

博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第42号

2017年3月

京都産業大学

— は し が き —

本号は、学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日文部省令第 9 号）第 8 条の規定による公表を目的とし、平成 29 年 3 月 19 日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第 4 条第 1 項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第 2 項によるもの（いわゆる論文博士）である。

目 次

課程博士

1. 長岡 敏彦	[博士 (マネジメント)] ……	1
2. 真野 毅	[博士 (マネジメント)] ……	8
3. 山崎 方義	[博士 (マネジメント)] ……	19
4. 川勝 弥一	[博士 (生物工学)] ……	24
5. 飯田 英明	[博士 (生物工学)] ……	28

氏名（本籍）	川勝 弥一（京都府）
学位の種類	博士（生物工学）
学位記番号	甲工第26号
学位授与年月日	平成29年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	京野菜であるミズナとミブナの形態の多様性の遺伝的背景の解析と来歴の調査
論文審査委員	主 査 木村 成介 教授
	副 査 山岸 博 教授
	〃 寺地 徹 教授

論文内容の要旨

生物の形の多様性がどのように進化してきたのかを明らかにすることは生物学の命題の1つである。植物の葉の形は大きな変化に富み、植物の形を特徴づけているとよいが、多彩な葉の形がどのように進化してきたのかについてはわかっていないことが多い。本論文は、育種（人為選択）による形態の変化に注目し、伝統的な京野菜であるミズナとミブナの葉の形の違いに注目して、その遺伝的背景をQTL解析などにより明らかにしたものである。また、ミズナとミブナの来歴について本草書や農書などの古文獻の記載をもとに調査し、ミブナの丸葉の成立過程と成立原因を推察した。本論文は4つの章から構成される。

第1章は、ミズナとミブナに見られる葉の形態変異のQTL解析の結果に関する章である。ミズナとミブナは*Brassica rapa* subsp. *nipposinica*の品種の関係にあるが、ミズナが特徴的な鋸歯を持つギザギザの葉を有する一方、ミブナはヘラのような丸い葉を有している。ミズナとミブナを交配して得られたF₁の葉は中間形態を示し、またF₂世代では、ミズナのように葉がギザギザのものからミブナのように丸いものまで連続的に分離した。QTL解析により、葉の形態変異の原因となっている遺伝子座を同定したところ、6, 7, 9, 10番染色体にQTLが観察された。そのうち、6, 7, 9番染色体にあるQTLが鋸歯の有無を、10番染色体のQTLがローブの有無を制御していると考えられた。RNA-seq解析によりミズナとミブナで発現が変動している遺伝子を同定し、その中で葉の形態形成

に関わる事が知られている遺伝子について、配列の解析と発現解析をすることで、葉の形態変異の原因となっている遺伝子の候補を明らかにすることに成功した。

第2章では、ミズナとミブナの葉のトライコームの形成遺伝子の同定について述べられている。ミズナとミブナの葉の形態の変異について詳しく調べると、本研究で使用したミブナの品種にはトライコームが多数みられることがわかった。一般に、ミズナにはトライコームがない。QTL解析により、原因遺伝子座を同定したところ、9番染色体に寄与率が高いQTLが1つ観察された。発現解析や配列解析により、*GLABRA1*(*GL1*)が原因遺伝子の候補として同定された。ミブナの*GL1*には転写領域の上流と下流に挿入と欠失があるが、調査した限り、*B. rapa*の中ではミブナしかこのアリルを持っていなかった。この結果は、ミブナの成立を考える上で重要な知見となりうる。

第3章では、ミズナとミブナの来歴に関する文献調査の結果が述べられている。ミズナは古くから日本にある野菜であると考えられており、また、ミブナについては江戸時代(1800年頃)に成立していたと言われているが、詳しい来歴については不明な点が多かった。本章では、1700年代から1900年代前半に刊行された本草書や農書の記載を網羅的に調査し、「壬生菜」という呼称が葉の形が丸葉に変化する前の18世紀後半から使われ始めていたことや、19世紀の中頃に壬生菜の丸葉が成立したことを明らかにした。また、文献に残されている絵図や記載から、丸い葉を有するカブ類とミズナが交配したことがミブナの丸葉成立の要因ではないかと推察した。

第4章では、第3章で推察されたカブとの交配によるミブナの成立という仮説を確かめるため、カブ類の解析をおこなった。近畿圏で古くから栽培されているカブについて、第1章で同定されたQTL付近のマーカーで遺伝子型解析をおこなった。その結果、とくに6番染色体のQTL付近のマーカーがミブナ型の遺伝子型を示していることが多いことがわかった。このことは少なくともミブナの6番染色体はカブ由来であることを示唆している。また、ミズナとカブ類の交配実験をおこなったところ、 F_1 の葉の鋸歯は小さくなり、ミブナの形態に近づいた。以上の結果は、ミズナとカブの交配がミブナの成立の原因となっていることを支持する結果であった。

本研究は、栽培植物の育種過程における葉の形態変化について、遺伝的な背景と来歴を明らかにしたものであり、農学的な観点のみならず、文化的にも意義が大きいものであるといえる。

論文審査結果の要旨

地球上の多彩な生物が見せる驚くべき「形の多様性」は、古くから多くの人々を惹きつけてきた。個体の形は、「発生」の過程を経て形成され、種間に見られる形の多様性は、「進化」の過程で発生のプログラムが変化することで生じる。自然界にみられる生物の形の多様性がどのように進化してきたのを明らかにしようとするのが進化発生生物学である。進化発生学は、近年の技術の発展により発生現象を遺伝子レベルで解析できるようになったことで発展した分野で、主に動物を対象とした発生学的研究において盛んに研究されるようになってきている。

近年、植物発生学の分野においては、分子遺伝学的な手法の発達によりモデル植物のシロイヌナズナなどを用いた研究が盛んに行われてきた。これまでに花や葉などの器官発生に関わる遺伝子が多く同定され、また、その機能の解析が進められおり、少なくともモデル植物における器官発生や形態形成については多くの重要な知見が得られているとあってよいだろう。

一方で、モデル植物以外を用いて分子遺伝学的な研究をすることは難しいこともあり、植物の種間や品種間に見られる形態の多様性がどのような遺伝的背景を基盤としているかについてはほとんど明らかとなっていない。また、植物の形態の多様性の進化的な背景についても明らかとなった例は極めて少ないのが現状である。

植物においても、花の形から樹の模様まで植物のあらゆる部分に多様性は見られるが、その中でも葉の形は大きな変化に富み、植物の形を特徴づけているとあってよい。本論文は、京野菜であるミズナとミブナという2種類の野菜に着目し、その葉の形態の多様性の遺伝的背景を明らかにしようとしたものである。

ミズナとミブナは、*Brassica rapa* subsp. *nipposinica*という同一種の変種でありながら、葉の形態が大きく異なり、ミズナが切れ込みの多い複雑な形の葉をもつ一方で、ミブナは丸いヘラのような形の葉をもっている。本論文は、ミズナとミブナの交配と子孫における葉の形態の定量的調査、分子マーカーの作成および量的形質遺伝子座解析 (QTL解析) により、ミズナとミブナの葉の形を決める遺伝子座を同定した。また、ミブナの葉に多く観察されるトライコームの形成に関する遺伝的背景も明らかにしている。さらに江戸時代から明治時代にかかれた農書や本草書の記載を手がかりに、ミブナの丸い葉の成立にカブ類の交雑が関係していることを仮説として提唱し、この仮説を検証するため、カブ類の遺伝子型解析や交配にまで研究が及んでいる。身近な野菜に着目して研究をすすめた点や、次世代シーケンスなどの最新の手法を利用して研究をすすめた点、発生学遺伝学的な観点からのみならず文献調査という人文科学的な観点からもアプローチしているなどの点で、本研究は独創性や新規性が高いものであるといえる。

主査および副査による論文調査では、本論文が伝統的な京野菜であるミズナとミブナの葉形変異の遺伝的背景を明らかにしたのみならず、学際的な研究により育種の歴史までも明らかにしたという点において学術的な意義があることが認められた。また、研究課題の新規性、作業仮説の設定の仕方、実験方法の妥当性、結果の解釈や考察などについて問題はないと判断された。得ら

れた知見は豊富な実験と文献調査に基づくものであり、信頼性が高く、また、生命科学の分野のみならず人文科学的な側面からも興味深いものであると認められた。

平成29年2月23日に開催された公聴会において、論文内容およびこれに関連する事項についての発表および質疑応答があり、提出者が本論文の内容や関連分野について十分な知識を持ち、また、研究成果について考察を深められていることを確認できた。

結論として、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであり、本審査に合格と判定する。