cells", *J. Biol. Chem.* **276**, 39903–39910 (2001). *
- Nagaso H., Murata T., Day N., and Yokoyama K.: "Simultaneous detection of RNA and protein by in situ hybridization and immunological staining", *J. Histochem. Cytochem.* **49**, 1177–1182 (2001). *
- Raval A., Howcroft K., Weissman J. D., Kirshner S., Zhu X., Yokoyama K., Ting J., and Singer D. S.: "Transcriptional coactivator, CIITA, is an acetyltransferase that bypasses a promoter requirement for TAF_{II}250", *Mol. Cell* **7**, 105–115 (2001). *
- Nakayama A., Kawasaki H., Song J., Munakata E., Taira K., and Yokoyama K.: "Transcriptional regulation of interferon γ gene by p300 co-activator", *Nucleic Acids Res. Suppl.*, No. 1, pp. 89–90 (2001). *
- (総説)
- 横山和尚: "遺伝子治療の分子生物学", *細胞工学* **20**, 1210–1214 (2001).
- [単行本・Proc.]
- (その他)
- 横山和尚: "アンチセンス RNA", *免疫学辞典* 第2版, 東京化学同人, 東京, p. 34 (2001).
- 頭 発 表 Oral Presentations
- (国際会議等)
- Yokoyama K.: "p300 and ATF-2 facilitate transcription of c-jun gene during retinoic acid (RA)-induced differentiation of embryonal carcinoma", 221st American Chemical Soc. National Meet., San Diego, USA, Apr. (2001).
- Day N., Ichiki A., and Yokoyama K.: "Alternative splicing of the K-562 CIITA introduces a stop codon, resulting in an inactive protein", 10th Int. Symp. on Molecular Cell Biology of Macrophages 2001, Tokyo, June (2001).
- Jin C., Li H., and Yokoyama K.: "Jun dimerization protein 2 interacts with ATF-2 and represses the differentiation of F9 cells induced by retinoic acid", 14th Int. Congr. of Developmental Biology, (The Japanese Society of Developmental Biologists), Kyoto, July (2001).
- Murata T., Nagaso H., and Yokoyama K.: "*hiiragi* involved in the wing formation of *Drosophila* encodes a poly (A) polymerase", 14th Int. Congr. of Developmental Biology, (The Japanese Society of Developmental Biologists), Kyoto, July (2001).
- Murata T., Nagaso H., Kashiwabara S., Baba T., and Yokoyama K.: "Enzymatic activity of poly (A) polymerase is required to reverse the mutant phenotype of *hiiragi*", Cold Spring Harbor Laboratory Meet. on Eukaryotic mRNA Processing, Cold Spring Harbor, USA, Aug. (2001).
- Yokoyama K., Jin C., Li H., Taira K., and Kawasaki H.: "AP-1 repressor protein JDP-2 inhibits the transactivation of c-jun gene facilitated by p300 and ATF-2 or retinoic acid (RA) mediated differentiation of F9 cells", Cold Spring Harbor Lab. Meet. on Mechanisms of Eukaryotic Transcription, Cold Spring Harbor, USA, Aug.–Sept. (2001).
- Day N., Yokoyama K. K., and Ichiki A.: "Alternative splicing of the K-562 CIITA introduces a stop codon, resulting in an inactive protein", 16th Meet. of the Int. Soc. of Haematology, European & African Division, Cairo, Egypt, Oct. (2001).
- (国内会議)
- 横山和尚, 川崎広明, 金春元: "AP-1 活性を抑制する新規転写因子 JDP2 と創薬開発", 第5回がん分子標的治療研究会総会, 東京, 6月 (2001).
- 岸川昭太郎, 木村博道, 塩田邦郎, 横山和尚: "DNA メチル酵素 Dnmt 1 遺伝子の転写活性化エレメントの解析", 第5回がん分子標的治療研究会総会, 東京, 6月 (2001).
- 宋軍, 鶴飼英世, 横山和尚: "Negative regulation of the expression of MAZ by Sp1 and MAZ involve the same DNA-binding sites", 第5回がん分子標的治療研究会総会, 東京, 6月 (2001).
- 川崎広明, 横山和尚, 多比良和誠: "リボザイムライブラリーを用いた癌標的分子探索システムの開発", 第5回がん分子標的治療研究会総会, 東京, 6月 (2001).
- 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 渡辺早苗, 久次米由佳里, 筒井初美, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: "Detection of single-mutation of human P53-recombinant adenovirus in 293 cells by TAQMAN assay", 第7回日本遺伝子治療学会, 東京, 7月 (2001).
- 村田武英, 渡辺早苗, 久次米由佳里, 広瀬めぐみ, 鶴飼英世, 筒井初美, 鈴木恵理香, 横山和尚: "Stability of adenovirus vector during transport and delivery by the manufacturer", 第7回日本遺伝子治療学会, 東京, 7月 (2001).
- 村田武英, 長曾秀幸, 柏原真一, 馬場忠, 横山和尚: "Drosophila hiiragi 変異体の表現型は Poly (A) polymerase の活性低下による", 日本 tRNA 学会年会第3回 RNA ミーティング, 神戸, 8月 (2001).
- 金春元, 李紅杰, 鶴飼英世, 宋軍, 村田武英, 横山和尚: "JDP による c-jun 遺伝子の転写制御", 第60回日本癌学会総

- 会, 横浜, 9月(2001).
- 横山和尚, 川崎広明, 金春元, 李紅杰, 村田武英, 多比良和誠: “新規 Ap-1 リプレッサー, JDP2 による未分化状態の維持と分化制御”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9月(2001).
- 村田武英, 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 横山和尚: “組換えアデノウイルスの保管管理技術”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9月(2001).
- 岸川昭太郎, 塩田邦郎, 横山和尚: “転写因子 Sp1 及び Sp3 による DNA メチル化酵素 Dnmt1 遺伝子の転写活性”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9月(2001).
- 鈴木恵理香, 鶴飼英世, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: “野生型 p53 組換えアデノウイルスの 293 細胞繰返し感染により生じる変異型 p53 アデノウイルスのスクリーニング法とその解析”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9月(2001).
- 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: “野生型 p53 発現組換えアデノウイルスの繰返し感染による p53 遺伝子変異の検出とそのタンパク質の機能解析”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9月(2001).
- 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 久次米夕佳里, 渡辺早苗, 広瀬めぐみ, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: “293 ゲノム及び RCA のアデノウイルス E1 遺伝子領域内の遺伝子変異の検索”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10月(2001).
- 金春元, 李紅杰, 鶴飼英世, 宋軍, 村田武英, 横山和尚: “Ap1 抑制因子 JDP2 による F9 細胞の制御”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10月(2001).
- 岸川昭太郎, 木村博道, 塩田邦郎, 横山和尚: “Dnmt1 遺伝子の転写 Sp1 及び Sp3 による転写活性化”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10月(2001).
- 横山和尚: “新規 Ap1 リプレッサー, JDP-2 による未分化状態の維持と分化制御”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10月(2001).
- 渡辺早苗, 久次米夕佳里, 村田武英, 横山和尚: “組換えウイルスベクターの収集と安定性”, 第 74 回日本生化学会大会, 京都, 10月(2001).
- Day N., Ichiki A., 横山和尚: “Alternative splicing of the K-562 cIITA introduces a stop codon”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 宋軍, 福田邦明, 横山和尚: “Negative regulation of a house keeping gene by Sp1 and MAZ involves the same cis-elements”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 平野哲男, 内山教康, 小幡裕一, Haque M., 横山和尚: “HL60 細胞内で継続して新たに形成される染色体外因子”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 村田武英, 鶴飼英世, 横山和尚: “Mutation in hiiragi locus resulted in the reduction of margin gene that may cause cell death”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 岸川昭太郎, 木村博通, 塩田邦郎, 横山和尚: “Sp1 及び Sp3 による Dnmt1 遺伝子の転写制御”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 久次米夕佳里, 渡辺早苗, 広瀬めぐみ, 鈴木恵理香, 鶴飼英世, 村田武英, 横山和尚: “マウス各発生初期段階特異的 15K cDNA クローンセットとバンク事業”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 川崎広明, 多比良和誠, 横山和尚: “レチノイン酸誘導の細胞分化過程における転写仲介因子 p300 のプロテアソーム系による分解”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 広瀬めぐみ, 渡辺早苗, 久次米夕佳里, 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 村田武英, 横山和尚: “組換えアデノウイルスの品質管理・保存時の安定性と RCA の検出”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 渡辺早苗, 広瀬めぐみ, 久次米夕佳里, 村田武英, 濱田洋文, 横山和尚: “組換えアデノウイルス由来 VA 遺伝子と RCA 由来 E1A 遺伝子の遺伝子変異の検索”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 渡辺早苗, 久次米夕佳里, 広瀬めぐみ, 鶴飼英世, 鈴木恵理香, 村田武英, 長村吉晃, 鶴川義弘, 横山和尚: “組換えウイルスベクターの作成とそのデータベースの構築”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月(2001).
- 李紅杰, 金春元, 宋軍, 鶴飼英世, 村田武英, 横山和尚: “Cloning and characterization of the mouse JDP2 gene promoter”, 第 24 回日本分子生物学会大会, 横浜, 12月(2001).
- 金春元, 李紅杰, 横山和尚: “JDP, a repressor of Ap-1, inhibits both retinoic acid-mediated transcription of the c-jun gene and differentiation of F9 cells”, 第 24 回日本分子生物学会大会, 横浜, 12月(2001).
- 横山和尚, 金春元, 李紅杰, 村田武英: “Ap-1 リプレッサー JDP-2 の HDAC3 複合体を介した細胞分化制御”, 第 24 回日本分子生物学会大会, 横浜, 12月(2001).
- 鈴木恵理香, 鶴飼英世, 渡辺早苗, 久次米夕佳里, 村田武英, 横山和尚: “高力価組換えアデノウイルス調整液中に混入しうる自律増殖型アデノウイルスベクター (RCA) の検出法の解析”, 第 24 回日本分子生物学会大会, 横浜, 12月(2001).
- 横山和尚: “Aberrant expression of MHC class II antigen in K-562 cells by alternative splicing of CIITA”, 第 31 回日本免疫学会総会, 大阪, 12月(2001).