

分子機能研究部門 機能形態分野

(Department of Molecular Function, Division of Ultrastructure and Function)

鎗田響子技官は5分の2の時間を当分野の活動に参加していたが、センターの組織替えに伴って10月末をもって本分野を去ることとなった。機能形態分野発足以来の鎗田技官の本分野への貢献に対して心からお礼を申し上げる。

チェコ共和国から日本学術振興会外国人特別研究員として一年間「*Cryptococcus neoformans*に関する分子生物学的研究」を行ってきた Raclavsky Vladislav 博士は、1月に帰国した(2000年1月17日~2001年1月16日)。夫人の Hruskova Pavla さんも一年間この研究に参加したが一緒に帰国した。フィリピン共和国から COE 外国人研究員として、「病原担子菌酵母の特長—細胞生物学的研究—」のテーマで研究を行ってきた Tangonan Naomi Gaac 教授は3月に帰国した(2000年7月1日~2001年3月31日)。小倉康裕博士は、昨年度に引き続き COE 非常勤研究員として採用され、「*Cryptococcus neoformans*の細胞周期を制御する分子機構の解明にむけて」研究を続けている。11月1日に技術補佐員(科学技術振興研究補助員)として山本一美さんが採用され、本分野の活動に参加している。

スロバキア共和国スロバキア科学アカデミーの Vladimir Farkas 博士が、COE 外国人研究員として10月に来日し、「酵母細胞壁に関する生理・生化学的研究」を開始した(2001年10月20日~2002年3月31日)。ハンガリー共和国セゲド大学の Judit Kucsra 博士も、COE 外国人研究員として10月に来日し、「*Cryptococcus neoformans*に関する遺伝学的研究」を行っている(2001年10月24日~2002年1月25日)。

バングラディッシュ人民共和国からの国費留学生 Sondip Kumar Biswas 君は大学院博士課程3年生として研究を続けている。ラトビア共和国からの国費留学生 Antra Drivinya さんは、大学院博士課程2年生として研究を続けている。園芸学部修士課程1年生の岸田恵理子さんは、藤井貴明教授との共同研究の推進のため、本分野で研究を行っている。東邦大学理学部4年生の大久保昌美さんは、卒業研究を本分野で行っており、来年千

葉大学修士課程に入ることとなった。9月に医学部4年次の基礎配属で、市原広太郎君、岡山 大君、斉藤繭子さんを受け入れ、基礎的な医学研究の実習を行った。

9月に全国共同利用の一環として、本分野が中心となって、医真菌細胞生物研究会を開催した。「真菌細胞の超微形態、構造、機能の解析」の研究課題で活発な討議が行われ、実りある会となった。

研究概要

1. *Cryptococcus neoformans*の細胞周期の解析

Saccharomyces cerevisiae や *Candida albicans* では DNA 合成、出芽、spindle pole body の複製という形で核分裂の開始、という大切な出来事を“start”が一元的に支配している。これと対照的に *Cryptococcus neoformans* では細胞周期の制御はフレキシブルであることが以下の様に分かった。本菌では出芽は指数増殖期初期ではS期の始めに起こるが、増殖相が進むにつれて細胞周期の後方に移行し、定常期近くでは出芽はG₂期に起こる。さらに、指数増殖期初期の細胞でも培地中の溶存酸素を低下させると、出芽はG₂期で起こること、その後大部分の細胞はDNA合成を完了しているが、未出芽の状態で停止することが分かった。

2. 培地酸性化による *Cryptococcus neoformans* の早期死と低 pH 適応後の生存

酵母培養の標準的培地として頻用されているブドウ糖添加 YNB 培地で、*C. neoformans* が早期に死ぬこと、この早期死は培地 pH の低下によること、細胞死には二種類の形態変化が起こることを見つけた。第一は細胞壁に線状に連なった付着物があるもので、FITC で強く染色されることから、局所的に脆弱化した細胞壁から細胞質がバースト、低 pH 環境でタンパク質が凝集したことが分かった。第二は細胞が萎縮したもので低 pH での細胞膜の機能喪失によると判断された。

C. neoformans は自然界ではハト糞等弱アルカリ環境

で生育しているが、宿主食細胞ライゾームの低 pH 環境でも生き残り、病原性を発揮できる。これに対応して *C. neoformans* は細胞壁のキチンとグルカンが顕著に増量した細胞が出現し、長く生存する、即ち本菌は低 pH 環境への適応能を示すことが分かった。

3. *Exophiala dermatitidis* の紡垂極体と細胞周期に関する研究

紡垂極体は、真菌が核分裂をするときに両極に位置して、染色体を微小管を介して引っ張ることによって二つに分ける重要な細胞小器官である。本年は、急速凍結した試料の連続超薄切片による解析をさらに 8 個の細胞について行い、これまでの通常の超薄切片のデータを含めて総合的に解析した。その結果、*Exophiala dermatitidis* の紡垂極体は、1. 細胞周期の G₁, S, G₂ 期の大部分を複製が終了した 2 個の状態が存在すること、2. 核分裂に先立って紡垂極体は膨潤し、二つに分かれて核膜にそって移動すること、3. 分裂前期に核膜中に入り込んで多くの微小管と会合し、中期、後期には核の両極に位置すること、4. 終期に再び核膜から離れて細胞質にもどること、5. 複製は G₁ の初期におけると推定されること、などが明らかになった。

4. 病原性酵母の高圧凍結法による電子顕微鏡観察

本年は、*Cryptococcus neoformans* に加えて *Exophiala dermatitidis* の数株についても高圧凍結法による電子顕微鏡観察を行い、さらに両者の同一株を用いて急速凍結法との比較も行った。その結果、どちらの凍結法を用いても、核や液泡は球形を呈し、膜系はなめらかで、細胞の自然な構造を明瞭に観察できることがわかった。しかし、急速凍結法では試料の表層の数ミクロンしか良い凍結ができないのに対し、高圧凍結法では数百ミクロンまでの良い凍結ができることがわかった。このことから高圧凍結法は、細胞の連続超薄切片作製と三次元再構築に有用であることが明らかになった。

5. *Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御遺伝子の単離

真核生物において高度に保存されている細胞周期制御機構の中心因子である *CDC28/CDC2* (サイクリン依存性キナーゼ) について、Degenerate PCR 法により *Cryptococcus neoformans* より cDNA の部分断片 *CDK1* を

単離した。また *C. neoformans* ゲノムプロジェクトのデータベース検索により *CDK1* 及びその相同遺伝子 2 種のゲノム断片を見出し、PCR 法により単離した。更にサイクリン遺伝子も数種見出しており、今後はこれらの全長遺伝子を単離し、その相互作用を解析することで *C. neoformans* 細胞周期の制御機構を解明したい。

原著論文

- 1) Ohkusu M, Hata K, Takeo K: Bud emergence is gradually delayed from S to G₂ with progression of growth phase in *Cryptococcus neoformans*. FEMS Microbiol. Lett. 194: 251-255, 2001.

The G₂ index of the yeast *Cryptococcus neoformans* determined by laser scanning cytometer was 2-3 times higher than the budding index during transition to the stationary phase of the culture, indicating that buds emerged in the G₂ phase of the cell cycle. To clarify whether buds also emerge in G₂ during exponential growth of the culture, DNA content for each cell was measured with a fluorescence microscope equipped with a photomultiplier. The DNA content of cells having tiny buds varied rather widely, depending on growth phases and strains used. Typically, buds of *C. neoformans* emerged soon after initiation of DNA synthesis in the early exponential phase. However, bud emergence was delayed to G₂ during transition to the stationary phase, and in the early stationary phase budding scarcely occurred, although roughly half of the cells completed DNA synthesis. Thus, the timing of budding in *C. neoformans* was actually shifted to later cell cycle points with progression of the growth phase of the culture.

- 2) Ohkusu M, Raclavsky V, Takeo K: Deficit in oxygen causes G₂ budding and unbudded G₂ arrest in *Cryptococcus neoformans*. FEMS Microbiol. Lett. 204: 29-32, 2001.

Cryptococcus neoformans exhibited diphasic growth when grown under limited aeration. First, it grew exponentially, but at OD 1 the concentration of dissolved oxygen in culture decreased to 1

mg l⁻¹ and a second phase of slow growth was started. This phase was characterised by a shift of budding from S to G₂, a sharp decrease in budding index, and a sharp increase in the proportion of unbudded G₂ cells to 80%. Thus, a deficit in oxygen was demonstrated to delay the timing of budding, prolong the G₂ phase and cause accumulation of cells after DNA synthesis, but before commitment to budding.

- 3) Yoshida S, Ohkusu M, Hata K, Yarita K, Fujii T, Takeo K: Early death at medium acidification and survival after low pH adaptation in *Cryptococcus neoformans*. Mycoscience. 42 (6) : 535-541, 2001.

When *Cryptococcus neoformans* was grown in yeast nitrogen base (YNB) supplemented with 0.5% glucose, the medium was acidified to below pH 3 during the exponential growth phase, which caused early growth-phase death in susceptible strains. Even in resistant strains, 30-70% cells died if incubated for 2 d in YNB supplemented with 1.5% glucose, whereas the remaining cells survived long. Two types of fatal alterations have been observed in dead cells. In the first type, release of cytoplasm occurred through weakened parts of the cell wall; structures attached to cell walls of dead cells were shown to be rich in proteins by FITC staining, indicating their cytoplasmic origin. In the second type, cells shrank distinctly with no sign of wall rupture. The shrinkage may be due to dysfunction of the plasma membrane at low pH. The mechanism of cell survival in medium below pH 3 was also examined. Aniline blue alone, or calcofluor together with methylene blue, allowed cell wall glucan or chitin and dead cell cytoplasm to be stained simultaneously. In the later stages of incubation, cells showing bright staining for cell wall glucan and chitin emerged. These changes in cell wall synthesis could be considered as an adaptation mechanism to acidification of the medium, because such cells survived longer than cells showing no change in

the cell wall staining pattern.

- 4) Kopecka M, Gabriel M, Takeo K, Yamaguchi M, Svoboda A, Ohkusu M, Hata K, Yoshida S: Microtubules and actin cytoskeleton in *Cryptococcus neoformans* compared with ascomycetous budding and fission yeasts. Eur J Cell Biol. 80 : 303-311, 2001.

Actin cytoskeleton and microtubules were studied in a human fungal pathogen, the basidiomycetous yeast *Cryptococcus neoformans* (haploid phase of *Filobasidiella neoformans*), during its asexual reproduction by budding using fluorescence and electron microscopy. Staining with rhodamine-conjugated phalloidin revealed an F-actin cytoskeleton consisting of cortical patches, cables and cytokinetic ring. F-actin patches accumulated at the regions of cell wall growth, i. e. in a cylindrical sterigma-like protrusion, bud and septum. In mother cells evenly distributed F-actin patches were joined to F-actin cables, which were directed to the growing sterigma-like protrusion and bud. Some F-actin cables were associated with the cell nucleus. The F-actin cytokinetic ring was located in the bud neck, where the septum originated. Antitubulin TAT1 antibody revealed a microtubular cytoskeleton consisting of cytoplasmic and spindle microtubules. In interphase cells cytoplasmic microtubules pointed to the growing sterigma-like protrusion and bud. As the nucleus was translocated to the bud for mitosis, the cytoplasmic microtubules disassembled and were replaced by a short intranuclear spindle. Astral microtubules then emanated from the spindle poles. Elongation of the mitotic spindle from bud to mother cell preceded nuclear division, followed by cytokinesis (septum formation in the bud neck). Electron microscopy of ultrathin sections of chemically fixed and freeze-substituted cells revealed filamentous bundles directed to the cell cortex. The bundles corresponded in width to the actin microfilament cables. At the bud neck numerous ribosomes accumulated before septum

synthesis. We conclude: (i) the topology of F-actin patches, cables and rings in *C. neoformans* resembles ascomycetous budding yeast *Saccharomyces*, while the arrangement of interphase and mitotic microtubules resembles ascomycetous fission yeast *Schizosaccharomyces*. The organization of the cytoskeleton of the mitotic nucleus, however, is characteristic for basidiomycetous yeasts. (ii) Specific feature of *C. neoformans* was the formation of cylindrical sterigma-like protrusion, characterized by dense invasion of F-actin cables and microtubules, followed by dense accumulation of F-actin patches around its terminal region resulting in development of an isodiametrical bud. (iii) These cytoskeletal structures may serve as specific targets for searching actin and microtubule inhibitors of proliferation of the human fungal pathogen *C. neoformans* *in vitro* and *in vivo*.

- 5) Ito E, Kondo F, Harada K-I: Intratracheal administration of microcystin-LR, and its distribution. *Toxicon* 39 : 265-271, 2001.

Microcystin-LR was injected into mice intratracheally, absorption from the lung was easy and it was confirmed that both the cause of death and lethality dose level were the same as by i. p. treatment. An immunostaining method revealed that there was a time lag of about 60 min before accumulation of MCLR, and that it caused bleeding in the liver. Clearance from internal organs took about 2 weeks; during the initial stage (the first 2 days), the small intestine, kidney, cecum and large intestine were already involved. However, even after 2 weeks, small amounts of MCLR still presented in epithelial cells in the gastrointestinal mucosa.

- 6) Kopecka M, Yamaguchi M, Gabriel M, Takeo K, Svoboda A: Morphological transitions during the cell division cycle of *Cryptococcus neoformans* as revealed by transmission electron microscopy of ultrathin sections and freeze-substitution. *Scripta Medica (Brno)* 73 (6) : 369-380, 2000.

- 7) Gabriel M, Kopecka M, Takeo K, Yoshida S: Ultrastructure of *Fellomyces fuzhouensis*-New, potentially pathogenic yeast reproducing by conidiogenesis. *Scripta Medica (Brno)* 73 (6) : 341-360, 2000.

著書, 総説, 解説, その他

- 1) 青木茂治, 竹尾漢治: 書評: Atlas of Clinical Fungi, 2nd edition (2000) de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Giguera MJ. Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands. *真菌誌* 42 : 99, 2001.
- 2) 竹尾漢治, 青木茂治: 書評: Atlas of Clinical Fungi, 2nd edition (2000) de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Giguera MJ. Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands. *日菌報* 42 : 129, 2001.

学会発表

(国際学会)

- 1) Ohkusu M, Hata K, Takeo K: Complex cell cycle control in the basidiomycetous yeast *Cryptococcus neoformans*. American Society for Microbiology 101th General Meeting, Abstracts p.357, Orlando, Florida, May 20-24, 2001.
- 2) Yoshida S, Hata K, Ohkusu M, Aoki S, Takeo K: YNBG-induced cell death in *Cryptococcus neoformans* and some other pathogenic yeasts. American Society for Microbiology 101th General Meeting, Abstracts p.362, Orlando, Florida, May 20-24, 2001.
- 3) Kopecka M, Gabriel M, Svoboda A, Takeo K, Yamaguchi M: Cytoskeleton in the cell cycle of *Cryptococcus neoformans* and the effects of cytoskeletal inhibitors. 29th Ann Conf Yeasts, Smolenice, Slovakia, May 23-25. *Folia Microbiol* 46 : 245, 2001.
- 4) Raclavsky V, Drivinya A, Hruskova P, Takeo K: *Cryptococcus neoformans* is able to escape the Rylux BSU and Congo red antifungal action. 29th Annual Conference on Yeasts, Abstracts p.19. 2001. SAS Congress Center, Smolenice, Slovakia,

- May 23-25. Folia Microbiol 46 : 251, 2001.
- 5) Vidotto V, Defina N, Pugliese A, Aoki S, Nakamura K, Takeo K : Effect of different K⁺ concentrations on *Cryptococcus neoformans* phenoloxidase activity. 7th Congress of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM), Rodos Palace Hotel, Rhodes, Greece, 16-19 June 2001. Mycoses, 44 (Suppl. 1) : 78-79. 2001.
 - 6) Yamaguchi M, Biswas SK, Takeo K : Dynamics of nucleus-associated organelle in *Exophiala dermatitidis* revealed by freeze-substitution electron microscopy. Proc. Joint Meeting of the 2nd Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology and the 5th China-Japan International Congress of Mycology, p.130. Kunming, China. 23-25 August 2001.
 - 7) Aoki S, Ito S, Nakamura K, Takeo K, etc : Chemiluminescence of superoxide generated by *Candida albicans* : Dependence of paraquat induced superoxide generation on respiration. Proc. Joint Meeting of the 2nd Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology and the 5th China-Japan International Congress of Mycology, p.125. Kunming, China. 23-25 August 2001.
 - 8) Kopecka M, Gabriel M, Svoboda A, Takeo K, Yamaguchi M, Hata K, Yoshida S, Ohkusu M : Cytoskeleton in human pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* and *Aureobasidium pullulans* and the effect of cytoskeletal inhibitors. 20th Intl Conf Yeast Genetics Molec Biol, Prague, Czech Republic, Aug 26-31. Yeast 18 (S1) : S207, 2001.
 - 9) Raclavsky V, Ohkusu M, Hruskova P, Takeo K : Preparation of *Cryptococcus neoformans* synchronous culture. 20th Intl Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology, Prague, 26-31 August 2001. Yeast 18 (Suppl. 1) : S326, 2001.
 - 10) Raclavsky V, Hruskova P, Ohkusu M, Kafkova L, Kolar Z, Takeo K : Effect of the inhibitor of cyclin dependent kinases bohemin in *Cryptococcus neoformans*. Cells III : 3rd Conference on Cell Biology, Abstracts p.192, 2001, South Bohemian University, Ceske Budejovice, Czech Republic, 17-19 September 2001.
- (国内学会)
シンポジウム
- 1) 山口正視 : プラズマ重合レプリカ法. 日本電子顕微鏡学会第57回学術講演会. 5月. 福岡. 電子顕微鏡 36 (増刊1号) : 91, 2001.
- 一般講演
- 1) 藤田靖弘, 竹尾漢治, 山口正視, 天知誠吾, 篠山浩文, 藤井貴明 : 細胞二形性菌 *Pseudozyma* sp. BX-1 における隔壁と細胞内微細構造. 日本農芸化学学会大会. 3月. 京都. 講演要旨 75 : 363, 2001.
 - 2) Biswas SK, Yamaguchi M, Takeo K, Kita S, Aikawa E : Electron microscopy of pathogenic yeast by high pressure freezing. 日本電子顕微鏡学会関東支部第25回講演会. 3月. 東京. 予稿集 p. 81, 2001.
 - 3) 山口正視, Biswas SK, 竹尾漢治 : 病原真菌 *Exophiala dermatitidis* の nucleus-associated organelle の細胞内動態の解析. 日本電子顕微鏡学会第57回学術講演会. 5月. 福岡. 電子顕微鏡 36 (増刊1号) : 85, 2001.
 - 4) 山口正視, Biswas SK, 竹尾漢治 : *Exophiala dermatitidis* の nucleus-associated organelle の細胞内動態. 第6回千葉真菌症研究会. 6月. 千葉. 要旨集, p.8, 2001.
 - 5) 吉田祚一, 大楠美佐子, 畑 邦彦, 鎗田響子, 竹尾漢治 : *Cryptococcus neoformans* YNB 培養時の pH 低下と適応. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号) : 82, 2001.
 - 6) 大楠美佐子, 竹尾漢治 : *Cryptococcus neoformans* の出芽開始時期は変化する. 第45回日本医真菌学会総会, 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号) : 83, 2001.
 - 7) 岸田理恵子, 大楠美佐子, 吉田祚一, 藤井貴明, 竹尾漢治 : *Cryptococcus neoformans* のカプセルサイズと YNB 培地における低 pH 適応能. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号) : 83, 2001.
 - 8) 小倉康裕, 竹尾漢治 : *Cryptococcus neoformans*

細胞周期制御因子の単離. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号): 83, 2001.

- 9) 山口正視, Biswas SK, 竹尾漢治: *Exophiala dermatitidis* の細胞周期における spindle pole body の動態. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号): 86, 2001.
- 10) 久和彰江, 仲村健二郎, 青木茂治, 岡本祐一, 又賀泉, 竹尾漢治: スーパーオキシドによるアンフォテリシンBの抗カンジダ活性の増強. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号): 101, 2001.
- 11) 比留間政太郎, 松下明子, 小林三保子, 竹尾漢治, 小川秀興: 爪真菌症に対する追行的 itraconazole-terbinafine パルス療法. 第45回日本医真菌学会総会. 9月. 東京. 真菌誌 42 (増刊1号): 73, 2001.
- 12) 伊藤恵美子, 原田健一: ラン藻の生産する有毒ペプチドに関する研究. オカダ酸との比較研究. 第121年会薬学会要旨, 2001.
- 13) 伊藤恵美子, 佐竹真幸, McMahon T, James K, 安元 健: ムラサキイガイから分離された毒素アザスピロ酸による慢性毒性. 第48回毒素シンポジウム予稿集, 149-152, 2001.
- 14) 山口正視, 竹尾漢治: *Exophiala dermatitidis* の nucleus-associated organelle の急速凍結置換法による電子顕微鏡観察. 第5回千葉真菌症研究会. 2000年6月. 千葉. 要旨集, 2000.

国際共同研究

- 1) ハンガリー国デブレツェン大学遺伝学教室 Matthias Sipiczki 教授: 分裂酵母の遺伝学的, 細胞生物学的研究.
- 2) ハンガリー国セゲド大学微生物学教室 Judit Kucsra 准教授: *Cryptococcus neoformans* の細胞生物学的研究.
- 3) チェコ国パラスキー大学医学部生物学教室, Vladislav Raclavsky 講師: 病原酵母のストレス反応.
- 4) アメリカ合衆国, ロマリダ大学微生物分子遺伝学教室, 笠 淳一准教授: *Cryptococcus neoformans* の分子遺伝学的研究.

共同利用研究 (国内)

- 1) 藤崎真吾 (東邦大学・講師), 西村行進 (同・教授),

戈野棟一 (同・助教授): 酵母及び細菌における細胞表層の合成について.

- 2) 青木茂治 (日本歯科大学・教授), 久和彰江 (同・講師), 仲村健二郎 (同・講師): 病原性酵母カンジダ・アルビカンスの活性酸素産生に関する研究.
- 3) 杉田 隆 (明治薬科大学・助手): 病原性酵母 *Trichosporon asahii* の微細構造.
- 4) 畑 邦彦 (鹿児島大学・講師): 多形成酵母の形態と生態に関する研究—黒色酵母とアンプロシア菌について—.
- 5) 鈴木基文 (理化学研究所・前任研究員): *Candida famata* 等のテレオモルフ属の細胞生物学的研究.
- 6) 祥雲弘文 (筑波大学・教授), 高谷直樹 (同・助手): 通性嫌気性真菌ミトコンドリアの形態と機能.
- 7) 藤井貴明 (千葉大学・教授): 真菌類培養の炭素源, 酵素生産, 細胞形態ならびに微細構造に関する研究.

国際交流活動・外国出張

- 1) 笠 淳一准教授 (アメリカ合衆国, ロマリダ大学微生物分子遺伝学教室): 研究討論のため研究室を訪問. 平成13年7月9日.
- 2) Gyorgy Bargha 教授 (ハンガリー, デブレツェン大学医学部): 研究討論のため研究室を訪問. 平成13年10月6日.
- 3) Ferenc Kevei 教授 (ハンガリー, セゲド大学微生物学教室): 共同研究のため研究室に滞在 (平成13年度振興調整費). 平成13年11月24日~12月3日.
- 4) 吉田祚一: 学会出席・発表. アメリカ合衆国. 101th General Meeting of the American Society for Microbiology, Orlando, Florida. 平成13年5月17日~24日.
- 5) 大楠美佐子: 学会出席・発表. アメリカ合衆国. 101th General Meeting of the American Society for Microbiology, Orlando, Florida. 平成13年5月17日~27日.
- 6) 山口正視: 学会出席・発表. 中国. Joint Meeting 2nd Cong Asia Pacific Soc Med Mycol and 5th China-Japan Intl Cong Mycol, Kunming. 平成13年8月22日~26日.
- 7) 小倉康裕: 研究討論のためアメリカ合衆国. 国立保健衛生研究所 (NIH) を訪問 (平成13年度振興調整費). 平成13年11月3日~11日.

共同利用研究（国内・他大学で行ったもの）

- 1) 山口正視, 竹尾漢治: 酵母クリプトコックス・ネオフォルマンスのキチン合成酵素と多様性に関する研究. 受け入れ機関, 東北大学遺伝生態研究センター 宮寄 厚, 大瀧 保.

学会活動（主催学会, コンビーナ）

- 1) 山口正視: Joint Meeting 2nd Cong Asia Pacific Soc Med Mycol and 5th China-Japan Intl Cong Mycol (Aug 23-25, Kunming, China) Advisory committee member.

科学研究費・研究報告書

- 1) 大楠美佐子（代表）: 病原酵母 *Cryptococcus neoformans* の細胞周期と同調培養. 平成13年度文部省科学研究費補助金（奨励研究 B, 課題番号13922052）23万円.
- 2) 竹尾漢治（分担）: 細胞表層物質の構造と機能. 平成10年度～平成12年度文部省科学研究費補助金（基盤研究（B）(2), 課題番号10045024）研究成果報告書. 2001.3.
- 3) 山口正視, 竹尾漢治, 宮寄 厚, 大瀧 保: 酵母クリプトコックス・ネオフォルマンスのキチン合成酵素と多様性に関する研究. 東北大学遺伝生態研究センター年報 2001. p. 82-83.