

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成14年度採択研究代表者

西原 祥子

(創価大学工学部生命情報工学科 生命科学研究所 兼任 教授)

「RNAi法による糖鎖機能解明と利用技術の開発」

1. 研究実施の概要

生物の発生過程や細胞の癌化において、細胞表面の糖タンパク質や糖脂質上の糖鎖構造はドラスティックに変化する。合成されたタンパク質や脂質はゴルジ装置で糖転移酵素により順次糖を付加される。ヒト個体発生や疾病において糖鎖が重要な役割を果たしていることは明らかであるが、多様な糖鎖が個体レベルでどのような役割を果たしているかは、ほとんどわかっていない。一方、翻訳後修飾の最たるものは糖鎖修飾であり、ゲノムとプロテオームの先にあるものは、グリコームである。本研究は、ポストゲノムの最重要課題である「個体レベルでの糖鎖機能の解明」を目的とし、糖鎖基本機能の全体像に迫る方法論と技術開発を提供する。

本研究は平成14年11月から開始され、平成14年度は研究計画の立ち上げと基本システムの構築を行なった。まず、糖鎖の複雑性の基礎となる糖転移酵素を取り上げた。ヒトをはじめとする哺乳類では糖転移酵素遺伝子が200種以上と予想され、すべてに対するターゲットマウスの作製は困難である。我々は、糖転移酵素の分子進化学的な解析からショウジョウバエではそのうち75種が保存され、大部分は基本的な糖鎖構造を作るために必要なものである事を確認した。つまり、ハエをモデル系にしてヒトの基本的な糖鎖機能を解析できると予想された。ハエでは誘導型RNAiノックダウンシステムが新規に開発されており、多数の遺伝子を短時間に解析する方法が確立している。我々は、ヒト糖転移酵素に対応する75種のハエ遺伝子を単離し、網羅的RNAiノックダウン体の作製と解析を開始した。一部の糖転移酵素については、予想される表現型が得られている。遺伝子特異的なmRNAの減少も併せて認められ、ファミリーを形成する酵素間でも、本システムが有効に働くことが確認された。今後、糖転移酵素遺伝子に対する解析をさらに進めると共に、糖ヌクレオチド輸送体などの糖鎖関連遺伝子のRNAiノックダウン体解析も行い、糖鎖の生理機能の全体像を明らかにする。さらに、これらの結果を基にヒトや哺乳類培養細胞系で解析し、本研究の成果を、ヒト遺伝病や癌、感染症等の解析や治療に応用する事を目指す。

2. 研究実施体制

(1) 統括グループ

- ① 研究分担グループ長：西原祥子（創価大学 工学部生命情報工学科、生命科学研究
所 兼任、教授）
- ② 研究項目：ショウジョウバエ糖鎖関連遺伝子の網羅的単離と同定
体系的RNAiノックダウン体の分子生物学的・生化学的解析
ハエ解析結果のヒトへの応用

(2) 遺伝学的機能解析グループ

- ① 研究分担グループ長：上田 龍（国立遺伝学研究所 無脊椎動物遺伝学研究室、教
授）
- ② 研究項目：ショウジョウバエ糖鎖関連遺伝子の体系的なRNAiノックダウン体作製
RNAiノックダウン体の遺伝学的解析

(3) 発生学的機能解析グループ

- ① 研究分担グループ長：後藤 聡（三菱化学生命科学研究所、主任研究員）
- ② 研究項目：ショウジョウバエ糖鎖関連遺伝子RNAiノックダウン体の発生学的解析

(4) 糖鎖構造解析グループ

- ① 研究分担グループ長：豊田英尚（千葉大学大学院薬学研究院 生体分析化学研究室、
助教授）
- ② 研究項目：野生型とショウジョウバエ糖鎖関連遺伝子RNAiノックダウン体の糖鎖構
造解析

(5) 糖鎖合成グループ

- ① 研究分担グループ長：石田秀樹（（財）野口研究所 糖鎖有機化学研究室、研究
員）
- ② 研究項目：糖鎖基質、及び、阻害剤の合成

(6) 糖鎖細胞制御グループ

- ① 研究分担グループ長：中村 充（産業技術総合研究所・糖鎖工学研究センター、チー
ム長）
- ② 研究項目：糖鎖関連遺伝子siRNA導入哺乳類細胞の性状解析