

氏名	RAZIA RUKSANA
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第2931号
学位授与の日付	平成17年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Tissue expression and molecular function of four troponin I isoforms in <i>Caenorhabditis elegans</i> ( <i>C. エレガンス</i> における4つのトロポニンIの組織分布と分子機能)
論文審査委員	教授 香川 弘昭 教授 鎌田 堯 教授 上田 均

#### 学位論文内容の要旨

There are four troponin I (TnI) genes (*ttn-1*, *ttn-2/unc-27*, *ttn-3* and *ttn-4*) encoding four different isoforms in *Caenorhabditis elegans*. In this study, the 5' ends of four *ttn* genes were determined by RT-PCR and expression patterns of *ttn-3* and *ttn-4* were observed by reporter gene analysis of the promoter::lacZ constructs. Functions of all four CeTNI isoforms were examined by applying RNA interference (RNAi). Protein overlay assay was employed to determine the molecular interactions between four CeTNI and two CeTNC isoforms. *ttn-3* and *ttn-4* were trans-spliced by the spliced leader SL1 as was observed in *ttn-1* and *ttn-2*. Unlike CeTNI-1, CeTNI-2 and CeTNI-3, CeTNI-4 lacks the C-terminal extension. *ttn-3* was expressed in body wall muscles; especially high expression in the head region, vulval and anal muscles. *ttn-4* was expressed in pharynx only. RNAi animals of *ttn-1* and *ttn-2* showed motility defects like animals with a null allele of *ttn-2/unc-27* (*e155*), and those of *ttn-3* showed egg laying defect, abnormal body morphology and constipated phenotypes. *ttn-4* (RNAi) animals were arrested at comma stage of embryo. Protein overlay assay showed that the pharyngeal type CeTNI-4 interacted only with pharyngeal CeTNC-2. RNAi animals showed phenotype defects in the expressed tissues of each isoforms. These results suggest functional differences between the four TnI isoforms required in worm development. This is the first result on *in vivo* and *in vitro* analyses of all troponin I isoforms in a single animal specie.

## 論文審査結果の要旨

本研究は線虫トロポニンIの4つの遺伝子について遺伝子の構造と発現組織を決め、それらの産物の個体内での機能と*in vitro*におけるトロポニンCとの相互作用を解析した。遺伝子操作技術としてRT-PCR解析, 蛍光タンパク質レポーター遺伝子の個体への微注入による解析、RNA干渉法、組換え遺伝子の*E. coli*での発現と産物の調製、Western解析などを使って実験した。4つの遺伝子のうち3つはお互いに良く似たトロポニンIをコードしており体壁筋で発現していたが、一つは咽頭筋で発現していた。3つの体壁筋型について遺伝子構造、組織特異性、生物学的機能についても詳しく調べた。さらに4つのトロポニンIと体壁筋型および咽頭筋型のトロポニンCとの相互作用を調べ、遺伝子進化についても考察した。これらの研究は一つの生物のすべてのトロポニンIについて*in vitro* および *in vivo*の解析をした初めての例である。

以上の成果は本学学位規定に従い、博士（学術）に値すると判定した。