

氏名	FREDERICK ANOKYE-DANSO
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3657号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Transcription control of the tropomyosin gene in intestine and pharynx of <i>Caenorhabditis elegans</i> (線虫のトロポミオシン遺伝子の腸および咽頭における転写制御)
論文審査委員	教授 香川 弘昭 教授 鎌田 堯 准教授 中越 英樹

#### 学位論文内容の要旨

Tropomyosin in the thin filament of muscles is conserved in both vertebrates and invertebrates. Contrast to vertebrates, *Caenorhabditis elegans* has single tropomyosin gene *tmy-1/lev-11* that has two alternative promoters and produces four isoforms: two isoforms are expressed in the body wall and two isoforms in the pharynx and intestine. In this study, the internal promoter of tropomyosin was investigated to identify sequences that regulate expression of *tmy-1* in the pharynx and intestine. Deletion of the 5' internal promoter fused to a GFP reporters identified binding sequences essential to pharyngeal and intestinal expression. These sequences are GATA, chicken CdxA homolog, and forkhead of *Drosophila*. Both the forkhead and CdxA binding sequences contributed to pharyngeal and intestinal expression. In addition, intestinal expression of *tmy-1* reporter is dependent on the GATA site. In gel mobility shift assays, ELT-2 and PHA-4 proteins interact directly with the GATA and forkhead binding sequences, respectively. RNAi knockdown of *elt-2* diminished *tmy-1::gfp* expression in only the intestine. Expression of *tmy-1::gfp* in *pha-4;smg-1* mutants was weaker to that of the wild type. Ectopic expression of PHA-4 and ELT-2 were sufficient to induced widespread expression of *tmy-1::lacZ* reporter in embryos. Based on these data, PHA-4 and CdxA function as general transcription factors for pharyngeal and intestinal regulation of *tmy-1*. These results help to understand how transcription factors of embryo control the terminal genes of differentiated muscle cells.

## 論文審査結果の要旨

線虫の筋肉には大別して骨格筋類似の体壁筋と心筋類似の咽頭筋の2つがあり、トロポミオシン(TM)遺伝子は、一つの遺伝子が2つの転写制御領域によりそれぞれ2つ、合計4つの産物を作る。4つのTMのうち2つが体壁筋で2つが咽頭筋および腸で発現している。

本研究では、線虫TM遺伝子の咽頭筋と腸の発現を制御する第2の転写制御領域について調べた。遺伝子操作により、TM遺伝子上流を欠失したGFPレポータープラスミドを構築して、形質転換線虫のTM遺伝子が発現する組織を観察した。つぎに、TM遺伝子の咽頭筋および腸での発現に必要な領域の解析結果と、既知の制御配列の結果を合わせて3つの制御因子；GATA/ELT-2因子、CdxA類似因子、FKH/PHA-4因子を推定した。さらに、塩基配列置換、DNA配列と蛋白質の相互作用、RNA干渉、遺伝子の熱誘導等を調べる実験技術を併用して、推定分子が線虫でTM遺伝子の転写制御をしているかどうかを詳しく解析した。咽頭筋と腸での発現にはCdxA類似因子とFKH/PHA-4が必要で、腸での発現にはGATA/ELT-2が関与している事を示した。以上の結果は、CdxA類似因子とFKH/PHA-4は共通転写因子として働き、咽頭筋ではHOX/CEH-22が、腸ではGATA/ELT-2が組織特異性を決めている事を証明した。

本研究はトロポミオシン遺伝子を用いて、胚発生から筋分化までの過程で如何に遺伝子発現が制御されているかを初めて明らかにしたものであり、博士の学位(学術)に値するものと判定した。