

氏 名	かわ べ あきら 河 邊 昭
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1228 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	A study of molecular population genetics on the cytosolic phosphoglucose isomerase (<i>PgiC</i>) locus of <i>Arabidopsis thaliana</i> and <i>Arabis gemmifera</i> (シロイヌナズナとハクサンハタザオの細胞質局在型ホスホグルコースイソメラーゼ (<i>PgiC</i>) 遺伝子座における分子集団遺伝学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 遠 藤 隆 教 授 大 西 近 江 教 授 泉 井 桂

論 文 内 容 の 要 旨

集団遺伝学の目的は、生物の遺伝的な変異量を記述すること及びその変異がどのような機構により出現し、消失し、また維持されているかを解明することである。その為には多くの種について多くの遺伝子座の変異パターンを研究することが望まれる。しかし、特に DNA レベルの種内変異に関する研究は、主にショウジョウバエやヒト等動物について行われてきており、これまで植物に関する研究はあまり多くなされていない。本研究は、生物一般の変異維持機構の解明を目的として、細胞質局在型ホスホグルコースイソメラーゼ (*PgiC*) 遺伝子座の DNA 多型をシロイヌナズナとハクサンハタザオという植物種について調査、解析している。

序章では分子集団遺伝学における研究の現状、シロイヌナズナとハクサンハタザオの材料としての特性、また調査領域として *PgiC* 遺伝子座を用いる利点が記述されており、第 1 章から第 3 章においては本研究で得られた研究結果が示されている。本研究では、まず、シロイヌナズナの *PgiC* 遺伝子座における DNA 多型が解析された。全世界から採集された 21 系統のシロイヌナズナにおいて *PgiC* 遺伝子座全翻訳領域を含む約 4.7 kb の塩基配列が決定され、129 個の塩基置換と 11 個の挿入欠失が観察された。変異量は他の遺伝子座で観察されている変異量の約 3 分の 1 と低い値であった。27 個の塩基置換と 4 個の挿入・欠失はアロザイム間で固定したものであり、DNA 変異はアロザイム変異と相関した形で存在し、しかも、大きく 2 つの塩基配列型に分かれることが明らかになった。また中立性の検定を行ったところ中立性が棄却され、自然選択が働いたか集団が平衡に達していない可能性が示唆された。これらの研究結果から、シロイヌナズナの *PgiC* 遺伝子座にはアロザイム変異と相関した形で DNA 変異の 2 型が存在すること、2 つのアロザイム間には平衡選択が働いた可能性があること、後から出現したアロザイム型が最近その頻度を増していることが示唆された。

次に、シロイヌナズナの近縁種であるハクサンハタザオからの *PgiC* 遺伝子座の単離とそれらの遺伝子座についての分子進化学的解析が行われた。ハクサンハタザオは 2 つの *PgiC* 遺伝子座を持ち、その内の一方にエクソン-イントロンジャンクションを含む 48 bp の欠失があることが明らかになった。本研究では、欠失がない遺伝子座を *PgiC1*、欠失がある遺伝子座を *PgiC2* と命名し、その 2 遺伝子座とその周辺領域を含めて塩基配列を決定した。その結果、シロイヌナズナとの分歧の後に *PgiC1* が *PgiC2* から重複したことが推定された。また周辺領域における塩基配列の相同性は 2 遺伝子座間でも、シロイヌナズナとの間でも見られず、遺伝子間領域の構造はごく近縁な種間でも大きくことなることが示された。

さらに本研究では、ハクサンハタザオにおける 2 つ *PgiC* 遺伝子座の DNA 多型が解析された。*PgiC1* 遺伝子座では全体で 127 個の塩基置換と 33 個の挿入・欠失が、*PgiC2* 遺伝子座では全体で 138 個の塩基置換と 33 個の挿入・欠失が観察された。変異量は両遺伝子座とも全領域で約 0.3% と推定され、シロイヌナズナの *PgiC* 遺伝子座と同程度であった。一般的に偽遺伝子座では高い変異量が期待されるが、ハクサンハタザオの *PgiC* 遺伝子座では偽遺伝子座と活性遺伝子座で同程度の変異量が観察され、さらには、両遺伝子座において中立性からの有意なずれが検出された。偽遺伝子座は自然選択の影響を受け

ないので、ハクサンハタザオの集団が平衡に達していないことが DNA 変異に影響をしているのではないかと考えられた。

本論文では、最後に *PgiC* 遺伝子座、シロイヌナズナ、ハクサンハタザオそれぞれについて DNA 多型の量とパターンの特徴をまとめて総括している。これまでに *PgiC* 遺伝子座の DNA 多型が調べられている 8 種の生物について比較したところ、全てに共通ではないものの、低い変異量、頻度の低い変異の存在、高い割合の非同義置換が一般的に観察された。このような現象の原因としては、*PgiC* 遺伝子座にそれぞれの生物が生息する環境に対して適応的な変異が比較的頻繁に出現することが示唆された。さらに、シロイヌナズナとハクサンハタザオのそれぞれについて、本研究で得られた *PgiC* 遺伝子座の結果を含めてこれまでに DNA 多型が報告されている遺伝子座を比較研究した。その結果、シロイヌナズナでは 2 つの塩基配列型が存在するという変異の 2 型が DNA 多型の量とパターンに大きく影響しており、2 型以外の変異には座乗領域や集団構造の影響がみられることが明らかになった。ハクサンハタザオについては、おそらくその集団構造、特に小さな分集団にわかれていることが DNA 多型に大きな影響を与えていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

分子集団遺伝学は DNA 変異の量を記述し、変異の維持機構の解明を目的としている。これまでは動物を主な材料として実験的、理論的な研究が多く報告されてきているが、全生物における DNA 変異の普遍的維持機構の解明には、より多くの動植物の種を用いた研究が必要とされている。特に、植物における分子集団遺伝学研究は、これまでに動物を用いた研究により示唆されている DNA 変異の維持機構を検証するためには不可欠である。本論文ではモデル植物であるシロイヌナズナとその近縁種のハクサンハタザオを材料として細胞質局在型ホスホグルコースイソメラーゼ (*PgiC*) 遺伝子座の DNA 多型を調査・解析し、DNA 変異がどのような機構によって維持されているのかについて考察したもので、評価すべき主な点は以下の通りである。

1. シロイヌナズナの *PgiC* 遺伝子座の DNA 多型の解析から、タンパク質の電荷を変える変異に対して自然選択が働いた可能性を示唆し、シロイヌナズナにおいて自然選択が特定の遺伝子座の DNA 変異の量とパターンに大きな影響を与えていることを明らかにした。
2. ハクサンハタザオから重複した *PgiC* 遺伝子座を単離し、最も近縁な種でも遺伝子座の数やその周辺領域の塩基配列が大きく異なることを明らかにした。また一方の遺伝子座がその機能を失っている可能性を示唆し、遺伝子座の重複と重複後の遺伝子機能の失活が比較的短期間に起こることを示した。
3. ハクサンハタザオにおける *PgiC* 遺伝子座の DNA 多型の解析を行い、近縁種であるシロイヌナズナと変異のパターンが異なることを示した。また偽遺伝子座における DNA 変異の量とパターンを調査することでハクサンハタザオが種として持つ DNA 多型の特性を示唆した。
4. これまでに *PgiC* 遺伝子座の DNA 多型が調査されている種について DNA 変異の量とパターンを比較し、*PgiC* 遺伝子座に特異的な DNA 変異の維持機構が存在する可能性を明らかにした。
5. シロイヌナズナ、ハクサンハタザオの DNA 多型についてこれまでに報告のあった遺伝子座を比較、解析し、それぞれの種について特徴的な変異の維持機構が存在することを示唆した。

以上のように本論文は、モデル植物であるシロイヌナズナとその近縁種を材料として DNA 多型を記述したものである。さらに本論文では、これまでの分子集団遺伝学が構築してきた理論研究を効果的に応用することで植物における DNA 変異の維持機構を解析しており、分子集団遺伝学、分子進化学、保全生物学の理論、実験研究の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成14年1月28日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。