

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名: RNAi法による糖鎖機能解明と利用技術の開発

2. 研究代表者名: 西原 祥子 (創価大学工学部 教授)

3. 研究概要

(目的)

生物の発生過程や細胞の癌化において、細胞表面の糖鎖構造は顕著な変化をしめず。糖鎖修飾は翻訳後修飾の主となるものであり、糖鎖修飾を考慮せずにタンパク質の機能を論ずる事はできない。本研究は、ポストゲノムの重要課題である「個体レベルでの糖鎖機能の解明」を目的している。糖鎖の種を越えて保存されている機能に着目して、ショウジョウバエをモデルとした網羅的解析システムからその全容を明らかにし、糖鎖の基本機能の全体像解明への方法論と技術開発を行うものである。

(方法)

ヒトや他の哺乳類の遺伝子をクエリーとしたデータベース検索により、糖転移酵素遺伝子をはじめとするショウジョウバエ糖鎖関連遺伝子を網羅的に抽出した。上田等が開発した誘導型 RNAi ノックダウンシステムにより、RNAi 変異体を網羅的に作成し、発生学的解析、分子生物学的解析、生化学的解析を行った。

(結果)

254個の糖鎖関連遺伝子のうち、155遺伝子について RNAi 変異体を作成した。全身で RNAi を誘導したところ、内68%が致死性を示し、糖鎖が発生、及び、生命維持において重要な働きをすることが、明らかになった。さらに、糖転移酵素を中心とした76遺伝子に対して組織特異的なノックダウンを行った。各々の遺伝子は、その表現型によりクラスタリングされ、各クラスターは、各糖鎖の生合成経路と形態形成における機能を反映していた。本解析は、糖鎖機能の網羅的解析の初めての例であり、これにより、糖鎖の基本機能の全体像解明への道が開かれるものと考えられる。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

共同研究体制は、ショウジョウバエRNAi解析を中心として、発生学、糖鎖構造解析、有機合成、ヒト培養細胞の研究者とネットワークを作り上げ、きわめて適切に運営されているので、研究は当初の計画以上に進展している。研究費の配分と論文数は相関している。

4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

本チームは網羅的ノックダウンを精力的に行い、糖鎖遺伝子の重要性を示すことができた。網羅的な研究としては十分な成果をあげた。RNAi法は100%ノックダウンする事が困難なため明確な結

論が出難いが、研究チームのデータは明確であり、技術の高さを感じる。他のモデル生物 *C.elegans* などの研究と比べても進んでいる。

#### 4 - 3 . 今後の研究に向けて

変異体の作製から表現型の解析に進むことになるが、どういう戦略で進めるべきか、いくつかの方向性が提案されているが、本チームの特徴が出せるターゲットに絞って研究をすすめる必要がある。PAPSのtransporterの発見はオリジナリティーが高く、更に精力的に研究を進めて欲しい。また、Notch signal 以外の新しい現象を追求して欲しい。

#### 4 - 4 . 戦略目標に向けての展望

RNAi法が糖鎖生物学の研究に有効に使えることを示す最初の成果である。ショウジョウバエの研究と哺乳類の研究を詳細に照合して重要な問題点を見つけ出し、人の病気につながる成果を期待する。

#### 4 - 5 . 総合的評価

有機的に良くまとまった研究チームを構成し、短時間でRNAi法により糖鎖機能の網羅的解析をまとめたことは高く評価できる。