

(続紙 1)

京都大学	博士（ 農 学 ）	氏名	八木 映樹
論文題目	The distribution of the Au SINE family in angiosperms and gymnosperms and its evolutionary history (裸子・被子植物における Au SINEファミリーの分布と、その進化的歴史)		
(論文内容の要旨)			
生物ゲノム中にあるレトロエレメントの SINE 配列は、比較的短くまた挿入されると切り出されることがない特徴を持ち、このため生物の系統推定に利用することができ、脊椎動物で研究が盛んである。いっぽう植物での SINE 配列の研究は少ないが、それは従来発見された植物 SINE が特定のグループ内にしか存在せず、限られた範囲でしか応用できなかったからである。ところで、栽培植物起原学分野で見出した新しい SINE 配列 Au SINE は、分類学的に広範囲な植物にあり植物界全体で利用できる可能性がある。しかし、これまでに確認したのは 21 種で、1 種が原始的な被子植物のフトモモ科に属するが、残りはイネ科・マメ科・ナス科のいずれかで、植物界に広く分布するとは言い切れない状況であった。そのため、多種多様な植物を対象とし、どのような分類群に存在するかを明らかにする研究を行った。 まず被子植物以外に存在するか確認するため、シダ植物 21 種・裸子植物 20 種を対象として DNA を抽出し、既知の SINE 配列よりプライマーを作成し、PCR 法で検出を試みた。シダ植物には見出されなかったが、マオウ科の裸子植物 <i>Ephedra ciliata</i> で新規 Au SINE が発見された。これをクローニングし、数個の塩基配列を得てコンセンサス・シークエンスを作成した。<i>Ephedra</i> の Au SINE とこれまでに得られている被子植物の Au SINE 配列を比較した結果、<i>Ephedra ciliata</i> の Au SINE 配列は、これまで Glysine-type としていたダイズ(<i>Glysine max</i>) の配列と部分的に同じ挿入もしくは欠失が見られた。そのため、<i>Glysine</i> と <i>Ephedra</i> の配列を short-type と呼ぶこととし、より長い従来の <i>Medicago</i>-type を long-type と改称した。 つぎに、被子植物での分布域をより詳細に調べるため、基部被子植物 5 種・単子葉植物 36 種・真性双子葉植物 71 種の合計 112 種を対象として、PCR 法を用いたスクリーニングを実施した。その結果、PCR 実験で 10 科 10 種から見出すことが出来た。それに加え、DNA 配列のデータ・ベースに納められている Au SINE を探索するべく、BLAST を用いた解析を行い、17 科 87 種で Au SINE ファミリーと考えられる配列を見出した。PCR 実験の 10 種からは、クローニングによりすべてコンセンサス配列が得られたが、BLAST では少数の配列しか得られない場合もあり、コンセンサス配列が得られた種は半分以下に留まった。コンセンサス配列を基準とすると、これまでは 4 科でしか見られていなかったが 16 科となり、とくにイネ科・マメ科・ナス科など経済的に重要な科では 4 種以上で見つかり、これらの科では普遍的であると考えても良いことが明らかになった。また short-type の新規配列も多くの種で見出され、従来の結果と裸子植物で得られた結果を含め、今回新たに明らかになったものを総合し、short-type 21 種、long-type 20 種についてそれぞれのコンセンサス配列を作成した。 それらの配列から、近隣結合法により分子系統樹を作成した結果、short-type と long-type の分岐が強く示唆された。さらに、同一種で両方のタイプを持つ場合がイネ科で 3 例見られ、またイネ科とマメ科では両方のタイプを持つ種が見出され			

た。しかしこのような場合でも、short-type と long-type のあいだに配列の類似は見られないため、それらが挿入／欠失に由来するものではなく、それぞれが互いに独立して共通祖先に由来していることが強く示唆された。

さらに個々の種の SINE の塩基配列から描いた系統樹は、植物自体の系統樹と同様なパターンとなり、SINE の系統樹とそれを持つ植物の系統樹に大きな矛盾は無かった。近縁の植物で見出される SINE がお互いに似ていることから、Au SINE 配列は親から子へと垂直的に、植物の共通祖先から伝えられてきたとの結論に達した。また裸子植物と被子植物の両方に見られることから、Au SINE はその 2 つの群の共通祖先で既に存在していたことが強く示唆された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 3 8 字×3 6 行で作成し、合わせて、3、0 0 0 字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、4 0 0 ～1、1 0 0 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 5 0 0 ～2、0 0 0 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

植物の進化や遺伝的多様性を解析するにあたって、多様な手法の開発がそれらの信頼性を高める上で欠かせない。トランスポゾン的一种である SINE (Short Interspersed Element) は、真核生物に多く見られ、宿主ゲノムの多様化の原動力となり進化にかかわってきたと考えられている、可動性の反復配列である。動物界では多くの SINE が知られており、分布も広範囲で研究も多い。いっぽう植物界では少数の SINE が知られるのみで、その分布も限定的でほとんどが特定の科内だけであった。新たに単離された新規 SINE である Au SINE ファミリーは、基部被子植物・単子葉類・真正双子葉類を含む植物界全体に分布していることが確認されている。しかし、従来研究対象となった植物種はまだ少なく、植物界全体に広く分布するかは不明であった。そのため本研究では、多種多様な植物を対象とし、どのような分類群に存在するかを明らかにした。また研究手法としては、PCR 実験による直接的な同定のほか、データベース・サーチを併用した。さらに、得られた SINE 塩基配列の変異から、様々な植物で見られる SINE がその進化過程で、どのように伝達されてきたかの研究を行った。本研究の評価できる点は、以下の 3 点である。

1. 裸子植物での新規 Au SINE の発見：シダ植物 21 種・裸子植物 20 種から DNA を抽出し、PCR で SINE の有無を確認したところ、裸子植物の *Ephedra* で新規に見出し、Au SINE が裸子・被子植物の共通祖先に由来する可能性を示した。

2. 被子植物での新規 Au SINE の発見：計 112 種を対象に PCR で SINE の有無を確認するとともに、データベース・サーチで新規配列を検索した。その結果これまでの 4 科から 16 科 37 種と、はるかに広範な分類群に存在することを明らかにし、植物界全体への適用という点で、欠かすことの出来ない知見を得た。

3. Au SINE ファミリー内の分化と伝播に関する研究：Au SINE には先頭から約 140bp 付近に共通して約 15bp 前後の欠失を持つ short-type と、その無い long-type があり、その両方のタイプを持つ植物種も見出された。それらの塩基配列を比較し、近縁種に 2 つのタイプがある場合でも、挿入／欠失によって新しく起源したのではなく、ふたつは互いに独立で、それぞれが共通祖先に由来していることを確認し、この配列が植物の系統解析に有効であるとの知見を得た。

以上のように本論文は、様々な植物から DNA を抽出し PCR 実験を行うと共に、データベース・サーチにより、多くの新規 Au SINE ファミリーを見出している。本研究で Au SINE が確認された植物は、裸子植物から真性双子葉植物にわたり多種多様であり、今後この配列が植物の系統解析や分子マーカー開発に利用される可能性を飛躍的に増大させたので、栽培植物起源学や植物遺伝資源学に寄与するところが多い。

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 24 年 1 月 19 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。

注) Web での即日公開を希望しない場合は、以下に公開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