

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：糖鎖を介した細胞分裂・細胞分化制御工学の展開
2. 研究代表者：野村 一也(九州大学大学院理学研究院生物科学部門 助教授)
3. 研究内容及び成果：

申請者は、これまでの研究で、線虫の初期胚にはコンドロイチンが存在することを確認し、RNAi法によりコンドロイチン合成酵素遺伝子*ChSy*の発現を阻害すれば細胞分裂に異常が起ることを認めていた。本研究では、この系について生化学的な検証を行った。

まず、通常の二重鎖RNA溶液に浸漬するsoaking法のRNAiでは、生化学的解析に十分な量の胚が確保できないことから、RNAiに必要な二重鎖RNAを合成する大腸菌を線虫のエサとする方法（feeding法）を導入した。その結果、コンドロイチン糖鎖の生化学的な定量が可能となり、RNAi処理による*ChSy* 遺伝子の機能阻害を行った胚では、確かにコンドロイチン糖鎖の量が減少し、異常な細胞分裂が起ることを確認した。この効果はコンドロイチンに特異的で、同じ阻害胚で同様にプロテオグリカンの仲間であるヘパラン硫酸の合成は少しも減少していない。このfeeding法によるRNAiでは、その効果の強弱調節も可能で、RNAi用の大腸菌をエサとして与える時間を長くするほど強い細胞分裂阻害が起きる。

細胞分裂は、一般に核の分裂に伴って細胞質の分裂が共役して進む。しかし、feeding法のRNAiにより極めて強く（ほぼ完全に）コンドロイチン合成を阻害した場合には、核分裂のみが起り細胞質分裂は全く起らなくなる。興味あることには、中程度にコンドロイチン合成を阻害した場合には、一旦は分裂した細胞が融合するように見える現象が観察される。またコンドロイチンのプロテオグリカン糖鎖はリンカー領域とよばれる特異的な4糖からなる糖鎖で蛋白質に結合しているが、このリンカー領域の合成酵素の生成をRNAiで阻害すると、どの酵素の場合でもやはり同様の細胞分裂異常が起ることが分った。これに対し、ヘパラン硫酸合成酵素のRNAiでは細胞分裂異常は全く起らない。さらに線虫胚から細胞を単離培養し、その培養液にコンドロイチン分解酵素を添加すれば、先述の細胞分裂の逆行現象が見られることを認め、コンドロイチンこそが線虫の細胞分裂に働いていると考えた。さらにコンドロイチン合成酵素の欠失突然変異をもつ線虫を東京女子医科大学の三谷昌平先生との共同研究で分離し、この変異株でもRNAiによる実験と全く同様の細胞分裂異常がおこることを観察した。

コンドロイチン合成酵素遺伝子*ChSy*の発現をRNAi法で弱く阻害した胚では、当初コンドロイチン量の減少が少なく一見正常に発生する。しかしその後、生殖巣の形成をおこなう distal tip cell の運動が異常となり、生殖巣が正常なU字型でなく、曲がりくねった形となる。この結果はコンドロイチンが細胞分裂のみならず、細胞移動を伴う器官

形成にも機能していることを示唆している。さらに突然変異により同様な分裂異常をもたらす遺伝子を幾つも検出し、これらの遺伝子からなる細胞分裂制御ネットワークの存在を考察した。

4．事後評価結果

4 - 1．外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果

ムコ多糖類のコンドロイチンが、線虫の cytokinesis (細胞質分裂) に直接関わることを明確に示したのは本研究が初めてである。本研究では、申請者が当初のさきがけ研究21 (1998-2001) での偶然の観察に端を発し、その後の3年間で大きな成果に結びつけている。その成果は、最近の線虫を用いた糖鎖に関する研究において、国際的に最も注目すべき成果の一つと論評されている。論文および口頭発表など、成果の発表はまことに適切と考える。知的所有権については、本成果は基礎的な知見であり、直接的に特許申請を行うには相応しくないと思うが、近い将来に多くの特許に結びつく研究を育むと期待される。

本成果には、研究チーム参加者のこれまでの研究が基となっている。さらにこれら既往の知見に加えて、さきがけ研究21時代の同輩よりの協力が大いに力になっている。これら研究協力が相乗的に働き、それぞれの研究にも大いに有意義であったと考えられる。原著論文また総説の記述から、当人研究室所属の学生3名と研究補助員1名についても、互いによく協力しその責任を果たすと評価される。研究費についてもほぼ妥当な使い方である。

4 - 2．成果の戦略目標・科学技術への貢献

本研究は、これまでほとんど不明であった細胞質分裂の解明に突破口を開いたと言える。すなわち細胞質分裂の初発因子を明確にし、染色体あるいは核の分裂と細胞質の分裂を機能的に分けて解析することを可能とした。その成果は、H. R. Horvitz (2002年度ノーベル賞受賞者) の線虫における陰門形成とコンドロイチンについての論文と共に、Nature 誌 (2003年5月) に並列して掲載され、Nature Review Mol. Cell Biol. 誌 (2003年7月)、Current Biology 誌 (2003年9月)、Nature Cell Biology 誌 (2004年1月) などで行われた論評で高い評価を受けている。また、糖鎖研究にも新境地を開き、今後の大きな発展が期待される。ここで得られる知見の創薬への応用も強く期待される。

4 - 3．総合的評価

大変立派な成果と評価する。