

糖鎖合成系遺伝子の発現プロフィールと多型性解析による病態解明

●古川鋼一 ◆古川圭子

名古屋大学大学院医学系研究科

〈研究の目的と進め方〉

細胞の複合糖質は、主にタンパク質や脂質に結合した糖鎖構造として発現し、細胞の様々な形質の決定に関与している。従って、この糖鎖構造の合成に働く糖転移酵素群のレベルを包括的に検討して、細胞の基本的な性格の予測がある程度可能となる。近年の糖転移酵素遺伝子のクローニングの進展により、約120種の糖鎖合成・修飾酵素の遺伝子が単離され、複合糖質合成の大部分が網羅されてきた。本研究では、これらの遺伝子群の多型性を検討すると共に、マイクロアレイを用いてヒトの癌組織で特徴的に発現する糖鎖遺伝子の発現プロフィールのデータベースを作成し、癌の悪性度、治療への反応、予後との相関を明らかにする。また、病態に関わる新規糖鎖の役割の解明に発展させる。

〈研究開始時の研究計画〉

約40種の糖鎖合成系遺伝子に関して、70merのオリゴDNAを合成してDNAアレイを作成し、数個の遺伝子に関する発現プロフィールの確認実験を行う。40merのオリゴDNAを合成し、3次元のカラムに結合した立体的アレイにより、continuous flow systemによって、感度上昇と特異性の改善を試みる。パーキットリンパ腫特異的糖脂質Gb3合成酵素遺伝子の多型性と血液型P1/P2の型特異的遺伝子変異の検討を行う。

〈研究期間の成果〉

40merのDNAアレイを5種の遺伝子の2カ所づつについてアレイを試作し、5種の癌細胞株由来のRNAを用いてハイブリを行った結果、プローブのオリゴDNAの使用部位によって、ノザンプロットやRT-PCRに一致した結果が得られることが判明した。70merのオリゴDNAを用いた通常タイプのアレイでは特異性が低かった。P1/P2式血液型の多型性は、その合成酵素であることが明らかになったGb3/CD77合成酵素遺伝子のプロモーター領域にSNPが存在し、遺伝子発現レベルの差に基づく抗原レベルの違いによるものであることを示唆するデータが得られた。

〈国内外での成果の位置づけ〉

米国のグループが同様のDNAアレイを作成中である。国内では、理研および生理研で同様のアレイを作成中である。アレイの結果のみで明瞭な結論が得られる程の高精度のシステムは構築されていない。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

通常のスライドガラスアレイで予備的な発現プロフィールのデータ確認を終えようと思ったが、十分に信頼できるデータが得られていない。また、患者組織からのRNAをアレイ解析を行って、結果を出すには至らなかった。糖鎖遺伝子の発現レベルがおしなべて低いことが主な原因と考えられる。

〈今後の課題〉

低レベルの発現を精度よく解析できるシステムの構築。特異性の高いシグナルが得られる遺伝子領域の選択と実証作業の必要性。RNAのhighfidelityの増幅、再現性の高いハイブリと洗浄システムの開発など。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 303220251: Furukawa, K., Takamiya, K., and Furukawa, K.: b1,4-N-acetylgalactosaminyl- transferase--GM2/GD2 synthase: a key enzyme to control the synthesis of brain-enriched complex gangliosides. *Biochim. Biophys. Acta.* 1573, 356-362, 2002
- 2) 303220315: Furukawa, K., and Okajima, T.: Galactosyltransferase I is a gene responsible for progeroid variant of Ehlers-Danlos syndrome: molecular cloning and identification of mutations. *Biochim. Biophys. Acta.* 1573, 377-381, 2002

糖鎖合成系遺伝子の発現プロフィールと多型性解析による病態解明

