

- Identification and characterization of genes in *SLC/SRK* region of an *S*<sup>9</sup> haplotype of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L. *Genetics* 153: 391-400.
20. Takayama, S., H. Shiba, M. Iwano, H. Shimamoto, F.-S. Che, N. Kai, M. Watanabe, G. Suzuki, K. Hinata and A. Isogai (2000) The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97: 1920-1925.
21. Takayama, S., H. Shiba, M. Iwano, K. Asano, M. Hara, F.-S. Che, M. Watanabe, K. Hinata and A. Isogai (2000) Isolation and characterization of pollen coat proteins of *Brassica campestris* that interact with *S* locus-related glycoprotein 1 involved in pollen-stigma adhesion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97: 3765-3770.
22. Watanabe, M., A. Ito, Y. Takada, C. Ninomiya, T. Kakizaki, Y. Takahata, K. Hatakeyama, K. Hinata, G. Suzuki, T. Takasaki, Y. Satta, H. Shiba, S. Takayama and A. Isogai (2000) Highly divergent sequences of the pollen self-incompatibility (*S*) gene in class I *S* haplotypes of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L. *FEBS Lett.* 473: 139-144.
23. Takasaki, T., K. Hatakeyama, G. Suzuki, M. Watanabe, A. Isogai and K. Hinata (2000) The *S* receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica* stigma. *Nature* 403: 913-916.
24. Shiba, H., S. Takayama, M. Iwano, H. Shimamoto, M. Funato, T. Nakagawa, F.-S. Che, G. Suzuki, M. Watanabe, K. Hinata and A. Isogai (2001) A pollen coat protein, SP11/SCR, determines the pollen specificity in the self-incompatibility of *Brassica*. *Plant Physiol.* 125: 2095-2103.
25. Takayama, S., H. Shimamoto, H. Shiba, M. Funato, F.-S. Che, M. Watanabe, M. Iwano and A. Isogai (2001) Direct ligand-receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility. *Nature* 413: 534-538.

## 薬学博士関谷剛男氏の「核酸の高次構造を利用したゲノム情報解析」に対する授賞審査要旨

関谷剛男氏は二本鎖DNAを一本鎖にほぐしたときに得られるDNA構造の性質をたくみに利用した種々のDNA解析技術を開発し、家族性疾患の病因遺伝子、体細胞の遺伝子病であるがんにおける異常遺伝子の検出、同定を可能にしたことにより、これら疾病の病因解明に多大な貢献をしてきている。

一本鎖DNA高次構造多型 (single-strand conformation polymorphism, SSCP) 解析法は、二本鎖DNAを変性して得られる一本鎖DNAの性質を利用して、一塩基の変化を検出する技術である。二本鎖DNA断片を溶液中で加熱すると一本鎖DNAに解離する。DNA断片を、低い濃度で含む場合、溶液を低温に戻すと解離した相補DNA鎖はそれぞれの分子内での塩基対形成などにより、塩基配列の差異を反映した独自の高次構造をとる。これらの分子は変性剤を含まない中性ポリアクリルアミドゲル中で電気泳動すると、高次構造の違いから異なる移動度を示す。関谷氏らは、この一本鎖

DNAの移動度の変化が一塩基だけの違いでも起こることを発見し、電気泳動における移動度の変化を指標に一塩基置換の検出が可能であることを示した。微量のDNAからポリメラーゼチェーン反応(PCR)で増幅したDNA断片を解析試料とするPCR-SSCP法を、ヒト肺がんにおけるがん遺伝子rasの変異の検出にはじめて使用し、簡便で検出効率の良い塩基置換検出技術であることを示した。この報告以来、SSCP法はがん遺伝子、がん抑制遺伝子における変異の検出、同定に大きく貢献し、さらには極めて早い時期に米國でヒト遺伝病である囊胞性線維症の原因遺伝子CFTRの同定に使用され、がん関連遺伝子のみならずヒト遺伝病の原因遺伝子の検出、同定にも世界中で使用されてきている。現在では、点突然変異をはじめとする塩基配列変化の検出には必須の技術として、ごく一般的な基盤技術となっている。

部分変性分子分離 (segregation of partly melted molecules, SPM) 法は、遺伝子の発現制御を行うDNA上のCG配列に富むCpGアイランドを簡便に単離するために開発した技術である。CpGアイランドの末端に由来する制限酵素切断断片は部分的にCG配列に富み、変性剤の濃度勾配を含むポリアクリルアミドゲル中で電気泳動すると、CG配列部分は二本鎖のまま他のほぐれやすい部分が一本鎖になった分子となる。この部分変性分子が極めて小さな移動度を

持つことからゲル中に残存し、他のDNA分子から分離できることがSPM法の原理である。CpGアイランドは多くの場合遺伝子上流域に存在することから、この方法は遺伝子の検出、単離技術としても極めて優れている。CpGアイランドの異常なメチル化は遺伝子発現不活性化をもたらし、塩基配列には変化のないエビジェネティックなDNA変化としてがん細胞で頻度高く起こる異常である。高度にメチル化されたDNA断片をアフィニティーカラムクロマトグラフィーで分画し、SPM解析することにより、ヒトがんで特異的にメチル化されるCpGアイランドの総合的な単離を可能にするなど、がんにおけるエビジェネティックなDNA異常の理解に役立つている。

このように、DNAの性質を巧みに利用した従来法とは異なる原理に基づいた独創的な技術の開発は、DNA解析におけるいくつかの限界の突破口となるとともに、これら我が国で開発された技術が広く世界中の研究者に使用され、DNAに秘められた謎の解明に大きな貢献をしてきている。

#### 主要論文

1. T. Sekiya, Y. Kuchino and S. Nishimura. Mammalian tRNA genes: Nucleotide sequence of rat genes for tRNA<sup>Asp</sup>, tRNA<sup>Gly</sup> and tRNA<sup>Glu</sup>. Nucl. Acids Res. 9, 2239-2250, 1981.
2. T. Sekiya, M. Fushimi, H. Hori, S. Hirohashi, S. Nishimura and T.

- Sugimura. Molecular cloning and the total nucleotide sequence of the human c-Ha-ras-1 gene activated in a melanoma from a Japanese patient. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 4771-4775, 1984.
3. M. Orita, H. Iwahana, H. Kanazawa, K. Hayashi and T. Sekiya. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2766-2770, 1989.
  4. M. Orita, Y. Suzuki, T. Sekiya and K. Hayashi. Rapid and sensitive detection of point mutation and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics* 5, 874-879, 1989.
  5. Y. Suzuki, M. Orita, M. Shiraiishi, K. Hayashi and T. Sekiya. Detection of ras gene mutations in human lung cancers by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. *Oncogene* 5, 1037-1043, 1990.
  6. Y. Murakami, K. Hayashi and T. Sekiya. Detection of aberrations of the p53 alleles and the gene transcript in human tumor cell lines by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. *Cancer Res.* 51, 3356-3361, 1991.
  7. Y. Kishimoto, Y. Murakami, M. Shiraiishi, K. Hayashi, and T. Sekiya. Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in human non-small cell carcinomas of the lung. *Cancer Res.* 52, 4799-4804, 1992.
  8. Y. Kishimoto, Y. Murakami, K. Hayashi, S. Takahara, T. Sugimura and T. Sekiya. Detection of a common mutation of the catalase gene in Japanese acatalasemic patients. *Human Genet.* 88, 487-490, 1992.
  9. T. Sekiya. Detection of mutant sequences by single-strand conformation polymorphism analysis. *Mut. Res.* 288, 79-83, 1993.
  10. T. Sekiya. Detection of nucleotide sequence changes by single-strand conformation polymorphism analysis in Genome Research in Molecular Medicine and Virology (ed. by K. W. Adolph). Academic Press, Inc., p101-p113, 1993.
  11. X. Zhang, H.-J. Xu, Y. Murakami, R. Sachse, K. Yashima, S. Hirohashi, S.-X. Hu, W. F. Benedict and T. Sekiya. Deletions of chromosome 13q, mutations in RB1 and RB protein state, in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 54, 4177-4182, 1994.
  12. M. Shiraiishi, L. S. Lerman, and T. Sekiya. Preferential isolation of DNA fragments associated with CpG islands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 4229-4233, 1995.
  13. K. Sugano, Y. Nakashima, K. Yamaguchi, N. Fukayama, M. Maekawa, H. Ohkura, T. Kakizoe, and T. Sekiya. Sensitive detection of loss of heterozygosity in the TP53 gene in pancreatic adenocarcinoma by fluorescence-based single-strand conformation polymorphism analysis using blunt-end DNA fragments. *Genes, Chromosomes & Cancer* 15, 157-164, 1996.
  14. T. Sekiya. Single-strand conformation polymorphism analysis. p281-p291, in *Technologies for detection of DNA damage and mutations*, edited by Gerd P. Peilner, Plenum Press, New York, 1996.
  15. M. Shiraiishi and T. Sekiya. Isolation of CpG island fragments: a putative promoter region of the human prostacyclin synthase gene. *Proc. Japan Acad.* 72B, 101-103, 1996.
  16. M. Shiraiishi, A. J. Oates, X. Li, F. Hosoda, M. Ohki, T. Aliatalo, L. S. Lerman and T. Sekiya. The isolation of CpG islands from human chromosomal regions 11q13 and Xp22 by segregation of partly melted molecules. *Nucl. Acids Res.* 26, 5544-5550, 1998.
  17. M. Shiraiishi, Y. H. Chau and T. Sekiya. Isolation of DNA fragments associated with methylated CpG islands in human adenocarcinomas of the lung using a methylated DNA binding column and denaturing

- gradient gel electrophoresis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 2913-2918, 1999.
18. H. Kuchiki, M. Saino, T. Nobukuni, J. Yasuda, T. Maruyama, T. Kayama, Y. Murakami and T. Sekiya. Detection of amplification of a chromosomal fragment at 6p21 including the cyclin D3 gene in a glioblastoma cell line by arbitrarily primed polymerase chain reaction. Int. J. Cancer 85, 113-116, 1999.
19. M. Kanamori, H. Kon, T. Nobukuni, S. Nonnura, K. Sugano, S. Mashiyama, T. Kunnabe, T. Yoshimoto, M. Meuth, T. Sekiya and Y. Murakami. Microsatellite instability and the PTEN1 gene mutation in a subset of early onset gliomas carrying germline mutation or promoter methylation of the hMLH1 gene. Oncogene 19, 1564-1571, 2000.
20. M. Kuramochi, H. Fukuhara, T. Nobukuni, T. Kanbe, T. Maruyama, H. P. Ghosh, M. Pletcher, M. Isomura, M. Onizuka, T. Kitamura, T. Sekiya, R. H. Reeves, and Y. Murakami. TSIC1 is a tumor-suppressor gene in human non-small-cell lung cancer. Nat. Genet. 27, 427-430, 2001.

M.D. 鈴木邦彦氏の「遺伝性神経疾患、特に  
スフィンゴリピドーシスの病理機序に関  
する研究」に対する授賞審査要旨

鈴木邦彦氏は昭和三〇年に東京大学教養学部教養学科科学史・科学哲学分科を卒業後、東京大学医学部に再入学、昭和三四年医学部卒業、翌年ニューヨークのアルバートアインシュタイン医科大学へ神経内科のレジデントとして渡米した。それ以来一貫して遺伝性小児神経疾患、特にライソゾーム病の研究にたずさわって現在この分野の権威者として世界に認められている。この分野は過去四〇年の間に分析生化学が主体であった時代から酵素学の時代へ、さらに過去一五年間は分子生物学の時代に移行した。鈴木氏は遺伝性神経疾患の病理機序の解明のために、この方法的な推移を採り入れて、常に最先端で研究を進めて来た。氏の業績に言及せずに二〇世紀後半のこの分野の進歩を語ることはできないと言っても過言ではない。

鈴木氏の一九六〇年代の業績の中でも初期の脳のガンクリオシドの抽出法と薄層クロマトグラフィーによる定量法は「鈴木法」として世界中で使われた(文献上)。又その方法によって得られた脳のガ