

氏名(本籍)	アスマ アウィニ (チュニジア)			
学位の種類	博士(学術)			
学位記番号	博甲第6132号			
学位授与年月日	平成24年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Structural and Phylogenic Characterization of Tomato <i>Glutamate Receptor-Like</i> Gene Family and Functional Assessment of Two <i>SIGLR</i> Genes with Regard to Calcium Utilization</b> (トマトグルタミン酸受容体様遺伝子ファミリーの構造および分子系統的特徴付けと2つの <i>SIGLR</i> 遺伝子のカルシウム利用に関する機能解析)			
主査	筑波大学教授	博士(農学)	江面	浩
副査	筑波大学教授	農学博士	宮崎	均
副査	筑波大学准教授	博士(生命科学)	浅水	恵理香
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	松倉	千昭

### 論文の内容の要旨

トマトはグルタミン酸を果実に豊富に蓄積することが知られているが、グルタミン酸の果実発達における役割は未解明である。本論文では、グルタミン酸のシグナル伝達物質としての役割に着目して、トマトイオンチャンネル型グルタミン酸受容体アミノ酸配列の構造解析と、一部の遺伝子について機能解析を行った。トマトグルタミン酸受容体様遺伝子ファミリー(SIGLRs)について詳細な解析を行った初めての論文である。

まず公的なDNA塩基配列データベースに対して、シロイヌナズナのグルタミン酸受容体様遺伝子ファミリー(AtGLRs)を問い合わせ配列として相同性検索を行うことにより、SIGLRs配列を抽出した。トマトはゲノム解読が完了しているものの、配列情報の重複や未完成な遺伝子注釈が見られたため、得られた相同性検索結果を精査し、13の完全長遺伝子と2つの部分配列遺伝子を同定した。ゲノム上にコードされるグルタミン酸受容体様遺伝子ファミリーを網羅的に同定した事例は、植物ではシロイヌナズナに次ぐものである。

動物およびシロイヌナズナにおいて、グルタミン酸受容体はイオンチャンネル型受容体の構造をとることが知られている。疎水性プロットにより、SIGLRsの膜貫通領域もイオンチャンネル型に特徴的な構造をとることが予測された。タンパク機能ドメインを検索したところ、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体と共通のドメインをもつことが示された。以上の結果から、同定されたSIGLRs配列は、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体をコードすることが示唆された。更に、分子系統解析と遺伝子発現解析からトマトに特徴的な遺伝子が存在することを明らかにし、その中でSIGLR1.1とSIGLR3.5について機能解析を進めた。

動物のイオンチャンネル型グルタミン酸受容体は、細胞膜に局在し、カルシウムイオンの選択的透過に関わることが知られている。シロイヌナズナにおいても、AtGLR2(AtGluR2)の過剰発現がカルシウム欠乏の表現型をもたらす等の知見から、カルシウムイオン透過性との関連が強く示唆されている。同過剰発現体では、ナトリウムおよびカリウムイオンに対して過敏反応を示すことが報告されている。そこで、上記トマト2遺伝子をシロイヌナズナにおいて過剰発現させ、表現型を調査した。

トマトグルタミン酸受容体様遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナは、巻き葉や生育遅延といったカルシウム欠乏に特徴的な表現型を呈した。野生型と比較して実生のカルシウム含量が変わらないこと、培地にカルシウムを添加すると生育が回復することから、過剰発現体ではカルシウムの吸収や輸送に顕著な影響はないものの、カルシウムイオンの恒常性を保つ機能に影響があったことが示唆された。更に、ナトリウムおよびカリウムイオンに対して過敏反応を示し、それがカルシウム処理によって回復することを見出した。以上の結果から、SIGLR1.1 と SIGLR3.5 がカルシウムイオン透過性に関わる可能性を示した。

## 審査の結果の要旨

申請論文は、トマトグルタミン酸受容体様遺伝子ファミリー (SIGLRs) の配列を数種類の公的データベースを横断的に検索することで見出し、13 の完全長 SIGLR 配列を決定したものである。それらの配列から機能ドメインを予測し、イオンチャネル型グルタミン酸受容体の構造をとることを示した。更に、2 種類の遺伝子がカルシウムイオン透過性に関わる可能性を実験的に証明した。これらの成果は、トマトにおいてグルタミン酸がシグナル伝達物質として作用する可能性を示すものである。トマト果実の品質に大きく影響する尻腐れは、果実中のカルシウム欠乏に依ることが知られている。詳細な分子機構は不明な部分が多いが、細胞膜におけるイオン透過性が変化している可能性も指摘されている。本論文は、今後尻腐れの分子機構を解析する上で、グルタミン酸受容体が重要なターゲットとなることを示す基礎的知見として、学術的にも技術開発的にもその果たす役割は大きい。

平成 24 年 2 月 2 日、学位論文審査会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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。