



Natural variation of flowering time and its genetic basis in *Arabidopsis kamchatica* subsp. *Kawasakiana*

杉阪, 次郎

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2008-09-12

(Date of Publication)

2014-10-20

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙3010

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003010>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	杉阪 次郎
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学 位 記 番 号	博ろ第 76 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与の 日 付	平成 20 年 9 月 12 日

【 学位論文題目 】

Natural variation of flowering time and its genetic basis in *Arabidopsis kamchatica* subsp.
Kawasakiana（タチスズシロソウにおける開花タイミングの自然変異とその遺伝的基礎）

審 査 委 員

主 査	教 授	角野 康郎
	教 授	三村 徹郎
	准教授	工藤 洋

進化生態学は、形質の適応的進化の動態を明らかにすることを目的としている。分子遺伝学的研究手法の導入により、適応的進化の分子遺伝的基礎を研究できるようになり、適応的な形質進化の間に選択圧が作用した遺伝子座や変化した対立遺伝子変異の同定にいたった研究例が知られている。本研究では、シロイヌナズナ属の野外植物集団における開花タイミングの適応的変異を対象とした進化生態学的研究をおこない、その分子遺伝学的基盤にアプローチした。「いつ花を咲かせるか」は、植物の繁殖成功を左右する重要な適応度形質である。この形質のもう一つの特徴は、日長や気温の季節変動に応答して可塑的に変化することである。そのため、この形質の進化は、遺伝子の転写量調節における遺伝的変異として捉えられなければならない。シロイヌナズナにおいて花成制御の遺伝子ネットワークの解明が進み、低温感受に対する開花応答が、特定の花成抑制遺伝子 *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*) の発現量という量的な要因に集約できることが明らかとなりつつある。モデル生物であるシロイヌナズナの近縁種を研究対象にすることにより、候補遺伝子の転写量の測定も可能となる。

本研究では、適応的分化を研究するために、シロイヌナズナではなく、その近縁野生種の一年草タチスズシロソウを対象としている。その理由は、適応的性質の地理的分化が成立するには、それぞれの局所集団が十分長く各地の自然環境の中で集団を維持してきている必要があるからである。一方、野生種を研究対象とすることにより、地理的分布、生活史、繁殖システムといった基礎的な生態データを野外調査によって明らかにする必要がある。また、タチスズシロソウは異質倍数性であるので、異なるゲノム由来の機能的に相同な遺伝子が倍加することの影響も考えられた。

第1章では、序論および研究目的について述べている。

第2章では、分布・生活史、特に繁殖に関わる生態的特性を明らかにするための野外調査の結果について述べている。本種は富山・琵琶湖湖岸・三重・高知の限られた場所にしか分布していないことが判明し、特に琵琶湖湖岸以外の集団は個体数も少なく、絶滅の危険性が高い植物であることが示唆された。最大集団である琵琶湖西岸の集団の個体群動態を調べ、秋に発芽シロゼットで越冬して翌春に開花・結実し、乾燥の激しい夏の高温を種子で回避していることが示唆された。このことからシロイヌナズナと同様に冬の低温感受が開花制御に重要な環境シグナルであることが考えられた。繁殖様式を調べるために複数の野外集団で花の袋掛け実験を行い、自家和合性で自動自家受粉が主な繁殖様式であることを示唆した。

第3章では、低温感受による開花時期の可塑性に集団間変異があるかを調べるための栽培実験の結果について述べている。複数集団から採取した植物を低温期間の長さを変えて栽培した。低温感受によって開花が促進され、さ

らに低温期間の長さに対する開花までの日数の可塑的な応答に集団間の変異があることを明らかにした。この変異は地理的なパターンを示しており、より低緯度の集団は開花のためにより長期の低温が必要であることが判明した。

第4章では、開花時期の可塑性の遺伝的変異について分子生物学的手法を用いてアプローチされている。近縁のモデル生物シロイヌナズナでは、*FLC* 遺伝子が実生時から発現し、長期間の低温にさらされると発現が抑えられ開花に至ることが分かっている。この *FLC* 発現量の違いが、低温に対する開花の可塑性の変異をもたらしている遺伝的要因として着目した。まず、異質倍数性である本種において *FLC*-like 遺伝子（以下 *AkwFLC*）を同定し、クローニングによって異なる推定両親由来の配列を決定した。そして、異なる親由来の2つのタイプの遺伝子の両方が転写されていることを明らかにした。*AkwFLC* の低温に対する応答性を調べるため、転写量を定量した。2つの *AkwFLC* 遺伝子を特異的に分けその転写量を定量することが困難であったため、2タイプの転写量の総量を定量した。その結果、長期の低温処理によって *AkwFLC* の転写量が低下することがわかった。*AkwFLC* が低温処理に対してシロイヌナズナと同様の反応を示すことから、*AkwFLC* の初期転写量が集団間で異なるかどうかをReal-time PCR法で定量した。その結果、*AkwFLC* 転写量に集団間で有意な差がみられた。しかし、*FLC* 転写量の変異は、開花までの日数における変異を説明しなかった。さらに、低温処理に対する *AkwFLC* 転写量の低下速度を比べたところ、早咲き集団で低下速度が速く、遅咲き集団で低下速度が遅いことが明らかになった。*AkwFLC* 転写量の低温応答の程度が開花の変異を説明する可能性がある。*AkwFLC* には欠失やアミノ酸置換をともなう複数のアレルがある事が明らかとなったので、このうちの代表的な欠失アレルの一部を特異的に増幅するプライマーを設計し、複数集団の多検体でスクリーニングをおこなった。その結果、欠失アレルが複数の集団でみつかったが、その多寡は開花応答性の地理的変異とは関連していなかった。

第5章ではタチスズシロソウにおける開花の自然変異の適応的意義とその遺伝的基盤についての総合考察を行っている。

氏名	杉阪 次郎		
論文 題目	Natural variation of flowering time and its genetic basis in <i>Arabidopsis kamchatica</i> subsp. <i>kawasakiana</i> (タチスズシロソウにおける開花タイミングの自然変異とその遺伝的基礎)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教 授	角野 康郎
	副 査	教 授	三村 徹郎
	副 査	准教 授	工藤 洋
	副 査		印
	副 査		印
要 旨			
進化生態学は、形質の適応的進化の動態を明らかにすることを目的としている。分子遺伝学的研究手法の導入により、適応的進化の分子遺伝的基礎を研究できるようになり、適応的な形質進化の間に選択圧が作用した遺伝子座や変化した対立遺伝子変異の同定にいたった研究例が知られている。本研究では、シロイヌナズナ属の野外植物集団における開花タイミングの適応的変異を対象とした線化生態学的研究をおこない、その分子遺伝学的基盤にアプローチした。「いつ花を咲かせるか」は、植物の繁殖成功を左右する重要な適応度形質である。この形質のもう一つの特徴は、日長や気温の季節変動に応答して可塑的に変化することである。そのため、この形質の進化は、遺伝子の転写量調節における遺伝的変異として捉えられなければならない。シロイヌナズナにおいて花成制御の遺伝子ネットワークの解明が進み、低温感受に対する開花応答が、特定の花成抑制遺伝子<i>FLC</i> (<i>FLOWERING LOCUS C</i>) の発現量という量的な要因に集約できることが明らかとなりつつある。モデル生物であるシロイヌナズナの近縁種を研究対象にすることにより、候補遺伝子の転写量の測定も可能となる。 本研究では、適応的分化を研究するために、シロイヌナズナではなく、その近縁野生種の一年草タチスズシロソウを対象としている。その理由は、適応的性質の地理的分化が成立するには、それぞれの局所集団が十分長く各地の自然環境の中で集団を維持してきている必要があるからである。一方、野生種を研究対象とすることにより、地理的分布、生活史、繁殖システムといった基礎的な生態データを野外調査によって明らかにする必要がある。また、タチスズシロソウは異質倍数性であるので、異なるゲノム由来の機能的に相関な遺伝子が倍加することの影響も考えられた。 第1章では、序論および研究目的について述べている。 第2章では、分布・生活史、特に繁殖に関わる生態的特性を明らかにするための野外調査の結果について述べている。本種は富山・琵琶湖湖畔・三重・高知の限られた場所にしか分布していないことが判明し、特に琵琶湖湖畔以外の集団は個体数も少なく、絶滅の危険性が高い植物であることが示唆された。最大集団である琵琶湖西岸の集団の個体群動態を調べ、秋に発芽シロゼットで越冬して翌春に開花・結実し、乾燥の激しい夏の高温を種子で回避していることが示唆された。このことからシロイヌナズナと同様に冬の低温感受が開花制御に重要な環境シグナルであることが考えられた。繁殖様式を調べるために複数の野外集団で花の袋掛け実験を行い、自家和合性で自動自家受粉が主な繁殖様式であることを示唆した。			

氏名	杉阪 次郎
第3章では、低温感受による開花時期の可塑性に集団間変異があるかを調べるための栽培実験の結果について述べている。複数集団から採取した植物を低温期間の長さを変えて栽培した。低温感受によって開花が促進され、さらに低温期間の長さに対する開花までの日数の可塑的な応答に集団間の変異があることを明らかにした。この変異は地理的なパターンを示しており、より低緯度の集団は開花のためにより長期の低温が必要であることが判明した。 第4章では、開花時期の可塑性の遺伝的変異について分子生物学的手法を用いてアプローチされている。近縁のモデル生物シロイヌナズナでは、<i>FLC</i>遺伝子が実生時から発現し、長期間の低温にさらされると発現が抑えられ開花に至ることが分かっている。まず、異質倍数性である本種において<i>FLC</i>-like遺伝子（以下<i>AkwFLC</i>）を同定し、クローニングによって異なる推定両親由来の配列を決定した。<i>AkwFLC</i>の低温に対する応答性を調べるため、転写量を定量した。2つの<i>AkwFLC</i>遺伝子を特異的に分けその転写量を定量することが困難であったため、2タイプの転写量の総量を定量した。その結果、長期の低温処理によって<i>AkwFLC</i>の転写量が低下することがわかった。<i>AkwFLC</i>が低温処理に対してシロイヌナズナと同様の反応を示すことから、<i>AkwFLC</i>の初期転写量が集団間で異なるかどうかをReal-time PCR法で定量した。その結果、<i>AkwFLC</i>転写量に集団間で有意な差がみられた。しかし、<i>FLC</i>転写量の変異は、開花までの日数における変異を説明しなかった。さらに、低温処理に対する<i>AkwFLC</i>転写量の低下速度を比べたところ、早咲き集団で低下速度が速く、遅咲き集団で低下速度が遅いことが明らかになった。<i>AkwFLC</i>転写量の低温応答の程度が開花の変異を説明する可能性がある。<i>AkwFLC</i>には欠失やアミノ酸置換をとまなう複数のアレルがある事が明らかとなったので、このうちの代表的な欠失アレルの一部を特異的に増幅するプライマーを設計し、複数集団の多検体でスクリーニングをおこなった。その結果、欠失アレルが複数の集団でみつかったが、その多寡は開花応答性の地理的変異とは関連していなかった。 第5章ではタチスズシロソウにおける開花の自然変異の適応的意義とその遺伝的基盤についての総合考察を行っている。 本研究は、日本産のシロイヌナズナ属の野生種タチスズシロソウの野生集団の分布と生活史を明らかにした。また、野外集団において開花反応性の地理的なクラインをあきらかとし、が見られ、適応的な分化である可能性が高い。その遺伝的基盤を知るために、タチスズシロソウにおける<i>FLC</i>遺伝子を同定し、異質倍数化によって倍加した相同遺伝子が両方とも転写していることを明らかにし、さらに、その初期総転写量と応答速度に集団間変異があることを明らかにした。その結果、<i>FLC</i>転写量低下の応答速度が開花反応の自然変異を説明する可能性を示唆した。これは、シロイヌナズナ以外の植物で、野外集団における遺伝子転写と表現型変異の関係を明らかにした数少ない例の一つである。以上のように、本研究はモデル生物の近縁野生種について、その基礎的な生態的知見を明らかにし、適応に重要な形質の変異を主要遺伝子の転写に着目して解析することにより、野外集団の変異の理解に重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。よって、学位申請者の杉阪次郎は博士(理学)の学位を得る資格があると認める。 ・特記事項 なし ・特許登録数 0件 ・発表論文数 1編	