

論文審査の結果の要旨

氏名 加藤 将

本論文は4章からなり、第1章は、イントロダクションであり、第2章は葉緑体DNA領域に基づくシャジクモ (*Chara braunii*) の種内系統解析、第3章は前章で明らかになった生態的2型の葉緑体DNA および核DNA を用いた進化生物学的解析、第4章は総合的な議論が述べられている。

生態的集団分化は種分化の初期段階をもたらし、生物種の多様性を生み出す重要な進化的要因である。したがって、この原因となる遺伝子を検出することは、種分化の分子機構を明らかにするための重要な第一ステップであると考えられが、植物の種分化の初期段階にオルガネラ遺伝子が関与していることを示す研究はこれまでになかった。また、水生植物は顕著な種の多様性を呈し、それぞれの種が様々な生育水環境への高度な適応を示すので、水生植物の多くの種は、生態的集団分化に起因した種分化によって形成されたと考えられる。しかし、水生植物における生態的集団分化の原因となった遺伝子の分子レベルでの研究はなされていなかった。

シャジクモは淡水産の大型の緑色藻類であり、水深数 cm (水田等) から水深数 m (湖・ため池等の水底) 至る幅広い水環境に生育するという、他の水生植物には見られない特徴を持っている。これらの水環境の差異は光、温度、溶存ガスといった、植物の生育にとって重要な環境要因が大きく異なり、シャジクモは水生植物の生態的集団分化を研究する格好の材料であると考えられた。しかし、シャジクモを用いた分子レベルの集団解析はこれまでに行われていなかった。本研究はシャジクモの日本集団における浅所と深所という生態的2型を分子レベルで解析し、その進化生物学的特徴を解明することを目的として開始された。その結果、植物の種分化の初期段階でオルガネラ遺伝子が生態的集団分化に関与していることをはじめて明らかにした。

第 2 章ではシャジクモにおける種内の多様性と生育環境の関連を調査するため、本種の日本集団について進化速度が速くて遺伝子組み換えのない非コード領域を含む葉緑体 DNA 領域 (3308-3474 bp [*rbcL* コード領域全長, *atpB-rbcL* IGS, *rbcL-trnR* IGS]) を用いた系統解析を実施した。解析材料には、日本各地 43 地点 (図 2) の様々な水環境 (水田・ため池・湖など) より採集した合計 73 サンプルを用いた [41 サンプル: 水田などの浅い水環境産 (水深 15 cm 以下), 32 サンプル: 湖沼などの深い水環境産 (水深 1 m 以上)]。これらのサンプルより塩基配列を決定し、日本集団に 23 ハプロタイプを確認した。系統解析の結果、水環境の違い (浅い/深い水環境) を反映する 2 つの単系統群が示され、本種の日本集団における生態的 2 型の存在が明らかになった。第 3 章では、前章で明らかになった日本産シャジクモの生態的 2 型の進化生物学的な特性を明らかにするには葉緑体 DNA とは連鎖していない核 DNA の配列情報が必要であったので、シングルコピーで進化速度の速い非コード領域を含むと考えられた核 DNA 領域の 2 カ所、*hsp90* 遺伝子領域 (2981–2997 bp) および *EF-1 α* 遺伝子領域 (2363–2424 bp) をマーカーとして新たに開発し、全サンプルで配列を決定した。これら 2 つの核 DNA 領域ならびに葉緑体 DNA 領域を用いて、異なる水環境に生育する分集団間の遺伝的分化度の推定、中立性検定、分子進化学的解析、深い水環境の底土より発芽した培養株のハプロタイプの決定を実施した。その結果、シャジクモの日本集団に見られる生態的 2 型が種分化の初期集団であり、オルガネラゲノム上の遺伝子に働く自然選択が関与したことを示した。また葉緑体の *rbcL* 遺伝子が有力な候補の一つであることを見いだした。

以上のように論文提出者は本論文において、これまで種分化の学問分野では用いられていなかったシャジクモに着目して、独自に葉緑体と核遺伝子マーカーを開発して進化生物学的解析を実施した。その結果、植物の種分化の初期段階におけるオルガネラ遺伝子の自然選択をはじめて示すという極めてオリジナリティーの高い研究成果を得ることができた。

なお、本論文第 2 章の一部坂山英俊・佐野郷美・笠井文絵・渡邊

信・田中次郎・野崎久義、第 3 章の一部は高橋文雄・三澤計治・坂山英俊・佐野郷美・小菅桂子・笠井文絵・渡邊信・田中次郎・野崎久義との共同研究であるが、論文提出者が主体となって観察及び解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。