

称号及び氏名 博士（工学） 増田 亘作

学位授与の日付 2021年3月31日

論文名 「植物概日時計の位相応答曲線の計測と応用」

論文審査委員 主査 福田 弘和

副査 吉田 篤正

副査 新谷 篤彦

## 論文要旨

植物工場では、環境データや植物の生育状況のデータを収集し、理論的な予測に基づく環境制御法を確立することが必要である。環境を高度に制御できる植物工場では、光や温度などの環境を自由に設定することができるため、植物の概日時計の特性を考慮して栽培環境を設計することが可能である。しかしながら、概日時計の動作が光や温度、湿度など様々な環境要因と関連することは定性的に示されている一方で、その定量的な理解は十分ではない。そのため、概日時計の特性に基づいた栽培環境の設計を行うためには、まずは概日時計と環境シグナルとの関係性を明らかにするとともに、環境と概日時計と生育の間の関係を定量的に明らかにすることが必要である。

概日時計の基本的な特性として、環境の昼夜変動に応答して自身の主観の時刻を変化させることにより、周期的な環境と同期する性質を持つ。この環境刺激に対する応答は、刺激を受けた際の概日時計の時刻に依存して変化する。この時刻（位相）依存的な位相応答の変化をまとめたものは位相応答曲線（phase response curve, PRC）と呼ばれる。PRCは位相に関する周期関数として表され、その振幅は刺激に対する概日時計の応答量の大きさを、その安定点は概日時計が周期刺激に対して引き込まれる位相を表している。そのため、光や温度などの栽培環境を構成する様々な環境刺激に対してPRCを明らかにすることは、概日時計を考慮した昼夜環境の設計を行う上で重要な役割を果たすと考えられる。

しかし、多くの先行研究の結果からPRCの計測は煩雑であり、多くの植物に対して様々な環境刺激に対する応答特性を計測するためには、より簡便にPRCを取得する方法が必要である。さらには、植物概日時計では部位特異性が確認されているため、部位特異性などを考慮したPRCの計

測方法も必要である。また、概日時計に基づいて環境設計を行うためには、環境刺激に対する PRC と植物の概日時計および生育との関係を明らかにすることが必要である。これらに加えて、実際の植物生産への応用のためには、栽培品種における有効性の検証が必要である。そこで、本研究ではこれらの課題を解決し、概日時計の応答特性を植物栽培に応用するための一連の計測手法と利用方法を提案することを目的とした。

以下に本論文の概要を示す。

第一章では、研究の背景と目的および論文の構成について述べた。

第二章では、概日時計の PRC の簡易推定を可能とするため、概日リズムの特異点における刺激に対する位相、振幅のリセット現象に着目し、数理モデルを元にした推定手法の構築、および実験による実証を行った。実験ではルシフェラーゼアッセイにより、モデル植物シロイヌナズナの時計遺伝子 *CCA1* および *TOC1* の発現パターンを計測した。結果として、特異点での応答を用いて、光や温度刺激に対する PRC が各時計遺伝子および変異体において推定可能であることが示された。加えて、本手法を用いることで、植物の地上部と地下部について位相応答の部位特異的な差異を明らかにした。以上の結果から、特異点での応答を用いた PRC の推定手法を簡便かつ幅広い条件に活用できる手法として提案することができた。

第三章では、植物概日時計の PRC をより精密に計測することを可能にするため、自発的あるいは人為的に現れる植物概日時計の時空間パターンを用いた PRC の計測手法を用い、シロイヌナズナの根と葉において部位特異性、個体差、振幅等が PRC に与える影響の評価を行った。結果として、根の時空間パターン（ストライプパターン）を用いた PRC の計測では、根の PRC における部位や時間依存的な変化、振幅依存性、個体差などの評価を行った。また、シミュレーションにより、ノイズが PRC の計測に与える影響を評価した。加えて、植物の葉において、時空間的な環境光の制御により人為的に時空間パターンを生み出すことで PRC を計測できることを示し、葉においても葉身部や葉柄部の部位特異性、個体差などを評価した。以上の結果は、植物の PRC に関わる様々な要因を明らかにするとともに、植物個体内の時空間パターンを用いることで植物の位相応答の特性をより高精度に計測できることを示した。

第四章では、概日時計の PRC と植物の栽培環境および生育との関係を明らかにするため、光と温度サイクルの複合環境において、各環境サイクル間の位相差（時差）がシロイヌナズナの生育と概日リズムに与える影響を評価した。結果として、複合環境の時差により概日リズムの位相、振幅が変化し、それらは PRC と位相振動子モデルにより、予測可能であることが示された。また、複合環境の時差は植物の成長量にも影響を与え、これらの変化と概日リズムの変化の間に相関があることが分かった。さらに、PRC に基づく概日リズムの予測と概日リズムと生育との関係を組み合わせることにより、光と温度サイクルの時差に対する生育の変化を PRC に基づいて予測できることが明らかとなった。以上の結果により、概日時計の特性を考慮した環境設計が植物の生産性を向上させる可能性を示した。

第五章では、人工光植物工場の主要な生産品目であるリーフレタスを用いて、第二章から第四章で示された手法が実際の植物生産においても応用可能であるかの検証を行った。結果として、第二章、第三章で示された PRC の推定、計測手法により、リーフレタスにおいても概日時計の同期特性が取得可能であることが分かった。また、第四章と同様に時差を持った複合環境下でのリーフレタスの概日リズムと生育を比較した結果、リーフレタスにおいても概日リズムに振幅が PRC に基づいて予測可能であり、リーフレタスの概日リズムの振幅と成長量との間には相関があることが分かった。そのため、リーフレタスにおいても PRC に基づいて環境間の時差が植物の生育に与える影響の予測が可能であることが明らかとなった。以上の結果は、概日時計の PRC の計測および PRC に基づく環境設計が植物工場における栽培品種においても有効であることを示し、概日時計を考慮した栽培環境の設計の植物生産における実用性を示している。

第六章では、以上の結果をまとめ本論文の結論を述べた。

以上により、植物概日時計の応答特性を簡便に計測する手法と精密な計測方法を提案するとともに、概日時計と環境、植物の生育との間の一定の関係性を明らかにすることで、概日時計の応

答特性を植物工場における栽培に応用するための一連の計測手法と利用方法を提案した。そして、植物工場における栽培品種であるリーフレタスにおいてこれらの手法を実証することで、概日時計を考慮した栽培環境の設計の植物生産における実用性を示した。

## 審査結果の要旨

本論文は、植物における概日時計の位相応答曲線（以下、PRC）を高精度かつ高効率に計測する新手法の開発と、その植物栽培への応用に関する研究であり、以下の成果を得ている。

(1)概日時計の PRC を高効率に推定できるシンギュラリティ応答法を提案した。概日リズムの振幅が減衰したシンギュラリティと呼ばれる状態に対し、その状態に対する刺激入力時の位相リセット現象を数理モデル化することで、光や温度刺激に対する PRC を効率的に推定できることを明らかにした。また、本手法を用いることで、植物の時計変異体や部位特異的な応答の差異を明らかにした。これによって、PRC の推定が従来と比べ 3 倍に高速化され、植物材料などのコストを 100 分の 1 にできることを示した。

(2)概日時計の PRC を細胞・組織レベルにおいて、空間的に精密に計測することを目的に、自発的あるいは人為的に形成された時空間パターンを用いて PRC の空間計測を行った。モデル植物シロイヌナズナの根と葉において部位特異性や個体差、振幅等が PRC に与える影響を定量化し、内部ノイズが PRC の計測に与える影響を明らかにした。

(3)概日時計の PRC に基づいた栽培環境の最適化を目的に、光と温度サイクルから成る複合環境に対し、環境サイクル間の位相差がシロイヌナズナの生育と概日リズムに与える影響を評価した。これにより、複合環境の位相差に対する概日リズムの変化とその生育への影響を、PRC を組み込んだ位相振動子モデルにより予測できることを示した。

(4)人工光植物工場の主要な生産品目であるリーフレタスを対象に、上述の新規 PRC 計測法を適用し、複合環境サイクルの位相差がレタスの生育と概日リズムに与える影響を評価することで、シロイヌナズナと同じ手法と数理モデルが共通して利用できることを明らかにした。これにより、本研究結果の実用性を示した。

以上の諸成果は、植物概日時計の応答特性の計測と応用に関する重要な知見を与えたものであり、食料生産システム工学の分野における学術と産業発展に大きく貢献するものである。また、申請者が自立して研究活動を行うのに必要な能力と学識を有することを証したものである。本委員会は、本論文の審査ならびに最終試験の結果から、博士（工学）の学位を授与することを適当と認める。