

氏名(本籍)	よねむらいずる 米村出(長野県)		
学位の種類	博士(学術)		
学位記番号	博甲第2,021号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	Studies on the Gene Structure and Expression of Chicken Slow Muscle Type Troponin T (ニワトリ遅筋型トロポニンT遺伝子の構造解析とその発現様式について)		
主査	筑波大学教授	理学博士	平林民雄
副査	筑波大学教授	理学博士	山根國男
副査	筑波大学教授	農学博士	田仲可昌
副査	筑波大学教授	理学博士	宗像英輔

論文の内容の要旨

骨格筋は、筋繊維内での筋蛋白質の遅筋型・速筋型アイソフォームの発現の違いにより、大きく遅筋と速筋に分けられる。前者は主として姿勢の維持など持続的な運動に、後者は瞬発的な運動に寄与している。筋収縮調節蛋白質であるトロポニンTは骨格筋型と心筋型に大別でき、そのうち骨格筋型には多くのアイソフォームが存在することが知られている。それら多くのアイソフォームは遅筋型、速筋型の2つの遺伝子に由来する。ニワトリの前広背筋は成鶏では遅筋型の性質を呈するが、発生初期には遅筋型と速筋型の両方のトロポニンTアイソフォームを発現し、成鶏では遅筋型アイソフォームのみの発現に制限されることが知られている。このようにトロポニンTアイソフォームの発現は筋分化、特に遅筋型、速筋型遺伝子の排他的な遺伝子発現機構を解明する上で非常によいマーカーである。

トロポニンTをマーカーとして用いるためには、各アイソフォームの発現様式やその一次構造の情報は必須なものである。これまでにニワトリ遅筋型トロポニンTアイソフォームの発現様式が詳細に調べられ、またその一次構造及び多様性に関しても多くの知見が得られている。ところが、遅筋型トロポニンTに関しての知見は殆ど得られていないのが現状であった。そこで、本研究では骨格筋での遅筋型遺伝子の排他的な遺伝子発現機構を解明することを目的とし、ニワトリ遅筋型トロポニンTの発現調節機構の解明を行う事とした。

まず遅筋型トロポニンTアイソフォームの発現様式が骨格筋ごとに異なるかどうかを調べるために、ニワトリの前広背筋(遅筋)、大胸筋(速筋)とその混合筋(両型の筋繊維からなる筋肉、3種)において、遅筋型トロポニンTアイソフォームの発現様式を発生段階を追って二次元電気泳動法とWestern blottingを行って調べた。その結果、成鶏の混合筋において新たに3つの遅筋型アイソフォームが発現していることが明らかとなった。更にそれらのアイソフォームの発現様式はそれぞれの筋組織で異なることがわかった。そこでこのようなアイソフォームの多様性は何に起因するのかを知るために、遅筋型トロポニンTの一次構造の多様性について調べた。ニワトリ遅筋型トロポニンTのcDNAの単離を行ったところ、5'側に関して翻訳開始点から31番目のアミノ酸であるアラニンをコードするコドンを含む転写産物と含まない転写産物の2種類を得ることができた。また2ヶ所での塩基置換も見られ、これらの塩基置換の様式はアラニンをコードするコドンの発現様式と同調していた。このような2種類の転写産物の選択的スプライシングの様式が骨格筋間で異なるのか否かを、上述の5種の骨格筋について発生段階を追ってS1 nuclease mappingを行って調べた。その結果、前広背筋と3種類の混合筋での選択的ス

プライシングの様式は発生段階を通じて一様であった。また、cDNAの3'側に関して4ヶ所の塩基置換が見られた。以上のことから、ニワトリ遅筋型トロポニンTの転写産物の選択的スプライシングの様式はそれぞれの筋組織と発生段階で一様であったにもかかわらず、ニワトリ遅筋型トロポニンTのアイソフォームの発現様式は異なることがわかった。これらのことより、ニワトリ遅筋型トロポニンTアイソフォームの多様性はそれらの一次構造の違いに加え、それぞれの筋組織での異なる翻訳後の修飾に起因すると判断された。

以上の結果から、遅筋型トロポニンTを発現する骨格筋において、それぞれ異なった機構により遅筋型トロポニンTアイソフォームを発現することを明らかにすることができた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、以前に解析され発展した速筋トロポニンTの研究例に比べてあまり興味深くないように見られていた遅筋を取りあげ、速筋の例に遜色無いアイソフォーム発現機構が存在することを証明した力作である。最終目的であったgenomic構造の決定はこの構造の特殊性のために出来なかったものの、cDNAに多様性があり、これだけでは説明できない多様性がタンパク質にも生じること、さらにはこのような多様性が核筋肉組織、発生段階で更に複雑化されて発現される事を調べ挙げたことは重要な研究成果であると評価できる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。