

(続紙 i)

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	韓 慶香
論文題目	Lineage isolation maintained by natural selection despite of ongoing gene flow in Japanese wild radish. (遺伝子流動存在下で自然選択によって維持されている日本のハマダイコンの系統隔離)		
(論文内容の要旨)			
<p>地理的に隔離した集団の間で、遺伝子の流動が様々な要因によって妨げられると、遺伝的分化が徐々に蓄積していくことが一般的に知られている。植物における遺伝子流動は種子や花粉の移動に依存するために、種子散布能力に長じた植物では、集団間で遺伝的分化が抑えられる傾向がある。海岸に生育して、種子や果実が海流で散布される植物はその代表的な例である。その一方で、植物は種子が発芽するとその場所から動くことが出来ないために、自生地の環境に対して生理的・形態的に適応せざるをえず、その適応の成否がその後の集団の生存に大きく影響する。このようにそれぞれの生育地の環境下で働く自然選択によって集団間の分化が促進される一方で、集団の間に生じる遺伝子流動は逆にその分化を希釈する。このように、種内分化の初期段階においては、自然選択と遺伝子流動が相反する作用をもたらすことが想定される。本研究では、日本列島の海岸に生育するアブラナ科ハマダイコンを対象にして、海流による種子散布によって、集団間に遺伝子流動が存在する状況のなかで、生育地それぞれの自然環境による自然選択を受けて、集団間分化がどのように進むのかを検討した。</p> <p>第1章では、9遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを用いて、北海道から西表島までの18集団144個体の集団多型解析を行った。その結果を補強するために、第2章では中立性を確認した15種類の核遺伝子の合計5756 bpの塩基配列を用いて、24集団72個体についても、集団多型解析を行った。この2種類の解析は、日本列島のハマダイコンの集団が系統地理構造を保ち、薩南諸島南部を境界にして南北に分化していることを明らかにした。続いて集団分化モデル (IMモデル) を用いた解析を行ったところ、この南北の分化は約18,000年前の最終氷期最寒冷期に起き、集団分化後にも遺伝子流動は存在しており、とくに南から北への方向の遺伝子流動が大きいことが示唆された。このことには、琉球列島の集団から、果実が黒潮によって北へ散布され続けてきたことが影響していると考察された。さらに、南北の集団のハマダイコンを種子から発芽させて、開花に関する春化の影響を調べた。春化处理 (5°Cの低温を経験させる) の有無と、長日・短日条件を変えた4条件下で、播種から開花までの所要日数を同一の環境下で測定した。北のハマダイコンの開花には生育時の日長 (長日・短日条件) にかかわらず春化处理が不可欠であり、春化未処理の個体は120日間の育成期間内では全く開</p>			

花できずに葉だけを作り続けた。その一方で、南のハマダイコンは、春化处理なしでも開花し、その所要日数が長日条件で約54日、短日条件で約64日であり、春化处理をするとそれが長日条件で約19日、短日条件で約38日に更に短縮することがわかった。このことは、冬期に低温を経験する北のハマダイコンは、低温を花芽形成のシグナルにしている一方で、冬期でも温暖な琉球列島では低温を経験せずに開花が出来るように、生育環境に適応していることを示唆している。

第3章では北海道と沖縄のハマダイコンを対象にして、低温刺激によって発現を止め開花抑制の機能を失う遺伝子*RsFLC-A*、日長刺激によって発現し花芽形成を促進する遺伝子*RsCOL5*、発現抑制カスケードの下流で発現して花芽形成を促す遺伝子*RsFT*の3種類の遺伝子の発現特性をmRNAの定量的リアルタイム測定 (qRT-PCR) で比較解析した。アブラナ科の植物では、低温を感知する遺伝子*FLC*と日長を感知する遺伝子*CO* (ハマダイコンでは*COL*) が、花芽形成を促す遺伝子*FT*に対して拮抗的に作用して花芽形成の時期を調節していることが知られている。北海道の集団では春化によって*RsFLC-A*が抑制されるとともに*RsCOL5*が発現して、10日ほど遅れて*RsFT*が発現が高くなり開花に至っていた。逆に春化非処理株では*RsFLC-A*が強く発現して*RsFT*の発現を抑え、花芽形成を抑制していた。沖縄の集団でも、春化处理によって*RsFLC-A*が抑制される一方で*RsCOL5*が発現し、*RsFT*の発現が高くなり開花に至っていたが、特筆すべきは*RsFT*が春化处理直後に、しかも強く発現したことであった。春化非処理株では*RsFLC-A*と*RsCOL5*の両方が強く発現し、10日ほど遅れて*RsFT*が発現して花芽形成がもたらされていた。このように北海道と沖縄のハマダイコンでは、低温・日長を感知する遺伝子と花芽形成遺伝子の発現様式が異なっているために、開花特性が異なっていると考えられた。

第4章ではハマダイコンの各集団の外部形態を比較した結果、琉球列島の集団では茎と葉に無毛と有毛の個体が共存するのに対して、北のハマダイコンではすべての個体が有毛であった。このように、形態形質においても南北で集団分化が認められた。

以上のように本研究では、果実の海流散布による遺伝子流動があるにもかかわらず、生育地の環境条件の下で自然選択を受けることによって、実質的に南北で集団分化が起こっていることをハマダイコンで実証した。そしてその適応の背景には、花芽形成に関わる遺伝子群の発現特性が、南北の集団の間で異なっていることがあることを示唆した。

(論文審査の結果の要旨)

一般に、海流や風などによって広域に種子を散布する植物種では、遠く離れた集団の間でも、遺伝子流動が頻繁に起こることによって、遺伝的分化が起こりにくいと予想されている。しかし、緯度に沿った遠方の集団間では、温度環境や日長環境に大きな違いがある。植物は日長変化や温度変化のなかから特別なシグナルを読み取って、発芽や開花のタイミングを決定すべく、生育地の環境に適応しているはずである。とくに冬が厳しい地域の植物は、花芽形成の引き金に低温の経験（春化）が重要であることが知られている。本研究では日本列島の海岸線に沿って広域分布するアブラナ科のハマダイコンを対象にして、集団間で遺伝的分化が見られるかをまず検討し、さらにそれぞれの集団がそれぞれの地域の環境に適応しているかを見ようとしたものである。

本研究は、マイクロサテライトと核遺伝子の塩基配列の2つの異なるデータセットを用いて集団解析を行った結果、日本列島の海岸において南北に種内分化を起こしていることを明らかにした。さらに集団分化モデル（IMモデル）を用いた解析では、この分化が1万8千年前の最終氷期最寒冷期（LGM）という非常に新しい時代に起きたと推定した。そして生態ニッチモデル解析を使って、LGMにおいても琉球列島は年間最低気温が5℃を上回っていた可能性を示して、集団の分化が起きた年代と当時の古環境が符合することに言及している。さらにIMモデル解析では、南北に分化した後の集団の間で遺伝子流動は存在し続けており、とくに南から北に向けての移入が大きいことを示唆した。この研究は、遺伝子流動の存在下でも集団分化が維持され続けることを検証した稀なものであり、その南北の集団分化において温度環境に関わる自然選択が働いている可能性を示唆している。

この知見を受けて、本研究は南北の集団のハマダイコンを種子から発芽させて、春化处理が花芽形成に与える影響を比較した。南の個体は琉球列島の温暖な環境に適応して春化要求性を失っており、葉を形成する栄養成長相から花芽形成をする繁殖成長相に容易に移行する。これに対して北の個体では開花に春化が不可欠であり、低温を経験できないと栄養成長を続けることを示した。また、南の個体は春化の遺伝子発現経路を失っているわけではなく、春化处理によって極めて小さな個体サイズの段階で開花してしまう条件的春化要求性を持っていることを明らかにした。以上の開花実験の知見は、集団遺伝解析によって見いだされた「遺伝子流動の存在下で、種内分化が維持されている」ことの原因が生育環境に適応した春化要求性の相違によって説明できる一つの可能性を示唆している。ただし、ハマダイコンの主な分布はアジア大陸部であり、日本の集団の起源が未解明であるために、分布全域の材料を用いた比較解析を行うことが今後の課題である。

適応に関する遺伝子への自然選択を検討するために、申請者はシロイヌナズナで

同定されていた低温感受遺伝子である*FLC-A*、概日時計の中核遺伝子である*CO*、ならびに花芽形成を促す遺伝子*FT*のホモログを近年に公表された大根ゲノムの中から新規に見いだして、その発現様式について沖縄と北海道の個体を用いて比較解析を行っている。その知見は上記の開花様式の違いを説明することに良く合致したものである。興味深いことは、沖縄の個体に春化处理を施すと、前述のように葉が数枚しかない小さな個体サイズの段階で開花するが、体内では*FLC-A*と*CO*の両方が強く発現するという、これまでに知られていない新しい発現様式が見いだされたことである。また、解析した遺伝子は開花に関わる遺伝子群の一部のものであるために、RNA-seqによって、関わる遺伝子すべてを網羅的に発現解析していくことも今後の課題であろう。

このように本研究は、系統地理学や集団遺伝学、生理生態学、遺伝学などの様々な手法を駆使した緻密なデータをもとに、生育環境に適応すべく働いた自然選択が遺伝子流動の影響を退けて植物の遺伝的分化を維持する過程について重要な知見を与えるものである。これらの成果の多くは、国際誌に掲載されている。本学位論文は、時間軸を通じた生物の動的な存在様式を探求する相関環境学専攻 自然環境動態論講座にふさわしい内容を備えたものと言える。

よって、本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年1月16日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 年 月 日以降