

戦略的創造研究推進事業  
発展研究（SORST）

研究課題  
「糖鎖を介した細胞分裂・細胞分化  
制御工学の展開」

研究期間：平成14年3月1日～平成15年12月31日

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

## 1 . 研究実施の概要

線虫にはヒトと共通な様々な糖鎖が存在しているし、ヒトで見つかった様々な糖転移酵素・レクチン・糖鎖修飾酵素などのホモログが存在している。また線虫ゲノム配列は完全に決定されており、様々な突然変異体が得られているばかりか、その約20,000個と予想される全遺伝子のそれぞれを欠失した突然変異体も系統的網羅的に順次作成されている。さらに任意の遺伝子に対する二重鎖RNAを線虫に導入して、その遺伝子の機能を阻害する、いわゆるRNAiも有効であるため、特定遺伝子の機能阻害による研究は極めて容易である。また初期発生がタイムラプス機能を備えた全自動顕微鏡によって自動的に記録できるシステム(四次元顕微鏡)が開発されているため、細胞系譜を完全に追跡できる他、遺伝子機能の阻害が発生にどのような影響を及ぼすかを詳細に解析することも容易である。さらにトランスジェニック線虫も簡単に作れるので遺伝子機能の解析が簡単であり、アポトーシスの研究でもみられるように線虫に存在する多くの遺伝子ネットワークは、そのままヒトを含む高等生物でも機能していることが多い。

私はさきがけ研究で、B型血液型物質が細胞接着分子として働いているという私の発見をもとに、糖鎖の隠された機能を明らかにすべく研究を進めていた。細胞接着や分化の転換に関与している様々な糖鎖や糖鎖の修飾等に関わっている「高等生物と共通の遺伝子」を、線虫を用いて系統的網羅的に研究して、生命の素過程で糖鎖が果たしている役割を解明するプロジェクトを進める過程で、「素過程と連携」領域の第一期生である杉本亜砂子先生の開発したsoaking法によるRNAiをとり入れ、また同期生の三谷昌平先生と共同研究することで欠失突然変異体の取得も行うことができた。さきがけ研究も終盤に近づいたころ、ヒトを含む様々な多細胞生物に存在するプロテオグリカンであるコンドロイチンを合成する酵素の機能を線虫でsoaking法によるRNAiで阻害し、さきがけ研究で購入した四次元顕微鏡で胚発生をコンピュータで自動記録して胚発生への影響を研究していた。驚くべきことに、胚細胞の分裂がまるで逆転しているような映像が記録されており、どうやら今まで全く機能が不明であったコンドロイチンが、細胞分裂と分化の方向の決定や制御に基本的な役割を果たしているらしいことが推察された。四次元顕微鏡でコンドロイチン合成酵素のRNAiを行った胚の細胞分裂を継続的にタイムラプス撮影したところ、いったん一細胞から二細胞に分裂した胚がまた一細胞にもどり、さらに二細胞になろうと分裂するが、そのまま分裂できず死亡する映像や、二細胞・四細胞・六細胞と分裂した胚がまた四細胞にもどり、さらに六、八細胞になった後、また六細胞にもどるなどの細胞数の見かけの増減が繰り返され結局死亡する映像も記録さ

れていた。今まで細胞分裂に関わる因子としてはサイクリンをはじめとして様々なものが同定されていたが、細胞表面に存在する分子がどのように細胞分裂に働いているかは全くといってよいほど不明であった。また糖鎖が細胞分裂の制御に関わっているという可能性は全く予想だにされていなかった。これは極めて重要な現象の発見であると考え、発展継続研究に応募することにした。幸い発展継続研究の研究代表者としてこの発見を継続研究することが認められたので、コンドロイチンの細胞分裂における役割について決定的な証明を行うことを計画した。

まず初期胚にコンドロイチンが存在することを確認し、生化学的にコンドロイチンが付加された蛋白質の存在を明らかにした。さらにコンドロイチン合成酵素のRNAiでコンドロイチンの糖鎖の合成が確かに阻害されていることを生化学的に確認した。soaking法によるRNAiでは生化学的解析に十分な胚の量が確保できないので、線虫の餌の大腸菌に二重鎖RNAを合成させてその大腸菌を食べさせるというfeeding法によるRNAiを導入した。この結果、生化学的にコンドロイチン糖鎖の定量が可能となり、RNAi処理胚ではコンドロイチン合成酵素 *ChSy* の機能阻害の結果、確かにコンドロイチン糖鎖の量が完全に減少していることが確認できた。さらにこの効果は特異的で、同じプロテオグリカンの仲間であるヘパラン硫酸の合成は *ChSy* のRNAiでは全く減少していないことも確認できた。feeding法によるRNAiではRNAiの効果の強弱も調節できて、食べさせる時間を長くするほど強い阻害が起きることが明らかになった。細胞分裂は核の分裂とそれに伴う細胞質の分裂の二つの過程が共役して進むのだが、極めて強いRNAiでコンドロイチンの合成を完全に阻害した場合には、核分裂のみが起こり、細胞質分裂は全く起こらないこともわかった。中程度にコンドロイチン量を低下させた場合には細胞分裂が逆行するような現象が生ずることもあらためて確認できた。さらにコンドロイチンやヘパラン硫酸のプロテオグリカンの糖鎖が蛋白質に結合している根本のリンカー領域の合成を行う酵素のRNAiを行うと、どの酵素をRNAiで阻害してもやはり同様の細胞分裂異常が引き起こされることがわかった。しかしヘパラン硫酸合成酵素のRNAiでは細胞分裂異常は起こらないことも確認し、コンドロイチンこそが線虫の細胞分裂に働いていくことが極めて確からしくなった。さらに線虫胚の細胞を単離して細胞培養し、その培養液にコンドロイチン分解酵素を添加した時のみ、細胞分裂の逆行のような現象が引き起こされることも確認し、コンドロイチンの糖鎖が細胞分裂で重要な役割を果たしていくことを確認することができた。さらにコンドロイチン合成酵素の欠失突然変異株を三谷昌平先生と共同研究で単離し、この変異株でもRNAiと全く同様の細胞分裂異常が起こることを確認した。さらにコンドロイチン合成酵素遺伝子を阻害した胚では、コンドロイチン量の減少の程度が少ない時には一見正常に発生するが、

生殖巣の形成を行うdistal tip cell の運動が異常となり、通常のU字型の生殖巣ではなく曲がりくねった生殖巣ができること (*mig*表現型) も発見した。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重要な働きをしていることを示している。さらに同様の分裂異常を引き起こす遺伝子をいくつもつきとめ、これらの遺伝子のネットワークを介した細胞分裂制御機構の存在の可能性を指摘した。以上の研究成果は雑誌*Nature*に発表し、細胞分裂に糖鎖が関与していることを初めて明らかにした研究として*Nature Cell Biology*や*Current Biology*, *Nature Review Molecular Cell Biology*などのトピック欄で大きく取り上げられた。

## 2 . 研究構想

糖鎖が生命の素過程にどのように働いているかについては様々な方面から集中的な研究が進められており、特に日本の研究者の貢献が大きいとされている。本研究では、コンドロイチンの糖鎖が細胞分裂を制御しているらしいという「さきがけ研究」で得られた成果を確認発展させ、細胞分裂のハンドルに相当する役割を果たしていると考えられるコンドロイチンの糖鎖の役割を解明し、細胞分裂と細胞分化を糖鎖を制御することで自由に操る細胞分裂・細胞分化制御工学ともいえる学問分野を切り開くことをねらい研究を進めていった。

RNAi実験にfeeding法を導入することによって、RNAi処理した線虫の大量培養による生化学的解析が可能となり、コンドロイチン合成酵素のRNAiで確かにコンドロイチン合成のみが特異的に阻害されていることが証明できた。またコンドロイチンが付加されている蛋白質の電気泳動による同定、コンドロイチンの酵素的消化が細胞分裂異常を引き起こすことを示すことで、細胞表面の糖鎖が、細胞分裂に働いていることをほぼ確実に示すことができた。では、細胞分裂のコンドロイチンによる制御はどのような遺伝子ネットワークによって引き起こされているのだろうか？また、コンドロイチン合成酵素の阻害は果たして細胞質分裂だけに作用しており、核分裂は異常になっていないのだろうか？またコンドロイチン合成酵素は一体どのような細胞で発現して働いているのだろうか？こうした疑問に答えるため、

1)コンドロイチン合成酵素の阻害と同様な表現型を示す遺伝子をスクリーニングし、PAR2.4やG蛋白質、プロテオグリカンのリンカー領域合成酵素などが遺伝子ネットワークの構成成分であることを明らかにした。

2)さらに生化学的解析から、PAR2.4がコンドロイチン合成酵素の補助因子で線虫のコンドロイチンの鎖の伸長に不可欠なpolymerizing factorであることが明らか

になった。

3) さらにコンドロイチン合成酵素遺伝子にGFP蛍光蛋白質遺伝子を結合した遺伝子をマイクロインジェクションしてトランスジェニック線虫を作成して、遺伝子の発現パターンを解析し神経幹細胞やdistal tip細胞にも発現していることを確認した。

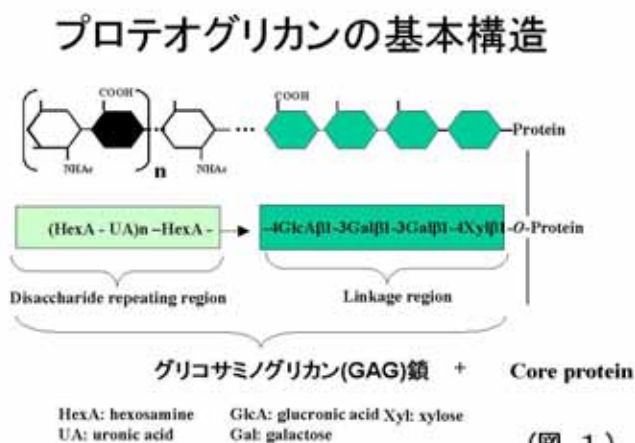
4) またコンドロイチンが付加されている蛋白質(コア蛋白質)の質量分析法による同定も試みており、現在その遺伝子の同定とRNAiを行っている。

以上の結果から、コンドロイチンは細胞分裂に不可欠な働きをしていることが明らかになった。しかしどのように細胞分裂がコンドロイチン合成酵素とコンドロイチンによって制御されているかはまだまだ未解明の点が多い。

本研究によって、糖鎖が細胞表面で細胞が二個に分裂を完了するために不可欠の役割を果たしていることが世界で初めて明らかにされた。糖鎖が同様にヒトを含む高等生物やショウジョウバエなどで細胞分裂の制御に働いているかどうかについては、本研究を契機として活発な研究が、私達のグループを始め各地で始まっている。糖鎖がさらに様々な生命の素過程において基本的な役割を果たしているであろうことは、線虫の糖鎖関連遺伝子のノックアウト実験がほとんど致死の表現型を示すことから確実である。今後、ヒトにオーソログの存在する線虫の糖鎖関連遺伝子を計画的、戦略的にノックアウトして細胞分裂や器官形成、神経回路網形成など様々な局面で重要な働きをしている糖鎖の機能を次々と明らかにしていく予定である。

### 3. 研究内容

#### 3.1 (1)細胞分裂を制御するコンドロイチン合成酵素の研究



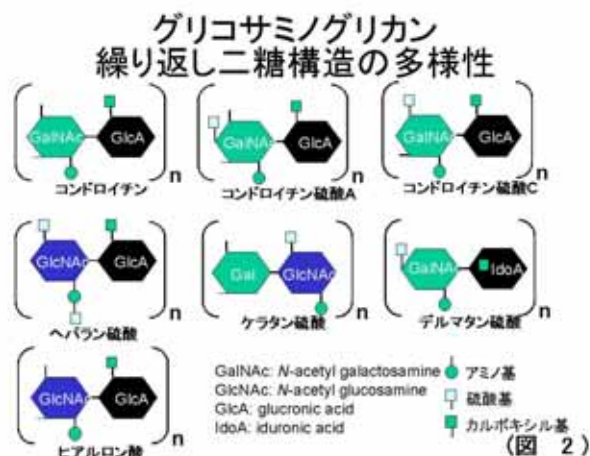
コンドロイチンプロテオグリカンは図1のような構造をもつ分子で、哺乳類でも線虫でも全く同様の構造をもっていることが判明している。コア蛋白質と呼ばれる骨格の蛋白質にリンカー領域と呼ばれる四個の糖が図のような決まった構造で結合しておりこれはすべてのプロテオグリカン

の糖鎖に共通の配列である。この配列の後に、酸性の糖とアミノ糖と呼ばれる糖

が結合した繰り返し単位が何十回も繰り返しているのがグリコサミノグリカンと呼ばれる糖鎖の特徴で、コンドロイチンはその一種である。線虫で最も多いコンドロイチンプロテオグリカンの糖鎖は、グルクロン酸とN-アセチルガラクトサミンが繰り返しているもので、コンドロイチンの1/100量ほどしかないヘパラン硫酸はグルクロン酸とN-アセチルグルコサミンが繰り返している分子が、ところどころ硫酸化されている構造をとっている(図2参照)。コンドロイチンに

ついては線虫では硫酸化されていない分子しか検出されていない。

私達はヒトのコンドロイチン合成酵素 *ChSy* はヒトや哺乳類では6種類程度存在するが、線虫では一個しか存在しないことに着目して、線虫での *ChSy* の遺伝子機能を線虫を用いて調べることにした。線虫では胚発生の様子を、全自動の蛍光微分干渉タイムラ



プス顕微鏡(四次元顕微鏡)で時間をおって逐一記録観察できるので、*ChSy* 遺伝子に

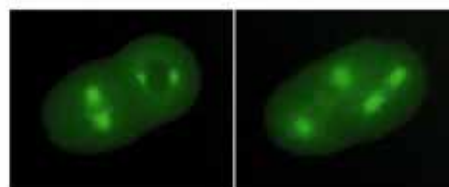
対応する dsRNA を線虫に導入する RNAi を用いて遺伝子の機能解析を個体レベルと単一細胞レベルで調べてみた。その結果は驚くべきもので、図3に示すように初期胚細胞の細胞分裂が順行、逆行を繰り返して分裂異常で死亡



コンドロイチン合成酵素の RNAi で引き起こされる細胞分裂の逆転現象。b から c にかけて細胞数が増えるがまた f で4細胞に戻る。h から i での細胞数の減少、j から k への減少などに注目してほしい。

(図 3)

するというめざましい効果が確認された。この細胞分裂異常は、主として細胞質分裂の異常によって引き起こされていることが詳細な観察からわかったが、ただ単に細胞質分裂のみが異常なわけではなく、

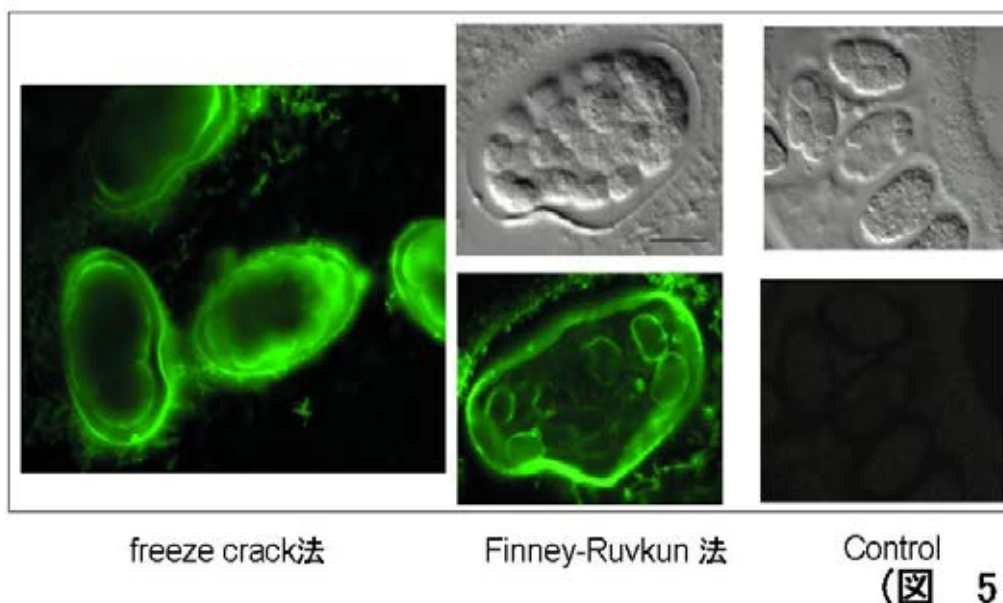


四次元顕微鏡で可視化した染色体分裂の様子

(図 4)

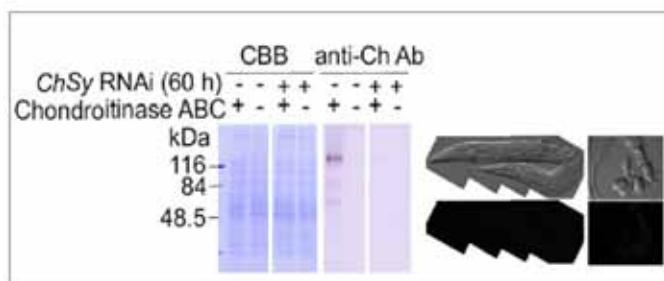
染色体を蛍光蛋白質GFPで可視化したトランスジェニック線虫（図4に正常な胚細胞分裂での染色体の様子をGFPで可視化し、四次元顕微鏡で観察した例をあげておく）をRNAi処理して調べてみると、染色体の分配自体も極めて異常になっていることが判明した。これらの結果から、コンドロイチン合成酵素のRNAiは細胞質分裂の異常と核分裂の異常を引き起こすと結論された。

## *C.elegans* 初期胚の抗コンドロイチン抗体による免疫染色



では、線虫には本当にコンドロイチンが存在しているのだろうか。そしてそれはどこに局在しているのだろうか。このことを調べるため抗コンドロイチン特異抗体を用いて線虫胚と成虫の免疫組織学的蛍光染色を行ってみた。その結果、コンドロイチンが胚細胞の表面、卵殻、生殖巣など様々な組織、器官に大量に存在していることが判明した（図5）。さらに野生型の線虫を大量に培養して生化学的解析を行いコンドロイチン糖鎖とヘパラン硫酸糖鎖が確かに線虫に存在していることを構造解析によって

### RNAiによるコンドロイチン発現の減少

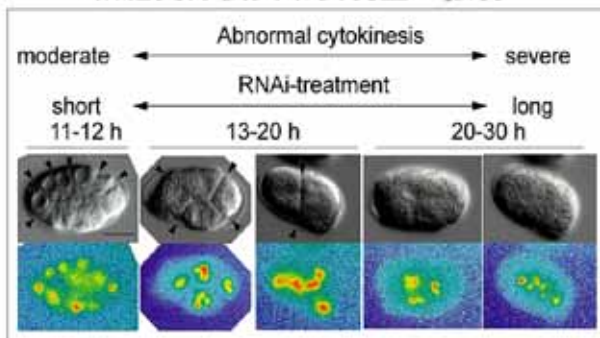


確認し定量した。さらにChSy遺伝子のRNAi処理をした線虫を大量に集めて生化学的解析を行ったところ、RNAi処理した線虫では未処理の線虫に比べてコンドロイチンの含量が

(図 6)

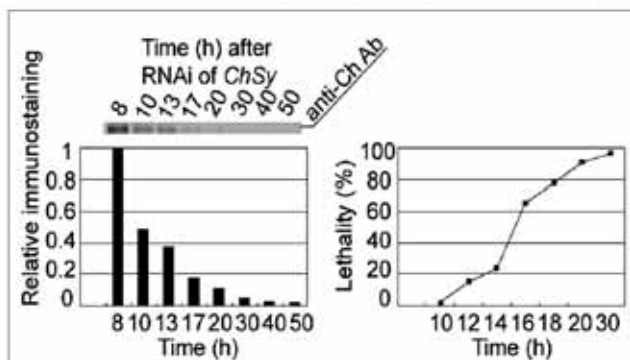
73パーセントも減少していることも確認できた。こうしてRNAi処理は肺細胞のコンドロイチン合成を強力に阻害していることが確認できた。またRNAi処理した線虫から蛋白質を分離してウエスタンブロット法によってコンドロイチンの有無を確認したところ、図6に示すように未処理線虫では分子量150kDa程度のコンドロイチン含有蛋白質についていたコンドロイチンが、RNAi処理線虫では完全に消失していることが確認された。また図6の右側に示すようにRNAi処理線虫ではコンドロイチンの免疫染色でもコンドロイチンが完全に消失していることがわかる。

### RNAi処理時間と細胞質分裂異常表現型の強弱



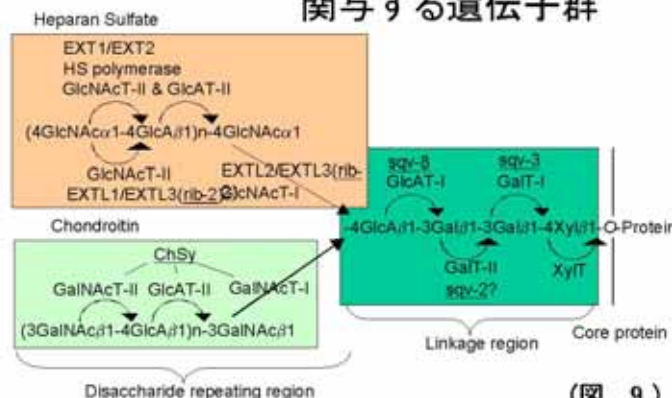
(図 7)

### コンドロイチン減少と初期胚の致死率



(図 8)

### *C. elegans* プロテオグリカン合成に 関与する遺伝子群



(図 9)

もコンドロイチンが完全に消失していることがわかる。

feeding法によるRNAiではコンドロイチン合成酵素に対応するdsRNAを発現している大腸菌を作成し、これを線虫の餌として食べさせることで遺伝子機能を特異的に阻害できる。食べさせる時間を長

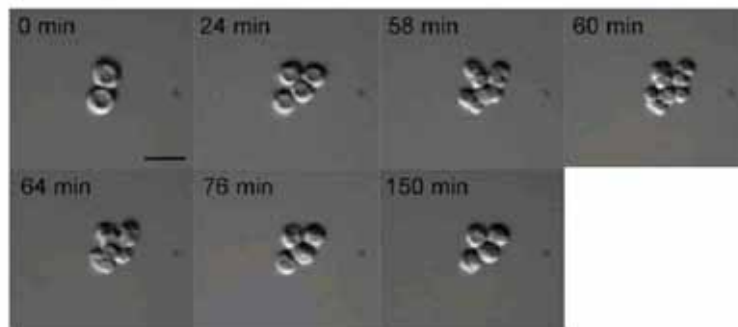
くすればより強い表現型があらわれ、短くするか餌の量を減らせばより弱い表現型を得られる。そこでこうした方法でRNAiの強弱を調節してその効果を確認した。図7に示すように *ChSy* の機能を強く阻害すると細胞質分裂は全く起こらなくなり核分裂のみが起こって多核の胚となり一細胞のままで致死となる。これに対して中程度にコンドロイチンが減少した胚では細胞分裂の順行、逆行が繰り返され多細胞胚で致死となる。図8にはコンドロイチン量と致死の関係性を定量した結果を示



してある。

以上の結果から、コンドロイチンの糖鎖の合成が阻害されることで細胞質分裂と細胞分裂が異常になることが確実となった。では図1に示すリンカー領域の合成を阻害したらどのようなことが起こるだろうか？図9には線虫のプロテオグリカン糖鎖部分の合成経路とそれに関わる遺伝子を示してある。私達はまず線虫のリンカー領域を合成するすべての酵素についてRNAiを行ってみた。その結果はすべてのリンカー領域の合成酵素の阻害について共通で、*ChSy*と同様の細胞分裂異常が引き起こされるといふものだった。さらにヘパラン硫酸とコンドロイチンのどちらが細胞分裂に重要なかを調べるため、ヘパラン硫酸の合成酵素のRNAiを行った。その結果、*rib-2*遺伝子の機能阻害では細胞質分裂異常は起こされないこと、*rib-2*遺伝子の欠失突然変異株でも細胞質分裂異常が起こらないことを確認し、ヘパラン硫酸ではなくコンドロイチンの糖鎖が細胞分裂に必須である可能性が極めて高くなった。さらに東京女子医科大学の三谷昌平、安藤恵子両先生と共同で*ChSy*遺伝子のノックアウト株を取得して調べたところ、ノックアウト株でも細胞分裂異常が生じて致死になることが判明し、コンドロイチン合成酵素が細胞分裂に必須であることが確認された。

### 細胞表面のコンドロイチンを酵素消化した線虫培養胚細胞での分裂逆転



(図 10)

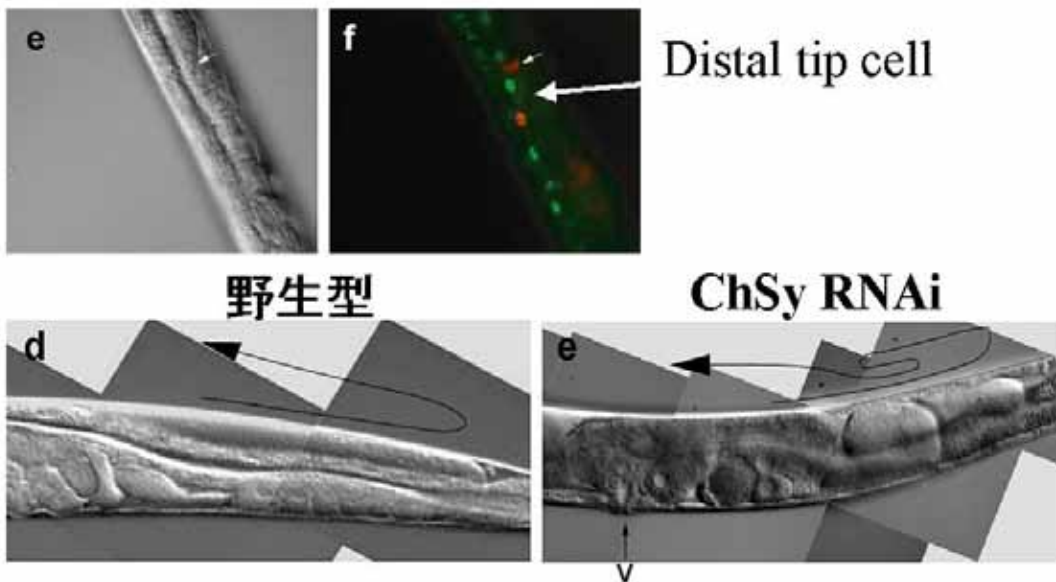
さらに正常な線虫の初期胚から細胞を単離してin vitroで細胞培養したところ、正常に分裂が進むことがわかった。しかしこの培養液にコンドロイチンを分解する酵素を添加

した時に限って細胞分裂が異常になりいったん4細胞から8細胞になった細胞がまたすぐに4細胞にもどるといふ現象が起こることを確認した。したがってRNAiを行わずとも、細胞の外側からコンドロイチンを分解するだけで細胞分裂異常が起こることが確認されたわけである(図10)。

### 3.1 (2)コンドロイチン合成酵素の細胞運動における役割の発見

コンドロイチンは、できあがった蛋白質に付加された糖鎖として母性因子として子孫に分配される。したがって母性因子として大量にコンドロイチンを含んでいる線虫はRNAiをかけてコンドロイチン合成を阻害しても成虫にまで発生することが出来る。しかし成虫にまで発生した線虫は異常を示す場合もあり、特に本来はU字型をしている生殖巣の迷走の表現型を示す場合が多数確認された(図11)。

## コンドロイチン合成酵素のDistal tip cellでの発現とRNAiによる生殖巣migrationの形成異常



*Nature*, 423, 443-448, 22 May 2003 supplementary figureより (図 11) 変更して引用

これはコンドロイチンが生殖巣の発生の時、活発な細胞移動を行って生殖巣の発生と走向方向をコントロールするdistal tip 細胞の移動に重要な働きをしていることをうかがわせる事実である。実際、コンドロイチン合成酵素のC末端にGFPやDsRedの蛍光蛋白質を融合させた遺伝子をもつトランスジェニック線虫で調べてみると、コンドロイチン合成酵素がdistal tip 細胞で発現していること(図11の赤い蛍光)が確認された。こうして線虫の生殖巣の形成においてコンドロイチン合成酵素は重要な役割を果たしていることがわかった。

### 3.1 (3)細胞分裂を制御するコンドロイチン合成酵素の研究

コンドロイチンの合成を阻害したのと同様の表現型を生み出す遺伝子にはどのようなものがあるだろうか？既に述べたリンカー領域を合成する糖転移酵素

の他に、そのような遺伝子を網羅的に検索してみることにした。その結果、*PAR 2* 遺伝子のRNAiでも*ChSy*遺伝子のRNAiと全く同様な表現型がでることがわかった。この遺伝子については現在、そのコンドロイチンpolymerizing factorとしての機能と発現について詳細に検討している。さらにコビキチンリガーゼやG蛋白質のいくつかの遺伝子などでも同様な表現型があらわれることが判明し、コンドロイチンを介して細胞分裂に働いているかどうかについて現在引き続き検討を加えているところである。

以上の結果から、細胞表面に存在しているコンドロイチンの糖鎖が細胞分裂と細胞移動に不可欠な役割を果たしていることが初めて確認された。特に糖鎖が細胞分裂に関与している可能性は全く予想されていなかったので雑誌 *Nature* に発表した私達の研究は大きな衝撃を学界に与えることとなった。

## (2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

細胞分裂についてはサイクリンやサイクリンキナーゼを介した制御機構、G蛋白質を介したRho, Racなどと細胞内骨格との関連などは詳しく調べられてきているが、細胞分裂の際に細胞表面で働いている分子についてはほとんどわかっていなかった。本研究で得られた以上の研究成果によって、細胞表面の糖鎖であるコンドロイチンが細胞の分裂に関与していることが初めて明らかになった。これは糖鎖生物学に新たな一章を書き加えた業績であると評価されており、細胞が二つにわかれるメカニズムを初めて明らかにする重要な手がかりとなると期待されている。また植物細胞の細胞壁と動物細胞のコンドロイチンとの類似を指摘する研究も始まっており、細胞膜表面と細胞分裂の関係が今後、本研究をもとに詳しく研究されるものと期待される。

糖鎖は細胞表面に存在するため、外部からのアクセスが簡単で糖鎖を外部から修飾することで細胞分裂がコントロールできる可能性を示した本研究は、将来の糖鎖の修飾(糖鎖リモデリング)による細胞分化、細胞分裂制御の可能性を示す点からも注目を集めている。実際、さきがけ研究で示したようにクラゲの細胞表面糖鎖に対するモノクローナル抗体をクラゲの横紋筋細胞に添加すると分化状態が変化して横紋筋細胞から平滑筋細胞、あるいは神経細胞へと分化転換することがわかっている。この例および今回のコンドロイチン分解酵素による細胞分裂の逆行誘導などの現象の存在は細胞表面糖鎖のモジュレーションによる細胞分裂、細胞分化の制御の可能性に新たな光を投げかけるものといえよう。

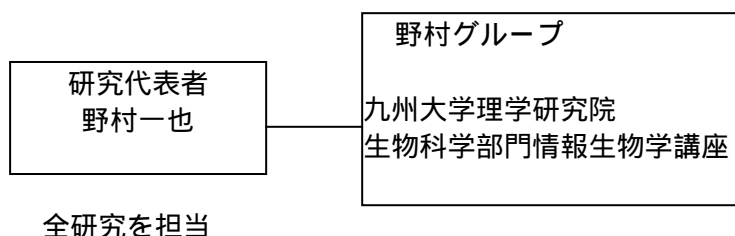
さらに、コンドロイチンの異常がどのようなメカニズムで起こるかを知る

ための手がかりを得るために、コンドロイチンが付加されているコア蛋白質の二次元電気泳動での分離精製に成功し、現在、液体クロマトグラフィー、四重極マススペクトル法による同定を試みている。また、コンドロイチン合成を阻害した時と同様のRNAiの表現型を示す遺伝子についても現在、解析を進めている。

コンドロイチンの合成が阻害されたり、コンドロイチンが無くなると細胞分裂が異常になり、染色体分配も異常になって致死となるという今回線虫で見いだした現象は、果たしてヒトを含む高等生物でも生じているのだろうか。糖鎖がないことによって細胞質分裂と核分裂が異常になるとしたら、こうした現象が細胞における染色体の異常を引き起こし、ひいては発癌に関わっているのではないかと考えられる。コンドロイチンだけではなくヒアルロン酸など別の糖鎖がヒトを含む哺乳類では細胞分裂制御に関与しているのかもしれない。現在、私達のグループを始め、世界各地で研究がはじまっている。

#### 4 . 研究実施体制

##### (1)体制



##### (2)メンバー表

###### 野村グループ (テーマ別)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
野村一也	九州大学理学研究院 生物科学部門	助教授	全体の統括とコンドロイチンなどの細胞分裂制御機構の研究	平成14年3月～ 平成15年12月

水口惣平	九州大学理学研究 院生物科学部門	大学院生 SORST研究 員	コンドロイチンプロテオ グリカンと関連遺伝子を 介した細胞分裂制御機構 の研究	平成14年3月～ 平成15年12月
出嶋克史	九州大学理学研究 院生物科学部門	大学院生	コンドロイチンリンカー 領域遺伝子を介した細胞 分裂制御機構の研究	平成14年3月～ 平成15年12月
三原宏之	九州大学理学研究 院生物科学部門	大学院生	膜糖脂質関連遺伝子とプ ロテオグリカン遺伝子の RNAiによる解析	平成14年3月～ 平成15年12月
野村和子	九州大学理学研究 院生物科学部門	SORST研究 補助員	コンドロイチンおよびヘ パラン硫酸遺伝子のトラ ンスジェニック解析およ び生化学的解析	平成14年3月～ 平成15年12月

## 5 . 研究期間中の主な活動

### (1) ワークショップ・シンポジウム等

なし

### (2) 招聘した研究者等

なし

## 6 . 主な研究成果

### (1)論文発表 (国内 3件、海外 3件)

1. Chondroitin proteoglycans are involved in cell division of *Caenorhabditis elegans*, Mizuguchi S, Uyama T, Kitagawa H, Nomura KH, Dejima K, Gengyo-Ando K, Mitani S, Sugahara K, Nomura K; *NATURE*, **423** (6938): 443-448, 2003

2. The acetyl-CoA transporter family SLC33, Hirabayashi Y, Kanamori A, Nomura KH, Nomura K.; *Pflugers Arch - Eur J Physiol*, in press, 447, 760-762, 2004. In "The ABC of Solute Carriers - Guest Editor: Matthias A. Hediger."

3. Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate, Sugahara K, Mikami T, Uyama T, Mizuguchi S, Nomura K, Kitagawa H.; *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **13**, 612-620, 2003.

4 .「線虫で糖鎖の機能を探る—グリコーン関連遺伝子の発生における機能解析から」  
野村一也 : *医学のあゆみ*, 2003年 207巻5号 307～313.

5 .「糖鎖を介した細胞分裂・細胞分化制御工学の展開」(特集 革新的医薬品開発のための糖鎖科学): 野村一也、野村和子、水口惣平 : *化学工業*, 54巻10号、46-52、2003.

6 .「線虫を用いた糖鎖機能の網羅的解析のすすめ プロテオグリカン関連遺伝子を例として」(増刊号「糖鎖機能 第三の生命鎖」): 野村一也、水口惣平、北川裕之 : *蛋白質・核酸・酵素*, 48巻8号、1057-1063、2003.

### (2)口頭発表

招待講演（国内 7件、海外 0件）

1) 第76回 日本生化学会大会 シンポジウム 2003年10月17日

比較グライコーム：新しい糖鎖機能解析への挑戦

Analysis of glycome-related genes using the nematode *C. elegans*

Nomura, K., Mizuguchi, S., Nomura, K. H., Dejima, K., Kitagawa, H., Uyama, T., Mitani, S., Gengyo-Ando, K., Hirabayashi, Y., Sugahra, K.

2) 第53回 日本電気泳動学会シンポジウム 2003年7月11日

ポストゲノム研究のPERSPECTIVE：Functional Glycomics

「モデル生物・線虫 *C. elegans* を用いた糖鎖機能の網羅的解析のすすめ」

野村一也

3) 第24回 日本分子生物学会年会ワークショップ 2002年12月9日

新たな細胞機能調節法：糖鎖構造のモジュレーション

「多細胞生物のグリコーム関連遺伝子機能の系統的・網羅的解析をめざして」

水口惣平、野村和子、安藤恵子、三谷昌平、平林義雄、野村一也

4) The ATI (Advanced Technology Institute) International Forum (The 6th Membrane Research Forum) 名古屋 2002年11月6日

"Involvement of surface carbohydrates in embryonic cytokinesis of the nematode *Caenorhabditis elegans*"

野村一也

5) 第75回 日本生化学会大会 シンポジウム 2002年10月16日

Functional Glycomics:糖鎖シグナルによる細胞機能調節とその変異による疾患

「グリコサミノグリカン合成に必須の糖転移酵素遺伝子の同定：変異による疾病、攪乱による形態形成異常」

菅原一幸、Byung-Taek Kim、宇山徹、北川裕之、田村純一、Marion Kusche-Gullberg、Ulf Lindah、水口惣平、野村一也

6) 第75回 日本生化学会大会 シンポジウム 2002年10月15日

ポストゲノム研究のミッシング・リンク 糖鎖シグナルによる生体機能調節

「線虫グリコーム遺伝子のRNAiによる解析 中間報告」

野村一也、水口惣平、野村和子、出嶋克史、宇山徹、北川裕之、菅原一幸、三谷昌平、安藤恵子、小原雄治、平林義雄

7) 第2回日本蛋白質化学会年会 ワークショップ 2002年6月15日

糖鎖が広げる蛋白質の世界「糖蛋白質を介した細胞分裂制御機構の発見」

野村一也、水口惣平

口頭発表 (国内5件、海外0件)

1) 第76回 日本生化学会大会 横浜

「Chondroitin proteoglycans are involved in cell division of *Caenorhabditis elegans*」

水口惣平(発表者・九州大学理学研究院, SORST)、宇山徹、北川裕之(神戸薬科大)、野村和子、出嶋克史(九州大学、SORST)、安藤恵子、三谷昌平(東京女子医科大学)、菅原一幸(神戸薬科大)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST)

2003年10月18日

2) 特定領域研究1 「統合ゲノム」線虫分科会発足会議・静岡県三島市 東レ総合研修センター「膜タンパク質の網羅的遺伝子ノックアウトのすすめ」

野村一也(発表者) 水口惣平(九州大学・理院およびSOREST, JST)

2002年7月21日

3) 特定領域研究1 「統合ゲノム」線虫分科会発足会議・静岡県三島市 東レ総合研修センター「線虫の二次元電気泳動によるプロテオーム解析」

水口惣平(発表者)、野村一也(九州大学・理院およびSOREST, JST)

2002年7月21日

4) 日本脂質生化学会・早稲田国際会議場・東京

「RNAiによる線虫(*C. elegans*)のserine palmitoyltransferase遺伝子機能の解析」

野村一也(発表者)、水口惣平、長住香絵、野村和子(九州大学・理院およびSORST)

2002年6月14日

5) 比較グライコーム研究会・東京医科歯科大学・東京

「RNAiによる線虫(*C. elegans*)のserine palmitoyltransferase遺伝子機能の解析」

野村一也(発表者)

2002年4月27日

ポスター発表 (国内12件、海外0件)

1) 第26回 日本分子生物学会年会 神戸

「*C. elegans*を用いたRNAiによるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ遺伝子の機能解析」

三原宏之(発表者)、野村和子、長住香絵、水口惣平(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)、平林義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村一也(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)

2003年12月10日

2) 第26回 日本分子生物学会年会 神戸

「線虫*Caenorhabditis elegans*にはHNK-1抗原が存在する」

出嶋克史(発表者)、野村和子、水口惣平(九州大学理学研究院, SORST, JST)、岡昌吾、川崎敏祐、山本昌司(京都大学薬学研究科)、平林義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST)

2003年12月10日

3) 第26回 日本分子生物学会年会 神戸

「*Caenorhabditis elegans*初期胚細胞質分裂に関するコンドロイチンプロテオグリカンの解析」

水口惣平(発表者・九州大学理学研究院, SORST, JST)、宇山徹、北川裕之(神戸薬科大)、野村和子、出嶋克史(九州大学, SORST, JST)、安藤恵子、三谷昌平(東京女子医科大学)、菅原一幸(神戸薬科大)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST)

2003年12月10日

4) 第26回 日本分子生物学会年会 神戸

「線虫Acetyl CoA transporter遺伝子の発現解析」

野村和子(発表者)、水口惣平(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)、安藤恵子、三谷昌平(東京女子医大・医・第二生理)、平林義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村一也(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)

2003年12月10日

5) 第76回 日本生化学会大会 横浜

「Analysis of acetyl CoA transporter gene in the nematode *C. elegans*」

野村和子(発表者)、水口惣平(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)、三谷昌平、安藤恵子(東京女子医大・医・第二生理)、平林義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村一也(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)

2003年10月16日

6) 第76回 日本生化学会大会 横浜

「Analysis of HNK-1 antigen in the nematode *Caenorhabditis elegans*」

出嶋克史(発表者)、野村和子、水口惣平(九州大学理学研究院, SORST, JST)、岡昌吾、川崎敏祐、山本昌司(京都大学薬学研究科)、平林義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST)

2003年10月17日

7) 第25回 日本分子生物学会年会 横浜

「モデル生物*Caenorhabditis elegans*を用いた複合糖質関連遺伝子の解析」

水口惣平(発表者・九州大学理学研究院, SORST, JST)、宇山徹、北川裕之(神戸薬科



大)、野村和子、出嶋克史(九州大学、SORST, JST)、安藤恵子、三谷昌平(東京女子医科大学)、菅原一幸(神戸薬科大)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST) 2002年12月13日14日

8) 第25回 日本分子生物学会年会 横浜

「線虫を用いたacetyl CoA トランスポーター遺伝子の解析」

野村 和子、水口 惣平(九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究)、三谷 昌平、安藤 恵子(東京女子医大・医・第二生理)、平林 義雄(理研・脳科学総合研究センター)、野村 一也(発表者、九州大・理院・情報生物, 科技団 発展研究) 2002年12月13-14日

9) 第25回 日本分子生物学会年会 横浜

「線虫におけるHNK-1抗原の発現解析」

出嶋克史(発表者)、野村和子、水口惣平(九州大学理学研究院, SORST, JST)、岡昌吾、川寄敏祐(京都大学・薬学研究科)、平林義雄(理研・脳科学研究総合センター)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST)

2002年12月11日、12日

10) 第25回 日本分子生物学会年会 横浜

「*C. elegans*を用いたRNAiによるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ遺伝子の機能解析」

三原宏之(発表者)、野村和子、長住香絵、水口惣平(九州大学理学研究院, SORST, JST)、平林義雄(理研・脳科学研究総合センター)、野村一也(九州大学理学研究院, SORST, JST) 2002年12月11-12日

11) 第75回 日本生化学会大会 京都

「線虫*C. elegans*のセリン・パルミトイル転位酵素のRNAiによる解析」

野村和子(発表者、九州大学・理院およびSORST, JST) 長住 香絵、水口 惣平、野村一也(九州大学・理院およびSORST, JST) 平林 義雄(理研脳科学総合研究センター)

2002年10月15日

12) 第75回 日本生化学会大会 京都

「細胞分化と分裂を制御する糖鎖の解析」

水口 惣平(発表者・九大理学研究院およびSORST, JST) 野村 和子、出嶋 克史、野村一也(九大理学研究院およびSORST, JST) 菅原 一幸、北川 裕之、宇山 徹(神戸薬科大学)、三谷 昌平、安藤 恵子(東京女子医科大学)、小原 雄治(国立遺伝学研究所) 平林 義雄(理化学研究所脳科学総合研究センター)

2002年10月15日

プレス発表 2件

文部科学省記者クラブ、九州大学記者クラブ

(3)特許出願

なし

(4)新聞報道等

新聞報道

読売新聞(全国版)、毎日新聞(全国版)、西日本新聞 2003年5月23日付  
けNHKニュース(TV九州沖縄)2003年5月23日、朝日新聞(地方版)20  
03年5月23日付け

その他

*Nature Cell Biol.* **6** (1): 9-11 JAN 2004

*Current Biol.* **13**(18): R717-R718 SEP 16 2003

*Nature Review Mol. Cell Biol.* **4** (7): 511-511 JUL 2003 などでトピックスとし  
て大きく取り上げられ、特に2004年の*Nature Cell Biology*1月号での紹介では私達  
の論文が2003年の糖鎖生物学での最もexcitingな3つの論文の一つで、糖鎖生物学  
に新しい一章を開いた仕事として高く評価されている。

## 7 . 結び

まず最初に、発展継続研究に推薦して頂いたさきがけ研究の「素過程と連携」  
領域の大嶋泰治 領域総括、研究遂行にあたって心こまやかにサポートをいただ  
いた発展継続研究事務所の皆様に心から感謝いたします。

本研究によって、細胞表面の糖鎖が細胞分裂の制御に関わっているという発見  
を確固たるものにすることができた。途中でCREST研究に採用されたため研究期間  
が所定の期間ではなかったのが、当初の計画の2/3程度しか完了できていないが、  
未完の部分についてはCREST研究の一部として研究を遂行する予定である。今後、C  
RESTのチーム型研究を通じてより規模を大きくして糖鎖の基本的機能を次々と明  
らかにするとともに、医学生物学への応用を目指して研究を進めていきたい。

最後に発展継続研究についての感想を述べさせて頂いて終わりとしたい。一般  
に研究は、研究費の支給されている年度内に完了できないことが普通であるし、ま  
た完了できないような面白い発見が生まれてこそ、研究費を支給した効果がある  
というものと思う。継続研究制度は、3年とか5年とかで研究が完了できないことが

普通である「さきがけ研究」やCREST研究の真の発展を実現するために極めて有効に機能していると思う。研究は昔のソビエトの5カ年計画などのように、5年や3年と年度を限って硬直的にすすめても、うまくいく時はそう多くはない。実際、3年目や5年目に研究の大展開の萌芽がつかみとられていることが結構多いと聞いている。継続制度はこうした研究成果の展開を応援して、3年あるいは5年間にわたる税金の投入の効果を有効に結実させるために極めて重要なしくみとして機能していると思う。こうした研究をしなやかに応援する制度の存在こそ、年度を限ったプロジェクト研究の成果をむだなく結実させる要となっていると思う。私の場合、さきがけ研究の最終年度で極めて興味深い現象を発見したが、その後の研究費の確保が重要な問題であった。幸い、この制度があったためさきがけ研究で得られた成果を発展させることができ、*Nature* に論文発表することができた。ノーベル賞受賞者の Horvitz のグループとの競争になったが、実質的に私達のグループが（同時に論文掲載して）勝てたのは発展継続研究制度があったからこそである。私達の論文は *Nature Cell Biology* の2004年1月号で昨年度にでた糖鎖生物学の最も exciting な3つの論文の一つとされ、糖鎖生物学に新たな一章を書き加えたと評価されたが、こうした研究の完成も発展継続研究制度がなければ決してありえなかったものであり、心から感謝したい。また、この制度が今後とも継続的に実施されて日本の研究水準の高揚に今までどおり大きく貢献することを願っている。



研究室のメンバーとスイスにて

(右から、野村一也、出嶋克史、水口惣平、野村和子)