

氏名	Anyanful Akwasi		
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2363号		
学位授与の日付	平成14年 3月25日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Tissue specific expression and developmental function of the <i>Caenorhabditis elegans</i> tropomyosin gene. (線虫トロポミオシン遺伝子の組織特異的発現の調節機構及び 発生における機能)		
論文審査委員	教授 香川 弘昭	教授 沓掛 和弘	教授 高橋 純夫

学位論文内容の要旨

The tropomyosin gene *tmy-1/lev-11* of *Caenorhabditis elegans* spans 14.5 kilo bases and encodes three isoforms by alternative splicing. To identify, characterize and compare the genome and tissue expression of a fourth isoform, Rapid Amplification of cDNA Ends, microinjection with *lacZ* and *gfp* reporter plasmids and yeast one-hybrid techniques were employed. CeTMIV, the fourth isoform of *tmy-1* was elucidated, and it encoded a 256 amino acid polypeptide. CeTMIV isoform also had a similar promoter region to CeTMIII isoform, but was alternatively spliced to generate a cDNA that differed in two exons. The *tmy-1::lacZ* and *tmy-1::gfp* reporter plasmids of CeTMIV isoform were expressed in the pharyngeal and intestinal cells using a primary promoter region of 853 base pairs upstream from the initial codon. Reassessing tissue expression for CeTMIII isoform with newly constructed fusion plasmids, further expressions were shown in the germ-line tissue and intestinal cells in addition to pharyngeal expression. To demonstrate tropomyosin function in development, I inactivated the body wall and pharynx specific isoforms by RNA-mediated interference. In addition to 50-75% embryonic lethality in both cases, surviving worms of body wall interference had abnormal body morphology and uncoordinated movements and those of pharynx interference had deformed pharynges and gut regions. Finally to determine the regulation of isoform expression, a yeast one-hybrid system was applied. Two genes *elt-5* and *egl-4* were recovered from the library as prospective candidates controlling intestinal expression. The presences of *ceh-22* and *pha-4*, which control pharyngeal expression were also confirmed in the second intron. These results shed more light on the regulation mechanism of how one tropomyosin gene controls many tissue expression patterns during development of *C. elegans*.

論文審査結果の要旨

線虫トロポミオシン遺伝子 *tmy-1/lev-11* は1つの遺伝子から2つの体壁筋と1つの咽頭筋型の少なくとも3つのアイソフォームが出来ると報告されていたが、本研究では4番目のアイソフォームを単離して、組織特異的発現機構と発生過程における機能を調べた。遺伝子操作技術を用いて第4アイソフォームの両端を決定した後、*tmy-1* とレポーター遺伝子 *lacZ/gfp* との融合プラスミドを線虫に微注入して得られた形質転換体を観察して、4番目のアイソフォームは咽頭筋と腸の細胞で発現していることを見いだした。第3のアイソフォームはこれまで咽頭筋のみに存在すると報告されていたが、新しくレポーター遺伝子を作製して解析し、生殖細胞と腸の細胞でも発現していることを見いだした。腸に特異的な発現は転写制御因子 *elt-5* が関係していることを酵母のワンハイブリッドシステムを用いて明らかにした。咽頭筋についてはホメオチック遺伝子の *ceb-22* (*nk2*タイプ) や *pha-4* (フォークヘッド) に制御されていることを再確認した。また、RNA干渉法により、各アイソフォームの機能を特異的に喪失させると、線虫が致死になることから、トロポミオシンのいずれのアイソフォームも筋収縮のみならず、胚発生にも必須であることを見いだした。以上の研究は1つの遺伝子から複数のアイソフォームが作られる機構を明らかにし、ポストゲノムの遺伝子機能解析に大いに役立つので、本学自然科学研究科の学位論文に値すると判定した。