

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題：実験動物データのヒトへの外挿を目指した
基本手法の確立・プロテオーム解析への応用

分担研究者：鈴木孝昌
国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部室長

研究要旨

市販のガラスマイクロアレイおよび GeneChip を用いて、マウスに遺伝子傷害性物質を処理した際の、遺伝子発現変化を調べた。ガラスマイクロアレイを使った実験では、肝発がん物質であるベンツピレン、およびキノリンを用いて解析を行ったところ、両者に共通して発現の上昇する遺伝子として Bcl-associated death promotor など数種見つかり、これらが肝発がん性予測のための指標となる可能性が示唆された。また、GeneChip を用いた実験では、腎障害を起こし、遺伝子傷害性の示された天然物由来の成分であるアリストロキア酸を用い、標的臓器となるマウス腎臓での遺伝子発現変化を非標的臓器である肝臓と比較した結果、腎臓では薬物代謝酵素を中心として多くの遺伝子の発現が変化していることがわかった。しかし肝臓では、変化する遺伝子のごくわずかであった。

また、タンパク質発現の変化という観点からも検討を加え、遺伝子発現変化検討データとの比較を行うため、ジエチルニトロソアミン処理した肝臓でのタンパク質発現変化を2次元電気泳動を用いて解析を行った。その結果発現の上昇または減少する5つのスポットが確認できた。現在、MALDI-TOF/TOF 型質量分析計を用いて、該当するタンパク質の同定を試みている。これら *in vivo* の実験で得られたデータは、今後 *in vitro* と *in vivo* のデータを比較し、ヒトでの安全性予測を行うための橋渡しデータとしたい。

A. 研究目的

遺伝子発現解析手法を用いて毒性の予測を行うトキシコジェノミクスは、従来のクラシカルな毒性試験にて予測できなかった臨床試験等における実際のヒトでの毒性の予測に大きく貢献することが期待されている。本研究班では、ヒトでの毒性を予測する系として、よりヒトに近い実験材料とし

てプライマリーヒト肝・腎細胞を用いて、*in vitro* における曝露による発現の変化を調べる事になっている。プライマリー細胞においては、ある程度の代謝酵素活性を維持するなど、通常の株化細胞に比べるとより生体内に近い状況で試験をすることが可能であるが、*in vitro* の実験であるが故の限界も有ると予想される。In vitro と *in vivo* における作用の違いを検討する上でも、*in vivo*

での動物を使ったデータを蓄積し、両者を比較することは重要である。そこで、比較的作用機序の良く知られた各種遺伝子傷害性物質をマウスに投与し、肝臓および腎臓における遺伝子発現の解析を行った。発現の解析には、市販のマイクロアレイとして、clontech 社の Atlas ガラスマイクロアレイおよび Affymetrix 社 GeneChip を使用した。

一方、遺伝子発現データの解釈の上で、直接の生体機能性分子であるタンパク質の発現変化をとらえることは、非常に重要である。遺伝子発現に関しては、既に各種のマイクロアレイを使った網羅的かつ簡便な解析法が確立されているが、タンパク質の発現に関しては、まだそれらと同等な解析技術は確立されていない。遺伝子発現データの解釈をさらに進める上でも、タンパク質の発現に関するデータを有る程度網羅的に解析する手法を確立することが急務とされている。そこで、本研究では、2次元電気泳動や液体クロマトグラフィーと質量分析法を組み合わせた試験法さらには多次元 LC とタンデム型質量分析計を組み合わせた手法の開発により、ハイスループットなタンパク発現解析をめざす。今年度は、まずマウス肝臓のホモジネートを用い、比較的普及した手法である2次元電気泳動法によるタンパク質の分離により発現の変化するタンパク質の同定を試みた。

B. 研究方法

1. 遺伝子発現変化の解析

1-1 クロンテック製ガラスマイクロアレイを使った検討

1-1-1 マウスの処理および肝臓 RNA 試料の調製

一群3匹の7週令の雄 C57BL6 マウスに対し、肝発がん物質ベンツピレン (BP) 100 mg/kg、キノリン (Q) 100 mg/kg を単回腹腔内投与し、4時間後および24時間後にマウスより肝臓を回収した。最大葉約100mgを3匹分まとめて、TRIzol 試薬中にてホモジネートし、totalRNA サンプルを得た。

(本研究は名古屋市立大学佐伯博士との共同研究として行われたものである)

1-1-2 cDNA の調製と蛍光標識

得られた totalRNA サンプルより oligo dT-30 カラムを用いて mRNA を単離した後、約 2.5 μg を用いて RT-PCR により cDNA を調整し、無処理対照細胞より調整した。cDNA には Cy-5 で、処理サンプルを Cy-3 にて蛍光ラベルしてプローブとした。なお、プローブの調製には、Atlas Fluorescent Labeling Kit (Clontech) を使用し、そのプロトコールに従って蛍光ラベル化を行った。

1-1-3 マイクロアレイへのハイブリダイゼーションとデータ解析

Clontech 社製 Atlas™ Glass mouse 1.0 Array (1081 遺伝子) を用い、専用のチャンパー中にて処理、無処理ラベル化 cDNA サンプルを 50 度にて一晩競合的にハイブリダイゼーションさせた。洗浄後、得られ

た Cy3 および Cy5 のシグナル強度を GenePix 4000 マイクロアレイスキャナーにて定量した。データ解析にはシグナル強度の S/N 比が少なくとも片側の波長で2を越えるスポットを用い、グローバルノーマライゼーションを行った後、発現量の比を算出し、処理により発現の変化する遺伝子を特定した。

1-2 Affymetrix 社 GeneChip を使った検討

1-2-1 マウスの処理および肝臓と腎臓

RNA 試料の調製

一群3匹の7週令の雄 C57BL6 マウスに対し、植物由来の遺伝子傷害性物質であるアリストロキア酸 (AA ; I 体と II 体の混合物) を 20mg/kg 単回強制経口投与し、24時間後にマウスより臓器を回収した。個体ごとに RNA later 溶液 (Qiagen) 中にてホモジナイズし、RNeasy mini キット (Qiagen) を用いて情報に従い、totalRNA を単離した。

1-2-2 cRNA の調製とハイブリダイゼーション

totalRNA (5 μ g/ml) より、reverse transcriptase により cDNA を合成した。この際、プライマーとして、T7 プロモーターを結合させた poly dT を用いることにより、引き続き T7RNA polymerase による転写を行い、増幅された cRNA を合成した。cRNA 合成時にビオチンラベル化 dNTP を用いて標識した。これを断片化したのち、50度にて16時間 GeneChip にハイブリさせた。

1-2-2 チップの洗浄、ラベル化とスキャナーによるシグナルの検出

ハイブリ溶液を除いた後、Affymetrix 社の GeneChip 用フルイディックステーションにて洗浄および、ストレプトアビジン-フィコエリスリンによる蛍光ラベル化を行った後、GeneChip 専用スキャナーにてスキャンを行い、チップの蛍光イメージを取得した。

1-2-3 チップイメージの解析

チップイメージを GeneChip 用データ解析ソフト Microarray Suite にて解析し、数値化するとともに、パーフェクトマッチおよびミスマッチプローブ間の蛍光強度比から Presence/Marginal/Absence の判定を行った。その後、GeneSpring ソフトウェアにてデータを取り込み、標準化を行った後、コントロール群と処理群の発現比を算出した。この際、どちらかの処理群において、少なくとも2匹のマウスにおいて Presence の判定がある遺伝子のみを信頼性のあるデータとして採用した。

2. タンパク発現変化の解析

2-1 タンパク質試料の調製

MutaMouse、雄7週令に、肝発がん物質である DEN を週一回 25 mg/kg にて腹腔内投与し、最終投与7日後にマウスを解剖し臓器を回収した。未処置群、および DEN 処理群3匹のマウスより得られた少量の肝臓組織を混合して、タンパク質抽出用細胞破砕液 (urea/thiourea/CHAPS/dithiothreitol/spermine) 中にて、ホモジネートした。

2-2 二次元電気泳動

得られた溶液のタンパク質含量を測定後、タンパク量として 50 μ g に相当する量を、固定化 PH 勾配(PH3-10)イモビランドライストリップゲルによる一次元目となる等電点電気泳動を行い、続いて SDS-ポリアクリルアミドゲルによる分子量に基づく二次元目の電気泳動を行った。得られたゲルを、銀染色法により染色し、スポットを検出した。

2-3 質量分析装置による解析

二次元電気泳動ゲル上の、発現が変化していると思われるスポットを切り出し、トリプシンにてゲル内消化し、ZipChip (Qiagen) にて脱塩後、マトリックスとして α CHCA と混合して、MALDI 測定用ターゲット上へスポットした。MALDI-TOF/TOF 型質量分析装置である AB4700 にて、目的とするペプチド混合物の MS および MS/MS 解析を行った。

C. 研究結果

1. 遺伝子発現変化の解析

1.1 クロンテック製ガラスマイクロアレイを使った検討

ベンツピレン(BP)、キノリン(Q)を投与し4時間後の遺伝子発現変化について解析をした結果、発現の上昇する遺伝子、減少する遺伝子が検出できた。このうち動きが大きかった10遺伝子を、表1にリストした。BPとQによる変化は、比較的類似しており、肝発がん物質に共通した遺伝子変化である可能性が示唆された。BPにお

いては誘導が予想された p450 1A1 遺伝子の発現量が増加しており、この試験系の信頼性が確認された。BPのみで発現の上昇した遺伝子として、CYP 1A1 と linker for activation of T cells があり、Q 特異的に発現の上昇した遺伝子として EGF receptor pathway substrate 8、calcium binding protein A11 (calgizzarin) が見つかった。

BPとQでの共通した変化として、Bcl-associated death promoter, talin, wingless-related MMTV integration site 3, protein tyrosine phosphatase non-receptor type 13 などの遺伝子の発現が上昇した。また、myelin transcription factor が共通して減少していた。

1.2 Affymetrix 社 GeneChip を使った検討

アリストロキア酸(AA)処理24時間後の腎臓および肝臓における遺伝子発現変化を GeneChip を用いて解析を行った結果、発現の変化する遺伝子群が検出された。2倍以上発現が上昇、または減少する遺伝子は、腎臓ではそれぞれ、れ40、および6遺伝子、肝臓では6、および5遺伝子と、前者で多かった。変化のみられた遺伝子のうちで既知の遺伝子に関して、表2にリストアップした。共通して発現上昇するとして、amino levulinate synthase, MHC class III region RD 遺伝子が同定された。また、腎臓特異的な変化としては、GST や P450 などをはじめとする、Phase II の薬物代謝酵素類が多く認められた。さらに、遺伝子傷害性との関連性が示唆される遺伝子としては、heat shock protein 70kD, cyclin G, FBJ osteosarcoma oncogene が含まれていた。

2. タンパク発現変化の解析

未処置群と DEN 処理群の肝臓ホモジネートの可溶性タンパクを 2次元電気泳動により分離した結果、図 1 に示すようなスポットを検出できた。これらを肉眼的に比較することにより、明らかに発現量が変化したスポットとして、DEN により発現の増加する変化するスポット 3つと減少するスポット 2つが検出された。

一方、2次元電気泳動により得られたスポットを MALDI-TOF/TOF 質量分析計にて同定するための基礎検討を行った結果、クマシーブルー染色で確認できる程度のスポットについては検出が可能である事がわかった。しかし、今回得られたスポットについては、銀染色レベルでの検出であるため、その同定は難しく、今後さらに感度を上げる必要があると考えられた。

D. 考察

1. 遺伝子発現変化の解析

ガラスマイクロアレイを使った実験では、比較的バックグラウンドのシグナルを押さえることが難しく、またムラも出来やすかった。きれいなシグナルを得るためには、ラベル化操作に関するある程度の熟練が必要と考えられる。一方、GeneChip を用いる解析においては、一連のプロトコールが既に標準化され、遺伝子数は多いが比較的安定したシグナルを得ることができた。今後、変化の見られた遺伝子に関して、定量的 RT-PCR 法による確認により、それぞれのアレイで得られたデータの信頼性を評価したい。

今回、遺伝子傷害性物質により得られた変化として、薬物代謝酵素類が注目されたが、これらは代謝活性化に関与する一方、解毒的代謝にも関わっていると考えられる。今後、それぞれの代謝酵素と薬剤との相互作用に関してさらに詳しく検討を行いたい。また、BP と Q での共通した変化としてみられた、Bcl-associated death promoter, talin, wingless-related MMTV integration site 3, protein tyrosine phosphatase non-receptor type 13 に関しては、肝発がん性との関連が示唆され、今後定量的 RT-PCR による確認を経て、その役割に関して検討を加えていきたい。

AA に関しては、同じ薬剤でも解析する臓器が異なることにより動く遺伝子もかなり変わってきた。特に、遺伝子傷害性を含めた毒性のターゲットとなる腎臓において、非標的臓器である肝臓と比較してより多くの遺伝子変化が見られた点は注目でき、これらの遺伝子の発現変化が毒性予測の指標となる可能性が示された。この中には、例えば circadian clock protein など毒性とは関係なさそうな遺伝子も含まれており、これらがどのように関わっているのか興味を持たれる。

AA はトランスジェニックマウスを用いた解析から、その標的臓器性をはっきりしていることが示されていることから、今後、他の標的臓器における遺伝子発現変化と比較し、共通して見られる変化を浮き彫りにしていきたい。

なお、表 2 の中で遺伝子が重複して検出されている例があるが、これは GeneChip 上に別々のプローブとしてのっていたものが、たまたま同じ値として検出されたもの

であり、GeneChip データの再現性を示すと考察できる。

2. タンパク質の発現変化の同定

2次元電気泳動にて変化の見られたスポットに関し、オンラインデータベースとして利用可能な、2次元電気泳動データベースのマウス肝臓サンプルの泳動像との比較を行ったが、スポットの位置情報のみからは、既存のタンパク質としての同定は難しく、質量分析による同定が必須であることがわかった。

今後1次元目に使用するPH勾配ゲルのPH範囲を狭くすることにより、アプライするタンパク量を増やし、目的となるスポットのタンパク量を増やすとともに、インゲル消化およびゲルからのペプチド回収の効率をあげるにより、目的のスポットの質量分析による同定を試みる予定である。

一方、2次元電気泳動は、一般に脂溶性のタンパク質や塩基性のタンパク質の解析が難しいという欠点もあるため、より普遍性があり、高感度検出が可能な、LC-MS/MSを用いた方法に関しても検討を行う必要がある。さらに、質量分析計における定量性の問題を克服する目的で、安定同位体ラベル化 (ICAT : Isotope Coded Affinity Tag) 法の導入を試み、より定量的なプロテオーム解析をめざしたい。

E. 結論

遺伝子傷害性物質を投与したマウスの臓器における遺伝子発現解析により、発現の変化する遺伝子群が特定できた。特に共通性をもって変化した遺伝子については、遺伝

毒性予測のためのマーカー遺伝子候補として注目される。ガラスマイクロアレイとGeneChipの両者を使用した経験より、データの安定性、信頼性の面では、今のところ後者が優位であると考えられる。

タンパク質の発現解析については、2次元電気泳動を用いて、薬物処理により発現変化する数種のスポットを検出できた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamada K, Suzuki T, Kohara A, Hayashi M, Hakura A, Mizutani T, Saeki K.

Effect of 10-aza-substitution on benzo[a]pyrene mutagenicity in vivo and in vitro.

Mutat. Res. 521, 187-200 (2002).

Kohara A, Suzuki T, Honma M, Ohwada T, Hayashi M., Dinitropyrenes induce gene mutations in multiple organs of the lambda/lacZ transgenic mouse (Muta Mouse).

Mutat Res. 515: 73-83 (2002)

Kohara A, Suzuki T, Honma M, Ohwada T, Hayashi M., Mutagenicity of aristolochic acid in the lambda/lacZ transgenic mouse (MutaMouse).

Mutat. Res. 515: 63-72 (2002)

鈴木孝昌

環境変異原研究の光と陰：これから進むべ

き道
環境変異原研究 24 巻 3 号 179-184
(2002)

2. 学会発表

Gene-expression analysis by the Atlas[®]
glass microarray after gamma irradiation to
the human lymphoblastoid TK6 cells; Effect
of cell-cycle synchronization.
T Suzuki, A Kohara, M Honma, H
Sakamoto, M Hayashi
UKEMS annual meeting 2002

トランスジェニックマウス
(MutaTMMouse)を用いたニトロソジェタ
ノールアミンの遺伝子傷害性の検出とそ
の特徴
鈴木孝昌, 小原有弘, 本間正充, 林 真
第 61 回日本癌学会総会

窒素含有クライセン誘導体の in vivo 遺伝
子突然変異誘発性
In vivo mutagenicity of diaza-chrysenes.
山田勉也, 鈴木孝昌, 加藤隆明, 林 真,
佐伯憲一
第 61 回日本癌学会総会

トランスジェニックマウスを用いた AF2
および赤色 2 号の変異原性の再評価
鈴木孝昌, 小原有弘, 小泉朋子, 本間正充,
林 真
日本環境変異原学会第 31 回大会

DNA マイクロアレイの変異原性試験への
応用に関する共同研究: ガラスアレイを
用いた DEN 投与後のマウス肝臓における
遺伝子発現解析
鈴木孝昌, 中嶋圓, 稲垣成憲, 兵庫淳志, 田
中剛太郎, 浜田修一, 降旗千恵
日本環境変異原学会第 31 回大会

アクリジンマスタード ICR-170、ICR-191
のトランスジェニックマウスにおける変異
原性
小原有弘, 鈴木孝昌, 小泉朋子, 本間正充,

林 真
日本環境変異原学会第 31 回大会

Gene chip を用いた DEN 投与後のマウス
肝臓における遺伝子発現解析
兵庫淳志, 長谷川智子, 三井田由紀子, 鈴木
孝昌, 中嶋圓, 田中剛太郎, 浜田修一, 降
旗千恵

Gene chip を用いた DEN 投与後のラット
肝臓における遺伝子発現解析
大内田昭信, 田中剛太郎, 鈴木孝昌, 中嶋
圓, 兵庫淳志, 浜田修一, 降旗千恵
日本環境変異原学会第 31 回大会

ベンズピレンの in vivo 及び in vitro 変異誘
発性に対する 10 位窒素置換の影響
山田勉也, 鈴木孝昌, 小原有弘, 林 真,
羽倉昌志, 水谷隆治, 佐伯憲一
日本薬学会東海支部大会

An overview of the toxicogenomics
project at NIHS Japan
鈴木孝昌

日米医学協力研究会環境ゲノミクス・発
がん専門部会日米合同会議

ベンズピレンの 10 位窒素置換体の変異原
性に関わるヒト P450 分子種
山田勉也, 羽倉昌志, 竹本育世, 鈴木孝昌,
水谷隆治, 佐伯憲一
日本薬学会第 123 年会

プライマリーヒト肝細胞の GeneChip によ
る遺伝子発現解析 (Toxicogenomics への
応用を目指して)
小原有弘, 鈴木孝昌, 林 真, 菅野 純, 二
宮真一, 須藤哲司

日本薬学会第 123 年会

臍帯血における AC133 陽性細胞由来血管

内皮前駆細胞の解析

豊田淑江、押澤正、鈴木孝昌、早川堯夫、
山口照英

第2回日本再生医療学会大会

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1 Clontech ガラスマイクロアレイを用いた、マウス肝臓における遺伝子発現解析

Benzo[a]pyrene



発現上昇

Bcl-associated death promoter	116
cytochrome P450 1A1	41.5
talin	24.2
mitogen activated protein kinase 10	14.5
myeloid cell leukemia sequence 1	11.2
wingless-related MMTV integration site 3	9.1
protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13	6.5
src homology 2 domain-containing transforming protein G3	2.5
linker for activation of T cells	2.4
integrin beta 2 (Cd18)	2.3

発現減少



myelin transcription factor 1	0.22
E74-like factor 1	0.30
wingless-related MMTV integration site 3A	0.33
transcription factor 4	0.35
solute carrier family 30 (zinc transporter), member 4	0.36
glutamate receptor, ionotropic, kainate 1	0.37
GATA-binding protein 4	0.39
T-cell leukemia, homeobox 1	0.39
G protein-coupled receptor 19	0.42
interferon regulatory factor 1	0.43

Quinoline



発現上昇

desmocollin 2	49.1
wingless-related MMTV integration site 3	25.0
talin	22.8
Bcl-associated death promoter	16.2
fibroblast growth factor 6	13.3
EGF receptor pathway substrate 8	11.8
protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13	11.8
myeloid cell leukemia sequence 1	11.5
activating transcription factor 2	4.9
calcium binding protein A11 (calgizzarin)	4.7

発現減少



serine protease inhibitor 2-2	0.27
myelin transcription factor 1	0.33
semaphorin 4C	0.38
GATA-binding protein 4	0.38
angiogenin	0.39
E74-like factor 1	0.39
related to Drosophila groucho gene	0.40
T-cell leukemia, homeobox 1	0.40
ribosomal protein S29	0.41
early growth response 1	0.43

表2 GeneChip を用いた、マウス腎臓および肝臓におけるアリストロキア酸処理による遺伝子発現解析

(腎臓において発現の上昇した遺伝子)

Gene	Ratio
carboxylesterase	7.52
NAD(P)H menadione oxidoreductase 1, dioxin inducible	6.53
NAD(P)H menadione oxidoreductase 1, dioxin inducible	5.83
Glutathione-S-transferase, alpha 3	4.35
arginase II	4.06
microsomal epoxide hydrolase (Eph1), allele b	3.40
aldehyde dehydrogenase II	3.28
ryudocan core protein,	3.26
circadian clock protein (Per2)	3.09
Carbonyl reductase	2.97
thioredoxin reductase 1	2.85
Cytochrome P450, 2a4	2.81
A-X actin	2.78
Heat shock protein, 70 kDa 3	2.58
serum inducible kinase (SNK)	2.46
Adipsin	2.39
amino levulinate synthase (ALAS-H)	2.35
Cytochrome P450, 24	2.35
Glutathione S-transferase, pi 2	2.31
Adipose differentiation related protein	2.27
Heme oxygenase (decycling) 1	2.25
FBJ osteosarcoma oncogene	2.25
Glutathione-S-transferase, alpha 1	2.22
Cyclin G	2.14
MHC class III region RD gene,	2.11
complement component C3 mRNA, alpha and beta subunits	2.08
他 機能未知 cDNA 14 種	

(腎臓において発現の減少した遺伝子)

Gene	Ratio
alpha-2 antiplasmin	0.42
Leukemia inhibitory factor receptor	0.46
他 機能未知 cDNA 4 種	

表2 (つづき)

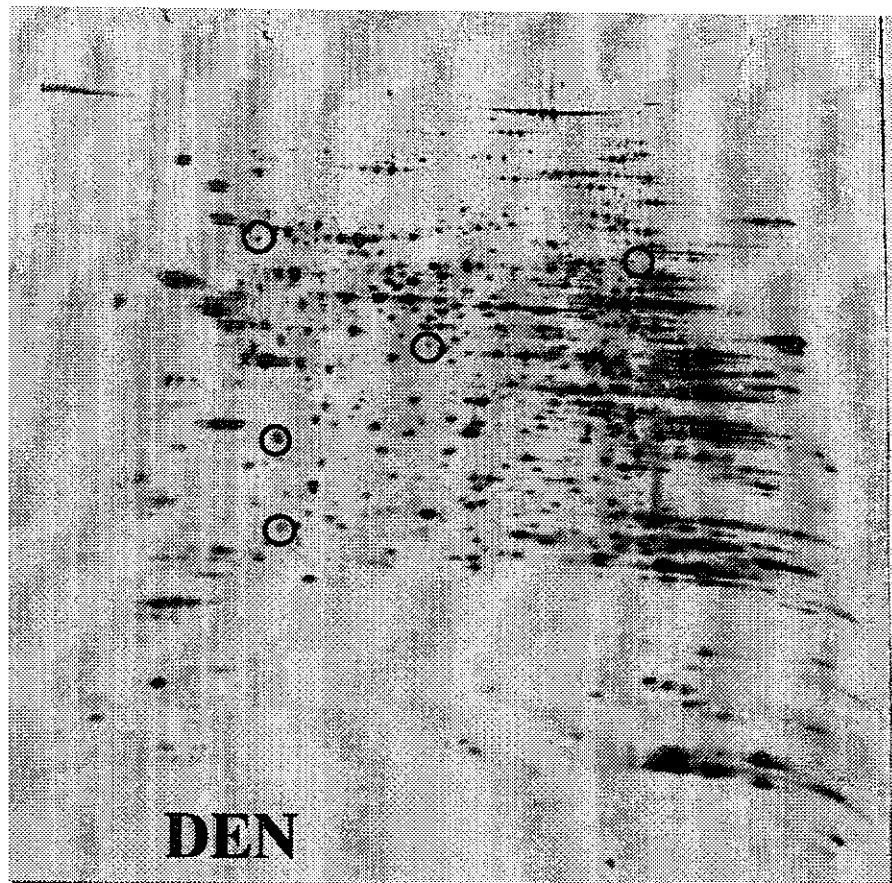
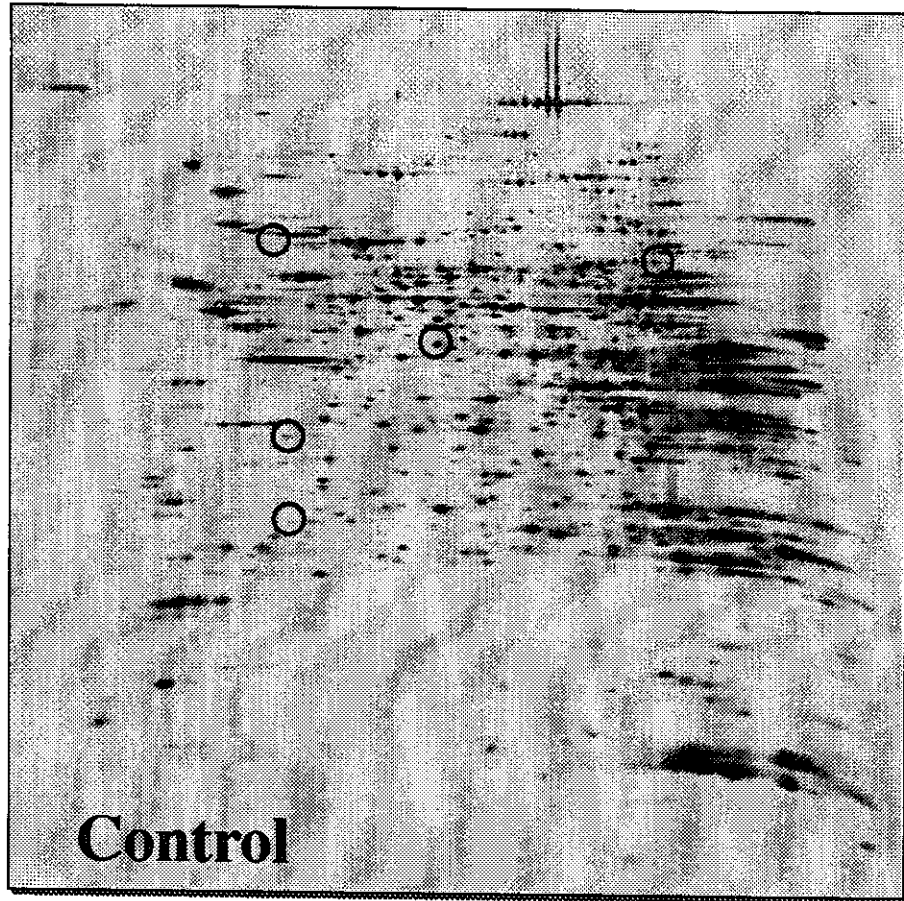
(肝臓において発現の上昇した遺伝子)

Gene	Ratio
amino levulinate synthase (ALAS-H)	2.49
MHC class III region RD	2.23
他 機能未知cDNA 4種	

(肝臓において発現の減少した遺伝子)

Gene	Ratio
Acidic nuclear phosphoprotein 32	0.34
putative lysophosphatidic acid acyltransferase	0.36
Deoxycytidine kinase	0.45
他 機能未知cDNA 2種	

図1 2次元電気泳動による未処置及びDEN処理マウス肝臓の可溶性タンパク質の分離



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
1)	K. Fukuhara, I. Nakanishi, T. Shimada, K. Ohkubo, K. Miyazaki, W. Hakamata, S. Urano, T. Ozawa, H. Okuda, N. Miyata, N. Ikota, and S. Fukuzumi	A Planar Catechin Analogue as a Promising Antioxidant with Reduced Prooxidant Activity	<i>Chem. Res. Toxicol.</i>	16(1)	81-86	2003
2)	Ikuo Nakanishi, Shunichi Fukuzumi, Toshifumi Konishi, Kei Ohkubo, Mamoru Fujitsuka, Osamu Ito and Naoki Miyata	DNA Cleavage via Superoxide Anion Formed in Photoinduced Electron Transfer from NADH to gamma-Cyclodextrin-Bicapped C60 in an Oxygen-Saturated Aqueous Solution	<i>J. Phys. Chem. B</i>	106(9)	2372-2380	2002
3)	Kiyoshi Fukuhara, Ikuo Nakanishi, Hisao Kansui, Etsuko Sugiyama, Mitsuhiro Kimura, Tomokazu Shimada, Shiro Urano, Kentaro Yamaguchi, and Naoki Miyata	Enhanced Radical-Scavenging Activity of a Planar Catechin Analogue	<i>J. Am. Chem. Soc.</i>	124(21)	5952-5953	2002
4)	Ikuo Nakanishi, Kiyoshi Fukuhara, Tomokazu Shimada, Kei Ohkubo, Yuko Iizuka, Keiko Inami, Masataka Mochizuki, Shiro Urano, Shinobu Itoh, Naoki Miyata, and Shunichi Fukuzumi	Effects of Magnesium Ion on Kinetic Stability and Spin Distribution of Phenoxyl Radical Derived from a Vitamin E Analogue: Mechanistic Insight into Antioxidative Hydrogen Transfer Reaction of Vitamin E	<i>J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2</i>	2002(9)	1520-1524	2002
5)	Ikuo Nakanishi, Kei Ohkubo, Shunsuke Fujita, Shunichi Fukuzumi, Toshifumi Konishi, Mamoru Fujitsuka, Osamu Ito, and Naoki Miyata	Direct Detection of Superoxide Anion Generated in C60-Photosensitized Oxidation of NADH and an Analogue by Molecular Oxygen	<i>J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2</i>	2002 (11)	1829-1833	2002
6)	Matsuoka, Atsuko; Takeshita, Kenji; Furuta, Ayumi; Ozaki, Masayasu; Fukuhara, Kiyoshi; Miyata, Naoki	The 4'-hydroxy group is responsible for the in vitro cytogenetic activity of resveratrol	<i>Mutation Research</i>	521(1-2)	29-35	2002

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
7)	Kurihara, Masaaki; Tanaka, Masakazu; Oba, Makoto; Suemune, Hiroshi; <u>Miyata, Naoki</u>	Conformation of oligopeptides containing chiral α,α -disubstituted amino acids: computational study	<i>Peptide Science</i>	2002(38)	287-288	2002
8)	Yamada K, <u>Suzuki T</u> , Kohara A, Hayashi M, Hakura A, Mizutani T, Saeki K.	Effect of 10-aza- substitution on benzo[a]pyrene mutagenicity in vivo and in vitro.	<i>Mutation Research</i>	521	187-200	2002
9)	Kohara A, <u>Suzuki T</u> , Honma M, Ohwada T, Hayashi M	Dinitropyrenes induce gene mutations in multiple organs of the λ /lacZ transgenic mouse (Muta Mouse)	<i>Mutation Research</i>	515	73-83	2002
10)	Kohara A, <u>Suzuki T</u> , Honma M, Ohwada T, Hayashi M.	Mutagenicity of aristolochic acid in the λ /lacZ transgenic mouse (MutaMouse)	<i>Mutation Research</i>	515	63-72	2002
11)	<u>鈴木孝昌</u>	環境変異原研究の光と 陰：これから進むべき 道	環境変異原研 究	24巻 3号	179-184	2002

20020783

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。