

(続紙 1)

京都大学	博士(人間・環境学)	氏名	池田 啓
論文題目	Vicariance history and adaptive evolution in the Japanese alpine plants elucidated by phylogeographic studies (系統地理解析によって解明された日本産高山植物の分布分断の歴史と適応進化)		
(論文内容の要旨)			
現存する生物種の種内には遺伝的な変異があり、それはしばしば地理的な分布のパターンを持つ。このような地域間の遺伝的分化は、異所的種分化の前段階にあるものとして重要視されてきた。生物の進化・多様性形成には、地理的な隔離とそれに伴う地域環境への適応が大きな影響を与えていると考えられる。そのため、遺伝的に分化した地域集団の間で、どのような遺伝子に分化が生じているか、あるいは環境に適応している遺伝子は何かを明らかにすることは、生物の種分化と適応進化の機構を解明することにつながる。そこで、本研究では系統地理学的な観点から、日本産高山植物の地域間での遺伝的分化パターンを明らかにしたのち、分化した地域集団の間でどの遺伝子に実際に自然選択が働いたかを明らかにすることを目指した。 まず第一章と第二章では、7種の高山植物（コメバツガザクラ、ミネズオウ、ツガザクラ、アオノツガザクラ [ツツジ科]、イワウメ [イワウメ科]、ミヤマタネツケバナ [アブラナ科]、ミヤマキンバイ [バラ科]）を用いて、葉緑体 DNA の遺伝的多型とその地理的な構造を明らかにした。コメバツガザクラとミヤマキンバイでは、AFLP 法（Amplified Fragment Length Polymorphisms：増幅断片長多型法）を用いた全ゲノムの遺伝的多型についても解析した。その結果、5種（ミネズオウ、アオノツガザクラ、イワウメ、ミヤマタネツケバナ、ミヤマキンバイ）においては、中部地方の集団と東北地方・北海道（北日本）の集団の間で、大きな遺伝的分化が見られることが明らかになった。このことは、多くの日本産高山植物において、中部地方と北日本の集団は、長期間にわたって分断されてきたことを示唆している。 第三章では、この分布分断の歴史を統計的に評価するために、ミヤマタネツケバナをモデル系として、集団遺伝学のモデルである Isolation with Migration model（IM モデル：移住を伴う分化モデル）による検証を試みた。生育地のほぼ全てを網羅する 19 集団の 38 個体を用いて、核 DNA にコードされている 10 遺伝子座の塩基配列を、合計約 7000bp にわたって解析した。同モデルによる解析の結果、中部地方と北日本の二地域は、約 11 万年前の最終間氷期に分断され、その後は隔離され続けてきたことが推定された。ミヤマタネツケバナは高山植物であり、最終氷期にもっとも分布域が拡大して南北集団が混在する可能性があったはずである。それにも関わらず、最終氷期の間に南北の集団が分断し続			

けた理由として、最終氷期に入る前に各地域への環境に対して何らかの生理生態的な適応と分化が起きていた可能性が示された。

さらに第四章では、この分断に伴い、どの遺伝子に自然選択が働いたかに着目した。生理生態的に重要な役割を持つ 14 個の遺伝子 (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYE*, *CHS*, *CRY1*, *CRY2*, *COP1*, *DET1*, *GA1*, *TFL1*, *CAL*, *F3H*, *DFR*) の塩基配列 (合計約 25,000bp) を用いて、その多型が中立に進化したかを解析したところ、赤色光受容体であるフィトクロムをコードする遺伝子のひとつ *PHYE* が非中立に進化していることが明らかとなった。この *PHYE* 遺伝子の分子系統樹を構築したところ、中部地方と北日本の個体の間では、大きな遺伝的分化が認められた。そして、この 2 系統の間には中立から期待されるよりも多くのアミノ酸置換が蓄積していた。このアミノ酸置換は、PHY ドメインという、活性型フィトクロムの安定化に関わる領域に集中しており、この部位が自然選択を受けていることが推定された。以上の結果は、中部地方と北日本のそれぞれの地域環境への適応に、ミヤマタネツケバナでは *PHYE* が関与していることを示唆している。また、被子植物のフィトクロムをコードする遺伝子群のなかで、*PHYE* に南北の分化や自然選択が見出されたことは、初めての知見である。

フィトクロムは、様々な生理・発生機構を制御する役割を果たす色素タンパク質である。このような生活史決定に関わる物質をコードする遺伝子の多型が自然選択により地域集団の間で分化していることは、各地域への環境適応に伴って様々な生理・発生機構が分化してきた可能性があることを意味している。この発見は、生理、代謝、発生の制御に関わる少数の遺伝子が、地域環境への適応に深く関わっており、このような適応遺伝子の分化が、種内の分化を促進している可能性を示唆している。

このように本研究では、日本の高山植物の複数種において、北日本と中部地方の 2 地域に遺伝的な分化を起こしていることを明らかにしたのち、そのなかの一種について、南北への分布分断が約 11 万年前の最終間氷期に起きたことを推定した。そして、分化した地域集団の間で、フィトクロム E 遺伝子 (*PHYE*) の多型が分化しており、かつ自然選択を受けているという知見を得た。フィトクロムは、植物が周囲の光環境を感受して、発芽や開花のタイミングや胚軸伸長などの制御を行うことに関わる重要な光受容体であることから、この遺伝子が緯度差に伴う光環境に適応することによって、様々な生理や発生機構が分化してきた可能性を議論した。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、日本に分布する高山植物を対象にして、種内の集団間・集団内の遺伝的変異を解析し、地理的な隔離とそれに伴う地域環境への適応を解明しようとしたものである。日本の高山植物は、北極を取り巻くようにして分布する周極要素植物に由来しており、第四紀の気候変動の中で、分布範囲を大きく変えてきた歴史を持つ。このような過程の中で、日本の高山植物には、周極地域の種とは別種、あるいは亜種などのレベルで独自の分類群に進化したものが多い。また、同一種でありながら、国内の地域間でさまざまな形態の変異が認識されているものもある。このように、日本の高山植物は、分布域変遷の過程で種内の集団間・集団内の遺伝的変異が蓄積し、地域ごとにその外部形態が変化するほどに生育環境への適応を遂げていることが期待され、この研究が計画される背景となっている。

日本の高山植物が中部地方と、東北北部・北海道の二地域に南北分化を起こしていることは、本研究が始まった時点ですでに明らかになっていた。しかし、これらの先行研究は集団単位で解析をしておらず、集団のヘテロ接合度や分化係数などの集団遺伝学的なパラメーターを使用していなかったことから、さらなる検討の必要があった。本研究では、高山植物7種を対象にして、分布全域から集団レベルでサンプリングを行い、葉緑体および核の塩基配列情報などの詳細な読みとりを通して、その南北分化の有無について検証を行った。そして、これを比較系統地理の観点から論じて、日本の高山植物の多くが南北に分化していることを検証した。これらの成果は、欧米の国際誌を主にして7編の論文として公表されている。しかし、一部の植物種では地理構造が見られない一方で、遺伝的多様性が高い結果が見られ、その要因に対する分析を欠いていたことは、今後の課題として指摘された。

本研究では、この中部地方と東北北部・北海道への南北分化を確認したうえで、新たな知見を二つ見出している。第一に、この南北分化が11万年前の最終間氷期に起きたことを明らかにした点である。従来の日本列島の系統地理研究は、地理的な構造について多くの知見を積み重ねてきたものの、その成立年代を検証した事例には乏しかった。本研究で用いられたIsolation with Migrationモデル(IMモデル：移住を伴う分化モデル)は、かねてから優れたモデルであると評価されてきたが、母集団が二分岐した系でのみ、解析が可能であることが利用の大きな制約になっていた。この点において、日本の高山植物が南北に二分していることは、その利用を可能にした。また、植物遺伝学、生理学分野におけるモデル植物であるシロイヌナズナに近縁なアブラナ科植物を研究材料に選択したことによって、7000bpもの核遺伝子座の塩基配列を解析できたことも、IMモデルの適用を可能としたと言える。この知見は、特に北方由来とされる植

物種の系統地理研究や、従来から化石のデータを蓄積してきた古植物学分野などに対しても、貢献するものと評価される。

第二の新たな知見は、この南北への分化に伴う各地域環境への適応において、どの遺伝子に自然選択が働いたかを特定したことである。フィトクロムE遺伝子 (*PHYE*) が、高緯度地域と低緯度地域で分化しており、かつ自然選択を受けているという知見は、初めてのものである。フィトクロムは赤色光を受容する色素タンパク質で、植物が周囲の光環境を感受して、発芽や開花のタイミングや胚軸伸長などの制御を行うことに関わる重要な光受容体である。このような生活史の決定に関わる物質をコードする遺伝子の多型が、自然選択によって地域集団の間で分化していることは、各地域への環境適応に伴って様々な生理や発生機構が分化してきた可能性があることを示唆している。ただし、本論文にも記されているように、これらの知見は、あくまでも集団遺伝学をベースにした検定の結果に留まるものであり、南北地域それぞれのタイプの*PHYE*が植物体にもたらす表現型の変化などを検証することが求められる。本研究では、南北地域間でのアミノ酸置換が、活性型フィトクロムの安定化に関わるPHYドメインに集中しているという知見が得られている。したがって、生理学的な手法によって、南北地域それぞれの活性型フィトクロムEの安定性や、植物体の表現形に与える影響などを精査することは今後の課題である。

このように本研究は、緻密なデータをもとに、日本の高山植物における南北への分布分断の歴史と地域環境への適応を明らかにしたものである。その成果は、第四紀気候変動のなかで日本の植物が繰り広げてきた分布域の変遷と異所的な種内の分化に関して、重要な知見を与えるものである。したがって、本学位申請論文は、史的時間軸を通じて生物が示す動的な存在様式を探究する関連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のあるものと認める。また、平成22年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について口頭試問を行った結果、合格と認めた。

Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降