

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成15年度採択研究代表者

野村 一也

(九州大学理学研究院生物科学部門 助教授)

「遺伝子破壊による糖鎖機能の戦略的解明」

1. 研究実施の概要

糖鎖は「生命の第3の鎖」とよばれて、その医学・生物学上での重要性が日本を中心とした研究グループによって次々と明らかにされている。21世紀の医学生物学に革命をもたらすともいわれる糖鎖生物学のさらなる発展のためには、多細胞生物において単一細胞レベルと個体レベルでの糖鎖の機能解析が不可欠である。モデル生物として有名な線虫*C. elegans*は1,000個程度の細胞の全細胞系譜や302個の神経細胞の全神経回路網が明らかになっており、四次元顕微鏡というタイムラプス顕微鏡で生きたまま発生の全過程が追跡できるというこの目的には最適の多細胞生物である。またヒトの遺伝子と74%の遺伝子が共通であり、線虫のゲノム計画は終始ヒトゲノム解析計画をリードし続けたし、現在のポストゲノム研究もリードし続けている。本研究は、このモデル生物としての線虫の利点を最大限に活用して、糖鎖とそれに関連した様々な遺伝子の機能解析を遺伝子破壊を中心とした方法ですすめ、ヒトと高等動物に共通する糖鎖の未知の機能を明らかにすることを目標とする。この目的のため線虫の糖鎖関連遺伝子について、その遺伝子機能をRNA干渉法(RNAi)や欠失突然変異体を利用して破壊し、その効果を個体レベル、単一細胞レベルで解明する。今年度はこの目的を効率的に達成するため、線虫実験系の各研究グループでの整備、四次元顕微鏡の増設、欠失突然変異体株の取得方法の効率化、トランスジェニック動物の作成法の改良、神経細胞同定技術の向上、レーザー細胞破壊による細胞機能検定法の習得、RNAiの方法の改良、プロテオーム解析システムの比較検討とマスペクトルでの同定法の整備などを行った。本年度すでに5種程度の糖鎖関連遺伝子のノックアウト株の取得が終わり致死の表現型の解析をすすめている。今後、糖鎖関連遺伝子のノックアウトの取得スピードと解析をさらに加速しながら糖鎖の隠された機能をつぎつぎと明らかにしていきたい。

2. 研究実施体制

九州大学 野村グループ

- ① 研究分担グループ長：野村 一也 (九州大学大学院理学研究院、助教授)
- ② 研究項目：全体の統括と線虫遺伝子破壊による糖鎖関連遺伝子の機能解析・プロ

テオーム解析

東京女子医科大学 安藤グループ

- ① 研究分担グループ長：安藤 恵子（東京女子医科大学医学部、助手）
- ② 研究項目：線虫の糖鎖関連遺伝子の欠失突然変異株の取得と解析。トランスジェニック線虫の作成方法の開発と改良。

医薬品食品衛生研究所 川崎グループ

- ① 研究分担グループ長：川崎 ナナ（国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部、室長）
- ② 研究項目：二次元電気泳動による線虫蛋白質の分離と解析。質量分析法によるプロテオーム解析

神戸薬科大学 北川グループ

- ① 研究分担グループ長：北川 裕之（神戸薬科大学、助教授）
- ② 研究項目：糖鎖関連遺伝子、特にプロテオグリカンに関する遺伝子に関する生化学的解析と細胞生物学的解析

佐々木研究所 瀬古グループ

- ① 研究分担グループ長：瀬古 玲（佐々木研究所、研究員）
- ② 研究項目：遺伝子破壊にともなう糖鎖の変動の解析と遺伝子解析。線虫の糖鎖配列の解析、糖鎖関連遺伝子の解析。硫酸化の解析と遺伝子クローニング、

杏林大学 金井グループ

- ① 研究分担グループ長：金井 好克（杏林大学医学部、教授）
- ② 研究項目：哺乳類、特にヒトとの関連でのトランスポーターなど糖鎖関連線虫遺伝子の解析