

氏名	MD. ZIAUL AMIN
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3410号
学位授与の日付	平成19年 3月23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-specific interactions of Troponin I with other TN subunits and tropomyosins isoforms in <i>Caenorhabditis elegans</i> (線虫のトロポニンIと他のトロポニン構成成分及びトロポミオシンの組織特異的相互作用)
論文審査委員	教授 香川 弘昭 教授 山本 泰 助教授 中越 英樹

学位論文内容の要旨

There are four TNI isoforms in *Caenorhabditis elegans*, among them CeTNI-1, -2, -3 are body wall types and CeTNI-4 is pharynx type. Three body wall types have long C-terminal extension as compare to the pharyngeal type. Gene cloning, gene structure and tissue expression of TNI have been studied in our laboratory. In this study, the function of the C-terminal extension and the molecular interactions of the TNI isoforms with other thin filament components were investigated. Several expression vectors were constructed to generate fusion proteins of N-, C- and C-terminal extension deletion of body wall and pharynx types isoforms by using conventional recombinant techniques. Protein overlay assay was performed to determine the molecular interactions of the body wall and pharyngeal CeTNI isoforms with the body wall and pharyngeal isoforms of other subunits of TNC/T and tropomyosins (TM) in the presence or absence of calcium followed by Western analysis. Protein overlay assay showed that the pharyngeal CeTNI-4 only interacted with pharyngeal isoforms of CeTNC/T and CeTMIII. The N-terminal fragments of both-tissue CeTNI isoforms interacted with the both CeTNC/T. The C-terminal extension of the body wall TNI isoforms had no direct role in binding with other TNC/T and tropomyosin isoforms. Full length TNI was essential for cross-reactivity with CeTM. No effect of Ca^{2+} was detected in this binding assay. These *in vitro* molecular interactions of CeTNI with other subunits of TNC/T and TM could be reflected from not only molecular interactions but also gene duplications in *C. elegans*. Prepared antisera against the body wall type CeTNI-1 and the pharyngeal type CeTNI-4 are useful for further analysis on molecular interactions. This is the first report on the tissue specific *in vitro* binary interactions of TNI isoforms with other TN subunits and TM isoforms in one species.

論文審査結果の要旨

トロポニン I (TNI) は他のトロポニン C/T およびトロポミオシンと協調してミオシンの ATPase 活性を阻害する事により筋収縮を調節する。線虫には骨格筋類似の体壁筋と心筋類似の咽頭筋があり、4つの TNI のうち 3つが体壁筋で1つが咽頭筋で発現している。本研究では他の生物に見られない線虫 TNI の C-末端伸長の性質と、他のトロポニン C/T およびトロポミオシンとの分子間相互作用について調べた。まず、遺伝子操作により発現プラスミドベクターを構築して、体壁筋型 TNI の N-, C-末端および C-末端伸長を除いた断片を大腸菌で生産した。つぎに、体壁筋型と咽頭筋型の TNC/T およびトロポミオシンとの相互作用を蛋白質オーバーレイそして別途作成した各分子に対する抗体を用いて Western 解析法により調べた。咽頭筋型 TNI-4 は他の分子と組織特異的に相互作用したが、体壁筋型 TNI-2 は両組織の分子と相互作用した。また、TNI の N-末端のみが TNC/T と相互作用した。C-末端伸長を欠いた分子は他の分子との相互作用において、全長の分子と差が見られなかった。トロポミオシンとの相互作用には TNI 分子の全長が必要である事も明らかになった。カルシウムの存否は本実験の Western 解析法では差が見られなかった。これらの分子間相互作用の結果から各組織特異的な TNI および TNC/T およびトロポミオシンの遺伝子進化の過程を推論した。

本研究は1つの生物の TNI と他の TN およびトロポミオシンとの相互作用を調べた初めてのものであり、博士の学位(学術)に値するものと判断した。