

(論文内容の要旨)

ハマビワ属およびその近縁属（クスノキ科）の系統関係については、これまで様々な研究者が形態情報や分子情報に基づいて系統解析を行ってきたが、その系統関係は未だ良く解明できていない。その結果、この植物群の属や節レベルの分類も非常に混乱している。本論文は、これらの植物群の分布の中心であるマレーシア地域（インドネシア、マレーシアなど）に生育するハマビワ属 24 種、その近縁属 17 種を材料にして分子系統学的研究に取り組んだ。

これまで Li ら（2004）が主として中国に分布するこの植物群の材料を用いて、葉緑体 DNA にコードされている *matK* 遺伝子と核 DNA にコードされている nrDNA の ITS 領域の塩基配列情報に基づいて分子系統学的解析を行っていた。彼らの結果では、これら 2 つの領域に基づく分子系統解析の結果は互いに大きく矛盾していた。そこで本論文では、それらと同じ DNA 領域の塩基配列をマレーシア産の材料についても解析し、中国産の材料の結果と比較してみた。その結果、Li ら（2004）の ITS の塩基配列には、コンタミした菌類（アオカビ類）の ITS 配列が混入していたことを明らかにした。一方、そのようなコンタミが無くても ITS はホモプラシーが高く、この領域に基づく分子系統樹は信頼性が低いこと、一方、*matK* はホモプラシーは低いものの、変異量が少なく解像度が悪いことも明らかにした。

次に、本論文では新たな情報源としてやはり核 DNA にコードされている nrDNA の ETS 領域の塩基配列を多くの分子系統学者が行っているダイレクトシーケンス法ではなく、これらの植物材料からクローニングすることによって詳しく解析した。比較のために同じ nrDNA に含まれる ITS 領域も同じ植物材料からクローニングすることによって解析した。その結果、一個体のサンプルにも非常に多様な塩基配列の EST が含まれていること、ITS も ETS 程ではないものの、少なくともクローニングして得られる配列をダイレクトシーケンス法で得られる配列が大きく異なる場合があることを明らかにした。そして、これらの領域の塩基配列情報がハマビワ属及びその近縁属の分子系統学的解析には向いていないことを明らかにした。

そこで、さらに系統解析に向いている別の核 DNA 領域を探索する必要性が生じた。本論文では、核シングルコピー領域といわれている *rpb2* 遺伝子の領域の塩基配列をやはりクローニング法によって解析した。その結果、この領域も多少異なる複数の配列が一個体に含まれているものの、それらの間の違いは小さく、この領域を用いると解像度と信頼度が共に高い分子系統樹が得られた。本論文は、*rpb2* がこのグループの植物群の系統関係を詳しく調べていく上で非常に有用であることを初めて解明したのである。また、現在までの解析で得られた分子系統樹のトポロジーを元にして、これまでの分類体系の問題点も解明した。これらの研究成果の一部を植物学分野の国際誌 Journal of Plant Research 誌と Acta Phytotaxonomica et Geobotany 誌に投稿し、共に既に受理されている。

(論文審査の結果の要旨)

ハマビワ属およびその近縁属（クスノキ科）は、イズ君の出身国であるインドネシアを含め東南アジア（マレーシア地域）に特に多くの種が生育し、しかもその分類が非常に困難で現地の植物学者も手を焼いている植物群である。この植物群の自然分類をめざして形態形質に基づく系統学的研究、あるいは近年は様々な分子情報に基づく分子系統学的解析が行われてきてはいるが、得られた結果が互いに矛盾しているなどして、この植物群の系統学的理解は進んでいなかった。

本論文では、まず、Li ら（2004）が主に中国産の植物材料を用いて行った研究にならって、葉緑体 DNA にコードされている matK と核 DNA にコードされている rDNA の ITS 領域の塩基配列をマレーシア地域の植物材料を対象にしてダイレクトシーケンス法を用いて解析した。そして、先行研究の Li ら（2004）の報告とは大いに矛盾する結果を得た。さらに、その大きな理由が Li らの報告しているこの植物群の ITS 配列に菌類の配列が含まれているからであることをつきとめたことは高く評価できる。また、クスノキ科植物の葉は一般的に多糖類に富み、DNA の抽出が困難な植物群である。ハマビワ類もまさにそのような植物群であったが、本論文では DNA の抽出法を工夫して、安定的に分子系統解析が行えるようにしたことも高く評価できる。

次に、やはり Li ら（2006, 2007）が ETS 領域の塩基配列情報をダイレクトシーケンス法で解析していたので、本論文ではマレーシア産の植物材料について同じ手法を試みている。しかし、異なる配列が 1 個体の植物サンプルに含まれているらしく、この方法では配列が解読できなかったのも、はるかに手間と時間の掛かるクローニングをおこなって、一つの個体サンプルにどのように異なる ETS 配列が含まれているかを本論文では明らかにした。さらに、同様の手法で ITS 配列についても解析を行った。その結果、特にこの植物群の ETS 配列は、大きく異なる配列が 1 個体にも含まれていることを明らかにした。ITS 配列に関しても、配列間の違いは ETS ほどは大きくなかったものの、同様の問題があることを明らかにした。これらの配列は広く様々な生物の分子系統学的解析に用いられているが、本論文がその問題点を指摘したことは高く評価できる。

最後に、本論文では、ITS や ETS に代わる核 DNA の塩基配列情報源が必要であるという認識の下で、多くの生物群でシングルコピーであることが報告されている核 *rpb2* 遺伝子の塩基配列をクローニング法を用いて解析した。そして、この核遺伝子の配列が必ずしもシングルコピーではないものの、一個体のサンプル内の変異はきわめて小さく、また種間の変異量は十分にみられて、この植物群の系統解析にとっても有用であることを明らかにした。そして、本論文では、信頼性が高く、しかも解像度のよいこの植物群の分子系統樹を得ている。核シングルコピー領域を解析して分子系統樹を得た研究は、高等植物ではまだまだ例が少なく、この研究成果は高く評価できるものである。

以上のことから、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。