

論文提出者氏名 フィルマン アラムシャ

ウツボカズラ属(ウツボカズラ科)は、東南アジアを中心に旧世界の熱帯地域に約120種が知られている。ウツボカズラ属の植物は、葉の先端が変形して形成される壺状の捕虫囊を持ち、その奇妙な形態から熱帯の園芸植物として愛好家が多い植物群である。ウツボカズラ属の植物は、この捕虫囊で昆虫を始めとした小動物を捕らえ、中に蓄積した分泌液中に含まれるネペンテシンという消化酵素により分解・栄養源として利用するという特異な性質を持つ。そのため、貧栄養の土壌でも生育が可能であり、熱帯地域の多様な環境に適応放散している。本論文は、ウツボカズラ属について、属内の系統進化を分子系統学的解析により明らかにし、分布拡大に関する植物地理学と捕虫囊の適応進化について考察したものである。さらにウツボカズラの持つ消化酵素について、酵素をコードしている遺伝子を単離・構造決定するとともに、分子的な適応進化について考察を行っている。

本論文は4章からなる。第1章では、これまで行われてきたウツボカズラ属の研究を精査し、従来の研究の問題点をまとめ、本論文での研究の方向性を検討した。従来のウツボカズラ属の分子系統解析については、葉緑体ゲノム上の *trnK* イントロン、*trnK* が他のゲノムに転移した偽遺伝子、核ゲノム上の PTR1 (peptide transferase 1) 遺伝子の塩基配列を用いた研究が行われている。しかしこれらの研究で得られた系統樹のトポロジーは互いに一致せず、未だウツボカズラ属内の系統進化に関して統一した見解は得られていないこと、さらに最も解像度が高い *trnK* イントロンを用いた分子系統樹においても、東南アジア内のウツボカズラ属の系統進化を推定するには解像度が不足しており、明確に解明できていないことを指摘した。これらの問題点を解決するには、従来の研究で使用されてきた DNA 領域より高い解像度が期待され、かつ雑種形成などの系統樹推定を混乱させる要因の影響を受けにくい核ゲノム上の領域を使用した系統解析を行う必要性を指摘した。また、このような条件を満たすものとして、核 DNA ゲノム上にあるリボゾーム遺伝子の ITS 領域が適切な候補であることを提案した。

さらに、ウツボカズラ属の進化過程を明らかにするためには分子系統解析に加え、その適応進化に関与する遺伝子の解析をする必要があることを指摘し、ウツボカズラ属では消化酵素のネペンテシンが研究対象として適切であることを述べている。ネペンテシンについては遺伝子配列が数種でしか決定されておらず、ウツボカズラ属の進化を考察するためには、さまざまな生活様式を持つ種においてネペンテシンの塩基配列を決定して、その分子進化を解析する必要があることを指摘した。

第2章では、第1章で提案した核 DNA のリボゾーム遺伝子(nrDNA)の ITS 領域を用いた分子系統解析を行っている。ウツボカズラ属の56種について nrDNA の ITS 領域の塩基配列を決定した。外群として *Ancistrocladus robertsoniorum* と *Dionaea muscipula* の2種を用い、最節約法、近隣接合法、最尤法、ベイズ法の4種類の方法で系統樹を再構築した。その結果得られた4個の系統樹のトポロジーはほぼ一致した。

すなわち、ウツボカズラ属内には系統樹の基部で分岐したセイシェル諸島とマダガスカル産の2種を除き、8つのクレードが認められた。基部の2種に続くクレードには、広分布域種、インド・スリランカに分布する種と共にオーストラリアの種とすべてのニューギニアの固有種を含む結果が得られた。*TrnK* イントロンに基づく先行研究での系統解析では、東南アジアの種群はインド亜大陸からインドシナを經由して分布を拡大したという推定が行われている。それに対し、本研究で得られた系統樹に基づいて、共通祖先種の分布地を推定した結果では、むしろオーストラリアやニューギニアから西に向かって分布を拡大したという説がより高い確率で支持されることを示した。また、東南アジアの種群の系統進化に関する解像度の高い系統樹が得られたことから、ボルネオ島が二次的な種分化の中心地となり、フィリピン、スマトラ、マレーシア半島などに分布を拡大していったことが新たに示された。

第3章では、食虫植物であるウツボカズラ属の適応進化に重要な役割を果たしていると考えられる消化酵素のネペンテシンの分子進化についての解析を行っている。ウツボカズラ属の29種について、ネペンテシンをコードしている *Nep2* 遺伝子の塩基配列を決定して、その分子進化についての考察を行った。今回、核ゲノム中の *Nep2* 遺伝子の配列が初めて決定された。さらに、これまで報告のあった mRNA の配列と比較した結果、*Nep2* 遺伝子中にイントロンを持たないことが明らかにされた。ネペンテシンはアスパラギン酸プロテアーゼ(Aps)の遺伝子ファミリーに属するが、他の植物で報告されている Aps 相同遺伝子は、遺伝子のゲノム配列内にイントロンを持つことから、ウツボカズラ属の共通祖先において *Nep2* 遺伝子のイントロンが失われたと推定される。さらにこのイントロンの消失は、消化酵素の迅速な産生に関する適応である可能性を示唆した。

また、ウツボカズラ属において、*Nep2* 遺伝子の分子進化の際に正の自然選択が働いたかどうかを検討した結果、大多数では種分化の際に正の選択圧は検出されなかったが、スマトラ産の同所的な2種間では正の自然選択が起きていることが示唆され、生態的分化に伴い、消化酵素の機能分化が起きた可能性を指摘している。

第4章は総合考察である。第2章、3章で得られた結果に基づき、ウツボカズラ属が貧栄養条件などの環境ストレスにどのように適応してきたか、栄養源としての「餌」をめぐる種間競争の回避がどのように行われているかについて議論を行っている。特に正の自然選択が検出された同所的なスマトラ産の2種では、捕虫囊の入り口の大きさが異なり、異なるサイズの「餌」にそれぞれ適応した可能性が高いことが指摘された。また、ネペンテシンのアミノ酸配列から計算した等電点が生息環境の多様さに応じて高くなっている可能性を示唆した。

上記のように、本論文ではこれまで十分理解されていなかったウツボカズラ属の系統進化を、nrDNA の ITS 領域を用いた分子系統解析により明らかにした上で、得られた系統樹に基づいてその分布拡大過程や捕虫囊の適応進化を推定した。さらに食虫植物として重要と考えられる消化酵素の適応進化の一端も明らかにできていて、生物の適応進化研究への新たなアプローチとしても評価できる。以上のことから本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいものとして認定する。